

Identification et dosage du Deltaméthrine dans les moustiquaires imprégnées d'insecticide par la Chromatographie Liquide à Haute Performance au Laboratoire national de la santé à Bamako-Mali**Identification and determination of Deltamethrin in insecticide-treated mosquito nets by High Performance Liquid Chromatography at the National Laboratory of Health in Bamako-Mali**

Diallo T^{1,2*}, Diara A^{1,3}, Cissé M^{1,2}, GADJIGO A², Ousmane Dembele O^{1,2}, Traore S², Coulibaly SM², Koumaré BY^{1,2}, Maïga A^{1,3}.

¹Faculté de Pharmacie de Bamako, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali.

²Laboratoire National de la Santé de Bamako, Mali.

³Institut National en Santé Publique, Bamako-Mali.

***Auteur correspondant** : Docteur Tidiane Diallo, Maître Assistant en Toxicologie, Faculté de Pharmacie, Bamako, Mali, Email: tidiallo2017@gmail.com

Résumé

Objectif : Contribuer au contrôle de qualité des moustiquaires imprégnées d'insecticides par la technique de la Chromatographie liquide à haute performance pour assurer leur efficacité dans la prévention du paludisme au Mali.

Matériel et Méthodes : les échantillons étaient constitués de moustiquaires achetées ou obtenues gratuitement. L'échantillonnage a consisté à une coupure aléatoire de petits morceaux sur les cinq côtés de la moustiquaire puis une coupure d'un carré modèle de 10*10 cm. Au total quatre moustiquaires ont fait l'objet d'analyse. Le matériel utilisé pour l'analyse des moustiquaires était la Chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à un Détecteur à Barrette de Diode. La méthode d'analyse était basée sur une extraction solide/liquide avec comme solvant d'extraction l'Acétone pendant une période de deux heures puis évaporer à sec l'extrait. L'extrait sec a été récupéré avec 1 mL d'Acétonitrile pour analyse.

Résultats : Tous les échantillons étaient à base de polyester, sauf un qui était en polyéthylène et un poids variant entre 452,3 et 651,0 grammes. Les conditions chromatographiques utilisées ont permis d'identifier et doser la Deltaméthrine dans les échantillons de moustiquaires à un temps de rétention de 3,27 minutes. Les différentes gammes de concentrations étaient proportionnelles à la surface des pics obtenues. Un échantillon sur quatre était sous dosé donc non conforme.

Conclusion : La méthode ainsi mise en place permettra le dosage de la Deltaméthrine dans les différents matériaux de moustiquaires afin d'assurer la surveillance de la qualité des moustiquaires au Mali.

Mots clés : Deltaméthrine, Hplc, Moustiquaire, Bamako-Mali.

Abstract

Objective: to contribute to the fight against malaria through the quality control of mosquito nets impregnated with insecticide by the technique of high performance liquid chromatography to ensure their effectiveness in the prevention of malaria.

Material and Methods: The sampling consisted of a random cut of small pieces on the five sides of the mosquito net and then a cut of a model square of 10 x 10 cm. A total of four mosquito nets were analyzed. The equipment used for the analysis of the mosquito nets was high performance liquid chromatography coupled with a Diode Array Detector. The analytical method was based on a solid / liquid extraction with acetone as the extraction solvent for a period of two hours and then evaporating the extract to dryness. The dry extract was collected with 1 mL of Acetonitrile for analysis.

Results: All samples were polyester based except one which was polyethylene and weighed between 452.3 and 651.0 grams. The chromatographic conditions used made it possible to identify and assay Deltamethrin in the mosquito net samples at a retention time of 3.27 minutes. The different concentration ranges were proportional to the area of the peaks obtained. All nets were treated the same before moving on to assay and HPLC identification. One in four samples was under dosed and therefore non-compliant.

Conclusion: The method was set up for the identification and quantification of Deltamethrin in different mosquito net materials.

Keywords: Mosquito net, Deltamethrin, HPLC, Bamako-Mali.

Introduction

Le paludisme demeure un problème de santé publique dans les régions tropicales. En 2018, il a été enregistré 228 millions cas de paludisme et 405 000 décès dans le monde. C'est toujours l'Afrique subsaharienne qui supporte la charge mondiale du paludisme avec 93% de cas enregistrés dans la Région Afrique de l'OMS [1]. Le paludisme est une maladie parasitaire endémo épidémique à manifestation infectieuse transmise à l'homme par la pique d'un moustique femelle hématophage du type plasmodium qui est responsable de la maladie [1]. Le paludisme tue un enfant toutes les 30 secondes en Afrique selon OMS et plus de 40% de la population mondiale est exposé à cette maladie et des milliers de personnes en succombent chaque jour dont 90% sont des enfants [2]. Pour diminuer cette mortalité, l'OMS recommande l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides. Ces moustiquaires ont un effet répulsif, incapacitant et ou léthal sur les moustiques. Il en existe deux catégories de moustiquaires : la moustiquaire imprégnée d'insecticide (MII) et la moustiquaire à imprégnation durable (MID) [3]. La moustiquaire doit conserver son efficacité contre les vecteurs pendant au moins trois ans sur le terrain, dans les conditions d'utilisation recommandées, ce qui rend non nécessaire 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 [3]. L'efficacité des matériaux traités à l'insecticide est réduite au fil du temps en raison de la perte d'insecticide. Dans la plupart des cas, la durée de vie utile recommandée de la Pulvérisation Intra Domiciliaire (PID) et de MII est estimée sur la base de tests de laboratoire [4 ; 5]. En outre la mauvaise qualité des pesticides utilisés, le sous ou sur dosage lors de l'imprégnation et les moustiquaires contrefaites présentent un risque pour leurs utilisateurs.

En général, les pesticides sont analysés par la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) qui revient plus chère et complexe. La littérature montre que les pesticides peuvent être analysés par la Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) selon leurs certificats d'analyse dont la Deltaméthrine, cette méthode de HPLC est moins chère et aisée que la CPG. Ainsi cette étude a été initiée, l'objectif était de Contribuer au contrôle de qualité des moustiquaires imprégnées d'insecticides par la technique de la Chromatographie liquide à haute performance afin d'assurer leur efficacité dans la prévention du paludisme au Mali.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Il s'agissait d'une étude analytique basée sur la semi-validation d'une méthode d'identification et de dosage de la Deltaméthrine contenue dans les moustiquaires imprégnées. Notre étude s'est déroulée du 1^{er} Janvier au 31 Mars 2020 au Laboratoire National de la Santé. L'échantillonnage

était exhaustif de quelques moustiquaires imprégnées avec la Deltaméthrine vendues dans les marchés de Bamako, les officines privées et aussi celles distribuées dans certaines structures de santé. Nous avons procédé à deux types d'échantillonnage de l'analyte

- **1^{er} échantillonnage :** Un morceau de 10×10 cm a été coupé au centre de chacun des cinq côtés (les quatre cotés et le toit) de la moustiquaire à l'aide du carré modèle pour former un échantillon représentatif de la moustiquaire.
- **2^{ème} échantillonnage :** Découper un morceau sur chaque côté de la moustiquaire, de manière aléatoire sur les quatre extrémités ainsi que le centre des cinq côtés de la moustiquaire soit un total de 25 morceaux pour une moustiquaire rectangulaire. Ces morceaux coupés constituent la prise d'essai et contiennent T la teneur en substance active et sont nécessaires pour calculer la masse d'insecticide (g) par masse de moustiquaire (kg) [6].

$$T = (\text{Aire} / \text{AirStd}) \times \text{CStd} \times (\text{VEch} / \text{mEch})$$

Technique analytique

La prise d'essai a été immergée dans un flacon contenant 200 mL d'Acétone. Le tout est déposé sur l'agitateur à plateau rotatif pendant deux heures pour extraire la Deltaméthrine. Après extraction une quantité de 20 mL de la solution d'extraction a été prélevée et introduite dans un ballon de 250 mL puis évaporée à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif en raison de 60 rotations par minutes à la température de 30°C. Ensuite l'extrait sec a été récupéré avec 1,5 mL d'acétonitrile et introduit dans le vial avec une seringue à filtre de 0,45 µm pour la lecture.

Cette lecture a été réalisée par un appareil HPLC couplé à un détecteur à barrette de diodes.

Les conditions chromatographiques

- **Phase mobile :** Acétonitrile/Eau (9 : 1)
- **Phase stationnaire :** Colonne C18-100 ×4,6mm, 5µm
- **Débit :** 1mL / minute
- **Volume d'injection :** 10 µL
- **Longueur d'onde :** 205 / 2 bandes

RÉSULTATS

Les concentrations théoriques en Deltaméthrine dans les échantillons étaient de 1,4g/kg (1400ppm) pour les échantillons de 100 deniers et de 1,8g/kg (1800ppm) pour 120 deniers. En utilisant les conditions chromatographiques de la méthode ; le pic du standard de Deltaméthrine a été identifié à 3,27 min pour les trois gammes de concentrations à savoir 0,5 ppm, 1 ppm et 2 ppm comparativement à l'étude de D. Jenkins et al [6] qui a obtenu un temps de rétention de 5,9 min.

Tableau I : Matières actives d'imprégnation des moustiquaires imprégnées et les matériaux utilisés pour la fabrication des moustiquaires.

Échantillons	Substances actives	Matériaux	Poids des moustiquaires en gramme	Concentration en ppm
P31-03-20-01-D	Deltaméthrine	Polyester	651	1400
Y31-03-20-02-D	Deltaméthrine	Polyester	623,4	1400
D31-03-20-03-D	Deltaméthrine	Polyester	599,8	2000
P31-03-20-04-D	Deltaméthrine	Polyéthylène	452,3	1800

Le polyester a été le matériau le plus utilisé pour fabriquer les moustiquaires.

Tableau II : Détermination de la concentration mère de Deltaméthrine dans les échantillons après la première dilution

Prise d'essai	Échantillon ns	Masse des prises d'essai en mg	Concentration lue en ppm	Concentration moyenne lue en ppm	Surface des pics	Surface moyenne des pics	Temps de rétention en minute	Temps de rétention moyenne
10*10 cm²	P31-03-20-01D-1	2,3619	190,6	185,9	10311,2	10055,8	3,566	3,514
			181,2		9800,4			
	Y31-03-20-02D-1	2,39967	210,0	202,0	11361,4	10926,0	3,609	3,531
			193,9		10490,5			
	D31-03-20-03D-1	2,25337	214,1	221,3	11583	11973,4	3,344	3,483
			228,5		12363,8			
P31-03-20-04D1	2,12798	23,7	23,7	1291,9	1310,2	3,197	3,240	
		23,7		1328,6				
Aléatoire	P31-03-20-01D-2	2,2535	192,9	192,0	10437,9	10385	3,549	3,547
			191,0		10332,1			
	Y31-03-20-02D-2	3,38106	259,2	256,5	14022,6	13874,6	3,527	3,497
			253,7		13726,6			
	D31-03-20-03D-2	4,04989	352,0	351,9	19043,2	19038,4	3,564	3,539
			351,8		19033,6			
P31-03-20-04D-2	10,50646	69,8	69,1	3776,9	3804,8	3,441	3,335	
		68,4		3832,8				

Nous avons trouvé que notre échantillon P31-03-20-04D imprégné de Deltaméthrine avait une concentration moyenne de 23,70 ppm pour une prise d'essai de 2,12 pour le type d'échantillonnage

de 10×10 cm² et de 69,10 ppm pour le type d'échantillonnage aléatoire avec une prise d'essai de 10,50g, donc sous-dosé en principe actif.

Tableau III : Teneur en Deltaméthrine dans les échantillons de moustiquaires.

Prise d'essai	Échantillons	Aire Échantillon	Aire Standard 0,5 ppm	Concentration Standard ppm	Volume de dilution en ml.	Prise d'essai en (g)	Teneur Théorique en ppm	Teneur réelle en ppm	Taux de recouvrement en %	Marge d'acceptation $\pm 25\%$	Résultat marge
10*10 cm²	P31-03-20-01D-1	10311,2	24,08329	0,464	20	2,36	1400	1682,209	120,158	25	30,039
	D31-03-20-03D-1	11583	24,08329	0,464	20	2,25	2000	1980,709	99,035	25	24,759
	Y31-03-20-02D-1	11361,4	24,08329	0,464	20	2,40	1400	1824,368	130,312	25	32,578
	P-31-03-20-04D-1	1291,9	24,08329	0,464	20	2,12	1800	233,934	12,996	25	3,249
	P31-03-20-01D-2	10437,9	24,08329	0,464	20	2,25	1400	1784,792	127,485	25	31,871
Aléatoire	D31-03-20-03D-2	19043,2	24,08329	0,464	20	4,05	2000	1811,878	90,594	25	22,648
	Y31-03-20-02D-2	14022,6	24,08329	0,464	20	3,38	1400	1598,114	114,151	25	28,538
	P-31-03-20-04D-2	3767,5	24,08329	0,464	20	10,5	1800	138,175	7,676	25	1,919

Ce tableau rassemble les résultats des différentes analyses faites au cours de cette étude. À travers ces résultats nous pouvons noter que les échantillons P-31-03-20-04D-1 et P-31-03-20-04D-2 présentent des aires très faibles par rapport aux autres échantillons. Les teneurs du principe actif recherché

dans ces deux échantillons respectivement 233,93 et 138,17 ne répondent pas aux normes du FAO et de l'OMS sur la formulation des pesticides. Cela prouve que toutes les moustiquaires imprégnées ne répondent pas aux normes.

Additional Info : Peak(s) manually integrated

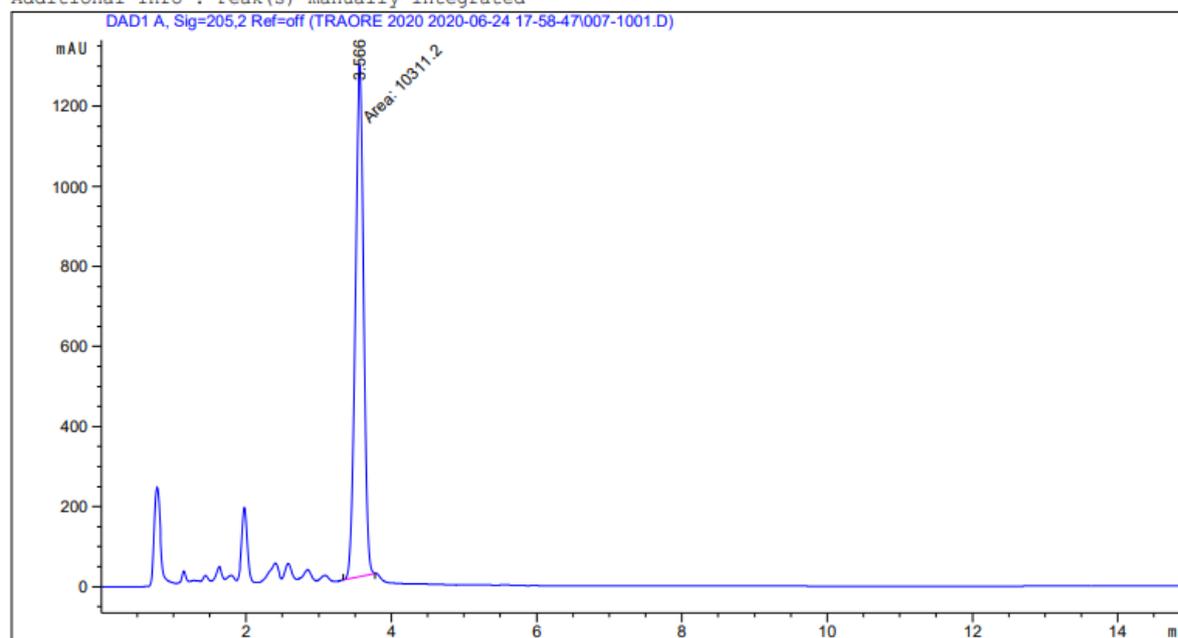


Figure 1 : Chromatogramme du standard de Deltaméthrine à 0,5PPM identifié à un temps de rétention de 3,668 min avec une surface de 10311,2.

Discussion

Deux types d'échantillonnage ont été appliqués pour extraire les matières actives. Le type d'échantillonnage de 10×10cm² a obtenu le plus grand taux de recouvrement avec 130% contre 127% pour le type d'échantillonnage aléatoire. Les tableaux II et III montrent que les deux types d'échantillonnage aboutissent au même résultat.

Une extraction solide-liquide a été appliquée pour extraire la Deltaméthrine des échantillons de moustiquaires en polyester et polyéthylène. L'acétone de grade HPLC a été utilisée pour l'extraction. Ce choix est justifié par le fait que la Deltaméthrine présente une grande solubilité dans ce solvant soit 450000 [7]. Les pics du standard de Deltaméthrine pour les trois gammes de concentrations (0,5 ppm ; 1 ppm et 2 ppm) ont été identifiés au même temps de rétention à 3,27min avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0,99948$. Ce résultat est similaire à celui de D. Jenkins et *al.*, qui ont obtenu un $r^2 = 0,99996$ [6]. Dans notre étude la Deltaméthrine a été identifiée au temps de rétention moyenne de 3,5 minutes, comparativement à l'étude de D. Jenkins et *al.* [6], qui a obtenu des temps de rétention de 5,9 minutes pour la Deltaméthrine. Cette différence pourrait être expliquée par la différence des conditions opératoires et chromatographiques qui ont été utilisées ; une colonne chromatographique Lichrosorb Si60, 5 µm, 150 × 4.6 mm a été utilisée pour leur séparation avec un chromatographe de marque Agilent HP1100 couplé à un détecteur à barrette de diode (DAD). Selon S. Bagayoko a obtenu un temps de rétention de 4,3 minutes lors d'une étude de caractérisation des pesticides dans l'eau par chromatographie liquide haute performance avec un système HPLC de marque Agilent Technologie 1260 Infinie couplée à un Détecteur à barrette de diodes avec une colonne C18 4,6×250 ; 5µm Eclipse XDB [8]. Tandis qu'Amadou DIOP et *al.* en 2013 au Sénégal ont eu un temps de rétention 28,96 min pour la Deltaméthrine [9]. Ainsi que Abou TOGOLA et *al.* au Nigeria en 2018 qui ont obtenu 8,51 min pour Deltaméthrine [10]. Ces différences des temps de rétention pourraient être expliquées par la méthode analytique ou soit les phases mobiles ou stationnaire utilisées. Les concentrations moyennes obtenues étaient de 159,4 à 217,8ppm de Deltaméthrine avec des taux de recouvrement de 90,1% à 95,9%. Ces résultats sont similaires en ce qui concerne la Deltaméthrine à ceux obtenus par l'Autorité Australienne de Médecine Vétérinaire et pesticides (APVMA) [11], qui a obtenu des taux de recouvrement de 90,19% à 107,78% pour Deltaméthrine et de D. Jenkins et *al.* [6], qui a obtenu un taux de recouvrement de 98% à 101,2%. Mais S. Bakayoko a eu 105,07% de recouvrement pour Deltaméthrine [8], et l'étude réalisée par Lilly

Asanuma et *al.* [12], qui ont obtenu 112% pour Deltaméthrine avec des concentrations de 1 ppm. Ces dernières valeurs étaient supérieures de celles de notre étude (90,1%). Cette augmentation du taux de recouvrement pourrait être due soit à la méthode analytique utilisée ou soit à la matrice (Eau pour S. Bagyaoko [8], et fleurs de Cannabis pour Asanuma [12].)

Conclusion

Le paludisme est endémique pour la plupart des pays en développement en général et dans le nôtre en particulier. L'emploi des moustiquaires imprégnées participe à la lutte contre le paludisme. Dans notre pays la Deltaméthrine est le principal principe actif de cette imprégnation. Si cette action est conduite de façon efficace, elle éloigne et peut tuer l'anophèle vecteur de la maladie. Dans le cas contraire, au lieu d'être un atout, la moustiquaire mal imprégnée contribue à la prolifération de la pandémie. Cette méthode analytique a permis aisément d'identifier et de quantifier les concentrations de Deltaméthrine dans les moustiquaires en polyester et en polyéthylène de haute densité.

Conflit d'intérêt : Aucun

Références

1. WHO: World Health Organization, (2019). World Malaria report 2019. www.who.int/malaria/world-malaria-report-2019/fr/ consulté 12/12/2019.
2. Organisation mondiale de la Santé (OMS) 2014. Entomologie du paludisme et lutte anti-vectorielle guide du participant. WC 765, 2014: 6-107.
3. Lignes directrices pour la lutte contre les vecteurs du paludisme [Guidelines for malaria vector control]. Genève : Organisation mondiale de la Santé ; 2019. Licence : CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
4. Banek K, Kilian A, Allan R. Evaluation of Interceptor long lasting insecticidal nets in eight communities in Liberia. *Malaria J* 2010; 9: 84.
5. Das ML, Rowland M, Austin JW, De Lazzari E, Picado A. Do size and insecticide treatment matter? Evaluation of different nets against *Phlebotomus argentipes*, the vector of visceral leishmaniasis in Nepal. *PLoS One* 2014; 9: e114915.
6. David W. Jenkins, Arno Hensens, Jacob Lloyd, Michael Payne, Peter Cizmarik and Steve Hamel. Development and validation of a 'universal' HPLC method for pyrethroid quantification in long-lasting insecticidal mosquito nets for malaria control and prevention. *Trop Med Int Health* 2013 Jan;18(1):2-11 January 2013 18(1) 2-11.
7. Université Hertfordshire. Base de données sur les propriétés des pesticides. Deltaméthrine (Réf : Organisation Mondiale de Santé 1998). Consulté le 3/12/2020, sur l'URL : www.who.int/pesticide/

<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/205.htm>

8. BAGAYOKO Samba. Caractérisation de trois pesticides (Dicofol, Deltaméthrine, Lambda cyhalothrine) dans l'eau par la chromatographie en phase liquide au Laboratoire National de la Santé de Bamako, Thèse de Pharmacie Bamako, 2020.
9. Amadou Diop. Diagnostic des pratiques d'utilisation et quantification des pesticides dans la zone des Niayes de Dakar (Sénégal). Thèse de doctorat, Université du Littoral Côte d'Opale, 2013.
10. Abou Togola , Silvestro Meseka , Abebe Menkir , Baffour Badu-Apraku , Ousmane Boukar , Manuele Tamò and Rousseau Djouaka. Measurement of Pesticide Residues from Chemical Control of the Invasive *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in a Maize Experimental Field in Mokwa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Nigeria 2018; 15(5): 849.
11. APVMA - Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority: Guidelines for the validation of analytical methods for active constituent, agricultural and veterinary chemical products. 2004. http://www.apvma.gov.au/publications/guidelines/docs/gl_69_analytical_methods.pdf
12. Lilly Asanuma, Dan Miller, Rick Jordan, Melissa Churley, and Anthony Macherone. A novel comprehensive strategy for residual pesticide analysis in cannabis flower. Agilent Technologies, Inc. Printed in the USA, March 9, 2018.