MODULE DE FORMATION À LA **LUTTE CONTRE LE PALUDISME**

Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle

GUIDE DU **PARTICIPANT**

Organisation mondiale de la Santé

MODULE DE FORMATION À LA LUTTE CONTRE LE PALUDISME

Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle

GUIDE DU **PARTICIPANT**

Organisation mondiale de la Santé

Catalogage à la source: Bibliothèque de l'OMS:

Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle.

Contenu : Guide de l'instructeur - Guide du participant

1.Paludisme – prévention et contrôle. 2.Lutte contre les moustiques. 3.Anopheles - croissance et développement. 4.Matériel d'enseignement. I.Organisation mondiale de la Santé.

ISBN 978 92 4 250580 1 (Guide de l'instructeur) (classification NLM : WC 765)
ISBN 978 92 4 250581 8 (Guide du participant)

La révision du présent document a pu être réalisée grâce à une subvention de la Fédération de Russie pour le renforcement des capacités contre le paludisme en Afrique

© Organisation mondiale de la Santé 2014

Tous droits réservés. Les publications de l'Organisation mondiale de la Santé sont disponibles sur le site Web de l'OMS (www.who.int) ou peuvent être achetées auprès des Éditions de l'OMS, Organisation mondiale de la Santé, 20 avenue Appia, 1211 Genève 27 (Suisse) (téléphone : +41 22 791 3264 ; télécopie : +41 22 791 4857 ; courriel : bookorders@who.int . Les demandes relatives à la permission de reproduire ou de traduire des publications de l'OMS – que ce soit pour la vente ou une diffusion non commerciale – doivent être envoyées aux Éditions de l'OMS via le site Web de l'OMS à l'adresse http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html

Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation mondiale de la Santé aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les lignes en pointillé sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux ne signifie pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé, de préférence à d'autres de nature analogue. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

L'Organisation mondiale de la Santé a pris toutes les précautions raisonnables pour vérifier les informations contenues dans la présente publication. Toutefois, le matériel publié est diffusé sans aucune garantie, expresse ou implicite. La responsabilité de l'interprétation et de l'utilisation dudit matériel incombe au lecteur. En aucun cas, l'Organisation mondiale de la Santé ne saurait être tenue responsable des préjudices subis du fait de son utilisation.

Se référer au site web du Programme mondial de lutte antipaludique pour toute mise à jour éventuelle du contenu (www.who.int/malaria/fr).

Hématies : © Ingram Publishing

Conception de la couverture : Paprika-Annecy.com

Imprimé à Malte

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos v
Abréviations vi
Remerciements vii
Élaboration du module viii
Introduction 1
UNITÉ D'APPRENTISSAGE 1 : Introduction à l'entomologie du paludisme 5
UNITÉ D'APPRENTISSAGE 2 : Identification des vecteurs du paludisme 13
UNITÉ D'APPRENTISSAGE 3 : Échantillonnage des vecteurs du paludisme 23
UNITÉ D'APPRENTISSAGE 4 : Incrimination des vecteurs et lutte contre le paludisme 41
UNITÉ D'APPRENTISSAGE 5 : Lutte contre les vecteurs du paludisme 67
UNITÉ D'APPRENTISSAGE 6 : Suivi et gestion des résistances aux insecticides 109
UNITÉ D'APPRENTISSAGE 7 : Lutte antivectorielle selon les strates du paludisme 123
Annexe 1. Protocole d'élevage des moustiques 132
Annexe 2. Imprégnation des moustiquaires par des insecticides 140
Annexe 3. Reconnaissance géographique 144
Annexe 4. Protocole pour déterminer la sensibilité des moustiques adultes aux insecticides : essai biologique de l'OMS 155
Annexe 5. Protocole pour déterminer la sensibilité des larves de moustiques aux insecticides 167
Annexe 6. Procédures pour déterminer l'efficacité résiduelle des insecticides sur les parois murales 174
Annexe 7. Procédures pour déterminer l'efficacité résiduelle des insecticides sur les moustiquaires imprégnées 180

Avant-propos

Le paludisme est un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale et l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans de nombreux pays. On estime qu'en 2012, il a été à l'origine de 207 millions de cas (fourchette entre 135 et 287 millions) et de 627 000 décès (fourchette entre 473 000 et 789 000). Environ 80 % des cas et 90 % des décès surviennent en Afrique, le reste des cas et des décès se produisant principalement dans les régions de l'Asie du Sud-Est et de la Méditerranée orientale.[1] Pour trouver les données les plus récentes sur la charge du paludisme, veuillez consulter le *Rapport mondial sur le paludisme* disponible sur le site du Programme mondial de lutte antipaludique de l'OMS (http://www.who.int/malaria/en/).

L'Assemblée mondiale de la Santé et le partenariat « Faire reculer le paludisme » (RBM) cherchent à juguler et à éliminer le paludisme, c'est-à-dire à obtenir une baisse d'au moins 75 % de l'incidence du paludisme et du nombre des décès d'ici 2015.

L'élimination du paludisme se définit par l'obtention d'une incidence nulle des infections dues aux parasites responsables du paludisme chez l'humain et contractées localement dans une zone géographique déterminée suite à des efforts délibérés. Les programmes d'élimination nécessitent davantage d'expertise technique que les programmes de lutte contre le paludisme classiques et s'appuient sur l'expertise nationale en matière d'épidémiologie et d'entomologie du paludisme.

Pour atteindre les objectifs des programmes de contrôle et d'élimination du paludisme, l'exécution correctement planifiée et ciblée des interventions essentielles est cruciale, parmi lesquelles : le test de diagnostic pour les cas suspects et le traitement rapide des cas confirmés au moyen de combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) ; la chimioprévention pour les femmes enceintes (traitement préventif intermittent pendant la grossesse – TPIg), pour les nourrissons (traitement préventif intermittent du nourrisson – TPIn) et pour les enfants (chimioprévention du paludisme saisonnier – CPS) selon ce qu'il convient et l'application d'interventions de lutte antivectorielle adaptées, en particulier l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII/MID) et les pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent (PID).

Le présent module de formation sur l'entomologie du paludisme et la lutte antivectorielle a été élaboré à destination de deux principaux groupes : *i)* entomologistes et personnel de lutte antivectorielle, dont des techniciens et *ii)* gestionnaires de programmes responsables de la santé impliqués dans des programmes de contrôle et d'élimination du paludisme.

1. OMS (2013). Rapport sur le paludisme dans le monde. Genève, Organisation mondiale de la Santé. http://www.who.int/malaria/publication/world_malaria_report_2013/en/index.html

Abréviations

CAP	connaissances, attitudes et pratiques
CSP	protéine circumsporozoïtaire
CTA	combinaison thérapeutique à base d'artémisinine
DALY	année de vie ajustée sur l'incapacité
ELISA	essai immunoenzymatique
GIV	gestion intégrée des vecteurs
GPS	géopositionnement par satellite
GST	Glutathione-S-transférase
IA	indice d'anthropophilie
IEC	information, éducation et communication
IPA	indice parasitaire (plasmodique) annuel (taux d'inoculation parasitaire)
MID	moustiquaire à imprégnation durable
MII	moustiquaire imprégnée d'insecticide
OMS	Organisation mondiale de la Santé
PCR	amplification génique par réaction en chaîne de la polymérase
PID	pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent
POP	polluants organiques persistants
QCM	questionnaire à choix multiple
RG	reconnaissance géographique
SIG	système d'information géographique
TAEH	taux annuel d'examens hématologiques
TIE	taux d'inoculation entomologique
TPL	taux de positivité des lames
WHOPES	système OMS d'évaluation des pesticides

Remerciements

Le présent module a été produit par le Programme mondial de lutte antipaludique (GMP) de l'OMS, avec la participation de membres actuels ou d'anciens membres du personnel du Siège et des Bureaux régionaux de l'OMS. L'Organisation tient également à exprimer sa gratitude aux experts cités ci-après qui ont contribué à la rédaction du document.

- T. A. Abeku et P. Herath ont initialement préparé le module avec des contributions techniques de M. Aregawi, E. Renganathan et M. C. Thuriaux. Y. Ye-ebiyo a contribué à l'élaboration de l'unité d'apprentissage sur la stratification du paludisme. M. Zaim a apporté son aide et fourni des documents OMS (non publiés) sur l'usage judicieux des insecticides et R. H. Zimmerman a participé à la finalisation de cette version originale du module.
- H. Vatandoost, qui a dirigé la mise à jour de la version actuelle du module et S. Lindsay qui l'a revue en tant qu'expert indépendant. Également Y. Rassi, M. A. Oshaghi, M.R. Abai de l'Université des Sciences Médicales de Téhéran pour leurs contributions au module.
- Les experts techniques qui ont orienté le processus de révision et de mise à jour pour la version actuelle du module : A. A. A. Adeel (Université King Saud, Arabie Saoudite), M. Sh. Al-Zedjali (Épidémiologie du paludisme, Ministère de la Santé, Oman), B. Ayivi (Hôpital Universitaire National, Bénin), C. Hugo (Fondation ACT Malaria Inc, Philippines) A. Baranova (Institut Martzinovsky de Parasitologie Médicale et de Médecine Tropicale, Fédération de Russie), P. Beales (ancien membre du personnel de l'OMS, Royaume-Uni), A. Beljaev (Académie Russe de Médecine à Moscou, Fédération de Russie), S. Elbushra (Université de Gezira, Soudan), K. Kolaczinski (Malaria Consortium Africa, Ouganda), A. Kondrashin (ancien membre du personnel de l'OMS, Fédération de Russie), S. Lutalo (Hôpital Central de Harare, Zimbabwe), R. Majdzadeh (Université des Sciences Médicales de Téhéran, Iran), E. M. Malik (Ministère Fédéral de la Santé, Soudan), P. S. Mapunda (Centre for Enhancement of Effective Malaria Interventions, Tanzanie), R. Mintcheva (Centre pour les Maladies Infectieuses et Parasitaires, Bulgarie), O. Mokuolu (University of Ilorin Teaching Hospital, Nigeria), E. Morozov (Institut Martzinovsky de Parasitologie Médicale et de Médecine Tropicale, Fédération de Russie), A. Mwakilasa (Consultant, Tanzanie), J. B. Ouedraogo (Direction Régionale de l'Ouest, Burkina Faso), V. Sergiev (Institut Martzinovsky de Parasitologie Médicale et de Médecine Tropicale, Fédération de Russie) et H. Vatandoost (École de Santé Publique, Iran).
- Le personnel de l'OMS qui a apporté sa contribution technique au contenu du module pendant son élaboration : B. Ameneshewa, Hoda Y. Atta, K. Carter, K. Cham, C. Delacolette, P. Guillet, G.A. Ki-Zerbo, J. Lines, L. Manga, A. Mnzava, B. Mulenda, S. Murugasampillary, M. Nathan, R. Newman, M. Warsame, W. Were et G. Zamani.

L'OMS remercie également les participants, les instructeurs et les animateurs de plusieurs cours nationaux et internationaux pour leurs observations pendant les tests du module sur le terrain.

Le processus de révision a été coordonné par M. Warsame, avec L. J. Martinez pour la révision technique du module.

La révision et l'actualisation ont pu avoir lieu grâce à la subvention de la Fédération de Russie pour le renforcement des capacités contre le paludisme en Afrique.

Élaboration du module

Le contenu du module se fonde sur les lignes directrices actuelles de l'OMS et d'autres documents techniques rédigés sur des bases de données probantes.

Ce module de formation sur l'entomologie du paludisme et la lutte antivectorielle s'appuie sur une version d'essai précédente qui a été mise à jour pour y inclure les outils, stratégies et politiques actuelles de lutte antipaludique. Il a été actualisé sous la conduite d'experts techniques représentant des instituts de formation sur le paludisme, des instituts universitaires, de chercheurs dans ce domaine, des directeurs de programmes nationaux et de personnel du Siège et des bureaux régionaux de l'OMS. Ce processus de révision et d'actualisation du module a comporté les étapes suivantes :

- Trois consultations d'experts techniques (7–9 avril 2008, 14–16 octobre 2008 et 15–17 avril 2009) ont eu lieu pour examiner les matériels de formation de l'OMS existants sur l'entomologie du paludisme et la lutte antivectorielle et pour repérer les domaines à actualiser compte tenu du développement de nouveaux outils techniques et stratégies de lutte contre les vecteurs du paludisme.
- Des experts techniques ont été chargés d'intégrer les mises à jour recommandées dans le module.
- Les experts techniques, le personnel technique de l'OMS et d'autres experts techniques externes en entomologie et lutte antivectorielle ont ensuite examiné le contenu et l'exhaustivité du module révisé.
- Le module actualisé a été testé sur le terrain dans le cadre de plusieurs cours nationaux et internationaux.
- Sur la base des commentaires reçus après les tests sur le terrain et en consultation avec les experts techniques, le texte a été finalisé en vue de la publication.

Introduction

Ce module traite des aspects essentiels de l'entomologie du paludisme et de la lutte antivectorielle. Il peut être adapté à divers besoins spécifiques de formation, la difficulté et le choix des unités dépendant des connaissances préalables des participants et de leurs objectifs d'apprentissage. Il peut être utilisé pour former des agents de lutte antivectorielle de terrain, des techniciens de laboratoire ou des agents de santé travaillant à différents niveaux des programmes de lutte contre les vecteurs du paludisme. Pour les agents de santé, qui n'auront pas nécessairement besoin des détails concernant les techniques sur le terrain et au laboratoire, l'accent sera mis sur les unités traitant des applications épidémiologiques de méthodes et stratégies sélectives de lutte antivectorielle. Les agents de terrain et les techniciens de laboratoire pourront avoir besoin de matériels supplémentaires si le cours porte uniquement sur les techniques de laboratoire et de terrain.

Le module peut aussi être utilisé pour former des personnes chargées de planifier, de mettre en œuvre, de suivre et d'évaluer les activités de lutte contre les vecteurs du paludisme au niveau national et à celui des districts. Il sera demandé aux participants d'apporter des données sur le paludisme dans les pays où ils travaillent pour en discuter pendant le cours.

Le module est composé de deux parties, le *Guide du participant* et le *Guide de l'instructeur*. Le *premier* traite des notions et informations de base et comprend une série d'exercices devant être faits par les participants. Le *second* décrit les principaux points à enseigner et donne des réponses aux exercices, de manière indicative et non de manière imposée pour stimuler un apprentissage actif.

Utilisateurs potentiels du module de formation

Le module a été conçu à l'intention de deux groupes principaux : *i)* le personnel technique spécialisé dans l'entomologie et la lutte antivectorielle, et *ii)* les administrateurs de programmes/agents de santé seniors. Le temps imparti est de 120,5 heures pour le premier groupe, réparties sur des journées de formation de 7 heures, soit 17 jours au total, et de 30 heures pour le second groupe, réparties sur des journées de formation de 7 heures, soit 4,5 jours au total. Le *Guide de l'instructeur* propose un emploi du temps pour le second groupe.

Objectifs

À l'issue du programme de formation basé sur ce module, les participants devraient avoir acquis les techniques et compétences nécessaires pour :

- comprendre le rôle de l'entomologie dans la lutte antipaludique ;
- identifier tous les stades du cycle biologique des vecteurs du paludisme ;
- décrire les procédures d'échantillonnage pour les vecteurs du paludisme ;
- décrire l'incrimination des vecteurs et la lutte antipaludique ;
- définir les mesures de lutte antivectorielle ;
- comprendre les principes de base du suivi et de la gestion des résistances aux insecticides ;
- décrire la stratification épidémiologique du paludisme et le rôle de la lutte antivectorielle dans les différentes strates épidémiologiques.

Utilisation du *Guide du Participant*

Le guide est une somme de matériels pédagogiques conçus pour permettre aux participants d'atteindre les objectifs d'apprentissage du module. Il est divisé en Unités d'apprentissage. Il est nécessaire d'acquérir les compétences et connaissances présentées dans chaque unité de la série avant de progresser à la suivante ; sinon, il serait difficile d'atteindre les objectifs des unités suivantes. Chaque unité d'apprentissage comporte des exercices à faire soit individuellement, soit en groupes, selon les indications de l'instructeur. Les discussions pendant les travaux en petits groupes ou les séances plénières, avec la participation des animateurs et instructeurs, faciliteront ce processus d'apprentissage.

Pendant le cours, le *Guide de l'instructeur* sera à la disposition des instructeurs et animateurs. Une fois le cours achevé, il convient d'en distribuer un exemplaire à chaque participant pour qu'il puisse ensuite s'y référer et approfondir sa formation.

Évaluation

Évaluation du participant

L'instructeur, les animateurs et les participants eux-mêmes évaluent les progrès et les acquis au moyen de questionnaires à choix multiple (QCM).

Dans les QCM, chaque question s'accompagne d'une liste de réponses possibles parmi lesquelles il faut en sélectionner une (celle qui est considérée comme étant correcte). À la fin de ces séances, l'instructeur analysera les résultats pour déterminer les sujets qui n'ont pas été totalement compris. Il pourra aussi expliquer individuellement aux participants les erreurs qui auront été commises et les domaines à améliorer.

Cette partie de l'évaluation est conçue pour aider les participants et l'instructeur à évaluer le niveau de compréhension des aspects théoriques du cours. On procédera aux QCM au début et à la fin de la formation.

L'appréciation des progrès des participants tient compte de l'évaluation des activités en salle de classe, des travaux pratiques, des activités sur le terrain, du degré de participation du groupe, etc., y compris la qualité et la clarté de la présentation des travaux en groupes lors des séances plénières.

L'instructeur est encouragé à préparer une série de questions pouvant être posées en début et en fin de formation lors des sessions ultérieures. Les réponses seront notées à l'identique car on considère que les questions ont toutes la même valeur. Les réponses correctes seront données mais, dans certains cas, il existe des réponses alternatives valables qui ont été identifiées.

Évaluation de la formation par les participants

Toute la formation sera évaluée, avec entre autres l'organisation et le contenu du cours, le bien-fondé des méthodes pédagogiques, la qualité de l'enseignement et des matériels de formation et la compétence des instructeurs et animateurs. Cette évaluation aura lieu à la fin de la période de formation afin d'obtenir de la part des participants le plus de commentaires possible. Les questionnaires pourront être signés (si les participants le souhaitent à titre individuel). Tous sont invités à faire des propositions destinées à améliorer les prestations du formateur et des animateurs, ainsi que le contenu du cours et les installations dans lesquelles il a été organisé.

Le retour d'information obtenu au moyen de cet exercice permet à l'instructeur d'évaluer comment la formation a été reçue et d'apporter toute modification nécessaire pour améliorer les futurs programmes.

Note : Il est demandé aux participants d'apporter des données sur le paludisme (poids de la maladie, données entomologiques, etc.) provenant de leur pays ou de leur lieu de travail et couvrant si possible les cinq dernières années. Ces données seront étudiées pendant le cours.

UNITÉ D'APPRENTISSAGE **1**

INTRODUCTION À L'ENTOMOLOGIE DU PALUDISME

Objectifs d'apprentissage :
À la fin de l'unité, les participants devraient pouvoir...

- décrire comment le paludisme se transmet
- décrire le cycle de vie du parasite et du moustique
- décrire le but et le rôle du suivi entomologique pour la lutte antipaludique

Introduction

L'entomologie du paludisme est l'étude de la biologie et de l'écologie des moustiques qui transmettent cette maladie. Le but est de comprendre la relation entre le vecteur, son écologie et son comportement, le parasite et l'hôte pour élaborer et mettre en œuvre des stratégies efficaces de lutte antivectorielle. Dans cette unité, nous allons présenter brièvement la transmission du paludisme et le cycle biologique du parasite et des vecteurs. Nous étudierons aussi en détail l'importance et le but du suivi entomologique pour les programmes de lutte antipaludique.

1.1 Transmission du paludisme

Le paludisme est dû à un protozoaire parasite, *Plasmodium*, qui passe une partie de son cycle de vie chez l'être humain et l'autre partie chez certaines espèces de moustiques. Cinq espèces de *Plasmodium* (également appelées plasmodies) sont pathogènes pour l'homme : *Plasmodium falciparum, P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* et le parasite du paludisme du singe, *P. knowlesi*. Parmi ces espèces, *P. falciparum* est la plus importante dans la plupart des régions tropicales et est responsable de la plus grande part des cas de maladies graves et de décès liés au paludisme.

Les parasites du paludisme sont transmis par des moustiques femelles appartenant au genre *Anopheles*. Les anophèles mâles se nourrissent de jus de plante et de nectar et ne peuvent donc pas transmettre le paludisme. Le cycle de vie du parasite se divise en trois phases : une se déroule chez le moustique, le cycle sporogonique ; et deux chez l'hôte humain, le cycle érythrocytaire (dans les hématies humaines) ; et le cycle exo-érythrocytaire (en dehors des hématies) (Figure 1.1).

1.1.1 Cycle de vie des parasites du paludisme

En piquant un être humain infecté, le moustique ingère des gamétocytes avec son repas de sang. Dans le tube digestif de l'insecte, les hématies (globules rouges) infectées éclatent, libérant les gamétocytes qui se développent et passent au stade sexuel mature des gamètes. Les gamètes mâles et femelles s'unissent pour former un zygote qui se développe en ookinète mobile. L'ookinète pénètre dans la paroi de l'estomac du moustique et se transforme en oocyste sphérique. À l'intérieur de l'oocyste, le noyau se divise à répétition, formant un grand nombre de sporozoïtes et entraînant un grossissement de l'oocyste. Lorsque les sporozoïtes sont complètement développés, l'oocyste se rompt et les libère dans la cavité générale du corps du moustique (l'hémocèle). Les sporozoïtes migrent alors vers les glandes salivaires. Le temps nécessaire pour le développement des sporozoïtes varie avec la température et, dans une moindre mesure, selon l'espèce plasmodiale et l'humidité ; il est en général de 8 à 15 jours.

Les sporozoïtes (stade infectant de *Plasmodium*) se mélangent à la salive et sont injectés à un hôte humain lorsque le moustique s'alimente. Les parasites pénètrent dans la circulation sanguine et migrent vers le foie où ils se multiplient dans les hépatocytes. Pendant une période de 7 à 12 jours, la multiplication se poursuit jusqu'à l'éclatement des hépatocytes infectés. Les parasites, devenus des mérozoïtes, sont libérés dans la circulation sanguine où ils envahissent les hématies et se multiplient de nouveau. Les hématies infectées sont détruites et les parasites libérés vont en envahir de nouvelles, répétant le cycle érythrocytaire.

Le repas de sang est nécessaire pour assurer la maturation des œufs du moustique. Comme au cours de son existence, la femelle moustique réalise plusieurs pontes, elle aura donc plusieurs occasions de transmettre le paludisme.

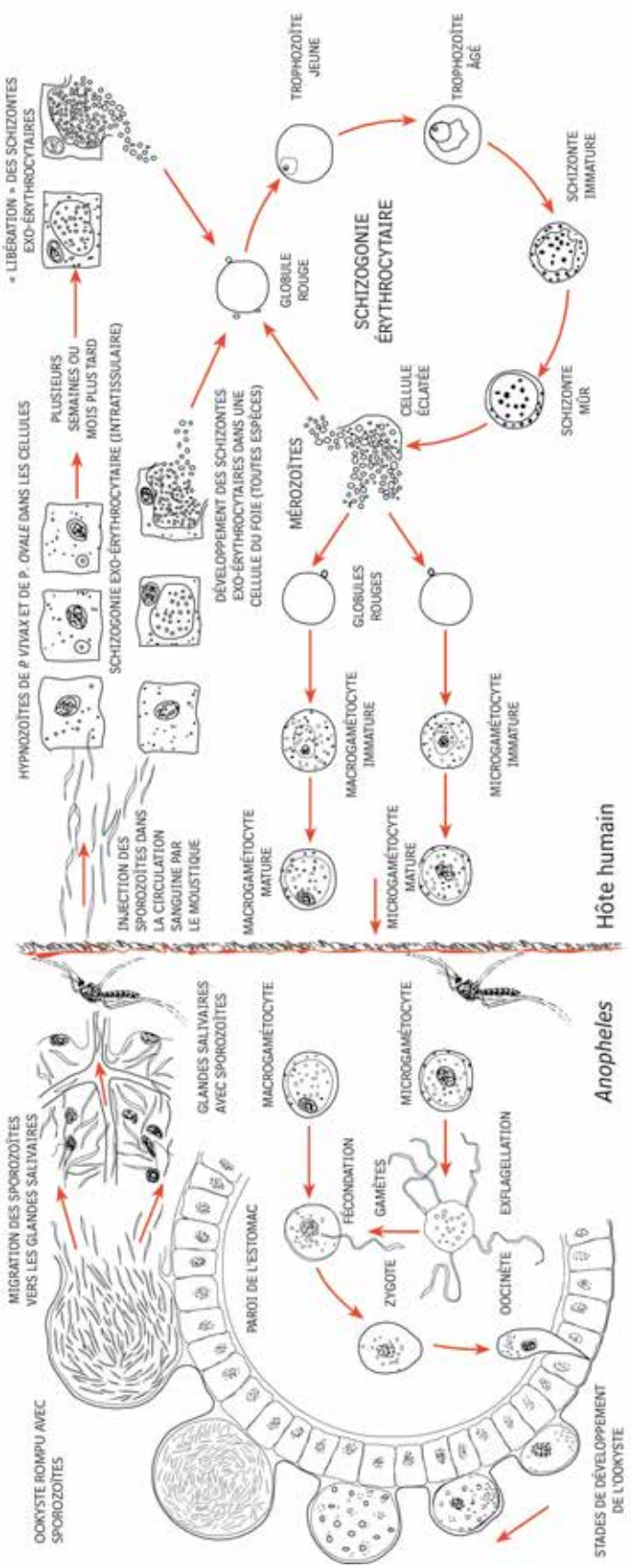


Figure 1.1 Cycle biologique des espèces plasmodiales chez l'homme et le moustique

1.1.2 Cycle de vie des anophèles

Il comporte quatre stades distincts : œuf, larve, nymphe et adulte (Figure 1.2). Le temps nécessaire pour le développement à chacun des stades dépend de la température et de facteurs nutritionnels. Ainsi la durée de chaque stade se raccourcit à mesure que la température augmente.

On recense environ 490 espèces d'anophèles, dont des espèces jumelles. Dans le monde, environ 60 à 70 espèces peuvent transmettre le paludisme et, parmi elles, une trentaine sont des vecteurs d'importance majeure (Figure 1.3). Certaines espèces d'anophèles préfèrent piquer des animaux et ne transmettent que très rarement des plasmodies à l'homme. D'autres ne vivent pas assez longtemps pour permettre le développement du parasite ou celui-ci semble parfois incapable de se développer dans le moustique.

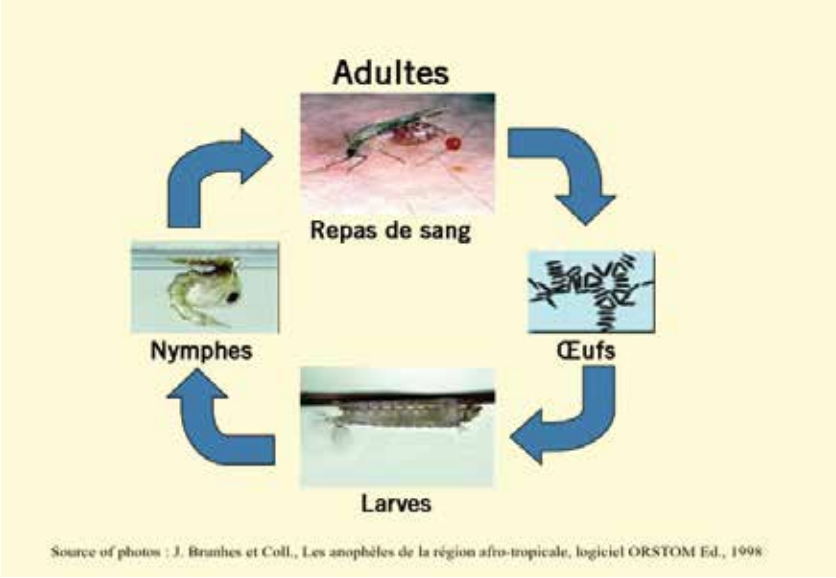


Figure 1.2 Cycle de vie d'un anophèle

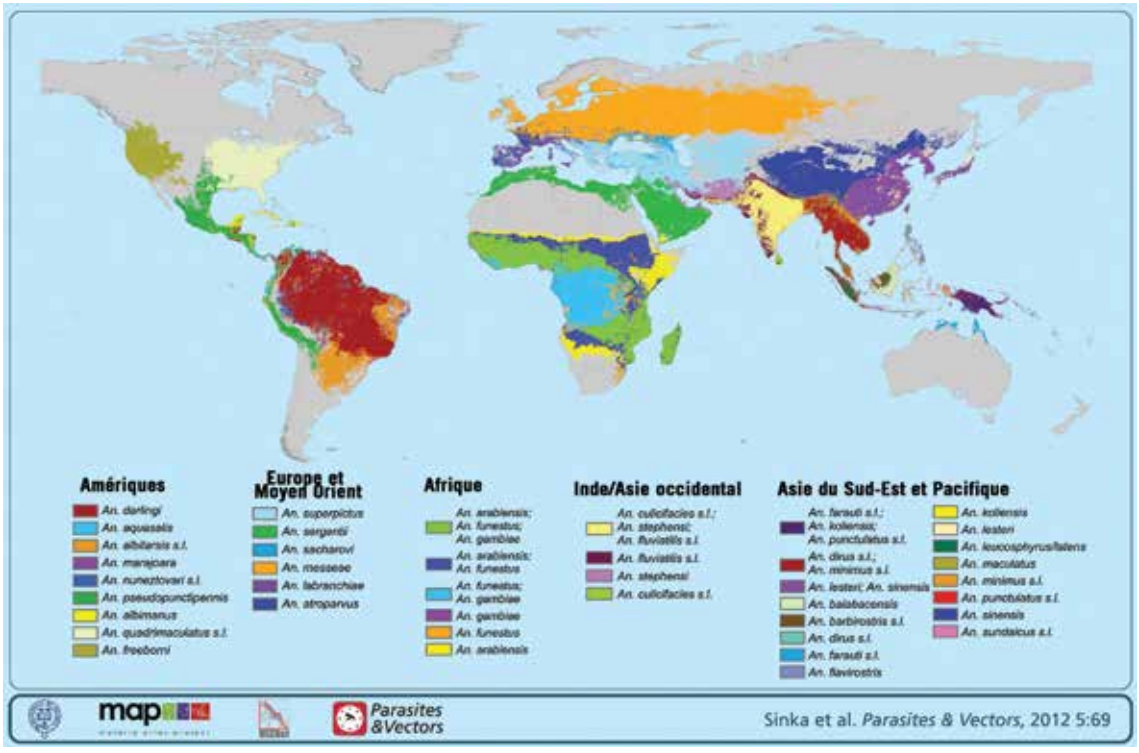


Figure 1.3 Répartition mondiale des vecteurs dominants ou potentiellement importants du paludisme

Œufs

L'anophèle femelle ne s'accouple normalement qu'une seule fois dans sa vie et a généralement besoin d'un repas de sang après l'accouplement pour que les œufs puissent se développer. Elle prend en général des repas de sang tous les deux ou trois jours, avant la ponte suivante. Elle dépose à chaque ponte de 100 à 150 œufs environ à la surface de l'eau. Les sites de ponte sont très variables : petites empreintes de sabots d'animaux, flaques d'eau de pluie, cours d'eau, marécages, canaux, rivières, mares, lacs, rizières et, parfois, même de l'eau sale. Chaque espèce d'anophèle préfère pondre dans un type d'habitat particulier.

Sous les tropiques, dans les conditions les plus favorables, les anophèles femelles ont une longévité moyenne de 3 à 4 semaines. Elles pondent tout au long de leur vie, produisant de 1 à 3 pontes pour la plupart, mais jusqu'à 7 pontes dans certains cas.

Larves

Les œufs éclosent au bout de 1 à 2 jours, libérant les larves-qui flottent en général parallèlement à la surface de l'eau, juste en dessous, car elles ont besoin d'air pour respirer. Elles se nourrissent des particules alimentaires en suspension. Elles plongent rapidement si elles sont dérangées mais doivent revenir sans tarder à la surface pour respirer.

Il y a quatre stades larvaires. Le premier est celui de la petite larve émergeant de l'œuf. Après 1 jour ou 2, elle mue et passe ainsi au second stade, suivi par le troisième et le quatrième stade à des intervalles d'environ deux jours chacun. La larve reste au quatrième stade pendant 3 à 4 jours, avant de devenir une nymphe. La durée totale du au stade larvaire est en général de 8 à 10 jours aux températures normales de l'eau en milieu tropical. À des températures plus basses, le développement des stades aquatiques prendra plus de temps. Selon l'espèce, on peut trouver des larves dans de petites collections d'eau, de l'eau douce, des rizières, des égouts, des fossés, de l'eau courante à l'ombre, de l'eau saumâtre, de l'eau salée, des cours d'eau, des étangs, des lacs, des marais, des puits, des récipients d'eau, des boîtes de conserve jetées, des pneus jetés et des empreintes de sabots d'animaux.

Nymphes

À ce stade, une transformation majeure intervient, l'insecte devant passer de la vie aquatique de la larve à la vie aérienne de l'adulte. La nymphe est en forme de virgule. Elle ne s'alimente pas, reste sous la surface de l'eau et plonge au fond si elle est dérangée. Le stade nymphal dure de 2 à 3 jours, après quoi le tégument se fend. Le moustique adulte émerge alors et se repose temporairement à la surface de l'eau avant de prendre son envol.

Adultes

L'accouplement a lieu peu après l'émergence du moustique adulte. La femelle ne s'accouple en général qu'une seule fois, parce qu'elle reçoit à ce moment-là suffisamment de sperme pour féconder les œufs de toutes les pontes successives. Normalement, le premier repas de sang n'est pris qu'après l'accouplement, mais il arrive que des femelles encore vierges s'alimentent. La première ponte se développe après un ou deux repas de sang (selon l'espèce), tandis que les pontes suivantes n'en nécessitent généralement plus qu'un.

Les habitudes d'alimentation et de repos des moustiques jouent un rôle très important pour les programmes de lutte antivectorielle et doivent donc être bien comprises. La plupart des anophèles piquent la nuit, certains peu après le coucher du soleil tandis que d'autres piquent plus tard, au milieu de la nuit ou même tôt le matin. Certains moustiques pénètrent dans les

habitations pour piquer, on dit alors qu'ils sont endophages ; d'autres piquent surtout à l'extérieur et on les qualifie d'exophages.

Après son repas de sang, le moustique se repose en général pendant une courte période. Les moustiques qui ont pénétré dans une maison se reposent habituellement sur un mur, sous le mobilier ou sur les vêtements pendus. On dit alors qu'ils sont endophiles. Les moustiques qui piquent à l'extérieur se reposent en général sur les plantes, dans des trous, dans les arbres ou sur le sol ou dans d'autres endroits frais et sombres ; on les qualifie d'exophiles.

Les préférences trophiques, c'est-à-dire les hôtes de prédilection, varient selon les espèces. Certains moustiques préfèrent l'homme à l'animal et on dit d'eux qu'ils sont anthropophiles ; en revanche, s'ils ne prennent du sang que sur les animaux, on parle de moustiques zoophiles. Ceux qui préfèrent le sang humain sont les plus dangereux, car ils sont capables de transmettre l'infection dans les populations humaines. On peut trouver les adultes sur la végétation, sur des surfaces solides dans des endroits protégés, sur les rives des cours d'eau et des fossés, des trous de rochers, des caniveaux, des fissures, des grottes, des terriers, des troncs d'arbres ou des termitières.

1.2 Lutte contre les vecteurs du paludisme

La lutte antipaludique implique le diagnostic et le traitement des cas de paludisme, la prévention des piqûres de moustiques et la destruction de ces insectes. Dans la plupart des situations, les principales mesures de lutte antivectorielle sont les moustiquaires imprégnées d'insecticide ou les pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent. Selon les cas, les traitements larvicides, les poissons larvivores, les pulvérisations spatiales, les produits répulsifs et la pose de grillages-moustiquaires sur les maisons peuvent également être utiles.

L'élimination des gîtes larvaires et la destruction des larves, des nymphes et des moustiques adultes contribuent à réduire le nombre des vecteurs et, dans le cas des adultes, leur longévité. On peut éliminer les gîtes larvaires en drainant ou en remblayant les endroits où l'eau stagne, ou en modifiant les habitats préférés d'une espèce donnée, par exemple en nettoyant les cours d'eau pour accélérer le courant. On peut réduire ou éviter la présence des larves par les moyens suivants :

- traitement de l'eau avec des produits larvicides pour les tuer ;
- introduction de poissons ou d'autres prédateurs qui s'en nourrissent.

Dans chaque situation, la méthode optimale de lutte contre les moustiques dépend d'une compréhension approfondie du comportement et de l'écologie des vecteurs locaux.

Dans de nombreuses régions, la prévention du paludisme transmis par des vecteurs endophiles peut être évitée ou jugulée en distribuant à grande échelle des moustiquaires imprégnées d'insecticide ou en pulvérisant les murs intérieurs avec des insecticides à effet rémanent. Avant, mais surtout après la piqûre, les moustiques endophiles se reposent sur un mur, un plafond ou d'autres endroits sombres de la maison. Si la surface sur laquelle ils sont posés a été traitée par un insecticide à effet rémanent, ils peuvent en absorber une dose mortelle, ce qui les empêchera de transmettre le parasite. Le but des moustiquaires imprégnées ou des pulvérisations à effet rémanent consiste à réduire la longévité des moustiques, de façon à ce que les sporozoïtes n'aient pas le temps de se développer, et à diminuer la densité de ces insectes.

Malheureusement, les moustiques peuvent développer des résistances à une gamme étendue d'insecticides. Il est important de savoir quand une résistance apparaît dans une espèce donnée pour décider de la mesure la plus adaptée pour gérer cette résistance, par exemple en interrompant les pulvérisations, en changeant d'insecticide pour une autre classe de produits ou par d'autres moyens.

La capacité vectorielle des moustiques (voir l'unité 4) peut être réduite au moyens de diverses méthodes de lutte contre les vecteurs influant sur la densité d'adultes, leur survie ou encore le taux de piqûres. La lutte contre les larves, par la réduction à la source, l'introduction de poissons larvivores et les traitements larvicides, a principalement un effet sur la densité des adultes. Les améliorations apportées aux logements et les produits répulsifs réduisent les taux de piqûres chez l'homme. Point important, l'utilisation à grande échelle des moustiquaires imprégnées et des pulvérisations intradomiciliaires d'insecticide à effet rémanent peut diminuer à la fois la survie des adultes ainsi que les taux de piqûres.

Une faible diminution de la longévité des moustiques peut réduire sensiblement la capacité vectorielle, comme le montre sa description mathématique. C'est la raison pour laquelle on considère que les MID et les PID sont des stratégies essentielles de lutte contre les vecteurs du paludisme.

1.3 Rôle de la surveillance entomologique pour la lutte antipaludique

La surveillance entomologique et parasitologique donne des informations sur les caractéristiques de la transmission dans une région donnée, ainsi que sur le comportement et les habitats de l'espèce vectrice spécifique. Ces informations sont essentielles pour les programmes de lutte antipaludique (et d'élimination).

La surveillance entomologique a plusieurs rôles importants à jouer dans la lutte antipaludique, notamment :

- l'identification des vecteurs responsables de la transmission du parasite ;
- l'obtention des informations de base sur le comportement et les habitats des espèces vectrices dans le but de planifier des mesures de lutte efficaces ;
- le suivi de l'impact des mesures de lutte (par exemple en déterminant les modifications de la densité vectorielle, les taux d'infection, la sensibilité des vecteurs aux insecticides et l'effet rémanent des insecticides sur les surfaces traitées) ;
- la contribution aux investigations sur les zones posant problème, là où les mesures de lutte se sont avérées inefficaces.

Les programmes de lutte antivectorielle devraient être planifiés sur la base de la surveillance entomologique. Les études entomologiques et épidémiologiques peuvent apporter des réponses aux questions énumérées ci-après. Les techniques requises pour y répondre vont être enseignées dans les unités suivantes.

- Y a-t-il une transmission du paludisme dans la zone étudiée ? Si oui, quelle est la situation spécifique et quelles sont les limites géographiques de la maladie ?
- Y a-t-il d'autres maladies importantes transmises par les moustiques ? Lesquelles ?
- Quelles espèces d'anophèles observe-t-on dans la zone étudiée ? Lesquelles sont des vecteurs importants du paludisme ?
- Quelle proportion d'espèces vectrices se nourrissent sur l'être humain ? Parmi ces espèces, quelle proportion se repose à l'intérieur des habitations ?
- Où la majorité des vecteurs préfèrent-ils piquer l'être humain et où le contact a-t-il surtout lieu, à l'intérieur ou à l'extérieur ? À quel moment se situe le pic d'activité du vecteur ?

- Combien y a-t-il en moyenne de piqûres infectantes par personne et par nuit ?
- Comment peut-on déterminer la durée de l'efficacité d'un insecticide déposé sur une surface (par imprégnation de moustiquaires ou pulvérisations sur des murs par exemple) ?
- Quel type de collection d'eau l'espèce vectrice spécifique de la zone étudiée préfère-t-elle pour pondre ?
- Dans quelles conditions épidémiologiques et économiques doit-on recommander ou, au contraire, déconseiller une stratégie de lutte antivectorielle pour diminuer la transmission ?
- Quelle proportion de la population de vecteurs est sensible et quelle proportion est résistante aux insecticides ?
- Quels sont les effets des différentes options de lutte antivectorielle sur la transmission, la morbidité et la mortalité du paludisme ?
- Quelles options conviennent le mieux selon les habitudes et habitats spécifiques des espèces vectrices ?
- Comment peut-on évaluer l'efficacité à court et à long terme d'une stratégie de lutte antivectorielle ?

L'entomologie du paludisme ne se limite pas à la lutte antivectorielle. Toute stratégie de lutte antipaludique devrait s'appuyer sur la compréhension approfondie des caractéristiques de la transmission de la maladie, ce qui implique à la fois des études théoriques (par exemple à l'aide de modèles mathématiques) et des observations empiriques. Les paramètres entomologiques sont le fondement de telles études. Celles-ci sont également importantes pour estimer l'impact escompté des diverses mesures de lutte. Les données permettent de décider si certaines mesures sont plus utiles que d'autres ou si certaines pourraient s'avérer dangereuses à mettre en œuvre.

Démonstration du cycle de vie des anophèles

L'instructeur va présenter le cycle de vie des anophèles dans un insectarium. Les participants visitent ce local par groupes de 10 et observent les spécimens vivants à chacun des stades du cycle. Pour en savoir plus sur la mise en place d'un insectarium, consulter l'annexe 1.

Exercise 1.1

Quel est le rôle de la surveillance entomologique dans la lutte antipaludique ?

UNITÉ D'APPRENTISSAGE **2**

Identification des vecteurs du paludisme

Objectifs d'apprentissage :
À la fin de l'unité, les participants devraient pouvoir...

- distinguer les moustiques des autres insectes en observant la morphologie externe
- décrire l'anatomie des adultes et des larves d'anophèles
- décrire les caractères morphologiques importants des adultes et des larves d'anophèles utilisés pour l'identification des espèces
- distinguer les moustiques mâles des femelles
- distinguer les œufs, larves, nymphes et adultes d'Anophelinae et de Culicinae
- utiliser une clef d'identification des espèces
- décrire les principales méthodes biochimiques et moléculaires utilisées pour l'identification des vecteurs

2.1 Distinguer les moustiques des autres insectes

Les moustiques appartiennent à l'embranchement des arthropodes, à la classe des insectes et à l'ordre des diptères. L'embranchement des arthropodes inclut (entre autres) les araignées, les scarabés, les tiques, les papillons, les mouches et les moustiques. On les reconnaît aux caractéristiques suivantes :

Le corps :

- se compose de plusieurs parties ou segments, dont certains sont articulés ;
- est recouvert d'une carapace épaisse appelée exosquelette ;
- porte généralement des pattes articulées, allant par paires et des antennes.

On distingue plusieurs classes dans les arthropodes, dont celle des insectes à laquelle les moustiques appartiennent. Les insectes ont les caractéristiques suivantes :

- le corps est divisé en trois parties, la tête, le thorax et l'abdomen ;
- la tête porte une paire d'antennes et une paire d'yeux composés ;
- le thorax porte trois paires de pattes.

On trouve plusieurs ordres dans la classe des insectes et les moustiques appartiennent à celui des diptères. Les insectes de cet ordre ont les caractéristiques suivantes :

- le thorax porte une paire d'ailes visibles ;
- les ailes postérieures, dites vestigiales (c'est-à-dire atrophiées), sont de fins filaments mobiles que l'on appelle des « haltères » et que l'insecte utilise surtout pour maintenir l'équilibre.

La Figure 2.1 montre les principaux éléments du moustique adulte. Le corps, comme chez tous les insectes, est divisé en trois parties, la tête, le thorax et l'abdomen. Quatre caractéristiques permettent d'identifier les moustiques adultes : une seule paire d'ailes, une longue trompe (ou proboscis) et des palpes maxillaires ; le corps recouvert d'écailles ; les ailes portant des nervures présentant un dessin particulier.

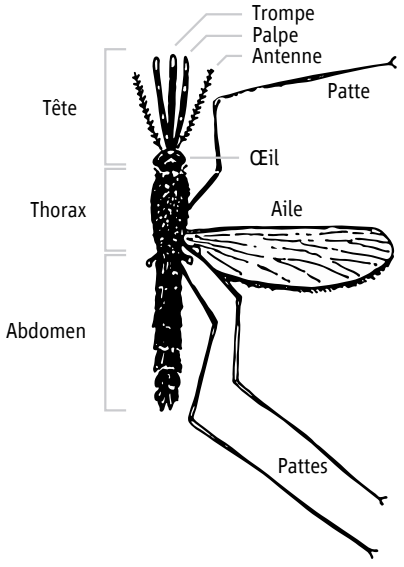


Figure 2.1 Principaux éléments du moustique adulte

Complexes d'espèces (espèces jumelles)

De nombreux insectes vecteurs appartiennent à des complexes d'espèces composés d'espèces jumelles, dont la morphologie est souvent identique, mais dont le comportement ou l'écologie diffèrent. Au moins la moitié des vecteurs importants du paludisme appartiennent à des complexes d'espèces jumelles (ou cryptiques), dont les membres présentent un isomorphisme ou une similitude. Le fait de reconnaître que les membres des complexes d'espèces cryptiques diffèrent souvent dans leur capacité à transmettre le paludisme a été, et continue d'être, le moteur de l'élaboration de méthodes d'identification faisant appel à d'autres critères que les critères morphologiques. Pour être idéale, une méthode doit être rapide, efficace, peu coûteuse, facile à mettre en œuvre et applicable aux deux sexes comme à tous les stades du développement.

2.2 Distinguer les Anophelinae et les Culicinae

Les Figures 2.2 et 2.3 illustrent les caractères distinctifs de ces deux groupes.

Œufs

Les œufs des Culicinae sont pondus en masse agglutinée, formant une sorte de « radeau » (*Culex*) ou flottant séparément (*Aedes*) ; les œufs d'Anophelinae flottent séparément, chacun d'eux étant muni de « flotteurs ».

Larves

La larve de Culicinae a un tube respiratoire (siphon) qu'elle utilise aussi pour rester suspendue sous la surface de l'eau. En revanche, les larves d'Anophelinae n'ont pas de siphon et restent parallèles, affleurant sous la surface de l'eau. Le siphon des larves de *Culex* est plus long que celui des larves *d'Aedes*.

Nymphes

Les Anophelinae, comme les nymphes, sont en forme de virgule et se suspendent juste sous la surface de l'eau. Elles se mettent à nager lorsqu'elles sont dérangées. La trompette respiratoire de la nymphe d'Anophelinae est courte avec une large ouverture, tandis que celle de la nymphe de Culicinae est longue et fine, avec une ouverture étroite. Il est cependant difficile de distinguer les nymphes d'Anophelinae et de Culicinae sur le terrain, il est préférable de les élever dans un insectarium pour pouvoir identifier les moustiques adultes qui en émergent.

Adultes

Avec des moustiques vivants, on peut distinguer les Anophelinae et les Culicinae en observant leur position au repos. Les premiers forment un angle de 50 à 90° par rapport à la surface, tandis que les seconds adoptent une position plus ou moins parallèle (Figure 2.2).

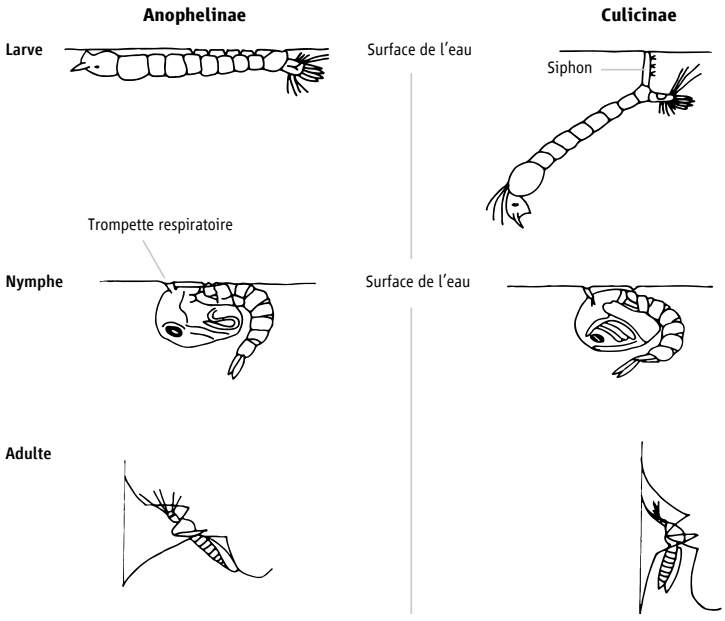


Figure 2.2 Comparaison des Anophelinae et des Culicinae

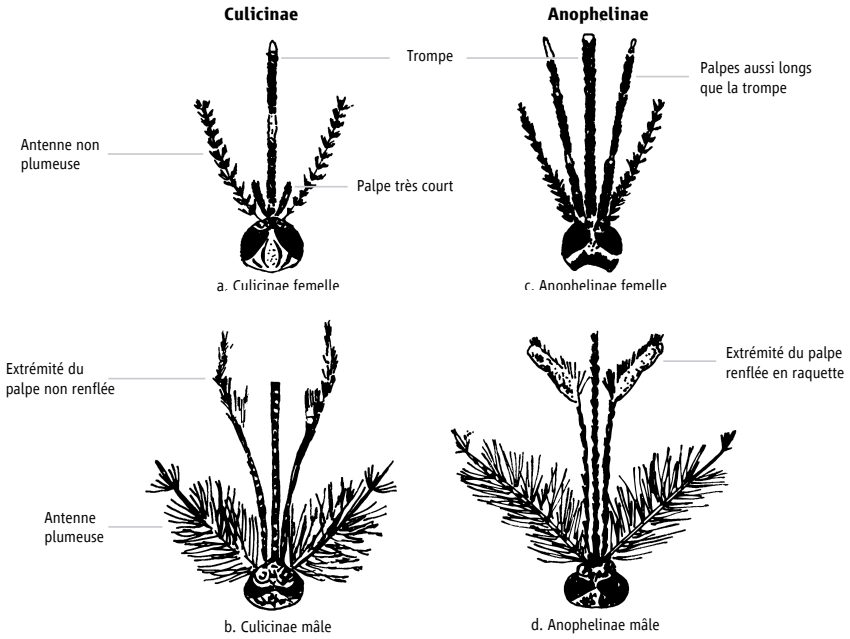


Figure 2.3 Têtes de Culicinae (a, c) et d'Anophelinae (b, d) femelles et mâles

La longueur et la forme des palpes maxillaires permettent aussi de distinguer les Anophelinae des Culicinae. Les différences (voir Figure 2.3) sont les suivantes :

- chez les femelles de Culicinae, les palpes sont beaucoup plus courts que la trompe (Figure 2.3a) ;
- chez les femelles d'Anophelinae, les palpes sont aussi longs que la trompe (Figure 2.3b) ;
- chez les mâles de Culicinae, les palpes sont plus longs que la trompe, avec une extrémité effilée (Figure 2.3c) ;
- chez les mâles d'Anophelinae, les palpes sont aussi long et que la trompe, avec une extrémité renflée en raquette (Figure 2.3d).

2.3 Distinguer les anophèles femelles et mâles

Comme seules les femelles se nourrissent de sang et transmettent le paludisme, il est important de savoir les distinguer des mâles.

Sur les antennes des femelles, les poils sont relativement peu nombreux et courts (Figure 2.3b). En revanche, les antennes du mâle sont garnies de très longs poils, lui donnant une apparence plumeuse ou touffue, un peu comme une moustache (Figure 2.3.d).

2.4 Identification des espèces d'Anophelinae

Vous allez apprendre comment identifier les espèces vectrices courantes dans votre zone en appliquant des clefs d'identification (voir la section 2.4.3). Les informations collectées pendant les enquêtes entomologiques ne sont utiles que si les moustiques sont correctement identifiés. Il est donc essentiel de pouvoir déterminer les espèces des adultes et des larves observées. L'identification des nymphes est très difficile de sorte que, quand on en récolte sur le terrain, elles doivent être gardées vivantes jusqu'à l'émergence des adultes, ceux-ci étant plus faciles à identifier. Nous allons décrire quelques-uns des caractères externes des adultes et des larves d'anophèles pouvant servir à l'identification de l'espèce.

2.4.1 Anatomie externe de l'anophèle adulte

Tête

La tête présente une paire de grands yeux composés et une paire d'antennes implantées entre ceux-ci (Figure 2.3). Sous les antennes, on trouve une paire de palpes composés de cinq parties chez les anophèles. Ils sont recouverts d'écailles pouvant être de différentes couleurs et utilisées pour l'identification de l'espèce. La trompe est rattachée à la partie ventrale de la tête et pointe vers l'avant.

Thorax

Le thorax porte une paire d'ailes et une paire d'haltères sur la face supérieure et trois paires de pattes sur sa face inférieure (ventrale).

Les ailes présentent plusieurs nervures, chacune d'entre elle portant un nom ou un numéro (Figure 2.4). La nervure qui longe le bord antérieur s'appelle costa et celle qui est plus courte, située en dessous, est la subcosta. On compte six autres nervures, numérotées de 1 à 6, parmi lesquelles les nervures 2, 4 et 5 qui sont ramifiées. Ces nervures sont couvertes d'écailles, habituellement de couleur brun foncé, blanche ou crème. Le bord postérieur de l'aile est garni de fines écailles. De nombreux Anophelinae ont des ailes présentant des taches sombres et claires qui, avec d'autres caractéristiques, sont utiles pour déterminer l'espèce.

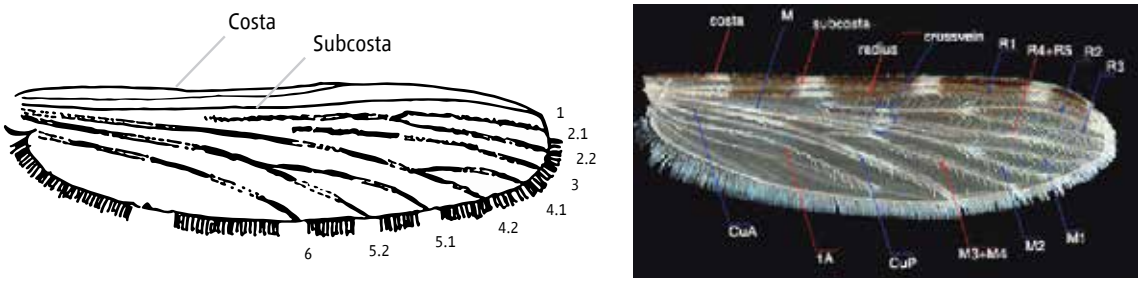


Figure 2.4 ***Aile d'anophèle (avec les nervures principales)***

Les pattes sont longues avec une courte hanche appelée coxa les reliant au corps de l'insecte. On observe ensuite un trochanter lui aussi court, puis un long fémur, un long tibia et un long tarse composé de cinq segments ou articles (tarsomères) numérotés de 1 à 5, le numéro 1 étant le plus proche du corps (Figure 2.5). Une paire de griffes termine l'ensemble. Les pattes sont aussi couvertes d'écailles pouvant être de différentes couleurs et utilisées pour l'identification des espèces.

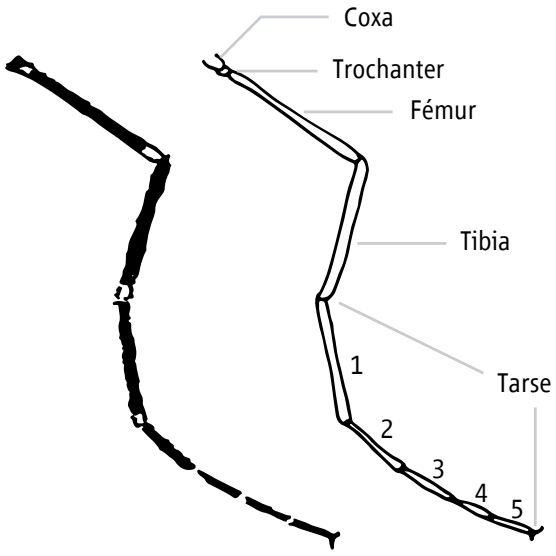


Figure 2.5 Patte d'anophèle

Abdomen

L'abdomen comporte huit segments visibles (Figure 2.6). Les laques supérieures sont appelées tergites et les plaques inférieures sternites. Elles sont reliées par une membrane qui permet à l'abdomen de se distendre lorsque la femelle prend un repas de sang.

2.4.2 Anatomie externe de la larve d'anophèle

Le corps de la larve se divise en trois parties : tête, thorax et abdomen (Figure 2.6a). Toutes ces parties sont garnies de soies.

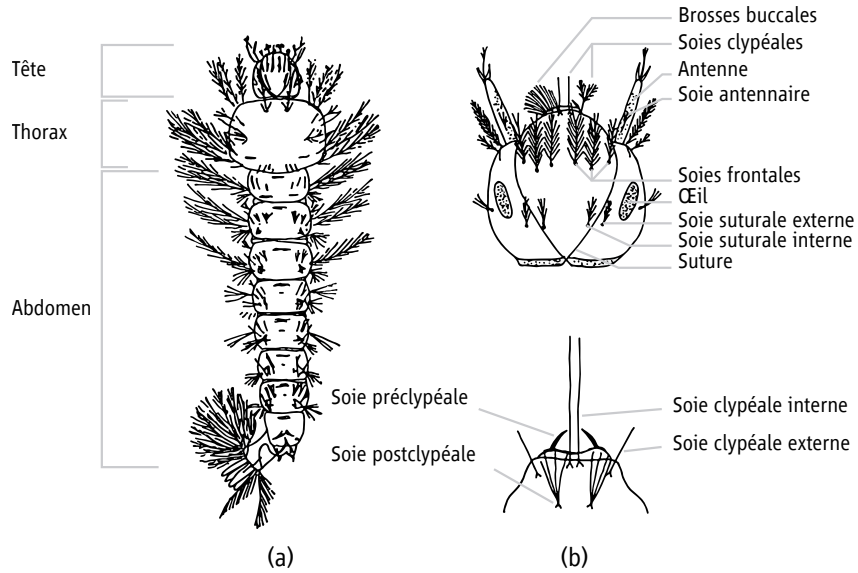


Figure 2.6 a) parties du corps et b) tête d'une larve d'Anophelinae

Tête

La tête porte une paire d'antennes, une de chaque côté, garnie de soies sur l'extrémité et les côtés (Figure 2.6b). Une paire de brosses buccales se situent sur le devant de la tête. La surface supérieure porte un certain nombre de soies dont la position et la forme sont importantes pour l'identification.

Thorax

Le thorax se compose de trois parties : le prothorax, le mésothorax et le métathorax (Figure 2.7). Les soies portées par ces différentes parties sont appelées prothoraciques, mésothoraciques et métathoraciques (Figure 2.7a). On en trouve à la fois sur les faces inférieures et supérieures. Sur la face inférieure il y a trois groupes de soies de chaque côté, avec quatre soies dans chacun d'eux. On parle de groupe pleural prothoracique, de groupe pleural mésothoracique et de groupe pleural métathoracique (Figure 2.7b). Ces soies sont également importantes pour l'identification des espèces.

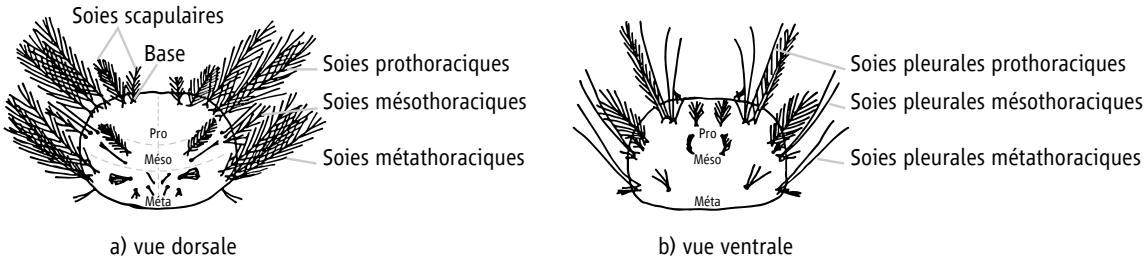
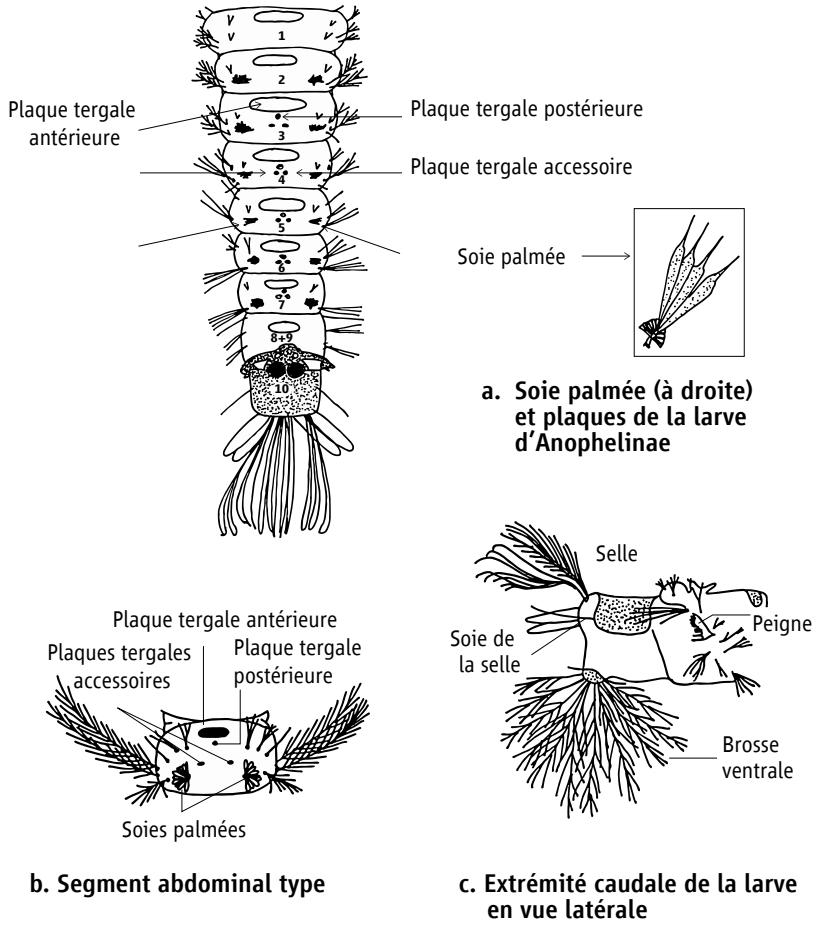


Figure 2.7 Thorax d'une larve d'Anophelinae a) vue dorsale et b) vue ventrale)

Abdomen

L'abdomen se compose de huit segments semblables et de deux segments modifiés (Figure 2.8a) : le neuvième a une paire de spiracles et le dixième est la partie anale. On trouve des soies bien développées en forme d'éventail, appelées soies palmées, sur les segments IV-VI, et parfois aussi sur les segments I-III. Chaque segment compte jusqu'à quatre plaques tergales sur la face dorsale. Il y en a généralement une à l'avant et une à l'arrière de chaque segment, en plus de deux plaques accessoires (Figure 2.8b) Le segment abdominal IX est réuni au VIII et porte les spiracles permettant à la larve de respirer. Sur chaque côté du segment IX, on observe une plaque triangulaire munie de dents appelée peigne (Figure 2.8c). La majeure partie de la face supérieure du segment anal est occupée par une grande plaque tergale appelée selle (Figure 2.8c). Des soies peuvent émerger de la selle ou du segment anal (X). Sur la face inférieure du segment, une série de soies forment la brosse ventrale. Quatre papilles anales se détachent du segment.



a. Soie palmée (à droite) et plaques de la larve d'Anophelinae

b. Segment abdominal type

c. Extrémité caudale de la larve en vue latérale

Figure 2.8 Abdomen d'une larve d'Anophelinae

2.4.3 Clefs d'identification morphologique des anophèles adultes

Des clefs d'identification des adultes et des larves d'Anophelinae ont été mises au point pour la plupart des régions du monde. Vous devez tout d'abord vous assurer de choisir une clef taxonomique adaptée à la région concernée ou à une région la plus proche possible.

Le type de clef d'identification le plus communément utilisé s'appuie sur des descriptions groupées par paires. On parle alors de clef dichotomique. Le principe est que seule l'une des deux descriptions correspond au spécimen examiné. Il faut déterminer celle qui s'applique à

l'insecte que vous étudiez. À la fin de la comparaison, vous trouverez soit un nombre indiquant la paire suivante à utiliser, soit le nom du spécimen. Lorsque vous passez à la paire suivante, vous sélectionnez de nouveau la réponse correcte et poursuivez la démarche jusqu'à l'identification de l'espèce correspondant au spécimen

Exemple

Un moustique dont les ailes ont des écailles claires et foncées, les pattes sont tachetées et la moitié de la trompe est pâle sera identifié comme étant de l'espèce E en parcourant la clef suivante :

1. Ailes avec des écailles foncées 2

   Ailes avec des écailles claires et foncées 3

2. Pattes avec des écailles foncées ..... Espèce A

   Pattes avec des écailles claires et foncées ..... Espèce B

3. Pattes avec des écailles foncées ..... Espèce C

   Pattes avec des écailles claires et foncées (tachetées) 4

4. Trompe foncée sur toute la longueur ..... Espèce D

   Trompe avec écailles claires sur la partie apicale ..... Espèce E

2.4.4 Autres techniques d'identification des espèces

Certaines espèces d'Anophelinae ont une morphologie externe similaire alors qu'elles appartiennent à des espèces différentes. Génétiquement apparentées, on parle d'espèces jumelles et elles sont morphologiquement regroupées dans un même complexe. Par exemple, dans le complexe *Anopheles gambiae* (également appelé *Anopheles gambiae* sensu lato ou s.l.), on trouve sept espèces différentes : *A. gambiae* sensu stricto (s.s.), *A. arabiensis, A. quadriannulatus* espèce A, *A. quadriannulatus* espèce B, *A. bwambae, A. merus* et *A. melas*. Il est impossible de différencier ces espèces à l'aide d'une clef d'identification basée sur la morphologie externe. Si l'on ne peut pas identifier une espèce particulière d'après la morphologie externe, on enregistre alors le nom du complexe, par exemple *A. gambiae s.l.*

Note : L'identification correcte des espèces est essentielle pour les études épidémiologiques et les programmes de lutte. Les problèmes de la taxonomie classique des anophèles sont dus non seulement à la forte similitude morphologique entre différentes espèces, mais aussi à des variations morphologiques prononcées au sein des espèces. L'identification exacte des espèces nécessite en général l'élevage de l'insecte pour pourvoir mettre en corrélation la morphologie de l'adulte et des stades immatures.

2.4.4.1 Méthodes et marqueurs les plus couramment utilisés pour l'identification des anophèles

Cytogénétique

La cytogénétique, impliquant le caryotypage des chromosomes polytènes, a été l'un des premiers outils pour l'étude de la génétique des Anophelinae. L'un des inconvénients de cette technique pour l'identification des anophèles réside dans le fait que les préparations de chromosomes polytènes doivent être faites à partir de tissu ovarien ou de larve au quatrième stade. Les échantillons possibles se limitent donc soit aux femelles adultes gorgées de sang, soit aux larves à un stade tardif. En plus de la pénurie de personnel expérimenté formé à la lecture

des préparations de chromosomes polytènes, les marqueurs ne sont pas abondants ou peu informatifs pour certaines espèces. Malgré ces limitations, la méthode continue de faire partie intégrante de nombreux travaux contemporains. La cytogénétique s'est avérée immensément utile pour différencier des taxons sympatriques et des formes chromosomiques. De fait, elle reste le seul outil capable de différencier avec fiabilité toutes les formes chromosomiques d'*Anopheles gambiae* s.s. et, jusqu'à tout récemment, la seule aussi pour différencier avec certitude les neuf membres du groupe *Anopheles funestus*.

Des inversions chromosomiques ont également été utilisées pour résoudre des questions de phylogénétique concernant l'origine, le maintien et l'introgression d'inversions entre des populations et taxons sympatriques, ce pour de nombreux groupes d'espèces d'Anophelinae. L'introgression génétique de variants chromosomiques d'adaptation à par exemple été mise en évidence entre les deux espèces jumelles, *A. gambiae* s.s. et *Anopheles arabiensis*.

Analyse des isoenzymes

Il s'agit d'une technique classique dont l'utilité est avérée, mais qui a largement laissé la place aux techniques basées sur la PCR. Entre autres inconvénients, cette tehnique nécessite que les échantillons soient frais ou congelés jusqu'au moment de l'analyse et que la procédure elle-même requiert une quantité d'échantillon relativement importante, par rapport aux quelques nanogrammes d'ADN nécessaires pour une PCR. Néanmoins, les isoenzymes ont fourni des données utiles sur lesquelles se basent une grande partie des travaux contemporains sur les Anophelinae.

Le faible polymorphisme des allozymes et la stabilité apparente de la fréquence des allèles dans les populations d'*A. gambiae* s.s. ont conduit à observer des discordances entre les données obtenues par l'étude des allozymes et des caryotypes.

Marqueurs génétiques classiques

Cette classe de marqueurs est le plus souvent identifiée en ciblant un gène ou fragment génétique défini, qui est analysé à l'aide de diverses techniques pour évaluer la variabilité génétique jusqu'à la résolution des polymorphismes mononucléotidiques (SNP). Le séquençage, le polymorphisme de conformation des simples brins (SSCP) et le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) sont les techniques les plus couramment utilisées pour évaluer le polymorphisme de ces cibles génétiques.

ADN mitochondrial

On utilise fréquemment le génome mitochondrial dans les études phylogénétiques et génétique des populations. La séquence et l'organisation du génome mitochondrial d'*A. gambiae* ont été publiées en 2002. Des études sur le terrain ont rapidement mis ces informations à profit par l'analyse de régions codantes [c'est-à-dire la sous-unité 5 de la NADH déshydrogénase (ND5) et les sous-unités I et II de la cytochrome oxydase (COI et COII)] et non codantes (ARN 16S et 12S) fréquemment ciblées. L'ADN mitochondrial a été également utilisé pour étudier une grande variété d'Anophelinae et de complexes d'espèces au sein de cette sous-famille.

ADN ribosomique (ADNr)

L'espaceur intergénique (IGS) et les espaceurs transcrits internes (ITS1 et ITS2) dans le génome nucléaire ribosomique sont devenus des cibles populaires pour explorer les relations taxonomiques chez les Anophelinae. Des chercheurs ont découvert que la séquence

nucléotidique de ces régions présente souvent un polymorphisme bien plus grand entre les espèces qu'au sein d'une même espèce. Ces régions du génome sont donc utiles pour délimiter les différences moléculaires entre espèces cryptiques au moyen des polymorphismes de longueur ou de séquence. Avec l'augmentation du nombre des complexes d'espèces reconnus chez les Anophelinae, la connaissance de ces séquences est utilisée pour mettre au point des outils de diagnostic par PCR qui permettent de différencier des taxons cryptiques. La plupart de ces diagnostics moléculaires appartiennent à trois catégories : *i)* des tests reposant sur des groupes d'amorces spécifiques des espèces, qui génèrent des produits différentiels de PCR; *ii)* des diagnostics de l'ADNr reposant sur des profils de RFLP uniques provenant de la digestion enzymatique d'un produit conservé de la PCR et *iii)* des tests basés sur l'hybridation d'ADN spécifique à une séquence donnée, propre à une espèce. Des « dot blots » de ce type, spécifiques de certaines espèces, ont été mis au point pour des taxons cryptiques ou difficiles à différencier des autres vecteurs ou non-vecteurs.

ADN microsatellites

L'ADN répété en tandem, plus communément appelé ADN microsatellite, est devenu un outil populaire pour les études génétiques des Anophelinae. Les microsatellites, qui ont été décrits pour les Anophelinae de l'ancien monde comme du nouveau monde, se sont avérés particulièrement utiles pour examiner la génétique des populations et la cartographie génétique. Le haut degré de polymorphisme de ces marqueurs se prête favorablement à l'étude de la structure des populations des complexes d'espèces de moustiques, à petite comme à grande échelle géographique. La plupart de ces travaux continuent de porter sur *A. gambiae* s.s. et les formes chromosomiques de ce complexe d'espèces, mais il y a un nombre croissant d'études sur la structure génétique, la stabilité et les flux géniques dans les populations d'*A. arabiensis*.

Amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD)

Ces marqueurs ont été utilisés pour faire la distinction entre *A. gambiae* et *A. arabiensis*. C'est un outil potentiel pour différencier des espèces cryptiques de moustiques. L'utilisation des RAPD se heurte à certaines limites pour l'identification d'espèces jumelles.

Démonstration

Des échantillons conservés et vivants d'Anophelinae et de Culicinae vous seront présentés aux différents stades de leur cycle de vie. Prenez votre temps pour les examiner et observez les différences à chaque stade du cycle.

Exercise 2.1

Décrivez les caractéristiques qui distinguent les Anophelinae des Culicinae.

Vous aurez à disposition un microscope à dissection, des pinces, des aiguilles et des spécimens d'anophèles femelles venant d'être montés, ainsi que des larves préparées sur des lames. Identifiez les échantillons en allant jusqu'au niveau de l'espèce (ou du complexe d'espèces).

UNITÉ D'APPRENTISSAGE **3**

Échantillonnage des vecteurs du paludisme

Objectifs d'apprentissage :
À la fin de l'unité, les participants devraient pouvoir...

- expliquer l'importance de mener des études entomologiques
- identifier les sites de repos des moustiques adultes
- décrire les méthodes de capture des moustiques adultes
- appliquer les différents éléments de chaque méthode de capture des moustiques adultes
- identifier les gîtes larvaires potentiels des vecteurs du paludisme
- capturer des larves et des nymphes à l'aide d'une louche ou d'un filet à larves
- manipuler et transporter jusqu'au laboratoire des larves et des nymphes capturées sur le terrain
- tuer et conserver des moustiques

3.1 Surveillance entomologique

Les enquêtes ou études entomologiques sont une composante essentielle des programmes de lutte contre les vecteurs du paludisme, des activités opérationnelles et de la recherche. Quatre principaux types sont menés pour étudier les vecteurs : *i)* les enquêtes préliminaires ; *ii)* les observations de routine ou de tendance ; *iii)* les contrôles ponctuels et *iv)* les investigations focales ou ciblées.

La surveillance entomologique a pour but principal de réunir des données de référence pour la planification des mesures antivectorielles, notamment :

- la reconnaissance des anophèles en les distinguant des autres insectes ;
- l'identification des espèces vectrices du paludisme ;
- la densité des populations de vecteurs ;
- les taux d'infections (indice sporozoïtique, indice oocystique) ;
- la longévité des vecteurs (pares et nullipares) ;
- les habitudes trophiques (zoophilie, anthropophilie) ;
- le comportement (exophilie, endophilie, exophagie, endophagie) ;
- les activités saisonnières ;
- les gîtes larvaires ;
- les types de collection d'eau favorables au développement larvaire ;
- la sensibilité aux insecticides ;
- l'effet rémanent des insecticides.

3.1.1 Enquêtes préliminaires

Les enquêtes préliminaires sont des études initiales de base, de courte durée, permettant de réunir des données de référence en vue de planifier des mesures de lutte antivectorielle. Elles fournissent des informations sur l'identité des espèces vectrices, leurs habitudes trophiques, leurs habitudes de repos, les densités saisonnières, leur longévité, les types de collections d'eau utilisées comme gîtes larvaires et leur sensibilité aux insecticides disponibles.

3.1.2 Observations de routine ou de tendance

Ce sont des observations sur le long terme, faites régulièrement, par exemple tous les mois ou tous les semestres, dans le but de suivre et d'évaluer l'impact des mesures de lutte. Elles fournissent des informations sur les modifications de la densité vectorielle, des taux d'infection, du comportement et de la sensibilité des vecteurs aux insecticides.

3.1.3 Contrôles ponctuels

Ils se font dans des localités choisies au hasard. Comme les postes fixes souvent utilisés pour suivre les populations de moustiques peuvent ne pas être représentatifs de tous les endroits, des contrôles ponctuels peuvent être effectués de manière aléatoire dans des zones choisies pour compléter les observations de routine ou obtenir des indications plus claires sur les effets des mesures de lutte.

3.1.4 Investigations focales / ciblées

Elles sont entreprises dans des localités où une transmission récente ou persistante du paludisme est connue, pour savoir pourquoi celui-ci se transmet, pourquoi il ne réagit pas aux mesures appliquées, ainsi que pour déterminer les meilleures méthodes de lutte.

3.2 Méthodes de capture des moustiques adultes

3.2.1 Capture des moustiques endophiles à la main

De nombreuses espèces d'anophèles vectrices du paludisme se reposent à l'intérieur des habitations. La capture à la main donne des informations sur les endroits de repos, la densité au repos et les variations saisonnières de densité. Elle fournit également des spécimens vivants pour les tests de sensibilité aux insecticides et l'observation de la mortalité dans les maisons traitées.

Équipement

Aspirateur à bouche, lampe torche, gobelets en carton recouverts d'une toile moustiquaire, coton hydrophile, élastiques, cages à moustiques, boîte en carton ou boîte isotherme à pique-nique, chloroforme et torchons (Figure 3.1).

Comment se servir d'un aspirateur à bouche :

- Mettre l'embout à la bouche, en tenant l'ouverture du tube d'aspiration à 1 ou 2 cm du moustique.
- Approcher l'extrémité du tube du moustique au repos, tout en aspirant doucement mais rapidement, de façon à aspirer l'insecte dans le tube.
- Mettre un doigt sur l'extrémité du tube pour éviter que le moustique ne s'échappe.
- Mettre l'extrémité du tube près du trou dans la toile couvrant le gobelet tout en gardant le doigt dans la même position. Enlever le doigt et enfoncer rapidement le tube dans le trou.
- Souffler doucement dans l'embout pour chasser le moustique dans le gobelet, en même temps tapoter le tube avec l'index pour déranger les moustiques au repos.

Il ne faut pas capturer plus de cinq moustiques dans le tube avant de les transférer dans le gobelet.

Figure 3.1 Aspirateur à bouche et gobelet en carton pour la capture des moustiques adultes à la main

Capture des moustiques endophiles à la main

On capture généralement les moustiques tôt le matin, lorsque les occupants de l'habitation se sont levés et habillés. Dans chaque village, on procède à des captures dans au moins 10 maisons pour avoir un échantillon représentatif. Il convient d'obtenir bien à l'avance l'accord des occupants, par exemple la veille. Ils ne doivent pas ouvrir les fenêtres.

Les moustiques capturés vivants dans les maisons peuvent être gardés pendant 24 heures. On pourra ainsi vérifier le taux de mortalité sur 24 heures pour les moustiques provenant de maisons où il y a des moustiquaires imprégnées ou qui ont été traitées par des pulvérisations.

Toute l'habitation doit être examinée ou, si la maison est trop grande, on passe 15 minutes dans chaque pièce. Il faut être particulièrement attentif aux pièces dans lesquelles des personnes ont dormi la nuit précédente. À l'aide de la lampe torche, chercher les moustiques sur les murs, au plafond, derrière et sous le mobilier, dans les grands pots et récipients et sous les lits (Figure 3.2). La recherche devra être systématique en commençant par la porte d'entrée, puis en allant vers la gauche et en se déplaçant dans toute la maison dans le sens des aiguilles d'une montre.

Utiliser un nouveau gobelet à chaque maison en y marquant clairement au crayon au moins les informations suivantes : localité, date et heure de la capture, durée en minutes de la capture, numéro de la maison ou nom de l'occupant, type de structure (maison, abri pour animaux, magasin, etc.), s'il y a eu un traitement insecticide, quand il a eu lieu, nombre de personnes et/ou d'animaux présents dans la pièce la nuit précédente, nom du récolteur. On peut aussi se contenter d'indiquer sur le gobelet la localité, la date, le numéro de la maison et le nom du récolteur, si on utilise aussi un formulaire de capture (accompagnant le gobelet) pour consigner les informations complètes.

Figure 3.2 Capture de moustiques à la main

Conservation des moustiques en vie sur le terrain

S'il faut garder les moustiques vivants pendant un moment sur le terrain et pendant le transport, il convient de prendre les précautions suivantes pour qu'ils restent en bon état :

- Tremper des morceaux de coton hydrophile dans une solution sucrée à 5–8 %, presser pour éliminer l'excès de solution et placer un coton sur chaque gobelets.
- Mettre les gobelets contenant les moustiques en position verticale dans un carton ou, de préférence, dans une boîte isotherme pour éviter qu'ils ne souffrent de la chaleur.
- Couvrir les gobelets avec un linge humide et le garder humide jusqu'à l'arrivée des moustiques au laboratoire.
- S'assurer de garder les moustiques dans des endroits non contaminés par des insecticides et à l'abri des fourmis.
- Avant le transport, mettre des journaux ou d'autres matériaux de remplissage entre les gobelets pour éviter les chocs. Conduire lentement et prudemment.

Comment tuer les moustiques

Ajouter quelques gouttes de chloroforme (ou d'acétate d'éthyle) sur un tampon de coton hydrophile avant de mettre celui-ci sur la toile moustiquaire au-dessus du gobelet. Recouvrir le gobelet avec le couvercle en verre d'une boîte de Petri pour empêcher l'évaporation du chloroforme. Ne pas utiliser un couvercle en plastique car il peut être dissout par le chloroforme. Comme pour tout autre produit chimique dangereux, prendre les mesures de sécurité standard pour manipuler le chloroforme.

3.2.2 Capture des moustiques endophiles par pulvérisation d'insecticide

Cette méthode consiste à effectuer une pulvérisation spatiale de pyréthrine pour paralyser les moustiques se reposant à l'intérieur des habitations et à les ramasser sur des draps blancs étendus au sol ou sur les autres surfaces planes de l'habitation.

Il est improbable qu'on réussisse à capturer à la main tous les moustiques au repos dans une habitation. Avec la capture par pulvérisation d'insecticide, il devrait être possible de récupérer presque tous les moustiques dans une pièce bien fermée où l'on a pulvérisé une solution de pyréthrine. Cette méthode permet d'entreprendre des études quantitatives, en mesurant notamment :

- la densité de moustiques endophiles (le nombre de moustiques se reposant à l'intérieur pendant la journée) ;
- la densité de piqûres sur l'homme (mesure indirecte) ;
- les variations saisonnières de la densité de moustiques endophiles ;
- le nombre de moustiques restant dans une pièce donnée après la capture à la main.

Équipement

Des draps blancs en coton (tailles : 2m x 1m, 2m x 2m, 2m x 3m), des pulvérisateurs à main, des insecticides en aérosol, une solution de pyréthrine, un solvant à base de pétrole, de petites boîtes de Petri, des gobelets en carton, des loupes, des pinces, un contenant (de préférence une boîte isotherme) pour le transport des moustiques, du coton hydrophile, du papier filtre, une lampe torche.

Les pulvérisateurs à main doivent être à double action, avec une soupape (Figure 3.3). La solution de pyréthrine doit être préparée à une concentration de 0,2 à 0,3 % dans un solvant à base de pétrole. Il faut prendre les précautions d'usage pour manipuler la pyréthrine et garder toujours ce produit hors de portée des enfants.

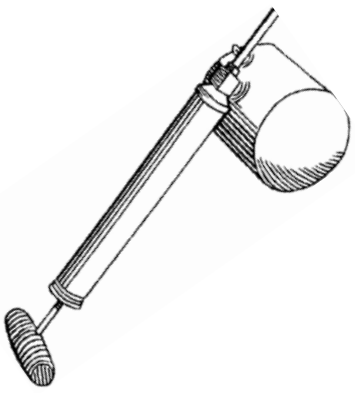


Figure 3.3 Pulvérisateur à main

Préparation des pièces pour la capture par pulvérisation d'insecticide

Les opérations de ce type sont menées en général par une équipe de trois à quatre personnes pour pouvoir capturer les moustiques dans 8 à 10 pièces dans chaque localité.

Pour s'assurer de déranger le moins possible les moustiques au repos, la pièce est préparée pour la pulvérisation de la manière suivante :

- Faire sortir toutes les personnes et tous les animaux.
- Enlever ou couvrir tous les aliments, l'eau et les équipements.
- Enlever tout le petit mobilier.
- Couvrir toutes les ouvertures et bouches d'aération avec des chiffons ou de la toile moustiquaire.
- Étendre les draps blancs de façon à recouvrir entièrement le sol et toutes les surfaces planes du mobilier restant ; il faut également étendre les draps sous les Tableaus, les lits et les autres endroits où les moustiques sont susceptibles de se cacher.
- Fermer toutes les portes et fenêtres.

Pulvérisation spatiale de l'insecticide et ramassage des moustiques

Un membre de l'équipe fait le tour de la pièce à l'extérieur en pulvérisant l'insecticide dans les ouvertures, les trous dans les murs et sur les avant-toits. La même personne ou un autre membre de l'équipe entre ensuite dans la pièce, ferme la porte et, en se déplaçant dans le sens des aiguilles d'une montre, pulvérise l'insecticide en direction du plafond jusqu'à ce que la pièce soit remplie d'une fine vapeur. L'opérateur doit alors quitter rapidement la pièce et s'assurer que la porte reste fermée pendant au moins 10 minutes.

En partant de la porte, ramasser les draps un par un en les tenant par les coins, puis les porter à l'extérieur. Récupérer alors les moustiques tombés sur les draps à la lumière du jour et en utilisant les pinces. Mettre les moustiques capturés dans une boîte de Petri étiquetée garnie d'une couche de coton hydrophile humidifié recouverte d'un papier filtre. Utiliser une boîte de Petri différente pour chaque maison et inscrire sur l'étiquette toutes les informations essentielles (Figure 3.4).

Figure 3.4 Ramassage sur les draps des moustiques endophiles

3.2.3 Capture avec des pièges de fenêtre (pièges de sortie)

Certaines espèces de moustiques piquent à l'intérieur mais quittent ensuite les habitations (moustiques endophages et exophiles). On utilise alors couramment des pièges de fenêtre ou de sortie pour les capturer au moment où ils quittent l'habitation. On utilise ces pièges pour déterminer :

- les espèces qui piquent à l'intérieur et se reposent à l'extérieur ;
- l'effet des pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent et des moustiquaires imprégnées d'insecticide sur les mouvements et comportements alimentaires normaux des moustiques ;
- l'effet rémanent des insecticides mis en évidence par le nombre de moustiques morts récupérés et par le taux de mortalité sur 24 heures des moustiques trouvés vivants dans les pièges.

Équipement

Piège de fenêtre, aspirateur à bouche, gobelets en carton couverts de toile moustiquaire, torchon, glacière isotherme, tissu foncé ou toile moustiquaire pour bloquer les ouvertures des pièces.

Installation des pièges de fenêtre

Les pièges de fenêtre (de sortie) ne conviennent que si les pièces sont bien fermées et ont peu de points de passage pour les moustiques. S'il y a d'autres ouvertures que les fenêtres sur lesquelles les pièges sont installés, elles doivent être recouvertes ou bloquées par des tissus foncés. On choisit normalement une chambre et on installe le piège sur une fenêtre. Si des parties de la fenêtre dépassent du piège, celles-ci doivent être recouvertes de tissu sombre ou de panneaux en dur. Le piège doit être installé de façon à ce que le manchon pour récupérer les moustiques pointe vers l'extérieur. Il est également important de fixer les pièges bien avant le coucher du soleil.

Figure 3.5 Piège de fenêtre (de sortie)

3.2.4 Capture des moustiques adultes à l'extérieur

Certaines espèces de moustiques n'entrent pas dans les maisons, piquent à l'extérieur et se reposent ensuite sur la végétation ou sur des surfaces solides abritées, comme des rives de cours d'eau, des bords de fossés, des trous de roche, des caniveaux, des fentes dans les murs en pierre, des grottes, des terriers, des troncs de grands arbres et des vieilles termitières.

Les données des captures à l'extérieur sont importantes pour évaluer l'impact des mesures de lutte antivectorielle. On obtient ainsi des informations sur :

- les espèces exophiles (qui se reposent à l'extérieur)
- le nombre relatif des moustiques exophiles
- les variations saisonnières du comportement exophile
- toute baisse éventuelle du nombre relatif des moustiques exophiles après l'application d'insecticides dans les maisons et d'autres bâtiments

La capture à l'extérieur est pratiquée soit sur les aires de repos naturelles que nous venons de décrire, soit dans des abris construit spécialement à cette intention. Les abris artificiels présentent l'avantage de concentrer les sites de capture et fournissent des échantillons plus représentatifs dans l'optique d'un travail quantitatif.

Équipement

Le matériel requis pour la capture des moustiques à l'extérieur est le même que celui qui a été énuméré pour la capture des moustiques endophiles à la main. On peut y ajouter un filet à main et un filet tombant. Comme la préparation ou la construction des abris artificiels se fera au cours du travail sur le terrain, il faut prévoir également un fût, deux pelles, une pioche et une hache.

Méthodes de capture à l'extérieur

Les méthodes courantes pour capturer les moustiques se reposant sur la végétation font appel à un tube d'aspiration, un filet à main ou un filet tombant. Les espèces se reposant normalement sur des surfaces solides sont capturées avec un tube d'aspiration dans les abris naturels ou artificiels. Ces derniers peuvent être aménagés avec de grands fûts ou boîtes, mis parfois sur les berges des cours d'eau, ou être creusés dans le sol (Figure 3.6 a et b). Des abris artificiels bien situés permettent en général de recueillir davantage de moustiques que l'environnement naturel.

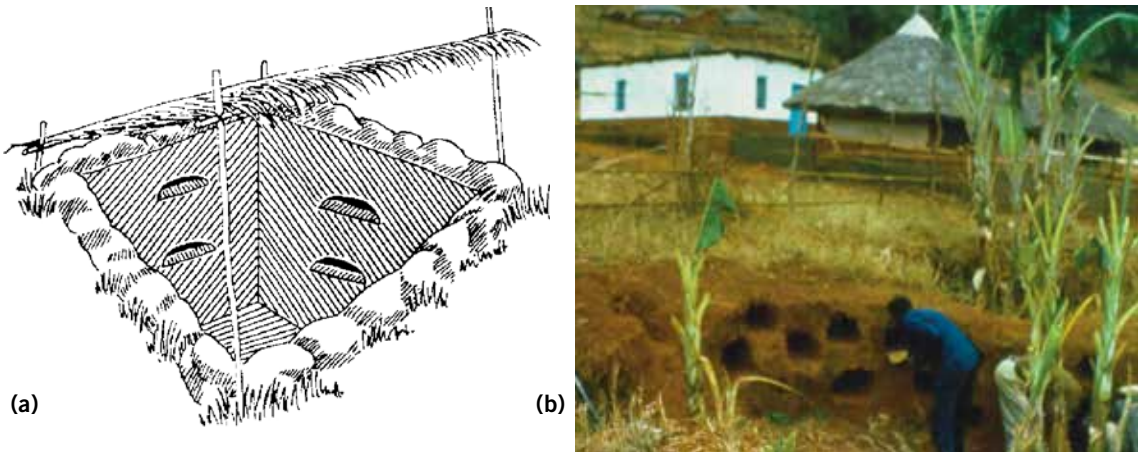


Figure 3.6 a) abri avec tranchée et toit et b) abri dans des trous naturels

On utilise un filet à main, ou filet fauchoir, pour capturer les moustiques au repos sur la végétation (Figure 3.7). La méthode d'utilisation correcte consiste à le passer rapidement au sommet des herbes hautes ou près du sol autour des buissons. Il faut veiller à consigner le type d'abri, le nombre de collectes et le temps total passé à capturer les moustiques.

Figure 3.7 Filet à main

3.2.5 Capture directe des moustiques sur des appâts

Pour leur repas de sang, les moustiques femelles sont attirés par les êtres humains et/ou les animaux. Le nombre des vecteurs piquant l'homme est donc un déterminant majeur de la transmission du paludisme et il est important de connaître :

- les espèces d'anophèles qui piquent l'être humain et celles qui préfèrent les animaux ;
- parmi les espèces anthropophiles, celles qui transmettent le paludisme ;
- la fréquence des piqûres sur une personne par un vecteur ;
- le comportement du vecteur, s'il est endophage ou exophage ;
- le moment du pic d'activité ;
- les variations saisonnières du nombre des moustiques piquant l'homme.

Équipement

Aspirateur à bouche, lampe torche, gobelets en carton recouverts de toile moustiquaire, réveil, pieux en bois et corde (pour attacher l'animal servant d'appât), marteau, coton hydrophile, torchons ou chiffons, boîte en carton ou glacière isotherme.

Appâts humains

Bien que la capture de moustiques sur des appâts humains soit utile pour mesurer directement les taux de piqûres, la méthode soulève des problèmes éthiques en raison du risque infectieux couru par les sujets impliqués. Il faut donc bien prendre en considération ce souci et obtenir une autorisation d'un comité d'éthique avant d'utiliser cette technique. On recommande d'en éviter l'usage, sauf en cas d'absolue nécessité, en particulier si d'autres méthodes plus sûres peuvent être employées et donner indirectement des estimations du taux de piqûres sur l'homme. Ces autres techniques vont être décrites ultérieurement. Toutes les personnes chargées de capturer les moustiques doivent être formées à une communication adaptée et aux méthodes de capture.

Les personnes servant d'appâts doivent prendre la prophylaxie adaptée pour éviter de contracter le paludisme pendant la capture. Il n'est pas nécessaire de laisser les moustiques se nourrir ; ils devraient être capturés dès qu'ils se posent sur la peau, en partant du principe qu'il s'ensuivra normalement une piqûre. On mesurera donc plutôt les taux d'atterrissage que les taux de piqûre.

On sélectionnera si possible une maison dans la zone du village où l'on recense le plus grand nombre de cas de paludisme. Un récolteur humain s'assoit à l'intérieur et un autre à l'extérieur. Dans certaines situations, il est préférable d'avoir deux récolteurs à l'intérieur et deux à l'extérieur pour qu'ils aient moins de risque de s'endormir au cours de la nuit. Les récolteurs changent de place toutes les heures. Les captures durent souvent toute la nuit (si nécessaire) ou pendant une partie de celle-ci. Des équipes de récolteurs peuvent aussi se relayer au cours de la nuit.

La personne servant d'appât doit ajuster ses vêtements de façon à découvrir ses jambes jusqu'aux genoux et rester calmement assise. Lorsqu'elle sent un moustique, elle allume rapidement la torche, capture le moustique[1] avec l'aspirateur à bouche et le transfère dans le gobelet. On se sert d'un gobelet par heure. Il ne faut pas fumer pendant toute la durée de la capture.

Il est possible de procéder différemment, avec une personne servant d'appât et une autre de récolteur. Celle qui sert d'appât est assise ou couchée dans un endroit tranquille, à l'intérieur ou à l'extérieur de la maison selon le cas, en étant habillée de façon à exposer autant de surface cutanée qu'il est admissible. Le récolteur surveille et capture les anophèles en train de piquer toutes les deux ou trois minutes. Noter les heures normales de sommeil de la population locale ; cette information servant à étudier s'il y a un maximum de contacts entre l'homme et le vecteur à l'intérieur ou à l'extérieur des habitations et le nombre moyen de piqûres reçues par les villageois dans chaque site étudié au cours de la nuit (Figure 3.8).

1. À moins d'être un entomologiste très expérimenté, le récolteur capture tous les moustiques pour trier ensuite les anophèles plutôt que d'essayer de les sélectionner pendant la capture elle-même.

Appâts animaux

On procède généralement aux captures sur appâts animaux aux mêmes endroits et moments que les captures sur appâts humains. Avant le coucher du soleil, on choisit un animal domestique dans le village, en général une vache. Le site de capture doit se trouver à proximité de l'endroit où l'animal passe habituellement la nuit. On veille à bien attacher l'animal que l'on examine toutes les deux à trois minutes pour capturer tous les moustiques que l'on trouve. On utilise un gobelet par heure pour récupérer les moustiques (Figure 3.9).

Figure 3.8 Capture de moustiques sur un appât humain

3.2.6 Capture par moustiquaires pièges avec appât

Dans cette section, vous allez apprendre comment utiliser des moustiquaires pièges. Les objectifs de cette méthode sont identiques à ceux des captures directes.

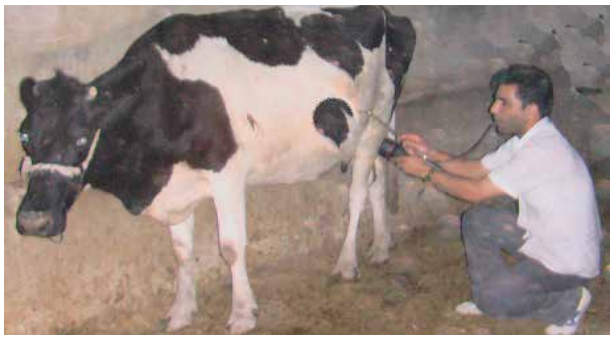


Figure 3.9 Capture de moustiques sur un appât animal

Les moustiquaires pièges avec appât animal permettent en général d'obtenir davantage de moustiques que la capture directe sur l'animal. En revanche, c'est l'inverse pour les moustiquaires pièges avec appât humain. Pour cette raison, les procédures habituelles de capture de nuit avec des appâts sont la capture directe sur appât humain à l'intérieur et à l'extérieur des habitations, ainsi que la capture par moustiquaires pièges avec appât animal à l'extérieur.

Équipement

Tube d'aspiration, lampe torche, gobelets avec toile moustiquaire, coton hydrophile, torchons, glacière isotherme, réveil, deux lits de camp, deux petites moustiquaires avec cadre pour les fixer aux lits de camp, deux moustiquaires pour pièges à appât humain, une pour appât animal, pieux en bois et cordes (pour attacher l'animal), marteau, pieux et ficelle (pour fixer les moustiquaires pièges), aiguille et fil (pour réparer les moustiquaires).

Capture dans les moustiquaires pièges avec appât humain

Comme nous l'avons dit plus haut, la capture directe de moustiques sur appât humain n'est pas conseillée en général pour des raisons d'éthique liées à l'exposition au risque d'infection palustre. Dans ce cas, il faut trouver une autre méthode de capture pouvant donner un échantillon représentatif de la population de vecteurs susceptibles de piquer l'être humain.

L'une des techniques consiste à installer deux moustiquaires, la première fixée autour du lit à l'intérieur de la seconde, formant le piège extérieur. La moustiquaire intérieure est installée autour du lit de camp pour protéger la personne qui sert d'appât (Figure 3.10). Le bas de la seconde moustiquaire est tendu et fixé à des piquets en laissant un espace de 15 ou 20 cm au-dessus du sol. Au coucher du soleil, le récolteur entre dans le piège, s'allonge sur le lit et règle le réveil

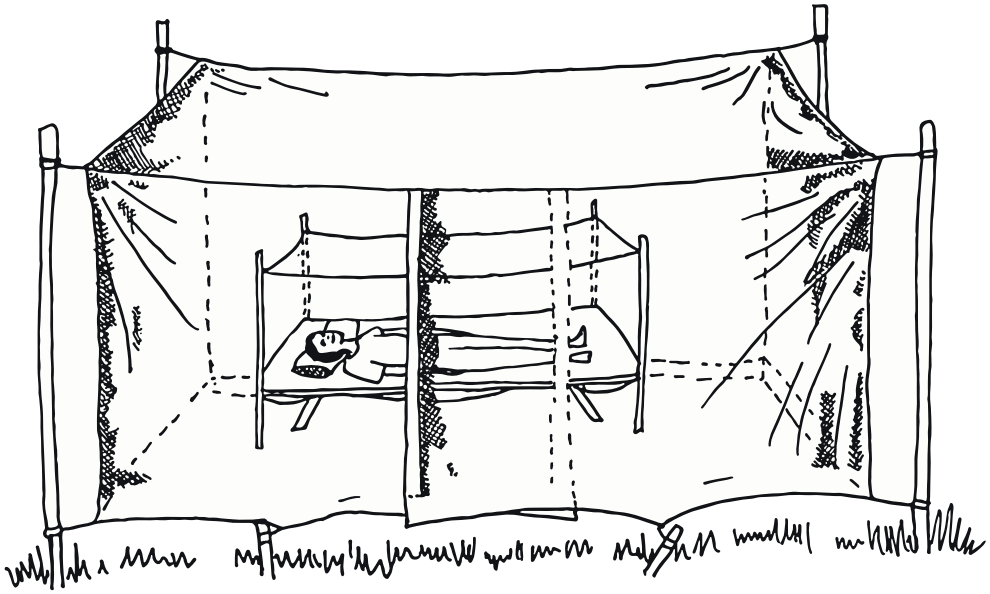


Figure 3.10 Moustiquaire piège avec appât humain

pour sonner une heure plus tard. Quand le réveil sonne, il capture tous les anophèles présents dans la moustiquaire piège, ce qui ne doit pas durer plus de 10 minutes. Il retourne ensuite au lit et règle de nouveau le réveil comme précédemment. La procédure se répète toute la nuit.

Capture au moyen de pièges lumineux de type CDC avec appât humain

Un piège lumineux de type CDC[1] est installé dans la chambre à côté d'un lit pourvu d'une moustiquaire. L'appât humain dort sous la moustiquaire, tandis que le piège lumineux attire les anophèles femelles qui ont pénétré dans la pièce pour piquer le dormeur. Les moustiques piégés peuvent servir d'indicateur indirect pour estimer le taux de piqûres. Dans la maison, un volontaire servant d'appât humain dort seul cette nuit-là. On place le piège lumineux de type CDC muni d'une ampoule à incandescence à proximité du volontaire dormant sous une moustiquaire non traitée, au lieu de couchage habituel de cette personne. Le piège est installé à environ 1,5 mètre au-dessus du sol, au pied du lit. Les moustiques sont récupérés le lendemain matin (Figure 3.11).

Figure 3.11 Piège lumineux installé à proximité d'un appât humain dormant sous une moustiquaire non traitée

1. Centers for Disease Control and Prevention des États-Unis.

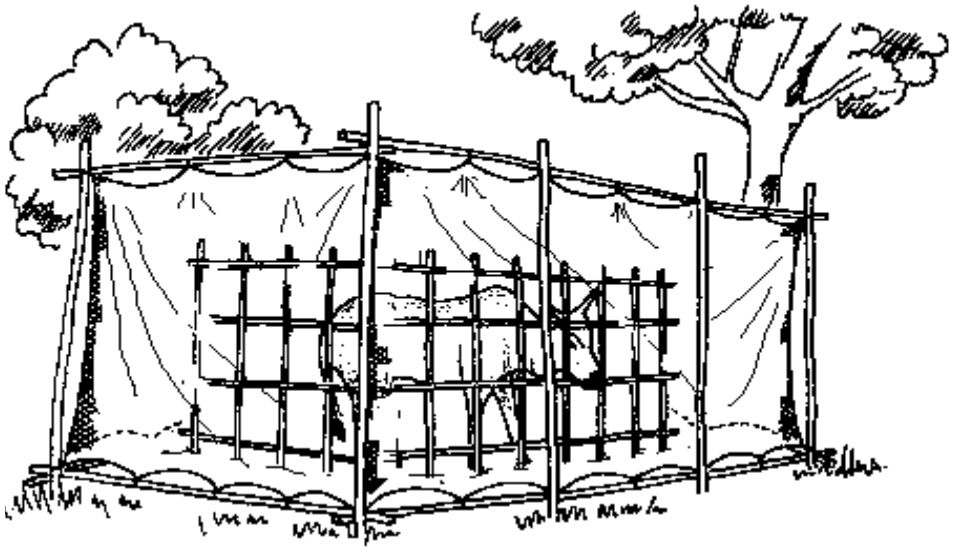


Figure 3.12 Moustiquaire piège avec appât animal

Capture par moustiquaires pièges avec appât animal

Une moustiquaire piège avec un animal comme appât est installée, en général à l'extérieur, près de l'endroit où il passe habituellement la nuit. Le système (Figure 3.12) est similaire à celui utilisé pour capturer les moustiques attirés par un appât humain. L'animal doit être bien attaché pour éviter qu'il ne se libère, n'endommage la moustiquaire ou ne se blesse.

S'il doit y avoir plusieurs séances de capture au même endroit, on peut construire un petit enclos pour y enfermer l'animal. On met l'animal dans le piège au coucher du soleil, puis on capture les moustiques toutes les trois heures.

3.3 Méthodes de capture des larves et des nymphes

3.3.1 Où chercher des larves et des nymphes d'anophèles ?

Pour pondre ses œufs, chaque espèce de moustique a une prédilection pour un type d'eau en particulier. Certains ne pondent que dans de l'eau douce, claire et à l'ombre, tandis que d'autres préfèrent l'eau saumâtre ; d'autres encore se contentent de très petites quantités d'eau comme des empreintes de sabots d'animaux.

Il est de la plus grande importance de connaître les gîtes larvaires de prédilection des anophèles qui transmettent le paludisme dans la région, ainsi que la densité des larves et des nymphes qui s'y trouvent. La collecte dans différents types de gîtes larvaires d'une région permet :

- de déterminer les espèces présentes ;
- de vérifier les gîtes larvaires de prédilection pour chaque espèce vectrice ;
- d'évaluer l'efficacité d'un programme de lutte antivectorielle.

Pour identifier les gîtes larvaires de prédilection, il est essentiel de procéder de manière systématique et de contrôler tous les gîtes possibles, même ceux qui sont difficiles à atteindre. On déterminera ainsi le type de gîte où on aura la plus grande probabilité de trouver des larves d'anophèles.

3.3.2.1 Gîtes larvaires potentiels

Ils peuvent être :

- De petites flaques d'eau de pluie, des empreintes de sabots d'animaux, des caniveaux, des fossés ; il faut alors examiner toute la surface de l'eau.
- De l'eau saumâtre (là où eaux douce et salée se mélangent).
- Des cours d'eau, que l'on examinera au niveau des rives, là où il y a de la végétation et où le débit est plus lent.
- Des étangs, des lacs et des marais, où l'on trouve en général les larves dans la végétation sur les bords, ou parfois loin de la rive s'il y a des plantes flottantes.
- Des endroits spéciaux, tels que des puits ou des réservoirs d'eau en ciment, où toute la surface de l'eau doit être examinée.

Quelle que soit la méthode de collecte utilisée, il faut approcher du gîte larvaire avec prudence, face au soleil : si les larves sont dérangées par des ombres ou des mouvements de l'eau, beaucoup s'enfuiront vers le fond et disparaîtront de la vue. Il faudra alors attendre plusieurs minutes sans bouger avant qu'elles ne reviennent à la surface. Il faut être particulièrement méticuleux lorsque de petites quantités de débris s'accumulent à la surface de l'eau ou lorsqu'il y a des plantes qui émergent. On doit rechercher les larves dans l'eau propre comme polluée, car certaines espèces d'anophèles peuvent être trouvées dans des gîtes pollués.

Équipement

Louche, filet à larves, grand plateau, pipette, tubes à échantillons (flacons), solution d'alcool à 70 %, coton hydrophile, crayon, allumettes ou briquet. S'il faut capturer des larves vivantes pour tester les insecticides, on aura aussi besoin de bouteilles plus grandes ou d'un thermos à large ouverture.

Utilisation de la louche

Une louche en métal émaillé ou en plastique blanc est préférable, car cette couleur permet de voir plus facilement les larves (Figure 3.13).

- Plonger doucement la louche dans l'eau avec un angle de 45° environ, jusqu'à ce que l'un des bords soit juste sous la surface.

Figure 3.13 Louche

- En plongeant la louche, il faut faire attention de ne pas déranger les larves, ce qui provoquerait leur fuite vers le fond. Si elles ont été dérangées, attendre une minute ou deux qu'elles remontent à la surface, puis continuer la collecte.
- Se déplacer le long du gîte, en écumant la surface de l'eau avec la louche.
- Sortir la louche en faisant attention de ne pas renverser l'eau contenant les larves et les nymphes.
- Garder la louche immobile jusqu'à ce que les larves et les nymphes remontent à la surface.
- Aspirer les larves et les nymphes avec une pipette et les mettre dans une bouteille ou un flacon.
- Ne pas jeter l'eau restante dans le gîte larvaire pour ne pas déranger de nouveau les larves et les nymphes qui s'y trouvent encore.
- Noter si les larves sont immatures (stades 1 et 2) ou matures (stades 3 et 4), ces dernières étant une cible plus importante pour les traitements larvicides.

Estimation de la densité larvaire

Compter le nombre de fois où vous plongez la louche dans chaque type de gîte larvaire, ce qui aide à calculer la densité larvaire dans chaque type de collection d'eau. Pour faire ce calcul, on peut établir le nombre de larves au troisième ou au quatrième stade de chaque espèce à chaque prélèvement ou pour 10 prélèvements (voire 100 prélèvements si la densité est trop basse). Noter également le temps écoulé en minutes pour faire les prélèvements dans chaque type de gîte larvaire (voir Figure 3.14).

Figure 3.14 Capture des larves dans les gîtes larvaires

Utilisation du filet à larves

Un filet à larves pour capturer les larves et les nymphes dans les étangs et les lacs se compose d'un filet à mailles fines monté sur un manche en bois et d'un flacon ou d'un tube en plastique fixé au fond du filet (Figure 3.15). Pour capturer les larves et les nymphes, écumer la surface de l'eau avec le filet en le plongeant avec un angle suffisant. Les larves et les nymphes à la surface seront entraînées dans le filet et seront ramassées dans le flacon ou le tube en plastique.

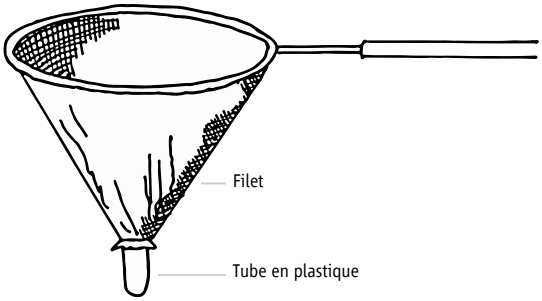


Figure 3.15 Larval net

On peut utiliser un simple filet, sans y attacher de flacon ou de tube. Après le ramassage, le filet est alors retourné dans une cuvette d'eau pour y transférer le contenu. On recherche ensuite dans l'eau de la cuvette les larves et les nymphes que l'on récupère à la pipette pour les mettre dans une bouteille ou un flacon.

Le filet utilisé pour les puits est très semblable au dispositif précédent, sauf qu'il n'y a pas de manche en bois. Il est tenu par quatre ficelles et manipulé au moyen d'une longue corde.

Capture des larves à la pipette

Dans certaines circonstances, quand les gîtes larvaires sont limités et peu profonds, on peut utiliser une pipette pour capturer les larves.

3.4 Transport des larves et des nymphes vivantes

Mettre tous les spécimens provenant d'un même gîte larvaire dans une bouteille ou un flacon avec une étiquette. Celle-ci, en papier, est écrite au crayon et glissée dans la bouteille. Ne pas écrire au stylo à bille, car l'encre se dissout dans l'eau.

Les larves et les nymphes capturées doivent arriver vivantes et en bon état au laboratoire. Boucher hermétiquement chaque bouteille ou flacon pour éviter que l'eau ne puisse en sortir. Veiller à laisser un ou deux centimètres d'air au-dessus de la surface de l'eau pour permettre aux larves et aux nymphes de respirer pendant quelques heures. Si on laisse trop d'air, le transport provoquera davantage de remous dans l'eau et les spécimens risquent d'être endommagés (avec notamment une perte des soies).

Si le trajet dure plus de 2 à 3 heures jusqu'au laboratoire, il faut enlever les bouchons toutes les deux heures pour renouveler l'air à l'intérieur des flacons. Emballer les bouteilles et les flacons avec précaution pour éviter les secousses pendant le transport. Si les larves sont destinées à des tests de sensibilité aux insecticides, elles doivent être transportées dans un flacon à large ouverture ou dans un récipient de grand volume. Pour la colonisation des larves, voir l'annexe 1.

3.5 Comment tuer et conserver les larves et les nymphes

Tenir pendant 30 à 60 secondes le flacon contenant les larves au-dessus de la flamme générée par un tampon de coton hydrophile imbibé d'alcool (et mis sur une pierre). Autre possibilité, on peut mettre les larves à l'aide d'une pipette dans de l'eau chaude (entre 50 et 70 °C).

- Verser le plus d'eau possible hors du flacon tout en prenant bien soin de garder les larves à l'intérieur ;
- Ajouter de l'alcool à 70 % (éthanol) dans le flacon ;
- Mettre un tampon de coton hydrophile dans le flacon ;
- Préparer une étiquette sur laquelle on écrit au crayon (pas au stylo) les informations suivantes : localité, type de gîte, nombre de prélèvements, temps passé en minutes, date de la capture, nom du récolteur ;
- Mettre l'étiquette dans le flacon, au-dessus du tampon de coton hydrophile ;
- Fermer hermétiquement le flacon (Figure 3.16).

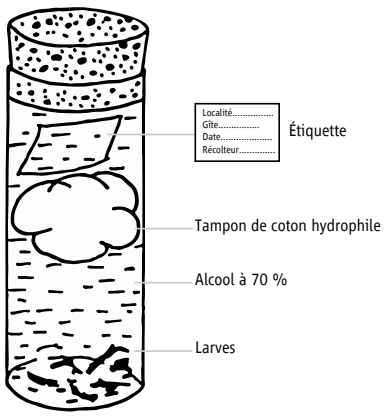


Figure 3.16 Conservation des larves dans des flacons

Exercise 3.1

En petits groupes, discutez des différentes méthodes pour capturer des moustiques. À l'aide de la représentation schématique du cycle de vie des vecteurs du paludisme (Figure 3.17 ci-dessous), indiquer les points où appliquer les différentes méthodes de capture des moustiques.

Exercise 3.2

Au laboratoire, mettez en pratique les techniques suivantes :

- Prélever des moustiques adultes dans une cage et les mettre dans des gobelets en carton.
- Prélever des larves et des nymphes vivantes à l'aide de pipettes et les mettre dans des flacons.

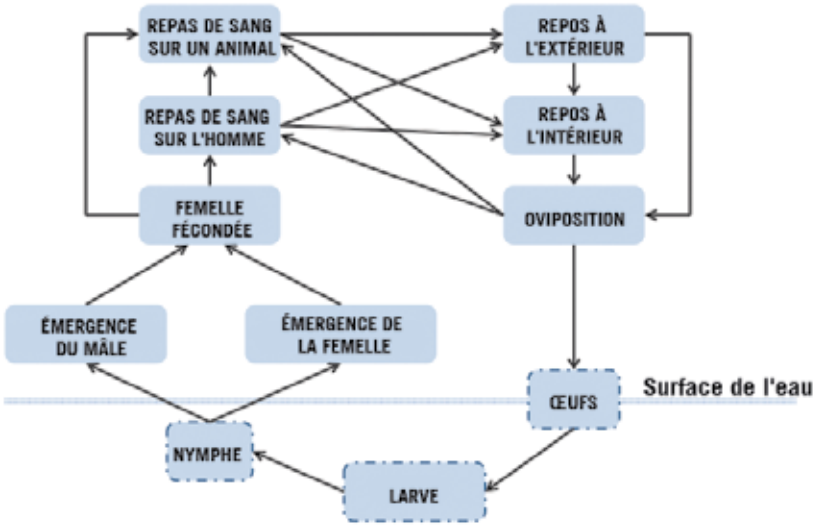


Figure 3.17 Représentation schématique du cycle de vie des vecteurs du paludisme

- Tuer et conserver des adultes, des larves et des nymphes.

Le Tableau 3.1 présente les applications des différentes méthodes pour les enquêtes entomologiques.

Exercise 3.3

Sur le terrain, vous travaillerez seuls ou en groupes pour mener à bien les activités suivantes :

- Chaque participant cherche des moustiques endophiles dans trois maisons.
- Chaque participant passe au moins 20 minutes à chercher des moustiques exophiles.
- Par groupe de quatre dans une maison, vous procédez à la capture des moustiques endophiles par pulvérisation d'insecticide.
- Avant le coucher du soleil, un piège lumineux est installé à côté d'une personne dormant sous une moustiquaire non imprégnée. Le piège doit être mis entre un et deux mètres au dessus du sol, au pied du lit.
- Chaque participant capture des larves et des nymphes dans des gîtes larvaires naturels pendant au moins 30 minutes.
- Les participants s'asseyent avec les jambes nues à l'intérieur et à l'extérieur pour capturer les moustiques actifs durant la nuit (à cause du manque de temps, cet exercice se déroulera pendant la journée pour la mise en pratique et la démonstration).
- Transport des spécimens vivants jusqu'au laboratoire.
- Pose de pièges de fenêtre et capture des moustiques.

Tableau 3.1 Application des différentes méthodes de capture pour les enquêtes entomologiques

Méthode de collecte	Densité des moustiques	Identification des espèces	Heures de piqûre	Comportement des moustiques (exophile, endophile, exophage, endophage)	Taux de parité	Indice d'anthropophilie	Indice sporozoïtique	Test de sensibilité aux insecticides	Propriété irritante des insecticides
Capture à la main des moustiques endophiles	+	+	–	+	+	+	+	+	–
Capture des moustiques endophiles par pulvérisation d'insecticide	+	+	–	+	+	+	+	–	–
Capture des moustiques adultes à l'extérieur (tranchées ou trous servant d'abris)	+	+	–	+	+	+/–	+	+	+
Capture sur appât humain	+/–	+	+	+/–	+	–	+	+	–
Capture sur appât animal	+/–	+	+	+	+	–	+	+	–
Moustiquaire piège avec appât humain	+	+	+	+	+	+	+	+	–
Moustiquaire piège avec appât animal	+	+	+	+	+	–	+	+	–
Piège lumineux	+	+	–	–	+	+	+	+	–
Capture des larves	+	+	–	–	–	–	–	+	–

\+ convient bien
– ne convient pas
+/– dans certains cas

Exercise 3.4

En binômes, vous *i)* apprenez à tuer les anophèles et *ii)* déterminez l'état de leur abdomen.

UNITÉ D'APPRENTISSAGE **4**

Incrimination des vecteurs et lutte antipaludique

Objectifs d'apprentissage :
À la fin de l'unité, les participants devraient pouvoir...

- décrire les méthodes à appliquer pour l'incrimination des vecteurs
- décrire les méthodes et applications du classement des moustiques par âge et de la dissection des glandes salivaires
- identifier les indicateurs entomologiques de la transmission du paludisme
- calculer les indicateurs entomologiques associés aux habitudes de repos, aux habitudes trophiques, au contact homme-vecteur et aux taux d'inoculation entomologique pour le paludisme
- mesurer les composantes de la capacité vectorielle et comprendre son utilité en matière de transmission du paludisme et de lutte
- onterpréter les mesures entomologiques et leurs conséquences dans la lutte contre les vecteurs du paludisme

Introduction

L'entomologie du paludisme est l'étude de la biologie et de l'écologie des moustiques qui transmettent cette maladie. L'objectif est de comprendre les liens entre le vecteur, son écologie, son comportement, le parasite et l'hôte afin d'élaborer et de mettre en œuvre des stratégies efficaces de lutte antivectorielle. Dans cette unité, nous allons faire une brève introduction sur la transmission du paludisme et le cycle de vie des vecteurs. L'importance et la finalité de la surveillance entomologique pour les programmes de lutte antipaludique seront également abordées en détail.

4.1 Incrimination du vecteur

Les données entomologiques importantes pour incriminer un vecteur sont les suivantes :

- Présence, abondance, et proportion de moustiques d'une espèce donnée infectés par des sporozoïtes.
- Âge ou parité du vecteur.
- Comportement nutritionnel du vecteur :

1. Où le moustique pique-t-il ?
2. Quand pique-t-il ?
3. Quel hôte préfère-t-il ?

À partir de ces données, il est possible de calculer et de comparer plusieurs indicateurs entomologiques concernant le vecteur :

- le taux de piqûres sur l'homme ;
- ses habitudes de repos ;
- sa longévité ;
- son infectiosité ;
- la proportion de repas de sang pris sur l'être humain (indice d'anthropophilie) ;
- le taux d'inoculation entomologique ;
- la capacité vectorielle.

4.2 Techniques d'incrimination d'un vecteur

Afin de calculer la capacité d'un vecteur à transmettre le paludisme, il est important de mesurer un certain nombre de paramètres clés nécessitant d'étudier attentivement les moustiques. Dans ce cadre, la détermination de l'état abdominal ou des stades de la digestion du sang permet d'établir à quelle fréquence les moustiques se nourrissent. La dissection et l'examen des ovaires sont requis pour déterminer la longévité et l'âge d'une population de vecteurs. Ces deux paramètres sont importants pour le calcul de la capacité vectorielle (voir ci après).

Un autre paramètre important pouvant être mesuré sur le terrain est la proportion de vecteurs infectants (taux d'infection des vecteurs). Pour ce faire, il faut disséquer les glandes salivaires afin d'y rechercher la présence de sporozoïtes, ou utiliser une méthode immunologique (ELISA par exemple) ou une méthode de détection de l'ADN parasitaire.

Dans cette unité, vous allez apprendre à mettre en œuvre ces techniques.

Organes importants d'un moustique femelle

Avant de disséquer un moustique adulte, il est indispensable de connaître la position des différents organes dans son corps. La Figure 4.1 montre l'anatomie interne d'un moustique femelle telle qu'elle apparaîtrait si l'insecte était coupé verticalement en deux moitiés dans le sens de la longueur. Les positions des différents organes sont les suivantes :

- Les glandes salivaires se trouvent dans le thorax, mais sont reliées à la tête par les canaux salivaires.
- L'estomac (ou intestin moyen) se trouve dans l'abdomen, avec les tubes de Malpighi à son extrémité.
- Les ovaires sont situés de part et d'autre du tube digestif, dans la partie postérieure de l'abdomen ; ils se rejoignent au niveau de l'ampoule pour former un oviducte commun.
- Une spermathèque unique, qui garde le sperme du mâle en réserve, est fixée sur l'oviducte commun.

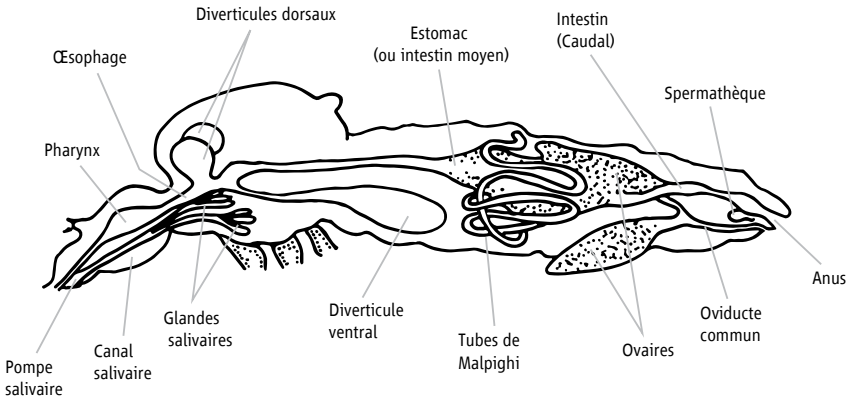


Figure 4.1 Anatomie interne d'un moustique femelle

Reconnaissance des stades de digestion du sang

Par stade de digestion du sang, on entend l'aspect de l'abdomen de l'anophèle femelle résultant de la digestion du sang et du développement des ovaires. Chez les anophèles, la maturation de l'ovaire (le développement des œufs) se déroule en même temps que la digestion. Selon le stade de digestion du sang ou l'état abdominal, on peut classer les femelles comme étant à jeun, fraîchement gorgées, semi-gravides ou gravides (Figure 4.2).

1. *À jeun* – l'abdomen est aplati.
2. *Fraîchement gorgée* – l'abdomen apparaît rouge clair ou foncé à cause du sang présent dans l'estomac. Les ovaires n'occupent qu'une petite place à l'extrémité de l'abdomen et cette partie n'est pas rouge ; les segments concernés sont au nombre de deux sur la face ventrale et de cinq tout au plus sur la face dorsale.
3. Semi-gravide – le sang est de couleur sombre, presque noir, et occupe trois ou quatre segments sur la face dorsale et six ou sept sur la face ventrale de l'abdomen. Les ovaires occupent la plus grande partie de l'abdomen.
4. *Gravides* – Le sang se réduit à une petite tache sombre sur la face ventrale ou peut avoir été complètement digéré. Les ovaires occupent tout le reste de l'abdomen.

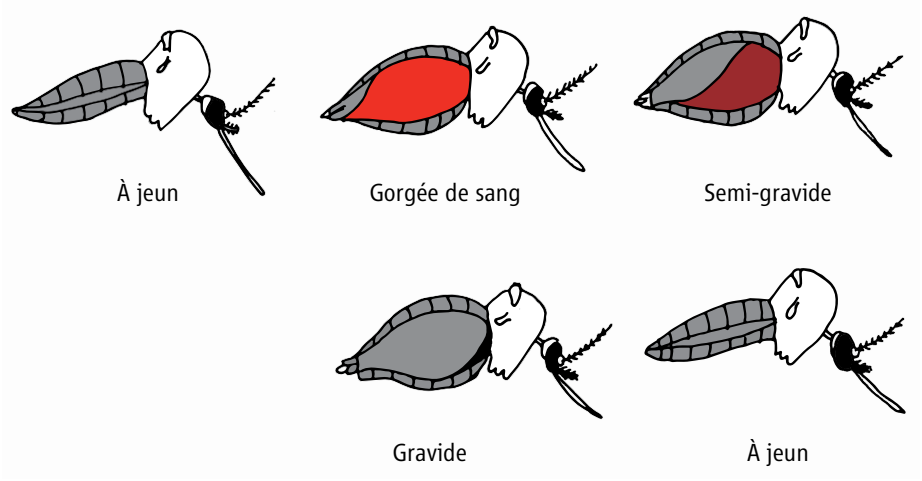


Figure 4.2 États de l'abdomen d'une femelle

Dissection des ovaires et détermination de la parité

Équipement nécessaire : loupe binoculaire, microscope, aiguilles à dissection, pinces fines, lames porte-objet, compte-gouttes et eau distillée.

Dissection du moustique femelle pour obtenir les ovaires et déterminer la parité

On détermine la parité en disséquant les ovaires et en les examinant pour savoir si la femelle est pare (c'est-à-dire qu'elle a déjà pris au moins un repas de sang et a pondu au moins une fois) ou nullipare (c'est-à-dire qu'elle n'a pas encore pris de repas de sang et n'a jamais pondu).

Seules les femelles à jeun ou fraîchement gorgées se prêtent à cette méthode de détermination de la parité. Pour disséquer les ovaires, procéder de la façon suivante :

- Tuer la femelle et enlever les pattes et les ailes.
- Mettre le moustique sur une lame et ajouter une goutte d'eau distillée (Figure 4.3).
- En tenant le thorax avec une aiguille, tirer le bout de l'abdomen avec l'autre aiguille dans la main droite pour le séparer du reste du corps. Les ovaires sortent alors de l'abdomen.
- Couper l'oviducte commun et retirer les ovaires du reste de la préparation.
- Mettre les ovaires dans une goutte distillée sur une autre lame et laisser sécher.

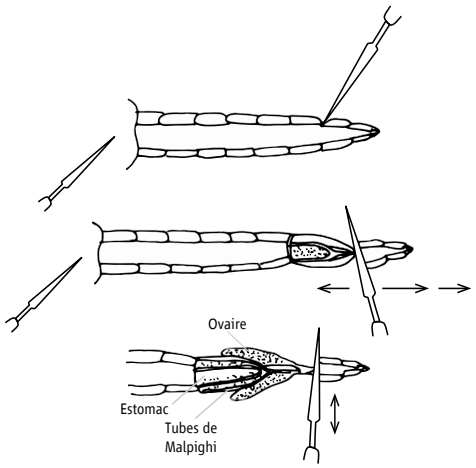


Figure 4.3 Dissection des ovaires

Reconnaissance des ovaires nullipares et pares

- Examiner les ovaires séchés au microscope à l'objectif 10X et, si nécessaire, à l'objectif 40X pour confirmer.
- Les femelles ayant des trachéoles ovariennes enroulées en pelotes sont nullipares (Figure 4.4a).

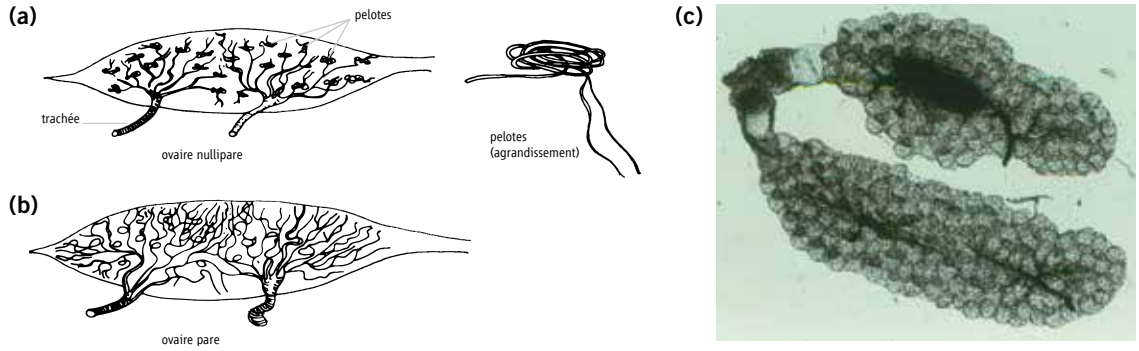


Figure 4.4 Aspect des ovaires nullipares (4.4a), pares (4.4b) et fraîchement disséqués (4.4c)

- Les femelles ayant des trachéoles ovariennes étirées sont pares (Figure 4.4b). La Figure 4.4c montre des ovaires qui viennent d'être disséqués.
- Chez certaines femelles, tous les œufs développés ne sont pas pondus ; si l'on observe des œufs (en général moins de cinq) retenus dans les ovaires, la femelle est pare.

La parité en tant qu'indicateur de longévité

En mesurant la proportion de moustiques pares dans une population de vecteurs, on peut suivre les variations du taux de parité et évaluer l'impact d'une intervention. Par exemple, la croissance d'une population est en général due à l'émergence d'adultes nullipares en plus grand nombre entraînant une diminution du taux de parité. Inversement, lorsqu'une population vieillit, moins d'adultes arrivent à maturité et le taux de parité augmente.

Les pulvérisations d'insecticide à effet rémanent ont pour but de diminuer la transmission du paludisme en tuant les moustiques qui entrent dans les habitations pour se reposer avant ou après leur repas de sang et, donc, de réduire leur longévité et leur capacité de transmettre la maladie. Si elles sont efficaces, il y aura proportionnellement moins de moustiques pares que nullipares après les pulvérisations ou par rapport aux zones non traitées. La parité est un indicateur entomologique permettant de déterminer s'il y a eu une diminution de la transmission.

Un moustique nullipare ne peut pas transmettre le paludisme faute d'avoir pu contracter l'infection à Plasmodium. Même une femelle qui a pondu une ou deux fois peut n'être pas suffisamment âgée pour transmettre les parasites parce que le cycle gonotrophique, le temps écoulé entre un repas sanguin et le suivant, n'est en moyenne que de trois jours, alors que le développement des sporozoïtes demande de 10 à 12 jours. Il en résulte qu'un moustique peut avoir besoin de trois cycles gonotrophiques avant de pouvoir transmettre le paludisme.

La dissection et l'examen des ovaires sont donc des outils essentiels pour l'analyse entomologique et l'évaluation de l'impact des interventions de lutte antivectorielles.

Note : Chez certaines espèces d'anophèls, il est possible d'obsever les cicatrices laissées à l'oviducte commun par chaque oviposition. On peut donc alors estimer l'âge du moustique en comptant le nombre de cicatrices et en multipliant ce nombre par la durée du cycle gonotrophique. Cette méthode présente cependant des difficultés et n'est appliquée que dans le cadre de projets de recherche bien particuliers.

$$\text{Taux de parité} = \frac{\text{Nombre de femelles pares}}{\text{Nombre de femelles examinées}} \times 100$$

Mise en évidence des sporozoïtes par dissection et examen des glandes salivaires

On examine les glandes salivaires pour y rechercher la présence de sporozoïtes, afin de déterminer les espèces de moustiques qui sont porteurs de parasites et, le taux d'infection pour chaque espèce. La détermination des indices sporozoïtiques est nécessaire pour confirmer le rôle d'une espèce donnée en tant que vecteur, pour déterminer l'intensité de la transmission (taux d'inoculation) et pour évaluer l'impact des interventions de lutte contre le paludisme. La dissection indique si le moustique est infecté par *Plasmodium* mais ne permet pas de distinguer les différentes espèces parasitaires.

Équipement nécessaire : loupe binoculaire, microscope, aiguilles à dissection, pinces fines, lames porte-objet, compte-gouttes, solution saline à 0,65 %.

Méthode de dissection des glandes salivaires :

- Tuer le moustique, identifier l'espèce et enlever les pattes et les ailes. Il est inutile de disséquer les glandes salivaires des femelles nullipares vu qu'elles ne peuvent pas être infectées.
- Mettre le moustique sur une lame, en position latérale, la tête vers la droite (Figure 4.5) pour les droitiers, vers la gauche pour les gauchers.
- Ajouter une petite goutte de solution saline juste devant le thorax.
- Tenir fermement le thorax avec une aiguille à dissection émoussée dans la main gauche pour les droitiers et dans la main droite pour les gauchers.
- Mettre l'aiguille tenue dans la main droite (ou dans la main gauche pour les gauchers) sur le cou du moustique en faisant attention de ne pas trancher le cou.
- Tirer doucement la tête pour la détacher du thorax ; les glandes sortent alors du thorax car elles sont attachées à la tête.
- Si les glandes ne viennent pas avec la tête, on peut les faire sortir en pressant doucement le thorax avec l'aiguille.

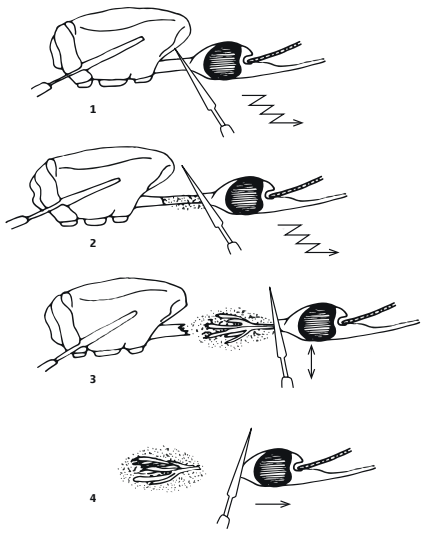


Figure 4.5 Dissection d'un moustique femelle pour la mise en évidence des sporozoïtes

- Séparer les glandes avec l'autre aiguille et les mettre dans une goutte de solution saline.
- Recouvrir les glandes salivaires avec une lamelle standard de 18 mm x 18 mm.

Mise en évidence des sporozoïtes par l'examen des glandes salivaires venant d'être disséquées

Si les glandes n'ont pas déjà été écrasées par la lamelle, presser doucement celle-ci avec une aiguille à dissection pour rompre les glandes et libérer les sporozoïtes. On examine les glandes à l'objectif 40X pour voir les sporozoïtes mobiles non colorés. On diminue la lumière soit en abaissant le condensateur, soit en fermant partiellement le diaphragme pour obtenir un meilleur contraste et ainsi faciliter la détection des sporozoïtes.

Coloration des sporozoïtes :

- Mettre une goutte de colle sur la face supérieure de la lamelle et la retirer délicatement à l'aide d'une aiguille à dissection. On retourne alors la lamelle face humide vers le haut et on la colle

provisoirement à une extrémité de la lame porte-objet. Ainsi, on peut conserver et colorer les sporozoïtes collés sur la lamelle.

- Dessiner un cercle au crayon gras autour des glandes salivaires et des sporozoïtes sur la face opposée de la lame porte-objet (cela facilite leur localisation ultérieure).
- Laisser la préparation sécher en la protégeant des mouches et des fourmis.
- Fixer en immergeant toute la lame quelques secondes dans le méthanol.
- Colorer 30 minutes avec une solution de Giemsa à 5 % dans une solution tampon. On peut déposer la lame à plat et appliquer le colorant au compte-gouttes pour recouvrir la préparation et la lamelle.
- Bien rincer avec la solution tampon et examiner la préparation au microscope à fort grossissement.

Mise en évidence des sporozoïtes par essai immuno-enzymatique (ELISA)

On utilise désormais couramment la méthode ELISA au lieu de la dissection pour mettre en évidence les sporozoïtes. Le principe de ces tests repose sur les anticorps monoclonaux dirigés contre la protéine circumsporozoïtaire (CSP) et une réaction enzymatique colorée. L'utilisation d'anticorps spécifiques permet d'identifier l'espèce plasmodiale. C'est la méthode de prédilection lorsqu'on a un grand nombre de spécimens à analyser.

$$\text{Indice sporozoïtique} = \frac{\text{Nombre de moustiques ayant des sporozoïtes}}{\text{Nombre de femelles examinées}} \times 100$$

Préparation de repas de sang pour l'identification (indice d'anthropophilie

Pour qu'un moustique puisse transmettre le paludisme, il doit piquer au moins deux fois des êtres humains au cours de sa vie, une fois pour ingérer des gamétocytes et une seconde fois pour injecter des sporozoïtes. Certains moustiques (groupes ou individus) préfèrent se nourrir sur l'être humain, d'autres sur l'animal, d'autres encore à des degrés variables sur l'un et l'autre. Par conséquent, tous les moustiques d'un groupe peuvent ne pas se nourrir sur l'homme et ne pas être des transmetteurs potentiels du paludisme. Dans le cadre des enquêtes sur le paludisme, il est donc souvent nécessaire de connaître l'origine des repas sanguins pris par les moustiques. Les espèces les plus anthropophiles sont les vecteurs les plus efficaces.

Équipement

Enceinte pour tuer les moustiques, papier-filtre (10 à 15 cm de diamètre), papier ordinaire, baguettes de verre ou lames ou aiguilles, formulaire d'enregistrement.

Préparation des papiers-filtres pour l'étalement des repas de sang (voir la Figure 4.6)

- Plier le papier-filtre en deux, puis le replier encore trois fois de suite.
- Déplier le papier qui porte maintenant des plis délimitant 16 parties.
- Tirer des traits au crayon le long des plis, en allant du bord vers le centre, mais en laissant au centre une zone de 5 cm de diamètre non marquée.
- Autour du bord de la zone centrale non marquée, numéroter les divisions de 1 à 16.
- Lorsque le papier-filtre a été utilisé, inscrire un numéro au centre de chaque papier et noter l'espèce de moustique sur laquelle le sang a été prélevé, le lieu et la date.

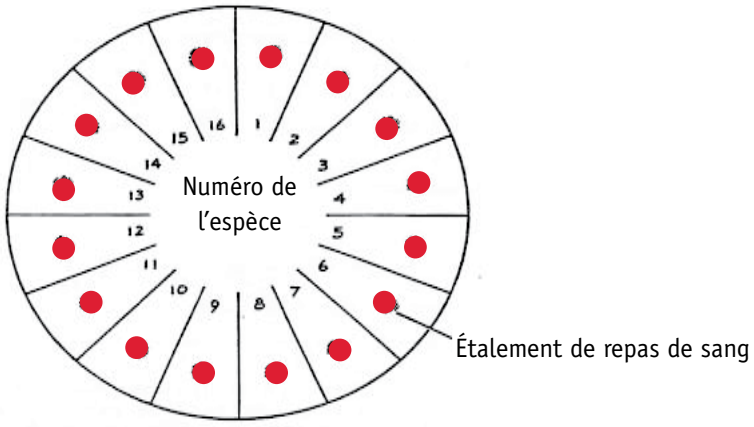


Figure 4.6 Papier-filtre portant des repas de sang pour l'identification

Réalisation des étalements de repas de sang

Le sang est utilisable pour l'identification quand le moustique est fraîchement gorgé ou, pour la plupart des espèces anophéliennes des tropiques, dans les 24 heures qui suivent leur repas de sang. À ce stade, l'état de l'abdomen est semi-gravide. Des repas de sang plus anciens ne conviennent pas.

- Chaque papier-filtre ne doit être utilisé que pour une seule espèce, obtenue à partir du même type de site de repos, par exemple à l'intérieur des habitations, dans des abris d'animaux ou des sites de repos naturels à l'extérieur. Utiliser un papier-filtre pour chaque spécimen issu d'une même collecte, car cela diminue le risque d'erreur lors de la réalisation du test.
- Inscrire au centre du papier-filtre un numéro, ainsi que le nom de l'espèce, le lieu de la capture, la date et l'heure.
- Tuer ou anesthésier les moustiques fraîchement gorgés.
- Mettre une femelle sur le papier-filtre à environ un centimètre du bord, à l'intérieur de la zone où le numéro 1 est inscrit.
- Écraser l'abdomen à l'aide d'une aiguille émoussée, d'un coin de lame ou d'une baguette en verre.
- Veiller à ce que l'abdomen écrasé reste à l'intérieur de la zone numéro 1.
- Mettre une deuxième femelle dans la zone numéro 2 et l'écraser.
- Chaque femelle doit être écrasée avec une aiguille, un coin de lame ou une baguette en verre propre. Lorsqu'on prend une lame, on utilise tour à tour chacun des coins et après avoir écrasé quatre moustiques, on jette la lame. Veiller à ce que le sang d'un spécimen n'en contamine pas un autre par le biais de la baguette ou la lame. Autrement, il est possible d'étaler les repas de sang en utilisant l'extrémité arrondie d'une paire de pinces, couverte de ruban adhésif clair. Pour éviter les contaminations, on peut changer le ruban adhésif à chaque écrasement.
- Poursuivre ainsi jusqu'à ce que les 16 zones du papier-filtre aient été utilisées.
- Inscrire les précisions demandées sur le formulaire d'enregistrement en double exemplaire.
- Laisser les étalements sécher, en veillant à ce que les papiers soient protégés des fourmis et de l'humidité.
- Mettre les papiers-filtres les uns sur les autres en séparant chaque groupe sur lequel il y a des moustiques écrasés par du papier ordinaire.

- Mettre les papiers-filtres dans un dessiccateur ou un réfrigérateur.
- Lorsqu'on a le nombre requis de moustiques écrasés, les papiers filtres doivent être placés dans une enveloppe autocollante en plastique. Si l'on ne dispose pas de ce type d'enveloppe, on peut mettre les papiers dans un sac en plastique et sceller l'ouverture au fer chaud.
- Envoyer un exemplaire du formulaire au laboratoire.

Calcul de l'indice d'anthropophilie (IA)

$$\text{Indice d'anthropophilie} = \frac{\text{Nombre de moustiques s'étant nourris sur l'homme}}{\text{Nombre total de moustiques pour lesquels on a identifié le repas de sang}}$$

Technique ELISA pour détecter l'origine d'un repas de sang

La technique ELISA pour la détection des sporozoïtes est la méthode la plus couramment employée pour déterminer le taux d'infection des moustiques. Pour cette technique, le thorax et la tête de moustiques séchés appartenant à une espèce connue sont broyés dans une solution spécifique. Les échantillons sont ensuite mis dans les puits de plaques de microtitrage dont l'intérieur est recouvert d'anticorps spécifiques de l'espèce plasmodiale recherchée. Si l'antigène correspondant de l'espèce en question est présent dans l'échantillon, il se fixe dans les puits. Des enzymes et substrats entraînant des réactions colorées sont ensuite utilisés pour mettre en évidence les puits positifs. Cette technique permet de gagner du temps, en particulier pour un grand nombre d'échantillons, et d'identifier l'espèce plasmodiale particulière ayant provoqué l'infection du moustique.

Une technique ELISA similaire est utilisée pour déterminer l'origine des repas sanguins des moustiques. Dans ce cas, les échantillons de sang recueillis sur papier-filtre après avoir écrasé des moustiques fraîchement gorgés sont analysés en les testant avec des anticorps provenant de plusieurs hôtes animaux connus. La Figure 4.7 montre les différentes étapes d'un test ELISA.

Technique basée sur la PCR pour l'identification des repas de sang

Les progrès récents des méthodes utilisant l'ADN pour l'identification des espèces de moustiques ont été également appliqués pour améliorer l'efficacité et la fiabilité de la détermination des repas de sang chez les arthropodes. Une méthode PCR-RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction) a été mise au point dans ce but.

Exercise 4.1

En binômes, vous allez : *i)* apprendre à tuer des anophèles et à déterminer l'état de leur abdomen et *ii)* vous entraîner à disséquer des ovaires et des glandes salivaires de moustiques.

Exercise 4.2

En binômes, vous allez disséquer les ovaires de femelles à jeun et fraîchement gorgées. Vous devrez répéter l'exercice jusqu'à ce que vous puissiez distinguer avec assurance les femelles pares et nullipares.

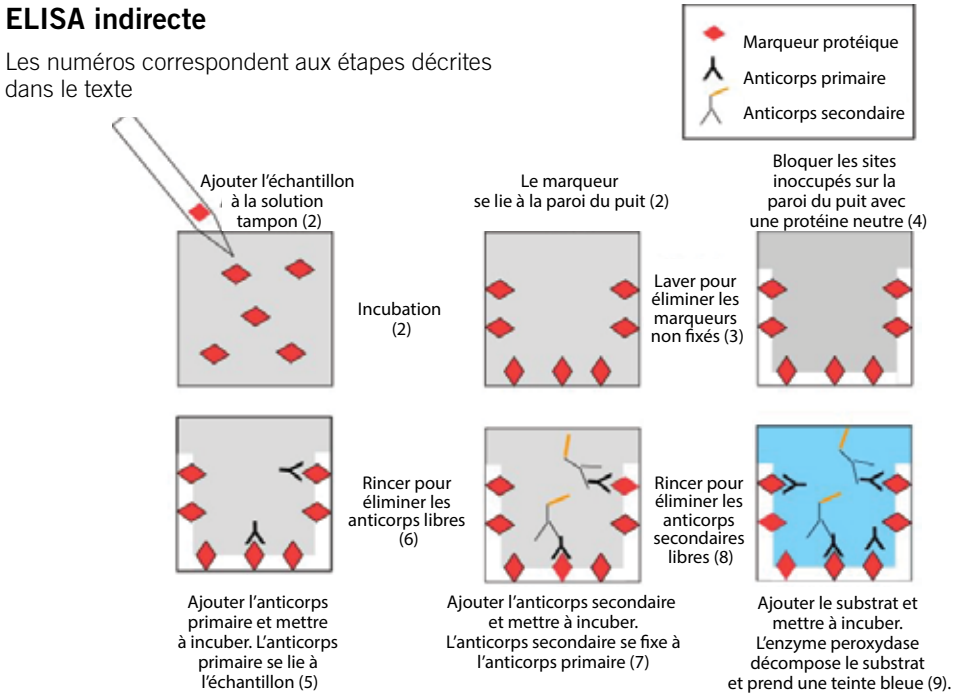


Figure 4.7 Les différentes étapes d'un test ELISA

Exercise 4.3

Après que l'instructeur a montré comment disséquer les glandes salivaires, vous vous entraînerez à cette technique et examinerez les glandes au microscope.

Exercise 4.4

Une excursion sera organisée sur le terrain pour vous permettre de pratiquer les diverses techniques de capture des moustiques enseignées à l'Unité 3, puis les techniques de dissection apprises au cours de l'Unité 4. Sur le terrain, vous allez travailler individuellement et en groupes pour mener à bien les activités suivantes :

- Rechercher les moustiques au repos à l'intérieur de trois maisons.
- Passer au moins 20 minutes à chercher des moustiques au repos à l'extérieur.
- Par groupes de quatre par maison, capturer les moustiques à l'intérieur par la technique de pulvérisation d'insecticide et de collecte sur les draps.
- Collecter des larves et des nymphes dans des gîtes larvaires naturels pendant au moins 30 minutes.
- Rester assis les jambes nues à l'intérieur et à l'extérieur pour les captures à l'atterrissage (en raison du temps imparti, cette activité se fera pendant la journée pour la mise en pratique et la démonstration). Si l'exercice est fait de nuit, l'instructeur s'assurera que les participants prennent bien des médicaments antipaludiques.
- Transporter des échantillons vivants au laboratoire.

Exercise 4.5

En binômes, vous allez tuer les moustiques capturés sur le terrain puis déterminer l'état abdominal et l'espèce de chaque spécimen. Vous vous entraînerez ensuite à disséquer les ovaires et les glandes salivaires.

Exercise 4.6

En binômes, vous préparerez un papier-filtre pour un test ELISA.

4.3 Indicateurs entomologiques de la transmission

Dans la présente section, nous allons aborder l'utilisation des techniques étudiées jusqu'ici dans le but d'obtenir des informations importantes pour la lutte contre le paludisme. Vous acquerrez les compétences requises pour interpréter correctement les informations entomologiques.

Pour expliquer la plupart des notions importantes, nous avons pris l'exemple d'une étude entomologique réalisée en 1964-1965, dans une vallée des hauts plateaux éthiopiens destinée à réunir des données de base sur les anophèles locaux.[1] L'étude était conçue pour établir les caractéristiques de la transmission palustre, de même que le comportement et les habitats des espèces vectrices locales, afin de planifier un programme de lutte efficace.

Certains des résultats de l'étude ont été analysés de nouveau à la lumière des connaissances actuelles et des nouveaux moyens de lutte. L'objectif est d'illustrer comment les informations entomologiques sont utilisées pour la lutte antivectorielle.

4.3.1 Conception de l'étude et techniques d'échantillonnage

Sélection des villages de l'étude et description de la région

La région se situe au centre de l'Éthiopie, dans la Vallée du Grand Rift. Le terrain est relativement plat, à une altitude comprise entre 1600 et 1800 mètres. La population (environ 420 000 habitants) est en grande partie rurale. Les habitants pratiquent l'agriculture et l'élevage et vivent en petits groupes éparpillés, appelés « tukuls », l'habitat rural le plus courant. Le bétail est gardé dans des enclos à ciel ouvert, à proximité des habitations, ou amené pour la nuit dans une partie de l'habitation séparée par une cloison légère en piquets et brindilles.

La principale saison des pluies va de juin à fin octobre, avec une brève période pluvieuse secondaire en mars et avril. Mars, avril et mai sont les mois les plus chauds, novembre et décembre les plus froids.

Six villages ont été retenus comme postes d'observation, trois dans le secteur d'Awasa et trois dans celui d'Adamitalu (désormais secteur de Zway). Un secteur est une zone délimitée aux fins de la lutte antipaludique. Les secteurs ont été choisis principalement sur des bases entomologiques, mais l'endémicité du paludisme et l'accessibilité tout au long de l'année ont été également été pris compte. Au moment de l'étude, la région n'avait jamais été traitée aux insecticides.

Le Tableau 4.1 et la Figure 4.8 montrent les indices plasmodiques et spléniques dans les villages sélectionnés. Sur l'ensemble des infections enregistrées, 6,6% étaient mixtes (*P. vivax* et *P. falciparum*), 61,8% à *P. falciparum*, 25,0% à *P. vivax* et 6,6% à *P. malariae*.

---

1. Rishikesh N (1966). Observations on anopheline vectors of malaria in an upland valley in Ethiopia. Document non publié de l'Organisation mondiale de la Santé, WHO/Mal/66.554.

Tableau 4.1 Indices plasmodiques et spléniques dans les villages sélectionnés

Village	Mois et année	Frottis examinés	Indice plasmodique (%)	Rates examinées	Indice splénique (%)
Abella Wondo	Juin 1964	59	0	55	13,0
Galle	Mai 1964	49	4,1	37	35,1
	Octobre 1964	194	13,4	–	–
	Mai 1965	92	5,4	–	–
Awasa Tabor	Mai 1964	52	13,5	45	26,7
	Novembre 1964	37	8,1	–	–
Bulbula	Mai 1964	40	15,0	30	50,0
Woldia	Novembre 1964	181	2,6	–	–
	Décembre 1964	206	2,1	–	–
Ajiti Washgula	Novembre 1964	47	31,9	–	–
	Mai 1965	75	4,0	–	–

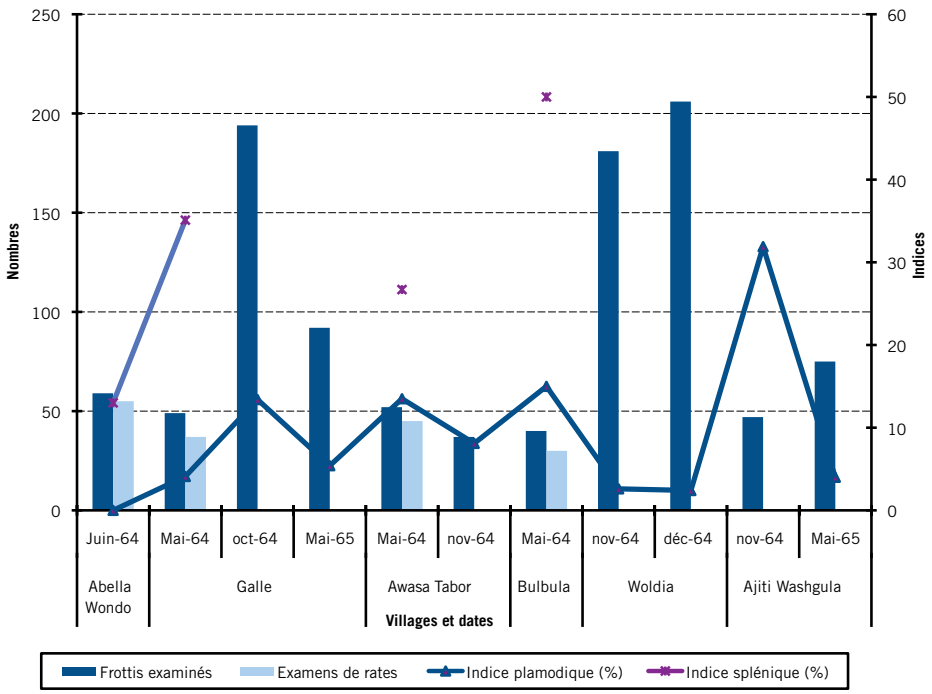


Figure 4.8 Indices plasmodiques et spléniques dans les villages sélectionnés

4.3.2 Techniques d'échantillonnage entomologique

Capture des moustiques endophiles

Les moustiques endophiles au repos ont été collectés dans les six villages une fois par mois au moyen de la capture par pulvérisation insecticide. Les échantillons collectés ont été analysés pour déterminer les espèces et l'état abdominal (voir le Tableau 4.2 et la Figure 4.9a, b, c, d). Les glandes salivaires ont été disséquées pour déterminer les taux d'infection.

Tableau 4.2 Résultats des captures de moustiques endophiles dans le secteur d'Awasa (1964-1965)

Mois et année	Nb de maisons	Nb d'occupants	*A. arabiensis*[a]				*A. pharoensis*				*A. funestus*			
			À jeun	Gorgés	Semi-gravides	Gravides	À jeun	Gorgés	Semi-gravides	Gravides	À jeun	Gorgés	Semi-gravides	Gravides
Juin 64	8	35	11	135	59	96	0	36	21	21	1	0	0	0
Juil. 64	17	75	91	904	378	141	4	102	46	43	7	18	12	11
Août 64	15	66	458	1041	459	678	11	60	19	14	2	26	7	14
Sept. 64	18	79	149	586	270	236	8	101	45	45	1	25	8	5
Oct. 64	18	79	185	802	438	340	14	46	16	15	3	80	9	9
Nov. 64	23	101	8	65	51	38	0	10	9	7	3	47	13	34
Déc. 64	24	106	2	25	13	9	2	13	4	4	3	43	2	4
Jan. 65	24	106	1	9	6	4	1	3	3	4	0	4	1	2
Fév. 65	23	101	0	0	0	0	0	3	2	1	0	0	0	2
Mars 65	23	101	0	1	0	0	0	5	6	3	1	0	0	0
Avril 65	23	101	1	5	3	6	5	28	8	12	0	17	2	2
Mai 65	23	101	2	34	19	22	2	29	13	15	1	12	1	0

[a] Des études ultérieures ont démontré que l'espèce citée comme étant *A. gambiae s.l.* était *A. arabiensis*

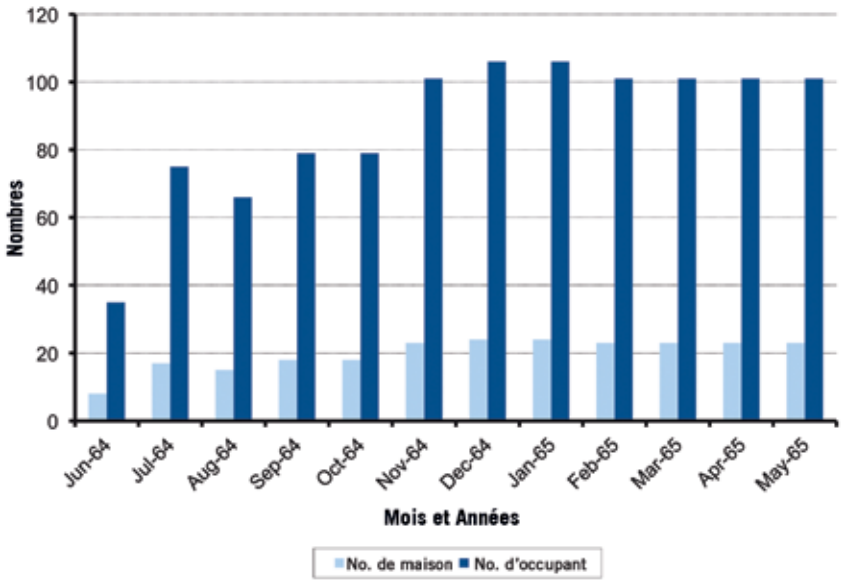


Figure 4.9a Résultats en nombre de maisons et d'occupants pour le secteur d'Awasa (1964-1965)

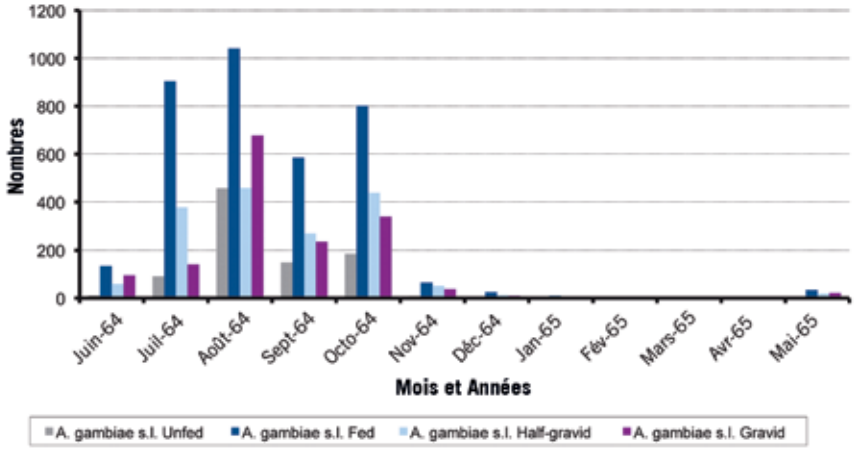


Figure 4.9b Stades abdominaux d'*A. gambiae* dans la zone d'étude

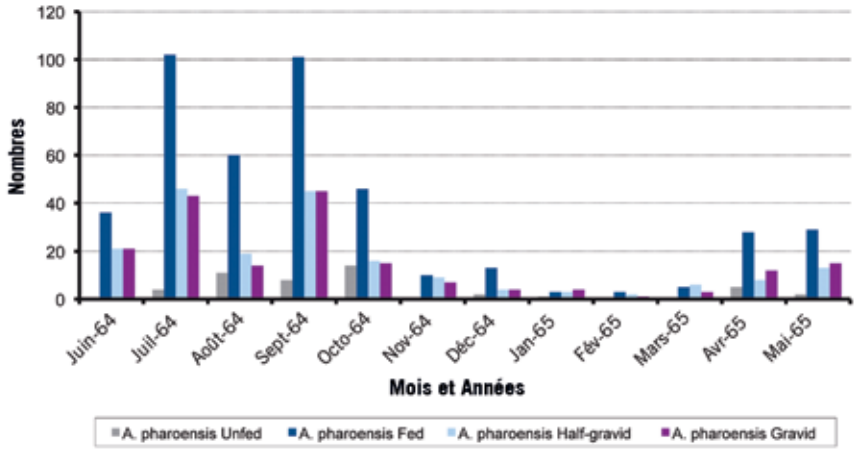


Figure 4.9c Stades abdominaux d'*A. pharoensis* dans la zone d'étude

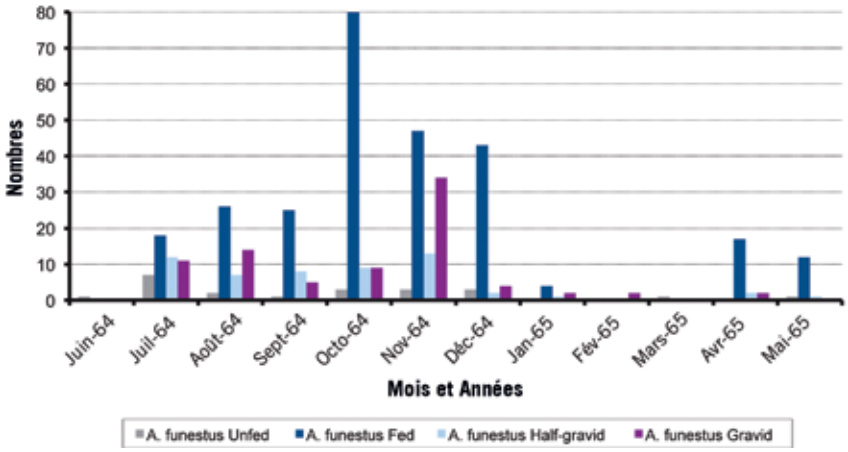


Figure 4.9d Stades abdominaux d'*A. funestus* dans la zone d'étude

Captures nocturnes sur homme

Elles ont en général été faites deux fois par mois (à Abella Wondo). Des captureurs ont collecté les anophèles se posant sur leurs jambes nues. Les captures à l'intérieur ont duré toute la nuit, de 18 heures à 6 heures, tandis qu'à l'extérieur elles se sont limitées à la période entre 18 heures et 22 heures, heure à partir de laquelle plus aucun habitant ne se trouve habituellement à l'extérieur.

Néanmoins un ensemble de captures ont été faites simultanément à l'intérieur et à l'extérieur durant toute la nuit afin de comprendre les habitudes alimentaires du vecteur quand il a le choix pendant toute la nuit entre les deux sites (Tableau 4.3 et Figure 4.10). Deux captureurs ont été placés à l'intérieur et deux à l'extérieur par périodes de quatre heures. Les occupants habituels des maisons échantillonnées étaient également présents aux moments concernés. Les échantillons collectés ont été identifiés le matin suivant et disséqués à la recherche de sporozoïtes dans les glandes salivaires. Les ovaires ont également été disséqués pour établir le taux de parité.

Des abris artificiels ont été installés à l'extérieur pour les moustiques exophiles et inspectés une fois par mois.

Resultats

Le Tableau 4.2 indique les résultats des captures de moustiques endophiles pour chaque espèce d'anophèle, par maison et par jour.

Exercise 4.7a

À partir du Tableau 4.2, calculez les densités au repos à l'intérieur par maison et par jour pour *A. gambiae s.l.* et *A. pharoensis* durant le mois d'octobre 1964.

4.3.3 Habitudes trophiques

Par ce terme, on entend les préférences du vecteur pour prendre un repas de sang, à l'intérieur (endophagie) ou à l'extérieur (exophagie), ainsi que les moments de celui-ci pendant la nuit (cycle nocturne de piqûres).

$$\text{DRI} = \frac{\text{Nombre de femelles d'une espèce donnée}}{\text{Nombre de maisons inspectées}}$$

DRI : densité de repos à l'intérieur

Le degré d'endophagie/exophagie et le cycle nocturne de piqûres ont été estimés par les captures concomitantes de moustiques à l'atterrissage sur des appâts humains à l'intérieur et à l'extérieur (Tableau 4.3 et Figure 4.10).

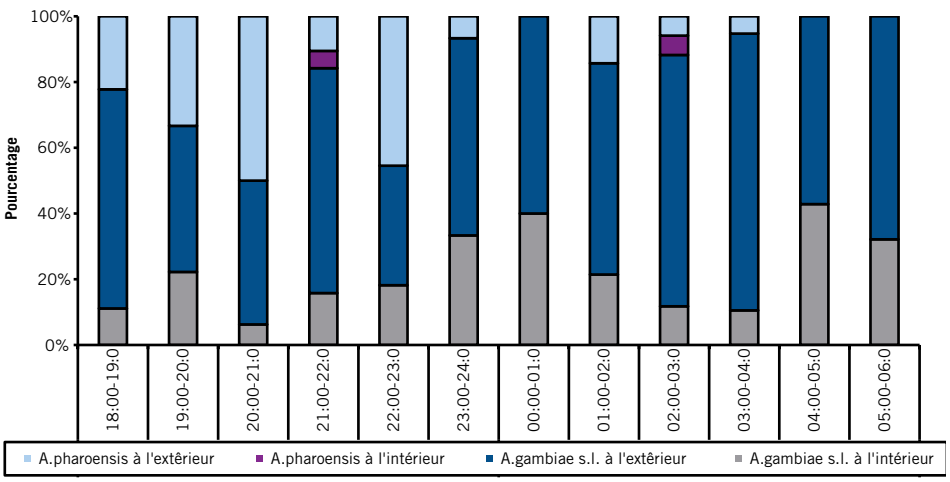


Figure 4.10 Captures concomitantes de nuit à l'intérieur et à l'extérieur

Tableau 4.3 Captures concomitantes de nuit à l'intérieur et à l'extérieur

Heure		*A.gambiae* s.l.		*A.pharoensis*	
		À l'intérieur	À l'extérieur	À l'intérieur	À l'extérieur
Nuit	18 : 00–19 : 00	1	6	0	2
	19 : 00–20 : 00	2	4	0	3
	20 : 00–21 : 00	1	7	0	8
	21 : 00–22 : 00	3	13	1	2
	22 : 00–23 : 00	4	8	0	10
	23 : 00–24 : 00	5	9	0	1
Matin	00 : 00–01 : 00	6	9	0	0
	01 : 00–02 : 00	3	9	0	2
	02 : 00–03 : 00	2	13	1	1
	03 : 00–04 : 00	2	16	0	1
	04 : 00–05 : 00	3	4	0	0
	05 : 00–06 : 00	18	38	0	0
Total		50	136	2	30

Exercise 4.7b

À l'aide du Tableau 4.3, calculez le rapport entre les piqûres à l'intérieur et à l'extérieur pour chaque espèce. Quelle espèce est exophile ? Laquelle est endophile ?

4.3.4 Taux de piqûres sur l'homme

Par taux de piqûres sur l'homme, on entend le nombre moyen de piqûres d'une espèce vectrice par personne et par nuit. Il dépend à la fois des habitudes trophiques du vecteur et des habitudes nocturnes de la population locale. Le taux de piqûres (par nuit) s'obtient en divisant le nombre total de moustiques gorgés par le nombre total d'occupants humains ayant passé la nuit dans les maisons où la capture a eu lieu.

$$M = \frac{F}{w}$$

où F = nombre de moustiques de l'espèce étudiée fraîchement gorgés
w = nombre total de personnes dans les maisons où la capture a eu lieu

Calcul direct du taux de piqûres sur l'homme

Pour le calculer, il faut prendre en compte les habitudes nocturnes de la population locale. Selon l'enquête, les habitants passaient en moyenne une heure à l'extérieur entre 18 heures et 22 eures et le reste du temps à l'intérieur. Pratiquement tous les villageois étaient rentrés chez eux à 22 heures. Les captures ont donc été faites à l'intérieur de 18 heures à 6 heures et, à l'extérieur, de 18 heures à 22 heures (Tableau 4.4).

Le Tableau 4.4 donne également quelques valeurs des taux de piqûres sur l'homme qui ont été calculés. Les taux concernant les piqûres à l'intérieur et à l'extérieur ont été calculés séparément, et le taux total est obtenu en additionnant les deux.

Tableau 4.4 Résultats des captures nocturnes sur homme dans le secteur d'Awasa (poste d'Abella Wondo) (1964-1965)

(a) *A. gambiae* s.l.

Mois et année	Nombre de nuits de capture	Nombre de captureurs		Total de captures à l'intérieur		Total de captures à l'extérieur	Taux de piqûres sur l'homme		
		À l'intérieur	À l'extérieur	18 h 00 – 22 h 00	22 h 00 – 6 h 00	18 h 00 – 22 h 00	À l'intérieur (3 + 8 h)	À l'extérieur (1 h)	Total (12 h)
Juil. 64	2	2	2	12	84	16	23,3	1,0	24,3
Août 64	2	2	2	81	340	76			
Sep. 64	1	2	2	5	7	12			
Oct. 64	2	2	2	4	21	34			
Nov. 64	2	2	2	2	1	9	0,6	0,6	1,2
Déc. 64	2	2	2	0	0	4	0,0	0,3	0,3
Jan. 65	2	2	2	0	0	2	0,0	0,1	0,1
Fév. 65	2	2	2	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Mars 65	2	2	2	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Avril 65	1	2	2	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Mai 65	2	2	2	0	0	0	0,0	0,0	0,0

(b) *A. pharoensis*

Mois et année	Nombre de nuits de capture	Nombre de captureurs		Total de captures à l'intérieur		Total de captures à l'extérieur	Taux de piqûres sur l'homme		
		À l'intérieur	À l'extérieur	18 h 00 – 22 h 00	22 h 00 – 6 h 00	18 h 00 – 22 h 00	À l'intérieur (3 + 8 h)	À l'extérieur (1 h)	Total (12 h)
Juil. 64	2	2	2	19	17	92	7,8	5,8	13,6
Août 64	2	2	2	37	83	74	27,7	4,6	32,3
Sep. 64	1	2	2	23	31	143	24,1	17,9	42,0
Oct. 64	2	2	2	12	12	105	5,3	6,6	11,9
Nov. 64	2	2	2	2	1	33	0,6	2,1	2,7
Déc. 64	2	2	2	0	1	42	0,3	2,6	2,9
Jan. 65	2	2	2	3	7	44	2,3	2,8	5,1
Fév. 65	2	2	2	7	0	9	0,3	0,6	1,9
Mars 65	2	2	2	0	1	8	0,0	0,5	0,8
Avril 65	1	2	2	0	0	11	2,6	1,4	1,4
Mai 65	2	2	2	11	2	19	2,6	1,2	3,8

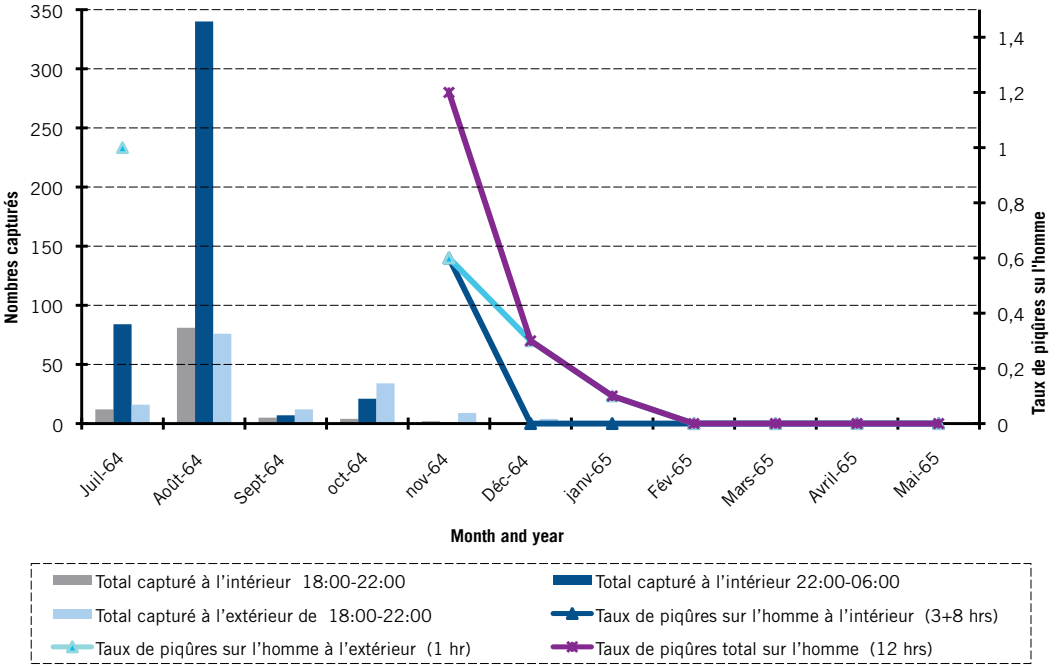


Figure 4.11a Résultats des captures nocturnes sur homme pour *A. gambiae s.l.* dans le secteur d'Awasa (poste d'Abella Wondo), 1964-1965

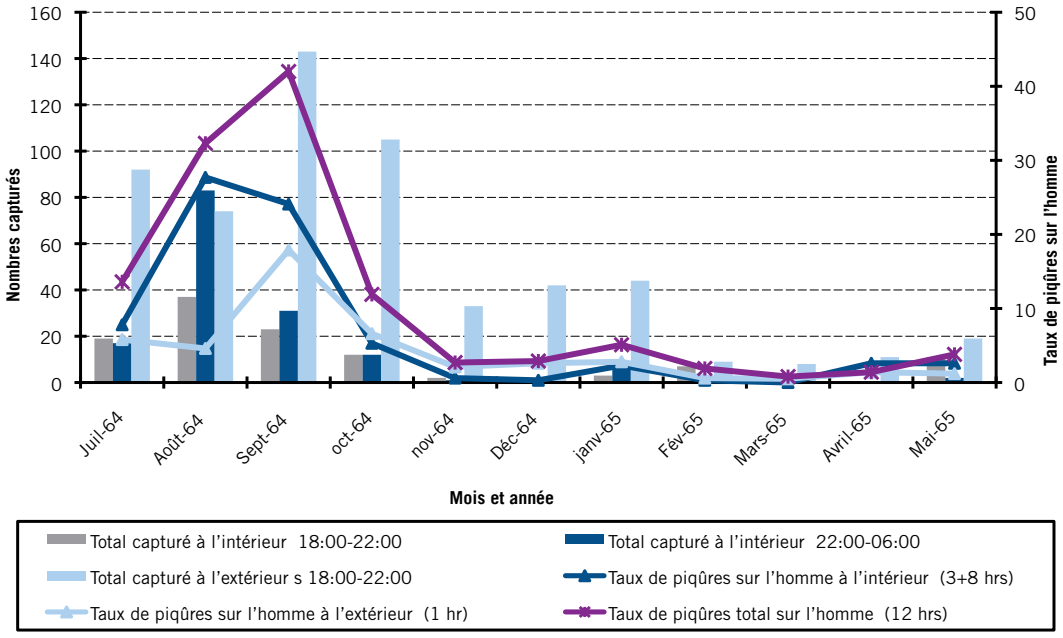


Figure 4.11b Résultats des captures nocturnes sur homme pour *A. pharoensis* dans le secteur d'Awasa (poste d'Abella Wondo), 1964-1965

La composante My pour l'extérieur, est le nombre moyen de piqûres par capturer et par heure sur la période de 18 heures à 22 heures.

$$M_y = \frac{ty}{uTc_y}$$

où T = nombre d'heures entre 18 heures et l'heure la plus tardive à partir de laquelle tous les villageois restent à l'intérieur (dans le cas présent, $T = 4$)
t = nombre moyen d'heures passées par chaque villageois à l'extérieur après 18 heures (dans le cas présent $t = 1$)
y = nombre de captures à l'extérieur au cours de la période T
c_y = nombre de captureurs à l'extérieur
u = nombre de nuits de capture

Pour juillet 1964 par exemple, le dénominateur pour le taux de piqûres sur l'homme à l'extérieur (M_y) est de 16 (deux nuits pour deux récolteurs x T) ; le numérateur est (t) (y), avec $t = 1$ et y le nombre de captures à l'extérieur = 16 ; M_y est donc 16 / 16 = 1.

La composante M_χ pour l'intérieur, est le nombre moyen de piqûres par captureur à l'intérieur pendant quatre heures, de 18 heures à 22 heures, plus le nombre moyen de piqûres par captureur à l'intérieur pendant huit heures, entre 22 heures et 6 heures.

$$M_\chi = \frac{(1-\frac{t}{T})\chi_1+\chi_2}{uc\chi}$$

où T = nombre d'heures entre 18 heures et l'heure la plus tardive après laquelle tous les villageois restent à l'intérieur (dans le cas présent, $T = 4$)
t = nombre moyen d'heures passées par chaque villageois à l'extérieur après 18 heures (dans le cas présent $t = 1$)
x_1 = nombre de captures à l'intérieur au cours de la période T (18 h 00–22 h 00)
x_2 = nombre de captures à l'intérieur après la période T (22 h 00–06 h 00)
c_x = nombre de captureurs à l'intérieur
u = nombre de nuits de capture

Pour juillet 1964, le dénominateur du taux de piqûres à l'intérieur (M_x) est de 4 (deux nuits avec deux captureurs) ; le numérateur = $[1 - (t/T)]\, x_1 + x_2$ with $t/T = 0{,}25$, x_{1x1} le nombre de captures à l'intérieur pendant la période de 18 heures à 22 heures (12) et x_2 le nombre de captures à l'intérieur pendant la période de 22 heures à 6 heures (84). Le numérateur de (M_x) est donc égal à $[(1 - 0.25)\ 12] + 84 = 93$ and $(M_x) = 23{,}3$.

Le taux de piqûres total sur l'homme (M) est :

$$M = M_\chi + M_y = 23{,}3 + 1 = 24{,}3$$

Pour juillet 1964, les résultats indiquent donc qu'un villageois était piqué en moyenne par 24,3 *A. gambiae s.l.* par nuit au cours de ce mois-là. Sur l'ensemble de ces piqûres, 23,3 ont eu lieu à l'intérieur et 1,0 seulement à l'extérieur, bien que le vecteur soit exophage. Ces résultats démontrent bien que les habitudes nocturnes des habitants influent sur l'endroit où il y a contact entre l'homme et le vecteur, en l'occurrence à l'intérieur des habitations.

Exercise 4.7c

À l'aide du Tableau 4.4, calculez les taux de piqûres sur l'homme pour *A. gambiae s.l.* et *A. pharoensis* pendant les mois d'août et de septembre 1964. D'après les résultats de vos calculs, où ont lieu la plupart des contacts entre l'être humain et le vecteur, à l'intérieur ou à l'extérieur ? Quelle espèce est endophile ? Vos résultats diffèrent-ils de ceux que vous avez calculés à l'exercice 4.7a ?

Calcul indirect du taux de piqûres sur l'homme à partir des captures par pulvérisation d'insecticide

Cette méthode utilise les collectes par pulvérisation d'insecticide et ramassage des moustiques sur des draps. Le taux de piqûres (par nuit) s'obtient en divisant le nombre total de moustiques fraîchement gorgés par le nombre total d'occupants humains ayant passé la nuit dans les maisons où la capture a eu lieu.

$$M = \frac{F}{w}$$

où F = nombre de moustiques de l'espèce étudiée fraîchement gorgés
w = nombre total d'occupants humains dans les maisons où la capture a eu lieu

L'estimation ci-dessus part de deux hypothèses implicites :

1. tous les moustiques gorgés ramassés dans les maisons de l'étude ont pris leur repas de sang sur les occupants de ces maisons ;
2. aucun moustique gorgé n'a quitté les maisons après le repas de sang et avant la capture.

Si ces hypothèses sont plus ou moins vérifiées, cette méthode est plus efficace pour les espèces endophiles et elle demande moins de travail pour estimer le taux de piqûres sur l'homme.

Néanmoins, pour certaines espèces vectrices, comme *A. arabiensis*, une proportion importante des individus (jusqu'à 30 %) peuvent se nourrir sur l'animal, puis se reposer dans les habitations. On ajustera donc éventuellement les résultats en multipliant « *M* » par la proportion de femelles trouvées gorgées de sang humain.

4.3.5 Préférences trophiques

On les déterminent en général par l'analyse de l'origine des repas de sang. La proportion de moustiques d'une espèce donnée qui sont gorgés de sang humain, l'indice d'anthropophilie (IA), permet d'estimer son degré d'anthropophilie.

Dans l'étude de l'exemple, l'IA n'a pas été déterminé, de sorte que, pour les besoins de l'exercice, nous utiliserons une estimation à 0,6 pour les deux espèces *A. gambiae s.l.* et *A. pharoensis*.

4.3.6 Habitudes de repos

La proportion de repas sanguins pris sur l'homme suivis du repos à l'intérieur des habitations constitue un indice important. L'une des clefs du succès des pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent (PID) pour interrompre la transmission réside dans la proportion de vecteurs se reposant sur la surface traitée avant et après le repas pris sur l'homme. Ces pulvérisations ont pour objectif de réduire la probabilité que les vecteurs infectés parviennent à l'âge où ils deviennent infectants.

La proportion de repas de sang pris sur l'homme et suivis du repos à l'intérieur se calcule comme suit :

$$f = \frac{kHD}{NPM}$$

où k = constante de correction de 1,16

H = IA = indice d'anthropophilie – non calculé au cours de l'étude en Éthiopie ; on a utilisé une valeur arbitraire de 0,6

D = densité de repos à l'intérieur (nombre total de femelles collectées, divisé par le nombre de maisons où on a procédé à des captures par pulvérisations d'insecticide)

M = taux de piqûres sur l'homme en Octobre 1964 (Table 4.2)

P = durée du repos à l'intérieur des habitations après le repas, en jours

$P = 1 + G / F$, où où G est le nombre total de femelles semi-gravides et gravides et F le nombre de femelles fraîchement gorgées (nombres obtenus après capture par pulvérisations d'insecticide).

N = nombre moyen de personnes par maison (taille des ménages)

Pour Octobre 1964 (Table 4.2), les valeurs, identiques pour *A. pharoensis* et *A. gambiae s.l.*, sont les suivantes :

k = 1,16

habitants = 79

maisons = 18

$$N = 79 / 18 = 4,4$$

et séparément :

	A. gambiae s.l.	*A. pharoensis*
H (IA : indice d'anthropophilie)	0,6	0,6
Nombre total de femelles	1765	91
D (densité de repos à l'intérieur)	1765 / 18 = 98,06	91 / 18 = 5,06
Femelles gorgées	802	46
Femelles semi-gravides	438	15
Femelles gravides	340	16
P (repos à l'intérieur après le repas)	1 + [(340 + 438) / 802] = 1,97	1 + [(16 + 15)] / 46 = 1,67
M (taux de piqûres sur l'homme)	8,1[a]	11,9[a]

[a] voir les résultats à l'Unité 5, exercice 5.6 et Tableau 5.4.

$$f = 1616\ (D)\ H\ /(N)\ (M)\ (P)$$

Dès lors,

Pour *A. gambiae* s.l. $f = (1,16)\ (98,06)\ (0,6)\ /\ (4,4)\ (8,1)\ (1,97) = 0,972$

Pour *A. pharoensis* $f = (1,16)\ (5,06)\ (0,6)\ /\ (4,4)\ (11,9)\ (1,67) = 0,040$

Exercise 4.8

Rédigez une brève description des résultats obtenus ci-dessus. Comparez vos résultats à ceux de l'animateur.

4.3.7 Longévité et infectiosité

Deux autres facteurs interviennent dans la probabilité d'être piqué par un moustique infectant.

1. **La survie d'un moustique femelle après un repas de sang (probabilité de survivre un jour après le repas, notée *p*, et l'espérance de vie pendant n jours (n étant le nombre de jours pour compléter le cycle sporogonique).**

Les résultats des dissections d'ovaires (taux de parité) entre juillet et décembre 1964 dans le secteur d'Awasa étaient les suivants :

A. gambiae s.l. 72 / 108 = 0,667
A. pharoensis 107 / 276 = 0,388

Étant donné un intervalle de deux jours entre deux repas sanguins, la probabilité de survivre un jour (indiquée par *p*) peut être estimée par la formule suivante :

$$p = \sqrt{\text{Proportion de pares}}$$

Ainsi,
pour *A. gambiae* s.l. $p = \sqrt{0,667} = 0,817$ et
pour *A. pharoensis* $p = \sqrt{0,388} = 0,623$

Si on prend un intervalle de 3 jours, on aura :

pour *A. gambiae* s.l. $p = \sqrt[3]{0,667} = 0,874$ et

pour *A. pharoensis* $p = \sqrt[3]{0,388} = 0,729$

La formule ci-dessus pour le calcul de *p* suppose que la population de moustiques présente une structure stable en taille et en âge et que le taux de mortalité est indépendant de l'âge. Pour cette raison, on fait en général la moyenne de la proportion femelles de pares sur le cycle complet de la population, afin d'éliminer l'effet des fluctuations saisonnières sur la structure de la population (taille et âge).

Il est également possible de calculer la probabilité de survie pendant *n* jours. Si p est la probabilité de survie pendant un jour, p^n est alors la probabilité de survivre pendant *n* jours. Par exemple, à une température moyenne journalière de 27 °C, il faut environ 10 jours à *P. falciparum* pour compléter son cycle sporogonique chez le vecteur.[1] La probabilité de transmission du parasite pour *A. gambiae s.l.* et pour *A. pharoensis* est donc de $0,874^{10}$ (= 0,26) et de $0,729^{10}$ (= 0,042) respectivement.

Pour chaque espèce, l'espérance de vie peut être également calculée comme suit :

$$1 / - \ln p$$ [2]

1. On peut calculer la durée de la sporogonie en fonction de la température au moyen de la formule $n = T / (t - t_{min})$, dans laquelle *n* = durée de la sporogonie ; *T* = 111, 105 et 144 pour *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. malariae* respectivement ; *t* = la température moyenne réelle en degrés centigrades et t_{min} = 16 pour *P. falciparum* et *P. malariae*, et 14,5 pour *P. vivax*.

2. ***ln*** signifie « logarithme naturel » et ***p*** est le taux de survie journalier d'un moustique (à définir dans le texte). La formule est donc l'inverse de la valeur négative du logarithme naturel de *p*, soit 1 / –ln (*p*).

Suivant cette formule et les données des paragraphes précédents, l'espérance de vie est de 7,4 jours pour *A. gambiae s.l.* et de 3,2 jours pour *A. pharoensis*.

À Abella Wondo, la température journalière moyenne de juillet à décembre est habituellement de 20 °C. À cette température, il faut environ 28 jours à *P. falciparum* pour compléter son cycle sporogonique. La probabilité qu'*A. gambiae s.l.* transmette l'infection à *P. falciparum* est donc de $0{,}874^{28}$ (= 0,023, soit 2,3 %). Pendant la même période, sur 2434 femelles de cette espèce, on en a seulement trouvé 3 qui étaient infectées, c'est-à-dire 0,1 %. Cet indice sporozoïtique bas (ou cette faible probabilité de transmission) dans la zone étudiée pourrait résulter de l'effet conjoint de la probabilité de survie des vecteurs et de la température ambiante.

2. L'indice sporozoïtique des moustiques femelles et le nombre de piqûres infectantes par nuit.

Le Tableau 4.5 et la Figure 4.12 donnent les indices sporozoïtiques pour le secteur d'Awasa.

Tableau 4.5 Dissection des glandes salivaires d'*A. gambiae s.l.* dans le secteur d'Awasa (1964 1965)

Mois et année	Nombre de moustiques disséqués	Nombre de positifs pour les sporozoïtes	Indice sporozoïtique (%)
Juin 1964	128	0	0,00
Juillet 1964	212	0	0,00
Août 1964	580	0	0,00
Sep. 1964	630	0	0,00
Oct. 1964	803	2	0,25
Nov. 1964	162	1	0,62
Déc. 1964	47	0	0,00
Janvier 1965	20	0	0,00
Fév. 1965	0	–	–
Mars 1965	0	–	–
Avril 1965	0	–	–
Mai 1965	38	0	0,00
Total	2620	3	0,11

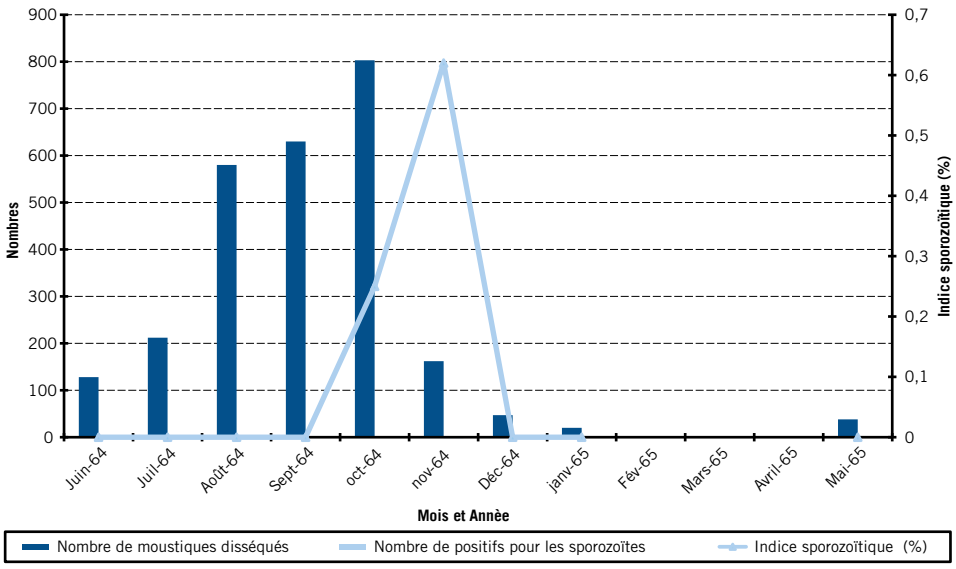


Figure 4.12 Glandes salivaires disséquées, A. gambiae s.l., secteur d'Awasa en 1964-1965

Dans le secteur d'Awasa, 3 femelles *A. gambiae s.l.* sur 2620 (0,11 %) ont été trouvées positives pour les sporozoïtes, sur la même période, 6/1918 (0,31 %) étaient positives dans le secteur d'Adamitalu. Pour les deux secteurs confondus, aucun des 2577 *A. pharoensis* collectés ne s'est avéré positif.

Exemple

En prenant le cas d'un habitant d'Abella Wondo (dans le secteur d'Awasa) en 1964, combien de piqûres infectantes d'*A. gambiae s.l.* peut-il s'attendre à recevoir au cours du mois d'octobre 1964, s'il n'a utilisé aucune protection contre les piqûres de moustiques ?

Cette question peut être reformulée de la façon suivante : parmi les femelles d'*A. gambiae s.l.* qui auront pris leur repas de sang sur cette personne au cours du mois d'octobre 1964, combien auraient pu être infectantes ? Pour répondre à cette question, vous avez besoin de deux données :

- l'indice sporozoïtique, et
- le taux de piqûres sur l'homme.

L'indice sporozoïtique était de 0,25 % (Tableau 4.5). En moyenne, la personne aura été piquée par 8,1 *A. gambiae s.l.* par nuit. Le nombre de piqûres infectantes par personne et par nuit, appelé taux d'inoculation entomologique (TIE) se calcule de la façon suivante :

$$TIE = \frac{\text{taux de piqûres sur l'homme x indice sporozoïtique (\%)}}{100}$$

Le TIE est donc égal à 8,1 x 0,0025, soit 0,0203 par personne et par nuit. En partant du principe que le même nombre de femelles piquent chaque nuit d'octobre 1964, on peut s'attendre à ce qu'au total la personne ait 0,0203 x 31 jours = 0,63 piqûre infectante dans le mois.

On peut aussi arriver au même résultat par le raisonnement suivant. Si 8,1 *A. gambiae s.l.* piquent la personne chaque nuit, 8,1 x 31 = 251,1 pourront l'avoir piquée pendant tout le mois. D'après l'indice sporozoïtique, on peut s'attendre à ce que 0,25 % de ces moustiques soient infectants ; on en déduit donc que le nombre de piqûres infectantes par personne et par mois sera de 0,0025 x 251,1 = 0,63 (soit moins d'une piqûre infectante). Pour exprimer le TIE, il faut toujours indiquer la période concernée (que ce soit par nuit, par mois ou par an). Incidemment, il se trouve que le nombre de piqûres infectantes est faible dans cette région particulière. Dans les zones d'hyperendémie, il arrive qu'il puisse y avoir jusqu'à une piqûre infectante par personne et par nuit.

Avec un calcul similaire pour *A. gambiae* en novembre 1964 (Tableaux 4.4 et 4.5), le taux de piqûres sur l'homme s'établit à 1,2 par personne et par nuit (plus faible qu'en octobre) et l'indice sporozoïtique à 0,62 %, ou 0,0062 (plus élevé qu'en octobre) ; le TIE est de 1,2 x 0,0062 = 0,00744 piqûre infectante par personne et par nuit, soit 0,00744 x 30 = 0,22 piqûre infectante par personne et par mois. Il est probable que les vecteurs encore présents en novembre aient été des moustiques plus âgés (et donc probablement infectés), mais le taux de piqûres plus bas a diminué le TIE.

Exercise 4.9

En groupes, répondez aux questions suivantes :

a) *À partir des résultats des observations et des calculs que nous avons faits sur l'espérance de vie et sur le contact homme-vecteur, laquelle des deux espèces anophéliennes est le vecteur le plus important du paludisme dans la région ? Pourquoi ? Donnez trois raisons.*

b) *Si la décision est prise d'utiliser des pulvérisations d'insecticide à effet rémanent pour lutter contre A. gambiae s.l., quel moment devrait-on choisir pour appliquer un produit ayant une efficacité rémanente de six mois ? Référez-vous aux densités au repos à l'intérieur et aux taux de piqûres sur l'homme.*

Vous présenterez vos réponses en séance plénière.

4.3.8 Capacité vectorielle

La capacité vectorielle (C) est un indice (ou modèle) représentant la capacité d'une population de vecteurs à transmettre le paludisme, exprimée par le nombre d'inoculations secondaires par jour à partir d'un sujet infectieux. La formule pour la calculer est la suivante :

$$C = m\, a^2\, p^n / -\ln p$$ [1]

où m = densité de vecteurs par rapport à l'homme
a = nombre de repas de sang pris sur l'homme par vecteur et par jour (= indice d'anthropophilie multiplié par 0,5, en supposant un cycle gonotrophique de deux jours)
p = probabilité quotidienne de survie (proportion de vecteurs survivant chaque jour)
n =période d'incubation du parasite chez le vecteur (en jours)

La formule peut être analysée de la façon suivante : une personne est piquée par m a vecteurs en un jour ; une fraction p^n de ces vecteurs survit pendant la durée d'incubation parasitaire ; ils survivent $[1 / (-\ln p)]$ jours, période pendant laquelle ils se nourrissent sur a personnes par jour ; en multipliant m.a par a, puis par p^n et $[1 / (-\ln p)]$, on obtient la formule ci-dessus. Il est difficile de mesurer correctement tous ces paramètres et plusieurs hypothèses devront être faites. Néanmoins, la capacité vectorielle est l'une des notions les plus importantes dans les études théoriques de l'épidémiologie du paludisme et de la lutte antipaludique. Par exemple, grâce à cette notion, on peut démontrer qu'en diminuant de moitié la survie des moustiques p (par des insecticides à effet rémanent), on obtient une baisse bien plus grande de la capacité vectorielle qu'en réduisant de moitié a, cependant deux fois plus efficace qu'une baisse de moitié de la densité m.

Discussion finale

Vous allez revoir les notions essentielles de la biologie des vecteurs et leur lien avec la transmission du paludisme et l'incrimination du vecteur. L'instructeur posera les questions énumérées ci-après. Vous établirez une liste des éléments de la biologie d'un vecteur qui augmentent le risque de paludisme. Les résultats de la classe seront inscrits sur un tableau.

---

1. ***ln*** signifie « logarithme naturel » et ***p*** est le taux naturel de survie d'un moustique (à définir dans le texte). La formule est donc l'inverse de la valeur négative du logarithme naturel de p, soit $1 / -\ln (p)$.

1. Quelles sont les caractéristiques des gîtes larvaires aquatiques qui contribuent au risque de paludisme ?
2. Quelles sont les caractéristiques de la vie adulte du vecteur qui augmentent la probabilité de transmission du paludisme ?
3. Quelles sont les habitudes du vecteur pour piquer l'homme qui augmentent le potentiel de transmission du paludisme ?
4. Quels sont les activités et les comportements qui exposent l'homme au risque de paludisme ?
5. Est-il nécessaire de mesurer tous les paramètres de la capacité vectorielle pour surveiller la composante entomologique de la transmission du paludisme ? Expliquez votre réponse.
6. Le TIE est devenu un indicateur entomologique important de la transmission du paludisme pour comparer les variations régionales. Pourquoi est-ce le cas ?

UNITÉ D'APPRENTISSAGE 5

Lutte contre les vecteurs du paludisme

Objectifs d'apprentissage :
À la fin de l'unité, les participants devraient pouvoir...

- décrire les rôles et objectifs de la lutte antivectorielle pour prévenir et combattre le paludisme
- décrire les options de la lutte antivectorielle, leurs avantages et leurs limitations
- décrire les formulations de différents insecticides (organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthrinoïdes)
- démontrer des compétences pour l'application des traitements insecticides : pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent (PID), moustiquaires imprégnées (MII et MID), traitements larvicides et pulvérisations spatiales
- démontrer des compétences pour faire fonctionner, conserver et entretenir les équipements de lutte antivectorielle (pulvérisateurs d'insecticides, nébulisateurs thermiques, applications à très bas volume)
- décrire les différentes méthodes utilisées dans la lutte biologique contre les vecteurs du paludisme
- décrire la reconnaissance géographique et sa place dans les opérations antivectorielles
- expliquer les options pour la gestion intégrée des vecteurs (GIV)

Introduction

La lutte antivectorielle est l'une des pierres angulaires de la lutte antipaludique et reste la mesure généralement la plus efficace pour éviter la transmission de la maladie. Il s'agit donc d'une des approches stratégiques de lutte contre le paludisme.

L'objectif est double :

- au niveau individuel, assurer la protection contre les piqûres infectantes de moustiques ;
- au niveau de la communauté, diminuer l'intensité de la transmission locale du paludisme en réduisant la longévité, la densité des populations locales de moustiques et le contact homme-vecteur.

Les méthodes de lutte antivectorielle varient considérablement quant à leur applicabilité, leur coût et la pérennité de leurs résultats. Elles ciblent les moustiques adultes et/ou leurs larves.

5.1 Méthodes de lutte antivectorielle

Les interventions peuvent être regroupées en trois principales catégories :

1. Diminution du contact homme-vecteur

- Moustiquaires imprégnées d'insecticide
- Amélioration de l'habitat
- Répulsifs et spirales anti-moustiques

2. Lutte contre les moustiques adultes

- Moustiquaires imprégnées d'insecticide
- Pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent (PID)
- Pulvérisations spatiales d'insecticide

3. Lutte contre les larves

- Traitements larvicides
- Réduction de la source
- Poissons larvivores

Toutes ces méthodes ne sont pas applicables à toutes les différentes situations épidémiologiques ou opérationnelles pouvant se produire. Les deux interventions les plus efficaces et les plus largement mises en œuvre sont les moustiquaires imprégnées d'insecticide et les pulvérisations intradomiciliaires d'insecticide à effet rémanent. Elles entraînent la réduction du contact entre l'homme et le vecteur, et la diminution de la longévité des moustiques femelles (de sorte qu'elles ne vivent pas assez longtemps pour transmettre le parasite).

D'autres interventions, comme les traitements larvicides ou la gestion de l'environnement, peuvent s'avérer utiles si certaines conditions sont réunies, en fonction du vecteur ciblé et de la situation locale. En raison de leurs limitations logistiques et opérationnelles, ces méthodes ne peuvent pas être appliquées avec succès partout, mais elles peuvent, dans des situations bien définies, compléter les moustiquaires imprégnées et les pulvérisations intradomiciliaires. Ainsi, les traitements larvicides ne sont utiles que si les gîtes larvaires sont peu nombreux, fixes et localisables.

Exercise 5.1

En petits groupes, vous allez écrire sur le diagramme ci-dessous (Figure 5.1) les méthodes potentielles d'intervention contre les vecteurs à chaque stade du cycle de vie. Classez-les en trois catégories : *i)* réduction du contact homme-vecteur ; *ii)* lutte contre les moustiques adultes ; *iii)* lutte larvicide. Référez-vous au texte sur les méthodes de lutte antivectorielle, à la fin de l'unité, pour préparer cet exercice. Chaque groupe présentera ses analyses en séance plénière et discutera alors de ses conclusions.

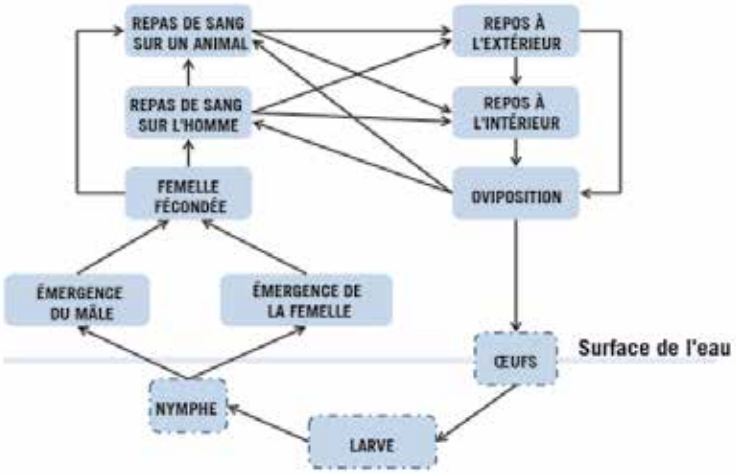


Figure 5.1 Représentation schématique du cycle de vie du moustique

Exercise 5.2

En petits groupes, complétez le Tableau 5.1 pour décrire les effets escomptés des diverses méthodes de lutte antivectorielle sur les différents aspects de la population de vecteurs. Pour remplir les cases vierges du tableau, vous pouvez utiliser la clef suivante : (+) diminution attendue ; (–) aucun effet ; (+/–) effet incertain ou dépendant d'autres facteurs. Vous présenterez vos résultats en séance plénière. Référez-vous au texte sur les méthodes de lutte antivectorielle, à la fin de l'unité, pour préparer cet exercice.

Tableau 5.1 Caractéristiques des vecteurs (et composantes de la capacité vectorielle) susceptibles d'être affectés par les différentes méthodes de luttes

Méthode	Densité larvaire (**m**)	Densité des adultes (**m**)	Survie des adultes (**p**)	Piqûres sur l'homme (**a**)
Diminution du contact homme-vecteur				
Moustiquaires et autres matériels imprégnés d'insecticide				
Amélioration de l'habitat				
Répulsifs et spirales anti-moustiques				
Lutte contre les moustiques adultes				
Moustiquaires et autres matériels imprégnés d'insecticide				
Pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent				
Pulvérisations spatiales				
Lutte contre les larves				
Réduction de la source				
Poissons larvivores				
Traitements larvicides				

+ Diminution attendue ; – aucun effet ; +/– effet incertain ou dépendant d'autres facteurs.

Démonstration

Une démonstration des méthodes de lutte antivectorielle, des équipements et des produits chimiques couramment employés va vous être faite. Vous vous entraînerez à les mettre en œuvre et discuterez de leur utilisation, de l'entretien, des aspects opérationnels et de la sécurité.

5.1.1 Sélection des méthodes de lutte antivectorielle

Chaque méthode varie du point de vue de l'efficacité, des ressources nécessaires, des moyens potentiels de la rendre accessible à la population cible, et du personnel requis pour la mise en œuvre. Certaines méthodes sont très spécifiques et d'autres d'un usage très général. La Figure 5.2 montre la complexité du processus de sélection des méthodes de lutte antivectorielle. Le rond central a trait à la situation épidémiologique particulière d'intérêt. Cette unité d'apprentissage s'intéresse à l'impact des différentes méthodes de lutte sur la population de vecteurs.

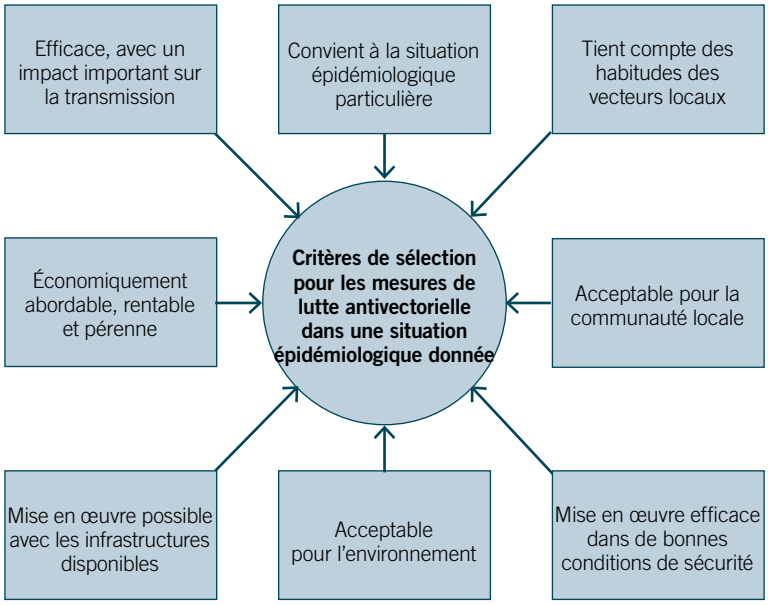


Figure 5.2 Critères de sélection des options de lutte antivectorielle dans une situation épidémiologique donnée

Exercise 5.3

Lors du processus de sélection d'interventions de lutte antivectorielle, un des éléments importants est la connaissance des avantages et des limites de chaque méthode. En groupes, vous allez établir la liste des avantages et des limites de chaque méthode énumérée au Tableau 5.1. Pour préparer cette liste, vous pouvez vous référer aux informations données à la fin de l'unité.

Exercise 5.4

L'instructeur assigne à chaque groupe l'une des deux interventions à appliquer dans l'étude de cas sur l'Éthiopie. Pour cet exercice, nous allons partir de l'hypothèse que les autorités ont obtenu des avis contradictoires sur l'utilisation des MII ou l'application de PID. Chaque groupe justifiera sa sélection de la méthode adaptée, élaborera un plan d'intervention et en fera la promotion en séance plénière. Le texte à la fin du module pourra vous servir de guide pour élaborer votre plan.

5.2 Réduction du contact homme-vecteur

5.2.1 Moustiquaires imprégnées d'insecticide

Il s'agit de moustiquaires dont la toile a été imprégnée par un insecticide. Elles ont un effet répulsif, incapacitant et/ou létal sur les moustiques qui viennent au contact du produit sur la toile. Il en existe deux catégories :

- La moustiquaire imprégnée d'insecticide (MII) classique qui est obtenue en plongeant le textile dans une solution d'un insecticide recommandé par l'OMS. Pour s'assurer de la persistance de l'effet insecticide, la moustiquaire doit être retraitée tous les trois lavages ou au moins une fois par an.
- La moustiquaire à imprégnation durable (MID) est un produit traité en usine constitué d'un matériau dans lequel l'insecticide a été intégré à l'intérieur des fibres ou fixé autour d'elles. La moustiquaire doit conserver son efficacité biologique contre les vecteurs pendant au moins trois ans sur le terrain, dans les conditions d'utilisation recommandées, ce qui supprime le besoin des retraitements réguliers. Pour cette raison, l'OMS insiste sur l'utilisation des moustiquaires à imprégnation durable à la place des MII classiques.

Les moustiquaires imprégnées agissent *i)* en protégeant la personne qui dort en dessous (niveau individuel : protection personnelle) et *ii)* en étendant leur effet à l'ensemble d'une zone (niveau communautaire : effet de masse). La protection personnelle opère en évitant le contact entre le moustique et la personne qui se trouve sous la moustiquaire. « L'effet de masse » se produit quand l'insecticide de la moustiquaire tue les moustiques qui la touchent, ce qui a des répercussions sur la population des vecteurs et diminue l'intensité générale de la transmission dans la zone couverte. Toutefois, dans un même foyer, l'effet protecteur des moustiquaires imprégnées est plus faible pour les personnes dormant en dehors des moustiquaires que pour celles qui dorment en dessous et l'OMS recommande donc d'atteindre la « couverture universelle », plutôt que d'atteindre, dans chaque ménage, un nombre prédéterminé de moustiquaires traitées.

5.2.1.1 Textiles et modèles de moustiquaires

On emploie les termes qui suivent pour caractériser les matériaux employés pour fabriquer les moustiquaires :

Matériaux

Les moustiquaires sont constituées de fibres textiles en polyester, en polyéthylène ou en polypropylène (voir la Figure 5.3).

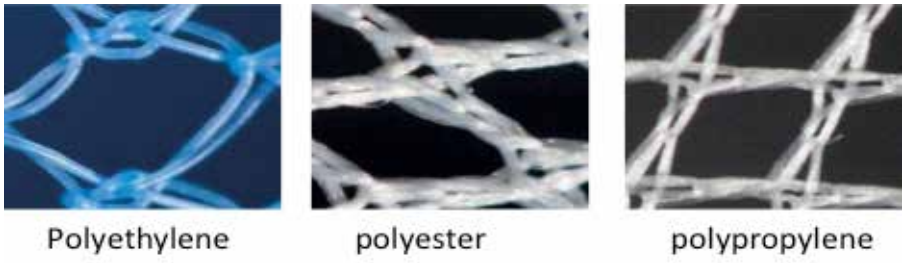


Figure 5.3 Les différentes matériaux utilisés pour les moustiquaires

Maillage

C'est le nombre de trous par pouce carré (inch^2) (soit un carré de 2,54 centimètres de côté), par exemple un maillage de 156 correspond à 12 x 13 trous par pouce carré. On considère que c'est le maillage standard pour les moustiquaires non traitées ou traitées sur le terrain, à condition que les trous soient de taille relativement homogène. En raison de la rétention de leur activité insecticide contre les moustiques, les MID peuvent avoir un maillage minimum différent, éventuellement spécifique du produit.

Résistance à l'éclatement

Elle est définie par la pression maximale pouvant être exercée sur une surface donnée du textile avant qu'il ne se déchire. On mesure cette valeur sur des surfaces de textiles de 7,3 cm^2. La résistance à l'éclatement minimale acceptable pour les toiles de moustiquaires est de 250 kPa.

Denier

C'est une indication du poids (et donc de la résistance) du fil. Il se définit comme le poids en grammes d'une longueur de 9000 m de fil simple. Des fibres de 100 deniers ou plus sont solides et donc souvent recommandées. On utilise aussi des moustiquaires de 75 deniers, mais elles sont fragiles.

Couleur

On utilise souvent le bleu, le vert ou le rose, parce que ce sont des couleurs moins salissantes et qu'on évite ainsi les problèmes culturels associés au blanc. Dans certaines régions cependant, on préfère les moustiquaires blanches.

Forme et taille

On trouve en général deux formes de moustiquaires : rectangulaires ou coniques (circulaires). Les programmes à grande échelle optent souvent pour les moustiquaires rectangulaires. Le Tableau 5.2 présente un aperçu des moustiquaires les plus couramment utilisées. Tout comme la couleur, la forme et la taille dépendent des préférences locales.

Tableau 5.2 Moustiquaires les plus courantes

Taille	Largeur (cm)	Longueur (cm)	Hauteur (cm)
Simple	70	180	150
Double	100	180	150
Familiale	130	180	150
Famille nombreuse	190	180	150

Les moustiquaires coniques utilisées font environ 8,76 m^2 en taille simple, 10,20 m^2 en taille double, 11,64 m^2 en taille familiale et 14,52 m^2 en taille « famille nombreuse ».

5.2.1.2 Imprégnation des moustiquaires

Du point de vue des programmes de lutte, le traitement et le retraitement des moustiquaires seront nécessaires tant que les MID n'auront pas une couverture plus étendue et n'auront pas remplacé toutes les MII classiques déjà livrées et distribuées. De plus, certaines communautés dans des zones d'endémie palustre pourraient continuer d'utiliser des moustiquaires nécessitant un traitement ou un retraitement. Les procédures d'imprégnation sont décrites dans l'annexe 2.

5.2.1.3 Provenance des moustiquaires

Les moustiquaires peuvent potentiellement provenir :

- de fabricants commerciaux de moustiquaires ou de textiles à mailles en dehors du pays ;
- de fabricants commerciaux locaux de moustiquaires ;
- d'une production à petite échelle, par un tailleur local par exemple ;
- des familles produisant elles-mêmes leurs propres moustiquaires.

5.2.1.4 Moustiquaires à imprégnation durable

Les moustiquaires à imprégnation durable (MID) sont des moustiquaires prétraitées, prêtes à l'emploi et qui ne nécessitent pas d'être de nouveau imprégnées pendant leur durée de vie (en général 2 à 3 ans). Les données de terrain sur la durabilité (l'intégrité physique) semblent indiquer qu'elles ne durent pas plus de 24 mois, ce qui a des conséquences énormes sur les coûts de remplacement. Des travaux sont actuellement en cours pour mettre au point des moustiquaires qui durent plus longtemps et permettraient d'allonger les intervalles entre les cycles de remplacement. De plus, si des moustiquaires sont trop abimées avant trois ans d'utilisation, leur remplacement devrait alors intervenir plus rapidement.

Les MID présentent plusieurs avantages importants par rapport aux moustiquaires classiques. Elles permettent notamment d'éliminer le besoin de retraitement (l'un des principaux obstacles à l'utilisation des MII dans de nombreux pays), d'éviter les problèmes liés à la conservation et à la manipulation des insecticides par des non professionnels et, au niveau des communautés, de diminuer l'utilisation des insecticides et de réduire au maximum les dangers pour l'environnement provenant de rejets accidentels d'insecticides dans les collections d'eau naturelles.

Le Système OMS d'évaluation des pesticides (WHOPES) énonce des recommandations sur les spécifications pour les MID. Les autorités responsables des achats ne devraient procurer que des MID conformes aux spécifications du WHOPES. Tous les lots de MID devraient être soumis au processus d'assurance qualité. Comme l'indique le Tableau 5.5, il existe actuellement pour ces moustiquaires 11 produits recommandés par l'OMS.

Tableau 5.5 Moustiquaires à imprégnation durable recommandées par l'OMS

Nom du produit	Type du produit	Statut de la recommandation OMS
DawaPlus® 2.0	Polyester enduit de deltaméthrine	Provisoire
Duranet®	Alpha-cyperméthrine intégrée dans le polyéthylène	Complète
Interceptor®	Polyester enduit d'alpha-cyperméthrine	Complète
LifeNet®	Deltaméthrine intégrée dans le polypropylène	Provisoire
MAGNetTM	Alpha-cyperméthrine intégrée dans le polyéthylène	Complète
Olyset Net®	Perméthrine intégrée dans le polyéthylène	Complète
Olyset® Plus	Perméthrine et PBO intégrée dans le polyéthylène	Provisoire
PermaNet® 2.0	Polyester enduit de deltaméthrine	Complète
PermaNet® 3.0	Association de polyester enduit de deltaméthrine avec des bords renforcés (panneaux latéraux) et deltaméthrine, et PBO intégrés au polyéthylène (panneau du dessus)	Provisoire
Royal Sentry®	Alpha-cyperméthrine intégrée au polyéthylène	Complète
Yorkool® LN	Polyester enduit de deltaméthrine	Complète

1. Les rapports des réunions du groupe de travail WHOPES sont à consulter pour obtenir des détails sur l'utilisation et les recommandations. Ils sont disponibles sur : http://www.who.int/whopes/recommendations/wgm/en/).
2. Les recommandations de l'OMS sur l'utilisation de pesticides en santé publique ne sont valables QUE si elles sont associées aux spécifications de l'OMS pour leur contrôle qualité. Les spécifications de l'OMS concernant les pesticides utilisés en santé publiques sont disponibles sur : http://www.who.int/whopes/quality/newspecif/en/.

5.2.1.5 Avantages et limitations des MII/MID

Ces avantages et limitations sont présentés dans le Tableau 5.6.

Tableau 5.6 Avantages et limitations des MII et des MID par rapport aux PID

Caractéristiques	MII ou MID
Avantages des MII/MID	
• Pas besoin d'équipement spécial et de formation	MII et MID
• Peu de problèmes d'organisation et de logistique	MII et MID
• Faible quantité d'insecticide nécessaire	MII et MID
• Protection contre la poussière, les rats et les serpents	MII et MID
• À base communautaire	MII et MID
• Pas de retraitement (2-3 ans)	MID
Limitations des MII/MID	
• Baisse de l'efficacité en présence de moustiques exophiles et exophages	MII et MID
• Efficacité limitée en cas de participation insuffisante des groupes exposés au risque	MII et MID

5.2.1.6 Éléments essentiels de la mise en œuvre et de l'évaluation d'un programme MII/MID

Certains aspects techniques, socio-culturels, économiques et opérationnels influeront probablement sur l'efficacité de la mise en œuvre de la stratégie MII/MID. Il faut envisager certaines questions au moment de planifier l'exécution d'un programme MII/MID, notamment :

- Quelles sont les habitudes des vecteurs ? Sont-ils principalement exophages ou endophages et à quelles périodes ont-ils leur pic d'agressivité, notamment en lien avec les habitudes de sommeil des habitants ? Les gens sont-ils dehors (en dehors des MII et des MID) aux heures où les moustiques sont le plus agressifs ?
- Quels sont les mouvements et habitudes nocturnes des habitants qui influent probablement sur l'exposition aux vecteurs, y compris l'heure du coucher ? (La réponse à cette question varie en fonction de l'âge, du sexe et de l'occupation).
- Quelle est l'attitude de la population vis-à-vis de l'utilisation de moustiquaires ?
- Y a-t-il des préférences pour la taille, la forme et la couleur des moustiquaires ?
- Qui utilise déjà des moustiquaires ? Où se les procurent-ils et à quel prix ?
- L'utilisation des moustiquaires est-elle soumise à des variations saisonnières ?
- Dans quelle situation économique se trouvent la plupart des gens ? (cela aura des répercussions sur la possession de moustiquaires, les moyens d'acheter les insecticides et de payer les (re) traitements des moustiquaires.

Les MII/MID sont indiquées comme intervention sur le long terme dans la plupart des situations, notamment les suivantes :

Situations épidémiologiques

- Dans une vaste gamme de conditions de transmission du paludisme nécessitant une protection sur le long terme.
- Dans les zones de transmission saisonnière relativement longue ou de transmission pérenne, de sorte qu'il faudrait instituer plus d'un cycle de PID.

- Dans les zones où on ne peut avoir recours aux PID et n'obtenir qu'une protection personnelle (par exemple paludisme en zone forestière ou parmi des populations nomades).

Situations socio-économiques

- Dans les endroits où, pour les PID, on pourrait être confronté à des problèmes d'acceptabilité pour divers motifs.

Situations liées à l'accès et aux programmes

- Dans les zones où la distribution systématique de MII/MID peut être facilement intégrée dans les systèmes de santé existants, comme le PEV systématique ou les soins prénatals.
- Dans les zones où les compétences spécialisées et les infrastructures nécessaires pour les PID n'ont pas été (encore) développées, une campagne de distribution de MII/MID peut rapidement atteindre des taux élevés de couverture.
- Pour protéger les populations difficiles à atteindre, où des cycles répétés de PID ne sont pas faisables (une seule distribution de MII/MID peut assurer une protection de relativement longue durée, par rapport à la durée plus courte de protection obtenue avec un cycle de PID).

Dans chaque pays, il y a des situations locales et éco-épidémiologiques variées, de sorte qu'il sera souvent justifié d'organiser des PID dans certains cas, de distribuer des MII/MID dans d'autres ou même parfois de mettre en œuvre les deux types d'interventions.

Population ciblée pour les programmes MII/MID

Population à risque – couverture universelle

Les MII/MID devraient être fournies en nombre suffisant pour que toute personne exposée à la transmission dans les communautés ciblées puisse en avoir. En cas de limitation de l'approvisionnement cependant, elles devraient être utilisées pour la protection personnelle dans les groupes les plus vulnérables, c'est-à-dire :

Les enfants de moins de cinq ans

Les jeunes enfants n'ont pas développé un niveau d'immunité les protégeant du paludisme du fait qu'ils ont eu une exposition limitée à l'infection. Dans les zones de forte transmission, ce groupe est vulnérable au paludisme sévère. Cette tranche d'âge constitue généralement l'un des principaux groupes ciblés par les interventions de lutte antipaludique.

Les femmes enceintes

La grossesse accroît la vulnérabilité des femmes au paludisme. Pour les femmes non immunisées en zone de transmission instable du paludisme, la forme cérébrale et d'autres complications du paludisme sévère à *P. falciparum* sont plus courantes au cours de la grossesse, notamment chez les primipares. Même dans certaines zones d'hyperendémie, le tableau clinique et la parasitémie sont plus graves chez les primipares que chez les multipares et les autres patients. De plus, chez les femmes enceintes, le paludisme est un facteur de risque de faible poids du nouveau-né à la naissance et d'autres complications durant la grossesse.

Les réfugiés et les personnes déplacées dans leur pays

Ce groupe passe souvent de zones exemptes ou avec une faible transmission du paludisme à des zones de forte endémie. Quel que soit leur âge, ces personnes constituent un groupe exposé à un risque élevé de paludisme car elles n'ont pas d'immunité protectrice.

Choix entre les MII classiques et les MID

L'OMS encourage les programmes nationaux de lutte contre le paludisme et leurs partenaires impliqués dans les interventions avec des moustiquaires imprégnées d'insecticide à fournir seulement des moustiquaires à imprégnation durable. De plus, celles-ci ont un meilleur rapport coût-efficacité (car on peut les utiliser pendant deux à trois ans) que les moustiquaires classiques que l'on doit imprégner d'insecticide une ou deux fois par an.

Toutefois, dans des régions où, dans le passé, des MII ont été distribuées ou acquises par la population par d'autres moyens et où une proportion importante (au moins 50 %) de la communauté les utilisent, la réimprégnation des moustiquaires pourrait présenter un rapport coût-efficacité avantageux. On s'attend à ce que l'utilisation de MID devienne la principale intervention de lutte contre les vecteurs du paludisme dans la plupart des régions, avec une baisse des besoins en MII et en retraitement des moustiquaires.

Les programmes nationaux de lutte antipaludique et leurs partenaires ne devraient se procurer que les MID recommandées par le Système OMS d'évaluation des pesticides (WHOPES). Comme la qualité de ces produits peut être variable, il est fortement recommandé d'exiger, avant et après expédition, des tests de qualité dont le coût devrait être couvert par les fournisseurs.[1]

Distribution des MII/MID

Des taux élevés de couverture sont nécessaires pour atteindre le plein potentiel des MII/MID. L'OMS recommande donc la couverture complète de toutes les personnes exposées au risque dans les zones ciblées pour la prévention du paludisme.

En général, on peut obtenir plus efficacement une extension rapide de la couverture dans les populations ciblées en distribuant des MII/MID gratuites ou fortement subventionnées. Le coût ne doit pas être un obstacle à l'accessibilité des MII/MID pour toutes les personnes à risque, en particulier les jeunes enfants et les femmes enceintes.

L'association de plusieurs modes de distribution, comme des mécanismes de mise à niveau (ou rattrapage) et de maintien de la couverture, est le meilleur moyen d'atteindre et de pérenniser l'accès universel aux MII/MID. L'organisation de campagnes de distribution de masse permet de mettre la couverture des populations à niveau et d'atteindre rapidement une couverture universelle. Il est cependant essentiel de compléter ces campagnes par des systèmes d'approvisionnement continu afin d'assurer le maintien de la couverture dans le temps, avec en particulier la distribution systématique aux femmes enceintes par l'intermédiaire des services de soins prénatals et aux nourrissons dans les centres de vaccination.

De nombreux pays distribuent les MII/MID aux femmes enceintes par l'intermédiaire des soins prénatals, pouvant procéder de deux manières :

- en remettant une MII/MID gratuite ou à un prix subventionné (c'est-à-dire le produit lui même) ;
- en remettant un bon d'achat ou un coupon à échanger contre une MII/MID dans une structure de distribution tel qu'un point de vente.

La distribution aux enfants peut se faire en s'appuyant sur :

- la vaccination systématique ;

---

1. OMS, 2012. *Guidelines for procuring public health pesticides*. WHO/HTM/NTD/WHOPES/2012.4.

- les journées/semaines de la santé de l'enfant, qui ciblent les enfants de moins de 5 ans pour qu'ils bénéficient d'un ensemble d'interventions, dont les MII/MID, la supplémentation en vitamine A et les traitements antiparasitaires ;
- les établissements de santé ou les équipes mobiles dans le cadre de services mensuels de proximité.

En situation d'urgence dans des zones de paludisme instable, des distributions dans le cadre d'opérations de secours contribuent à atteindre rapidement la couverture de la population entière.

Les techniques de marketing social employées dans certains pays font appel à diverses méthodes de distribution, comme de passer par les établissements de santé publique ou d'associer la distribution par la communauté et par le secteur privé, ce dernier principalement dans les centres urbains. L'offre commerciale de moustiquaires peut également être un apport précieux. Les secteurs commerciaux existants ou en devenir devraient être soutenus.

Estimation du nombre de moustiquaires nécessaires dans une zone donnée

On propose actuellement de distribuer une MII/MID pour deux personnes. Au niveau des ménages, la distribution d'une MII/MID pour deux implique d'arrondir au chiffre supérieur en cas de nombre impair de personnes (par exemple trois MII/MID pour une famille de cinq, etc.). À cause de l'arrondi, pour parvenir à « une MII/MID pour deux personnes » au niveau des ménages, il faut compter pour la fourniture une proportion moyenne d'une MII/MID pour 1,8 personne dans la population ciblée.

- Dans les situations où les MII/MID n'ont pas encore été distribuées, l'estimation des besoins reposera sur le calcul d'une MID pour 1,8 personne (soit 550 moustiquaires/1000 habitants), pour intégrer la nécessité de garantir une couverture universelle dans tous les ménages, y compris ceux dont les membres sont en nombre impair.
- Dans les situations où la proportion de ménages possédant des MII/MID est faible (< 30 %) ou si cette proportion ne peut pas être estimée par un système de suivi des moustiquaires existantes en partant du principe qu'elle est faible, on recommande alors de ne pas tenir compte des MII/MID existantes. L'estimation des besoins en moustiquaires se fera alors sur la base d'une MID pour 1,8 personne, comme dans le cas précédent.
- Dans les situations où on estime que la proportion de ménages possédant des MII/MID est supérieure à 30 %, une quantification plus détaillée des moustiquaires à fournir permettra une utilisation plus judicieuse des ressources. Pour estimer le nombre des moustiquaires à fournir, une méthode solide de quantification tiendra compte des facteurs suivants :
  - les stocks préexistants de MII/MID qui n'ont pas été distribuées et peuvent être utilisées ;
  - l'estimation du nombre de MII/MID distribuées par an au cours des trois dernières années, de préférence par district ;
  - l'efficacité et l'état probable des MII/MID en tenant compte des taux de perte décrits dans le tableau qui suit, basés sur l'âge des moustiquaires (en nombre d'années depuis la distribution).

Taux de perte des moustiquaires

Plusieurs études sont en cours sur la durabilité et la durée de vie effective des différentes moustiquaires dans divers milieux. Les pays sont encouragés à faire un contrôle prospectif de la durabilité des MID en appliquant la méthodologie décrite dans la publication de

l'OMS intitulée *Guidelines for monitoring the durability of long-lasting insecticidal mosquito nets under operational conditions*.[1] Les pays disposant de données spécifiques sur la viabilité ou la durabilité des moustiquaires sur leur territoire peuvent s'en servir pour estimer le nombre de moustiquaires en bon état et leur durée de vie restante. On peut aussi estimer les taux de perte à 8% pendant la première année (0-12 mois) depuis la distribution, à 20% pendant la seconde année (13-24 mois) depuis la distribution et à 50% pendant la troisième année (25-36 mois) depuis la distribution. Ces taux de perte se fondent sur les données actuellement disponibles et pourraient évoluer avec le temps à mesure qu'on aura plus d'informations. Les exemples ci-après montrent comment utiliser ces chiffres pour calculer les pertes de MID depuis le moment où elles sont distribuées.

Exemple : calcul du nombre de MID en 2013

Année de distribution des moustiquaires	2011	2012	2013
Quantité distribuée	50 000	100 000	10 000
Pertes	50 000 x 0,5 = 25 000	100 000 x 0,2 = 20 000	10 000 x 0,08 = 800
Proportion disponible	1 – 0,5 = 0,5	1 – 0,2 = 0,8	1 – 0,08 = 0,92
Moustiquaires existant encore	25 000	80 000	9 200
Nombre total de moustiquaires existantes en 2013	114 200		

Distribution des MII/MID aux ménages

L'attribution des MII/MID au niveau des ménages dépendra des moustiquaires fonctionnelles existantes dans les communautés selon les principes suivants :

- Dans les communautés où la proportion de ménages possédant des MII/MID est inférieure à 30% ou inconnue, ou dans celles où des moustiquaires n'ont pas encore été distribuées, l'attribution au moyen de distributions de masse est recommandée en ciblant tous les ménages, quelles que soit les MII/MID existantes.
- Dans les communautés où la proportion de ménages possédant des MII/MID est supérieure à 30%, on recommande, pour atteindre la couverture universelle une attribution aux ménages qui tienne compte des moustiquaires existantes, en supposant qu'il existe un nombre suffisant de moustiquaires en bon état.
- Dans les communautés où il ressort des données que la plupart des ménages (65-85%) possèdent de multiples MII/MID et que des niveaux de couverture pratiquement universelle ont été atteints, des campagnes nationales de distribution des moustiquaires peuvent ne pas être nécessaires. On pourra néanmoins avoir recours à des campagnes partielles pour augmenter la possession de moustiquaires dans les ménages des régions ou districts où la couverture est encore faible. Dans de telles situations, on peut mettre l'accent sur l'établissement ou le renforcement de la distribution par les systèmes ordinaires pour s'assurer que suffisamment de MII/MID parviennent aux ménages pour maintenir la couverture universelle dans les zones où elle a déjà été atteinte ou pour franchir les dernières étapes, là où ce n'est pas encore le cas.

1. OMS, 2011. *Guidelines for monitoring the durability of long-lasting insecticidal mosquito nets under operational conditions*, disponible à l'adresse http://www.who.int/whopes/guidelines/en/.

En cas de couverture existante irrégulière, avec certains ménages disposant de plusieurs moustiquaires tandis que beaucoup d'autres n'en ont aucune, il pourra être nécessaire de procéder à un recensement des ménages et des moustiquaires dans le cadre de l'enregistrement des ménages afin d'éviter d'avoir localement des surplus ou des ruptures de stock au moment de la distribution. L'une des méthodes d'attribution aux ménages consiste à faire appel à une procédure d'enregistrement des ménages ou de recensement des MII/MID, afin de déterminer les besoins de chaque maison sur la base de la possession par les familles de moustiquaires en bon état, du nombre de personnes vivant dans le ménage ou des espaces de couchage. Dans certains pays, des coupons ou des bracelets pour le nombre de moustiquaires nécessaires dans chaque ménage sont remis à ce moment-là aux représentants des familles qui devront les présenter au point de distribution le jour de la campagne. Ainsi, les distributions cibleront les ménages ayant besoin de moustiquaires.

L'enregistrement des ménages et les recensements de moustiquaires sont une étape importante dans le processus de la campagne et doivent être faits après s'être procuré les MII/MID, mais avant leur distribution. Ils sont souvent à la base de la planification de la logistique (transport, stockage, prépositionnement des moustiquaires), de sorte qu'il sera probablement utile pour les pays de laisser suffisamment de temps pour alimenter cette planification avec les données de l'enregistrement et pour transférer les MII/MID le long de la chaîne d'approvisionnement jusqu'aux points de distribution locaux.

Veiller à la bonne utilisation des MII/MID

Pour être protégés, les ménages doivent posséder des moustiquaires, mais aussi les utiliser. On recommande donc fortement des interventions visant le changement des comportements, au moyen de campagnes d'information, d'éducation et de communication (IEC). La distribution des MII/MID doit systématiquement être accompagnée d'informations indiquant comment les suspendre, les utiliser et les entretenir correctement.

Informations de base nécessaires le déploiement de MID dans le cadre d'une intervention de lutte antivectorielle

Insecticide

- Sensibilité des vecteurs aux insecticides
- Efficacité des insecticides

Renseignements démographiques

- Estimations de la population
- Âge, sexe, revenu, nombre de personnes utilisant des moustiquaires
- Groupes ciblés : enfants, femmes enceintes (seulement s'il n'y a pas de ressources suffisantes pour une couverture universelle)

Données sociocomportementales

- Habitudes de sommeil (à l'extérieur, à l'intérieur)
- Utilisation actuelle des moustiquaires
- Attitudes culturelles
- Couleurs acceptables
- Tailles préférées en fonction des logements et des conditions de couchage

Caractéristiques des vecteurs

- Principales espèces vectrices
- Habitudes trophiques (exophilie ou endophilie, zoophilie ou anthropophilie, heures d'activité)
- Densité vectorielle
- Saisonnalité de la transmission

Données climatiques

- Température
- Précipitations
- Humidité

Données géographiques

- Description de la zone, cours d'eau, routes, maisons, type d'habitat

Charge du paludisme

- Nombre annuel de cas confirmés de paludisme pour 1000 habitants
- Nombre annuel de décès dus au paludisme chez des malades hospitalisés pour 1000 habitants
- Incidence parasitaire annuelle
- Taux de positivité des lames (TPL)

Établissements de santé

- Accès aux établissements de santé

5.2.1.7 Suivi et évaluation des MII/MID

Le but de la plupart des programmes de distribution de MII/MID est d'obtenir une baisse quantifiée de la mortalité et de la morbidité imputables au paludisme au cours des années planifiées. Le Tableau 5.7 dresse la liste des principaux indicateurs (d'apport, de processus, de produit, de réalisation et d'impact) utilisés pour évaluer une intervention MII/MID.

Tableau 5.7 Indicateurs de processus (opérationnels), de produit (output), de réalisation (outcome) (couverture) et d'impact (entomologique) pour l'évaluation des moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII) et des moustiquaires à imprégnation durable (MID)

Indicateurs	Méthode de lutte : MID
Indicateurs de processus	Nombre de MID fournies à la distribution (R)
Indicateurs de produit (Output)	Nombre de MID distribuées à la population ciblée (R)
Indicateurs de réalisation (Outcome)	Proportion de la population ayant accès à une MII/MID au sein de leur ménage (R)
	Proportion de la population exposée potentiellement couverte par des MII/MID distribuées (R)
	Proportion de la population ayant dormi sous une MII/MID la nuit précédente (R)
Indicateurs d'impact (entomologique)	Indice d'anthropophilie (T)
	Situation de la sensibilité aux insecticides (R)
	Taux de piqûres sur l'homme (T)
	Indice sporozoïtique (S)

R : indicateurs à suivre régulièrement ; S : indicateurs réservés à des usages spécifiques ; T : pour dégager les tendances.

Description des indicateurs :

a. ***Indicateurs d'apport ou intrants (input) :*** mesure du niveau de ressources disponibles pour le programme ou l'intervention, par exemple les fonds levés pour acheter des MII/MID.

b. ***Indicateurs de processus*** : aide pour vérifier que l'intervention MII/MID est mise en œuvre comme elle a été planifiée, par exemple en contrôlant que les MII/MID ont été achetées, sont prêtes à la distribution et que des ressources sont disponibles pour les distribuer.

c. ***Indicateurs de produit ou extrants (output)*** : mesure des progrès obtenus grâce au programme, par rapport à des références. L'aspect le plus important à contrôler concerne la distribution de MII/MID par le programme et par le secteur commercial, par exemple le nombre de MII/MID distribuées à la population ciblée.

d. ***Indicateurs de réalisation - couverture (outcome)*** : mesure du niveau de couverture dans la population de l'intervention portant sur les MII/MID. Les indicateurs pour mesurer la couverture des MII/MID sont la proportion de ménages disposant d'au moins une moustiquaire pour deux personnes, la proportion de la population ayant accès à une MII/MID au sein de leur ménage, la proportion de personnes ayant dormi sous une MII/MID la nuit précédente. Il faut utiliser la même définition de la couverture dans les enquêtes de référence et les évaluations après le programme. En plus de la couverture, du retraitement et de l'usage approprié, tous les programmes devraient surveiller et évaluer l'accès et l'accessibilité économique pour évaluer l'équité.

e. ***Indicateurs d'impact*** : La plupart des programmes MII/MID ont pour but de réduire la mortalité et la morbidité imputables au paludisme. Ces indicateurs comportent donc la réduction de la mortalité et la morbidité. Il est cependant difficile d'évaluer la contribution spécifique des programmes de distribution des MII/MID à une éventuelle diminution de la mortalité et de la morbidité, d'autres interventions antipaludiques, comme les tests de diagnostic et le traitement, étant appliquées en même temps. On peut également mesurer l'impact d'une intervention antivectorielle par ses effets entomologiques.

Nous allons décrire d'autres indicateurs pour le suivi et l'évaluation de ces programmes :

Indicateurs de durabilité des MID. La durabilité des MID distribuées dans les populations ciblées devrait être surveillée dans le cadre du programme pour aider à prendre des décisions sur l'achat, le remplacement, l'élimination ou le recyclage, à améliorer le produit et à orienter davantage la planification et les pratiques du programme. Les éléments à prendre en compte pour évaluer la durabilité des MID sont les suivants : *i)* équilibre rétention/déperdition de moustiquaires ; *ii)* intégrité du textile ; *iii)* activité insecticide (efficacité biologique).[1] Ces éléments de la durabilité sont déterminés en partie par des facteurs inhérents à la fabrication de la moustiquaire (par exemple la matière première, type de maillage et de la qualité des finitions, le type et la quantité d'insecticide, les additifs, la technologie employée) et en partie par des facteurs extrinsèques à l'origine de l'usure et des déchirures. Les définitions, descriptions et indicateurs qui suivent ont été proposés pour les éléments de la durabilité :

Rétention : proportion de moustiquaires distribuées pouvant encore être utilisées selon l'usage voulu dans les ménages auxquels elles ont été remises après une période donnée, par exemple 1, 2, 3 ans ou plus.

Déperdition (opposée à la rétention) : proportion de moustiquaires qui ne sont plus utilisées selon l'usage voulu après une période définie suivant leur distribution aux ménages. La déperdition peut provenir de la détérioration (par exemple par destruction, une usure ou des déchirures telles que la moustiquaire ne sert plus à rien contre les moustiques), l'absence (moustiquaires par exemple données, volées, déplacées) ou l'utilisation à d'autres fins.

Intégrité du textile : on retrouve dans cette notion le nombre, l'emplacement et la taille des trous dans chaque moustiquaire. Si possible, l'évaluation se fera aussi en classant les types de trous (brûlure, déchirure, rupture de la couture, mordillage ou mâchage par des animaux).

Activité insecticide (*efficacité biologique*) : degré de paralysie (knock-down), de mortalité ou d'inhibition de la prise d'un repas de sang induit chez des moustiques sensibles, selon les procédures et critères des tests standards OMS. L'activité insecticide est associée au type et au dosage de l'insecticide. Le dosage s'exprime en g/kg ou mg/m^2 de MID, et il est déterminé par la méthode décrite dans les spécifications OMS pour les MID (http://www.who.int/whopes/recommendations/en/).

5.2.2 Autres matériels pouvant être traités avec des insecticides

On peut aussi traiter des rideaux et hamacs avec des insecticides pyréthrinoïdes et les utiliser pour diminuer le contact entre l'homme et le vecteur. Les couvertures, toiles de tentes, tchadors et tentes en plastique imprégnés de pyréthrinoïdes sont autant de moyens potentiels pour se protéger du paludisme ; bien que des données généralisables soient limitées, on peut les utiliser dans certaines circonstances, comme dans les camps de réfugiés. Les rideaux aux portes et aux fenêtres pourraient être un complément utile aux MII dans les zones où le taux de piqûres par les vecteurs est particulièrement élevé en début de soirée, avant que les gens n'aillent se coucher, à la condition qu'ils se trouvent à l'intérieur à ce moment-là.

---

1. OMS, 2011. *Guidelines for monitoring the durability of long-lasting insecticidal mosquito nets under operational conditions.* Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501705_eng.pdf.

5.2.3 Autres méthodes de diminution du contact homme-vecteur

5.2.3.1 Amélioration de l'habitat et de sa localisation par rapport aux gîtes larvaires

Les actions des ménages et des communautés pour améliorer la qualité des logements (conception, construction, transformations telles que la pose d'écrans anti-moustiques sur les ouvertures) et ainsi empêcher les moustiques d'entrer et de se reposer à l'intérieur peuvent avoir des effets plus permanents que les méthodes de lutte utilisant des insecticides. L'amélioration de l'habitat entraîne d'autre part une amélioration des conditions de vie et de la santé générale de la population. Ce sont des considérations importantes à envisager pour planifier des implantations d'habitations et des projets de développement.

La mauvaise qualité de l'habitat est associée à une augmentation du risque de contact homme-vecteur. Par exemple, des maisons incomplètes avec des pans de murs ouverts, de larges avant-toits sans écran, des fenêtres et des portes ouvertes et l'absence de plafonds favorisent la pénétration des moustiques. Les maisons avec des murs et des planchers humides facilitent le repos des moustiques à l'intérieur. La protection des maisons en posant des écrans aux fenêtres, aux portes et sur les avant-toits est une méthode efficace pour réduire le contact homme-vecteur si elle est bien faite et bien entretenue. Pour la prévention du paludisme, les nouvelles implantations d'habitations devraient être planifiées avec soin, en sélectionnant le plan, la structure, les matériaux de construction et l'emplacement par rapport aux gîtes larvaires.

5.2.3.2 Répulsifs, spirales anti-moustiques et vêtements protecteurs

L'utilisation de répulsifs et de vêtements protecteurs est utile pour les personnes se trouvant dehors au moment du pic d'activité des vecteurs. La plupart des produits répulsifs ont une durée d'action très limitée (8 heures, voir la Figure 5.6).

Répulsifs. Ils existent sous forme de crèmes, de lotions et d'aérosols. Selon les produits, on peut les appliquer soit directement sur la peau, soit sur les vêtements. Ils constituent une mesure de protection individuelle qui complète les MII/MID et la protection des maisons. Ils peuvent être utilisés après la tombée de la nuit avant de se retirer sous une moustiquaire ou par ceux qui doivent rester dehors pendant une partie de la nuit. Lors des épidémies, on a parfois distribué des répulsifs pour lutter contre le paludisme, bien que le rapport coût/efficacité de cette mesure soit incertain.

Figure 5.6 Bobine de moustique et vaporisateurs d'insecticide électriques

Spirales et diffuseurs anti-moustiques. Certains insecticides tuent ou repoussent les moustiques à distance par effet aérien lorsqu'ils sont vaporisés au moyen d'un dispositif de chauffage. Les spirales anti-moustiques font partie des vaporisateurs d'insecticide les plus populaires et les plus largement utilisés. Quand elles sont allumées, elles libèrent régulièrement de l'insecticide dans l'air pendant six à huit heures.

Vêtements protecteurs. Les vêtements recouvrant la plus grande partie du corps, c'est-à-dire des vestes et chemises à manches longues, des pantalons et des chaussettes, assurent un certain niveau de protection individuelle contre les piqûres de moustiques.

5.3 Lutte contre les moustiques adultes

5.3.1 Pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent (PID)

Elles consistent à appliquer des insecticides à effet rémanent sur les surfaces intérieures des habitations, où de nombreuses espèces vectrices d'anophèles se reposent après avoir pris un repas de sang. Elles ont pour principal effet de tuer les moustiques qui ont pénétré dans les maisons et se reposent sur les surfaces traitées. Elles ne sont donc pas utiles pour lutter contre les vecteurs qui ont tendance à se reposer à l'extérieur, bien qu'elles puissent être efficaces contre des moustiques qui piquent à l'extérieur et entrent ensuite dans les maisons pour se reposer après s'être nourris. Si elles sont appliquées correctement, les PID sont une intervention très efficace qui protège les communautés par un effet de masse rapide sur les populations de vecteurs en réduisant leur densité, leur longévité et donc leur « capacité vectorielle » pour la transmission des plasmodies.

5.3.1.1 Éléments essentiels de la planification, la formation, la mise en œuvre et l'évaluation des PID

Conditions d'utilisation et d'efficacité des PID

Elles ne sont recommandées que si :

- la population de vecteurs est en majorité endophile,
- elle est sensible aux insecticides choisis,
- une proportion importante des maisons ou structures dans la zone opérationnelle disposent de surfaces pouvant être traitées,
- les pulvérisations sont faites correctement.

Les moustiques se reposent dans divers endroits au cours de leur cycle gonotrophique, à l'intérieur des habitations humaines, dans les abris des animaux et à l'extérieur sur la végétation. Dans les maisons, leurs sites de repos préférés sont les murs, les avant-toits, le dessous du mobilier et les endroits frais, sombres et humides. Les vecteurs se reposant sur des surfaces traitées auront une probabilité plus grande d'absorber une dose létale d'insecticide et de mourir que ceux qui ne s'arrêtent pas sur ces surfaces.

Critères pour des PID sélectives

Les ressources importantes nécessaires, les besoins en produits importés, les craintes pour l'environnement et le risque d'apparition de résistance des vecteurs obligent à un ciblage très sélectif des PID. Comme pour toute intervention de lutte, le choix des PID requiert de définir la population à protéger et les zones où la mesure s'appliquera. C'est la situation épidémiologique qui détermine les zones qui bénéficieront d'une couverture totale sur une période relativement longue et celles qui ne seront couvertes qu'après avoir détecté certains facteurs de risque.

Dans les zones à traiter, les PID requièrent en principe la couverture totale de tous les endroits potentiels où le vecteur est susceptible de se reposer, au moins pendant les premières heures suivant le repas de sang et pendant sa recherche d'un hôte au sein d'une unité épidémiologique. Celle-ci se définit par la zone dans laquelle le vecteur circule librement entre les gîtes larvaires et les sources de sang. Elle peut se limiter à un groupe isolé de maisons où se trouvent des gîtes

larvaires. L'unité à traiter est déterminée par l'extension et l'intensité du problème posé par le paludisme, de même que par la mobilité de la population affectée. Elle peut s'étendre à une vallée entière ou même couvrir des altitudes variées.

Les PID sont adaptées en tant que moyen de réduction rapide de la transmission du paludisme dans les conditions suivantes :

- le contrôle d'épidémie détectées à un stade précoce de leur développement, quand les pulvérisations peuvent être faites suffisamment tôt pour couper le pic de transmission (c'est-à-dire les zones où l'on peut couvrir les pics saisonniers au moyen d'un seul cycle de pulvérisations par an) ;
- la lutte contre la transmission saisonnière dans des zones de forte mortalité et morbidité du paludisme et de gravité de la maladie afin de diminuer les pics d'incidence ;
- la prévention des épidémies suite à des signaux d'alertes importants indiquant des risques émergents dans des zones spécifiques à potentiel épidémique (par exemple des précipitations anormalement abondantes ou une sécheresse provoquant une augmentation du nombre des gîtes larvaires, une forte humidité ou des températures élevées, ou encore la migration de grands groupes de population non immunisés dans des zones d'endémie) ;
- des situations spéciales de risque (par exemple des groupes de population non immunisés temporairement exposés à des risques de transmission), comme des camps de réfugiés, des migrants dans des zones où des projets de développement s'implantent, des campements de travailleurs, des postes de l'armée ou de la police ;
- la réduction de la transmission et la limitation de la propagation des parasites résistants aux médicaments dans les zones connaissant des problèmes majeurs de pharmacorésistance ;
- la riposte dans des zones où on a identifié une résistance aux insecticides, notamment dans celles où les MID constituent l'intervention en place pour la lutte antivectorielle.

Planification des PID

Elle implique la stratification et la délimitation des zones à couvrir, avec une définition précise des limites opérationnelles, ainsi que de la fréquence et du moment des traitements (c'est-à-dire des macro- et microanalyses de l'information pour sélectionner les cibles). La communauté locale doit comprendre l'importance des PID, notamment pour ce qui est de la sécurité de l'intervention.

Aspects à envisager pour la planification des PID :

- la transmission et le poids du paludisme sont souvent retrouvés dans des foyers localisés, et varient au sein de zones restreintes, tout comme l'endémicité palustre et la densité vectorielle ;
- les indicateurs globaux, comme l'incidence parasitaire annuelle ne devraient pas être les seuls critères pour entreprendre des PID. La microstratification de l'épidémiologie palustre, au niveau de la plus petite unité utilisée pour planifier les activités de lutte, est nécessaire pour cibler cette intervention ;
- la taille des zones opérationnelles dépend de la répartition des vecteurs, de la distance aux gîtes larvaires importants, du rayon de vol des vecteurs, des caractéristiques démographiques et de la distribution du paludisme ;
- les PID peuvent se limiter à des zones géographiques bien spécifiques, à des villages par exemple, et à certaines périodes de l'année.

La première décision à prendre consiste à déterminer si les PID sont bien l'intervention qui convient face au problème du paludisme dans une zone donnée. Le choix se fondera sur une évaluation des résultats des activités de lutte antérieures. Pour améliorer l'interprétation des rapports existants, il est nécessaire de recueillir des informations sur la bionomie et le comportement des vecteurs locaux.

Pour que les PID aient l'effet voulu, il y a, en dehors du choix d'un insecticide efficace, un certain nombre de conditions à réunir :

- Le vecteur doit être de préférence endophile. Toutefois, les pulvérisations peuvent avoir une certaine efficacité sur les vecteurs partiellement exophiles, c'est-à-dire qu'ils se reposent parfois à l'intérieur pendant quelques heures seulement, après la piqûre, et passent ensuite dehors la plus grande partie du temps nécessaire à la digestion et au développement des œufs.
- Les habitations humaines doivent avoir des murs sur lesquels on peut appliquer l'insecticide.
- La couverture requise doit être atteinte avant le démarrage de la saison de transmission et être maintenue pendant toute la durée de celle-ci. C'est particulièrement important pour juguler les épidémies. Lorsqu'une épidémie est détectée à la suite d'une augmentation alarmante du nombre des cas, on doit s'assurer que la transmission va probablement se poursuivre. Les PID ne sont pas recommandées lorsque l'épidémie est en phase de diminution et la transmission en train de s'arrêter.

Les PID ne devraient pas être planifiées si les capacités de mise en œuvre, de suivi et d'évaluation ne sont pas en place au niveau national, provincial et à celui des districts. Les retards dans la mise en œuvre des programmes de PID peuvent avoir des conséquences désastreuses pour la santé publique.

Définition des cibles pour la mise en œuvre des pulvérisations

Les cibles à traiter doivent être clairement définies et une reconnaissance géographique de la zone doit être entreprise pour pouvoir préparer des cartes et des directives à l'intention des agents chargés des pulvérisations :

Zones à traiter. Les unités à traiter doivent être cartographiées ou marquées clairement, de façon à être facilement reconnues par les équipes chargées des pulvérisations. Les cartes et les critères d'identification doivent être mis à la disposition des responsables des opérations de pulvérisation.

Structures. Les types de structures à traiter doivent être clairement définies et englober toutes les habitations humaines où le contact homme-vecteur est possible. Dans de nombreuses zones rurales par exemple, il arrive que les gens passent une grande partie de leur temps dans des « huttes » situées dans leurs champs, et ces structures peuvent jouer un rôle très important dans le maintien de la transmission. De même, d'autres structures, comme les abris pour les animaux, les latrines, les entrepôts ou les remises, peuvent être des lieux de repos importants pour les moustiques gorgés de sang.

Surfaces pouvant être traitées. Les PID exigent un haut degré de couverture des lieux de repos potentiels des moustiques, notamment tous les murs, les plafonds et le mobilier. Il est souvent nécessaire de traiter les rebords des fenêtres et les deux faces des portes, car ils peuvent constituer des lieux de repos provisoires pour les vecteurs qui entrent ou sortent d'une pièce.

Impératifs organisationnels et logistiques pour les PID

Il faut une couverture très élevée pour que les PID soient efficaces. Les pulvérisations doivent être :

- totales – toutes les habitations sont traitées,
- complètes – toutes les surfaces qui peuvent être traitées le sont effectivement,
- suffisantes – application uniforme de la dose requise sur toutes les surfaces à traiter,
- régulières – les pulvérisations sont répétées à intervalles réguliers pour garantir la rémanence d'une dose efficace d'insecticide pendant toute la saison de transmission.

La nécessité de couvrir toutes les maisons implique qu'il faut avoir une connaissance complète de la géographie de la zone et que les agents chargés des PID traitent toutes les maisons excentrées et les populations dispersées. La reconnaissance géographique est en général requise pour remettre à jour les cartes locales et les données des recensements. Pour répondre à ces normes, il faut une organisation disciplinée et compétente, avec des agents suffisamment équipés et entraînés, ainsi qu'un appui logistique efficace. Traditionnellement, les PID ont été menées sur le modèle opérationnel des campagnes d'éradication du paludisme dans les années 1950 et 1960, reposant sur une organisation centralisée et autonome puissante. Ce modèle n'existe plus dans la plupart des régions et la nécessité d'une telle centralisation a été remise en question, en particulier dans les pays qui se sont lancés dans une politique de décentralisation. Il faut toujours faire particulièrement attention aux points suivants :

- la logistique pour l'appui opérationnel, le matériel, la supervision et le suivi,
- la planification requise pour la mise en œuvre régulière des PID et l'orientation technique nécessaire dans les opérations décentralisées,
- la responsabilité au niveau individuel et de la communauté – les opérations décentralisées bénéficieront des décisions et des mesures prises au niveau local grâce aux capacités locales durables et à la participation des communautés.

Sélection des insecticides pour les PID

Les insecticides à effet rémanent utilisés pour les pulvérisations ont les formulations suivantes :

- poudre hydrodispersible : insecticide sous forme de poudre sèche, mélangée à un agent tensioactif qui permet sa dissolution dans l'eau. Produit prêt à être mélangé à l'eau pour former des suspensions à pulvériser contenant habituellement de 1 à 5 % de principe actif ;
- concentré émulsionnable : solvant plus agent émulsifiant dans lequel l'insecticide est dissous. En mélangeant le produit à l'eau, il forme une émulsion convenant pour le traitement des surfaces délicates ; il ne laisse pas de taches, mais cette formulation a un coût plus élevé ;
- concentré en suspension : particules d'insecticide avec un agent mouillant et de l'eau, formant une suspension aqueuse. Le produit est non flammable, a une action de longue durée, mais il est moins efficace que les poudres hydrodispersibles sur les surfaces poreuses.

Le choix d'un insecticide et de sa formulation doit se fonder sur : *i)* la sensibilité des vecteurs locaux ; *ii)* les caractéristiques des différents composés ; *iii)* le type de surface (murs/toit) ; *iv)* les formulations des produits disponibles (conditionnant notamment l'effet rémanent) ; et *v)* le coût. Le Tableau 5.8 présente des informations sur les insecticides recommandés par le WHOPES pour les PID.

Le choix d'un insecticide et de sa formulation dépend de son efficacité contre les espèces vectrices locales et de son innocuité. Il faut donc procéder en premier lieu à des tests de sensibilité. Même si

un insecticide est efficace ailleurs, il peut s'avérer nécessaire de mener des essais à petite échelle sur le terrain pour en déterminer l'efficacité et l'effet rémanent dans les conditions locales.

Une fois retenus l'insecticide et sa formulation, il est essentiel de choisir un produit de qualité. Des produits en apparence similaires peuvent ne pas contenir la même concentration de principe actif. Même si la concentration est correcte, le produit peut être mal formulé, ne pas être facile à remettre en suspension, bloquer les appareils de pulvérisation et donner une couverture irrégulière. Il peut aussi se dégrader rapidement pendant le stockage en produisant des dérivés toxiques.

Le WHOPES peut aider les programmes nationaux de lutte antivectorielle à renforcer ou à mettre en place les moyens pour le contrôle de la qualité des pesticides. Il peut aussi fournir les spécifications, critères et lignes directrices à suivre à dans ce but.[1] Si nécessaire, les procédures peuvent être menées pour les programmes nationaux dans des centres collaborateurs désignés par l'OMS. Les représentants de l'OMS dans les pays peuvent donner des informations sur les modalités pour commander des insecticides par l'intermédiaire du service d'approvisionnement de l'OMS.

En rapport avec la sélection, l'importation et l'utilisation des insecticides, il doit y avoir des dispositions réglementaires, des politiques nationales et une législation de la santé publique. Cela garantira l'innocuité, la qualité et l'efficacité de ces produits, et participera sur le long terme à la gestion des résistances aux insecticides chez les vecteurs. L'homologation des insecticides doit se fonder sur des données d'évaluation suffisantes (provenant de WHOPES et complétées si possible par les résultats d'évaluations entreprises dans le pays lui-même).

Les insecticides importés doivent se conformer aux spécifications de l'OMS concernant l'usage en santé publique. Lorsqu'on se procure des insecticides, un organisme indépendant doit examiner les rapports de conformité des produits retenus avec les spécifications de l'OMS, avant même que ces produits ne quittent l'endroit ou le pays d'origine.

Tableau 5.8 Insecticides recommandés par l'OMS pour les pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent (PID) contre les vecteurs du paludisme

Produits insecticides et présentation[a]	Classe[b]	Dose (g PA/m2)	Mode d'action	Durée d'efficacité (en mois)
DDT WP	OC	1-2	Contact	>6
Malathion WP	OP	2	Contact	2-3
Fénitrothion WP	OP	2	Contact et aérien	3-6
Pirimiphos-méthyle WP et EC	OP	1-2	Contact et aérien	2-3
Bendiocarb WP	C	0,1-0,4	Contact et aérien	2-6
Propoxur WP	C	1-2	Contact et aérien	3-6
Alpha-cyperméthrine WP, SC	PY	0,02-0,03	Contact	4-6
Bifenthrine (WP)	PY	0,025-0,050	Contact	3-6
Cyfluthrine WP	PY	0,02-0,05	Contact	3-6
Deltaméthrine WP, WG	PY	0,020-0,025	Contact	3-6
Étofenprox WP	PY	0,1-0,3	Contact	3-6
Lambda-cyhalothrine WP, CS	PY	0,02-0,03	Contact	3-6

a. CS = capsules en suspension ; EC = concentré émulsionnable ; SC = concentré en suspension ; WG = granule hydrodispersible ; WP = poudre mouillable.
b. OC = organochloré ; OP = organophosphoré ; C = carbamate ; PY = pyréthrinoïde.

Note : Les recommandations de l'OMS sur l'utilisation des pesticides en santé publique ne sont valables QUE si elles sont associées aux spécifications de l'OMS pour le contrôle de la qualité. Les spécifications de l'OMS concernant les pesticides utilisés en santé publique sont disponibles sur : http://www.who.int/whhopes/quality/en/.

1. OMS, 2000. *Guidelines for the purchase of public health pesticides. Genève, Organisation mondiale de la Santé.* Document WHO/CDS/WHOPES/2000.1.

Acceptabilité. Les pulvérisations dans les maisons supposent une couverture coordonnée de toutes les surfaces traitables à intervalles réguliers (cycle de pulvérisations). Le but consiste à recouvrir toutes les surfaces potentielles de repos des vecteurs d'une dose efficace d'insecticide pendant toute la période où il faut juguler la transmission.

Lorsqu'on utilise les pulvérisations à effet rémanent, il faut avoir un plan garantissant que la couverture requise sera atteinte pendant la période nécessaire et que les ressources matérielles seront disponibles à cet effet.

Que les traitements insecticides soient faits par un organisme spécialisé ou par la communauté elle-même, les pulvérisations intradomiciliaires exigent la collaboration continuelle de la population dont la bonne volonté peut facilement s'éroder si elle n'est pas sensibilisée en permanence à la nécessité de la lutte antivectorielle. C'est particulièrement important si certains avantages immédiats des pulvérisations, comme la disparition des insectes nuisibles, disparaissent avec le temps. Il est donc essentiel de maintenir activement le contact avec la communauté au moyen d'un mécanisme efficace d'IEC.

Dose. Il s'agit de la quantité d'insecticide à appliquer par unité de surface. Elle est normalement exprimée en grammes ou milligrammes de principe actif par mètre carré de surface traitée (g/m^2 ou mg/m^2). Ces doses varient considérablement selon l'insecticide. La plupart des pyréthrinoïde sont efficaces à des doses comprises entre 10 et 50 mg/m^2, tandis que le DDT, les organophosphorés et les carbamates s'utilisent en général à des doses de 1 à 2 g/m^2.

Préparation des maisons pour les pulvérisations. Une pulvérisation correcte suppose une préparation minutieuse des locaux à traiter. En particulier, tous les aliments, les ustensiles de cuisine, la literie et les vêtements doivent être protégés de l'insecticide en les sortant de la maison avant le commencement de la pulvérisation. Tout le mobilier portable et tous les meubles adossés aux murs doivent être déplacés de façon à pouvoir traiter l'ensemble des parois et les meubles sur toutes leurs faces.

Détermination du moment où il faut faire les pulvérisations. On appelle « cycle de pulvérisation » la répétition des opérations à intervalles réguliers, l'intervalle étant le temps écoulé entre deux passages. On peut avoir, par exemple, un cycle de 6 mois. On appelle « tournée de pulvérisations » le fait d'avoir pulvérisé toutes les maisons à traiter sur une zone pendant une période de temps. Les exigences épidémiologiques et l'effet rémanent du produit insecticide sur les principales surfaces traitables détermineront la fréquence des cycles de pulvérisation.

Dans les zones de transmission saisonnière, l'insecticide retenu devra être efficace pendant toute la durée au cours de laquelle la transmission est susceptible de se produire. Dans les zones nécessitant une protection continuelle, il faudra procéder à des pulvérisations régulières. Pour maintenir une couverture efficace pendant toute la durée de la saison de transmission, il faut que les pulvérisations aient été achevées dans toute la zone à traiter avant le début de la saison (souvent la saison des pluies). Cette exigence a des implications opérationnelles qu'il faut prendre en compte, en particulier si les opérations sont menées par des services de santé décentralisés, afin de s'assurer de la réception en temps voulu du matériel et des produits, ainsi que de la formation ou du recyclage des agents chargés des pulvérisations.

Techniques de pulvérisation à effet rémanent. L'application des PID a été standardisé dans le monde entier. Il est toujours nécessaire de vérifier les modes de travail des agents pour s'assurer que ni l'être humain, ni l'environnement ne soient mis en danger. Ce point prend une importance particulière lorsqu'on doit utiliser des insecticides ayant une toxicité aiguë importante.

Les pulvérisateurs à pression préalable répondant aux spécifications de l'OMS[1] permettent d'appliquer une dose uniforme d'insecticide sur l'ensemble des surfaces à traiter. Ces appareils (Figure 5.7) sont suffisamment robustes pour maintenir la pression nécessaire à la production d'un jet homogène en éventail et résister aux manipulations répétées sur le terrain. Ils doivent être pourvus de buses produisant le jet et le débit requis, avec des manomètres ou des soupapes de contrôle du débit (CFV, control flow valve) conçues pour délivrer la quantité requise pour l'application. Les buses s'usent assez vite avec les suspensions d'insecticides pulvérisées à haute pression et doivent donc être fabriquées en matériaux très résistants (acier trempé, céramiques, etc.) et vérifiées fréquemment pour éviter le gaspillage d'insecticides ou des doses irrégulières.

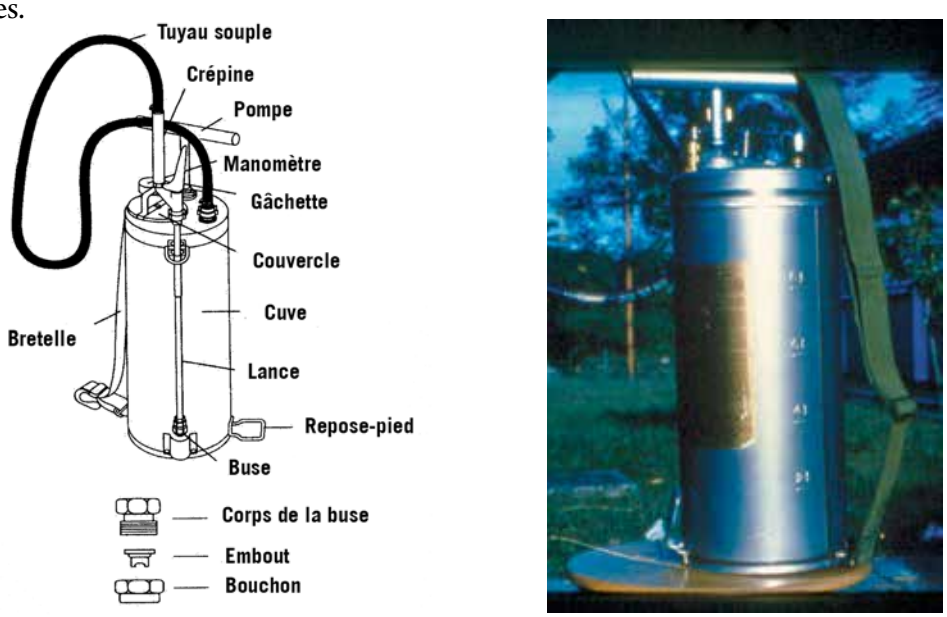


Figure 5.7 Pulvérisateur à pression préalable approuvé par l'OMS (Hudson X-pert)

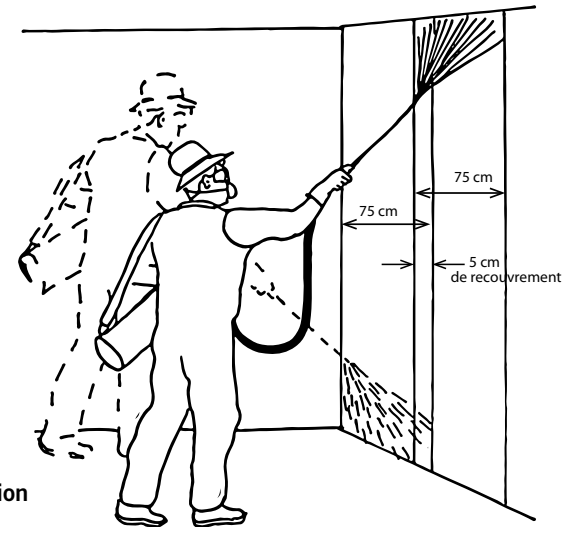


Figure 5.8 Technique de pulvérisation

1. OMS, 2013. *Indoor residual spraying : An operational manual for PID for malaria transmission, control and elimination.* Genève, Organisation mondiale de la Santé, http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241505123/en/index.html.

Le manuel de l'OMS sur les PID décrit les procédures à suivre pour une utilisation sûre et efficace des insecticides, et traite également de l'entretien du matériel.[1] La pulvérisation est appliquée par jets de 75 cm de largeur avec 5 cm de recouvrement des bandes traitées. On applique le produit du plafond au sol par un mouvement descendant en une fois par bande traitée. L'opérateur fait un pas de côté et pulvérise de bas en haut, du sol au plafond (Figure 5.8).

Mesures de sécurité. Un certain nombre de précautions doivent être prises pour utiliser sans danger les insecticides pour les PID. Il est impératif d'enlever ou de protéger tous les produits alimentaires, la vaisselle et les ustensiles de cuisine. Les habitants doivent être avertis de ne pas entrer dans un local traité tant que l'insecticide pulvérisé n'est pas sec, et de balayer tous les sols avant de donner libre accès à la maison. Ce point est particulièrement important pour les familles qui ont de petits enfants ou des animaux domestiques à l'intérieur qui sont davantage en contact avec le sol.

Il est essentiel d'utiliser des dispositifs de protection et de travailler en suivant les règles de sécurité pour éviter ou réduire la contamination des opérateurs par les insecticides (ceux qui pulvérisent, préparent et mélangent les produits). Dans la plupart des programmes de pulvérisations utilisant des insecticides à faible toxicité aiguë (comme le DDT), il suffit de porter des blouses ou des bleus de travail, des chapeaux à larges bords recouvrant le col des vêtements, des gants, des chaussures ou des bottes (dont l'ouverture est recouverte par les jambes du bleu de travail). En cas d'utilisation d'insecticides plus toxiques ou plus irritants, il faut alors des équipements qui protègent davantage, comme des lunettes de protection, des visières et des masques de protection respiratoire.

Les agents qui manipulent les pulvérisateurs courent un risque plus élevé de contamination et doivent donc porter des gants de caoutchouc, des masques de protection respiratoire et des équipements de protection des yeux tels que visières en plastique transparent ou masques. Concernant le produit lui-même, la tendance actuelle est à la livraison par les fabricants de quantités conditionnées pour une recharge de pulvérisateur, de préférence sous forme de sachets de produit hydrosoluble que l'on peut ainsi verser directement dans la cuve de sorte qu'il n'y a plus besoin de personnes spécifiquement chargées du reconditionnement et du mélange des produits. Il existe également des présentations sous forme de concentrés pour suspensions, ou de concentrés émulsionnables en récipients doseurs et des granulés hydrodispersibles pour limiter l'exposition au moment de la préparation des cuves des pulvérisateurs.

Les chefs d'équipe doivent veiller au respect des règles de sécurité et à l'utilisation des équipements de protection. Ils doivent connaître les signes précoces d'intoxication et surveiller l'apparition éventuelle de ces signes parmi les membres de leur équipe.

Il y a des précautions élémentaires à prendre pour éviter les contaminations :

- Se laver les mains et le visage après tout remplissage de la cuve.
- Il est interdit de manger, de boire et de fumer, sauf si cela intervient après s'être lavé ou avant de commencer les pulvérisations.
- Les agents chargés des pulvérisations ne doivent pas être exposés aux insecticides plus de six heures par jour.
- Les vêtements de protection et les chapeaux doivent être lavés tous les jours, en particulier s'ils ont été fortement contaminés.

---

1. OMS, 2013. *Indoor residual spraying : An operational manual for PID for malaria transmission, control and elimination*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241505123/en/index.html.

- Les agents chargés des pulvérisations doivent se doucher à la fin de chaque journée de travail, en particulier s'ils ont travaillé avec des insecticides organophosphorés.
- En cas d'utilisation de masques de protection respiratoire (anti-aérosols et particules), ils doivent être correctement ajustés sur le nez et la bouche. Ils doivent être lavés et séchés tous les jours. La cartouche sera changée quotidiennement ou dès qu'elle est obstruée.

Les récipients vides doivent être collectés par les superviseurs des équipes et rapportés au dépôt central pour être éliminés comme il se doit par du personnel qualifié, conformément aux lignes directrices FAO/OMS/PNUE en la matière.[1] Il est également indispensable de suivre les recommandations pour l'élimination des grands conteneurs métalliques. Il est toujours dangereux de réutiliser les récipients ou conteneurs. S'ils doivent l'être, il faut qu'ils soient sélectionnés et nettoyés par du personnel ayant une formation suffisante.

L'encadré en page opposée reprend les faits principaux à propos des pulvérisations intradomiciliaires d'insecticide à effet rémanent (PID).

Avantages des PID

- Très efficace pour les espèces endophiles et endophages.
- Plus d'effet sur la capacité vectorielle que les autres mesures.

Pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent (PID)

- Elles ont pour objectif principal de diminuer la survie des vecteurs du paludisme qui entrent dans les maisons.
- Elles ont peu d'utilité pour lutter contre les vecteurs qui se reposent à l'extérieur, en particulier s'ils piquent aussi à l'extérieur et n'entrent pas dans les maisons traitées.
- Pour atteindre l'effet escompté (protection de la communauté), toutes les surfaces potentielles de repos des vecteurs doivent être traitées avec l'insecticide adapté à une dose suffisante, et rester efficace pendant toute la saison de transmission.
- La compréhension de l'épidémiologie du paludisme et des habitudes de repos du vecteur est cruciale pour cibler correctement les applications d'insecticide dans le temps et dans l'espace.
- L'action rémanente des insecticides dépend du produit et de sa formulation, ainsi que du type de surface et des conditions climatiques.

Inconvénients des PID

- Coût élevé.
- Nécessite du personnel qualifié.
- Sur le long terme, la participation des communautés peut décroître.
- Il faut bien prendre en compte l'élimination des quantités superflues d'insecticide sans que cela présente un danger.
- Une défaillance du programme (c'est-à-dire un cycle de pulvérisation manqué ou différé) peut avoir des conséquences désastreuses pour la santé publique.

---

1. FAO, 1999. *Guidelines for the management of small quantities of unwanted and obsolete pesticides*. Rome, FAO. Document de terrain GCP/INT/650/NET.

Suivi et évaluation de la mise en œuvre des PID

Le Tableau 5.9 dresse la liste des principaux indicateurs pour l'évaluation des PID.

Tableau 5.9 Indicateurs de processus (opérationnels), de produits (output), de réalisation (couverture) (outcome) et d'impact (entomologique) pour l'évaluation des pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent (PID)

Indicateurs	Méthode de lutte : PID
Indicateurs de processus	Insecticides fournis pour les pulvérisations (R)
	Formation des agents chargés des pulvérisations (R)
	État du matériel de pulvérisation (R)
	Pulvérisations effectuées au moment voulu (R)
Indicateurs de produit (output)	Nombre de structures traitées (R)
	Nombre de cycles de pulvérisation (R)
Indicateurs de réalisation (outcome)	Proportion de la population à risque protégée par les PID en 12 mois (R)
	Proportion de maisons/structures traitées avec des insecticides (R)
Indicateurs d'impact (entomologique)	Indice d'anthropophilie (T)
	Situation de la sensibilité aux insecticides (R)
	Taux de piqûres sur l'homme (T)
	Indice sporozoïtique (S)

R : indicateurs à suivre régulièrement ; S : indicateurs réservés à des usages spécifiques ; T : pour dégager les tendances.

Estimation des besoins en insecticide et en ressources humaines pour les PID

Dans une petite communauté de 500 à 1000 personnes (100 à 200 maisons), un ou deux agents équipés de pulvérisateurs peuvent compléter un cycle de pulvérisations à effet rémanent en 2 à 3 semaines au rythme de 8 à 10 maisons par jour. Il faut soigneusement respecter le moment optimal auquel les pulvérisations doivent avoir lieu et qui est recommandé pour le projet par le service central de lutte antivectorielle. Pour ce faire, le responsable de projet doit avoir réuni tous les éléments nécessaires un mois avant le début des pulvérisations. La fréquence des traitements dépend de la durée de rémanence du produit insecticide à la dose appliquée, du type de surface traitée, de la bionomie des vecteurs, de la saison de transmission et des conditions climatiques (vent, température et humidité). Toutefois, le retraitement sera avancé si les dépôts d'insecticide sont éliminés des surfaces par des replâtrages, des traitements à la chaux, des réfections de toiture ou des dépôts de fumée.

Pour mener avec succès un programme de PID, il est important *i)* de cartographier la zone couverte par le projet et de dénombrer les maisons, *ii)* d'estimer la surface moyenne à traiter par maison et *iii)* de déterminer les insecticides, le personnel, le matériel de pulvérisation qui seront nécessaires, ainsi que les besoins en transport.

Formulation de l'insecticide en quantité suffisante pour un an ; pulvérisation, mélange ; équipements de protection et transport – exemple d'estimations fondées sur les données de la reconnaissance géographique :

- Nombre de maisons dans la zone couverte par le projet = 5000
- Surface moyenne à traiter par maison = 200 m^2
- Dose d'insecticide à appliquer (lambda-cyhalothrine ou deltaméthrine) = 25 mg/m^2

- Formulation à utiliser : poudre mouillable = concentration à 10 %
- Durée du cycle de pulvérisation de 2 mois (2 x 20 jours = 40 jours de travail)
- Cycles de pulvérisation par an = 2
- Rendement moyen par agent et par jour = 10 maisons (10 x 200 = 2000 m^2)
- Calcul des quantités requises d'insecticide à chaque cycle
  - Quantité par maison = 200 m2 x 25 mg/m^2 = 5000 mg
  - Quantité par maison sous forme de poudre mouillable à 10 % = 5000 x 100/10 = 50 000 mg = 50 g
  - Quantité d'insecticide requis par cycle pour l'ensemble de la zone du projet = 5000 maisons x 50 = 250 000 g = 250 kg
- Quantité totale nécessaire pour deux cycles = 1 an = 250 x 2 = 500 kg
- Quantité de réserve = 10 % = 50 kg
- Quantité totale d'insecticide pour un an = 550 kg
- Surface totale à couvrir = 5000 maisons x 200 m2 = 1 000 000 m^2
- Surface couverte/agent/cycle = 2000 m2 x 40 jours = 80 000 m^2
- Nombre d'agents requis pour les pulvérisations = 1 000 000/80 000 =12,5 = 13

Ou :

- Nombre de maisons traitées par agent = 10 maisons par jour x 40 jours = 400 maisons
- Nombre d'agents requis pour un cycle de pulvérisation = 5000/400 = 12,5 = 13

5.3.2 Pulvérisations spatiales

La pulvérisation spatiale, techniquement parlant une nébulisation ou un brouillard (qu'on appelle parfois aérosol), consiste à disperser un insecticide dans l'air sous forme de centaines de millions de minuscules gouttelettes de diamètre inférieur à 50 µm. Elle consiste à détruire les moustiques en vol par contact avec l'insecticide en suspension dans l'air. L'objectif principal est de réduire aussi vite que possible la densité des vecteurs en augmentant leur mortalité. Son emploi est limité dans le cadre de la lutte antipaludique et on n'utilise les pulvérisations spatiales que comme méthode complémentaire de lutte antivectorielle dans certaines situations bien précises, surtout conjointement au traitement de masse des fièvres. Les pulvérisations spatiales ont rencontré un certain succès dans la lutte contre les épidémies de paludisme ou sur des vecteurs très exophiles, comme *A. dirus* dans les camps de réfugiés en Thaïlande et *A. nuneztovari* en République bolivarienne du Venezuela. On les a utilisées dans la lutte d'urgence contre des épidémies (en phase ascendante) et lorsque des données probantes suffisantes indiquent que le facteur déterminant est une densité de vecteurs anormalement élevée.

La pulvérisation spatiale est conçue pour :

- paralyser rapidement les moustiques (« knock-down »),
- induire rapidement la mortalité, et
- être une méthode rapide de lutte en situation d'épidémie et d'urgence.

Elle s'applique sous forme *i)* de brouillards thermiques ou *ii)* d'aérosols froids (Figure 5.9).

5.3.2.1 Brouillards thermiques

L'insecticide employé dans ce cas est dilué dans un solvant liquide, en général huileux. Un gaz chaud est utilisé pour réchauffer le liquide pulvérisé et ainsi diminuer la viscosité du solvant huileux pour le vaporiser. En quittant la buse de pulvérisation, la vapeur rencontre l'air plus froid et se condense pour former un épais nuage blanchâtre de nébulisation. Le gaz chaud provient soit de l'échappement d'un moteur, associé ou non à des plaques de frottement, soit d'un moteur à détonation pulsée.

Avantages des brouillards thermiques (par rapport aux aérosols froids)

- Observation et surveillance du nuage de nébulisation, facilement visible.
- Effet positif pour les relations publiques, la population pouvant voir par elle-même que l'on s'occupe du problème.
- Faible concentration de l'insecticide dans le mélange pulvérisé et exposition limitée de l'opérateur.

Inconvénients des brouillards thermiques (par rapport aux aérosols froids)

- On utilise comme diluants de grands volumes de solvants organiques qui peuvent sentir mauvais ou laisser des taches.
- Coût élevé du diluant et de l'application des pulvérisations.
- Besoin de matériel spécial et coûteux.
- Il arrive que les occupants des maisons aient des objections et fassent obstruction à la pénétration du brouillard dans leurs habitations en fermant portes et fenêtres.
- L'efficacité dépend souvent des conditions météorologiques prévalant au moment de l'application, notamment la direction du vent, les précipitations et la température.
- Il y a un risque d'incendie lié à l'utilisation de machines fonctionnant à très haute température avec des solvants inflammables.
- Il y a un risque d'accidents.

5.3.2.2 Aérosols froids

Dans le cas des aérosols froids, les gouttelettes sont formées par rupture mécanique du mélange pulvérisé, soit en le faisant passer par une buse à haute pression, soit en injectant le mélange à faible débit dans un tourbillon d'air à grande vitesse. Certains équipements sont pourvus de buses rotatives à grande vitesse. Les gouttelettes sont produites sans apport externe de chaleur.

Avantages des aérosols froids (par rapport aux brouillards thermiques)

- Les quantités de diluant restent minimales, ce qui abaisse les coûts de mise en œuvre et augment l'acceptabilité.
- Certaines présentations sont prêtes à l'emploi, ce qui diminue l'exposition des opérateurs.
- On peut utiliser des présentations à base d'eau ou diluées dans l'eau, d'où un faible risque d'incendie et une relative absence de nuisances pour l'environnement.
- Comme on applique une plus faible quantité de liquide, l'application est plus efficace.
- Aucun danger pour la circulation routière, le nuage de nébulisation étant pratiquement invisible.

Inconvénients des aérosols froids (par rapport aux brouillards thermiques)

- La dispersion du nuage de nébulisation est difficile à observer.
- Il faut des compétences techniques de plus haut niveau et des étalonnages réguliers pour un fonctionnement efficace du matériel.

Pour avoir un impact sur la densité des vecteurs, l'opération de pulvérisation doit être programmée pour coïncider avec leur pic d'activité. La taille des gouttelettes pulvérisées est un paramètre important, elle conditionne en effet le temps pendant lequel elles restent en suspension ainsi que leur capacité à pénétrer dans des espaces qui ne sont pas totalement ouverts. Les coûts opérationnels sont élevés, avec un effet transitoire sur les populations de vecteurs. On envisagera les pulvérisations spatiales que dans des circonstances exceptionnelles et sur de très courtes durées.

On n'envisagera les nébulisations que dans des situations d'urgence exceptionnelles, par exemple pour des camps de réfugiés. Dans de telles situations, si l'espèce ciblée est exophile, le traitement sera appliqué à l'extérieur sur les lieux de repos des moustiques. Si le vecteur est endophile, il faut alors appliquer le traitement à l'intérieur et à l'extérieur à un moment coïncidant avec les heures pendant lesquelles les insectes sont en vol.

5.3.2.3 Insecticides et formulations pour les pulvérisations spatiales

Le Tableau 5.10 indique les insecticides convenant pour lutter contre les moustiques en produisant des brouillards thermiques ou des aérosols froids (Figure 5.9). Les pyréthrinoïdes deviennent les insecticides prédominants pour les pulvérisations spatiales, tandis que les organophosphorés sont en perte de vitesse à cause de leur odeur.

5.4 Lutte contre les larves

Elle n'est indiquée comme seule méthode de lutte antivectorielle que si la majorité des gîtes larvaires à anophèles qui se trouvent dans le rayon de vol des vecteurs par rapport à la communauté à protéger sont peu nombreux, fixes, localisables et traitables.[1] La lutte contre les larves peut également compléter les effets d'autres interventions essentielles de lutte (MID et PID). Elle n'affecte que la densité des vecteurs et nécessite une couverture élevée pour être efficace. On n'attend de la lutte larvicide qu'une diminution proportionnelle de la capacité vectorielle par la réduction de m, alors qu'en raccourcissant la survie des adultes p et m (en utilisant les pulvérisations à effet rémanent) on obtient une diminution bien plus grande de la capacité vectorielle. Les principales méthodes de lutte contre les larves comprennent les traitements larvicides, l'utilisation de poissons larvivores et l'élimination des gîtes larvaires.

La lutte contre les larves peut être utile dans les conditions suivantes :

- dans les zones densément peuplées présentant des gîtes larvaires fixes et localisables en nombre relativement limité, par exemple dans les bourgs et les villes ;
- dans les zones où les gîtes larvaires sont faciles à localiser et ne sont pas étendus, par exemple les hauts plateaux, les marges de déserts, dans les zones d'endémie pendant les périodes très sèches, lorsque les gîtes larvaires sont en nombre très limité, faciles à délimiter et traitables ;
- dans les camps de réfugiés ;
- dans les zones de développement, comme des programmes d'irrigation à petite échelle et des sites en construction.

---

1. OMS, 2012. *Interim position statement : the role of larviciding for malaria control in sub-Saharan Africa*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/publications/atoz/larviciding_position_statement/en/.

Tableau 5.10 Insecticides sélectionnés pour les brouillards thermiques et les aérosols froids en vue de la lutte antivectorielle

Composés et formulations	À l'intérieur (g PA/1000 m³)		À l'extérieur (g PA/ha)	
	Aérosol froid	Brouillard thermique	Aérosol froid	Brouillard thermique
Deltaméthrine UL	0,5	0,05	0,5-1,0	0,5-1,0
Deltaméthrine EW	–	0,05	1	
Lambda-cyhalothrine EC	–	–	1-2	2
Malathion UL	–	–	112-600	112-600
Perméthrine (25 cis : 75 trans ; 10,35 % p/p) + s-bioallethrine (0,14 p/p) + butoxide de pipéronyle (9,85 % p/p) EW	0,55 de perméthrine	0,73 de perméthrine		
d-d trans-cyphénothrine EC	0,1-0,2	0,2	3,5-4,0	3,5-4,0

EC = concentré émulsionnable ; EW = émulsion huile dans eau ; UL = liquide en volume ultra-faible.

Notes :
1. Les rapports des réunions du Groupe de travail du WHOPES (disponibles sur http://www.who.int/whopes/recommendations/wgm/en/) et la publication de WHOPES Pesticides and their application for control of vectors and pests of public health importance (disponible sur : http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_CDS_NTD_WHOPES_GCDPP_2006.1_eng.pdf) devraient être consultés pour obtenir des orientations et des recommandations.
2. Les recommandations de l'OMS sur l'utilisation des pesticides en santé publique ne sont valables QUE si elles sont associées aux spécifications de l'OMS pour le contrôle de la qualité (disponibles sur : http://www.who.int/whhopes/quality/en/).

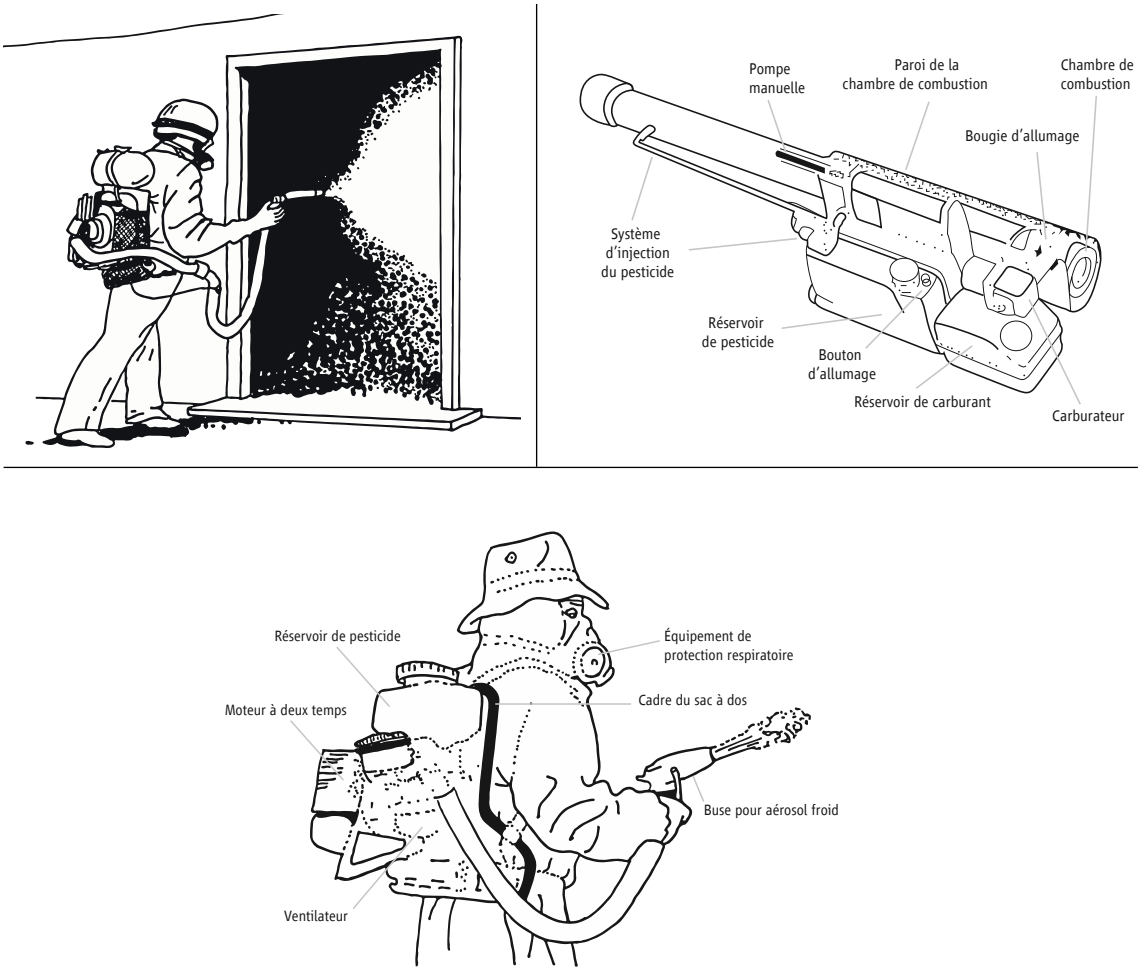


Figure 5.9 Pulvérisations spatiales : brouillards thermiques (en haut) ; aérosols froids (en bas)

5.4.1 Traitements larvicides

Ils emploient des agents chimiques ou biologiques pour tuer les larves et les nymphes. Les larvicides sont utilisés dans des zones où les gîtes larvaires sont peu nombreux, fixes (collections d'eau relativement stables sur une longue durée, persistant pendant toute la saison des pluies et au-delà) et localisables (Figure 5.10).

Figure 5.10 Traitement larvicide des gîtes larvaires

5.4.1.1 Indications

Les traitements larvicides ne sont indiqués que pour les vecteurs tendant à se reproduire dans des collections d'eau semi-permanentes, peu nombreuses, fixes, localisables et là où l'intervention se justifie par une densité suffisamment élevée de la population humaine à protéger. Ces conditions préalables font que les traitements larvicides conviennent dans certains habitats clairement définis, comme les zones urbaines, les marges des déserts, les terres en altitude, les camps de travailleurs ou de réfugiés et les projets de développement. Dans de telles situations et dans le cadre de programmes de lutte intégrée, les traitements larvicides peuvent compléter d'autres mesures environnementales qui visent à juguler le paludisme et d'autres maladies transmises par les moustiques, voire à éliminer la nuisance liée à ces insectes. Dans les zones de forte transmission du paludisme, on n'utilise normalement les traitements larvicides qu'en complément d'interventions essentielles (MII ou PID) ; on ne doit jamais considérer qu'ils peuvent se substituer aux MII ou aux PID là où le risque palustre est important.

En raison des conditions particulières requises pour mener des traitements larvicides pour la lutte contre le paludisme ainsi que du degré élevé de couverture nécessaire pour leur efficacité, il est très important de définir précisément la zone et les points où l'intervention sera mise en œuvre. L'application au sol de larvicides n'est pas recommandée sur des zones étendues telles que celles qui sont irriguées pour la production de riz à grande échelle ou les plaines inondables des grands cours d'eau.

5.4.1.2 Effet rémanent

L'effet rémanent des larvicides varie beaucoup en fonction de la qualité de l'eau et du type de gîte larvaire, mais il est relativement court dans la plupart des cas. Il est généralement nécessaire de répéter les opérations à des intervalles d'une semaine pendant toute la saison des pluies, quelle que soit la rémanence du produit utilisé, car de nouveaux gîtes larvaires apparaissent sans cesse et les œufs qui y sont pondus peuvent donner des adultes en seulement 7 à 10 jours.

5.4.1.3 Larvicides disponibles

Une variété de produits sont ou ont été utilisés pour la lutte antipaludique (Tableau 5.11), parmi lesquels des produits chimiques et des insecticides d'origine biologique. Ces produits varient quant à leur mode d'action, leur efficacité, leur innocuité, leur formulation, leur coût et leur disponibilité. Nous allons voir ci-après les larvicides potentiellement utilisables.

Produits huileux

Ils sont utilisés pour les eaux stagnantes impropres à la consommation des animaux ou à l'irrigation. Ils agissent principalement en formant un film à la surface de l'eau, ce qui empêche les larves de respirer. Plus l'huile est lourde, moins elle est dispersible et plus elle sera facilement bloquée par la végétation. On déconseille les huiles de pétrole en raison de la pollution de l'environnement qu'elles provoquent.

Insecticides chimiques couramment utilisés

Les organophosphorés (Tableau 5.11) sont très utilisés malgré des niveaux de résistance en augmentation dans certaines régions. Le téméphos, dont la toxicité est très faible pour les mammifères, a été le larvicide le plus largement utilisé dans le monde contre les moustiques. On peut l'utiliser dans l'eau servant à irriguer des cultures vivrières et également pour le traitement des eaux de boisson. Il est en revanche toxique pour les poissons. Le fenthion est aussi couramment utilisé lorsqu'il n'y a pas de risque de contamination de l'eau de boisson et des denrées alimentaires.

Régulateurs de croissance des insectes

Ce sont des produits chimiques fortement toxiques pour les larves de moustiques en empêchant leur développement pour atteindre le stade adulte. Leur utilisation s'est heurtée, en général, à leur coût élevé. Ils se répartissent en deux groupes : *i)* les analogues d'hormones juvéniles, qui empêchent le passage de la larve à la nymphe viable, ou de la nymphe à l'adulte, et *ii)* les inhibiteurs de synthèse de la chitine, qui interfèrent sur le processus de la mue et tue les larves au moment où elles muent.

Tableau 5.11 Produits et formulations recommandés par le WHOPES pour la lutte contre les larves de moustiques

Produits et présentation (s) insecticides[a]	Classe[b]	Dose (principe actif)	
		Général (g/ha)	Gites dans des conteneurs mg/l
Bacillus thuringiensis israelensis, souche AM65-52, WG	BL	125-750[c]	1-5[c]
Diflubenzurone DT, GR, WP	BU	25-100	0,02-0,25
Novaluron EC	BU	10-100	0,01-0,05
Pyriproxyfène GR	JH	10-50	0,01
Fenthion EC	OP	22-112	–
Pirimiphos-méthyle EC	OP	50-500	1
Téméphos EC, GR	OP	56-112	1
Spinosad DT, EC, GR, SC	SP	20-500	0,1-0,5

[a] DT = comprimés à utiliser directement ; GR = granulés ; EC = concentré émulsionnable ; WG = granulés dispersibles dans l'eau ; WP = poudre mouillable.
[b] BL = larvicide bactérien ; BU = benzoylurées ; JH = analogues des hormones juvéniles ; OP = organophosphorés ; SP = spinosynes.
[c] Produit formulé.

Notes :
1. Les rapports des réunions du Groupe de travail du WHOPES (disponibles sur http://www.who.int/whopes/recommendations/wgm/en/) et la publication de WHOPES Pesticides and their application for control of vectors and pests of public health importance (disponible sur : http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_CDS_NTD_WHOPES_GCDPP_2006.1_eng.pdf) devraient être consultés pour obtenir des orientations et des recommandations.
2. Les Directives de qualité pour l'eau de boisson (OMS) (http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/) donnent des orientations faisant autorité et devraient être consultées pour l'application d'insecticides dans l'eau potable contre les larves de moustiques.
3. Les recommandations de l'OMS sur l'utilisation des pesticides en santé publique ne sont valables QUE si elles sont associées aux spécifications de l'OMS pour le contrôle de la qualité (disponibles sur : http://www.who.int/whhopes/quality/en/).

Larvicides biologiques

Bacillus thuringiensis israelensis (Bti) est une bactérie produisant des toxines qui, une fois ingérées, sont très efficaces pour tuer les larves de moustiques. Aux doses normales, elle est inoffensive pour les autres insectes, les poissons, les animaux supérieurs et l'être humain. Aux doses appropriées, elle peut être indiquée pour traiter l'eau utilisée pour la boisson (en prenant garde aux contaminants microbiens potentiels dans le produit fini) et l'irrigation des cultures vivrières. Elle présente l'inconvénient de se détruire rapidement dans l'environnement, ce qui nécessite de renouveler régulièrement les traitements. Des formulations récentes ont été mises au point pour maintenir la bactérie en haut de la colonne d'eau, de façon à ce qu'elle puisse être ingérée par les larves d'anophèles. Une autre bactérie, *Bacillus sphaericus*, produit aussi une toxine. Ses caractéristiques sont semblables au *Bti*, mais elle est plus efficace dans les eaux polluées, alors que *Bti* est plus efficace dans les eaux propres.

5.4.1.4 Suivi et évaluation de la mise en œuvre des traitements larvicides

Le Tableau 5.12 dresse la liste des principaux indicateurs pour l'évaluation des traitements larvicides.

Tableau 5.12 Indicateurs de processus (opérationnels), de produit (output), de réalisation (outcome) (couverture) et d'impact (entomologique) pour l'évaluation des traitements larvicides

Indicateurs	Méthode de lutte : traitements larvicides
Indicateurs de processus	Nombre de gîtes larvaire identifiés (R)
Indicateurs de produit (output)	Nombre de gîtes larvaires traités avec des produits larvicides (R)
Indicateurs de réalisation (outcome)	Proportion de gîtes larvaires traités par rapport aux gîtes ciblés (R)
Indicateurs d'impact (entomologique) Présence et densité des larves (R)	Présence et densité des larves (R)
	Densité de moustiques adultes (R)
	Situation de la sensibilité aux insecticides (R)

R : indicateurs à suivre régulièrement ; S : indicateurs réservés à des usages spécifiques ; T : pour dégager les tendances.

5.4.2 Réduction à la source

Par cette dénomination, on entend toute mesure empêchant la reproduction des moustiques ou éliminant les gîtes larvaires. C'est un élément de la gestion de l'environnement qui vise à modifier celui-ci afin de priver la population de vecteurs des conditions de sa survie (reproduction, repos et nourriture) et de diminuer ainsi le contact homme-vecteur et les risques de transmission.

Quand de telles mesures apportent des changements durables ou permanents au sol, à l'eau ou à la végétation, on parle alors de modifications de l'environnement (par exemple des remblais, des drainages, des plantations d'arbres avides d'eau, comme les eucalyptus en zone marécageuse, ou encore la fermeture ou la couverture des gîtes larvaires). Lorsque ces mesures n'ont qu'un effet temporaires et doivent donc être répétées, elles deviennent des manipulations de l'environnement (par exemple des fluctuations du niveau de l'eau, l'irrigation intermittente, le passage de grandes quantités d'eau, les modifications de la salinité, l'éclaircissement de la végétation dans les cours d'eau, les canaux d'irrigations).

Beaucoup d'activités liées au développement (l'irrigation par exemple) entraînent des modifications de l'environnement qui accroissent souvent par inadvertance les risques de transmission du paludisme. Il faut prendre des précautions appropriées et des mesures d'atténuation au cours des phases de planification, de construction et d'entretien des projets

de développement. Les canaux d'irrigation devraient avoir un revêtement et la végétation être éliminée pour empêcher le développement des larves sur les bords des canaux et permettre le libre écoulement de l'eau. La périodicité de l'apport d'eau peut également être réglée pour que les larves présentes dans les lits des canaux puissent être emportées par le courant.

La réduction à la source peut assurer une prévention permanente de la reproduction des anophèles et être partout encouragée là où elle est possible. Cela peut impliquer une collaboration avec d'autres secteurs, comme ceux de l'agriculture ou de la planification urbaine. Les coûts sont parfois élevés mais peuvent être assumés avec d'autres secteurs que celui de la santé, comme par exemple dans le cas des systèmes d'évacuation des eaux usées dans les villes.

5.4.2.1 Avantages de la réduction à la source

- N'utilise pas de produits chimiques.
- Peut conduire à l'élimination totale des gîtes larvaires, lorsque la mise en œuvre est bonne.
- Apporte l'occasion de collaborer avec d'autres secteurs, au-delà des programmes de lutte antivectorielle, c'est-à-dire l'agriculture, les travaux publics, le réseau routier, l'environnement et les communautés.

5.4.2.2 Inconvénients de la réduction de la source

- Peut être coûteuse.
- Ne peut pas être appliquée partout.
- Nécessite une maintenance régulière.

5.4.3 Poissons larvivores

Ils se nourrissent de larves de moustiques. Parmi les espèces ayant été introduites avec le plus de succès dans différents pays, on peut citer la gambusie ou poisson à moustiques (*Gambusia affinis*) et le guppy (*Poecilia reticulata*). La gambusie est plus efficace dans l'eau claire, tandis que le guppy est introduit avec succès dans les eaux polluées par des matières organiques. Il supporte des températures plus élevées que la gambusie et pourrait donc être plus efficace dans les rizières des régions chaudes. En revanche, contrairement à la gambusie, il ne survit pas à des températures inférieures à 10 °C. Les killies annuels, *Cynolebias*, *Nothobranchius* et *Aphyosemion*, pondent des œufs résistants à la sécheresse et peuvent être utilisés dans des gîtes temporairement asséchés, comme les fosses d'emprunt et les rizières irriguées. De plus, on a évalué l'efficacité de poissons locaux pour lutter contre les moustiques et un certain nombre d'espèces se sont avérées utiles. L'utilisation de poissons larvivores locaux est particulièrement importante pour éviter le risque de perturber l'équilibre écologique en introduisant des espèces « exotiques » (Figure 5.11). Il a été difficile d'évaluer le rôle des poissons dans la lutte antipaludique.

5.4.3.1 Situations convenant potentiellement à l'introduction de poissons larvivores

- Les gîtes larvaires sont bien identifiés.
- Les conditions hydrologiques conviennent.
- Les traitements larvicides chimiques ne sont pas souhaitables.

Figure 5.11 Différents poissons larvivores

5.4.3.2 Les poissons larvivores potentiels doivent présenter les caractéristiques suivantes :

- Forte préférence pour les larves de moustiques.
- Mode d'alimentation en surface.
- Bouche terminale ou supérieure.
- Petite taille.
- Grande fécondité.
- Tolérance aux transports, aux conditions environnementales difficiles, aux températures extrêmes, à la présence de polluants et à une forte turbidité.

On peut utiliser les poissons larvivores à la fois dans des habitats naturels et artificiels tels que des réservoirs d'eau, des lacs, des fontaines, des mares, des étangs, des abreuvoirs, des piscines, des citernes, des infiltrations, des sites de stockage d'eau, des citernes d'irrigation, des canaux, de petits barrages, des rizières, des cours d'eau à lent débit, des marais, et des collections d'eau temporaires.

5.5 Suivi de l'impact des mesures de lutte antivectorielle sur le paludisme

Le Tableau 5.13 récapitule les effets des différentes méthodes de lutte antivectorielle sur les populations de vecteurs et leur comportement. Pour toute intervention, des objectifs devraient être fixés par rapport à sa contribution escomptée pour atteindre l'objectif général de lutte contre le paludisme. Le suivi et l'évaluation sont essentiels pour la gestion efficace de tout programme de lutte antivectorielle, en commençant par la définition d'objectifs clairement énoncés, réalistes et mesurables, ainsi que l'identification ou l'élaboration d'un système approprié d'information. Le Tableau 5.14 présente des indicateurs sélectionnés pour évaluer l'impact de la lutte antivectorielle sur le paludisme.

Tableau 5.13 Effet des différentes méthodes de lutte sur la population et le comportement des vecteurs

Méthode	Densité des adultes	Survie des adultes	Piqûres sur l'homme
Lutte contre les larves			
Réduction à la source	+	–	–
Poissons larvivores	+	–	–
Traitements larvicides	+	–	–
Réduction du contact homme-vecteur			
Moustiquaires imprégnées d'insecticide	+/–	+/–	+
Amélioration de l'habitat	–	–	+
Produits répulsifs	–	–	+
Lutte contre les moustiques adultes			
Pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent	+	+	+
Pulvérisations spatiales	+	+/–	–

+ : baisse escomptée ; – : pas d'effet ; +/– : efficace dans certains cas.

Tableau 5.14 Sélection d'indicateurs pour évaluer l'impact sanitaire de la lutte antivectorielle sur le paludisme

Méthode de lutte antivectorielle	Population cible	Indicateur d'impact (maladie)
Pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent	Nombre de personnes vivant dans la zone des opérations de pulvérisations	Nombre de cas confirmés de paludisme pour 1000 habitants et par an Nombre de décès dus au paludisme parmi les patients hospitalisés pour 1000 habitants et par an Taux de mortalité des <5 ans toutes causes confondues Prévalence parasitaire : proportion d'enfants âgés de 6 à 59 mois porteurs de l'infection palustre
Moustiquaires imprégnées d'insecticide	Nombre de personnes vivant dans la zone de distribution des MII/MID	
Traitements larvicides	Nombre de personnes vivant dans la zone des traitements larvicides	

Exercise 5.5

En petits groupes, répondez aux questions suivantes :

a) *Les pulvérisations partielles peuvent être contre-productives, par exemple si on les applique sur les abris du bétail et pas complètement sur les habitations humaines. Pourquoi ?*

b) *Mis à part une forte proportion de refus dans la population locale, quels sont les autres problèmes qui limitent l'efficacité des PID ?*

c) *Est-il vrai ou faux que les PID ont pour but de diminuer l'espérance de vie moyenne des moustiques ? Expliquez votre réponse.*

d) *Est-il vrai ou faux que le nombre de personnes protégées est équivalent au nombre de personnes habitant dans les maisons traitées, par exemple s'il y a eu 50 % de maisons traitées, 50 % de la population est protégée ? Expliquez votre réponse.*

e) *Est-il vrai ou faux qu'en cas d'épidémies de paludisme, les PID doivent se faire en priorité dans les structures disposant de surfaces traitables ? Expliquez votre réponse.*

5.6 Polluants organiques persistants (POP)

Ce sont des produits chimiques présentant les caractéristiques suivantes :

- ils restent intacts dans l'environnement sur une longue durée ;
- ils se distribuent largement dans tout l'environnement (par l'atmosphère, l'océan, d'autres moyens) ;
- ils s'accumulent dans les tissus gras des organismes vivants ;
- ils sont toxiques (cancérigènes) pour l'homme et la faune sauvage ;
- il y a une bioaccumulation dans les organismes et le long des chaînes alimentaires ;
- ils s'évaporent et se propagent sur de longues distances par l'air et par l'eau.

Il existe trois types de POP :

- les pesticides (comme le mirex ou le DDT) ;
- les produits chimiques industriels (comme les PCB) ;
- les produits de dégradation des déchets (dioxines et furanes par exemple) (voir le Tableau 5.15).

Les Nations Unies ont signé, en 2001, la convention sur les POP au titre de laquelle les pays s'engagent à réduire et/ou à éliminer la production, l'utilisation et/ou les émissions de POP. Le Tableau 5.15 dresse la liste des POP utilisés comme pesticides et suscitant les plus vives inquiétudes pour l'environnement.

Tableau 5.15 Polluants organiques persistants

Polluants organiques persistants	Type
Aldrine	Pesticide
Chlordane	Pesticide
Dichloro-diphényl-trichloroéthane (DDT)	Pesticide
Dieldrine	Pesticide
Endrine	Pesticide
Heptachlore	Pesticide
Hexachlorobenzène	Pesticide, produit chimique industriel, sous-produit
Mirex	Pesticide
Toxaphène	Pesticide
Polychlorobiphényles (PCB)	Produit chimique industriel
Dibenzo-p-dioxines polychlorées (dioxines)	Sous-produit
Dibenzofuranes polychlorés	Sous-produit

Le DDT présente plusieurs caractéristiques particulièrement intéressantes dans la lutte contre les vecteurs du paludisme. Sur les 12 insecticides actuellement recommandés pour cette intervention, il est l'un de ceux dont l'effet rémanent est le plus long lorsqu'il est pulvérisé sur les murs et les plafonds (de 6 à 12 mois selon la dose et la nature du substrat). Selon la durée de la saison de transmission, l'utilisation d'autres produits que le DDT peut nécessiter plus de deux cycles de pulvérisation par an. Le DDT a une répulsivité spatiale et un effet irritant sur les vecteurs du paludisme qui limitent fortement le contact homme-vecteur, contribuant ainsi à endiguer efficacement la transmission de la maladie. L'OMS ne recommande de l'utiliser que pour les PID et à condition de respecter intégralement les directives et toutes les recommandations de l'OMS et de la Convention de Stockholm.[1]

5.7 Reconnaissance géographique (RG)

Il s'agit d'un outil de gestion pour les opérations sur le terrain. De nombreuses données sont collectées et cartographiées : type, taille, qualité et localisation des habitations locales, habitudes de la population locale, localisation des gîtes larvaires, présence de routes, asphaltées ou non, principales caractéristiques naturelles, par exemple les cours d'eau et les forêts. La RG a les objectifs principaux suivants :

- Déterminer le nombre et la localisation des maisons ainsi que la population exposée au risque de paludisme, devant par conséquent être couverte par le programme de lutte antivectorielle.
- Fournir une base pour la planification des besoins du programme en équipement, fournitures, transports et personnel.
- Établir la nature et l'étendue des gîtes larvaires des moustiques par rapport aux regroupements de population, ce qui servira de base à la planification des mesures de lutte anti-moustiques.
- Fournir les informations fondamentales pour les programmes d'éducation sanitaire, de détection des cas et de traitement.

1. OMS, 2007. *The use of DDT in malaria vector control. WHO position statement.* Genève, Organisation mondiale de la Santé, http://www.who.int/malaria/publications/atoz/who_htm_gmp_2011/en/.

- Préparer une carte pour planifier, mener, superviser, contrôler et évaluer les activités de lutte contre le paludisme.

On peut trouver des informations utiles pour la RG auprès de sources très diverses dans chaque pays.

Matériel nécessaire pour la RG

- Support de papiers ou de cartes (30 x 40 cm)
- Règle
- Boussole de poche simple (à fixer sur le support de cartes)
- Punaises, élastiques
- Ruban à mesurer
- Kit de peinture et pinceau (clous et marteau)
- Sac à dos
- Colle
- Feuille à dessin
- Fiche de saisie de RG

La méthode de RG pour établir des cartes schématiques a été employée pour la première fois à l'époque du programme d'éradication du paludisme. De nos jours, on peut se servir des informations provenant des satellites pour préparer des cartes de n'importe quelle zone aux fins des activités de la lutte contre le paludisme (pour en savoir plus, voir l'annexe 3).

5.7.1 Mesure du volume des maisons et de la surface à pulvériser

Pour les pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent, on peut utiliser une carte schématique produite par la RG pour estimer les volumes à traiter. S'il faut traiter toutes les pièces d'une maison, on peut estimer le volume de celle-ci en mesurant avec ses pas la largeur et la longueur et en estimant à vue la hauteur. On en déduit :

Volume de la maison = largeur x longueur x hauteur

Par exemple pour une pièce de 4 x 3 x 3 m, le volume est de 36 m^3. La surface, en m^2, est estimée à 1,5 fois le nombre de m^3 calculé pour le volume, soit dans notre exemple : 36 x 1,5 = 54 m^2.

5.8 Système d'information géographique (SIG)

C'est une base de données informatisée pour la gestion et la cartographie qui est un excellent moyen d'analyser les données épidémiologiques et de révéler les tendances et les interrelations qui, autrement, auraient été plus difficiles à dégager de tableaux. Le SIG permet de représenter les villages et les villes sur une carte en fonction de leurs coordonnées géographiques (longitude et latitude). On utilise de petits appareils électroniques fonctionnant avec le géopositionnement par satellite (GPS) pour localiser et enregistrer la position de tout objet, par exemple la localisation d'une maison et des détails sur ses occupants. Le GPS est un récepteur portable obtenant des indications de latitude et de longitude. Les informations requises pour chaque village (nom, division administrative, coordonnées, population, disponibilité et types d'infrastructures de santé,

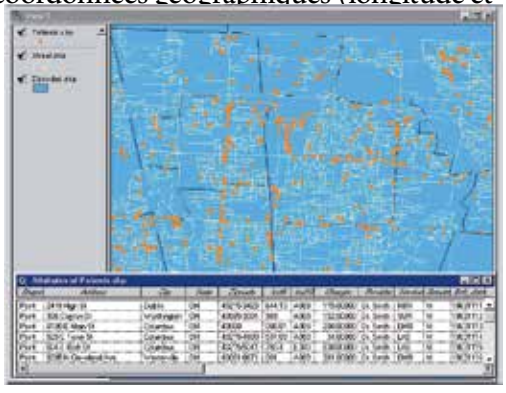


Figure 5.12 Programme SIG

nombre et types d'écoles, sources d'eau de boisson, latitude et longitude) peuvent ensuite être saisies dans une base de données compatible avec le SIG, comme Excel, Access ou Epi Info (voir la Figure 5.12).

5.9 Gestion intégrée des vecteurs (GIV)

Les principes de la lutte antivectorielle ont changé depuis le milieu du 20e siècle, lorsque les programmes d'éradication du paludisme ont été remplacé par des programmes de contrôle. Aujourd'hui, l'accent mis sur la gestion intégrée des vecteurs (GIV) renforce les programmes de lutte et permet une utilisation plus efficiente des ressources.

L'approche GIV est un plan unifié de lutte qui retient les méthodes les plus adaptées en fonction des conditions environnementales et de la dynamique des populations de vecteurs, de façon à maintenir celles-ci à un niveau qui ne provoque pas de problème pour la santé publique.

La GIV est un processus rationnel de prise de décisions pour une utilisation optimale des ressources dans la gestion des populations de vecteurs, afin de réduire ou d'interrompre la propagation des maladies à transmission vectorielle.[1] Avec cette approche, on cherche à améliorer l'efficacité, le rapport coût-efficacité, le respect de l'environnement et la pérennité de la lutte antivectorielle.

5.9.1 Caractéristiques de la GIV

- Sélection des méthodes de lutte à l'efficacité avérée reposant sur la connaissance de la biologie et de l'écologie des vecteurs locaux, de la transmission de la maladie et de la morbidité associée.
- Recours à une gamme d'interventions, séparément ou en association, souvent en synergie.
- Collaborations au sein du secteur de la santé et avec d'autres secteurs publics et privés ayant un impact sur la reproduction des vecteurs.
- Engagement avec les communautés locales et d'autres parties prenantes.
- Mise en œuvre dans le cadre réglementaire et législatif de la santé publique.
- Usage rationnel des insecticides.
- Bonnes pratiques de gestion.

5.9.2 Parties prenantes de la GIV

- L'OMS et la Banque mondiale
- L'industrie
- L'agence de protection de l'environnement
- Les ministères de la santé, de l'agriculture, des affaires étrangères, de l'énergie et de la pêche
- Les municipalités
- Les services de météorologie
- Les services vétérinaires
- Les centres de recherche et les universités
- Les ONG
- Les communautés et le secteur privé

1. OMS, 2008.*WHO position statement on integrated vector management*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/publications/atoz/who_htm_ntd_vem_2008_2/en/index.html.

Exemple

Que faut-il faire si la méthode de lutte antivectorielle retenue ne répond pas aux critères de succès ? Par exemple, si le résultat sanitaire attendu était une baisse du paludisme de 35 % en cinq ans mais si, au bout de trois ans, il apparaît qu'on ne parviendra qu'à une baisse de 15 %, il sera nécessaire soit d'accepter ce résultat plus faible, soit d'améliorer le programme de lutte.

Si, après une évaluation minutieuse du programme de lutte antivectorielle pour exclure une déficience opérationnelle, le contact homme-vecteur et les densités d'adultes ne diminuent pas autant que prévu, on soupçonnera au départ une baisse de la sensibilité du vecteur à l'insecticide. Pourtant, si l'on trouve malgré tout que le vecteur reste sensible à la lutte chimique, que faut-il faire ? Dans ce cas, il faudra envisager soit de faire appel à une autre méthode de lutte, soit de compléter la méthode retenue au départ, c'est-à-dire que le programme de lutte devra être intégré et géré différemment.

Exercise 5.6

En groupes, vous allez répondre aux questions suivantes :

1. *Pouvez-vous dresser la liste des trois parties prenantes/collaborateurs importants de la GIV dans votre pays et expliquer pourquoi ils ont cette importance ?*
2. *Pensez-vous que l'utilisation de différentes interventions de lutte antivectorielle pour lutter contre le paludisme soit le seul exemple de GIV ?*
3. *Si elle n'est pas déjà appliquée, aimeriez-vous voir, là où vous travaillez, l'inclusion d'une approche intégrée dans le programme de lutte contre les vecteurs du paludisme ? Serait-ce une option réaliste ? Expliquez pourquoi.*
4. *Quels sont les avantages et les limitations de la notion de GIV ?*

Les réponses seront présentées en séance plénière. L'instructeur dirigera une discussion sur la lutte antivectorielle et sur les questions posées pour cet exercice.

Exercise 5.7

Tous les participants doivent s'exercer aux PID. Chacun doit manipuler un pulvérisateur et appliquer la quantité d'insecticide requise sur 19 m^2 en 60 minutes, comme le montre la Figure 5.8. Durant 60 minutes, tous les participants doivent s'exercer chacun à leur tour.

UNITÉ D'APPRENTISSAGE 6

Suivi et gestion des résistances aux insecticides

Objectifs d'apprentissage :
À la fin de l'unité, les participants devraient pouvoir...

- rappeler l'historique du développement des insecticides
- expliquer le mode d'action des insecticides
- discuter des mécanismes de résistance aux insecticides
- déterminer la résistance aux insecticides à l'aide des kits de tests de sensibilité (adultes)
- déterminer la sensibilité des larves de moustiques aux insecticides
- mener les essais biologiques standardisés et discuter de leur signification
- déterminer l'efficacité rémanente d'une moustiquaire imprégnée d'insecticide à n'importe quel moment après sa distribution
- déterminer comment suivre la résistance aux insecticides dans une population

6.1 Historique du développement des insecticides

Du fait du comportement des insectes nuisibles, les populations humaines ont toujours dû faire face à la maladie, aux nuisances et à de lourdes pertes économiques. Depuis les débuts de la civilisation, l'être humain s'est efforcé d'améliorer son bien-être, notamment en utilisant des agents chimiques pour lutter contre les insectes responsables de la transmission de maladies et de la destruction des récoltes. Certaines des méthodes employées remontent à plusieurs siècles.

Dans les temps anciens, les populations dépendaient presque uniquement de l'utilisation de produits naturels ou de préparations qui en dérivaient. Jusque dans les années 1940, les produits utilisés pour détruire les insectes nuisibles étaient largement des substances chimiques inorganiques, comme des dérivés du plomb et de l'arsenic, également toxiques pour l'homme et l'animal. Certains produits chimiques organiques d'origine végétale, comme la nicotine, le pyrèthre et la roténone ont aussi été utilisés dans la lutte contre les nuisibles.

L'ère moderne des pesticides organiques, ce qu'on a pu appeler la « révolution des pesticides », a commencé dans les années 1940 avec l'utilisation pour la première fois du DDT comme insecticide. Ce produit a été synthétisé par Zeidler en 1874, mais ses propriétés insecticides ont été découvertes par Paul Muller en 1939, qui a ensuite reçu le Prix Nobel de Médecine en 1948 pour ses travaux. La fabrication commerciale du DDT a commencé en 1943 et il est devenu rapidement l'insecticide le plus largement employé. Après la découverte et l'application de ce produit, de nouveaux groupes d'insecticides de synthèse ont été fabriqués et utilisés contre des insectes d'importance médicale. Avec l'avènement du DDT, on pensait avoir trouvé la « solution miracle » pour la lutte antipaludique. En 1955, l'Assemblée mondiale de la Santé a adopté une résolution appelant à l'éradication mondiale du paludisme, en dehors de l'Afrique subsaharienne, après les succès rencontrés dans l'utilisation des insecticides pour faire diminuer le nombre des cas de paludisme dans de nombreuses régions du monde. Toutefois, l'optimisme en matière d'utilisation des insecticides n'a pas duré face au développement de la résistance des vecteurs et, à partir de 1976, la stratégie de l'OMS pour le paludisme est passée de l'éradication au contrôle.

6.2 Mode d'action des insecticides

Les pyréthrinoïdes et le DDT agissent en interférant sur les canaux sodiques du système nerveux central et périphérique. Ils ouvrent ces canaux, ce qui entraîne une excitation continuelle des nerfs, la paralysie et la mort du vecteur ; ils ont aussi un effet irritant, provoquant un mécanisme d'excito-répulsivité aboutissant à une hyperactivité, une immobilisation rapide, l'inhibition de la nutrition, des durées d'atterrissage plus brèves et la désorientation du vol, ce qui réduit la capacité des vecteurs à piquer. Les organophosphorés et les carbamates agissent en inhibant la cholinestérase, ce qui empêche la métabolisation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur, et entraîne une sur-stimulation neuromusculaire aboutissant à la mort du vecteur. Il est important de comprendre le mode d'action des insecticides pour plusieurs raisons :

- comprendre les dangers de ces produits chimiques pour la santé de l'être humain et des organismes qui ne sont pas ciblés ;
- permettre de concevoir d'autres produits chimiques ayant un mode d'action similaire ;
- mieux connaître les mécanismes de développement de la résistance aux insecticides, notamment pour ce qui est de l'insensibilité de la cible, de façon à pouvoir élaborer des contre-mesures pour éviter les résistances ou empêcher leur développement ;

- donner des informations fondamentales précieuses sur la nature des systèmes ciblés (par exemple la faiblesse des insectes sensibles) en termes de connaissances physiologiques, biochimiques et biophysiques des systèmes biologiques vitaux.

6.3 Mécanismes de résistance aux insecticides chez les arthropodes

La résistance aux insecticides est le terme employé pour décrire la situation dans laquelle les vecteurs ne sont plus tués par la dose standard d'insecticide ou arrivent à éviter le contact avec celui-ci. Plusieurs années d'utilisation intensive d'insecticides organiques pour lutter contre les arthropodes nuisibles et les vecteurs de maladies ont abouti à la sélection de résistances chez certaines espèces. Les facteurs induisant la résistance sont nombreux et le mécanisme adopté par un organisme dépend de la pression exercée et du mode d'action de l'insecticide utilisé. L'intoxication d'un insecte englobe différents niveaux d'interactions pharmacocinétiques : pénétration des barrières tissulaires, distribution, stockage, métabolisation dans les tissus internes et interaction moléculaire avec le site cible spécifique. On utilise de nombreux produits chimiques contre les arthropodes et il y a des centaines d'exemples de résistances ; nous allons décrire ci-après un certain nombre d'entre eux.[1]

6.3.1 Résistance métabolique

Dans ce cas, les voies métaboliques de l'insecte se modifient de manière à détoxifier l'insecticide ou à éviter que le composé appliqué ne soit métabolisé en sa forme toxique. La résistance métabolique aux insecticides passe par des modifications qualitatives et quantitatives de protéines qu'il est souvent difficile de définir précisément au niveau biochimique. Trois grandes classes d'enzymes sont impliquées dans la détoxification des insecticides : les glutathion-S-transférases (GST), les oxydases à fonction mixte (MFO) et les estérases. On reconnaît couramment leur implication par l'augmentation des métabolites caractéristiques qu'elles produisent. Les trois classes existent sous de multiples formes dans chaque espèce et on ignore souvent si l'augmentation de l'activité provient de modifications qualitatives ou quantitatives de ces complexes enzymatiques. Pour les pyréthrinoïdes, ce sont les MFO qui sont les plus importantes, suivies par les estérases. Pour le DDT, les GST sont les plus importantes, puis les MFO. Pour les organophosphorés et les carbamates, ce sont les MFO et les estérases. L'augmentation de la synthèse de ces enzymes semble provenir d'une amplification génique.

Glutathion-S-transférases (GST)

Ce groupe d'enzymes catalyse la conjugaison du glutathion avec des composés dotés d'un centre électrophile réactif, aboutissant à la formation de produits hydrosolubles moins réactifs. Bien qu'il y ait de nombreux exemples d'accroissement du métabolisme des insecticides ou de substrats modèles par les GST des insectes résistants, peu sont caractérisés au niveau moléculaire. Le métabolisme passant par ces enzymes a été impliqué dans la résistance aux DDT et aux organophosphorés. On a signalé des niveaux accrus de DDT-déhydrochlorinase chez différentes espèces résistantes au DDT. On ne connaît pas la fonction naturelle de cette enzyme, bien qu'elle soit présente dans différents organes de l'insecte, y compris probablement dans le système nerveux périphérique où le DDT semble exercer le plus son effet. La caractérisation de GST partiellement purifiées provenant de souches sensibles et résistantes au DDT a mis en évidence des différences à la fois qualitatives et quantitatives de ces enzymes.

---

1. OMS, 2012. *Plan mondial pour la gestion de la résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/publications/atoz/gpirm/en./index.html.

Oxydases à fonction mixte (MFO)

Ce sont des enzymes très importantes chez les mammifères, comme chez les arthropodes, pour les protéger contre divers insecticides, en particulier certains hydrocarbures chlorés, de nombreux organophosphorés, carbamates et certains pyréthrinoïdes. Le complexe des monooxygénases, ou oxydases à fonction mixte (MFO) comporte une réductase et un ou plusieurs cytochromes P-450. L'augmentation de leur activité est l'un des mécanismes de résistance les plus souples chez les insectes. Les enzymes à P-450 des insectes activent également certains types d'insecticides, par exemple la conversion des organophosphorés pour qu'ils prennent leur forme insecticide active. Plusieurs facteurs dont l'espèce, la souche, le sexe, le stade de développement, l'âge et la nutrition, influent sur l'activité des monooxygénases. On a mis en évidence le système des MFO dans les tissus graisseux, les tubes de Malpighi et l'estomac. Le système MFO qui a été le plus étudié est de loin celui de la mouche domestique. On pense que ces enzymes jouent un rôle important dans des cas de résistance aux pyréthrinoïdes récemment découverts chez *A. gambiae.*

Estérases et hydrolyse

Les estérases sont les enzymes les plus importantes pour la détoxification des insecticides chez les insectes. Les organophosphorés, les carbamates et les pyréthroïdes renferment des liaisons carboxyester et phosphotriester soumises aux attaques des estérases. Celles-ci peuvent souvent être séparées en deux isoenzymes présentant des spécificités différentes au niveau du substrat. Les estérases des insectes sont très diverses et peuvent comporter des monomères, des dimères et des polymères, ce qui signifie que leur masse moléculaire relative peut être très variable. Le polymorphisme est une caractéristique notable de ces enzymes. De multiples formes d'estérases sont présentes dans la fraction cytosolique soluble de l'insecte. Parmi les multiples formes d'isoenzymes qui existent, peu participent au métabolisme des insecticides. Chaque isoenzymes a probablement une gamme particulière de substrats.

6.3.2 Résistance du site cible

De nombreux insecticides sont toxiques pour le système nerveux de l'insecte, en agissant soit sur les synapses, soit sur les axones. Différentes parties des canaux du système nerveux, comme les canaux sodiques voltage-dépendants, les canaux potassiques, l'ATP-ase, les canaux chloriques ouverts par la GABA et l'acétylcholinestérase sont les sites primaires ciblés par plusieurs classes d'insecticides. La résistance du site cible se produit quand le site sur lequel un insecticide agit est modifié dans une souche résistante, de sorte que l'insecticide n'arrive plus à se lier efficacement et que l'insecte n'est donc plus affecté, ou est moins affecté, par le produit. Ce mécanisme de résistance peut se produire dans le canal sodique et aboutir à des canaux sodiques de différents types, des altérations structurelles du canal sodique, des canaux sodiques modifiés, des modifications des phospholipides des membranes nerveuses, une réduction de la densité des canaux sodiques et une affinité réduite du canal sodique. Les mutations de résistances, comme les mutations kdr (knock-down resistance) peuvent toucher l'acétylcholinestérase, qui est la cible moléculaire des organophosphorés et des carbamates, ou les canaux sodiques voltage-dépendants (pour les pyréthroïdes et le DDT.

6.3.3 Résistance comportementale

Il s'agit de toute modification du comportement d'un insecte qui l'aide à éviter les effets mortels des insecticides. La propriété irritante de certains insecticides peut conduire une certaine proportion d'insectes à quitter les surfaces traitées avant d'avoir absorbé une dose létale, de

sorte qu'il faudra des contacts répétés avant d'entraîner la mortalité. On appelle « irritabilité » l'accroissement de l'activité des moustiques provoqué par les insecticides. Le dérangement des insectes au repos est le résultat le plus manifeste de l'irritation ; on parle parfois de répulsivité, (ou d'excito-répulsivité) pour ce phénomène. C'est la stimulation par un produit chimique de mouvements orientés pour s'éloigner de la source, ou une prévention empêchant l'insecte de s'approcher de l'insecticide. Ces deux définitions impliquent que la répulsivité n'est pas seulement due au contact des moustiques avec l'insecticide, mais aussi à l'action volatile du produit. Cette irritabilité augmente l'activité du moustique qui se pose et le conduit à ne rester en contact avec la surface traitée que pendant un court moment.

Des rapports indiquant des comportements d'évitement des résidus de DDT ont été régulièrement produits en Afrique. Dans certains cas, on a pensé que cette réaction comportementale des vecteurs avait un impact négatif sur les efforts de lutte.

Bien que la classification des résistances selon des mécanismes biochimiques, physiologiques et comportementaux soit une manière commode de considérer la question, ces trois groupes de phénomènes constituent en réalité un spectre interconnecté de réactions biologiques. Par exemple, une réponse physiologique comme une altération nerveuse avec insensibilité est le total cumulé d'une série d'événements biochimiques impliquant potentiellement des modifications structurelles des nerfs. De même, une réaction comportementale résulte du cumul d'une série de modifications physiologiques et biochimiques. Toutefois, il peut être souligné que dans certains cas, on peut prendre par erreur une variation dans la population de vecteurs pour le développement d'une résistance comportementale.

La répulsivité des insecticides peut dissuader les vecteurs de pénétrer dans les habitations humaines traitées. Cette réaction comportementale peut entraîner une forte réduction du contact homme-vecteur et s'accompagner d'une baisse durable de la transmission palustre. Un suivi attentif des réactions physiologiques et comportementales aux pyréthrinoïdes sera essentiel pour évaluer les avantages de commencer ou de poursuivre l'application de ces produits à grande échelle.

6.3.4 Réduction de la pénétration (résistance de la cuticule)

La composition de l'exosquelette des insectes peut se modifier de manière à inhiber la pénétration des insecticides. Cette diminution de la pénétration laisserait amplement le temps aux enzymes de détoxification de métaboliser le produit chimique qui serait alors moins efficace. La baisse de la pénétration cuticulaire, peut-être à cause d'un gène semblable à *pen*, a également été observée chez une souche de la mouche domestique sélectionnée par la perméthrine.

6.3.5 Excrétion

L'augmentation de l'excrétion est un des mécanismes de résistance développés par les insectes. Les larves de souches résistantes d'*Aedes aegypti* réagissent au DDT en excrétant l'insecticide dans la membrane péritrophique. Ce comportement a été davantage mis en évidence chez certaines souches résistantes par rapport à d'autres et se produit bien moins souvent chez les larves de souches sensibles. Il semble constituer un mécanisme de résistance pour enlever le DDT du canal alimentaire et empêcher qu'il n'accède à l'organisme.

6.3.6 Mécanismes de résistance chez les principales espèces vectrices du paludisme

On observe à l'échelle mondiale la résistance métabolique comme celle des sites cibles ; en revanche il y a des mécanismes différents selon les espèces. Par exemple, on ne signale actuellement qu'une résistance métabolique pour *A. funestus s.s.*, alors qu'on retrouve les deux types de résistance, métabolique et site cible, chez *A. gambiae s.s.* Le Tableau 6.1 fait la synthèse des mécanismes de résistance chez les principales espèces vectrices du paludisme.

Tableau 6.1 Mécanismes de résistance chez les principales espèces vectrices du paludisme[1]

Espèces vectrices	Pyréthrinoïdes		DDT		Organophosphorés		Carbamates	
	Métabolique	Site cible	Métabolique	Site cible	Métabolique	Site cible	Métabolique	Site cible
A. gambiae s.s.	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
A. funestus s.s.			✓				✓	
A. arabiensis		✓	✓	✓		✓		✓
A. culicifacies (C)		✓		✓				
A. culicifacies (B)		✓	✓	✓	✓			
A. stephensi	✓	✓	✓	✓	✓			
A. dirus			✓					
A. sacharovi			✓		✓	✓	✓	✓
A. albimanus	✓		✓		✓	✓		✓

6.4 « Knock-down » et mort

Le terme de « knock-down », ou choc, tel qu'il est appliqué en entomologie dénote une paralysie ou immobilisation de l'insecte, qu'elle soit réversible ou non. Si l'insecte ne récupère pas de cet état, on parle alors de mort. Au départ, le terme de « knock-down » a été introduit pour décrire l'induction plutôt rapide des symptômes de paralysie provoqués par les pyréthrines, mais son usage s'est finalement étendu à tous les cas de paralysie des insectes provoqués par des produits chimiques. On l'utilise souvent en liaison avec le temps requis pour que les symptômes de paralysie apparaissent dans une certaine fraction de la population testée (par ex. KD_{50}, KD_{90}, etc.). Chez un certain nombre d'espèces d'insectes, on a observé une réversibilité de cet état. On ne sait pas si la récupération de ce choc est uniquement due au métabolisme de l'insecticide pour le ramener à un niveau non létal, ou si les processus d'intoxication qui entraînent le choc sont les mêmes que ceux qui aboutissent à la mort. La vitesse et la durée du choc, ainsi que la possibilité et l'ampleur de la récupération, sont des considérations importantes à prendre en compte dans la lutte contre les nuisibles.

6.5 Méthodes de détection des résistances

On dispose désormais de différentes approches pour détecter l'émergence de résistances.[2] Cette détection constitue le fondement de l'application des techniques de gestion des résistances visant à contrer le phénomène. Le processus consiste à obtenir des données initiales de référence sur la sensibilité, puis de surveiller régulièrement la résistance à l'aide des méthodes les plus sensibles, telles qu'elles sont décrites dans les sections suivantes.

1. OMS, 2012. *Plan mondial pour la gestion de la résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/publications/atoz/gpirm/en./index.html.

2. OMS, 2013. *Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241505154/en/index.html.

6.5.1 Tests de sensibilité

Les tests de sensibilité (bio-essais) sont utilisés pour mesurer le taux de mortalité après l'exposition des vecteurs à une dose standard d'insecticide, permettant la comparaison entre des études indépendantes. On peut utiliser soit l'essai standardisé de l'OMS sur papier imprégné, soit l'essai en flacon du CDC.[1] Toutefois, les résultats obtenus avec les deux méthodes ne sont pas comparables. Il faut donc avoir toujours recours à la même méthode au fil du temps pour observer des tendances longitudinales ou temporelles de la résistance. Les essais de l'OMS sur papier imprégné sont la méthode standard de base mais les essais en flacon du CDC offrent une autre possibilité susceptible d'apporter des informations complémentaires. On peut aussi avoir recours aux tests de sensibilité pour déterminer la dose appropriée requise pour tuer 50 % ou 90 % des populations d'insectes, ce qui permet d'avoir des informations plus détaillées sur l'étendue de la résistance dans la population en question. Les bio-essais repèrent l'existence d'une résistance lorsqu'elle est à un niveau détectable, mais ils n'établissent pas le mécanisme responsable. Il est aussi possible de passer à côté d'une résistance si sa fréquence est trop faible. Les bio-essais restent cependant extrêmement importants pour le suivi car ils détectent la résistance quel que soit le mécanisme physiologique impliqué. Certains des essais décrits ci-après, bien que plus sensibles, ne conviennent qu'à la détection d'un type de résistance en particulier.

6.5.2 Essais biochimiques et immunologiques

Il existe deux causes majeures de résistance : *i)* des modifications du site cible réduisant la liaison de l'insecticide (résistance du site cible) et *ii)* l'augmentation de la vitesse à laquelle l'insecticide est métabolisé (résistance métabolique).

Le métabolisme de l'insecticide passe par trois familles d'enzymes : les carboxylestérases, les cytochromes P-450 et les glutathion-S-transférases. Les essais biochimiques détectent le niveau d'activité de ces enzymes. Ils utilisent des substrats modèles produisant un changement de couleur visible à l'œil nu. L'intensité de la couleur est proportionnelle à l'activité enzymatique. Bien qu'ils ne mesurent pas directement le niveau de métabolisme de l'insecticide, ils peuvent fournir une indication des mécanismes de résistance dans une population et donner des indices sur d'éventuels phénomènes de résistance croisée.

Les tests biochimiques ont pour avantage de donner la possibilité de faire de nombreux essais sur un seul insecte, ce qui permet de détecter de multiples mécanismes de résistance. En revanche, ils ont pour inconvénient la difficulté d'utilisation sur le terrain en raison du matériel perfectionné qui est nécessaire, ainsi que l'interprétation des résultats, qui requiert des compétences techniques poussées. Lorsqu'on utilise ces essais, il est important de tester une souche sensible de la même espèce en même temps que la population provenant du terrain pour permettre la comparaison des niveaux des enzymes de détoxification. Il existe des protocoles pour ces essais.

6.5.3 Tests moléculaires

On dispose désormais de diagnostics basés sur l'ADN pour détecter la résistance de sites cibles aux principales classes d'insecticides chez de nombreuses espèces vectrices. Ces essais détectent la mutation précise à l'origine de la résistance. Ils sont extrêmement sensibles et peuvent détecter une résistance dès qu'elle émerge dans une population, donnant ainsi une alerte précoce avertissant de l'échec potentiel de la lutte. Toutefois, comme les essais moléculaires ne sont pour l'instant disponibles que pour la résistance de sites cibles, ils ne peuvent se substituer aux essais

1. OMS, 1998. *Techniques to detect insecticide resistance mechanisms (field and laboratory manual).* Genève, Organisation mondiale de la Santé. WHO/CDS/CPC/MAL/98.6.

biologiques. Un résultat négatif à un essai moléculaire n'indique pas que le spécimen n'est pas résistant à un insecticide en particulier ; il révèle seulement qu'il ne dispose pas du mécanisme particulier de résistance faisant l'objet de l'essai.

Différentes plateformes ont été mises au point pour ces essais moléculaires. Les méthodes les plus simples s'appuient sur une PCR allèle-spécifique ou une PCR suivie d'une digestion par une enzyme de restriction (PCR-RFLP). La résolution des produits se fait sur un gel d'agarose et seuls un thermocycleur pour PCR et une table à UV sont nécessaires pour faire ces tests. Un matériel plus perfectionné est nécessaire pour d'autres essais moléculaires qui ont l'avantage d'être plus sensibles, plus spécifiques et d'avoir un plus haut débit. Bass et al., en 2009, [1] ont comparé certains des autres essais pour détecter la résistance de sites cibles au DDT et aux pyréthrinoïdes (l'allèle kdr).

Très peu de tests moléculaires sont actuellement disponibles pour détecter des résistances métaboliques chez les insectes et, pour l'instant, aucun test faisable sur le terrain pour détecter les gènes responsables d'une résistance métabolique chez les principales espèces vectrices de moustiques. L'utilisation d'activateurs dans les bio-essais peut indiquer la présence d'une résistance métabolique. De plus, plusieurs plate-formes utilisant les puces à ADN ont été mises au point spécifiquement pour étudier les résistances métaboliques chez les moustiques. Ces expériences restent cependant onéreuses et nécessitent des équipements et compétences spécialisés.

6.6 Suivi de la résistance aux insecticides

Un suivi suffisant de la sensibilité des vecteurs fait partie intégrante de la planification et de l'évaluation de l'usage des insecticides par les programmes de lutte antipaludique.[2] Le problème croissant de la résistance des vecteurs de maladies a constamment réduit le choix des insecticides de remplacement et il n'existe aucune solution simple et unique au problème. Il est important de reconnaître qu'on ne dispose que d'un nombre limités d'insecticides pouvant être utilisés dans le cadre des programmes de santé publique et qu'ils devraient être considérés comme une ressource précieuse. Les « ressources » existantes doivent être employées le plus efficacement possible. L'usage à bon escient des insecticides dépend en grande partie de vastes connaissances des mécanismes possibles ou probables de résistance. En s'appuyant sur ce savoir, il est possible de prendre toutes les précautions nécessaires pour éviter la survenue de résistances et de préparer à l'avance un plan pour réagir au développement d'une résistance à ses premiers stades sur le terrain. Le développement potentiel de résistances aux insecticides est une menace commune à laquelle sont confrontés tous les programmes dépendant d'un usage continuel ou répété de ces produits. Il est donc important de surveiller régulièrement la sensibilité des vecteurs au cours des opérations menées par les programmes.

La résistance provient souvent de l'utilisation, en agriculture, du même insecticide ou d'un produit apparenté. La sélection du produit à employer pour la lutte antivectorielle doit certes se baser sur la sensibilité de la population de vecteurs, mais aussi sur l'utilisation générale des insecticides dans la région. Il est également souhaitable d'étudier l'historique des résistances dans les régions limitrophes et celles de la même espèce de vecteurs dans d'autres zones.

Des considérations similaires s'appliquent pour l'évitement du contact avec les surfaces traitées.

---

1. Bass et al (2009). Detection of knock-down resistance (kdr) mutations in *Anopheles gambiae* : a comparison of two new high throughput assays with existing methods. Malaria Journal ; 6 : 111.

2. OMS, 2012. P*lan mondial pour la gestion de la résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/vector_control/ivm/gpirm/en./index.html.

Il sera nécessaire de suivre d'éventuelles modifications du comportement du vecteur au moyen de pièges de sortie et de l'observation de l'agressivité envers l'homme.

La détermination de la sensibilité aux insecticides est l'un des motifs les plus importants pour procéder à l'échantillonnage des populations de vecteurs. Lorsqu'on utilise ces produits dans le cadre de la lutte antipaludique, il importe de surveiller de temps en temps l'évolution du niveau de sensibilité des vecteurs ciblés. On déterminera aussi à intervalles réguliers l'efficacité rémanente de l'insecticide après son application ou son utilisation. Au cours de cette unité, vous allez apprendre les techniques requises pour mener à bien ces activités.

6.6.1 Concentrations discriminantes des insecticides

Les concentrations discriminantes (ou doses) d'insecticide sont couramment utilisées pour déceler et surveiller les résistances des moustiques à ces produits. Elles ont été établies dans des conditions standardisées de laboratoire, en utilisant des souches ou populations « sensibles », de nombreuses espèces vectrices.[1] Les concentrations couramment utilisées pour les moustiques adultes et les larves sont indiquées aux annexes 4 et 5 respectivement.

6.6.2 Tests de sensibilité sur les moustiques adultes

On procède à des *tests de sensibilité* pour déterminer la proportion de la population de vecteurs qui est physiologiquement résistante à un insecticide donné.

La *résistance physiologique* aux insecticides a été définie comme la « capacité d'une population d'insectes à tolérer des doses d'un insecticide qui s'avéreraient létales pour la majorité des individus d'une population normale de la même espèce ».

L'efficacité des PID et des MII dépend, entre autres, de la proportion de vecteurs se reposant sur la surface traitée et de leur sensibilité à l'insecticide employé. Il est donc important de surveiller le développement et l'ampleur de la résistance à l'insecticide dans une population donnée de vecteurs.

Test de sensibilité à l'aide des essais biologiques standardisés de l'OMS

La méthode standardisée de l'OMS consiste à vérifier la mortalité de plusieurs anophèles femelles d'une espèce connue, exposées dans des tubes spéciaux à des papiers-filtres imprégnés d'une concentration létale (la concentration discriminante) d'un insecticide donné en solution huileuse. Pour lire une description détaillée de la procédure, se référer à l'annexe 4.

Test de sensibilité en flacon du CDC

Ce test biologique détermine si un insecticide spécifique est capable de tuer un vecteur, un moustique par exemple, à un endroit et à un moment donnés. Son objectif est de mesurer le temps que met l'insecticide en question à tuer le moustique adulte. Il peut être exécuté sur des populations de moustiques élevés dans un insectarium à partir des récoltes de larves sur le terrain, ou sur les moustiques directement capturés sur le terrain.

Le test en flacon du CDC est de plus en plus utilisé pour la surveillance systématique, journalière, des populations de moustiques. Par rapport au test de l'OMS, il présente les avantages suivants : 1) il n'y a pas besoin de se procurer les papiers-filtres imprégnés auprès du centre collaborateur de l'OMS en Malaisie ; 2) il n'y a pas besoin d'une période d'attente de 24 heures ; 3) on peut évaluer en

1. OMS, 2013. *Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/publications /en/index.html.

même temps tous les insecticides disponibles ; 4) en utilisant des concentrations discriminantes plus faibles, on peut détecter plus rapidement les résistances. Il y a néanmoins des inconvénients, comme l'absence d'assurance de la qualité pour la préparation des flacons selon les laboratoires ou les personnes qui s'en chargent, le transport des flacons sur le terrain, en particulier sur des périodes prolongées pendant lesquelles il n'y a pas d'accès possible aux laboratoires, et enfin l'extraction des moustiques vivants après la durée d'exposition requise pour les conserver en vue d'identifier les espèces. Les résultats des tests en flacon ne sont pas directement comparables aux résultats des essais de l'OMS en tubes. Ce test convient cependant pour les tests avec des activateurs, pour la recherche et pour établir les concentrations de diagnostic pour les nouveaux insecticides ou pour de nouvelles espèces de moustiques. On peut trouver la méthodologie détaillée, « *Guideline for evaluating insecticide resistance in vectors using the CDC Bottle Bioassay* » sur le site du Centers for Disease Control and Prevention des États-Unis d'Amérique (http://www.cdc.gov). Une version en ligne, complète et avec des animations, est disponible à l'adresse suivante : http://www.cdc.gov/ncidod/wbt/resistance/assay/bottle/index.htm.

6.6.3 Tests de sensibilité sur les larves

Leur but est de détecter aussi vite que possible la présence d'une résistance dans une population de larves de moustiques, de façon à pouvoir dresser à temps d'autres plans de lutte pour affronter la situation lorsque l'insecticide en question n'a plus l'effet désiré. Pour lire une description détaillée des procédures, se référer à l'annexe 5.

6.6.4 Méthodes des tests biologiques

Efficacité résiduelle de l'insecticide sur les murs traités

On détermine l'efficacité résiduelle d'un insecticide sur une surface traitée par un test biologique. On y parvient en vérifiant la mortalité du vecteur ciblé exposé à la surface traitée à des intervalles d'une semaine ou d'un mois après la pulvérisation. On peut aussi utiliser cette technique pour évaluer la qualité des pulvérisations à effet rémanent. L'annexe 6 présente une description détaillée de la procédure pour cette méthode.

Efficacité résiduelle de l'insecticide sur les moustiquaires imprégnéests

On utilise aussi les méthodes propres aux tests biologiques pour déterminer l'efficacité résiduelle d'un insecticide sur des moustiquaires imprégnées, ce qui peut servir à décider quand il est nécessaire de réimprégner les MII ou de remplacer les MID ou encore à évaluer la qualité du traitement. La procédure pour ces tests est semblable à celle appliquée pour les murs traités, sauf que le cône est fixé sur le textile avec une bande élastique et que les moustiques sont exposés en général trois minutes seulement. L'annexe 7 présente une description détaillée de la procédure pour cette méthode.

La plupart des programmes ne disposent pas des installations nécessaires pour élever des moustiques d'âge ou de statut connu pour la sensibilité en vue de procéder aux tests biologiques. De nouvelles méthodes pour contrôler les résidus d'insecticide sur les MII/MID et les surfaces sont en cours d'élaboration. Le kit de quantification d'insecticide (Insecticide Quantification Kit : IQK) de l'Innovative Vector Control Consortium (IVCC) en est un exemple. L'IQK est simple à utiliser sur le terrain.

6.7 Gestion de la résistance aux insecticides

Les stratégies de gestion de la résistance aux insecticides (GRI) ont pour but de maintenir l'efficacité de la lutte antivectorielle malgré la menace des résistances. En voici quelques-unes qui ont été utilisées ou proposées pour gérer le problème : [1]

- *Alternance des insecticides.* Sur la base d'au moins deux insecticides ayant des modes d'action différents, on change tous les ans par roulement celui qui est employé.
- *Combinaison d'interventions.* Deux interventions de lutte antivectorielle, ou plus, basées sur les insecticides sont utilisées dans une maison (par exemple des pyréthrinoïdes sur les moustiquaires et un insecticide d'une classe différente sur les murs), de sorte que le même insecte a une probabilité, mais ce n'est pas garanti, d'entrer en contact avec le second insecticide s'il survit à l'exposition au premier.
- *Pulvérisations en mosaïque*. Un composé est utilisé dans une zone géographique et un autre composé dans les zones adjacentes, les deux appartenant à des classes différentes d'insecticides. Des recherches complémentaires sont nécessaires dans ce domaine.
- *Mélanges.* Deux insecticides ou plus appartenant à des classes différentes sont mélangés pour en faire un produit ou une formulation unique, de façon à garantir que le moustique entre en contact avec les deux classes d'insecticides en même temps. Il n'existe pas actuellement de mélange disponible pour la lutte contre les vecteurs du paludisme.

Tous les programmes de lutte contre les vecteurs du paludisme doivent avoir une stratégie de gestion des résistances aux insecticides. Les activités et politiques dans ce domaine doivent être introduites dès le départ et ne pas être différées pour attendre l'émergence du problème. Ces activités sont les suivantes :

- Pour les PID, la politique minimale de gestion des résistances consiste à alterner les insecticides de classes différentes selon un système de roulement ; cela implique d'alterner des insecticides ayant des modes d'action différents (le fait d'utiliser un pyréthrinoïde à la place d'un autre n'est pas considéré comme une alternance).
- On peut utiliser un pyréthrinoïde en tant qu'élément de l'alternance, sauf s'il y a une forte couverture de MID dans la zone géographique en question.
- Comme nous l'avons déjà noté, il ne faut pas utiliser les pyréthrinoïdes pour les PID dans les zones de couverture élevée par les MID. Inversement, l'association des MID avec des PID utilisant des insecticides autres que des pyréthrinoïdes est une stratégie recommandée de gestion des résistances.
- Au cours du processus d'approbation des demandes d'achat d'insecticides, les organismes de financement devraient vérifier que des données récentes et pertinentes sur la résistance dans la zone ciblée et à proximité sont bien disponibles et prises en compte dans la décision de choisir un produit en particulier.
- La surveillance de la résistance doit être menée au moins une fois par an dans plusieurs endroits ciblés par les activités de lutte antivectorielle. Autant que possible, il faut rechercher la résistance au moyen des tests biologiques classiques, mais aussi avec des méthodes moléculaires de génotypage. Il est recommandé de mettre des fonds à disposition pour ces activités.
- Les recommandations de l'OMS sur les méthodes de tests de résistance, ainsi que sur la collecte, l'analyse et l'interprétation de ces données, ont été réactualisées afin d'orienter

1. OMS, 2012. *Plan mondial pour la gestion de la résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/vector_control/ivm/en/index.html.

les pays sur les moyens de faire en sorte que des mesures préventives sont prises et que les résistances sont gérées à temps.[1]

- L'impact de la résistance sur l'efficacité de la lutte antivectorielle est aussi une question cruciale : autant que possible, des programmes de suivi devraient tenter d'évaluer si les opérations de lutte vectorielle tendent à avoir moins d'impact dans les zones ayant des niveaux relativement élevés de résistance.

6.7.1 Considérations importantes pour une utilisation judicieuse des insecticides

- **Quel** insecticide (composé et formulation) appliquer ? Il faut choisir le produit le plus approprié, en tenant compte de la sécurité d'emploi, de l'efficacité, de l'acceptabilité, du coût et de la disponibilité.
- **Où appliquer l'insecticide ?** Il s'agit là de déterminer les zones géographiques prioritaires et les endroits spécifiques pour avoir un ciblage optimal et répondre aux exigences de couverture.
- **Quand appliquer l'insecticide ?** On se réfère ici au moment de l'année ou au moment de la journée, ainsi qu'aux exigences épidémiologiques, en tenant compte de la durée de l'effet et du temps requis pour couvrir la zone ciblée.
- **Comment appliquer l'insecticide ?** Quels sont les compétences et les équipements nécessaires pour garantir une application efficace et sûre ?

La Figure 6.1 illustre les facteurs à prendre en compte pour une utilisation judicieuse des insecticides.

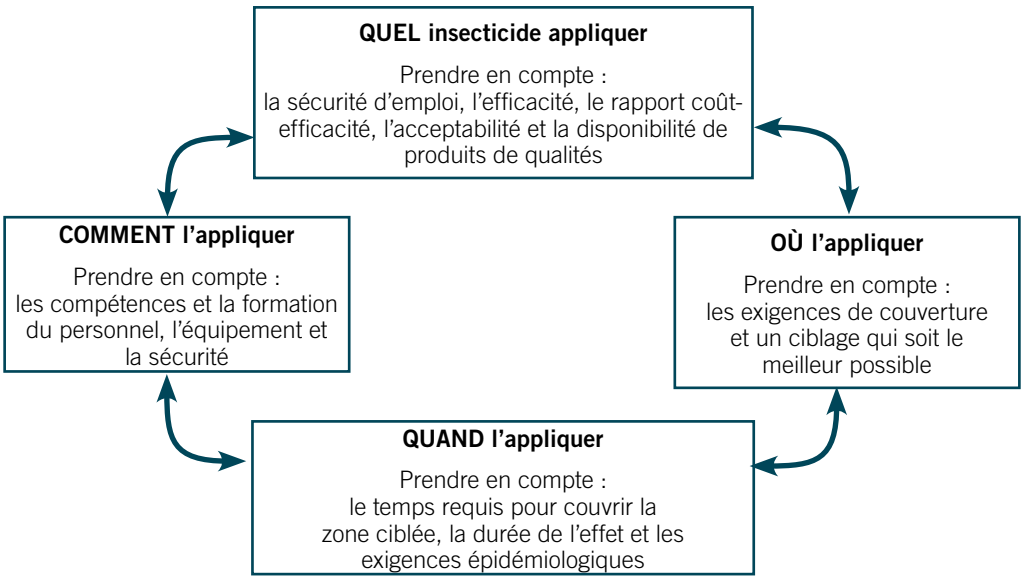


Figure 6.1 Différents facteurs pour une utilisation judicieuse des insecticides

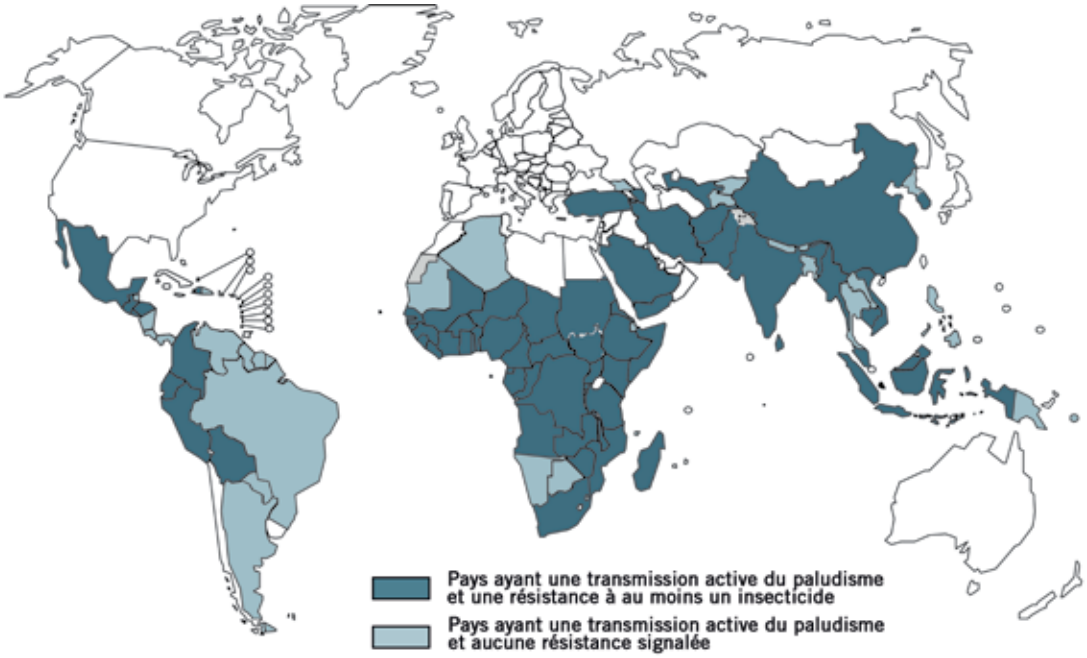
6.8 Situation actuelle de la résistance aux insecticides

Depuis 2009, année à partir de laquelle on a accordé une importance accrue au suivi de la résistance aux insecticides, de plus en plus de cas ont été signalés, notamment en Afrique. Dans la plupart des pays où des tests de sensibilité ont été faits, on a mis en évidence au moins un cas de résistance. Des cas de résistance ont été identifiés dans 64 pays où le paludisme se transmet

1. OMS, 2013. *Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/publications/en/.

activement, principalement aux pyréthrinoïdes (Figure 6.2). La résistance au DDT est également trouvée, et des rapports en nombre croissant font état de résistances aux organophosphorés et aux carbamates. Nous allons passer en revue la situation de la résistance aux insecticides telle qu'elle est connue.

Figure 6.2 Pays à transmission active du paludisme où l'on a identifié une résistance aux insecticides chez au moins l'un des principaux vecteurs[1]



Source : entomologistes de l'OMS dans les bureaux régionaux de l'Organisation et examen de la littérature par le Programme mondial de lutte antipaludique

1. Comprend les pays avec une sensibilité confirmée à tous les insecticides utilisés et les pays où il n'y a pas de tests de sensibilité en cours ou pour lesquels les résultats ne sont pas disponibles.
2. La carte n'indique pas l'extension de la résistance dans un pays ; il en résulte qu'un seul rapport de résistance suffit à marquer un pays comme ayant un problème de résistance.

Régions africaines. Des pays d'Afrique de l'Ouest et Centrale signalent depuis longtemps une fréquence élevée de résistance, notamment le Bénin, le Burkina Faso, le Cameroun, la Côte d'Ivoire et le Ghana. Ces pays ont une résistance étendue aux pyréthrinoïdes et au DDT ; la Côte d'Ivoire a également signalé une résistance aux carbamates et aux organophosphorés. L'Éthiopie a notifié des cas de résistance aux quatre classes d'insecticides, dont une résistance généralisée au DDT et une fréquence croissante de la résistance aux pyréthrinoïdes. En Afrique de l'Est, d'autres endroits de résistance généralisée aux pyréthrinoïdes et au DDT se trouvent en Ouganda et aux zones frontalières avec le Kenya et la République-Unie de Tanzanie. En Afrique australe, le Mozambique et l'Afrique du Sud ont signalé un large spectre de résistance ces dix dernières années. Une fréquence élevée de la résistance métabolique aux pyréthrinoïdes a désormais aussi été rapportée au Malawi et en Zambie.

Région de l'Asie du Sud-Est. La résistance au DDT y est étendue. Des poches de résistance aux pyréthrinoïdes et aux organophosphorés (malathion) ont été trouvées en Inde. L'Indonésie et Myanmar signalent également une résistance aux pyréthrinoïdes ; au Myanmar, il y a également une résistance confirmée au DDT et aux organophosphorés.

Région des Amériques. On a signalé dans cette région des cas de résistance aux pyréthrinoïdes, aux carbamates et aux organophosphorés. En Colombie, le phénomène étendu de résistance au

1. OMS, 2012. *Plan mondial pour la gestion de la résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, disponible à l'adresse http://www.who.int/malaria/vector_control/ivm/gpirm/en/index.html.

milieu des années 2000 a été inversé dans de nombreuses localités en changeant d'insecticide et en supprimant ainsi la pression sélective. La résistance subsiste néanmoins dans d'autres localités. On a fait état de résistance en Bolivie (pyréthrinoïdes et carbamates), en Équateur (pyréthrinoïdes et organophosphorés), au Honduras (pyréthrinoïdes) et au Pérou (pyréthrinoïdes, carbamates et organophosphorés).

Région du Pacifique Occidental. La résistance aux pyréthrinoïdes et au DDT a été signalée pour des vecteurs du paludisme d'importance locale dans les régions côtières du Viet Nam. On observe également une résistance aux pyréthrinoïdes en Chine et au DDT au Cambodge et en Malaisie.

Région de la Méditerranée Orientale. On a signalé une résistance aux pyréthrinoïdes dans plusieurs pays de la Région, notamment en Afghanistan, en République Islamique d'Iran et à Oman. En outre, il y a une résistance au DDT au Yémen. Ces données nécessitent d'être confirmées. La Somalie et le Soudan ont signalé des cas de résistance aux quatre classes d'insecticides, notamment une résistance étendue au DDT et une fréquence croissante de la résistance aux pyréthrinoïdes.

Région Européenne. Des cas de résistance ont été signalés pour les quatre classes d'insecticides en Turquie, au DDT en Azerbaïdjan, et aux carbamates ainsi qu'aux organophosphorés en Ouzbékistan.

Exercise 6.1

Tests de sensibilité sur les adultes. En binômes, vous allez pratiquer un test de sensibilité sur des moustiques adultes, tel que décrit à l'annexe 4.

Exercise 6.2

Tests de sensibilité sur les larves. Vous allez pratiquer un test sur des larves, tel que décrit à l'annexe 5.

Exercise 6.3

Test biologique sur les MID. En binômes, vous allez tester l'efficacité des pyréthrinoïdes sur des moustiques, de la façon décrite à l'annexe 7.

UNITÉ D'APPRENTISSAGE 7

Lutte antivectorielle selon les strates épidémiologiques du paludisme

Objectifs d'apprentissage :
À la fin de l'unité, les participants devraient pouvoir...

- décrire la notion de stratification
- décrire les strates du paludisme sur la base de l'intensité de la transmission
- décrire les caractéristiques des principales strates éco-épidémiologiques du paludisme
- sélectionner les stratégies de lutte antivectorielle efficaces selon les strates éco-épidémiologiques du paludisme

Introduction

Le paludisme est une maladie sévissant en foyers, avec une distribution variant considérablement d'un endroit à l'autre, même à l'intérieur de limites relativement peu étendues comme celles des districts. Par conséquent, la situation du paludisme varie dans tout le territoire national en raison de facteurs administratifs, opérationnels, techniques et financiers, ainsi que de l'hétérogénéité de l'épidémiologie dans les différentes zones. On peut étudier cette variabilité en lien avec l'efficacité potentielle et la pérennité des interventions disponibles, ce qui permet d'identifier un nombre limité de types de situations palustres. Celles-ci se caractérisent par les facteurs prédominants de nature démographique, parasitologique, entomologique, écologique, sociale et politico-administrative. La répartition géographique de ces types de situations constitue la base de stratification du paludisme, à partir de laquelle le choix des interventions de lutte sera fait.

7.1 La notion de stratification

La stratification est le processus consistant à regrouper des zones, des populations ou des situations montrant une relative ressemblance pour un certain nombre de caractéristiques spécifiées, appelées variables, qui les distingue d'autres zones, populations ou situations dissemblables pour le même groupe de caractéristiques. Ce processus définit donc des strates partageant des caractéristiques épidémiologiques, géographiques, socio-économiques et écologiques similaires. Les variables définissant les différentes strates pouvant être regroupées selon les catégories ou critères suivants :

- Macro-écologie et social (socio-économique) : population, données géographiques (climat, latitude), types d'installations humaines et mouvements de population, groupes ethniques, principales activités économiques et de développement, aspects culturels et socio-politiques.
- Épidémiologie : espèces parasitaires, espèces vectrices et comportement, contact entre l'hôte humain et le vecteur, niveau d'endémicité, données sur la morbidité et la mortalité, risque épidémique, résistance des parasites aux médicaments, résistance des vecteurs aux insecticides.
- Micro-écologie : présence et localisation des gîtes larvaires permanents ou temporaires, production agricole assurant des conditions favorables aux vecteurs.
- Anthropologie : déficience en G6PD signant la présence de la drépanocytose.
- Organisation des services de santé : couverture des services généraux, des soins de santé primaires, des soins liés au paludisme, structure de l'appui logistique et administratif.
- Activités spécifiques contre le paludisme : interventions actuelles et antérieures, résultats et impact des interventions, raisons du succès ou de l'échec, coût des interventions, plans d'amélioration et d'extension des opérations.

7.2 Stratification du paludisme selon le risque

Le risque palustre peut être stratifié en trois grandes catégories dépendant du degré de transmission :

- zone indemne de paludisme : pas de transmission du paludisme ;
- zone de paludisme instable (épidémique) : la transmission est variable et elle est soumise à des fluctuations saisonnières et annuelles marquées. En conséquence, il y a un faible niveau d'immunité collective dans la population ;

- zone de paludisme stable (endémique) : la transmission est en général élevée et n'est pas soumise à des fluctuations annuelles. Il en résulte que la population a un niveau élevé d'immunité.

Il n'est pas toujours facile de faire la distinction entre paludisme stable et instable. À l'intérieur de chacune de ces catégories, on peut affiner la classification. Par exemple, dans les zones de paludisme instable (épidémiques), on peut observer deux types de transmission :

- une transmission saisonnière marquée mais intense, selon un schéma plus ou moins prévisible chaque année associé à des explosions épidémiques cycliques tous les 5 à 10 ans ;
- une transmission saisonnière marquée qui est très basse voir inexistante pendant plusieurs années. Ces régions sont également touchées à certains moments par des épidémies spectaculaires et dévastatrices imputables à des modifications environnementales ou météorologiques.

Concernant le paludisme stable, on peut observer dans certaines zones une variation saisonnière marquée de l'intensité de la transmission, alors que d'autres peuvent avoir un niveau de transmission plus uniforme tout au long de l'année.

7.3 Stratification selon les indices spléniques et plasmodiques

L'endémicité du paludisme a été classiquement répartie entre quatre catégories d'intensité, définies principalement par la prévalence à un moment donné d'une parasitémie et d'une splénomégalie palpable dans la population, généralement chez les enfants âgés de 2 à 9 ans (Tableau 7.1).

Tableau 7.1 Classification des niveaux d'endémicité du paludisme

Critère	Hypoendémicité	Mésoendémicité	Hyperendémicité	Holoendémicité
Indice splénique chez les 2–9 ans[1]	0 – 10 %	11 – 50 %	Constamment> 50 – 75 % *	Constamment> 75 % **
Indice plasmodique chez les 2–9 ans[1]	0 – 10 %	11 – 50 %	Constamment> 50 %	Constamment> 75 % chez les nourrissons âgés de 0 à 11 mois
Stabilité[2]	Instable	Instable	Stable	Stable
Taux d'inoculation entomologique[3]	<0,25	0,25 – 10	11 – 140	> 140

* Également élevé chez l'adulte (> 25 %) ; ** Mais faible chez l'adulte (<25 %)

Les quatre catégories d'intensité de la transmission sont les suivantes :

- Zones d'hypoendémicité : très peu de transmission et très faible risque d'infection pour les populations ;
- Zones de mésoendémicité : typiquement les villages ruraux principalement dans les régions subtropicales avec des intensités variables de la transmission et une prédisposition aux épidémies fréquentes ;
- Zones d'hyperendémicité : transmission saisonnière intense du paludisme avec la maladie présente dans toutes les tranches d'âge ;

1. OMS, 1964. *Terminologie du paludisme et de l'éradication du paludisme : rapport d'un comité de rédaction*. Genève, Organisation mondiale de la Santé (1963 pour l'original anglais), http://whqlibdoc.who.int/publications/9241540141.pdf.

2. OMS, 2006. *Systems for the early detection of malaria epidemics en Africa – An analysis of current practices and future priorities.* WHO/HTM/MAL/2006.1115. Genève, Organisation mondial de la Santé.

3. Beier JC, Killeen GF & Githure JI (1999). Short report : entomologic inoculation rates and *Plasmodium falciparum* malaria prevalence in Africa. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 61 : 109 113.

- Zones d'holoendémicité : transmission élevée tout au long de l'année avec un degré élevé d'immunité dans la population, particulièrement chez les adultes.

Les taux d'inoculation entomologique et la capacité vectorielle sont également utiles pour exprimer le risque d'infection palustre et faire la distinction entre les différents niveaux d'endémicité (Tableau 7.1).

7.4 Stratification selon les types éco-épidémiologiques

Il est essentiel de déterminer les mesures de lutte antivectorielle susceptibles de fonctionner au mieux selon les circonstances. Ce processus est orienté par la reconnaissance des facteurs éco-épidémiologiques et socio-économiques indiquant la bionomie particulière des vecteurs, les modes de contact homme-vecteur et la faisabilité opérationnelle de certaines mesures de lutte. L'épidémiologie du paludisme est désormais répartie selon divers écotypes pour mieux comprendre la dynamique de la transmission, les parasites et les vecteurs, ainsi que l'écologie humaine.

On distingue actuellement six types éco-épidémiologiques principaux survenant dans les écosystèmes stables. Ces écotypes ne représentent pas nécessairement toutes les variantes possibles de l'épidémiologie du paludisme dans le monde. Au contraire, dans certaines situations, la stratification la plus pertinente pourra nécessiter de faire la distinction entre les subdivisions de ces écotypes. De plus, ces écotypes ne sont pas mutuellement exclusifs et l'on observe fréquemment des situations mixtes (par exemple les forêts et les limites d'altitude, la savane sèche avec des galeries forestières le long des cours d'eau). Nous allons détailler dans les sections suivantes les types éco-épidémiologiques proposés que nous allons utiliser pour décrire la bionomie des vecteurs, la situation de la transmission et les mesures de lutte antivectorielle adaptées.

7.4.1 Savane africaine

Cet écotype s'étend du désert du Sahara à la zone équatoriale humide africaine et se subdivise en trois types agroclimatiques principaux :

- la « zone pastorale » du Sahel, se transformant progressivement en savane sèche en allant vers le sud ;
- les ceintures occidentales et centrales de l'Afrique qui deviennent progressivement plus humides et évoluent vers la forêt ombrophile équatoriale ;
- les savanes étendues, couvrant une grande partie de l'Afrique outh.

Vecteurs du paludisme et transmission : *A. funestus* et le complexe *A. gambiae*, deux des vecteurs les plus efficaces au monde, sont présents dans toutes les savanes. *A. funestus* se reproduit dans les marais herbeux, tandis que les membres du complexe *A. gambiae* se reproduisent à la faveur de la moindre accumulation d'eau douce temporaire, qu'il s'agisse d'eau de pluie, d'irrigation, de trous, d'empreintes de pas ou d'ornières. Les deux membres les plus importants du complexe *A. gambiae* sont *A. arabiensis*, dont les femelles se nourrissent abondamment du sang du bétail ou des êtres humains qu'ils soient à l'intérieur ou à l'extérieur, et *A. gambiae s.s.*, dont les femelles préfèrent piquer l'être humain à l'intérieur. D'autres espèces sont susceptibles d'être des vecteurs importants à un niveau local : *A. nili*, A. *coustani* et *A. pharoensis*.

Classiquement, la transmission du paludisme est intense, régulière, longue, permanente ou saisonnière selon le régime de précipitations et la présence de collections d'eau auprès des communautés humaines.

Mesures de lutte antivectorielle : Les MII/MID sont la mesure de choix en Afrique tropicale. On peut y associer les PID pour accélérer et optimiser la réduction de la transmission.

7.4.2 Plaines et vallées en dehors de l'Afrique

Cet écotype se retrouve en Asie du Sud, en Amérique centrale, en Amérique du Sud et en Chine.

Vecteurs du paludisme et transmission : en Asie du Sud, les principaux vecteurs sont *A. culicifacies* (dans les plaines), *A. fluviatilis* et *A. minimus* (dans les vallées fluviales) et A. stephensi (dans les plaines arides ou semi-arides et dans les villes). *A. annularis*, *A. philippinensis* et *A. aconitus* (dans les zones côtières orientales) sont considérés comme des vecteurs secondaires. *A. sinensis* et *A. anthropophagus* sont les vecteurs du paludisme en Chine. *A. darlingi* et *A. pseudopunctipennis* sont les principaux vecteurs en Amérique centrale et en Amérique du Sud.

La transmission du paludisme est très intense dans les contreforts des montagnes et les vallées de moyenne altitude. Dans les plaines et les vallées fluviales, elle est souvent saisonnière ou, dans les zones tropicales humides, permanente avec des pics saisonniers marqués en rapport avec les cycles agricoles et en fonction de la présence d'eaux de surface, de la température, de l'humidité, des variations climatiques et d'autres perturbations physiques. On retrouve le paludisme principalement sous forme mésoendémique ou hypoendémique. *P. vivax* est l'espèce prédominante, bien qu'on observe souvent une transmission de *P. falciparum*.

Mesures de lutte antivectorielle : dans les plaines et les vallées à paludisme mésoendémique ou hypoendémique, on peut cibler l'utilisation des MII/MID sur les groupes et communautés à haut risque. En Amérique centrale et en Amérique du Sud, les MII/MID seraient un choix rationnel sur de vastes zones où les populations de moustiques impliqués dans la transmission sont endophages et piquent en fin de nuit, comme *A. darlingi*, *A. nuneztovari* et *A. marajoara*. Des épidémies de paludisme sont susceptibles de se produire dans les zones arides, en altitude ou après l'arrivée massive de personnes déplacées ou de réfugiés en provenance de zones de faible endémicité. Des systèmes opérationnels d'alerte ou de détection précoce des épidémies sont alors requis.

7.4.3 Forêts et lisières des forêts

On trouve cet écotype dans le sud-ouest du Pacifique, en Asie du Sud-Est, en Amérique du Sud et en Afrique. On associe souvent le risque paludique aux zones forestières.

Vecteurs du paludisme et transmission : les forêts et leurs lisières abritent des vecteurs très efficaces, notamment *A. gambiae s.s.*, *A. funestus* et *A. moucheti* en Afrique tropicale ; *A. darlingi*, *A. albitasis*, *A. marajoara* et *A. nuneztovari* en Amérique du Sud et *A. dirus*, *A. fluviatilis* et *A. minimus* en Asie du Sud-Est. Ces vecteurs sont attirés de préférence par l'homme dans ses abris mais, comme ils sont exophiles, ils évitent les effets rémanents des insecticides susceptibles d'avoir été pulvérisés sur les murs ou les toits. La transmission est donc plus intense et plus difficile à juguler dans les installations forestières temporaires ou nouvelles que sur les terres agricoles des savanes adjacentes. *P. falciparum* est l'espèce prédominante.

Conséquence de la grande diversité des installations et activités humaines sur ces zones : on observe des situations épidémiologiques variées qui pourront nécessiter des approches différentes pour lutter contre le paludisme. Il pourra être nécessaire d'établir des subdivisions en fonction des types d'installations et d'activités humaines comme suit :

- *Populations indigènes de chasseurs et de cueilleurs*
- *Activités agricoles dans les zones forestières*
- *Récoltes de produits forestiers*
- *Exploitations minières de l'or et des pierres précieuses*
- *Postes de la police ou de l'armée placés dans les zones forestières*
- *Activités illégales et groupes rebelles*
- *Travailleurs des projets de développement économique*
- *Postes frontaliers*

Mesures de lutte antivectorielle : on peut utiliser les MII/MID dans les campements relativement stables. Les PID sont relativement inefficaces compte tenu des habitudes de repos des vecteurs (exophilie), des abris temporaires incomplets, qui souvent n'ont pas de murs sur lesquels pulvériser les insecticides, et de la mobilité de ces installations qui ne sont pas signalées et restent inaccessibles.

7.4.4 Zones d'altitude et en marge des déserts

Cet écotype couvre les zones limites de transmission situées entre les régions de forte endémicité et les déserts, ou les zones à haute altitude, où il n'y a aucune transmission. On trouve des zones limites d'altitude en Afrique, en Asie du Sud-Est, dans le sud-ouest du Pacifique et en Amérique du Sud, tandis que les marges des déserts se situent dans le Sahel, en Afrique australe et en Asie occidentale.

Vecteurs du paludisme et transmission : les vecteurs dans les zones limites d'altitude sont *A. fluviatilis* et *A. minimus* en Asie du Sud et en Asie du Sud-Est et *A. pseudopunctipennis* en Amérique centrale et en Amérique du Sud. Les marges des déserts partagent avec les savanes ou les plaines voisines les vecteurs qui, à l'instar d'*A. arabiensis* par exemple, s'adaptent mieux à la sècheresse. Les vecteurs dans les contreforts des montagnes et les vallées de moyenne altitude sont plus efficaces qu'en plaine en Asie du Sud et en Asie du Sud-Est (par exemple *A. fluviatilis* et *A. minimus*), tandis qu'on observe l'inverse en Amérique centrale et en Amérique du Sud (*A. pseudopunctipennis*). Dans les hautes terres et les marges des déserts en Afrique, *P. falciparum* est l'espèce dominante alors qu'ailleurs, c'est en général *P. vivax*.

Dans les zones limites d'altitude, la température est le principal déterminant du potentiel de transmission tandis que, dans les marges des déserts, c'est la présence d'eaux de surface et l'humidité relative qui jouent un rôle majeur. Dans ces régions, la transmission du paludisme se réduit à une brève saison (dont la durée diminue avec l'altitude ou l'aridité) et on observe des zones où elle ne survient que rarement pendant plusieurs années, lors de périodes de chaleur exceptionnellement longues ou des précipitations abondantes. Ce sont donc des zones sujettes aux épidémies de paludisme.

Mesures de lutte antivectorielle : dans nombre de ces régions, la lutte antipaludique continue de dépendre dans une large mesure de l'application systématique des PID. On peut y promouvoir l'utilisation des MII ciblée sur les populations à risque. Les traitements larvicides peuvent s'avérer

efficaces, à condition que les gîtes larvaires soient peu nombreux, fixes et localisables. Si les ressources le permettent et lorsqu'il y a une probabilité que la transmission se poursuive pendant quelques mois, des mesures de lutte sélectives et ciblées, comme les PID, peuvent être organisées.

7.4.5 Zones côtières et humides

Les zones côtières offrent des conditions particulièrement propices à la transmission du paludisme. Des espèces vectrices efficaces prolifèrent dans les eaux saumâtres et les habitats marécageux, tandis que les zones côtières concentrent souvent une grande diversité d'activités humaines, parmi lesquelles le tourisme et les projets de développement.

Vecteurs du paludisme et transmission : dans cet écotype, les vecteurs sont le complexe *A. subpictus* et le complexe *A. sundaicus* en Asie du Sud-Est, et le groupe *A. punctulatus* dans la région de l'Australasie. En Afrique tropicale, les espèces côtières *A. melas* en Afrique de l'Ouest et *A. merus* en Afrique de l'Est sont de moindres vecteurs que les espèces d'eau douce comme *A. arabiensis* et *A. gambiae* dans toute la savane tropicale africaine. En Amérique centrale et en Amérique du Sud, certains vecteurs efficaces sont associés aux habitats côtiers d'eau saumâtre, notamment A. aquasalis et A. albimanus en Amérique du Sud, et aussi *A. albimanus* dans certaines régions d'Amérique centrale.

Dans les zones côtières et humides, la transmission du paludisme est influencée par les migrations de populations en provenance de zones rurales d'endémie vers les villes et les zones côtières. Les modifications de l'utilisation des terres ou les perturbations de l'environnement par l'homme peuvent augmenter considérablement le risque de transmission palustre dans les zones côtières, avec des accumulations d'eau stagnante et saumâtre et, par conséquent un accroissement de la population de vecteurs. De même, certaines activités humaines, comme l'installation de zones résidentielles à proximité immédiate de marais tropicaux ou de lagunes d'eau saumâtre, de criques, de cours d'eau, etc., influent sur l'incidence du paludisme dans les zones côtières et humides.

Mesures de lutte antivectorielle : les mesures de choix incluent les MII/MID, les PID limitées et une réduction de la densité larvaire au moyen de traitements larvicides ou de méthodes physiques (environnementales). La connaissance du comportement des vecteurs est essentielle, certains d'entre eux étant souvent exophiles et piquant en début de nuit, ce qui réduit l'efficacité des PID comme des MII.

7.4.6 Zones urbaines et péri-urbaines

Le paludisme urbain survient en Afrique, en Asie du Sud, en Amérique du Sud et se superpose également à tous les autres écotypes.

Vecteurs du paludisme et transmission : le paludisme en zone urbaine peut résulter de l'une des situations suivantes :

- existence, à l'intérieur même des limites de la ville ou en périphérie, de terrains gardant les caractéristiques écologiques des zones rurales propices à la transmission du paludisme. Il 'agit là d'une extension du paludisme environnant, transmis par les mêmes vecteurs que dans les zones rurales adjacentes ;
- création par la ville de conditions favorables à l'établissement d'un vecteur efficace ;

- utilisation dans les villes du moindre terrain inoccupé pour cultiver des légumes, voire du riz, généralement au moyen d'un système d'irrigation improvisé, sans évacuation correcte, ce qui est favorable à la création de gîtes larvaires ;
- existence d'un paludisme urbain stricto sensu transmis en ville par des vecteurs qui se sont adaptés à cet environnement, comme *i) A. stephensi* dans de nombreuses villes indiennes ; *ii) A. claviger* dans des villes d'Israël, du Liban et de la République arabe syrienne et ; *iii) A. arabiensis* dans les villes de l'Île Maurice et de la Réunion.

En général, le paludisme urbain en Afrique s'associe à un risque plus faible que le paludisme de la savane et le centre des villes est souvent exempt de toute transmission. En revanche, dans le sous-continent indien, il s'associe à un risque plus élevé que le paludisme dans les zones rurales adjacentes.

Mesures de lutte antivectorielle : On peut avoir recours aux MII/MID et aux PID sélectives (focales). Les traitements larvicides sont particulièrement indiqués dans les zones urbaines, où les gîtes larvaires sont peu nombreux, fixes et localisables. D'autres mesures ont trait à l'aménagement de l'environnement, avec par exemple l'amélioration de l'évacuation des eaux, la protection des réservoirs d'eau aériens contre *A. stephensi*, ainsi que l'amélioration des maisons pour les rendre inaccessibles aux moustiques.

En plus des six écotypes dans des écosystèmes stables, il existe dans les situations avec évolution rapide du développement deux autres types éco-épidémiologiques que nous allons décrire ci-après.

7.4.7 Projets de développement agricole

Cet écotype est lié à l'établissement de systèmes d'agriculture irriguée semblant générer une forte charge de morbidité palustre du fait des interactions entre des facteurs bio-écologiques, socio économiques et politiques : fortes densités de vecteurs, souches résistantes de parasites comme de vecteurs, entassement de la population et migrations, pauvreté, ignorance, infrastructures insuffisantes, pénurie de personnel formé pour assurer les soins préventifs et curatifs et troubles politiques violents.

Normalement, les vecteurs du paludisme dans les projets de développement sont identiques à ceux des zones adjacentes bien que, dans certains cas, on ait pu observer des différences dans la répartition des espèces. En revanche, la transmission du paludisme peut varier considérablement en raison des modifications locales de l'environnement et de la répartition des populations dues au projet. Les principales mesures de lutte antivectorielle sont alors les MII/MID et les PID.

7.4.8 Troubles sociopolitiques (urgences humanitaires)

Les facteurs spécifiques pouvant favoriser l'augmentation du poids du paludisme dans les situations d'urgence complexes comprennent l'effondrement des services de santé, la concentration de réfugiés non immunisés dans des zones de risque palustre, la malnutrition, l'implantation de camps de réfugiés sur des terrains marginaux sujets aux inondations ou propices à la reproduction des vecteurs, ainsi que les problèmes pour accéder aux populations

déplacées et leur fournir des médicaments. Avec l'évolution des conflits, la situation passe en général de la phase d'urgence aiguë à celle de post-urgence. La phase aiguë se caractérise par le déplacement soudain de la population fuyant les zones de troubles et un fort taux de mortalité ; elle ne dure souvent que de quelques semaines à quelques mois. En phase de post-urgence, alors que les réfugiés se réinstallent, la situation se stabilise et la situation sanitaire est en général maîtrisée et les besoins fondamentaux satisfaits.

Dans les situations d'urgence complexe, les vecteurs du paludisme sont souvent identiques à ceux des zones voisines. Le choix des interventions dépendra de facteurs locaux, comme les types d'abris disponibles, le comportement humain et celui du vecteur. Dans ce type de situations, la priorité va au diagnostic rapide et au traitement efficace. En phase aiguë et si c'est faisable, on peut compléter l'action par des MII/MID destinées à couvrir toute la population à risque. Les PID ne conviennent pas dans les situations où les abris sont provisoires et ne disposent pas de surfaces faciles à traiter. Les MID comme les PID ont un rôle à jouer en phase de post-urgence, lorsque la situation se stabilise et que la population dispose d'abris dont les surfaces sont facilement traitables. Bien qu'il n'y ait pas de recommandation officielle de l'OMS à ce sujet, des bâches et revêtements en plastique imprégnée d'insecticide ont aussi été utilisés en phase aiguë, là où les MID ou les PID ne sont pas adaptés.

Exercise 7.1

En petits groupes, répondez aux questions suivantes :

1. *Pour des situations de i) paludisme stable et de ii) paludisme instable, expliquez quels sont les impacts des facteurs entomologiques et environnementaux sur : la prévalence du parasite, l'immunité des populations, la répartition de l'infection, de la maladie et de la mortalité selon l'âge ? Comparez et faites ressortir les différences.*
2. *Expliquez pourquoi il est difficile de diminuer la transmission dans les zones de paludisme stable par rapport aux zones de paludisme instable.*
3. *Quels sont les facteurs influant sur la densité vectorielle en milieu urbain ?*

Meet in plenary to discuss the conclusions with the rest of the class.

Exercise 7.2

En petits groupes, déterminez les méthodes qui conviennent le mieux pour la lutte antivectorielle dans chacune des strates suivantes :

1. paludisme instable
2. paludisme stable
3. milieu urbain
4. projets de développement agricole
5. troubles sociopolitiques (urgences humanitaires)

Dressez la liste des résultats et justifiez votre sélection sur un tableau. Présentez vos résultats en séance plénière.

Discussion : l'instructeur dirigera une discussion finale sur les options de la lutte antivectorielle en rapport avec les strates épidémiologiques.

ANNEXE 1

Protocole pour l'élevage des moustiques

A1.1 Introduction

Il est important pour le travail entomologique de laboratoire d'élever et de conserver des moustiques dans des conditions adaptées à des insectes. Dans la description qui suit des exigences et des méthodes spécifiques pour l'élevage des moustiques, il est supposé que l'insectarium bénéficie d'une température régulée par thermostat (chauffage/climatisation en fonction des besoins) et d'un contrôle de l'humidité.

A1.2 Équipement pour la manipulation des moustiques adultes

A1.2.1 Cages

Une grande variété de cages a été mise au point pour l'élevage des moustiques adultes. Le facteur le plus important est la taille de la cage par rapport au nombre de moustiques qu'elle héberge, et tout particulièrement la surface de l'espace de repos disponible par moustique. Cette densité influe sur l'accouplement, l'alimentation et la longévité. Une surface de repos verticale de 1,8 cm^2 par moustique semble préférable pour de nombreux moustiques. L'autre facteur lié à la taille est la facilité avec laquelle les moustiques peuvent s'accoupler. Nombre d'espèces ne s'accoupleront pas dans des cages dont les dimensions sont inférieures à 30 x 30 x 30 cm. En effet, certaines espèces fraîchement prélevées sur le terrain ne s'accoupleront avec succès que dans des cages de 1 x 1 x 1 m ou plus. Les espèces qui ne s'accouplent pas du tout en cage de laboratoire peuvent devoir être maintenues par des procédures d'accouplement artificielles.

Les moustiques *Aedes*, *Culex* et *Anopheles* peuvent être élevés en colonies dans des cages de 30 x 30 x 30 cm. Les *Toxorhynchites* et certaines espèces d'anophèles sont habituellement placés dans des cages de 1 x 1 x 1 m et la même taille de cage est utilisée occasionnellement pour maintenir de grandes colonies de moustiques appartenant à d'autres genres.

Les cages comprennent habituellement un cadre en bois ou en métal, recouvert d'une toile en coton, en matière synthétique ou en aluminium. Le maillage devra être tel que les trous ne dépassent pas 1,1 mm de côté ; les moustiques élevés en laboratoire peuvent être petits en raison de la surpopulation ou de la sous-nutrition des stades larvaires et les mâles ayant grandi dans ces conditions peuvent se faufiler à travers les mailles de dimension supérieure. L'avant de la cage devra être équipé d'un manchon en tissu suffisamment large pour permettre l'introduction de petits bols (12 cm de diamètre) destinés à la ponte. Comme le coton moisit facilement, une toile synthétique est généralement préférable. La base et l'arrière de la cage peuvent être en matière plastique laminée, une base rigide étant préférable à une base grillagée car elle devra supporter les bols contenant les nymphes ou l'eau pour la ponte (Figure An1.1).

Figure An1.1 **Cages de différentes tailles et de différents types**

A1.2.2 Alimentation des adultes

L'eau destinée aux adultes peut être fournie dans de petits bols de 12 cm de diamètre ou par le biais de tampons d'ouate imbibés d'eau, placés sur le dessus de la cage. Il est également possible de fournir aux moustiques du sucre pour prolonger la vie des mâles et soutenir les femelles entre deux repas de sang. Une solution de sucrose domestique à 10 % constitue une forme pratique d'aliment hydrocarboné. Des tampons d'ouate imbibés de cette solution seront pressés pour éliminer l'excès de liquide et placés sur le dessus de la cage. Une autre solution consiste à introduire dans les cages des mèches de coton trempant dans des petits pots remplis d'une solution de sucrose à 10 %. Parmi les autres sources de sucre utilisables figurent les tranches de pomme et les grains de raisin frais ou sec placés sur le haut de la cage, mais la toile ou le grillage sera alors probablement sali.

Les repas de sang sont nécessaires à la production d'œufs pour toutes les espèces sauf quelques-unes qui sont dites autogènes. Les colonies sont habituellement nourries deux fois par semaine avec du sang. Les dispositifs de gorgement sur membrane sont préférables et peuvent être utilisés pour le maintien de routine de la colonie (Figure An1.2). Lors de l'installation d'un insectarium ou lorsque les moustiques ne s'alimentent pas facilement par gorgement sur membrane, on envisagera de placer sur la cage un animal anesthésié. Des hamsters, des souris, des rats, des poulets ou des lapins peuvent servir de sources de sang. Les mammifères sont habituellement rasés sur le flan avec une tondeuse avant le gorgement (Figure An1.2). Les espèces de moustiques difficiles à élever peuvent devoir être nourries sur le bras de l'expérimentateur. La Figure An1.3

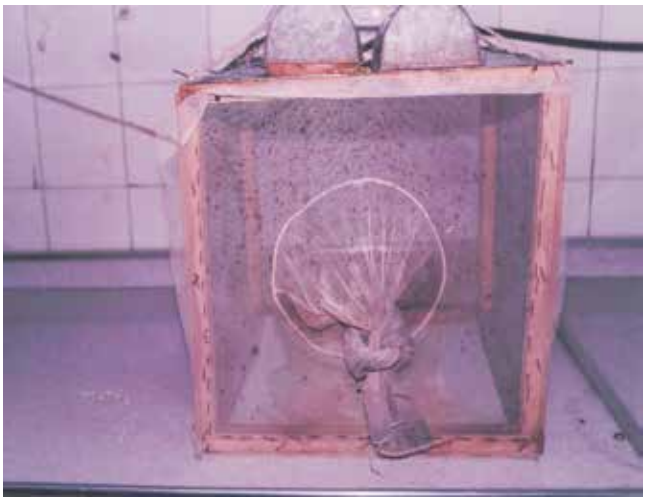


Figure An1.2 Gorgement de moustiques sur des hamsters

Figure An1.3 Dispositif pour le gorgement artificiel des moustiques

montre le dispositif permettant le gorgement artificiel des moustiques.

Sur le terrain, les moustiques en petit nombre sont souvent enfermés dans des gobelets en matière plastique ou en carton, dont l'extrémité est fermée par une toile moustiquaire (Figure An1.4).

Figure An1.4 Gobelets ou pots à glace en matière plastique ou en carton, fermés par un couvercle en voile

Les moustiques adultes sont transférés d'une cage dans une autre au moyen d'un aspirateur ou d'un dispositif d'aspiration (Figure An1.5). Avec les dispositifs d'aspiration par la bouche, il existe un risque d'inhaler des écailles de moustiques, sources d'irritation. Les dispositifs d'aspiration mécaniques utilisant un aspirateur portable évitent ce problème.

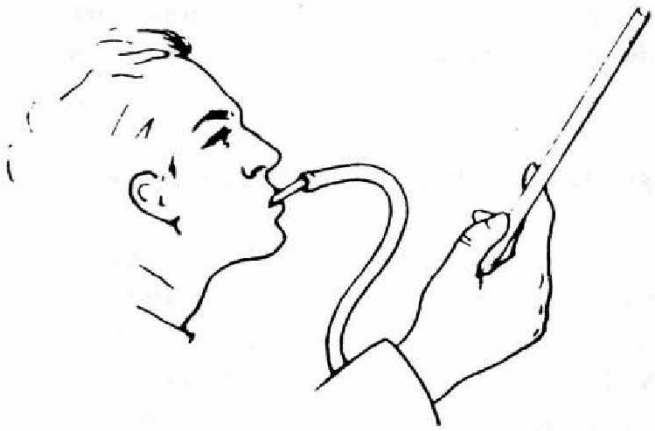


Figure An1.5 Tubes d'aspiration à moustiques utilisés pour collecter et transférer les moustiques

A1.2.3 Collecte des œufs

Les œufs des moustiques *Anopheles* sont rarement résistants à la sécheresse et sont déposés individuellement à la surface de l'eau, habituellement fraîche, placée dans un bol. On installe parfois du papier filtre à l'intérieur du bol pour empêcher les œufs de coller aux parois ou pour faciliter leur transfert. Les œufs peuvent être transportés sur le papier filtre humide ; toutefois, à la température de l'insectarium, ils écloront en quelques jours (il est parfois nécessaire de les refroidir pour différer l'éclosion).

A1.2.4 Procédures d'élevage des larves

Les larves sont maintenues dans des plateaux ou des bols. Ces ustensiles peuvent avoir des dimensions et des formes très diverses. Pour disposer d'une capacité maximale sur les gradins ou les rayonnages, les récipients de forme rectangulaire sont préférables à ceux de forme arrondie. Les plateaux émaillés blancs ou les plateaux en polyéthylène ou polycarbonate ont été largement

utilisés pour l'élevage. Les plateaux de 30 x 25 x 5 cm environ se prêtent à un remplissage avec de l'eau sur une profondeur de 4 cm environ, pouvant ainsi recevoir 300 larves par plateau. Les larves sont manipulées et transférées à l'aide de pipettes en verre, équipées de tétines ou de poires en caoutchouc, ou de pipettes souples en plastique.

Pour nourrir les larves, on a fait appel à une très grande variété de matières, allant des déjections de cochon d'Inde à des nutriments chimiques bien définis. Les biscuits pour chiens industriels ont été très souvent adoptés et les comprimés de levure, la poudre de foie, le sang séché, les céréales pour nourrisson (Farex, par exemple), les copeaux de nourriture pour poissons et des mélanges de deux ou plus de ces matières sont d'un emploi courant. Il est souvent nécessaire d'expérimenter des régimes alimentaires différents lorsqu'on a affaire à des souches ou à des espèces variables. Si l'on introduit trop de nourriture dans le plateau d'élevage des larves, il peut se former de l'écume en surface empêchant les larves de respirer et causant leur mort. On ajoute parfois de petites quantités d'herbes, de gazon ou d'autres plantes dans l'eau d'élevage des anophèles.

Si les larves sont trop nombreuses dans le plateau, la nymphose est retardée et les adultes résultants sont plus petits et plus faibles. Cela peut avoir des conséquences importantes pour les études expérimentales, car par exemple, de tels moustiques prennent des repas de sang moins importants.

A1.2.5 Manipulation des nymphes

Les nymphes doivent être retirées des plateaux d'élevage larvaire peu de temps après leur formation, faute de quoi les formes adultes pourraient émerger et s'échapper dans le local d'élevage. Leur récolte s'effectue habituellement de jour, avec un transfert dans de l'eau fraîche avant de les introduire dans les cages accueillant les moustiques adultes. On peut utiliser pour cela des pipettes équipées de tétines, du même type que celles servant à la manipulation des larves, ou encore de petits filets.

Il est parfois possible de séparer des nymphes en grand nombre des larves en tamisant le contenu d'un plateau d'élevage et en le plaçant dans de l'eau glacée. Les larves coulent immédiatement tandis que les nymphes flottent en surface et peuvent être récupérées en écumant cette surface. Divers dispositifs mécaniques utilisables pour séparer les nymphes et les larves ont été décrits.

Lorsque les moustiques sont utilisés pour des expériences de croisement, il devient nécessaire de déterminer le sexe des nymphes, habituellement d'après la taille (les nymphes mâles sont parfois plus petites), la forme ou les terminalia. Pour vérifier que les sexes ont été correctement séparés, les nymphes peuvent être placées, par quatre, dans des flacons en verre à fond plat de 75 x 25 mm, dont l'ouverture est fermée par un tampon d'ouate (voir Figure An1.6).

Figure An1.6 **Équipement pour le maintien des œufs, des larves et des nymphes**

A1.2.6 Conception d'un insectarium

Les trois principales exigences imposées à un insectarium sont la possibilité de contrôler : *i)* la température, *ii)* l'humidité, et *iii)* l'éclairage.

Le degré de perfectionnement des techniques d'élevage dépendra à la fois des installations et des exigences du personnel. Sous les tropiques par

exemple, les larves de moustiques peuvent être élevées dans des plateaux couverts à l'intérieur d'un local simple non chauffé et maintenues dans le même local que les moustiques adultes. Une forte humidité est indispensable pour l'élevage des adultes et peut être entretenue en plaçant un tampon de coton saturé d'eau dans une boîte de Petri ouverte sur la cage et une feuille en polyéthylène par-dessus. Lorsqu'il est nécessaire de maintenir des moustiques dans un poste de terrain, ce type d'improvisation est essentiel.

Dans certaines situations, en particulier lorsque le nombre d'insectes à maintenir est faible ou lorsqu'un contrôle particulièrement rigoureux des conditions environnementales est nécessaire, les insectes peuvent être élevés dans une chambre environnementale équipant un laboratoire ordinaire.

A1.2.7 Bâtiment

En raison de la nécessité de contrôler la température et l'éclairement, il faut disposer d'un local sans fenêtre, de préférence sans mur de séparation avec l'extérieur. Sous les climats tempérés, les insectariums ayant des murs de séparation avec l'extérieur pâtissent habituellement d'une condensation excessive, tandis qu'en milieu tropical, ils peuvent absorber une trop grande quantité de chaleur sous l'effet de l'ensoleillement.

Dans la mesure du possible, chaque local destiné à l'élevage des insectes devra disposer d'un vestibule qui peut servir de zone tampon pour prévenir les perturbations de la température et du taux d'humidité lors des ouvertures de porte. Ce vestibule sert également à limiter les fuites de moustiques adultes. Les murs du local devront être lisses et peints en blanc ou dans une couleur très claire. La peinture ne doit pas être insecticide. Une peinture époxy totalement étanche à l'eau est souvent recommandée, mais en fait, une légère perméabilité à la vapeur d'eau de la surface des murs peut contribuer à limiter la condensation. Les surfaces des murs des terrasses totalement imperméables souffrent d'une condensation excessive. Il est également indispensable de disposer dans tout local d'élevage d'un évier de grandes dimensions avec l'eau courante froide et chaude, en particulier lorsqu'on élève des insectes à des stades aquatiques. Il est avantageux d'avoir aussi un local séparé pour le nettoyage des cages et des plateaux d'élevage ou d'autres équipements. Des tables, des rayonnages et des râteliers facilement déplaçables sont préférables pour une plus grande flexibilité d'utilisation et un nettoyage plus facile.

A1.2.8 Contrôle de la température

Le contrôle de la température peut être assuré par un système de climatisation élaboré ou par un simple radiateur à régulation thermostatique. Si le déplacement de l'air dans la pièce n'est pas aidé par un ventilateur, il peut exister une stratification de la température entre le sol (niveau le plus froid) et le plafond (niveau le plus chaud). Dans une atmosphère humide, les régulations thermostatiques ont tendance à tomber en panne après un laps de temps assez court et il est souhaitable d'avoir la sonde thermostatique installée dans le local et le commutateur monté à l'extérieur. Il est aussi possible d'utiliser un système modulaire comprenant un thermostat et un radiateur faciles à remplacer. Pour les insectariums situés dans des pays tropicaux, des systèmes de climatisation seront généralement nécessaires pour maintenir la température dans la plage de régulation souhaitée.

On enregistrera régulièrement la température à l'intérieur de l'insectarium. À cette fin, il est souvent pratique d'avoir un thermomètre indiquant une température minimale/maximale et/

ou un thermo-hygromètre enregistreur. Les insectariums servant à l'élevage des moustiques sont habituellement maintenus dans la plage de température 26 ° - 28 °C.

A1.2.9 Contrôle de l'humidité

La régulation de l'humidité est habituellement assurée par de petits dispositifs disponibles dans le commerce, qui produisent un brouillard ou un aérosol. Ces dispositifs sont équipés de disques plats mis en rotation à grande vitesse par un moteur électrique, ce qui génère un brouillard de fines gouttelettes d'eau qui sortent sous pression par une buse située plus haut. L'humidité est régulée par un humidistat. Comme celui-ci doit être monté à l'intérieur du local, le microcommutateur finit parfois par tomber en panne à cause de l'humidité et il est préférable de remplacer régulièrement à la fois l'humidificateur et l'humidistat. L'humidité doit être mesurée de manière régulière, soit en continu avec un thermo-hygromètre enregistreur, soit quotidiennement avec un hygromètre simple.

A1.2.10 Contrôle de l'éclairage

La photopériode et l'intensité de la lumière, influent sur le développement des différents stades du cycle de vie des moustiques, par exemple l'accouplement, l'alimentation, la ponte et la nymphose. Les périodes d'éclairage sont faciles à contrôler par des horloges et des commutateurs intégrés au dispositif d'éclairage. La lumière diffusée par des ampoules fluorescentes standard pendant les heures de jour constitue la source d'éclairage la plus appropriée. Des lampes à incandescence rouges séparées peuvent être prévues pour travailler dans le local pendant les périodes d'obscurité. On choisit souvent une photopériode de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité, même si certains préfèrent combiner 14 heures de lumière et 10 heures d'obscurité.

Les espèces qui prennent leur repas de sang la nuit peuvent être maintenues dans un local où le cycle lumineux est décalé. Le fait d'éteindre les lumières à midi et de les allumer à minuit permet d'effectuer le travail de routine dans la matinée et de laisser les moustiques femelles prendre leur repas de sang dans l'obscurité pendant l'après-midi. Certaines espèces peuvent avoir besoin d'une période crépusculaire pour former un essaim et s'accoupler, ce qui nécessite une atténuation douce des lumières pour fournir un effet de crépuscule et une augmentation progressive de la luminosité pour simuler l'aube (voir Figure An1.7).

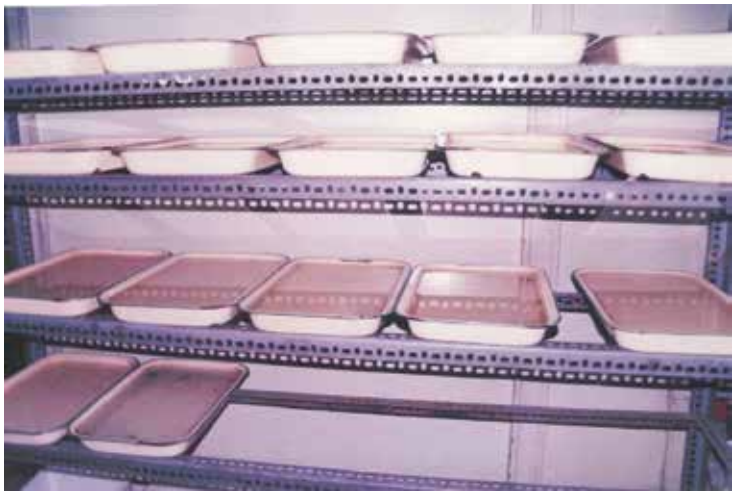


Figure An1.7 Insectarium équipé de rayonnages pour recevoir les plateaux destinés à l'élevage des larves de moustiques

A1.2.11 Sécurité

Des mesures spéciales sont à prendre dans le cadre du maintien de colonies d'insectes vecteurs pour isoler ces insectes du milieu environnant et les empêcher de fuir. S'il s'agit de vecteurs du paludisme, la fuite de moustiques hors du laboratoire peut gravement remettre en cause les efforts de lutte/d'élimination. L'introduction par ce biais de moustiques résistants aux insecticides dans une population de moustiques naïve et sensible pourrait avoir des conséquences graves pour les mesures de lutte dans la zone considérée.

La mise en place de procédures d'élevage correctes et de jeux de doubles portes sont des mesures de base pour limiter les fuites à partir des insectariums. Peindre en blanc les murs permet de repérer plus facilement les moustiques échappés. Il est souhaitable que le local soit précédé d'un vestibule peint en blanc et celui-ci pourra être équipé de pièges lumineux pour opposer un obstacle supplémentaire à la fuite des moustiques vers l'extérieur. Les conduites de drainage peuvent devoir être équipées de dispositifs filtrants, y compris celles des éviers. Cette précaution peut revêtir une grande importance dans les insectariums situés sous les tropiques car les stades aquatiques des moustiques présents dans les installations d'élevage pourraient facilement être libérés dans les drains environnants et s'établir. L'installation de pièges pondoirs à l'intérieur et autour des insectariums peut être utile. Il est parfois nécessaire de placer ces pièges à l'extérieur, à peu de distance des installations de l'insectarium, dans des zones de colonisation potentielle par des espèces comme *Aedes aegypti*. Les insectariums ne devront pas être installés à une distance très proche de locaux abritant des animaux.

A1.2.12 Moustiques infectés par des agents pathogènes humains

Des précautions particulièrement strictes sont nécessaires pour l'élevage et le maintien de moustiques infectés par des agents pathogènes humains. Les mesures à appliquer dépendront de l'ampleur du risque encouru.[1] Les micro-organismes produisant une infection fatale ou difficile à guérir sont classés dans un groupe comportant un risque plus important que les micro organismes non mortels ou pour lesquels une chimioprophylaxie et/ou une chimiothérapie efficaces est facilement disponible. Les moustiques infectés expérimentalement par *Plasmodium falciparum* dans une zone non endémique sont porteurs d'une infection potentiellement létale pour le personnel non immunisé, et ce risque peut s'étendre à des individus non associés à au programme de recherche.

Des réglementations nationales peuvent être en vigueur concernant les conditions dans lesquelles ces agents pathogènes peuvent être détenus et le respect de ces réglementations est essentiel.

1. Pour en savoir plus sur les groupes à risque pour les agents pathogènes humains et le confinement en laboratoire des arthropodes infectés, il est possible de consulter le Manuel de sécurité biologique en laboratoire de l'OMS, 3e éd., 2004, www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7/ pdf.

ANNEXE 2

Traitement des moustiquaires imprégnées d'insecticide

A2.1 Introduction

D'un point de vue programmatique, le traitement et le retraitement des moustiquaires seront nécessaires jusqu'à ce que la couverture par les moustiquaires à imprégnation durable (MID) soit plus étendue et aboutisse au remplacement de toutes les MII classique déjà fournies et distribuées. En outre, certaines communautés vivant dans des zones d'endémie du paludisme pourront continuer à utiliser des moustiquaires nécessitant d'être traitées et retraitées.

Les MII classiques doivent être retraitées tous les 6 à 12 mois selon la durée de la transmission et la fréquence des lavages. Le retraitement s'effectue en faisant simplement tremper les moustiquaires dans un mélange d'eau et d'insecticide et en les laissant sécher dans un endroit ombragé. Cette opération peut prendre la forme :

- *d'un traitement à domicile : les moustiquaires sont traitées* par un adulte appartenant au foyer à l'aide d'un kit de traitement (kit pour traitement à faire soi-même), que l'on peut se procurer chez les commerçants ou auprès des centres de santé.
- *d'un traitement de masse : les moustiquaires sont traitées i) p*ar du personnel formé employé par un centre d'imprégnation, lieu fixe où les gens apportent leurs moustiquaires pour les faire retraiter ; *ii)* dans le cadre de campagnes auprès des communautés proposant le retraitement une à deux fois par an, de préférence avant la saison de transmission : ou *iii)* par des équipes mobiles effectuant cette opération dans de nombreux endroits, dont les centres de santé, les marchés et les domiciles.

A2.2 Procédure de traitement

Voici les 10 étapes du traitement ou du retraitement des moustiquaires :

Étape 1 : se procurer les fournitures/le matériel/les produits nécessaires

Pour le traitement, il faut disposer du matériel et des produits suivants : moustiquaires, insecticide, eau, cuvette, récipient de mesure, gants en caoutchouc, vêtements de protection et savon. S'assurer du lavage ou du nettoyage de la moustiquaire avant le traitement. Il est préférable d'effectuer ce traitement à l'extérieur et à l'ombre. Les gants et la cuvette ne doivent pas servir à un autre usage.

Étape 2 : Enfiler les gants de protection avant de traiter les moustiquaires

Étape 3 : Mesurer la quantité d'eau nécessaire

La quantité d'eau nécessaire dépend de la matière constituant la moustiquaire. Indépendamment de la taille et de la forme de celle-ci, on a besoin, pour traiter une moustiquaire en matière synthétique (polyester), d'un demi-litre (plus si la moustiquaire est très grande). Si un récipient de mesure est fourni avec l'insecticide, il faut l'utiliser pour mesurer l'eau. Sinon, on utilisera un récipient de mesure quelconque, qui ne sert pas pour les aliments, les boissons ou les médicaments.

Étape 4 : Mesurer la quantité correcte d'insecticide

La quantité d'insecticide nécessaire pour traiter une moustiquaire dépend du type d'insecticide employé. On suivra les instructions figurant sur le récipient/sachet/paquet. En général, il faut 10-15 ml d'insecticide pour traiter une moustiquaire. On conservera le restant d'insecticide dans le récipient d'origine, dans l'obscurité et hors de portée des enfants.

Étape 5 : Mélanger vigoureusement l'eau et l'insecticide dans la cuvette avec des mains gantées

Étape 6 : Traiter les moustiquaires

- N'imprégner qu'une seule moustiquaire à la fois.
- Ne jamais imprégner plus d'une moustiquaire à la fois.
- Plonger la moustiquaire dans la cuvette contenant l'eau et l'insecticide.
- La laisser tremper suffisamment longtemps pour que toutes les parties soient imprégnées.
- Retirer la moustiquaire et éliminer l'eau en excès en la pressant doucement, mais sans la tordre.

Étape 7 : Faire sécher les moustiquaires

- Laisser la moustiquaire sécher à plat à l'ombre sur des bâches en matières plastique.
- Plus tard, on pourra la suspendre pour finir de la faire sécher à l'ombre.

Étape 8 : Éliminer le reste de mélange eau/insecticide et les récipients ou sachets ayant contenu l'insecticide

- Après traitement de toutes les moustiquaires disponibles, le mélange d'eau et d'insecticide éventuellement restant peut être utilisé pour traiter les rideaux.
- S'il reste cependant du mélange, l'évacuer dans les toilettes ou dans un trou creusé à distance des habitations, des constructions abritant des animaux ou des sources d'eau de boisson, des mares, des rivières et des cours d'eau.
- Détruire les récipients, les sachets ou les paquets vides ayant contenu l'insecticide et/ou les enterrer dans un trou creusé à distance des habitations, des constructions abritant des animaux ou des sources d'eau de boisson, des mares, des rivières et des cours d'eau.

Étape 9 : Se laver les mains et nettoyer le matériel

- laver le matériel (cuvette, récipient de mesure) avec de grandes quantités d'eau en portant des gants de protection.
- laver les gants (si l'on utilise des gants non jetables) avec du savon et de grandes quantités d'eau, ou les éliminer avec les récipients ayant contenu l'insecticide.
- se laver les mains avec du savon et de grandes quantités d'eau.

Étape 10 : Laver et retraiter les moustiquaires

- Le lavage élimine partiellement l'insecticide présent sur les moustiquaires. Il faut donc laver ces dernières le plus rarement possible et effectuer ce lavage en douceur, avec du savon et de l'eau froide, en laissant ensuite les moustiquaires sécher à plat, à l'ombre, sur des bâches en matière plastique.
- Ne pas laver/rincer une moustiquaire traitée dans une source d'eau de boisson, une mare, un lac, une rivière ou un cours d'eau ou à proximité.

- Éliminer l'eau de lavage/de rinçage dans les toilettes ou dans un trou creusé à distance des habitations, des constructions abritant des animaux ou des sources d'eau de boisson, des mares, des rivières et des cours d'eau.
- Les moustiquaires doivent être retraitées au bout de trois lavages ou au moins une fois par an, même si elles ne sont pas lavées, de préférence juste avant la saison des pluies. Dans les zones où les moustiques sont nombreux tout au long de l'année, les moustiquaires peuvent être traitées deux fois par an.

Tableau An2.1 Produits insecticides, dosages et quantité pour traiter une moustiquaire recommandés par l'OMS

Insecticide	Formulation[a]	Dosage[b]	Dose par moustiquaire
Alpha-cyperméthrine	SC 10 %	20-40	6 ml
Cyfluthrine	EW 5 %	50	15 ml
Deltaméthrine	SC 1 %	15-25	40 ml
Deltaméthrine	WT 25 %	15-25	un comprimé
Etofenprox	EW 10 %	200	30 ml
Lambda-cyhalothrine	CS 2,5 %	10-15	10 ml
Perméthrine	EC 10 %	200-500	75 ml

[a] SC = suspension concentrée ; EW = émulsion huile dans l'eau ; WT = comprimés à disperser dans l'eau
CS = suspension de capsules ; EC = concentré émulsifiable.

[b] milligrammes d'ingrédient actif par mètre carré de moustiquaire

Note : Les recommandations de l'OMS concernant l'utilisation des pesticides en santé publique ne sont valides QUE SI elles sont associées aux spécifications de l'OMS pour le contrôle de la qualité de ces produits. Les spécifications de l'OMS pour l'utilisation de pesticides en santé publique sont disponibles à l'adresse : htt30//www.who.int/wopes/quality/fr/.

A2.3 Insecticides et formulations insecticides pour le traitement des moustiquaires

Le Tableau An2.1 recense les produits insecticides et la dose par moustiquaire recommandés par le WHOPES (WHO Pesticide Evaluation Scheme) pour le traitement des moustiquaires.

A2.4 Questions relevant de la sécurité

Si l'utilisation sur le terrain de pyréthrinoïdes à la dose recommandée pour le traitement des moustiquaires ne comporte que peu ou pas de danger pour les personnes effectuant ce traitement, la vente au détail d'insecticide aux particuliers pour le traitement des moustiquaires soulève des problèmes de sécurité particuliers. Il est donc fortement recommandé que les insecticides destinés au traitement domestique des moustiquaires ne soient vendus que sous forme de doses uniques. En outre, s'ils se présentent en formulation liquide embouteillée, la présence de bouchons à l'épreuve des enfants est indispensable. La vente au détail de perméthrine hautement concentrée (EC à 50 %, par exemple) devra être évitée. On réservera l'utilisation de perméthrine aussi concentrée à du personnel formé à cet effet.

La manipulation d'insecticides dans le cadre de leur application sur des moustiquaires peut occasionner une toxicité aiguë ou des irritations. Les personnes participant directement au trempage d'un grand nombre de moustiquaires courent un risque plus important que celles qui traitent occasionnellement leurs propres moustiquaires. L'utilisation de gants en caoutchouc est indispensable ; il convient également de porter un masque protégeant la bouche et le nez lorsqu'on effectue le trempage de moustiquaires en grand nombre, notamment avec des solutions de concentrés émulsifiables.

A2.5 Quand appliquer l'insecticide

Une attention particulière doit être accordée aux réseaux de distribution des moustiquaires et au retraitement périodique de ces dispositifs avec un insecticide. Les activités du programme de lutte antipaludique doivent être adaptées à la méthode de distribution des moustiquaires lorsque cette option est adoptée en matière de lutte antivectorielle.

Il est important de mettre en place des cycles périodiques fonctionnels de retraitement en fonction des besoins épidémiologiques, de l'effet rémanent des formulations sur différents matériaux et des habitudes de la population en matière de lavage des moustiquaires.

Une protection maximale est nécessaire pendant la saison de transmission ou le pic de la transmission lorsque celle-ci est permanente. Dans les cas où les programmes de lutte jouent un rôle actif dans la distribution des moustiquaires, qu'elle soit gratuite ou subventionnée, le retraitement est habituellement effectué à l'occasion d'événements particuliers comme la Semaine (ou la Journée) nationale de lutte contre le paludisme ou la Journée de la santé. Dans la mesure du possible, la distribution et le retraitement des moustiquaires doivent être programmés pour assurer une couverture maximale par des moustiquaires fraîchement traitées pendant la saison de transmission. Lorsque la distribution passe par des entités privées, on organisera des événements officiels pour promouvoir l'utilisation des MII et en faire des démonstrations juste avant le début de la saison de transmission.

Pour fixer la périodicité du retraitement, on s'appuiera sur des investigations visant à déterminer l'effet rémanent réel de l'insecticide dans les conditions d'utilisation correspondant à la zone considérée (climat, exposition à la lumière solaire directe lors des usages en extérieur, habitudes de lavage, etc.) et en fonction de la saisonnalité de la transmission. Ces études devront déterminer la meilleure méthode pour laver les moustiquaires, en tenant compte des effets des savons locaux, de l'utilisation ou non d'eau chaude, des conditions de séchage, de la fréquence des lavages, etc., cette méthode devant ensuite être promue par l'information, l'éducation et la communication (IEC) et à l'occasion des séances de traitement ou d'événements promotionnels.

Si les moustiquaires sont vendues dans le commerce et si les acheteurs sont responsables individuellement de leur traitement, il convient de les avertir que s'ils lavent leur moustiquaire plus fréquemment que recommandé, il faudra aussi les retraiter plus souvent. Dans la mesure du possible, le traitement insecticide devra être assuré gratuitement, en particulier pour les personnes pauvres et les groupes vulnérables.

Lorsqu'on détecte un risque d'épidémie imminente à un stade précoce du phénomène, il est conseillé d'organiser une session de retraitement dans les zones où la couverture par des moustiquaires traitées est forte, sous réserve que cette intervention n'interfère pas avec la mise en œuvre des mesures d'urgence contre la maladie.

ANNEXE 3

Reconnaissance géographique

A3.1 Définition, objectifs et portée de la reconnaissance géographique

La reconnaissance géographique peut être définie comme une intervention sur le terrain faisant intervenir des opérations de recensement, de cartographie et d'échantillonnage. Elle peut nécessiter d'enregistrer la quantité, les types, les dimensions, la qualité, la localisation, l'accessibilité et d'autres informations pertinentes sur le logement, les habitudes et les coutumes de la population locale en relation avec les besoins du programme, la présence et la localisation des sites de reproduction avérés ou potentiels des moustiques, les habitudes de ces insectes et avec toute autre information considérée comme nécessaire pour la planification et la mise en œuvre d'un programme de lutte contre les moustiques vecteurs. La collecte de telles informations sur la population, le logement, les communications, ainsi que des cartes et de données entomologiques et épidémiologiques, devra précéder les activités de lutte.

Les objectifs de la reconnaissance géographique sont :

- déterminer le nombre et l'emplacement des habitations et des populations exposées au risque de maladie à inclure dans le programme de lutte antivectorielle ;
- fournir une base pour la planification des besoins des programmes en termes d'équipements, de fournitures, de transport et de personnel ; et
- déterminer la nature et l'étendue des gîtes larvaires par rapport aux concentrations de population en tant que base pour la planification des mesures de lutte antivectorielle telles que des traitements larvicides ou de réduction à la source.

En résumé, le principal objectif de la reconnaissance géographique est de fournir une base pour la planification et la mise en œuvre d'un programme de lutte contre les moustiques devant inclure des pulvérisations intradomiciliaires rémanentes, des pulvérisations spatiales ainsi que des opérations de destruction des larves et de réduction à la source, en fonction de la situation.

La reconnaissance géographique peut avoir comme deuxième objectif l'éducation sanitaire. Elle offre une excellente opportunité de mener des relations publiques et une campagne d'éducation pour s'assurer de la compréhension et de la coopération de la population. Si elle est réalisée correctement, la reconnaissance géographique peut être très utile à la plupart des autres programmes sanitaires. Sa portée sera variable d'un pays et d'un programme à l'autre, en fonction de la nature du problème et des ressources disponibles. Pour les programmes de contrôle/élimination du paludisme, on a principalement besoin d'informations sur les habitations pour appuyer la mise en œuvre des programmes de pulvérisations intradomiciliaires rémanentes et de données sur les personnes pour faciliter le dépistage et le traitement. En dehors des programmes de lutte antipaludique, ces besoins concernent aussi les programmes de lutte contre d'autres maladies à transmission vectorielle. Néanmoins, avec l'approche actuellement adoptée pour la lutte contre les vecteurs, à savoir une stratégie antivectorielle intégrée utilisant toutes les méthodes disponibles dans le cadre d'un programme intégré, la portée que doit avoir la reconnaissance géographique est bien plus large.

Pour répondre correctement aux besoins d'un tel programme, la reconnaissance géographique devra notamment :

- recueillir et analyser des données épidémiologiques et entomologiques pertinentes pour déterminer les zones à risque pour la maladie ;
- préparer des cartes montrant l'emplacement des maisons et des moyens d'accès (routes et chemins) ;
- attribuer un code/numéro unique pour chaque maison et y déposer une fiche paraphé par toutes les personnes chargées des visites officielles dans ces maisons à des fins de supervision. Même si ce système a été abandonné par de nombreux pays lors du passage de l'éradication au contrôle du paludisme, c'est encore à ce jour le meilleur dispositif mis au point pour la supervision et il convient à tout programme sanitaire impliquant des contacts répétés avec les villageois à leur domicile ;
- identifier et cartographier les sources de moustiques par rapport aux villages.

Les résultats de la reconnaissance géographique devraient être transmis au niveau central où la planification et la gestion administrative des activités de lutte contre les moustiques s'effectuent. Ils devraient être disponibles également au niveau périphérique pour les superviseurs des opérations sur le terrain. Un nombre suffisant de copies des cartes devra être réalisé à l'intention des utilisateurs comme des superviseurs. La reconnaissance géographique, et en particulier les cartes, devront être actualisées régulièrement, de préférence annuellement.

Une grande partie des informations utiles à la reconnaissance géographique est disponible auprès de sources diverses au sein des pays. Nombre de ces sources peuvent fournir des cartes appropriées. Parmi ces sources d'information, figurent :

- le secrétariat au recensement et aux statistiques
- le ministère de la santé
- le ministère de l'éducation
- le ministère de l'intérieur
- le département ou la compagnie des postes et des télécommunications
- le secrétariat aux gouvernances locales ou aux affaires municipales
- le ministère du logement
- le géomètre principal
- le secrétariat aux travaux publics
- le secrétariat à l'irrigation
- le ministère de l'alimentation et de l'agriculture
- le ministère du travail
- le ministère du commerce
- les forces armées
- le secrétariat à l'information et à la publicité
- le ministère de la planification et de l'industrie
- le ministère des communications
- le secrétariat aux ressources hydriques et à la production d'électricité
- la chambre de commerce
- les aspects relevant des entreprises privées – boissons embouteillées, carburant, etc.
- les atlas et les almanachs

- les sociétés géographiques
- les organisations internationales
- les bibliothèques publiques
- les personnes privées

A3.1.1 Cartes pour la lutte contre les moustiques

Une carte offre une représentation spatiale d'une zone. Elle signale les caractéristiques naturelles et artificielles par des symboles, des lignes, des couleurs et des codes. Les cartes sont indispensables à la planification, à la mise en œuvre, à la supervision et à l'évaluation des programmes de lutte contre les maladies à transmission vectorielle.

Avant de commencer à préparer des cartes pour la lutte antivectorielle, on s'efforcera de collecter toutes les cartes et les photographies aériennes déjà disponibles auprès d'autres agences gouvernementales, d'organisations internationales ou de sources commerciales comme Google maps.

A3.1.2 Types de cartes nécessaires dans le cadre d'un programme de lutte contre une maladie à transmission vectorielle

a. La carte du projet devra couvrir la totalité de la zone dans laquelle les activités de lutte contre les vecteurs sont prévues. Dans le cas des petits pays, il peut n'y avoir qu'une seule carte de projet. Les pays plus grands peuvent nécessiter une carte de projet séparée pour chaque État, province, district ou même sous-district. Dans le cadre des anciens programmes d'éradication du paludisme, des limites de zone, de secteur, d'unité ou de sous-unité avaient été établies pour répondre à la problématique du paludisme en ignorant souvent les frontières administratives. Avec le passage à une stratégie de lutte, de nombreux pays ont adapté leurs unités opérationnelles pour qu'elles soient compatibles avec les réalités politiques et administratives. La planification future des programmes de lutte contre les maladies à transmission vectorielle en coordination avec les soins de santé primaires devra faire appel au district ou à une autre subdivision administrative appropriée pour définir les zones d'activité opérationnelle.

Des cartes se prêtant à la conversion en cartes de projet à une échelle appropriée devraient être facilement disponibles auprès d'autres sources gouvernementales, mais pourraient devoir être tracées ou redessinées pour éliminer des détails inutiles. Outre les caractéristiques géographiques habituelles, ces cartes devraient faire apparaître les zones d'intervention où le paludisme ou une autre maladie à transmission vectorielle posent problème, ainsi que les zones de responsabilité pour la supervision de la lutte contre la maladie et d'autres services sanitaires. Des informations épidémiologiques et entomologiques peuvent aussi y être incluses, ainsi que d'autres données pertinentes pouvant faciliter la compréhension du problème et de la situation en matière de lutte.

Pour préparer une carte de projet, la personne en charge devra d'abord tenter d'obtenir une carte détaillée raisonnablement fidèle de la communauté et de ses environs. Cette carte devra être élargie à une échelle pratique pour pouvoir y inscrire les caractéristiques importantes nécessaires. Par exemple, la carte topographique officielle au 1:25 000 du district où le projet à lieu montre les rues des villages, les zones boisées et cultivées, quelques-uns des bâtiments et les rivières ou les cours d'eau. Un réseau d'irrigation construit depuis l'impression de la carte n'est pas représenté, mais peut constituer un repère. De bonnes cartes sont des cartes simples, claires, montrant les caractéristiques principales de la localité positionnées de façon correcte

Tableau An3.1 Échelle des cartes

« A » Petite échelle

Échelle	1 cm égale	1 inch égale	1 mile égale	1 km égale
1:500 000	5 km	7,89 mi	0,127 in	0,2 cm
1:100 000	10 km	15,78 mi	0,063 in	0,1 cm

« B » Échelle moyenne

Échelle	1 cm égale	1 inch égale	1 mile égale	1 km égale
1:50 000	0,5 km	0,789 mi	1,27 in	2,0 cm
1:63 360	0,634 km	1,0 mi	1,00 in	1,58 cm
1:75 000	0,75 km	1,18 mi	0,845 in	1,33 cm
1:100 000	1,0 km	1,58 mi	0,834 in	1,00 cm
1:250 000	2,5 km	3,95 mi	0,253 in	0,4 cm

« C » Grande échelle

Échelle	1 cm égale	1 inch égale	1 mile égale	1 km égale
1:5 000	5 m	13,9 yds	10,56 ft	2 cm
1:1 000	10 m	27,8 yds	63,36 in	100 cm
1:2 000	20 m	55,6 yds	31,88 in	50 cm
1:3,168	31,7 m	0,05 mi	20,0 in	31,7 cm
1:5 000	50 m	139 yds	12,67 in	20 cm
1:10 000	100 m	0,158 mi	6,54 in	10 cm
1:20 000	0,2 km	0,316 mi	3,17 in	5 cm
1:25 000	0,25 km	0,395 mi	3,64 in	4 cm
1:31 680	0,317 km	0,5 mi	2,0 in	3,17 cm

Note : 1 mile = 63 360 inch et 0,05 mile = 105,6 yards

les unes par rapport aux autres. Les principales caractéristiques à visualiser sur la carte d'un projet de lutte contre les moustiques sont les cours d'eau (avec la direction de l'écoulement) et les noms des marais ou des marécages, les forêts et les champs, les collines et les crêtes, les rues et les chemins. Elle devra aussi comprendre les constructions constituant des repères comme les voies de chemin de fer, les canaux, les lignes électriques, les réservoirs d'eau et les bâtiments de tous types, classés en fonction de leur usage.

b. Les cartes opérationnelles nécessaires à la lutte contre les moustiques vecteurs sont de deux types :

- Une *carte des villages* sur laquelle est représentée la totalité de la population (et non le village en tant qu'entité administrative uniquement) dans une zone donnée telle qu'un district ou un sous-district. Outre les villages, la carte devra montrer toutes les routes utilisées pour y accéder, les cours d'eau, les lacs, les mares, les marécages, l'emplacement de tous les établissements de soins et l'indication du nombre d'habitants pour la plus petite subdivision administrative possible. Cette carte doit servir au superviseur de district ou de sous-district à réaliser la planification nécessaire, à mener la supervision des opérations sur le terrain et à évaluer l'état d'avancement du programme. L'échelle des cartes de villages représentant des districts peut aller du 1:25 000 au 1:50 000, voire plus, selon l'ampleur de la zone couverte.

- *Une carte sommaire de la localité* montrant l'emplacement des différentes habitations dans une localité donnée par rapport aux routes et aux gîtes larvaires. C'est à partir de cette carte que sont élaborés les itinéraires des agents sur le terrain chargés de la distribution des moustiquaires ou des équipes de pulvérisation effectuant les pulvérisations intradomiciliaires rémanentes, les pulvérisations spatiales ou les opérations larvicides. Associée à la carte de district, cette carte peut servir à planifier les projets de réduction à la source.

  La carte sommaire de la localité devrait normalement être dressée à une échelle entre le 1:500e et le 1:5000e, selon la distribution des habitations, mais une échelle précise n'est pas indispensable. Cependant, l'emplacement et le nombre des habitations doivent être clairement identifiables et les routes et les sources de moustiques doivent être indiquées de manière suffisamment précise pour être facilement localisables. Il convient de préparer plusieurs exemplaires de ces cartes de manière à ce qu'un jeu soit toujours à la disposition des superviseurs, un autre à la disposition du chef de l'équipe de pulvérisation et si nécessaire, à la disposition des agents individuellement. Ces cartes devront être actualisées en permanence à mesure que de nouvelles habitations se construisent, que d'anciennes maisons sont abandonnées et que les sources de moustiques évoluent.

A3.1.3 Équipement nécessaire à un agent de reconnaissance géographique :

- support pour feuille de papier ou carte (40 x 30 cm)
- règle (divisions en mm), de 30 cm de long
- boussole de poche simple (de préférence fixée au support)
- pinces à dessin ou ruban en caoutchouc (pour tenir la feuille à dessin sur le support)
- mètre pliant en bois (1,5 ou 2 m de long) ou mètre à ruban
- nécessaire à peinture et pinceau/brosse (ou punaises, clous et marteau)
- sac à dos
- colle, pour fixer la carte de logement
- feuilles à dessin (20 x 30 cm)
- fiches de reconnaissance géographique

Pour réaliser une carte sommaire, il faut procéder comme suit :

1. On effectuera des tournées détaillées dans la zone pour acquérir une connaissance générale de la topographie locale qui guidera la planification. On s'efforcera de trouver des frontières et des repères faciles à reconnaître.

2. Pour déterminer l'échelle, il faut d'abord connaître l'aire de la zone, ses dimensions maximales dans les directions nord-sud et est-ouest, qu'il est possible de déterminer en comptant le nombre de pas suivant ces dimensions à l'intérieur de la zone, ou en cas d'impossibilité à l'extérieur de celle-ci. Ces deux dimensions pourront être appelées L et B et la longueur et la largeur de la feuille de papier utilisée « l » et « b » (breadth). On calculera ensuite l/L et b/B et la plus petite fraction ainsi obtenue sera utilisée comme échelle de la carte.

3. La longueur du pas du cartographe devra être étalonnée. Cette opération s'effectue en comptant ses pas sur une distance mesurée, par exemple 100 m au niveau du sol et en calculant la longueur moyenne du pas. Une simple boussole de poche devra être fixée au support de carte et une ligne correspondant à la direction du nord sera tracée dans un coin de l'esquisse, parallèlement

au côté le plus court de la feuille de papier si la plus petite dimension de la localité se mesure selon la direction nord-sud, ou parallèlement à la longueur de la feuille si la localité a sa plus grande dimension selon la direction nord-sud. Il est également possible d'utiliser un système de géopositionnement par satellite (GPS) pour déterminer les coordonnées géographiques d'un point quelconque de la carte ou pour tracer la position d'une ligne comme les rives d'une rivière ou une route.

On réalise d'abord un cadre auquel on raccroche les détails. Les limites de la zone peuvent être des routes, des rivières, des lignes de chemin de fer, des canaux ou d'autres éléments. À l'intérieur des limites, la zone peut être traversée par des chemins, des pistes, des rues, des limites de cultures, des cours d'eau, etc. Tous ces éléments seront représentés sous forme de lignes sur la carte. Il faut sélectionner les éléments importants se trouvant à la frontière ou traversant les limites de la zone et, dans une première étape, les représenter sur la carte pour obtenir un cadre de base. L'avantage de dessiner le cadre est que ces lignes étant tracées au crayon sans autre détail source de confusion, les erreurs cartographiques peuvent être corrigées avant d'introduire les éléments détaillés. La règle est donc la suivante : les GRANDES LIGNES d'abord, les DÉTAILS ensuite.

A3.1.4 Reproduction

Lorsque de nombreuses reproductions sont à faire, il est justifié de prévoir un ordinateur équipé d'une imprimante. Des copies des tracés au crayon ou à l'encre peuvent être réalisées avec une photocopieuse, si on en dispose. Les tracés originaux doivent être conservés avec soin dans un casier à cartes. Les petites cartes peuvent être reproduites à la photocopieuse.

A3.1.5 Localisation et enregistrement des habitats des moustiques

Les diverses espèces de moustiques infestant une collectivité ont des lieux habituels de reproduction, de vol et de repos, ainsi que des saisons et des moments de la journée privilégiés pour ces activités. La connaissance de ces lieux et de ces moments constitue le point de départ pour le responsable de projet (ainsi que pour le personnel et les volontaires) dans la localisation des habitats présentant des larves de moustiques et des adultes et dans le suivi des évolutions qui interviennent pendant le déroulement du projet.

Au début du projet et à différents moments de l'année, on s'efforcera de localiser et de dénombrer tous les lieux de reproduction extérieurs, d'estimer les surfaces d'eau correspondantes en m² ou en hectares qui pourraient devoir être traitées avec un larvicide, et enfin de repérer ces lieux avec des signes et symboles distinctifs au sol (si possible) et sur la carte de projet. La reconnaissance géographique des gîtes larvaires extérieurs devra s'effectuer à plusieurs moments différents dans l'année. Les numéros de ces gîtes inscrits sur le terrain (panneau ou inscription) et sur la carte devront être peints dans une couleur caractéristique (en rouge, par exemple) et entourés d'un symbole distinctif (cercle rouge, par exemple). Une baguette en bois de 1,5 ou 2 m de long, peinte alternativement en noir et blanc pour indiquer les demi-mètres, peut être utilisée pour estimer les petites surfaces et la largeur des canaux; les surfaces étendues pouvant être mesurées en comptant les pas dans le sens de la largeur et de la longueur.

Lorsqu'on découvre de nouveaux gîtes larvaires pendant le déroulement d'un projet, il convient de les numéroter consécutivement sur le terrain (si possible) et sur la carte. Toutes les opérations de repérage et de destruction des larves devront être identifiées dans les rapports de projet par les numéros des gîtes larvaires.

Les lieux extérieurs d'activité des moustiques adultes, tels que déterminés par les taux d'atterrissage ou les observations, devront être identifiés à différents moments de la journée, en différentes saisons et pour les différentes espèces. Ces sites extérieurs devront être repérés sur le terrain et sur une carte de projet séparée par des signes et des symboles distinctifs, comme par exemple un numéro rouge dans un triangle rouge inversé. Il faudra enregistrer dans le dossier la date, le moment, l'espèce et la densité de moustiques. Les nouveaux sites découverts pendant le déroulement du projet devront être numérotés consécutivement et repérés sur la carte. Toutes les pulvérisations spatiales extérieures et les captures de moustiques adultes devront être identifiées dans les rapports de projet par les numéros des sites de terrain.

En principe, on identifiera les lieux de repos des moustiques avant de mettre en œuvre toute mesure insecticide ou tout au moins avant le début des opérations adulticides utilisant des pulvérisations à effet rémanent. Les recherches devront être effectuées par capture à la main dans un échantillon représentatif de logements habités : sur les murs, les poutres, les plafonds, sous les meubles et dans les abris pour animaux. Si possible, elles devront aussi être menées dans tous les bâtiments inhabités tels qu'écoles, bureaux, magasins et abris temporaires à l'écart. Il faudra aussi rechercher des moustiques au repos sous les caniveaux et les ponts de la zone couverte par le projet et dans un échantillon représentatif des puits, citernes, fosses d'aisance, cuves septiques, conduites de drainage et bassins de captage. Tous les lieux de repos potentiels pour les moustiques trouvés positifs à l'extérieur des habitations et des bâtiments devront être repérés et numérotés sur le terrain et sur une carte par des signes et des symboles distinctifs. Pour les lieux de repos, il faudra enregistrer le numéro du lieu s'il est à l'extérieur ou le numéro de l'habitation, la date, le moment, l'espèce, la densité, le type de surface (pierre, ciment, plâtre, terre, bois, buissons, par exemple) et l'estimation de la surface à pulvériser en m^2. Les nouveaux lieux de repos extérieurs devront être numérotés en série et marqués sur le terrain et sur la carte. Une attention particulière devra être accordée aux changements de lieu de repos dans les habitations et autres structures traitées par pulvérisation pour déterminer si les adultes se reposent sur des surfaces qu'ils évitaient auparavant.

On peut employer des cartes distinctes pour enregistrer : *i)* les gîtes larvaires et les opérations larvicides, *ii)* les zones de vol et les opérations adulticides spatiales extérieures, et *iii)* les lieux de repos et les opérations adulticides utilisant des pulvérisations à effet rémanent. Les Tableaux An3.2, An3.3 et An3.4 sont des exemples de formulaires utilisables pour enregistrer les gîtes larvaires, les zones de vol et les lieux de repos, ainsi que l'estimation des surfaces correspondantes. Ces cartes et ces enregistrements sont utiles à l'étape de planification et pour la vérification et l'évaluation des mesures de lutte. Des cartes saisonnières montreront comment le travail se déroule.

Enregistrer trop d'informations sur une seule carte peut être source de confusion. Il peut être indiqué de recenser sur des cartes distinctes les sources de moustiques, les pulvérisations à effet rémanent, les opérations larvicides et les pulvérisations spatiales. Une meilleure solution encore consisterait à préparer une carte de base unique et une série de feuilles transparentes superposables pour les différentes catégories d'informations.

A3.1.6 Localisation et enregistrement des habitats humains

Il convient de numéroter les lieux utilisés par la collectivité pour vivre et travailler et de les localiser sur la carte sommaire en vue d'éventuelles opérations adulticides. Des mesures des surfaces à traiter et des informations sur les matériaux employés pour la construction des habitations devront être obtenues par échantillonnage.

A3.1.7 Numérotation des habitations

Un bon système de numérotation des habitations est un système qui permet de passer d'une maison à la suivante avec un minimum d'effort. Dans chaque localité, cette numérotation devra commencer au chiffre 1 et se poursuivre de manière systématique. Elle peut débuter à partir de l'entrée principale de la localité et s'effectuer dans une direction donnée. Il convient d'informer les habitants de la finalité de cette numérotation et de leur demander leur consentement pour s'assurer de leur coopération. La décision leur revient totalement et aucune pression ne devra être exercée pour persuader les occupants d'accepter que leur habitation soit numérotée.

Dans le cas d'habitations étroitement regroupées en blocs irréguliers, la localité devra d'abord faire l'objet de reconnaissances avec le porte-document sur lequel on représentera les blocs, les habitations étant ensuite numérotées selon le système le plus pratique.

En présence d'habitations dispersées, on tracera sommairement les rues et les chemins avant de procéder à la numérotation. Si l'on effectue la localisation des habitations en suivant un itinéraire logique, il sera possible en même temps de les numéroter.

Le numéro attribué à une habitation devra être inscrit clairement sur l'entrée principale. Une « carte de visite domiciliaire » ou une « carte de démoustication » devra être postée ou donnée aux membres du foyer au moment de la reconnaissance (voir Tableau An3.5). L'utilisation d'une telle carte est recommandée à la fois pour faciliter la supervision de l'ensemble des opérations et pour se prémunir contre la perte ou le retrait du numéro.

Les habitations construites après la cartographie initiale pourront recevoir un numéro à tiret, comme s'il s'agissait d'annexes de l'habitation la plus proche. Une note sur la carte sommaire indiquera le nombre total d'habitations. Les logements détruits, sans occupant, ou encore dont les occupants ont refusé le traitement par pulvérisation devront être signalés sur la carte sommaire de leur localité pendant le cycle de pulvérisation en barrant leur numéro et en marquant la lettre « D » au crayon pour que le bureau procède aux corrections. Un formulaire d'enregistrement séparé sera aussi rempli pour ces habitations (et pour les nouvelles).

A3.1.8 Mesure des surfaces à traiter dans les habitations

L'examen d'un échantillon représentatif d'habitations à la recherche des lieux de repos des moustiques permettra de déterminer les surfaces à traiter dans le cadre d'une opération adulticide consistant en des pulvérisations à effet rémanent. À partir de ces relevés, on estimera en fonction de cet échantillon les surfaces totales à pulvériser pour la collectivité. Ces surfaces à pulvériser serviront de point de départ à la planification opérationnelle visant à déterminer notamment la quantité d'insecticide, le nombre d'agents pulvérisateurs et de superviseurs, les équipements de mélange et de protection et les moyens de transport nécessaires.

Les surfaces à pulvériser dans les habitations sélectionnées pour effectuer les mesures seront relevées pièce par pièce et enregistrées dans des formulaires (Tableau An3.6). Habituellement, les travailleurs de terrain sont équipés d'un mètre à ruban pour déterminer les dimensions des pièces. Un autre dispositif de mesure, constitué d'une baguette en bois légère de 1,5 à 3 m de long, peut être marqué tous les demi mètres et, sur le dernier demi-mètre, être divisé en sections de 10 cm repérées par des marques de peinture rouge et blanche. Il est plus pratique que le travail soit exécuté par des équipes de deux personnes, l'une effectuant les mesures et l'autre les enregistrant dans le formulaire et dans un ordinateur portable. Les surfaces à pulvériser se composent de

formes géométriques comme des rectangles, des triangles, des secteurs de cercle, des cônes et des sphères, dont les surfaces peuvent toutes être calculées avec précision à l'aide de formules.

La procédure habituelle pour mesurer la surface à traiter d'une pièce consiste premièrement à mesurer les dimensions principales de cette pièce et à estimer la surface des murs et du plafond comme s'il n'y avait pas d'irrégularités, deuxièmement à mesurer les ouvertures de porte et de fenêtre, les alcôves et les placards et à calculer la surface à ajouter ou soustraire, et troisièmement à mesurer le mobilier à pulvériser et à en évaluer la surface. Dans les cas où les surfaces de base de la pièce représentent la plus grande partie de la surface à pulvériser, les surfaces à traiter restantes pourront être estimées comme un pourcentage de ces surfaces de base. On enregistrera la surface à traiter de chaque pièce, arrondie au demi-centimètre carré le plus proche, dans le formulaire. Il faudra ensuite ajouter toutes les surfaces à traiter et enregistrer la somme dans le formulaire et sur la carte de démoustication de l'habitation, accompagnée de la date.

Dans certaines situations, on aura à recueillir des informations particulières sur la présence de plafonds très hauts, nécessitant l'utilisation d'extensions de lance par les équipes de pulvérisation.

A3.1.9 Mesure des volumes à traiter dans les habitations

Dans le cadre des projets prévoyant des pulvérisations intradomiciliaires spatiales pour détruire les moustiques adultes et qui fourniront l'insecticide (plutôt que les habitants eux-mêmes), il faudra disposer d'une estimation des « volumes à traiter ». Dans le cas où toutes les pièces sont pulvérisées, le volume de l'habitation peut être estimé en comptant le nombre de pas correspondant à sa largeur et à sa longueur et en évaluant visuellement sa hauteur, chiffres auxquels on applique la formule suivante :

Volume de l'habitation = largeur x lontgueur x hauteur

Si seules la salle de séjour et les chambres doivent être traitées, il faut mesurer ces pièces séparément. Il convient de noter que dans les projets ayant déjà donné lieu à la mesure des pièces en vue de pulvérisations adulticides à effet rémanent sur la totalité des murs et des plafonds, on a relevé que les volumes des pièces en m^3 sont assez proches de deux tiers des surfaces à traiter en m^2. Par exemple, pour une pièce de 4 x 3 x 2,5 m, dans laquelle les murs et le plafond représentent une surface de 47 m^2 et le volume est de 30 m^3, la formule (2/3) 47 donne 31,3.

A3.1.10 Recensement de la population

Les informations recherchées peuvent être déjà disponibles. Si ce n'est pas le cas, elles devront être relevées lorsque les habitations sont enregistrées. D'autres informations peuvent aussi être consignées dans un formulaire séparé concernant l'utilisation de moustiquaires, de répulsifs et de pulvérisations spatiales, les habitudes en matière de sommeil à l'extérieur et la fréquence des applications de peinture dans les habitations.

A3.1.11 Détermination de la zone couverte par le projet

L'objectif ultime de la reconnaissance géographique est de déterminer la zone à couvrir par un programme de lutte antivectorielle et de fournir une base à l'élaboration d'un plan d'action annuel décrivant en détail les méthodes de lutte contre les moustiques à appliquer, où, quand et par quels acteurs.

La zone couverte par le projet peut être inscrite dans des limites arbitraires si l'intervention est planifiée en relation avec un projet de développement des zones inondées, un cantonnement

militaire, une collectivité spécifique ou un groupe de collectivités, une zone urbaine particulière, des zones agricoles ou des plantations. Il est relativement facile d'établir des limites pour de tels projets, en partie sur la base de l'intérêt personnel. Ces entités peuvent être autant concernées par les moustiques en tant que nuisants que par la menace d'incursion de la maladie dont ces insectes sont les vecteurs.

Néanmoins, dans la plupart des pays, la lutte contre les maladies à transmission vectorielle est du ressort des gouvernements et exercée par les services sanitaires locaux, avec l'apport de conseils techniques dans certains cas et l'assistance du gouvernement étatique, provincial ou central. Même dans les pays disposant de programmes de lutte antipaludique ou antivectorielle verticaux ou semi-autonomes, en place depuis longtemps, il y a une forte tendance à l'intégration avec les services sanitaires généraux ou tout au moins au développement d'une coordination étroite. Il existe aussi une tendance à mettre en commun les services de travailleurs volontaires au niveau des villages, notamment dans le développement de soins de santé primaires à travers la participation communautaire.

Le ministère de la santé et les services sanitaires locaux étant concernés par la santé de tous les habitants de leur juridiction, la définition des limites pour les activités de lutte contre les moustiques doit dépendre de la population exposée au risque de maladie transmise par ces insectes. Dans le cas du paludisme, les programmes de lutte antipaludique ont acquis une expérience considérable dans le combat contre la maladie. Toute zone où une transmission indigène du paludisme peut être mise en évidence doit être incluse. Dans le cadre d'une stratégie de lutte antipaludique, cela est faisable. En raison des contraintes budgétaires, les autorités doivent d'abord prendre une décision quant au niveau d'incidence du paludisme à considérer comme acceptable. Il est ensuite fait appel à des enquêtes épidémiologiques et entomologiques pour déterminer la nature et l'ampleur du risque pour les divers segments de population dans l'ensemble des zones considérées, puis aux résultats de la reconnaissance géographique pour mettre au point un plan opérationnel à long terme et un plan d'action annuel, qui sera révisé chaque année en fonction des résultats actualisés de cette reconnaissance.

A3.1.12 Révision du plan d'action du projet

Les plans financiers et techniques et le plan d'action du projet reposent habituellement sur des estimations préliminaires de l'ampleur de l'infestation par les moustiques au sein de la collectivité et sur des informations générales que l'on espère voir confirmées par des enquêtes entomologiques et épidémiologiques dans la zone couverte par le projet. Lorsque la reconnaissance géographique est terminée et que les cartes sont étudiées en collaboration avec le personnel central de lutte antivectorielle, des changements peuvent apparaître souhaitables dans le plan de départ. Si ces changements impliquent le recours à des ressources supplémentaires, ils devront être approuvés par la collectivité et les services gouvernementaux coopérant au projet. Le responsable du projet devra soumettre les résultats finaux de la reconnaissance géographique, accompagnés des recommandations de modification du plan d'action, à la collectivité, en adressant un exemplaire au service central de lutte antivectorielle. Une fois que les changements recommandés auront été approuvés, le responsable du projet devra rapidement prendre des mesures pour obtenir les fournitures nécessaires et organiser la formation nécessaire des opérateurs et des volontaires.

La reconnaissance géographique ne s'arrête pas là où les mesures de lutte commencent car les cartes et les données doivent être constamment révisées. Les nouvelles constructions, les habitations détruites, les ajouts ou les modifications, le déplacement des huttes d'été ou des

tentes de nomades, ainsi que les sources d'eau, les routes, les installations publiques ou autres, nouvellement établies, devront faire l'objet d'un enregistrement systématique à la fois dans les formulaires et sur les cartes. Il se peut qu'on observe aussi certains changements dans les habitudes des moustiques, la résistance aux insecticides, etc., ce qui impose une révision périodique du plan d'action, et la mise à jour des cartes opérationnelles est indispensable pour parvenir à une lutte chimique efficace.

Tableau An3.2 Registre de RG recensant les gîtes larvaires des moustiques

Date	Heure	Numéro gîte larvaire	Description (type d'étendue d'eau)	Dimension (m^2 ou ha)	Positif pour les espèces	Densité

Tableau An3.3 Registre de RG recensant les zones de vol des moustiques

Date	Heure	Numéro gîte larvaire	Description (type d'étendue d'eau)	Dimension (m^2 ou ha)	Positif pour les espèces	Densité

Tableau An3.4 Registre de RG recensant les lieux de repos des moustiques

Date	Hour	House or outdoor resting place number	Description	Positive for species	Density

Tableau An3.5 Carte de démoustication de l'habitation

Commune..... Numéro de l'habitation.....

Surface à traiter..... m^2

Date	Activité	Signature

Tableau An3.6 Enregistrement du numéro et des mesures des habitations

Habitation N°	Nombre d'occupants	Nom du propriétaire	Surfaces des pièces (m^2)										Surface totale à traiter
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	

ANNEXE 4

Protocole pour la détermination de la sensibilité des moustiques adultes aux insecticides : test biologique de l'OMS

A4.1 Introduction

Les insecticides jouent un rôle important dans la lutte contre les maladies à transmission vectorielle. Dans le cas du paludisme par exemple, ils sont utilisés pour traiter les moustiquaires et autres matériels et pour réaliser les pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent (PID). Quatre classes d'insecticides sont recommandées par l'Organisation mondiale de la Santé pour cet usage dans le cadre des programmes de santé publique : des pyréthrinoïdes, des organochlorés, des organophosphorés et des carbamates.

La mise en œuvre continue et sur la durée de programmes de lutte antivectorielle reposant sur l'application répétée d'insecticides conduit à la sélection d'un ou plusieurs gènes de résistance dans la population de vecteurs du paludisme. L'un des critères essentiels dans le choix d'un insecticide est la sensibilité que manifestent les vecteurs du paludisme dans la zone considérée à ce produit. L'objectif du test de sensibilité est de déceler le plus précocement possible la présence d'une résistance dans la population assez tôt pour permettre une action d'anticipation des programmes antipaludiques nationaux visant à gérer cette résistance.

A4.2 Concentrations discriminantes des insecticides contre les moustiques adultes

Les concentrations discriminantes ou concentrations (dosages) diagnostiques des insecticides sont couramment utilisées pour détecter et suivre la résistance aux insecticides chez les moustiques. Ces concentrations ont été établies en laboratoire dans des conditions standardisées pour tous les insecticides actuellement employés dans les programmes de lutte antipaludique, en utilisant des souches ou des populations connues comme « sensibles » d'une série d'espèces de moustiques vecteurs. Les espèces anophèles suivantes ont été employées : *Anopheles aconites, An. albimanus, An. arabiensis, An. dirus, An. freeborni, An. gambiae s.s, An. maculatus, An. minimus* et *An. stephensi*.[1] Des papiers déjà imprégnés d'insecticide aux concentrations discriminantes appropriées sont fournis avec les kits de test délivrés par l'OMS. Pour s'assurer que tous les moustiques sensibles sont tués, la concentration discriminante pour un insecticide et une espèce de moustique donnés a été définie de deux manières différentes, à savoir comme :

- deux fois la concentration la plus faible donnant systématiquement un taux de mortalité de 100 % après 60 minutes d'exposition et une période d'observation de 24 heures avec une souche ou une population sensible ; ou
- deux fois la $CL_{99,9}$ déterminée par la sensibilité de référence d'une souche ou d'une population sensible. On obtient la sensibilité de référence en exposant des lots de moustiques à différentes concentrations sur une période de 60 minutes, suivie d'une période d'observation de 24 heures, et en ajustant les résultats en fonction d'un modèle Log-Probit.

1. *Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2013. Disponible à l'adresse : http://www.who.int/malaria/publications/en/2.

Le Tableau An4.1 récapitule les concentrations discriminantes d'insecticides couramment utilisés pour lutter contre les vecteurs et/ou à des fins de recherche (dieldrine, par exemple) face à des moustiques adultes.[1]

Tableau An4.1 Concentrations discriminantes d'insecticides face à des anophèles adultes[2]

Classes d 'insecticides	Insecticide	Concentration discriminante (période d'exposition de 1 heure)
Organochlorés	DDT	4 %
	Dieldrine[a]	0,4 % 4 %
Organophosphates	Malathion	5 %
	Fénitrothion[b]	1 %
	Primiphos-méthyle[c, d]	0,25 %
Carbamates	Propoxur	0,1 %
	Bendiocar[b]	0,1 %
	Carbosulfan[c, e]	0,4 %
Pyrethroids	Perméthrine	0,75 %
	Deltaméthrine	0,05 %
	Lambdacyhalothrine	0,05 %
	Cyfluthrine	0,15 %
	Étofenprox	0,5 %
	Alpha-cyperméthrine	0,05 %
	Bifentrine	0,2
Pyrroles	Chlorfénapyr[c, f]	5 %
Phenyl pyrazoles	Fipronil[c, g]	2 %

[a] Une exposition à la dieldrine concentrée à 0,4 % tue les individus sensibles (ss) mais pas les hétérozygotes résistants (Rs), tandis qu'une exposition à la dieldrine à 4 % tue les individus hétérozygotes (Rs) mais pas les homozygotes résistants (RR).
[b] Exposition pendant deux heures.
[c] Valeur provisoire ; à confirmer par WHOPES.
[d] D'après des données de l'industrie non publiées. 2006.
[e] D'après des données publiées par N'Guessan et al. (2003) [3] et Ahoua Alou et al. (2010).[4]
[f] D'après des données publiées par Raghavendra et al. (2011).[5]
[g] D'après des données publiées par Kolaczinski & Curtis (2001) [6] et Brooke et al. (2000).[7]

1. WHO 1998. Discriminating concentrations for adult mosquitoes (one hour exposure – WHO/CDS/CPC/MAL/98.12) et Série de rapports techniques de l'OMS N° 818 – http://www.who.int/whopes/resistance/en/Diagnostic_concentrations

2. *Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes.* Genève, Organisation mondiale de la Santé. Disponible à l'adresse : http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241505154/en/index.html.

3. N'Guessan R et al. Resistance to carbosulfan in Anopheles gambiae from Ivory Coast, based on reduced sensitivity of acetylcholinesterase, *Medical and Veterinary Entomology*, 2003, 17 (1) : 19-25.

4. Ahoua Alou LP et al. Distribution of ace-1R and resistance to carbamates and organophosphates in *Anopheles gambiae s.s.* populations from Côte d'Ivoire. *Malaria Journal*, 2010, 9 : 167.

5. Raghavendra K et al. Chlorfenapyr : a new insecticide with novel mode of action can control pyrethroid resistant malaria vectors. *Malaria Journal*, 2011, 10 (1) : 16.

6. Kolaczinski J and Curtis C. Laboratory evaluation of fipronil, a phenylpyrazole insecticide, against adult Anopheles (Diptera : Culicidae) and investigation of its possible cross-resistance with dieldrin in *Anopheles stephensi. Pest Management Science*, 2001,57 (1) : 41-45.

7. Brooke BD, Hunt RH, Coetzee M. Resistance to dieldrin + fipronil assorts with chromosome inversion 2La in the malaria vector *Anopheles gambiae. Medical and Veterinary Entomology*, 2000, 14 (2) : 190-194.

A4.3 Équipement et fournitures

A4.3.1 Composition du kit de test

12 tubes en matière plastique (125 mm de long et 44 mm de diamètre), chaque tube étant équipé à l'une de ses extrémités d'une toile métallique ou d'un filet de 16-mesh. Les 12 tubes comprennent :

- quatre tubes marqués d'une **pastille rouge** destinés à servir de tubes d'exposition, c'est à dire à l'exposition des moustiques aux papiers imprégnés d'insecticide ;
- deux tubes marqués d'une **pastille verte**, destinés à servir de tubes témoins, c'est-à-dire à l'exposition des moustiques aux papiers témoins imprégnés d'huile seulement, c'est-à-dire sans insecticide ;
- six tubes marqués d'une **pastille verte** destinés à servir de tubes d'observation, pour le tri avant le test et l'observation postexposition ;
- six raccords à plaque coulissante, pourvus d'un filetage de chaque côté et d'un orifice de remplissage de 15 mm ;
- 40 feuilles de papier propres (12 x 15 cm) pour tapisser les tubes d'observation ;
- 12 clips à ressort, 6 en acier et 6 en cuivre, pour tenir les papiers plaqués contre les parois des tubes, les 6 clips en acier étant utilisés avec les tubes d'observation porteurs d'une pastille verte et les 6 clips en cuivre avec les 4 tubes d'exposition marqués d'une pastille rouge et les deux tubes témoins portant une pastille jaune ;
- deux tubes d'aspiration en verre ou en matière plastique de 12 mm de diamètre interne, avec 60 cm de tube souple et des embouts buccaux ;
- un rouleau de ruban plastique auto-adhésif ou une feuille d'étiquettes ;
- une feuille d'instructions et 20 exemplaires du formulaire de rapport ;
- 3 feuilles de papier gausso-logarithmique pour tracer la droite de régression dans le cadre du calcul de la DL50 en portant des valeurs variables du temps pour une concentration constante ;
- un compteur pour dénombrer les moustiques lorsqu'ils quittent les tubes ;
- les papiers imprégnés d'un insecticide donné à la concentration discriminante sont emballés dans des boîtes en matière plastique, dont chacune contient 8 morceaux de papier (voir Figure An4.1).

Figure An4.1 **Matériel pour réaliser les tests de sensibilité et notamment boîte de papiers imprégnés d'insecticide**

A4.3.2 Papiers imprégnés d'insecticide

Les kits de test et les papiers imprégnés sont préparés à l'Université Sains Malaysia (Penang, Malaisie) à la demande de l'OMS. Les procédures et les conditions d'acquisition de ces articles sont spécifiées dans le document OMS *Supplies for monitoring insecticide resistance in disease vectors. Procedures and conditions.* [1]

Pour la surveillance systématique de la sensibilité aux insecticides, on n'utilise que des papiers imprégnés d'insecticides aux concentrations discriminantes. Pour chaque insecticide, les papiers imprégnés d'insecticide à la concentration discriminante sont emballés dans des boîtes en matière plastique. Chaque boîte contient 8 papiers imprégnés. Ceux-ci devront être conservés à 4 °C. Après les avoir utilisés, il faut immédiatement remettre les papiers dans leur boîte, resceller celle-ci soigneusement avec le ruban adhésif et la conserver à 4 °C en vue d'un usage ultérieur. Une température plus basse peut amener l'insecticide à cristalliser. On évitera aussi les stockages prolongés à plus haute température. Les papiers ne devront pas être utilisés au-delà de la date de péremption figurant sur la boîte. Cette date n'est valide que si l'emballage est maintenu scellé en permanence.

Pour établir la sensibilité de référence d'une espèce de moustiques, il est possible d'obtenir sur demande à l'Université Sains Malaysia des papiers imprégnés d'insecticide à une série de concentrations.

A4.4 Procédure et conditions de test

A4.4.1 Conditions générales s'appliquant aux moustiques devant subir les tests

L'âge, l'état physiologique et le sexe des moustiques, ainsi que la température à laquelle s'effectue l'exposition à l'insecticide, influent sur les résultats des tests de sensibilité. Par conséquent, il convient de respecter les conditions suivantes :

- En principe, on soumettra aux tests des femelles adultes d'âge connu non gorgées (3-5 jours après l'émergence). On peut obtenir des femelles d'âge connu :
  - en collectant des larves sur un certain nombre de gîtes larvaires pour éviter de prélever des individus issus d'un paquet d'œufs unique. Il convient de spécifier les types de gîtes. Les larves provenant du même endroit et du même type de gîte larvaire peuvent être regroupées avant les tests. Il convient de prélever des larves dans tous les types de gîtes larvaires.
  - à partir de la descendance F1 de femelles capturées dans la nature. La variabilité génotypique de la descendance d'une femelle étant limitée, le nombre de femelles capturées dans la nature doit être représentatif de la population (au moins 30 paquets d'œufs, plus si on a affaire à un mélange d'espèces).
- Lorsque les espèces ou les lieux ne se prêtent pas à la collecte de larves, les tests peuvent être pratiqués sur des femelles capturées dans la nature. Dans ce cas, l'état physiologique de celles-ci (à jeun/gorgées, semi-gravides, gravides) sera consciencieusement noté.
- Il est déconseillé d'utiliser des mâles pour le suivi de la résistance car ils sont habituellement plus petits, plus fragiles et donc plus sensibles que les femelles.
- Dans les situations où différentes espèces de moustiques coexistent, il est recommandé, dans la mesure du possible, d'identifier la composition en termes d'espèces des échantillons recueillis sur le terrain.

---

1. WHO, 2001. *Supplies for monitoring insecticide resistance in disease vectors. Procedures and conditions*. WHO/CDS/CPE/PVC/2001.2.

A4.4.2 Conditions générales s'appliquant aux procédures de test

- Environ 100 moustiques adultes devront être testés avec chaque insecticide à la concentration diagnostique, avec 4-5 réplications du test portant sur 20-25 moustiques par tube. Lorsqu'il est impossible de collecter autant de moustiques en une seule occasion ou en un seul jour, il faut procéder à plusieurs tests sur quelques jours pour atteindre ce nombre. Outre les moustiques testés, il faudra disposer de deux groupes (tubes) témoins (50 moustiques).
- Idéalement, les tests devraient être exécutés à une température de 25 ± 2 °C et avec une humidité relative (HR) de 80 ± 10 %. Ils ne devront jamais être effectués à une température supérieure à 30 °C.
- Pour les espèces de moustiques qui ne font pas l'objet d'un suivi systématique et/ou pour lesquelles on ne dispose pas de données de base, il est nécessaire d'établir une sensibilité de référence.
- Comme l'efficacité des papiers imprégnés décline avec le nombre d'utilisations et le nombre de moustiques testés, ces papiers ne devront pas être employés plus de 6 fois, ce qui correspond à l'exposition de 150 moustiques.

Le nombre de fois que l'on peut réutiliser les papiers imprégnés dépend de l'insecticide. Le nombre maximum d'utilisations des papiers imprégnés est de 15 pour les organochlorés, de 10 pour les organophosphorés et les carbamates et de 5 pour les pyréthrinoïdes.

A4.4.3 Procédure de test

1. Dans chaque tube d'observation, introduire un morceau de papier blanc propre (12 x 15 cm). Le papier devra être roulé sous forme cylindrique pour tapisser la paroi du tube et être maintenu en place par un clip à ressort (argent). Fixer le manchon fileté aux tubes.
2. Aspirer doucement les moustiques femelles pour les extraire de la cage à moustiques. Il convient de recueillir des femelles adultes non gorgées, 24 à 48 heures après l'émergence (voir Figure An4.2). Il ne faut pas collecter plus de 5 moustiques à chaque aspiration. Libérer doucement les moustiques dans le tube d'observation à travers l'orifice de remplissage (voir Figure An4.3). Introduire un tampon de coton dans l'orifice de remplissage. Remplir un tube d'observation avec 15-25 moustiques. Après cette opération, retirer le tampon de coton et refermer le dispositif de fermeture à plaque coulissante. On préparera au moins 4-5 tubes de réplication du test, contenant 20-25 moustiques chacun, ce qui représente au total au moins 100 moustiques femelles.

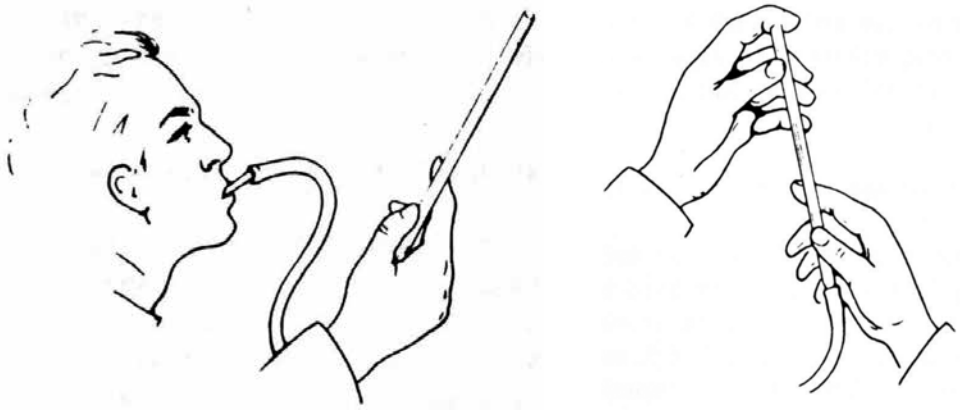


Figure An4.2 Aspiration des moustiques hors de la cage

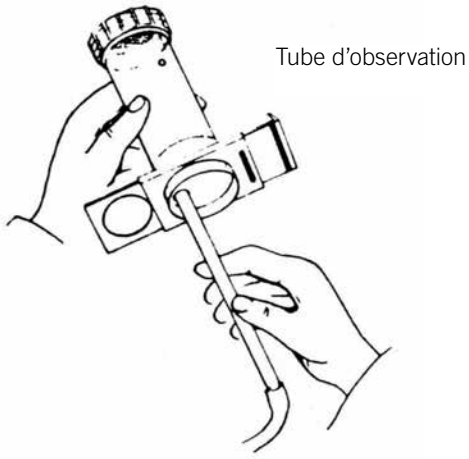


Figure An4.3 Libération des moustiques dans le tube d'observation

3. Placer les tubes en position verticale pendant une heure. À la fin de ce laps de temps, retirer tous les insectes endommagés.
4. Dans chacun des tubes d'exposition, introduire une feuille de papier imprégnée, enroulée sous forme de cylindre à l'intérieur du tube pour en tapisser la paroi, et fixer la feuille en place à l'aide d'un clip à ressort en cuivre approprié.
5. Introduire les moustiques dans le tube d'exposition en fixant ce tube à l'extrémité filetée libre du raccord à plaque coulissante. La plaque d'obturation coulissante doit être ramenée au delà de l'orifice de remplissage de manière à n'occlure aucunement les ouvertures des tubes. On transférera ensuite doucement les moustiques dans le tube d'exposition en soufflant vers le bas. Fermer le dispositif d'obturation. Détacher le tube d'observation et le garder en réserve (voir Figure An4.4).

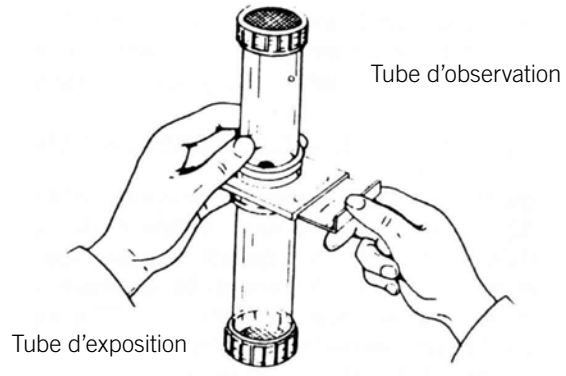


Figure An4.4 Introduction des moustiques dans le tube d'exposition

6. Pour tous les insecticides, tous les tubes d'exposition devront être maintenus verticaux (voir Figure An4.5) pendant la période d'exposition (60 minutes). Pour limiter le contact des moustiques attirés par la lumière avec la toile métallique fixée en haut des tubes, il est possible de placer dessus un morceau de carton.
7. À la fin de la période d'exposition, transférer les moustiques dans le tube d'observation en inversant la procédure. Ouvrir le dispositif d'obturation et souffler doucement sur les moustiques pour les faire passer dans le tube d'observation, fermer la plaque d'obturation

coulissante et retirer le tube d'exposition. Poser ensuite le tube d'observation de manière à ce qu'il repose sur la plaque d'obturation et placer un tampon de coton humide sur la toile métallique.

8. Conserver tous les tubes d'observation pendant 24 heures dans un endroit ombragé, de préférence dans un insectarium. Stocker tous les tubes dans des conditions d'éclairage diffus et modéré et d'humidité adéquates. On peut à cet effet placer les tubes dans un grand récipient et recouvrir le tout d'une serviette humide. La température et l'humidité devront être enregistrées pendant la période de récupération.

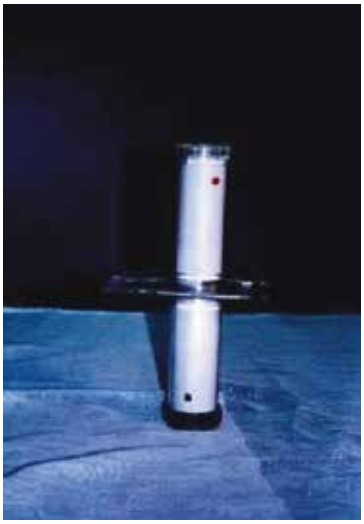


Figure An4.5 **Tubes d'exposition maintenus en position verticale**

9. La mortalité est mesurée 24 heures après l'exposition. Un moustique adulte devra être considéré comme vivant s'il est capable de voler quel que soit le nombre de pattes qui lui restent. Tous les moustiques « knocked-down » (assommés) et ceux ayant perdu des pattes ou des ailes seront considérés comme moribonds et devront être comptés pour morts (dans la nature de tels moustiques auraient probablement été la proie de prédateurs ou des fourmis). Les résultats devront être enregistrés dans le formulaire fourni.

10. Pour ce qui concerne les témoins, il faudra utiliser des papiers traités avec de l'huile pour réaliser quatre réplications du test. À cette fin, on utilisera : pour les organochlorés, une huile minérale, pour les organophosphorés et les carbamates, de l'huile d'olive et pour les pyréthrinoïdes, de l'huile de silicone.

A4.4.4 Enregistrement et analyse des données de tests de sensibilité

La Figure An4.6 présente un format d'enregistrement pour les données de tests de sensibilité, y compris les informations sur la zone étudiée, l'échantillon de moustiques, la méthode de collecte, l'état physiologique des moustiques, l'insecticide testé et les conditions de test.

A4.4.5 Calcul des taux de knock-down et de mortalité

Taux de knock-down

L'évaluation du taux de knock-down est faite dans les 60 minutes suivant l'exposition. Un moustique est considéré comme « knocked-down » (KD), s'il est incapable de se tenir debout ou de voler de manière coordonnée. Le tube contenant les moustiques peut être tapoté un petit nombre de fois avant la détermination finale.

Lorsqu'une résistance au knock-down intervient, il a été démontré que le taux de knock-down fournit un indicateur sensible pour la détection précoce d'une résistance.

Enregistrer les taux de knock-down des moustiques pendant une exposition est une opération simple. Au bout de 10 minutes d'exposition, le tube est manipulé doucement pour compter le nombre d'individus KD au fond du tube. Un décompte initial des moustiques KD est réalisé et suivi d'autres décomptes à 10, 15, 20, 30, 40, 50 et 60 minutes (juste avant le transfert dans le tube d'observation). Si au bout de 60 min, le taux de KD observé est inférieur à 80 %, il convient d'effectuer un autre décompte des moustiques dans le tube d'observation à 80 minutes. Face à des populations très sensibles, le décompte des KD devra être effectué plus fréquemment, toutes les 3 minutes.

Figure An4.6 Formulaire d'enregistrement des données concernant les tests de sensibilité sur le terrain

a. Informations concernant les tests de sensibilité

Code du village ☐☐☐ Numéro du test ☐☐☐☐ Date (jj-mm-aa) ☐☐☐☐☐☐

Nom de l'investigateur :..... Code de l'investigateur ☐☐☐

Informations concernant la zone

Pays :..... Province :.....

District :..... Commune :..... Village : .....

Positionnement GPS **UTM_X** ☐☐☐.☐☐☐ **UTM_Y** ☐☐☐.☐☐☐

Informations concernant l'échantillon

Espèces testées :..... Contrôle de l'espèce :.....

Sexe :..... Âge (jours) :..... (seulement si connue : colonie et F1)

Méthode de collecte

Se posant sur un humain à l'intérieur ☐ Au repos de nuit à l'intérieur ☐ Au repos le matin à l'intérieur ☐

Collecte sur le bétail ☐ Se posant sur un humain à l'extérieur ☐ Au repos de nuit à l'extérieur ☐

Autre : préciser..... Collecte de larves ☐ Descendance F1 ☐

Colonie ☐ Nom de la souche constituant la colonie :.....

État physiologique

Non gorgé ☐ Gorgé ☐ Semi-gravide ☐ Gravide ☐

Informations concernant l'insecticide testé

Insecticide testé :..... Date de péremption : ☐☐/☐☐/☐☐

Papiers imprégnés préparés par :..... Date de première ouverture de la boîte : ☐☐/☐☐/☐☐

Concentration :..... Nombre de fois où le papier est utilisé : ☐☐

Conditions de stockage : Température ambiante ☐ Réfrigérées ☐

Conditions de test

Période d'exposition : débutau bout de 12 heures		**Fin du test**	
Température °C	☐☐.☐	☐☐.☐	☐☐.☐
Humidité relative (%)	☐☐	☐☐	☐☐

b. Résultats de test : période d'exposition (minutes).....

Nbre exposés	Réplication 1		Réplication 2		Réplication 3		Réplication 4		Témoin 1		Témoin 2	
Nombre de moustiques « knocked down » (KD) après une exposition de plusieurs minutes												
	Réplication 1		**Réplication 2**		**Réplication 3**		**Réplication 4**		**Témoin 1**		**Témoin 2**	
	Nbre testés	Nbre KD	Nbre testés	Nbre KD	Nbre testés	Nbre KD	Nbre testés	Nbre KD	Nbre testés	Nbre KD	Nbre testés	Nbre KD
DÉBUT												
10 min												
15 min												
20 min												
30 min												
40 min												
50 min												
60 min												

c. Nombre de moustiques morts/vivants à la fin de la période d'observation (24 heures)

	Réplication 1	Réplication 2	Réplication 3	Réplication 4	Réplication 5	Témoin
Nbre morts						
Nbre vivants						

Les taux de knock-down en fonction de la durée d'exposition peuvent être ajustés selon un modèle Log-Probit pour obtenir le temps nécessaire pour que 50 % (ou 95 %) des moustiques soient KD.

Taux de mortalité

Habituellement, la mortalité est mesurée 24 heures après l'exposition. Un moustique est classé comme mort s'il est immobile ou incapable de se tenir debout ou de voler de manière coordonnée. Avec certains insecticides, tels que les pyréthrinoïdes, les moustiques ont tendance à perdre leurs pattes quelques heures après l'exposition. Cependant, les adultes sont considérés comme vivants s'ils sont en mesure de voler, quel que soit le nombre de pattes qui leur reste.

La mortalité en pourcentage à l'issue de la période de récupération de 24 heures devra être enregistrée sur le formulaire de rapport. La mortalité dans l'échantillon de test est déterminée en additionnant les nombres de moustiques morts dans le cadre des quatre réplications du test d'exposition et en exprimant le résultat sous forme de pourcentage du nombre total de moustiques exposés :

$$\text{Mortalité lors du test} = \frac{\text{Nombre total de moustiques morts}}{\text{Taille totale de l'échantillon}} \times 100$$

Un calcul similaire peut être effectué pour obtenir une valeur de la mortalité parmi les moustiques témoins. Si la mortalité chez les moustiques témoins est supérieure à 20 %, les résultats des tests doivent être écartés. Si la mortalité chez les témoins est supérieure à 5 % et inférieure à 20 %, la mortalité observée doit être corrigée en appliquant la formule d'Abbott comme suit :

$$\frac{\%\ \text{test mortality} - \%\ \text{control mortality}}{100 - \%\ \text{control mortality}} \times 100$$

Si la mortalité chez les moustiques témoins est inférieure à 5 %, elle peut être ignorée et aucune correction n'est nécessaire.

Lorsqu'on rapporte les décomptes de mortalité, il faut aussi indiquer la taille de l'échantillon et de préférence une estimation des intervalles de confiance à 95 %.

Interprétation des résultats des tests de sensibilité

- un taux de mortalité de 98 à 100 % indique une sensibilité.
- un taux de mortalité <98 % suggère la possibilité d'une résistance, qui doit faire l'objet d'investigations pour être confirmée.
- Si le taux de mortalité se situe entre 90 et 97 %, la présence de gènes de résistance dans la population de vecteurs doit être confirmée. Cette confirmation peut être obtenue en pratiquant des tests biologiques supplémentaires, avec le même insecticide et sur la même population ou encore sur la descendance de tous les moustiques survivants (élevés dans les conditions de vie d'un insectarium), et/ou en appliquant des épreuves moléculaires pour mettre en évidence des mécanismes de résistance connus. Si au moins deux tests supplémentaires font apparaître de manière cohérente un taux de mortalité inférieur à 98 %, la présence d'une résistance est confirmée.
- Si le taux de mortalité est inférieur à 90 %, la confirmation de l'existence de gènes de résistance dans la population testée par des tests biologiques supplémentaires peut ne pas être nécessaire à condition que 100 moustiques au minimum de CHAQUE espèce aient été soumis au test. Il convient néanmoins d'enquêter de manière plus poussée sur les mécanismes et la distribution de la résistance.
- Lorsque la présence d'une résistance est confirmée, il FAUT prendre des mesures anticipatives pour gérer la résistance aux insecticides et s'assurer que l'efficacité des insecticides utilisés pour lutter contre les vecteurs du paludisme est préservée.

Détermination de la sensibilité de référence

Pour l'ensemble des insecticides, la détermination de la sensibilité de référence d'une population de moustiques fait intervenir l'exposition des lots de moustiques à la dose diagnostique de l'insecticide concerné à des intervalles de temps successifs, obtenus en multipliant par deux la

durée du précédent, par exemple 2, 4, 8, 16, 32 et 64 minutes. Ces intervalles de temps devront être choisis de manière à donner, pour au moins une durée d'exposition, un taux de mortalité de 100 %, certaines durées produisant un taux de mortalité de 50 à 90 %, et au moins deux durées, un taux de mortalité de 5 à 50 %. Pour pouvoir tracer la droite de régression, les taux de mortalité correspondant aux durées d'exposition devront couvrir l'intervalle 5-99 %. Le Tableau An4.3 présente, à tire d'exemple, un ensemble de données permettant le tracé de la droite de régression et la mesure de la DL_{50}.

Tableau An4.3 Mortalité de moustiques anophèles exposés à du DDT à 4 % sur différents intervalles de temps

Durée d'exposition (minutes)	Moustiques		Mortalité (%)	Mortalité corrigée[b]
	Nbre testés	Nbre de morts[a]		
4	100	5	5 %	3 %
8	100	30	30 %	24 %
16	100	52	52 %	48 %
32	100	78	78 %	76 %
64	100	99	99 %	99 %
Témoins (64)	100	8	8 %	—

[a] Au-delà de 24 heures après l'exposition.
[b] Correction d'Abbott.

Le Tableau An4.4 présente les principaux paramètres de la droite de régression correspondant à l'exposition d'une espèce de moustique à la concentration discriminante d'un insecticide sur différents intervalles de temps.

Tableau An4.4 Paramètres de la droite de régression Probit pour des anophèles exposés à du DDT à 4 %

A	B ± SE	LT_{50}, 95 % I.C	LT_{90}, 9 5 % I.C	$\chi 2$ (df)	Valeur de p
-3,5	2,9 ± 0,2	14	37	5,9 (3)	<0,05
		16	44		
		17	54		

A = point d'intersection.

B ± SE = pente ± erreur-type

LT_{50}, 95 % I.C. = Durée d'exposition létale causant une mortalité de 95 %, intervalle de confiance.

LT_{90}, 95 % I.C = Durée d'exposition létale causant une mortalité de 90 %, intervalle de confiance.

χ^2 (df) = mesure l'hétérogénéité d'après la droite de régression, avec degré de liberté.

Pour tracer la droite de régression, on peut utiliser du papier gausso-logarithmique standard. Sur l'axe des X, on porte les intervalles de temps (4, 8, 16, 32, 64 minutes) et sur l'axe des Y, les données de mortalité transformées en probits (taux de mortalité de 50 % = 5 probits). À partir de la droite de régression, on peut calculer la DL50 (voir Figure An4.7). La droite de régression peut aussi être tracée par des programmes informatiques comme HG3 ou Excel.

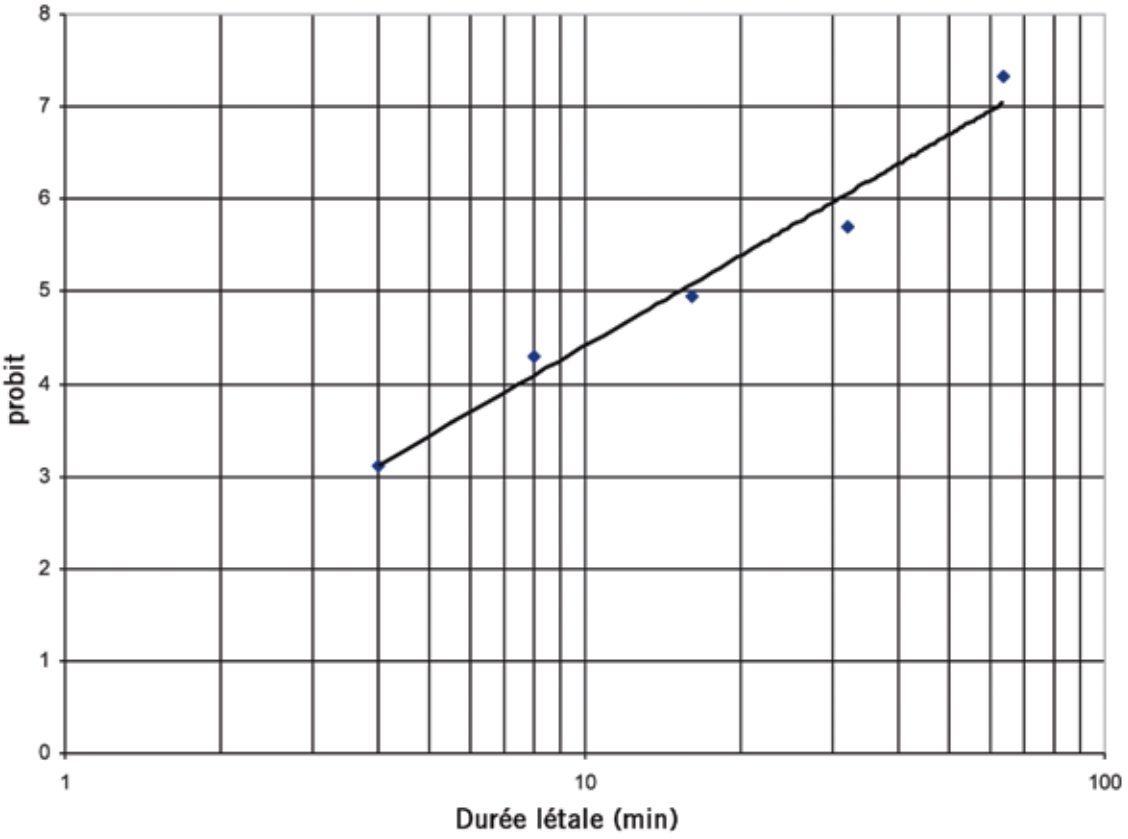


Figure An4.7 Droite de régression Probit pour des anophèles exposés à du DDT à 4 %

ANNEXE 5

Protocole pour la détermination de la sensibilité des larves de moustiques aux insecticides

A5.1 Introduction

Les opérations larvicides peuvent constituer une intervention utile dans le cadre des programmes de lutte antipaludique, en particulier dans les zones où les gîtes larvaires sont peu nombreux et fixes et où il est possible de les trouver. En Afrique subsaharienne, ces critères sont souvent remplis en milieu urbain, où les opérations larvicides peuvent être mises en œuvre en complément d'autres interventions de lutte antivectorielle. Les insecticides recommandés par l'OMS pour la destruction des larves sont recensés au Tableau 5.11 de l'Unité d'apprentissage 5 dans le Guide du participant.

L'objectif de ce test de sensibilité est de permettre aux programmes de lutte de prendre des mesures anticipatives pour gérer la résistance à travers une rotation dans l'utilisation des insecticides, visant à maintenir l'efficacité des interventions/outils de lutte antivectorielle disponibles. Il existe deux méthodes pour déterminer le statut de sensibilité des larves de moustiques aux insecticides. La première nécessite des contrôles de routine avec une concentration diagnostique (discriminante) du larvicide, méthode facile à mettre en œuvre par les techniciens. La seconde requiert la détermination d'une valeur de référence et le calcul de la CL_{50} à partir de la droite de régression au cours du temps ; cette méthode est moins facile à appliquer et exige du personnel bien formé et méticuleux.

A5.2 Concentrations discriminantes des larvicides

Le Tableau An5.1 présente les concentrations discriminantes utilisées pour les larves de moustiques vecteurs du paludisme. Pour les autres larvicides figurant dans ce tableau, les dosages diagnostiques devront être calculés pour chaque espèce locale.

Tableau An5.1 Dosages diagnostiques expérimentaux pour les larves de moustiques anophèles (mg/l=ppm)

	Concentrations discriminantes
Malathion	3,125
Fénitrothion	0,125
Fenthion	0,05
Téméphos	0,25
Chlorpyrifos	0,025

A5.3 Composition du kit de test

- 24 béchers de 400 ml
- 24 béchers de 30 ml
- Une micropipette de 1 ml
- Embouts de micropipette en nombre suffisant
- 5 compte-gouttes avec tubulure d'aspiration en caoutchouc
- 5 tamis [2 boucles métalliques, 1 morceau de toile de nylon (30 cm^2) et 1 tube de colle]
- Compteur manuel
- Différentes solutions de larvicide (en flacons de 20 ml)
- Solvant pour pesticide (normalement de l'éthanol)

Figure An5.1 Composition du kit de test pour la détermination de la sensibilité des larves

- Feuille d'instructions
- Feuilles de papier gausso-logarithmique pour l'enregistrement de la mortalité
- Thermomètre à eau
- Plateau d'élevage des larves

La composition de ce kit de test est présentée sur la Figure An5

A5.4 Procédure de test

- Capturer sur le terrain des larves de la même espèce d'anophèle en nombre suffisant à l'aide d'une louche ou d'une épuisette (Figure An5.2).
- Verser les larves avec précaution dans un récipient destiné à leur transport au laboratoire. S'assurer qu'elles sont bien traitées, qu'elles ont de l'air en abondance et qu'elles ne se réchauffent pas de trop.

Figure An5.2 Capture de larves de moustiques dans des gîtes larvaires

- Au laboratoire, transférer les larves sur un plateau.

- Maintenir les larves dans une pièce à 25 °C.
- Identifier la composition du lot de larves et les espèces qui le constituent.
- Sélectionner des larves en bonne santé de l'espèce voulue, par exemple du principal vecteur du paludisme dans la région.
- On écartera toute larve ayant un aspect anormal comme celles paraissant en mauvaise santé.
- On ne sélectionnera pour le test que des larves parvenues au 3e ou au début du 4e stade larvaire.
- Libérer 20 à 25 larves dans un petit bécher (30 ml) en utilisant un chinois ou un compte gouttes.
- Compléter à 25 ml avec de l'eau.
- Verser 224 ml d'eau dans un bécher de 400 ml (eau distillée, eau de pluie ou eau du robinet ; même l'eau provenant d'un puits ou d'un cours d'eau peut convenir, mais pas de l'eau dure ou chlorée fournie par le réseau). Certaines espèces telles que les moustiques vivant dans les marais salants ou les trous d'arbre devront être transférées dans de l'eau recueillie dans les gîtes larvaires et exempte d'insecticide, que l'on aura filtrée pour éliminer les détritus organiques.
- Prélever 1 ml de solution mère d'insecticide (par exemple à 1000 ppm) à l'aide d'une micropipette.
- L'introduire dans un grand bécher (dont le volume total atteindra 225 ml). La solution finale d'insecticide à laquelle les larves seront exposées aura une concentration de 4 ppm (1000/250).
- Attendre 15 à 30 minutes après avoir préparé la solution de test.
- Mesurer la température de l'eau (la température optimale pour le test est de 25 °C). Elle doit se situer entre 20 °C et 30 °C.
- Ajouter 25 ml d'eau contenant 25 larves dans un grand bécher (de volume total 250 ml).
- Laisser les larves dans cet environnement pendant 24 heures.
- Écarter les larves qui se sont transformées en nymphes pendant le test. Si plus de 10 % des larves témoins se transforment en nymphes au cours de l'expérience, le test ne devra pas être retenu. Les tests dans lesquels la mortalité chez les sujets témoins atteint 20 % ou plus sont insatisfaisants et devront être refaits.
- Enregistrer le nombre de larves mortes ou moribondes au bout de 24 heures pour chaque réplication du test. Avant le décompte de mortalité, souffler doucement à la surface de l'eau et attendre 2 à 3 minutes. Si les larves sont mortes, il est impossible de les faire bouger en les sondant avec une aiguille au niveau du siphon ou dans la région cervicale. On reconnaît les larves moribondes à ce qu'elles sont incapables de remonter à la surface dans un laps de temps raisonnable. Elles peuvent alors présenter une décoloration, une position peu naturelle, des tremblements, un manque de coordination ou une rigidité.
- Pour chaque concentration diagnostique, on pratiquera au moins 4 réplications du test faisant intervenir au total 100 larves de moustique.
- On réalisera au moins deux réplications du test avec des larves témoins.

A5.4.1 Détermination de la sensibilité de référence

Pour l'ensemble des insecticides, la détermination de la sensibilité de référence d'une population de larves de moustiques fera intervenir l'exposition de lots de larves à différentes concentrations de ces insecticides selon une série dont le terme courant est obtenu en multipliant par 2 le précédent, par exemple : 2, 4, 8, 16, 32, 64 mg/l (ppm) (Figure An5.3 et An5.4).

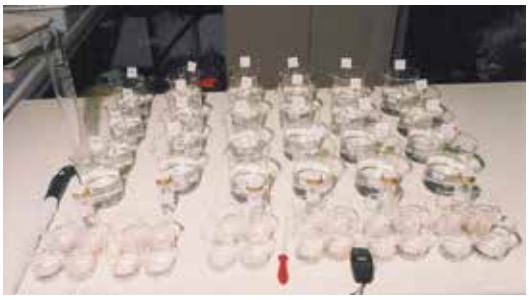


Figure An5.3 **Exposition de larves de moustiques à différentes concentrations intermédiaires d'insecticides**

On choisira les concentrations intermédiaires de manière à ce qu'une période au moins donne un taux de mortalité de 100 %, à ce que certaines fournissent un taux de mortalité de 50 à 90 % et à ce qu'au moins deux périodes produisent un taux de mortalité de 5 à 50 %. Pour tracer la droite de régression, les taux de mortalité pour les concentrations intermédiaires devront couvrir l'intervalle 5-99 % (Tableau An5.3).

Figure An5.4 **Exposition de larves de moustiques à différentes concentrations intermédiaires d'insecticides (pour certains insecticides comme les pesticides biologiques et les RCI, il est possible d'utiliser des gobelets en plastique)**

Tableau An5.3 Mortalité des larves d'anophèles exposées à un larvicide à différentes concentrations intermédiaires

Durée de l'exposition (minutes)	Larves de moustique		Mortalité en %	Mortalité corrigée (correction d'Abbott)
	Nbre testés[a]	Nbre morts[b]		
4	100	5	5 %	3 %
8	100	30	30 %	24 %
16	100	52	52 %	48 %
32	100	78	78 %	76 %
64	100	99	99 %	99 %
Témoins (64)	100	8	8 %	_

[a] Nombre de larves testées
[b] Nombre de larves mortes au bout de 24 heures.

Pour tracer la droite de régression, il est possible de faire appel à un programme informatique, à d'autres logiciels comme SPSS ou à du papier gausso-logarithmique. Le Tableau An5.4 présente les principaux résultats d'une analyse par la méthode des probits d'une expérience dans laquelle on expose des larves à différentes concentrations d'insecticide.

Tableau An5.4 Analyse par la méthode des probits de l'exposition de larves d'anophèles à différentes concentrations de larvicide

A	B ± SE	DL_{50}, IC à 95 %	DL_{90}, IC à 95 %	χ^2 (df)	Valeur de p
-3,5	2,9 ± 0.2	14	37	5,9 (3)	<0,05
		16	44		
		17	54		

A = point d'intersection
B ± SE =pente ± erreur-type
CL_{50}, IC à 95 % = concentration létale causant une mortalité de 50 %, intervalle de confiance à 95 % ; CL_{90}, IC à 95 % = concentration létale causant une mortalité de 90 %, intervalle de confiance à 95 % ; ; χ^2 (df) = hétérogénéité d'après la droite de régression avec degré de liberté.

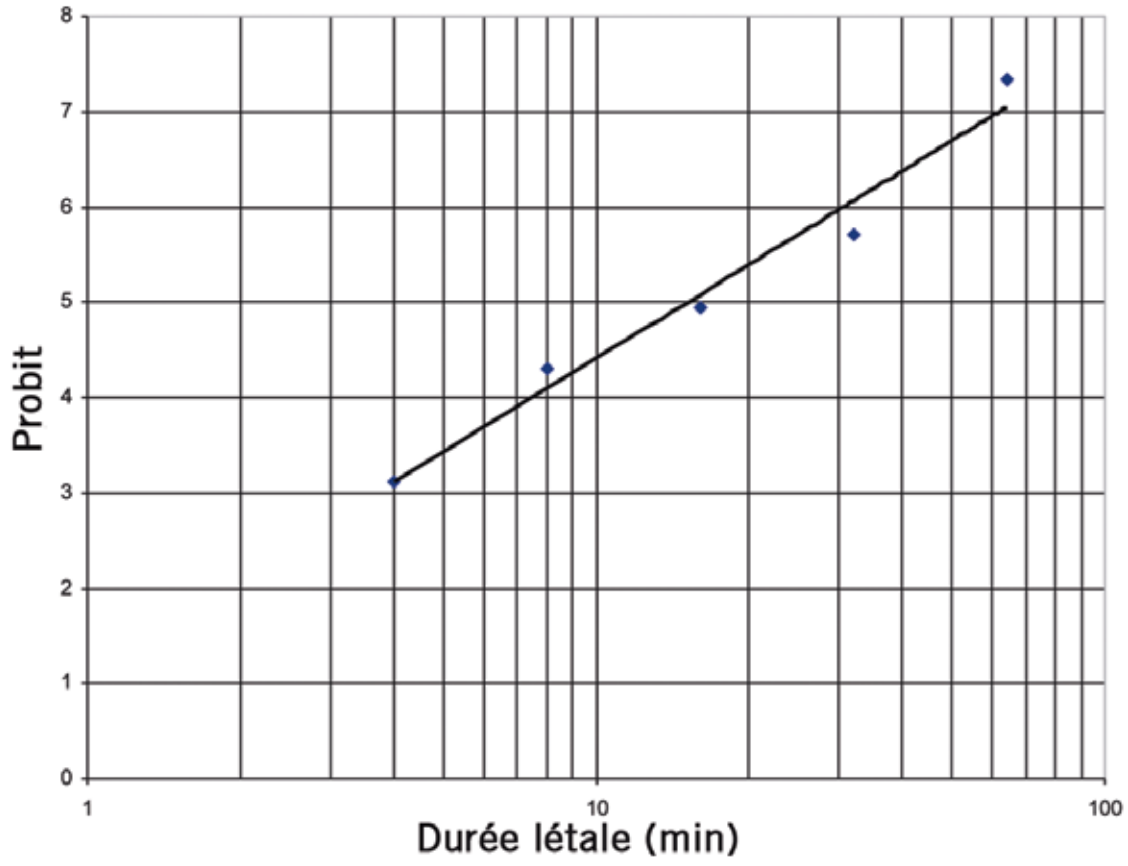


Figure An5.5 Droite de régression Probit tracée à partir des résultats de l'exposition d'anophèles à différentes concentrations intermédiaires de larvicide

Pour tracer la droite de régression, on peut employer du papier gausso-logarithmique standard. Porter les concentrations intermédiaires (4, 8, 16, 32, 64 mg/l) selon l'axe des X et la mortalité sur l'échelle probit utilisée comme axe des Y. Ici, un taux de mortalité de 50 % correspond à 5 probits. À partir de la droite de régression, on peut calculer la CL50 (Figure An5.5). Il est également possible de tracer cette droite en utilisant HG3, Excel, SPSS ou un autre programme statistique.

A5.4.2 Analyse des résultats du test de sensibilité

On enregistrera sur le formulaire de rapport le taux de mortalité en pourcentage à l'issue de la période de récupération de 24 heures. On calculera la mortalité dans l'échantillon de test en additionnant les nombres de larves mortes sur les 4 réplications du test d'exposition et on l'exprimera en pourcentage du nombre total de larves de moustique exposées :

$$\text{Mortalité lors du test} = \frac{\text{Nombre total de moustiques morts}}{\text{Taille totale de l'échantillon}} \times 100$$

On effectuera un calcul similaire pour obtenir une valeur de la mortalité chez les larves témoins. Si le taux de mortalité chez ces larves témoins est supérieur à 20 %, les tests ne devront pas être retenus. S'il est supérieur à 5 % et inférieur à 20 %, on corrigera la mortalité observée en appliquant la formule d'Abbott comme suit :

$$\frac{\text{\% mortalité lors du test} - \text{\% mortalité chez les témoins}}{100 - \text{\% control mortality}} \times 100$$

Si la mortalité chez les témoins est inférieure à 5 %, elle peut être ignorée et aucune correction n'est nécessaire. En rapportant les décomptes de mortalité, on indiquera toujours la taille de l'échantillon et de préférence également une estimation des intervalles de confiance à 95 %.

A5.4.3 Interprétation des résultats des tests de sensibilité

Dans les conditions optimales correspondant notamment à une taille d'échantillon>100 larves de moustique, les résultats de test peuvent être interprétés comme suit :

- un taux de mortalité de 98 à 100 % indique une sensibilité.
- un taux de mortalité <98 % suggère la possibilité d'une résistance qui nécessite des investigations plus poussées pour être confirmée.
- lorsque le taux de mortalité est compris entre 90 et 97 %, la présence de gènes de résistance dans la population de vecteurs est à confirmer.
- si le taux de mortalité est inférieur à 90 %, la confirmation de l'existence de gènes de résistance dans la population testée par des épreuves biologiques supplémentaires peut ne pas être nécessaire à condition que 100 moustiques au minimum de CHAQUE espèce aient été testés. Cependant, des investigations plus poussées des mécanismes et de la distribution de la résistance devront être entreprises.
- Lorsque la présence d'une résistance est confirmée, des mesures anticipatives doivent être prises pour gérer la résistance aux insecticides et s'assurer que l'efficacité des insecticides employés pour lutter contre les vecteurs du paludisme est préservée.

A5.4.4 Précisions sur l'insecticide utilisé

- Nom du larvicide
- Année d'introduction
- Formulation
- Dosage
- Fréquence d'application
- Année de fin des applications
- Nombre total de tournées d'application
- Nom de l'investigateur
- Pays
- Zone
- Localité
- Date de réalisation du test
- Espèces
- Lieu de capture des larves
- Température
- Nom de l'insecticide
- Concentration de l'insecticide

ANNEXE 6

Procédures de test pour déterminer l'effet rémanent des insecticides à la surface des murs

A6.1 Introduction

L'efficacité d'une pulvérisation intradomiciliaire à effet rémanent (PIR) dépend d'un ensemble complexe de facteurs. Parmi ces facteurs, figurent les propriétés de l'insecticide (y compris sa toxicité, son mode d'action, sa stabilité et sa volatilité), ainsi que ses effets sur les vecteurs. L'effet de la pulvérisation dépend aussi de la nature des surfaces sur lesquelles elle est effectuée, du type de construction du logement, du nombre d'animaux domestiques et du type des constructions abritant des animaux, de l'écologie locale, ainsi que des comportements des vecteurs et de la population humaine. Les insecticides recommandés par l'OMS pour les pulvérisations intradomiciliaires sont recensés dans le Tableau 5.8 de l'Unité d'apprentissage 5 dans le *Guide du participant*.

Le principal objectif de l'épreuve biologique est d'évaluer le pouvoir d'un dépôt d'insecticide contre des moustiques adultes, à différents moments après son application sur diverses surfaces et de déceler ainsi une baisse effective de l'effet toxique de ce dépôt, du fait de son vieillissement, des phénomènes de sorption (absorption et adsorption) ou d'autres facteurs. Ce test est conçu pour fournir des informations susceptibles d'aider à :

- comparer les actions rémanentes de différents insecticides ou formulations d'insecticide ;
- déterminer si la pulvérisation a été effectuée de manière satisfaisante.

Cette méthode ne va pas mesurer la quantité d'insecticide subsistant sur le mur. Elle ne mesure pas non plus le taux global de mortalité des vecteurs obtenu pendant la campagne, qui ne peut être évalué que par d'autres mesures entomologiques dans la zone.

Il est recommandé, dans la mesure du possible, d'associer à cette épreuve biologique d'autres méthodes complémentaires comme la capture dans des pièges de fenêtre ou des tests de survie. Cette recommandation vaut tout particulièrement dans les situations où l'épreuve biologique sert à déterminer le moment où un dépôt d'insecticide sur une surface donnée perd son pouvoir, pour décider du dosage approprié de l'insecticide ou de l'espacement des cycles de pulvérisations pour une lutte antivectorielle efficace. Cette méthode ne se prête pas à la mesure de la sensibilité ou de la résistance d'une population. C'est la raison pour laquelle ce test fait appel à des moustiques élevés en laboratoire d'âge et de sensibilités connus.

A6.2 Équipement et procédure de test

Pour tout insecticide donné, le premier test d'évaluation devra être effectué dans les jours suivants son application ou dès que le dépôt est complètement sec. Lorsqu'il est prévu de réaliser une autre application d'insecticide sur une zone antérieurement traitée et qu'on ne dispose pas de données de test biologique, il est conseillé d'effectuer le test biologique au préalable pour déterminer le pouvoir du dépôt présent. Les tests devront être menés à une échelle adaptée et à intervalles réguliers. Il est nécessaire de tester et d'évaluer séparément le pouvoir d'un dépôt d'insecticide sur chaque type principal de surface de repos correspondant à une surface de nature donnée. Pour une journée donnée, il faudra sélectionner au moins 10 points diversement situés. Ils devront être répartis entre plusieurs logements, dont aucun ne doit contenir plus de 3 points. Tous les 10 tests, il convient de réaliser 2 réplications témoins.

Les tournées témoins sont exécutées à une distance appropriée des lieux de pulvérisation (plus de 100 m) et sur une surface non traitée. À cette fin, l'investigateur pourra avoir avec lui un stock de fiches cartonnées ou du matériel similaire non traité, qui sera mis au rebut après chaque test.

Si le principal objectif est de déterminer le rythme auquel s'opère la perte de pouvoir du dépôt, il est avantageux d'utiliser les mêmes points pour l'ensemble des séries de tests. Ces points devront donc être marqués soigneusement lors de la première exécution des tests, en prenant soin de ne pas frotter ou endommager de quelque façon le dépôt au niveau de ces points pendant les tests. Si l'on sélectionne d'autres points pour des tests ultérieurs, on acquerra plus d'informations sur le pouvoir global du dépôt d'insecticide sur les types de surface examinés.

Après l'épreuve biologique initiale, des tests ultérieurs devront être pratiqués à intervalles d'au moins un mois. Pour que leurs résultats soient comparables, il est préférable d'effectuer des tests successifs au même moment de la journée. On utilisera pour l'épreuve biologique une souche de sensibilité déterminée et des moustiques d'âge connu. Pour ce faire, il faudra laisser pondre des moustiques femelles capturés dans la nature et tester leur descendance F1 sous l'angle de la résistance. Si la sensibilité de cette descendance est confirmée, on l'utilisera pour maintenir une colonie dans le laboratoire ou l'insectarium. C'est la colonie de moustiques qui servira à l'épreuve biologique à la surface des murs.

A6.3 Composition des kits de test

- 24 chambres coniques en matière plastique transparente, de 8,5 cm de diamètre à la base et 5,5 cm de hauteur
- 10 tubes d'aspiration en verre dur, de 1 cm de diamètre externe (dont l'une des extrémités est courbée pour faciliter le retrait des moustiques de la chambre d'exposition), accompagnés d'une tubulure en caoutchouc ou en matière plastique de 60 cm. Ces tubes se prêtent à la manipulation de moustiques de taille ordinaire. Pour les espèces de très grande taille, on utilisera des tubes de 12 mm de diamètre interne. Ces tubes pourront être en verre ou en matière plastique transparente.
- 10 tubes d'aspiration en verre droits. La meilleure solution pour charger les chambres d'exposition est d'utiliser un tube droit en verre ou en matière plastique de diamètre approprié.
- des rouleaux de ruban adhésif en mousse large et étroit.
- 1 boîte de clous de tapissier à large tête.
- 1 boîte de petites aiguilles.
- Feuille d'instructions.

A6.4 Procédure de test

1. Choisir le point de la surface murale où la chambre d'exposition sera fixée. Quatre chambres d'exposition seront fixées en hauteur (70 cm au-dessous du toit), 4 à hauteur moyenne et 4 dans la partie inférieure du mur (60-70 cm au-dessus de la surface du sol de la pièce) (Figure An6.1).

Figure An6.1 **Chambres d'exposition fixées dans différentes parties des surfaces murales**

2. La chambre d'exposition devra être fixée avec un dispositif approprié permettant de la maintenir de manière étanche contre la surface. Il est souvent avantageux de fixer une bande en matière plastique sur l'embase de la chambre d'exposition et de la laisser à demeure. Il est possible d'utiliser des aiguilles pour fixer les cônes sur des surfaces dures. Il faut veiller à ne pas faire glisser la chambre sur la surface pendant sa fixation ou son retrait.

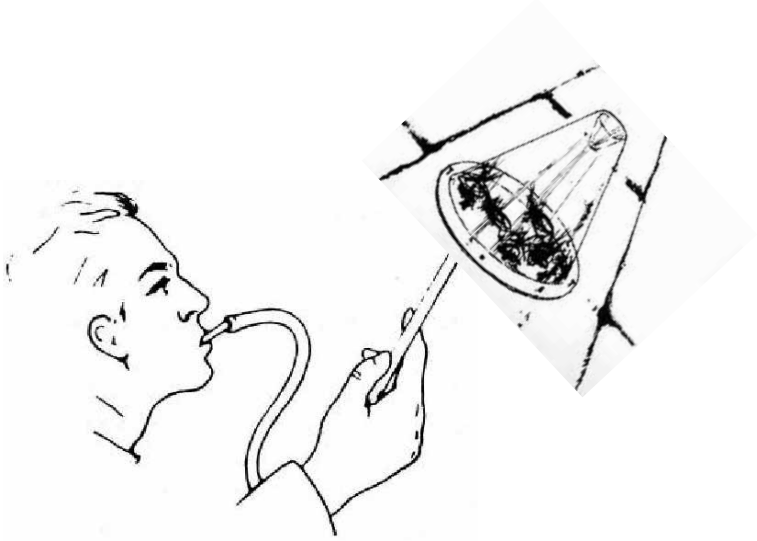


Figure An6.2 **Libération des moustiques dans la chambre d'exposition à l'aide d'un tube d'aspiration droit**

3. Libérer dans chaque chambre 10 moustiques femelles gorgés de sang avec un tube de chargement droit en soufflant doucement. Il faut prendre grand soin à ne pas toucher la surface testée avec l'extrémité du tube (Figure An6.2).

Figure An6.3 **Collecte des moustiques à l'aide d'un aspirateur courbé à la fin de la période d'exposition**

4. La cage contenant le stock de moustiques à utiliser dans les épreuves biologiques ne devra jamais être amenée à l'intérieur d'un logement traité avec un insecticide. Elle devra être laissée sur une surface exempte d'insecticide à l'extérieur du logement. Les cages devront être manipulées avec précaution pour éviter leur contamination par un insecticide via les mains de l'opérateur.
5. Laisser les chambres sans intervenir pendant 30 minutes.
6. À la fin de la période d'exposition, capturer avec précaution les moustiques à l'aide d'un tube d'aspiration coudé (Figure An6.3).
7. Les transférer immédiatement dans le récipient destiné à les recevoir, qui peut être un gobelet en carton ou en matière plastique (Figure An6.4).

Figure An6.4 **Récipients utilisés pour recevoir les moustiques pendant la période de récupération de 24 heures**

8. La température de la pièce et l'humidité relative (HR) sont enregistrées au début et à la fin de chaque test journalier et à intervalles d'une heure pendant la période de travail.
9. Maintenir les gobelets de récupération pendant 24 heures dans un endroit ombragé et à l'écart, où la température ne dépasse pas 30°C. Il est recommandé de conserver ces gobelets dans un insectarium dans la mesure du possible ou sinon de maintenir un certain degré d'humidité en utilisant une serviette humide.
10. Les mêmes opérations devront être effectuées pour les témoins. Les chambres sont fixées dans une pièce similaire à celle ayant accueilli les cônes de test, mais sans application d'insecticide.
11. Au bout de 24 heures, remplir le formulaire fourni concernant les nombres de moustiques morts et vivants. La mortalité observée (%) devra être enregistrée pour chaque test individuellement.

A6.4.1 Résultats et interprétation

Au bout de 24 heures, on décompte les moustiques morts et vivants. Il est essentiel d'enregistrer la mortalité observée pour chaque test individuellement. Si la mortalité chez les témoins est supérieure à 10 %, il est recommandé d'augmenter le nombre de témoins dans les séries de tests ultérieures à 4 pour chaque série de 10 tests. Si les taux de mortalité chez les témoins excèdent 20 %, on considérera les séries de tests comme insatisfaisantes et on les recommencera.

On détermine la moyenne de la mortalité en différents points (pour un type de surface seulement). Si la mortalité chez les témoins est comprise entre 5 et 20 %, on corrige la moyenne de la mortalité observée en appliquant la formule d'Abbott :

$$\frac{\%\ \text{mortalité lors du test} - \%\ \text{mortalité chez les témoins}}{100 - \%\ \text{control mortality}} \times 100$$

On calculera la mortalité moyenne avec son écart-type (ET) pour chaque partie du mur. De grandes différences dans les taux de mortalité entre un point et un autre peuvent refléter des irrégularités dans la pulvérisation ou un différentiel dans le rythme de diminution du pouvoir du dépôt, imputable à la composition particulière de la surface, à la suie déposée par les feux domestiques, à un microclimat ou à d'autres variables locales.

Les tests devront être poursuivis jusqu'à ce qu'on observe une baisse marquée de la mortalité des moustiques à 70 %. Il est ainsi possible de déterminer la durabilité des insecticides sur des surfaces traitées. Une fois cette situation atteinte, une application d'insecticide frais peut s'avérer nécessaire.

A6.4.2 Informations requises

Nom de l'insecticide .....

Dosage de l'insecticide .....

Date de la pulvérisation.....

Lieu de la pulvérisation .....

Province..... Pays..... Ville..... Village.....

Date du test .....

Type de surface :

- ☐ terre
- ☐ bois
- ☐ plâtre
- ☐ ciment
- ☐ feuilles de palmier
- ☐ chaume
- ☐ autre

Température .....

Humidité .....

Numéro de la chambre	Lieu où est fixée la chambre	Nbre de moustisques	Nbre de moustiques morts	Mortalité (%)	Mortalité corrigée
1	Partie haute				
2	Partie haute				
3	Partie haute				
4	Partie haute				
5	Hauteur moyenne				
6	Hauteur moyenne				
7	Hauteur moyenne				
8	Hauteur moyenne				
9	Partie basse				
10	Partie basse				
11	Partie basse				
12	Partie basse				

A6.4.3 Détermination de la teneur en insecticide appliquée par unité de surface

Pour déterminer la teneur en insecticide par unité de surface, on délimite une surface de 100 cm^2 sur un mur en terre traité en utilisant un cadre en métal de 10 x 10 cm et un instrument pointu et propre. On collecte des échantillons de terre dans la zone de 100 cm^2 inscrite, à une profondeur uniforme de 1 mm, au moyen d'un burin propre. Il est possible d'utiliser une pelle à poussières de ménage, tenue fermement contre le mur immédiatement au-dessous de la zone délimitée, pour recevoir les échantillons. Des échantillons similaires de 100 cm^2 peuvent être découpés dans le chaume ou d'autres surfaces. Dans le cas des surfaces qui ne peuvent subir de prélèvements, il est possible de fixer au mur du papier filtre Whatman N° 1 avant le traitement pour échantillonner la matière pulvérisée. Néanmoins, comme les opérateurs pulvérisent souvent de plus fortes doses sur ces morceaux de papier, une supervision étroite est nécessaire.

Les échantillons seront transférés dans des tubes à essai en verre ou sur une feuille d'aluminium épaisse, puis enveloppés soigneusement. Chaque échantillon devra être placé dans un sac en matière plastique solidement scellé. Il faudra inscrire sur ce sac le nom du village et du foyer, la date d'application de l'insecticide (si disponible), la date de collecte, l'endroit où le mur a fait l'objet d'un prélèvement (partie haute, hauteur moyenne, partie basse, par exemple). Cette dernière information est particulièrement importante pour relier les résultats de l'analyse chimique à l'aire de la surface. Les échantillons pourront être expédiés pour l'analyse à un établissement de référence pertinent.

Cette opération est essentielle pour contrôler la bonne application de l'insecticide sur la surface traitée. L'information correspondante peut être reliée à l'efficacité biologique déterminée à partir des données du test biologique et étayer l'interprétation de cette efficacité.

ANNEXE 7

Procédures de test pour déterminer l'efficacité rémanente des insecticides sur les moustiquaires traitées

A7.1 Introduction

Les pyréthrinoïdes sont les seuls insecticides actuellement recommandés pour le traitement des moustiquaires. Cette recommandation s'explique par l'effet knock-down rapide et le fort pouvoir insecticide de ces produits à faible dosage, ainsi que par leur relative innocuité dans le cadre des contacts avec l'homme et de la manipulation domestique. La présente annexe contient les protocoles des méthodes d'épreuve biologique destinées à évaluer l'efficacité et la stabilité des pyrétrinoïdes sur des moustiquaires.

A7.2 Méthodes d'épreuve biologique

Il existe trois méthodes pour la détermination de l'efficacité biologique des pyrétrinoïdes sur des moustiquaires traitées :

- Test faisant appel à des tubes d'observation et d'exposition de l'OMS tels qu'utilisés pour les tests de sensibilité sur des moustiques adultes
- Test faisant appel à des cônes de l'OMS
- Test faisant appel à un dispositif constitué d'une toile montée sur un cadre métallique sphérique

A7.2.1 Test faisant appel à des tubes d'observation et d'exposition de l'OMS

Test procedure

- Dans chacun des tubes d'observation, introduire un morceau de papier blanc (12 x 15 cm). Les morceaux de papier devront être enroulés sous forme de cylindre pour tapisser les parois de chaque tube et maintenus en place par un clip à ressort (argent). Fixer les raccords à plaque d'obturation coulissante aux tubes.
- Aspirer doucement des moustiques femelles adultes de sensibilité et d'âge connus pour les extraire de la cage à moustiques (voir Figure An7.1). Il convient de recueillir des femelles adultes non gorgées, 24 à 48 heures après l'émergence. À chaque aspiration, on ne capturera pas plus de 5 moustiques. Libérer doucement les moustiques dans les tubes d'observation à travers l'orifice de remplissage (voir Figure An7.2). Introduire ensuite un tampon de coton dans cet orifice. Remplir un tube d'observation avec 15 à 25 moustiques. Après cette opération, retirer le tampon de coton et refermer le

Figure An7.1 Aspiration des moustiques pour les extraire de la cage

raccord à plaque d'obturation coulissante. On préparera au moins 4-5 tubes pour répliquer le test à l'identique, qui contiendront chacun 20-25 moustiques, ce qui permettra de tester au total au moins 100 moustiques femelles. S'il n'est pas possible de collecter autant de moustiques en une seule fois, réaliser plusieurs tests étalés sur quelques jours pour atteindre ce total.

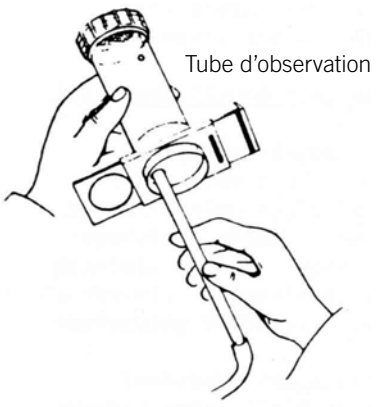


Figure An7.2 **Libération des moustiques dans les tubes**

- Placer les tubes en position verticale pendant une heure. À la fin de ce laps de temps, retirer tous les insectes endommagés.
- Dans chacun des tubes d'exposition, introduire une feuille de papier, puis un morceau de toile imprégnée, enroulé sous forme de cylindre, pour tapisser les parois du tube et fixer le dispositif en place à l'aide d'un clip à ressort en cuivre approprié.
- Introduire les moustiques dans le tube d'exposition en fixant ce tube à l'extrémité filetée libre du raccord. La plaque d'obturation coulissante doit être ramenée au-delà de l'orifice de remplissage de manière à ne pas occlure du tout les ouvertures de tube. On transférera ensuite doucement les moustiques dans le tube d'exposition en soufflant vers le bas. Fermer le dispositif d'obturation. Détacher le tube d'observation et le garder en réserve.
- Pour tous les insecticides, l'ensemble des tubes d'exposition devront être maintenus verticaux pendant la période d'exposition (3 minutes).
- À la fin de la période d'exposition, transférer les moustiques dans le tube d'observation en inversant la procédure ci-dessus. Ouvrir le dispositif d'obturation et souffler doucement sur les moustiques pour les faire passer dans le tube d'observation, fermer la plaque d'obturation coulissante et retirer le tube d'exposition. Poser ensuite le tube d'observation de manière à ce qu'il repose sur la plaque d'obturation et placer un tampon de coton humide sur la toile métallique.
- Conserver tous les tubes d'observation pendant 24 heures dans un endroit ombragé, de préférence dans un insectarium. Stocker tous les tubes dans des conditions d'éclairage diffus et modéré et d'humidité adéquate. On peut placer pour cela les tubes dans un grand récipient et recouvrir le tout d'une serviette humide. La température et l'humidité devront être enregistrées pendant la période de récupération.
- La mortalité est mesurée 24 heures après l'exposition. Un moustique adulte devra être considéré comme vivant s'il est capable de voler quel que soit le nombre de pattes qui lui restent. Tous les moustiques « knocked-down » et ceux ayant perdu des pattes ou des ailes seront considérés comme morts car des moustiques dans cet état sont facilement la proie des prédateurs ou des fourmis. Les résultats devront être enregistrés dans le formulaire fourni.
- Pour les témoins, il convient d'utiliser des moustiquaires traitées et de reproduire le test quatre fois.

A7.2.2 Test faisant appel à des cônes de l'OMS

Composition du kit de test

- Chambres coniques en matière plastique transparente de 8,5 cm de diamètre à la base et de 5,5 cm de hauteur ;
- 2 tubes d'aspiration en verre (ou en matière plastique) de 12 mm de diamètre interne, avec 60 cm de tubulure et un embout buccal ;
- 1 rouleau de ruban autoadhésif plastifié ou une feuille d'étiquettes ;
- Feuille d'instructions ;
- 3 feuilles de papier gausso-logarithmique pour tracer la droite de régression en vue de calculer la DL_{50} en portant des valeurs variables du temps pour une concentration constante ;
- Compteur pour dénombrer les moustiques lorsqu'ils quittent les cônes ou calculer le taux de knock-down.

Traitement de la toile de moustiquaire

On pliera des morceaux de toile de moustiquaire mesurant 25 x 25 cm et on placera chacun de ces morceaux dans une boîte de Petri en matière plastique jetable. On utilisera des boîtes de Petri séparées pour le traitement de chaque morceau de toile, qui seront ensuite éliminées de manière appropriée. On déposera avec précaution et de manière régulière, goutte-à-goutte, au moyen d'une pipette, la formulation diluée requise sur le morceau de toile. On permettra ensuite à celui ci de se gorger pendant quelques secondes en s'aidant des doigts protégés par des gants en matière plastique afin de s'assurer que toute la solution d'insecticide a été absorbée. Chaque échantillon de toile devra être laissé dans la même boîte pour sécher. Le traitement de ces échantillons devra s'effectuer la veille de l'épreuve biologique et, dans tous les cas, pas plus de 3 jours avant le test (voir Figure An7.3). Dans l'idéal, les moustiquaires traitées devraient être utilisées dans les 3 jours et pas plus d'une semaine après le traitement.

Figure An7.3 Traitement de la toile de moustiquaire

Épreuve biologique

Les épreuves biologiques standard de l'OMS font appel à des anophèles femelles standard sensibles de 1 à 3 jours, non gorgés de sang et exposés à la toile de moustiquaire sous des cônes OMS pendant 3 minutes. L'épreuve biologique est mise en œuvre : *i)* 1 à 3 jours après le traitement des matériaux constituant les moustiquaires ; *ii)* 24 heures après chaque lavage des moustiquaires ; et *iii)* à différents intervalles de temps après le trempage des moustiquaires imprégnées d'insecticide. On constituera avec précaution quatre cônes à partir de la toile. Puis on introduira 5 moustiques femelles dans chaque cône en reproduisant 8 fois le test par échantillon de toile (ce qui permet de tester 40 moustiques). L'intervalle de temps entre chaque série de « 4 cônes » devra être aussi bref que possible (voir Figure An7.4). Les moustiques provenant des 4 premiers cônes testés seront regroupés dans un gobelet en matière plastique (soit au total 20 moustiques). On appliquera la même procédure pour la seconde série.

Le taux de knock-down (KD) est enregistré à intervalles réguliers pendant 20 à 30 minutes après l'exposition, en commençant après transfert du contenu du 4e cône (de chaque série) dans le gobelet et en finissant lorsqu'environ 80 % des moustiques sont « knocked-down ». L'observation est arrêtée au bout de 60 minutes même si le taux de KD de 80 % n'a pas été atteint. On fournira du sucrose, déposé sur un tampon de coton, dans chaque gobelet Outre le taux de KD à 60 minutes après exposition, on enregistrera la mortalité au bout de 24 heures (voir Figure An7.5).

Figure An7.4 **Épreuve biologique sous cône**

Figure An7.5 **Introduction des moustiques dans un gobelet pour évaluer le temps de knock-down et la période de récupération**

A7.2.3 Test faisant appel à un dispositif constitué d'une toile montée sur un cadre métallique sphérique

Composition du kit de test

- Dispositif monté sur un cadre métallique sphérique de 15 cm de diamètre (voir Figure An7.6) ;
- 2 tubes d'aspiration en verre (ou en matière plastique) de 12 mm de diamètre interne, avec 60 cm de tubulure et un embout buccal ;
- 1 rouleau de ruban autoadhésif plastifié ou une feuille d'étiquettes ;
- Feuille d'instructions ;
- 3 feuilles de papier gausso-logarithmique pour tracer la droite de régression en vue de calculer la DL_{50} en portant des valeurs variables du temps pour une concentration constante ;
- Un compteur pour dénombrer les moustiques lorsqu'on les libère dans le cadre métallique ou pour déterminer les taux de knock-down (voir Figure An7.7).

Figure An7.6 **Dispositif constitué d'une toile montée sur un cadre métallique**

Figure An7.7 **Composition du kit pour le test utilisant un dispositif constitué d'une toile montée sur un cadre métallique sphérique**

Procédure de test

Toutes les procédures seront exécutées comme décrit plus haut pour le test sous cône.

En résumé : pour déterminer la mortalité, on introduit 5 moustiques dans chaque chambre pour une période d'exposition de 3 minutes (voir Figure An7.8). On effectue le décompte de mortalité après une période de récupération de 24 heures. Pour la détermination du temps de knock-down, on introduit 11 moustiques dans chaque chambre et on enregistre ce temps pour le 6e moustique. Ce temps est considéré comme le temps de knock-down médian. À chaque fois qu'un moustique est KD, il est aspiré avec un tube d'aspiration pour éviter de le confondre avec les moustiques qui récupèrent et sont KD par la suite.

On a constaté que cette méthode donnait une indication sensible de l'effet du lavage et du retraitement des moustiquaires et que l'exposition sur une durée standard de 3 minutes d'une souche/population sensible à un alphacyano-pyrétrhrinoïde avait tendance à produire une mortalité de 100 % dans tous les tests. Avec cette méthode, il est possible de réaliser les évaluations de la mortalité et du temps de knock-down en parallèle en utilisant le dispositif constitué d'une toile montée sur un cadre métallique. Tout test doit être reproduit un nombre de fois approprié pour examiner la variation de l'efficacité biologique dans différentes parties de la même moustiquaire et d'une moustiquaire à une autre. Dans l'idéal, un nombre approprié de réplications du test devrait permettre de tester environ 50 moustiques femelles.

Figure An7.8 Introduction des moustiques dans le dispositif constitué d'une toile montée sur un cadre métallique sphérique

Conditions de test

En principe, les tests devraient être réalisés à 25 ± 2 °C et avec une humidité relative (HR) de 70-80 % ; ils ne devront jamais être effectués à une température supérieure à 30 °C.

Interprétation des résultats de test

La mortalité en pourcentage devra être enregistrée sur le formulaire de rapport à l'issue de la période de récupération de 24 heures. Si la mortalité chez les témoins se situe dans la plage 5-20 %, la mortalité en pourcentage devra être corrigée selon la formule d'Abbott comme suit

$$\frac{\%\text{ mortalité lors du test} - \%\text{ mortalité chez les témoins}}{100 - \%\text{ mortalité chez les témoins}} \times 100$$

Si la mortalité chez les témoins dépasse 20 %, les résultats devront être enregistrés et les tests recommencés. Pour calculer le temps de KD_{50}, on fera appel à l'analyse par la méthode des probits.

Programme mondial de lutte antipaludique
Organisation mondiale de la Santé
20 avenue Appia
1211 Genève 27
Suisse
E-mail: infogmp@who.int
http://www.who.int/malaria/en

ISBN 978 92 4 250581 8