

SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des Figures

Liste des abréviations

RESUME

ABSTRACT

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
Situation du paludisme au Togo.....	3
1. Brève présentation du Togo.....	3
2. Epidémiologie du paludisme au Togo.....	3
2.1. Les vecteurs du paludisme au Togo.....	4
2.2. Historique de la lutte au Togo.....	5
2.3. Situation actuelle de la lutte contre le Paludisme.....	5
2.3.1. Prise en charge clinique.....	6
2.3.2. La prévention.....	6
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	8
I-Cadre de l'étude.....	8
II- Matériels.....	9
1. Matériel biologique.....	9
2. Matériel technique.....	9
III-Méthodes.....	10
1. Récolte des stades préimaginaux.....	10
2. Tests de sensibilité (test en tube OMS).....	10
2.1. Réalisation du test	11
2.2. Conservation des moustiques testés.....	11
3. Test d'efficacité des moustiquaires (test en cône).....	11
3.1. Caractéristique des moustiquaires utilisées	11
3.2. Lavage des moustiquaires.....	12
3.3. Réalisation du test.....	12
4. Test d'efficacité par pulvérisation avec les aérosols et par fumigène avec les spirales antimoustiques.....	13
5. Analyse des résultats.....	14

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	16
I-RESULTATS.....	16
1. Test de sensibilité.....	16
2. Caractérisation spécifique des espèces et des mécanismes de résistance aux insecticides.....	16
3. Test d'efficacité.....	18
4. Test d'efficacité par pulvérisation avec les aérosols et par fumigène avec les spirales antimoustiques	20
4.1. Tests d'efficacité par pulvérisation avec les aérosols.....	20
4.2. Test d'efficacité par fumigène avec les spirales antimoustiques.....	21
II- DISCUSSION.....	23
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	26
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....	27

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I : Composition des spirales antimoustiques utilisés dans la pulvérisation

TABLEAU II : Composition des spirales utilisées dans le test d'efficacité par fumigène

TABLEAU III : Espèces, forme moléculaire et génotype *Kdr* chez *Anopheles gambiae* s.l

TABLEAU IV : Knock down et mortalité déterminant le seuil de l'Exhaustion

TABLEAU V : Efficacité des moustiquaires sur *Anopheles gambiae* (souche Kisumu) avant et après le lavage des moustiquaires

TABLEAU VI : Efficacité des moustiquaires sur *Anopheles gambiae* (souche sauvage)

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : Evolution de la morbidité du paludisme en consultation et en soin interne au Togo de 1997 à 2008

FIGURE 2 : Evolution de la mortalité liée au paludisme en soin interne au Togo de 1994 à 2006

FIGURE 3 : Evolution de la létalité liée au paludisme en soin interne au Togo de 1994 à 2006

FIGURE 4 : Test de sensibilité des vecteurs aux insecticides au Togo (s.l)

FIGURE 5 : Carte de Lomé

FIGURE 6 : Résultats des tests de sensibilité (*Anopheles gambiae* s.l)

FIGURE 7 : Activités α , β estérasiques (A et B) et oxydasiques des populations d'*An. gambiae* s.l (C)

FIGURE 8 : Les Knock Down obtenus lors des tests par pulvérisation avec les aérosols.

FIGURE 9 : Mortalités obtenues 24H après les tests par pulvérisation avec les aérosols (souche sauvage)

FIGURE 10 : Les Knock Down obtenus après les tests par fumigène avec les spirales atimoustiques (souche sauvage)

FIGURE 11 : Mortalités obtenues 24H après les tests par fumigène (souche sauvage)

LISTE DES ABREVIATIONS

CAF : Chimiothérapie des Accès Fébriles

CTA : Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine

DDT: Dichloro-diphényl-trichloroéthane

ETV: Endémie à Transmission Vectorielle

GPS: Global positioning system

IRSS: Institut de Recherches en Sciences de la Santé

KD: Knock Down

Kdr: Knock down résistance

LAV : Lutte Antivectorielle

MILD : Moustiquaires Imprégnées d'Insecticides à Longue Durée d'Action

MIIs : Moustiquaires Imprégnées d'insecticides

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PBO : Piperonyl de Butoxide

PCR : Réaction de Polymérisation en Chaine

PNLP : Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme

PNUD : Programme des Nations Unies pour le Développement

PVC: Polychlorure de Vinyle

RBM: Roll Back Malaria

SNP: Service National du Paludisme

s.s: sensu strict

s.l : sens large

TDR : Test de Diagnostic Rapide

TPI: Traitement Préventif Intermittent

WHO: World Health Organization

RESUME

Une étude réalisée à Lomé (Togo) a porté sur l'évaluation de la sensibilité des femelles d'*Anopheles gambiae* à jeun âgées de 2 à 5 jours aux classes d'insecticides utilisés en santé publique, sur la caractérisation des mécanismes de résistance, sur l'évaluation de l'efficacité de nouvelle génération de MILD et des produits insecticides utilisés dans les ménages. Les tests insecticides ont révélé que les moustiques sont tous sensibles au Fénitrothion 1% (100% de mortalité). Les bombes aérosols utilisés dans les ménages sont efficaces sur les moustiques à l'exception d'ORO, de MOBIL et de TOTAL. Quant aux spirales, seul le BAYGON a été efficace. L'identification spécifique a mis en évidence deux formes moléculaires M et S d'*Anopheles gambiae* s.s. La forme M prédomine (95,55%) sur la Forme S (4,44%). La mutation génétique homozygote *Kdr/Kdr* est observée chez 81% de la forme M contre 50% chez la forme S. Une activité enzymatique élevée a été observée chez les spécimens de la souche sauvage. Toutes les MILD testés sont efficaces même après les 20 lavages sur la souche Kisumu.

Mots clés : Lomé, Anopheles gambiae s.s, formes M et S, Kdr, MILD.

ABSTRACT

A susceptibility trial in 2-5 old days Anopheles females have conducted in Lomé (Togo) on insecticides used in public health and households. These trials concerned also the resistance mechanisms and bioefficacy of new generations LLINS. The results showed that the mosquitoes are susceptible to Fenitrothion 1% (mortality: 100%). They were also susceptible to the only mosquito coil BAYGON and to the spray insecticides except ORO, MOBIL and TOTAL. The specific characterization revealed the presence of only *An. gambiae* s.s with two forms M and S. M Form is predominant (95,55% individuals) on the S form (4,44% individuals). Homozygote *Kdr/Kdr* has been observed in 81% of the M form for 50% in S form. High enzymatic activity was obtained in most of the wild strain. All the LLIN were effective on the susceptible Kisumu strain even after 20 washes.

Keywords: Lome, Anopheles gambiae s.s, M and S forms, Kdr, LLIN

INTRODUCTION

Le paludisme est la maladie parasitaire la plus importante au monde. Entre 350 et 500 millions de cas de paludisme clinique sont recensés chaque année et environ un million de décès sont imputables à cette maladie. Il est endémique dans 107 pays et territoires des régions tropicales et subtropicales, et l'Afrique Subsaharienne est la plus durement touchée. Plus de 80% des personnes décédées soit 800 000 chaque année sont les enfants d'Afrique de moins de 5 ans [25]. Face à ce problème de santé publique dramatique, les pays concernés élaborent des plans stratégiques pour la prévention, la lutte contre les vecteurs et la prise en charge des malades. Mais dans une situation économique difficile, les stratégies de lutte antivectorielle sont limitées à des moyens de protection individuelle comme l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides (MIIIs) et les aspersions intradomiciliaires d'insecticide. Les moustiquaires imprégnées d'insecticides constituent de nos jours l'outil majeur de prévention du paludisme au niveau communautaire. Elles sont imprégnées de Pyréthrinoïdes, les seuls insecticides recommandés à cet effet en raison de la rapidité de leur action, de leur effet excito-répulsif, de la faible dose d'utilisation mais surtout pour la bonne tolérance par l'homme [31]. Si cet outil permet de protéger les populations vulnérables (enfants de moins de 5 ans et femmes enceintes), son utilisation à grande échelle reste aujourd'hui confrontée au problème de la résistance des vecteurs aux insecticides [6]. En Afrique, plusieurs études ont mis en évidence l'existence de résistances des vecteurs aux Pyréthrinoïdes [4, 12, 13, 14, 27].

Au Togo, le paludisme est au premier rang des pathologies parasitaires rencontrées tant sur le plan de la morbidité que de l'hospitalisation des malades. Le nombre de cas recensés dans les formations sanitaires varie entre 350.000 et 450.000 par an [18]. En 2009, la morbidité constitue 48 % des consultations externes et 28 % des hospitalisations dans les formations sanitaires publiques, avec une durée moyenne de 5 jours. Le taux de mortalité hospitalière proportionnelle du paludisme est de 19 % et une létalité moyenne de 5 %. Les enfants de 0 – 5 ans sont les plus touchés et représentent 48% des cas enregistrés tout âge confondu [19]. Le Togo a donc axé son programme de lutte contre le paludisme sur deux stratégies que sont la prise en charge clinique (utilisation des Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine : CTA) et la prévention (Traitement Préventif Intermittent chez la femme enceinte (TPI) couplée à l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action). En effet, un programme de dotation des foyers en moustiquaires imprégnées d'insecticides (MIIIs) a été exécuté avec un succès certain grâce au Fond Mondial et l'aide des Organisations Non Gouvernementales (ONGs). Le taux de couverture est de 77% chez les

enfants de moins de 5 ans et de 65 % chez les femmes enceintes [20]. Malgré ce succès, les taux de morbidité et de mortalité ne cessent d'augmenter et cette situation peut être expliquée par le développement de la résistance chez les Anophèles qui compromet le succès des divers programmes mis en place pour la lutte antipaludique. Ainsi cette résistance a été signalée en 2005, 2008 et en 2009 [9, 17,19]. Il est donc important d'évaluer en plus de l'efficacité des MILDs, celle des autres moyens de lutte en utilisation au Togo dans les conditions actuelles. C'est dans cette optique que s'inscrit le thème de notre étude dont les principaux objectifs sont :

- 1) évaluer le niveau de sensibilité de la population d'*Anopheles gambiae* aux différents insecticides utilisés en santé publique DDT (4%), Perméthrine (0,75%), Deltaméthrine (0,05%), Alphacyperméthrine (0,025%), Bendiocarbe (0,1%), Fénitrothion (1%) ;
- 2) identifier les espèces vectrices et caractériser les mécanismes impliqués dans leur résistance aux insecticides ;
- 3) évaluer l'efficacité de la nouvelle génération de moustiquaires imprégnées de longue durée (MILDs) PermaNet 3.0 en comparaison de celle de NetProtect et de PermaNet 2.0 déjà disponibles sur le marché ;
- 4) d'évaluer l'efficacité des produits insecticides utilisés dans les ménages sur les Anophèles.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

SITUATION DU PALUDISME AU TOGO

1. Présentation du Togo

Situé en Afrique de l'Ouest, sur la côte du Golfe de Guinée, le Togo est limitée au Nord par le Burkina Faso, au Sud par l'Océan Atlantique, à l'Est par le Bénin et à l'Ouest par le Ghana. Il couvre une superficie de 56785 km². Deux climats prévalent au Togo : un de type équatorial dans la moitié Sud avec deux saisons pluvieuses et deux saisons sèches ; un autre de type tropical humide, occupe la moitié nord et se caractérise par une seule saison pluvieuse une seule saison sèche.

Sur le plan démographique, la population est estimée à 5 960 000 habitants en 2009 avec une croissance démographique annuelle de 2,6%. Le pays compte environ 51% de femmes contre 49% d'hommes avec environ 20% d'enfants de moins 5 ans et près de la moitié de la population a moins de 15 ans.

Au plan économique, le Togo fait parti des pays pauvres très endettés. La majorité de la population (70%) vit de l'agriculture. Son économie dépend donc essentiellement du secteur primaire mais aussi des services.

Sur le plan administratif, le Togo est organisé en 5 régions économiques subdivisées en 35 préfectures et 01 sous préfectures en 2009. Sur le plan sanitaire, le Togo compte six (6) régions et 35 districts sanitaires dont la ville de Lomé (Capitale du Togo) constitue une région sanitaire avec cinq (5) districts [19].

La langue officielle du Togo est le français tandis que les principales langues parlées sont l'Ewé, le Kabiye, le Mina. Les Religions pratiquées sont : Animisme (50%), Christianisme (35%), et Islam (15%).

2. Epidémiologie du paludisme au Togo

Le paludisme est holoendémique et stable car sa transmission dure presque toute l'année. Il sévit de la même façon sur toute l'étendue du territoire avec une recrudescence en période de pluie. Les figures 2, 3 et 4 montrent les différents indicateurs du paludisme au Togo de 1990 à 2008.

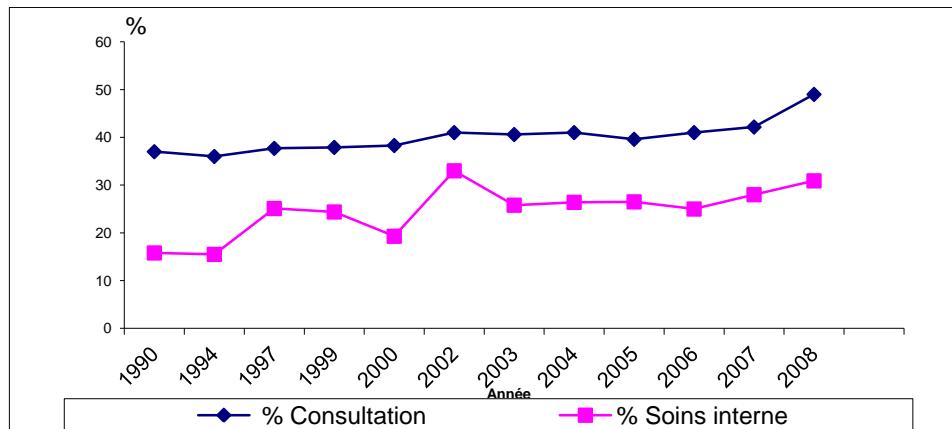


Figure 1 : Evolution de la Morbidité du paludisme en consultation et en soin interne au Togo de 1990 à 2008 (Source : Ministère de la Santé)

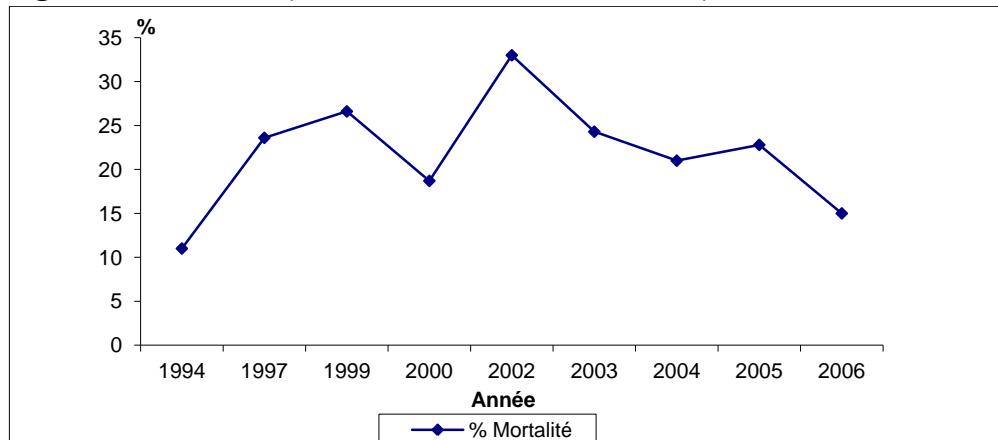


Figure 2: Evolution de la Mortalité liée au paludisme en soin interne au Togo de 1994 à 2006 (Source : Ministère de la Santé)

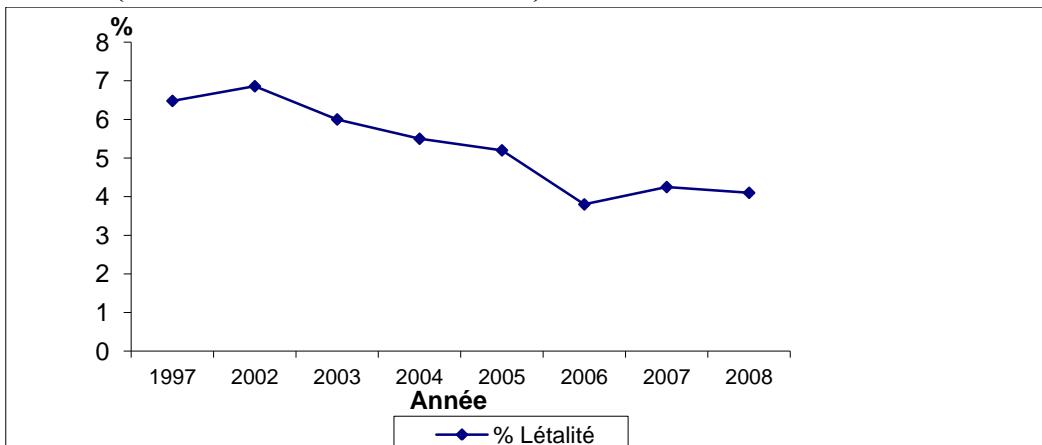


Figure 3 : Evolution de la Létalité du paludisme au Togo de 1997 à 2008 (Source : Ministère de la Santé)

2.1. Les vecteurs du paludisme au Togo

Au Togo, les études menées ont montré l'existence de quatre espèces d'Anophèles, vectrices potentielles de paludisme ; il s'agit de trois espèces jumelles du complexe *Anopheles gambiae* et tout récemment en 2009 *d'Anopheles funestus* [19]. Les espèces du complexe *Anopheles*

gambiae sont *Anopheles gambiae* s.s, *Anopheles arabiensis* et *Anopheles melas* [1]. Ces trois espèces ont été déjà signalées dans des études antérieures [3].

2.2. Historique de la lutte antivectorielle au Togo

Dans son acceptation la plus large, la Lutte Antivectorielle (LAV) comprend la lutte et la protection contre les arthropodes hématophages (insectes et acariens), vecteurs d'agents pathogènes à l'homme et les vertébrés, et leur surveillance. Elle inclut la lutte contre les insectes nuisants quand ces derniers sont des vecteurs potentiels ou lorsque la nuisance est un problème de santé publique ou vétérinaire [15]. Les méthodes de lutte antivectorielle peuvent être classées en trois catégories. Ainsi, on distingue des méthodes permettant de réduire le contact homme-vecteur, de réduire la densité du vecteur et enfin d'accroître la mortalité du vecteur adulte.

Quelques années après la découverte du DDT, l'administration coloniale du Togo a eu l'idée de mener une lutte contre les moustiques dans la ville de Lomé. Cette idée se concrétisa par la création du « Service de Lutte Antipaludéenne » en 1952 qui deviendra plus tard « Service National du Paludisme ». Cette structure a eu à abriter le centre de formation de l'OMS et le projet pilote d'éradication du paludisme dans la zone ouest - africaine. Dans les années 60, le Service de Lutte Antipaludéenne sera dénommé « Service National du Paludisme » (SNP) et sera intégré aux services de santé de base avec le recrutement et la formation des « agents itinérants » ayant pour fonction la prise en charge du traitement des cas et la prophylaxie de masse à domicile et l'établissement des cartes de répartition des vecteurs.

Dans les années 70, les travaux de dragage des lagunes de Lomé et d'Aného ont été les activités de grande envergure qui ont beaucoup contribué à la réduction de la nuisance culicidienne.

Des études entomologiques en 1975 et 1976 ont permis d'établir la carte de répartition des vecteurs selon les strates écologiques [18].

De nos jours, après l'adoption de la stratégie mondiale visant le contrôle de la maladie, les stratégies de prise en charge correcte des cas, de prévention y compris la chimioprophylaxie chez la femme enceinte et l'utilisation de la moustiquaire imprégnée et autres matériaux traités aux insecticides ont fait l'objet de directives nationales en application dans notre pays.

2.3. Situation actuelle de la lutte contre le Paludisme

Le Togo a adhéré à l'initiative Faire Reculer le Paludisme (Roll Back Malaria) lancée en Octobre 1998 par l'OMS, l'UNICEF, la Banque Mondiale et le PNUD dont l'objectif est de réduire le fardeau du paludisme qui reste un frein au développement des pays endémiques de sorte qu'en 2030, le paludisme ne soit plus un problème de santé publique. Ainsi, la lutte antipaludique est axée sur deux stratégies que sont la prévention et la prise en charge clinique mises en œuvre par le PNLP du Togo.

2.3.1. Prise en charge clinique

Les cas de paludisme sont diagnostiqués à partir des gouttes épaisses, des frottis minces et de Test de diagnostic rapide (TDR) ; ces cas sont traités par des combinaisons thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA). En effet, la nouvelle politique thérapeutique de prise en charge des cas de paludisme simple avec les CTA est rentrée en vigueur depuis fin 2006. Les combinaisons retenues par le Togo étant l'Artemeter-Luméfantrine et Artésunate-Amodiaquine. Cependant, les cas de Paludisme grave sont traités à la quinine. Ainsi, en 2009, on note une prescription de 68% de CTA et presque tous les patients reçoivent la prescription Artemeter-Luméfantrine, surtout la spécialité Coaterm fortement subventionné par le Fond Mondial.

2.3.2. La prévention

Elle est essentiellement basée sur le Traitement Préventif Intermittent (TPI) chez la femme enceinte et sur la lutte antivectorielle.

Traitement préventif intermittent chez la femme enceinte (TPI) : ce traitement consiste à administrer de la Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP) aux femmes enceintes au cours de leur consultation prénatale au deuxième et troisième trimestre.

Lutte antivectorielle : Elle s'appuie le plus souvent sur la distribution des moustiquaires imprégnées d'insecticides (MII) par le PNLP. En effet, un programme de dotation des foyers en MII lancé en 2004 a été exécuté avec un succès grâce au Fond Mondial et l'aide des ONGs. Le taux de couverture est estimé en moyenne à 63% par les Autorités du Ministère de la Santé. En 2009, 74313 MII ont été distribuées aux enfants de moins de 5 ans et aux femmes enceintes dans les formations sanitaires et dans les communautés.

L'évaluation des ces stratégies de lutte antivectorielle se fait de façon périodique et souvent couplée aux tests de sensibilité des vecteurs aux insecticides qui sont réalisés sur les sites sentinelles du pays (Lomé, Tsévié, Kpalimé, Tchamba, Niamtougou et Dapaong) avec l'appui de l'Unité de Recherche en Ecotoxicologie (URET) de l'Université de Lomé. La comparaison des résultats obtenus en 2003 et en 2009 ont montré une diminution de sensibilité des Anophèles vis-à-vis des Pyrétrinoïdes et du DDT allant jusqu'à 50%. Parmi les

insecticides testés en 2009, seul le malathion 4% a présenté une efficacité en provoquant 100% de mortalité dans toutes les régions sauf à Lomé commune. Cette réduction de la sensibilité des vecteurs aux insecticides dans la Commune de Lomé a guidé le choix du site d'étude.

L'évaluation des moustiquaires réimprégnées en Novembre 2008 couplée avec l'évaluation de la sensibilité des vecteurs du paludisme a été effectuée sur quatre sites : Lomé, Kpalimé, Tchamba et Dapaong. Deux types de moustiquaires ont été testés. Il ressort des résultats que les moustiquaires imprégnées d'insecticide de longue durée d'action (MILDs) issues de la campagne intégrée de 2004 ont perdu leur efficacité de même que les moustiquaires ordinaires disponibles dans les ménages. En effet, aucune moustiquaire n'a été efficace dans les sites sélectionnés.

Face à l'inefficacité des MILDs, les autorités du pays explorent d'autres stratégies de lutte antivectorielle comme l'évaluation de l'efficacité du Dimilin un régulateur de croissance sur les larves de moustiques (*Anopheles* et *Culex*). Les résultats ont révélé que le Dimilin est très efficace sur les larves de moustiques en occurrence *Anopheles gambiae* et *Culex* [19] mais son application à grande échelle reste problématique à cause de l'état d'insalubrité et de pollution avancée des gîtes larvaires.

Ainsi malgré les efforts consentis ça et là pour la lutte antipaludique, cette ETV (Endémie à Transmission Vectorielle) demeure le premier problème de santé publique. Cela est principalement dû au développement de la résistance chez les Anophèles qui compromet le succès des divers programmes mis en place.

Il est donc important d'évaluer l'efficacité des moyens de lutte au niveau communautaire et individuel afin de mettre à la disposition des décideurs les informations utiles à la réorientation des choix des interventions en matière de lutte antivectorielle. Ceci est d'autant plus urgent que le Togo s'apprête à lancer sa troisième campagne de distribution de MILD en 2011.

Par ailleurs, pour la protection des personnes et familles, la population utilise dans les ménages des serpentins fumigènes, des bombes aérosols et autres répulsifs.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

I- Cadre de l'étude

Cette étude est réalisée à Lomé la capitale du Togo. La ville de Lomé est située dans le Golfe de Guinée en bordure de l’Océan Atlantique (6,17°N et 1,35°E) avec une superficie de 333 km². Les services officiels de la statistique évaluent la population actuelle à près d'un million d'habitants. La ville de Lomé est située dans la zone subéquatoriale caractérisée par deux saisons pluvieuses (une grande saison pluvieuse de mi-mars à fin juillet, une petite saison pluvieuse de septembre à octobre) et deux saisons sèches (une grande saison sèche de novembre à mi- mars, une petite saison sèche d'août à la première moitié de septembre). Elle reçoit en moyenne 850 mm de pluie par an avec des températures élevées très peu variables et l'humidité relative très forte qui dépasse 80%.

Le choix de Lomé est intéressant car la ville constitue le plus grand centre sanitaire du Togo et à ce titre, la majorité des programmes nationaux en matière de santé publique y est logée. C'est le cas du Programme National de Lutte contre le Paludisme PNLP. De plus, lors des tests de sensibilité des vecteurs aux insecticides de la campagne de 2009, les plus faibles taux de mortalité ont été enregistrés à Lomé mais aussi dans d'autres régions du pays (Figure 4). Cette situation incite la population à recourir à toutes sortes de produits en matière de protection individuelle contre les vecteurs de paludisme. Les vecteurs y sont présents toute l'année (Figure 5) à cause de la prolifération des gîtes liée à un mauvais programme d'urbanisation et à l'absence de programme d'assainissement adéquat

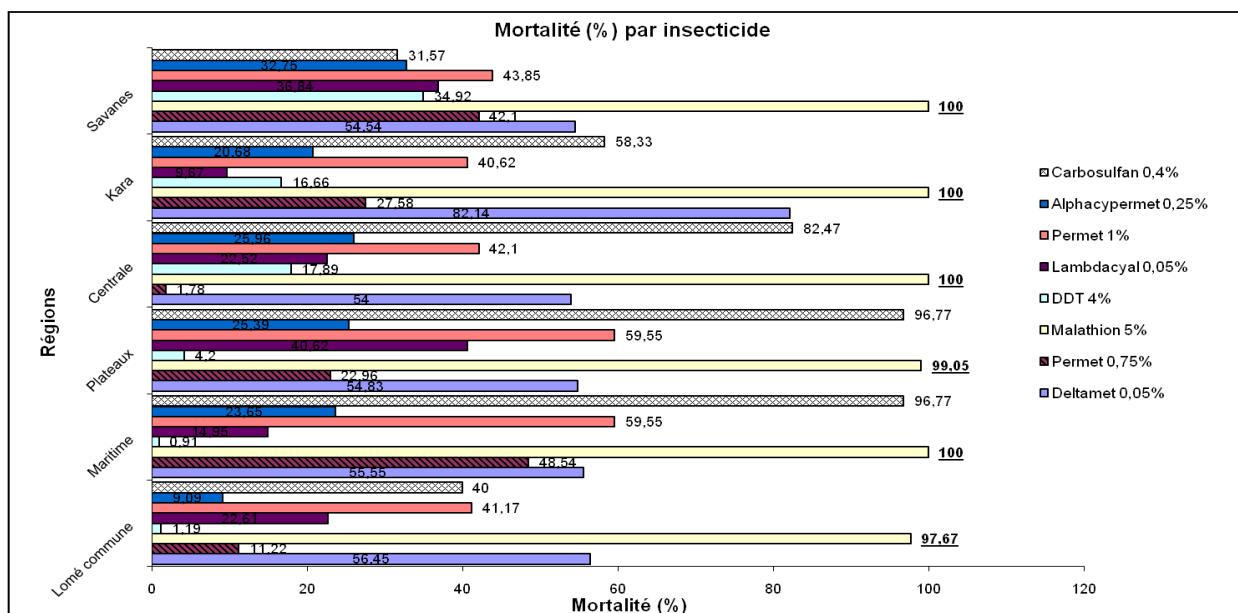


Figure 4 : Tests de sensibilité des vecteurs aux insecticides au Togo (source, PNLP, 2009).

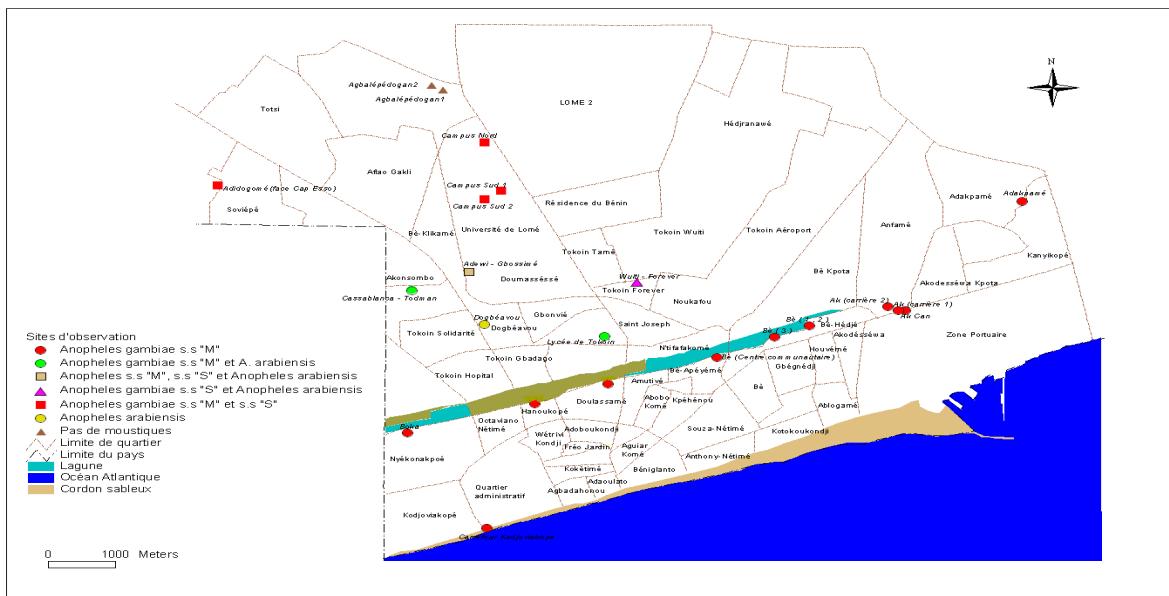


Figure 5 : Carte de Lomé montrant la distribution spatiale d'*An. gambiae* M et S et d'*An. arabiensis* (Source : AHADJI-DABLA, 2006)

II- Matériel

1. Matériel biologique

Deux souches d'*Anopheles gambiae* ont été utilisées : la souche sensible Kisumu de laboratoire et la souche de terrain (souche sauvage).

2. Matériel technique

Ce matériel est constitué de :

Matériel de collecte : des louches, des tamis, les gants, les boîtes en plastiques ont été utilisés lors de la récolte des stades préimaginaux ainsi qu'un GPS (Global position system) qui a permis de relever les coordonnées géographiques des sites de prospection.

Matériel d'élevage et de test : pour l'élevage, des bacs d'élevage, des cages d'élevage, de l'eau distillée, du coton, des pipettes ont été utilisés. Les larves et les adultes sont nourris respectivement à la croquette pour chat finement moulue et au glucose 10%.

Les papiers imprégnés d'insecticides, les tubes OMS, les bombes aérosols, les spirales antimoustiques et un aspirateur à bouche ont été utilisés pour les tests de sensibilité.

Le matériel suivant a été utilisé lors des tests d'efficacité des moustiquaires : il s'agit des bassines, de l'eau du robinet, du savon de Marseille (le chat), des spatules en bois pour le lavage des moustiquaires. Les moustiquaires testées sont de marques : PermaNet versions 2.0 et Netprotec qui sont déjà en utilisation au Togo et PermaNet 3.0 une nouvelle génération de MILD à titre de comparaison d'efficacité. Une moustiquaire ordinaire a été utilisée comme témoin et une autre conventionnellement traitée (Exhaustion). Des cônes en PVC de l'OMS et

des gobelets en plastique recouverts de tulle dans lesquels les moustiques sont mis en observation ont été utilisés ainsi que des fiches de suivi.

D'autre matériel tels que les tubes Eppendorf contenant du silicagel dans lesquels les moustiques sont conservés pour la PCR ont été également utilisés. Les tubes sont conservés au congélateur à -20°C.

III-Méthodes

1. Récolte des stades préimaginaux

La prospection a été effectuée à Akodésséwa (N06°09.23.6 ; E001°16.02.4) (**Photo1**). La récolte des stades préimaginaux a été faite par la méthode de dipping qui consiste à recueillir l'eau du gîte à l'aide d'une louche ou par tamisage de l'eau du gîte à l'aide d'un tamis ou de tulle de moustiquaire. Ainsi, les larves et les nymphes ont été mises dans les boîtes en plastique contenant l'eau du gîte et ramenées au laboratoire (Unité de recherche en Ecotoxicologie) de l'Université de Lomé pour l'élevage. Les adultes émergents ont été utilisés lors des tests.



Photo 1 : Récolte des larves

2. Tests de sensibilité (test en tube OMS)

Nous avons réalisé les tests de sensibilité selon le protocole standardisé de l'OMS [29] afin d'évaluer et de suivre chez des Anophèles adultes le niveau de sensibilité aux insecticides. Des femelles âgées de 2 à 5 jours issus des stades préimaginaux ont servi à la réalisation de ce test. Les insecticides utilisés sont sous forme de papiers-imprégnés. Il s'agit du :

- DDT (4%) : **Organochlorés**
- Fénitrothion (1,0%) : **Organophosphorés**
- Bendiocarbe (0,1%) : **Carbamates**
- Deltaméthrine (0,05%), Perméthrine (0,75%), Alphacypermétrine (0,025%) : **Pyrétrinoïdes**

2.1. Réalisation du test

Le test consiste à mesurer la mortalité après 24H d'un nombre de femelles de moustiques exposés au papier imprégné d'insecticide dans les tubes OMS pendant une heure (**Photo 2**). Le test a été réalisé dans des conditions contrôlées ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ et $67\% \pm 3$ HR). Ainsi, 25 moustiques ont été exposés aux papiers imprégnés d'insecticides dans des tubes d'exposition (rouge) pendant une heure en quatre (4) répliques et toutes les 10 min le nombre de moustiques en situation de Knock Down a été relevé. Avant l'exposition aux insecticides, les moustiques sont mis en observation pendant une heure dans des tubes d'observation (vert). Après l'exposition, les moustiques sont à nouveau transférés dans des tubes d'observation pendant 24H afin d'enregistrer la mortalité. Un coton imbibé de glucose 10% est déposé sur la grille du bouchon de chaque tube.



Photo 2 : Matériel pour la réalisation des tests de sensibilité aux insecticides

2.3. Conservation des moustiques testés

Après le test, les moustiques ont été mis dans des tubes Eppendorff contenant du silicagel et conservés à -20°C dans le congélateur. Les spécimens morts et les survivants sont conservés séparément. Les échantillons ont été envoyés à l'Institut de Recherche en Science de la Santé (IRSS) de Bobo Dioulasso pour la caractérisation des mécanismes de résistance.

3. Test d'efficacité des moustiquaires (test en cône)

Ce test en cône a pour but d'évaluer sur des moustiques adultes l'efficacité et la rémanence d'un insecticide sur un substrat donné. C'est également un outil approprié pour tester la résistance au lavage des formulations insecticides sur différents types de substrats en tissu. La mortalité est relevée après 24H. Ainsi notre test porte sur des moustiquaires. Pour ce test nous avons utilisé les moustiques *Anopheles gambiae* provenant du terrain et aussi la souche sensible Kisumu.

3.1. Caractéristique des moustiquaires utilisées

Toutes les moustiquaires utilisées sont de mêmes dimensions (190 cm x 130 cm x 150 cm) à l’exception de Netprotect (190 cm x 180 cm x 150 cm) (**Photo 3**).

PermaNet 2.0 : est une MILD confectionnée avec du fil de polyester de 75 deniers et de maille 156 trous/pouces. Elle est imprégnée à la Deltaméthrine (55 mg/m²) incorporée à la fibre au cours de la fabrication du fil.

PermaNet 3.0 est une nouvelle génération de MILD avec une efficacité améliorée contre les vecteurs de paludisme résistants aux Pyrétrinoïdes. Elle est fabriquée avec des matériaux tels que : le fil de polyéthylène de 100 deniers pour le toit, 75 deniers de fil de polyester pour les côtés et la maille est de 156 trous/pouces. Les cotés sont imprégnés de Deltaméthrine (115 mg/m²) et le toit imprégné à la Deltaméthrine (180 mg/m²) et de PBO (Piperonyl Butoxide) qui est une synergiste (25 g/kg). Ces derniers sont incorporés directement à la fibre au cours de la fabrication du fil.

Netprotect est une moustiquaire imprégnée de longue durée d’action et est fabriquée avec du fil de polyéthylène (100%) et de maille de 136. Elle est imprégnée de Deltaméthrine (68 mg/m²) incorporée à la fibre au cours de la fabrication du fil.

Conventionaly treated Net (CTN ou Exhaustion) : est le témoin positif. Nous l'avons imprégnée manuellement à la Deltaméthrine 25 mg/m² (12,1 ml de deltaméthrine dans 648,8 ml d'eau). Elle est fabriqué de fil de polyester (75 deniers et de maille 156).

Le témoin négatif : est une moustiquaire ordinaire non traitée. Elle est confectionnée avec du fil de polyester (75 deniers et de maille 156 trous/pouces).

3.2. Lavage des moustiquaires

Le lavage des moustiquaires a été fait selon les critères de l'OMS [28]. Les moustiquaires ont été lavées dans 10 litres d'eau avec 20g de savon de Marseille (le chat) dans une bassine au moyen d'une spatule pendant 3 min dans le sens des aiguilles d'une montre. Après 4 min de repos la même opération est répétée mais cette fois-ci dans le sens contraire durant 3 min. Les moustiquaires ont été rincées deux (2) fois et séchées à l'ombre. Chaque rinçage a été effectué dans 10 litres d'eau. Le lavage a été effectué quotidiennement pendant 20 jours du 6 au 25 Août 2010.

La CTN a été lavée trois (3) fois afin d'obtenir un taux de mortalité inférieur à 80% et un Knock Down inférieur à 95% selon les recommandations de l'OMS.

3.3. Réalisation du test

Le test a été effectué selon le protocole de l'OMS [28] dans les mêmes conditions de température et d'humidité que précédemment. Dix (10) moustiques femelles en moyenne à jeun âgés de 2 à 5 jours ont été exposés aux différents types de moustiquaires via les cônes

fixés sur leurs différentes faces pendant 3 min (Photo 4) et ceci en cinq (5) répliques. Ensuite les moustiques sont transférés dans des gobelets recouverts de tulle de moustiquaire pour l'observation (**Photo 5**). Ainsi, le nombre de moustiques en situation de Knock Down a été relevé toutes les 10 min durant une heure. Des cotons imbibés de glucose (10%) sont déposés sur les tulles de moustiquaire couvrant les gobelets et l'ensemble est gardé en observation pendant 24H afin d'enregistrer la mortalité.



Photo 3: Moustiquaires imprégnées utilisées pour le test d'efficacité



Photo 4 : Réalisation d'un test d'efficacité



Photo 5: Moustiques mis en observation après le test d'efficacité

4. Test d'efficacité par pulvérisation avec les aérosols et par fumigène avec les spirales antimoustiques.

L'objectif de ce test est de déterminer le niveau de sensibilité des moustiques vis-à-vis des insecticides utilisés dans les ménages. Il s'agit des spirales antimoustiques (**Tableau I**) et des bombes aérosols (**Tableau II**).

Réalisation du test

Des moustiques femelles à jeun âgés de 2 à 5 jours ont été lâchées dans des moustiquaires ordinaires non imprégnées d'insecticides dressées dans une salle de dimensions (885 cm x 630 cm x 385 cm) dans les mêmes conditions de température et d'humidité que précédemment (**Photo 6**). Chaque moustiquaire contient au moins 50 moustiques et pour

chaque insecticide, on dispose de trois (3) moustiquaires servant de répétition. Chaque bombe aérosol a été pulvérisée pendant 10s alors que les spirales ont été allumés à proximité de chaque moustiquaire pendant 7H. Les moustiques en situation de Knock Down ont été relevés à 30 min et à 60 min que ce soit le test par pulvérisation ou par fumigène. Ensuite les moustiques ont été transférés dans des gobelets respectivement après 1H et 7H pour les tests par pulvérisation et par fumigène et gardés en observation pendant 24H afin de relever la mortalité.



Photo 6 : Moustiquaire dressée pour le test de pulvérisation avec les aérosols et les spirales

Tableau I : composition des spirales utilisés

SPIRALES ANTIMOUSTIQUES	COMPOSITION	FAMILLES d'INSECTICIDES	PAYS DE FABRICATION
TOTAL	D-Allethrine 0,20%	PYRETHRINOIDES	Vietnam
LEIXIN	D-Trans-allethrine \geq 0,30%	PYRETHRINOIDES	Togo
YUANMENG	D-Trans-allethrine \geq 0,30%	PYRETHRINOIDES	Chine
RAD	D-Trans prallethrine \geq 0,30%	PYRETHRINOIDES	Chine
BAYGON	D-Trans prallethrine $>$ 0,15%	PYRETHRINOIDES	Etats Unis d'Amérique

5. Analyse des résultats

❖ Le statut de résistance des moustiques est déterminé selon les critères de l'OMS [29].

Selon ces critères :

- si le taux de mortalité est supérieur à **98%**, la population de moustique est dite sensible.
 - si le taux de mortalité est compris entre **80 et 97%**, il y a résistance possible.
 - si le taux de mortalité est inférieur à **80%** la population de moustique est dite résistante.
- ❖ L'efficacité des moustiquaires a été déterminée selon les critères de l'OMS [28]
- Une moustiquaire est dite efficace si la mortalité des moustiques enregistrée après 24H est supérieure à **70%**.

L'analyse statistique des moyennes est réalisée à l'aide du test de l'analyse de variance (ANOVA). Les moyennes de mortalité ont été traitées et comparées par le test de Newmann-Keuls au seuil de 5% par le Logiciel STATISTICA version 5.5.

Tableau II : composition des insecticides utilisés dans la pulvérisation

INSECTICIDES (bombes aérosols)	COMPOSITION	FAMILLES	PAYS DE FABRICATION
RAD (400ml)	Tétraméthrine 0,4% Perméthrine 0,4%	PYRETHRINOÏDES	Chine
YUANMENG (400ml)	Tétraméthrine 0,4% Perméthrine 0,4%	PYRETHRINOÏDES	Chine
BAKIS (600ml)	Bendiocarbe 0,500g Tétraméthrine 0,050g PBO 0,150g	CARBAMATES PYRETHRINOÏDES	Italie
TOTAL (400ml)	D-Tétraméthrine 0,120g Prallethrine 0,035% Deltaméthrine 0,006% D-D-Trans Cyphénothrine 0,050% Solvant, gaz, parfum 99,789%	PYRETHRINOÏDES	France
ORO (300ml)	Perméthrine 0,25% Tétraméthrine 0,25% d-Fénotrin 0,01% PBO 0, 34%	PYRETHRINOÏDES	Espagne
MOBIL (300ml)	Prallethrine 0,04% Cyphénothrine 0,05% Neo-pyramin 0,25% Solvants propellants, huiles essentiels 99,66%	PYRETHINOÏDES	Nigéria
RAMBO (300ml)	Propoxure 1% Dichlorvos 1% Cyfluthrine 0,04%	CARBAMATES ORGANOCHLORES PYRETHRINOÏDES	Nigéria
BAYGON (300ml)	Imiprotrine 0,05% Prallethrine 0,05% Cyflutrine 0,015%	PYRETHRINOÏDES	Nigéria
KILIT (400ml)	d-Tétraméthrine 0,135% d-Allethrine 0,06% Cyperméthrine 0,46%	PYRETHRINOÏDES	Angleterre

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I- RESULTATS

1. Test de sensibilité

Un total de 714 moustiques issus des stades préimaginaux provenant du terrain ont été exposés aux papiers imprégnés de Fénitrothion (1,0%), de DDT (4%), Bendiocarbe (0,1%), Perméthrine (0,75%), Deltaméthrine (0,05%) et d'Alphacyperméthrine (0,025%). Les résultats obtenus montrent une variabilité de la sensibilité des moustiques vis-à-vis de ces différents insecticides (**Figure 6**). La mortalité des témoins est inférieure à 5%.

Avec les Pyrétrinoïdes, la mortalité après 24H indique une résistance possible des moustiques vis-à-vis de la Perméthrine (87%), une résistance pour l'Alphacyperméthrine (49,03%) et la Deltaméthrine (62,61%). Cependant avec le DDT, la mortalité après 24H est très faible (13%) montrant ainsi une très forte résistance des moustiques. Par contre le taux de mortalité enregistré avec le Fénitrothion est de 100% montrant une sensibilité des moustiques. En présence du Bendiocarbe, le taux de mortalité correspond à 87,03% indiquant aussi une résistance possible des moustiques.

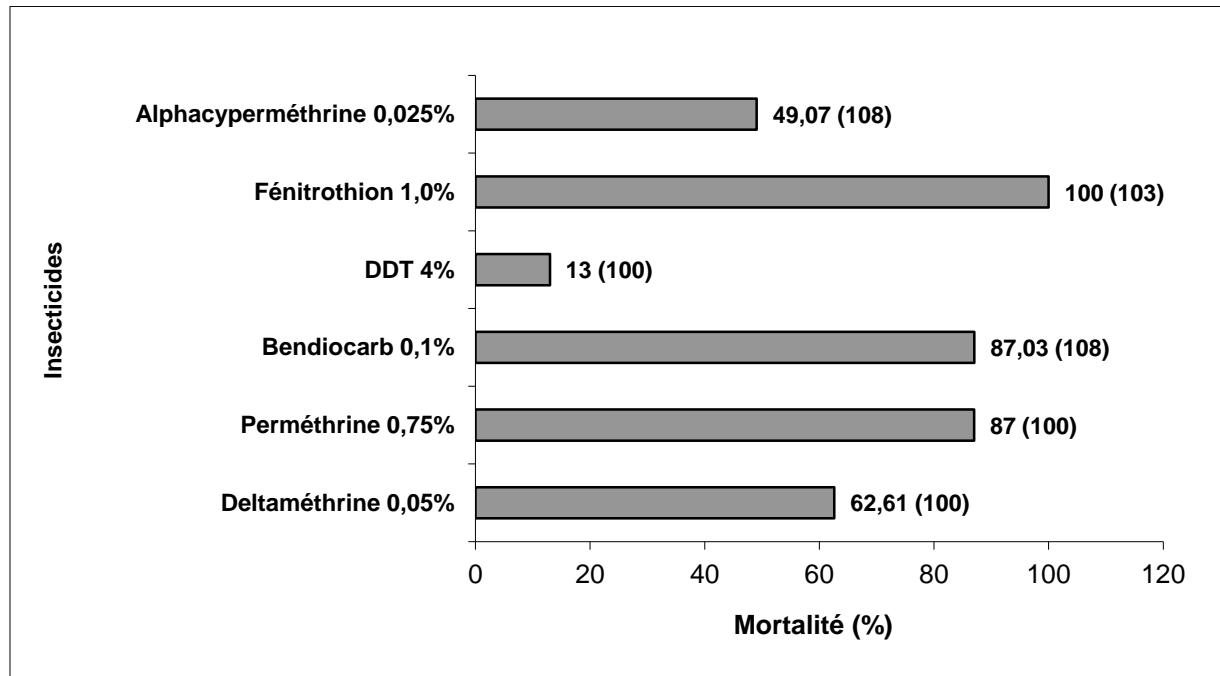


Figure 6 : Résultats des tests de sensibilité (*Anopheles gambiae* s.l)

2. Caractérisation spécifique des espèces et des mécanismes de résistance aux insecticides

Les moustiques qui ont été analysés appartiennent tous au complexe *Anopheles gambiae* et exclusivement à l'espèce *Anopheles gambiae* s.s. Deux formes moléculaires ont été discriminées chez cette espèce. La forme M prédomine (95,55%) sur la forme S (4,44%). La recherche du gène *Kdr* dans les échantillons identifiés a révélé chez la forme M d'*Anopheles gambiae* s.s, la présence des spécimens homozygotes RR (*Kdr/Kdr*) résistants dont le taux est très élevée (81%) mais aussi des spécimens hétérozygotes SR (*Kdr/Kds*) (7%) et sensibles (12%) en faibles proportions. Par contre chez la forme S, les spécimens *Kdr/Kdr* et *Kds/Kds* sont en proportion égale (50%). La mutation génétique ace-1 n'a pas été observée, tous les moustiques sont sensibles (100%) (**Tableau III**).

Tableau III : Caractérisation des espèces, des formes moléculaires et des mutations génétiques

Mutation <i>kdr</i>				
Espèces	Nombre de femelles	<i>kdr/kdr</i>	<i>kdr/kds</i>	<i>kds/kds</i>
<i>An. gambiae</i> s.s. M	43 (95, 55%)	81%	7%	12%
<i>An. gambiae</i> s.s. S	2 (4, 44%)	50%	0%	50%
<i>An. arabiensis</i>	0	-	-	-

Mutation <i>ace.I^R</i>				
Espèces	Nombre de femelles	<i>ace.I^R /ace.I^R</i>	<i>ace.I^R /ace.I^S</i>	<i>ace.I^S /ace.I^R</i>
<i>An. gambiae</i> s.s. M	43 (95, 55%)	0%	0%	100%
<i>An. gambiae</i> s.s. S	2 (4, 44%)	0%	0%	100%
<i>An. arabiensis</i>	0	-	-	-

Fréquence allélique (FR=0,85)

FR= nombre de spécimens hétérozygotes (RS) + 2 x nombre de spécimens homozygotes (RR)

2 x nombre total de moustiques

Les tests biochimiques ont révélé deux types d'activités enzymatiques chez *Anopheles gambiae* s.s. (souches Kisumu et de terrain). Il s'agit des activités estérasiques et oxydasiques (**Figure 7**). Ainsi, une activité enzymatique élevée n'est observée que chez les moustiques de terrain.

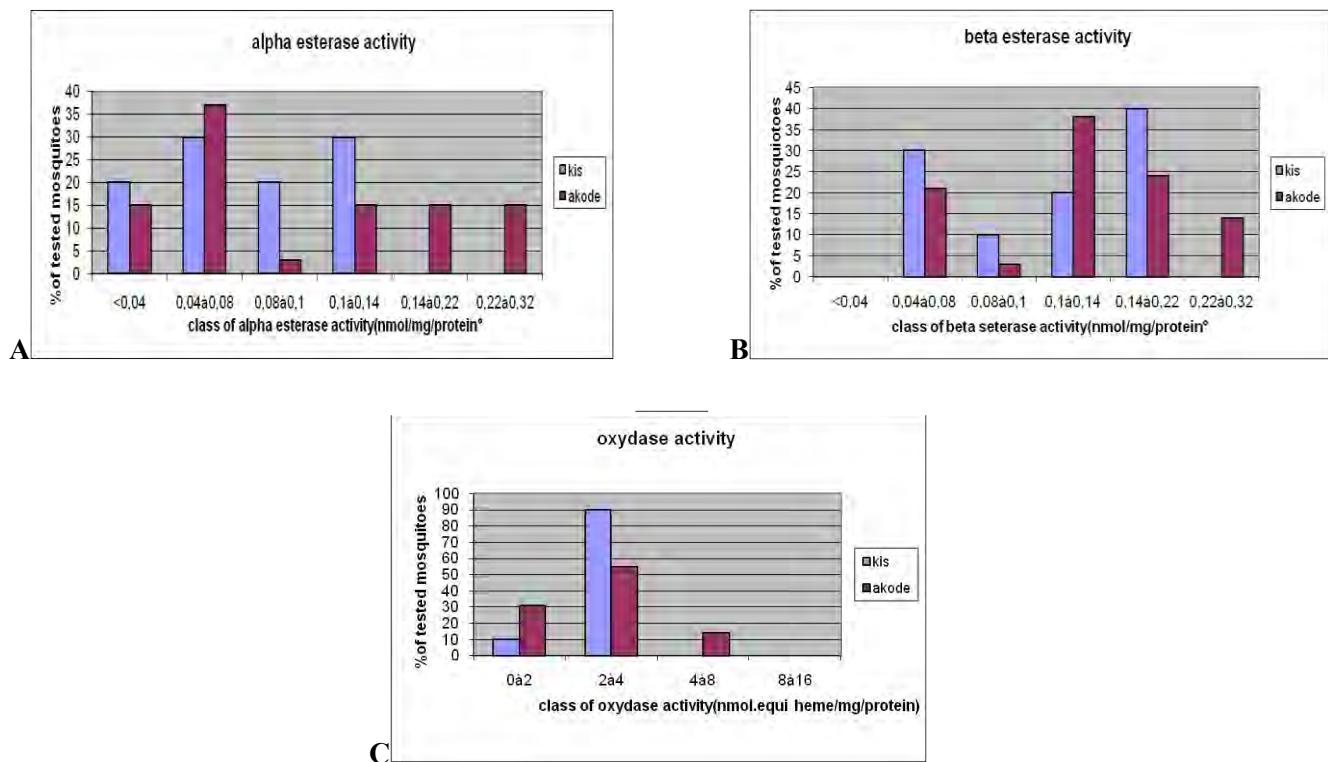


Figure 7 : Activités α , β estérasiques (A et B) et oxydasiques des populations d'*An. gambiae* s.l (C)

NB : Akos= Akodésséwa (souche de terrain), Kis= Kisumu (souche sensible)

4. Test d'efficacité

Pour établir le seuil de l'Exhaustion, un test en cône a été effectué selon les recommandations de l'OMS. Les résultats obtenus (**Tableau IV**) donnent respectivement un Knock down et un taux de mortalité inférieur à 95% et à 80% montrant ainsi une diminution de l'efficacité.

Tableau IV : Knock down et mortalité déterminant le seuil de l'Exhaustion

Nbre de lavages	%KD 60 min	%Mort 24H	N	%Mort Témoin (n)
0 lavage	100a	98,03a	51	0 (60)
1 lavage	98,64a	97,29a	74	0 (60)
2 lavages	96,61a	93,22a	59	0 (60)
3 lavages	89,23a	76,92b	65	0 (60)

KD = Knock down, N= nombre de moustiques utilisés pour le test, n= nombre de moustiques témoin. Les valeurs affectées d'une même lettre indiquent qu'il n'y a pas de différence significative ($p>0,05$).

Des moustiques femelles d'*Anopheles gambiae* s.s (souche Kisumu) et souche de terrain ont été exposés aux différents types de moustiquaires. Les résultats obtenus (**Tableau V**) montrent que toutes les moustiquaires sont efficaces même après les 20 lavages sur la souche Kisumu. Ainsi, le taux de mortalité après 24H et les Knock down sont compris entre 80% et 100% sauf la CTN qui a induit 76,92% de mortalité. Cependant les résultats (**Tableau VI**) montrent une diminution de l'efficacité des moustiquaires après les 20 lavages sur la souche sauvage. Ainsi les Knock down et les taux de mortalité sont compris respectivement entre 30% - 100% et 8%-100%. Le taux de mortalité enregistré pour le témoin est inférieur à 5%.

Tableau V : Efficacité des moustiquaires sur *Anopheles gambiae* (souche Kisumu) avant et après le lavage des moustiquaires

Type de moustiquaire	% KD 60 min (avant)	%Mort 24H (avant)	N	% KD 60 min (après)	%Mort 24H (après)	N
Témoin	0	1,66	60	0	1	53
P 2.0 0X	98,61	100	72	97	98,06	62
P 3.0 0X	98,48	100	66	98	100	51
P 2.0 20X	100	100	49	82,97	91,48	47
P 3.0 20X	100	100	50	98,14	92,59	54
Netprotect 0X	95,33	99,21	53	90	100	50
Netprotect 20X	98,14	96,29	62	81,81	95,45	44
Exh (CTN)	100	98,03	51	89,23	76,92	65

Témoin : moustiquaire ordinaire non traitée ; P2.0 0X : PermaNet 2.0 non lavée ; P2.0 20X : PermaNet 2.0 lavée 20 fois ; P3.0 0X : PermaNet 3.0 non lavée ; P3.0 20X : PermaNet 3.0 lavée 20 fois ; Exhaustion (CTN) : moustiquaire ordinaire traitée manuellement à la Deltaméthrine 25mg/m².

Tableau VI : Efficacité des moustiquaires sur *Anopheles gambiae* (souche de terrain) avant et après le lavage des moustiquaires

Type de moustiquaire	% KD 60 min (avant)	%Mort 24H (avant)	N	% KD 60 min (après)	%Mort 24H (après)	N
Témoin	0	0,54	54	0	0,53	53
P 2.0 0X	92,15	96,07	51	94,23	96,15	52
P 3.0 0X	92	94	50	96	96,29	54
P 2.0 20X	92,30	94,23	52	37,50	6,25	48
P 3.0 20X	93,61	95,74	47	38,77	8,16	49
Netprotect 0X	92,85	91,07	56	20,40	20,40	49
Netprotect 20X	93,75	91,66	48	17,39	21,73	46
Exh (CTN)	82,69	86,53	52	37,73	13,20	53

Témoin : moustiquaire ordinaire non traitée ; P2.0 0X : PermaNet 2.0 non lavée ; P2.0 20X : PermaNet 2.0 lavée 20 fois ; P3.0 0X : PermaNet 3.0 non lavée ; P3.0 20X : PermaNet 3.0 lavée 20 fois, Exh (CTN) : moustiquaire ordinaire traitée manuellement à la Deltaméthrine 25mg/m².

4. Test d'efficacité par pulvérisation avec les aérosols et par fumigène avec les spirales antimoustiques.

4.1. Tests d'efficacité par pulvérisation avec les aérosols

Les résultats des KD 30 et KD 60 et les taux de mortalité obtenus au cours de ce test sont représentés sur les **figures 8 et 9**. Ces résultats montrent que les KD de ORO sont les plus faibles comparés à ceux des autres aérosols. MOBIL n'a pas induit de knock down (KD 30 et 60 sont quasi nuls). Les taux de mortalité sont de 50,56%, 70,75% et 2,86% respectivement pour ORO et TOTAL et MOBIL. Ces taux sont significativement faibles par rapport aux autres ($p<0,05$).

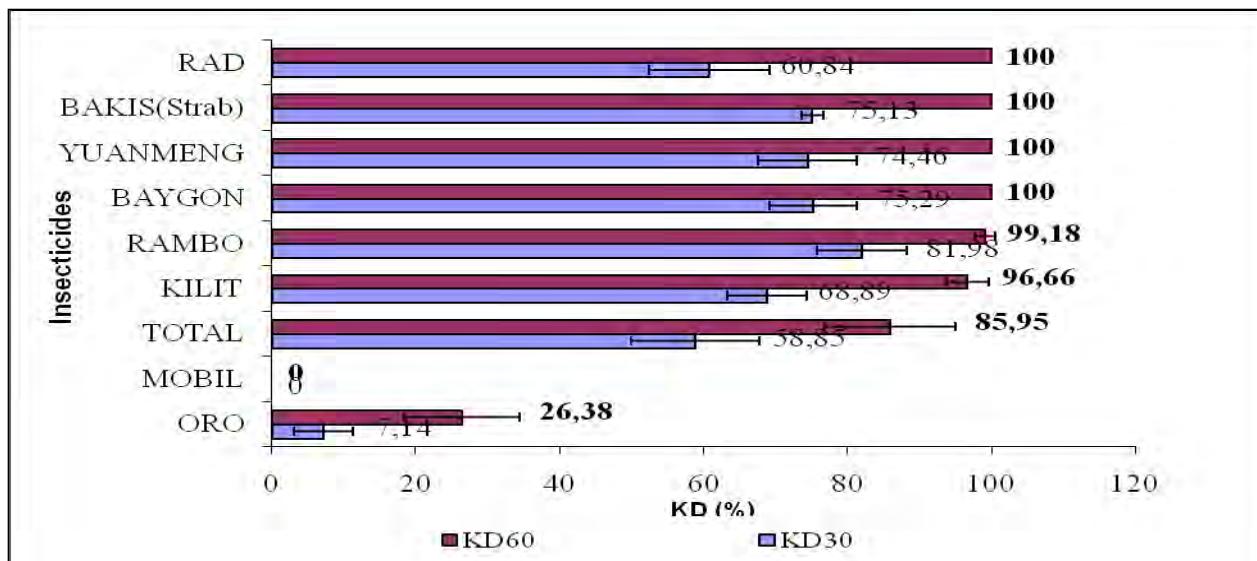


Figure 8 : Les Knock Down obtenus lors des tests de pulvérisation (souche de terrain)

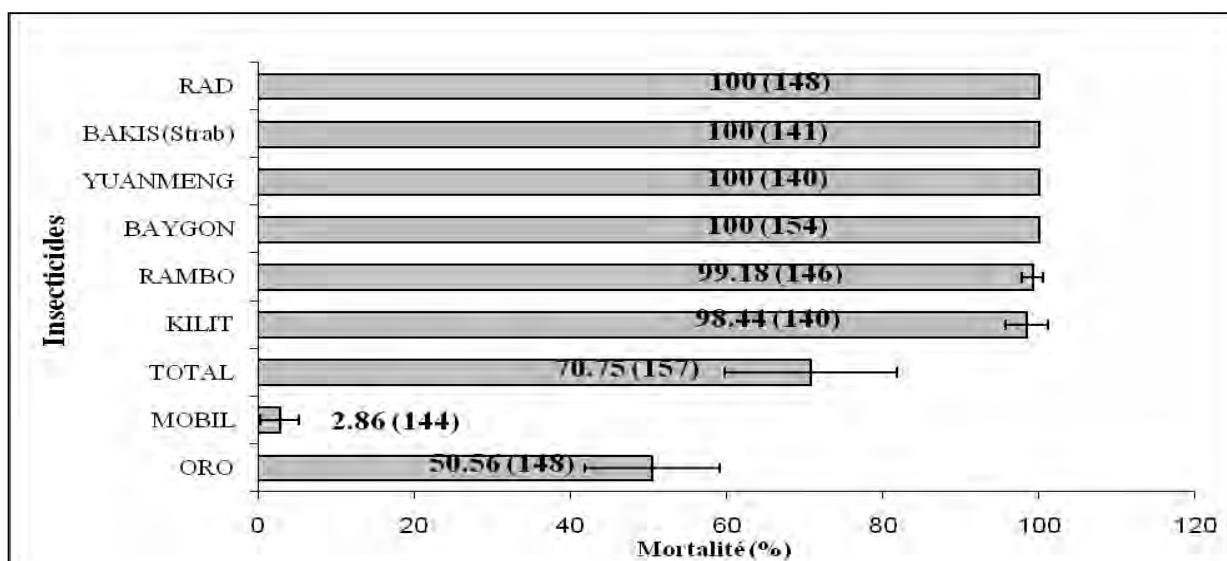


Figure 9 : Mortalités obtenues 24H après les tests de pulvérisation (souche de terrain)

4.2. Test d'efficacité par fumigène avec les spirales antimoustiques.

Les résultats des KD 30 et KD 60 et les taux de mortalité obtenus au cours de ce test sont représentés sur les **figures 10 et 11**. Les KD de TOTAL sont les plus faibles comparativement aux autres. Quant au taux de mortalité, il est compris entre 0 et 100%. Seul le spirale BAYGON a été efficace sur les moustiques avec une mortalité de 99,31%. Le plus faible taux de mortalité a été enregistré avec TOTAL (15,89%).

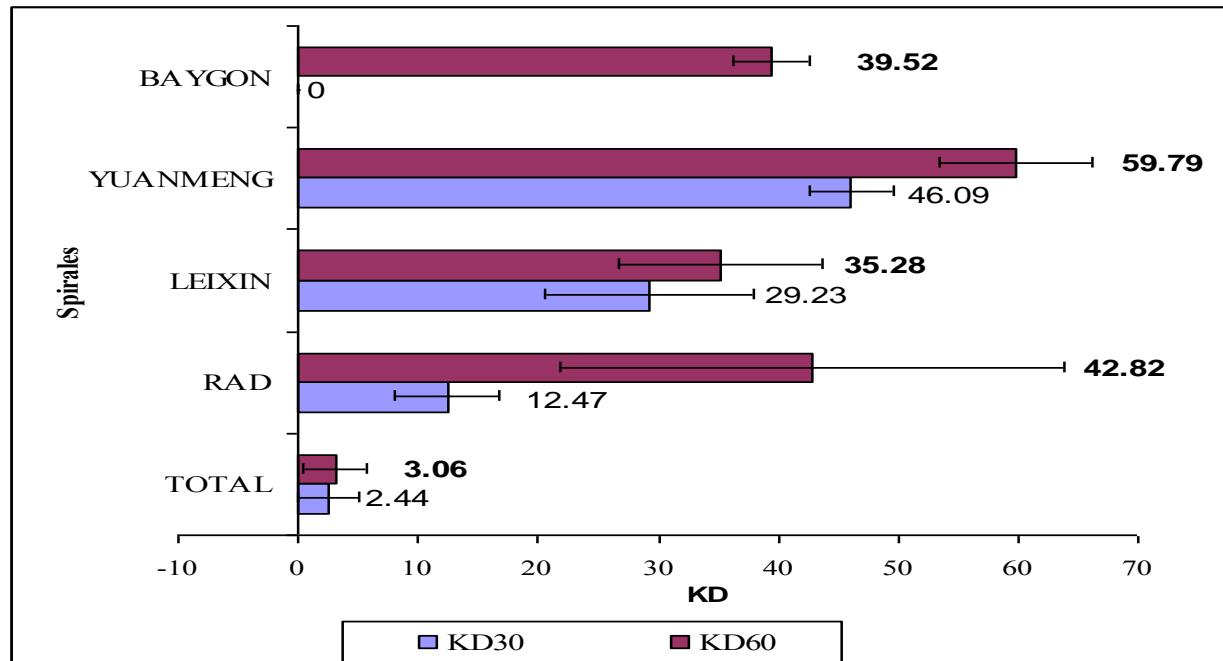


Figure 10 : Les Knock Down obtenus après les tests par fumigène (souche de terrain)

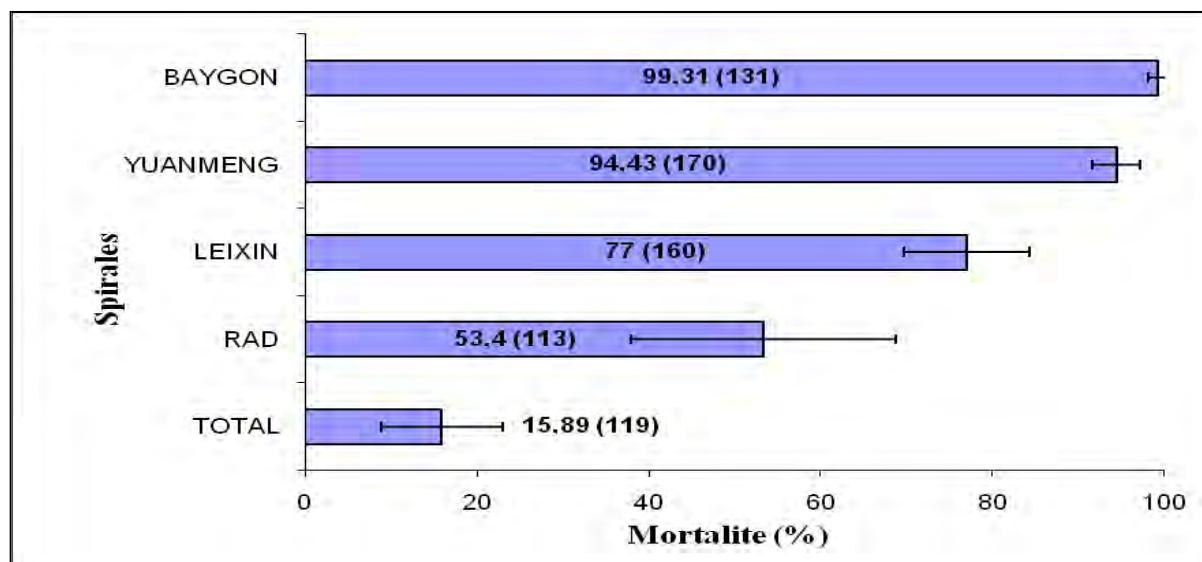


Figure 11 : Mortalités obtenues 24H après les tests par fumigène (souche de terrain)

II- DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons déterminé dans un premier temps le niveau de sensibilité des populations d'*Anopheles gambiae* s.l à un certain nombre de classe d'insecticides. Il s'agit de trois (3) Pyrétrinoïdes (Perméthrine, Deltaméthrine, Alphacyperméthrine), d'un (1) Carbamate (Bendiocarbe), d'un (1) Organophosphoré (Fénitrothion) et d'un (1) Organochloré (DDT). D'une part, tous les moustiques ont été sensibles au Fénitrothion avec un taux de mortalité de 100% et ces résultats similaires ont été obtenus chez *An. gambiae* s.s à Yamoussoukro en Côte d'Ivoire en 2010 par Ahoua Alou *et al* [2]. D'autre part, une forte résistance a été observée dans la population d'*An. gambiae* vis-à-vis du DDT (13%) et ceci confirme les observations faites par Dery en 2008[9], Ketoh *et al* en 2005 [16]. Par ailleurs, nous avons noté une résistance possible à la Perméthrine et au Bendiocarbe (87%) et les moustiques sont résistants à la Deltaméthrine (62,61%) et à l'Alphacyperméthrine (49,07%). Cependant, les travaux réalisés en 2008 par Dery [9] à Lomé ont révélé une sensibilité de la population anophélienne à la Deltaméthrine et au Bendiocarbe ; ceci indique qu'il y a une diminution de la sensibilité chez les populations testées. Elle peut être expliquée par l'utilisation des insecticides par les maraîchers à proximité de la zone prospectée ou par une augmentation des individus portant le gène de résistance c'est-à-dire une augmentation de la fréquence allélique (85%). Cette diminution de sensibilité aux Pyrétrinoïdes a été rapportée par Ngoagouni en 2006 [22] et le PNLP en 2009 [19] mais elle a été aussi observée dans certaines localités en Afrique Centrale (Cameroun) [21] et en Afrique de l'Est (Ouganda) [26].

Les techniques de la biologie moléculaire ont permis d'identifier les espèces du complexe *Anopheles gambiae* et elles ont révélé uniquement la présence d'*An. gambiae* s.s et les deux formes moléculaires M et S. La forme M est plus représentée avec 95,55% spécimens contre 4,44% de la forme S. En 2008, les études effectuées par Dery [9] n'ont signalé que la présence de la forme M mais aussi d'un hybride M/S ce qui se traduit par un croisement entre ces deux formes moléculaires (M et S) en condition naturelle donnant ainsi des individus hybrides. Cette prédominance d'*An. gambiae* s.s de forme M a été démontrée en 2010 par Ketoh *et al* [17] et ces mêmes auteurs ont signalé aussi la présence d'*An. arabiensis* en faible proportion. Dans le Sud du Bénin, c'est *An. gambiae* s.s qui prédomine (98%) ainsi que la forme moléculaire M (97%) selon Yadouleton *et al* [30] et ces auteurs ont signalé la présence d'*An. melas*. Cette dernière a été signalée à Lomé (situé au sud du Togo) en 1995 par Akogbéto et Di Deco en 1995 [3]. Dans certaines localités du Mali, du Nigéria et au Sud-ouest du Burkina Faso, cette prédominance d'*Anopheles gambiae* M a été rapportée

respectivement par Touré *et al* [23] ; Awolola *et al* [5]; Djogbénou *et al* [10] mais aussi au Bénin par Corbel *et al* [8]. Cependant, dans la zone soudano-guinéenne au Burkina Faso, c'est la forme moléculaire S qui prédomine.

Au sein de la population d'*An. gambiae* s.s la mutation génétique homozygote *Kdr* /*Kdr* est observée chez 81% de la forme M contre 50% chez la forme S. La fréquence allélique est élevée et est de 85%. Ces observations ont été faites par Dery [9] en 2008. La résistance croisée au DDT et aux Pyréthrinoïdes obtenue est due à la présence de la mutation *Kdr* chez ces moustiques. En effet, dans plusieurs pays d'Afrique, cette résistance croisée a été observée dans la population anophélienne et est attribuée à l'utilisation en agriculture des Organochlorés et à la protection domestique par usage des Pyréthrinoïdes [11, 13]. Les analyses biochimiques ont révélé une activité enzymatique élevée (estérasique et oxydasique) chez les moustiques de terrain traduisant ainsi une action de détoxification. Ceci confirme la diminution de la sensibilité des moustiques vis-à-vis du Bendiocarbe puisque la mutation *Ace-1*(gène responsable de la mutation croisée entre les carbamates et les Organophosphorés) n'a pas été observée.

Dans un second temps, nous avons effectué des tests d'efficacité avec des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action telles que PermaNet 3.0, Netprotect et PermaNet 2.0 sur la population d'*An. gambiae*. Les résultats obtenus ont montré une efficacité des moustiquaires sur la souche Kisumu avant et après les 20 lavages sauf la CTN dont l'efficacité a diminué après trois lavages. Les taux de mortalité enregistrés après 24H sont compris entre 90-100%. Ces résultats confirment les travaux réalisés par Dery en 2008 à Lomé [9]. En 2005, Ketoh et collaborateurs [17] ont obtenu les mêmes résultats avec la moustiquaire PermaNet version 1 imprégnée à la même dose de Deltaméthrine que PermaNet 2.0. Des travaux réalisés en Afrique de l'Ouest et Centrale (Bénin, Burkina Faso et Cameroun) par Corbel *et al* [7] mais aussi en Afrique de l'Est (Tanzanie) par Tungu *et al* [24] en 2010 avec des résultats similaires montrant également l'efficacité des PermaNet même après les 20 lavages sur la souche Kisumu. Cependant, on note une diminution de l'efficacité de ces moustiquaires sur les individus de la souche sauvage après les lavages traduisant ainsi la résistance de ces derniers.

Les tests de pulvérisation ont permis d'évaluer l'efficacité des bombes aérosols utilisés dans les ménages sur la population anophélienne. Il s'agit de RAD, RAMBO, KILIT, TOTAL, BAKIS, BAYGON, ORO, YUANGMENG et MOBIL. Les résultats obtenus montrent que RAD, RAMBO, KILIT, BAYGON, BAKIS, YUANGMENG sont efficaces sur les moustiques avec des taux de mortalité de 100%. Par contre ORO et TOTAL ont induit

respectivement 50,56% et 70,75% de mortalité traduisant une résistance des moustiques. Pour MOBIL, le taux de mortalité est très faible comparativement aux précédents avec des KD quasi nuls. Avec ces résultats, la propriété insecticide de MOBIL est à revoir puisque le taux de mortalité obtenu avec la souche sensible Kisumu est aussi faible (68,48%) alors que les autres aérosols ont été efficaces sur cette même souche. De même les tests réalisés avec les spirales antimoustiques ont montré que seul le spirale BAYGON a été efficace avec une mortalité de 99,31%. Les taux de mortalité enregistrés avec YUANGMENG (94,43%), RAD (53,4%), LEIXIN (77%) et TOTAL(15,89%) sont faibles comparativement au BAYGON.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En l'absence de vaccin et de traitement (coûteux), la lutte antivectorielle reste l'un des moyens efficace pour lutter contre les maladies vectorielles. C'est ainsi qu'au Togo, le contrôle du paludisme repose sur les mesures de lutte antivectorielle telles que les moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII) et des moyens de protection individuelle. De nos jours, les MII restent confrontées au problème de la résistance des vecteurs. C'est dans cette optique que nous avons déterminé le niveau de sensibilité *d'An. gambiae* aux insecticides utilisés en santé publique, mais aussi de caractériser les mécanismes de résistance et d'évaluer l'efficacité de nouvelles générations de MILD et des produits insecticides tels que les bombes aérosols et les spirales antimoustiques. Les résultats ont révélé une résistance des moustiques vis-à-vis de tous les insecticides à l'exception du Fénithroton. Pour ceux utilisés dans les ménages, les bombes aérosols ont été efficaces à l'exception d'ORO, MOBIL et TOTAL. Quant aux spirales, seul le BAYGON a été efficace sur les moustiques. Les techniques de Biologie moléculaire ont permis d'identifier *An. gambiae* s.s et deux formes moléculaires M et S avec une prédominance de la forme M ainsi que la présence du gène *Kdr* avec une fréquence allélique élevé (85%) induisant le développement de la résistance d'*An. gambiae* aux DDT et aux Pyréthrinoïdes. Les analyses biochimiques ont révélé des activités enzymatiques élevées chez les moustiques. Les tests d'efficacité ont indiqué que toutes les moustiquaires ont été efficaces même après les 20 lavages sur la souche Kisumu de laboratoire mais par contre chez la souche sauvage, on note une diminution de l'efficacité des moustiquaires.

Il est donc impératif de réglementer la commercialisation des produits insecticides mais aussi de mettre en place un réseau d'évaluation et de surveillance de la résistance. Des futures études sont nécessaires à réaliser afin de déterminer les facteurs favorisant la prédominance d'*An. gambiae* s.s de forme M à Lomé par apport aux autres espèces puisque les travaux antérieurs ont montré en plus d'*An. gambiae* s.s, la présence d'*An. melas* et d'*An. arabiensis* [1, 3, 22].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Ahadji-Dabla KM**, (2006). Distribution saisonnière et spatiale d'*Anopheles gambiae* s.l Giles à Lomé (TOGO) et Mécanismes impliqués dans la résistance aux insecticides. Mémoire de DEA 45p.
2. **Ahoua Alou LP, Koffi A, Adja MA, Tia E, Kouassi PK, Koné M and Chandre F**, (2010). Distribution of ace-1R resistance to Carbamates and Organophosphates in *Anopheles gambiae* s.s population from Côte d' Ivoire. *Malaria Journal*, 9:167.
3. **Akogbétó and Di Deco MA**, (1995). Répartition des membres du complexe *Anopheles gambiae* et leurs variants chromosomiques au Bénin et au Togo. Afrique Occidentale. *J. Afr. Zool.* 109: 443-454.
4. **Akogbeto M and Yakoubou S**. (1999). Resistance of malaria vectors to pyrethroids used for impregnated bednets, Benin, West Africa. *Bull Soc Path Exo* 92: 123-130.
5. **Awolola TS, Oyewole IO, Amajoh CN, Idowu ET, Ajayi MB, Oduola A, Manafa OU, Ibrahim K, Koekemoer LL, Coetzee M**: Distribution of the molecular forms of *Anopheles gambiae* and pyretrinoid knock down resistance gene in Nigeria. *Acta Tropica* 2005, 95: 204-209.
6. **Chandre F, Darrier F, Manga L, Akogbeto M, Faye O, Mouchet J, and Guillet P**, (1999). Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* sensu lato. *Bull Word Health Organ* 77: 230-234.
7. **Corbel V., Chabi, J., Dabiré, R., Etang, J. D., Nwane P., Pigeon, O., Akogbétó M., Hougard, J.M.** (2010). Field efficacy of a new mosaic long-lasting mosquito net (PermaNet 3.0) against pyrethrinoid-resistant malaria vectors: a multicentre study in Western and Central Africa. *Malaria Journal*. 9:13
8. **Corbel V, N'guessan R, Brengues C, Chandre F, Djogbenou L, Akogbeto MT, Hougard JM, Rowland M**. (2007). Multiple insecticide resistance mechanism in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. *Acta Trop*, 101:207-216.
9. **Dery D**, (2008). Efficacy of a mosaic LLIN (PermaNet® 3.0 - Vestergaard Frandsen S.A.) against natural populations of resistant *Culex quinquefasciatus* in experimental huts, Togo. Mémoire, 25p.
10. **Djogbenou L, Dabiré R, Diabaté A, Kengne P, Akogbétó, M, Hougard JM and Chandre F**. (2008). Identification of Geographic Distribution of the ACE-1R Mutation in the Malaria Vector *Anopheles gambiae* in South-Western Burkina Faso, West Africa. *Am. J. Med. Hyg*, 78(2), pp. 298-302.

- 11. Diabate A, Baldet T, Chandre F, Akogbeto M, Guiguemde TR, Darriet, F, Brengues C, Guillet P, Hemingway J, Small GJ and Hougard JM,** (2002). The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae* s.l in Burkina Faso. *Am J Trop Med Hyg* 67: 617-622.
- 12. Elissa N, Mouchet J, Riviere F, Meunier JY, and Yao K.** (1993). Resistance of *Anopheles gambiae* s.s to pyrethroids in Côte d'Ivoire. *Ann Soc Belg Med Trop* 73: 291-294.
- 13. Elissa N, Mouchet J, Riviere F, Meunier JY and Yao K.** (1994). Susceptibility of *Anopheles gambiae* to insecticides in the Ivory Coast. *Sante* 4: 95-99.
- 14. Etang J, Manga L, Chandre F, Guillet P, Fondjo E, Mimpfoundi R, Toto JC and Fontenille D.** (2003). Insecticide susceptibility status of *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) in the Republic of Cameroon. *J Med Entomol* 40: 491-497.
- 15. Fontenille D, Lagneau C, Lecollinet S, Le fait-Robin R, Setbon M, Tirel B, Yebakima A,** (2009). *Lutte Antivectorielle en France*, pp 21.
- 16. Ketoh KG, Ahadji-Dabla MK, Brengues C, Corbel V, Chandre F, Hougard JM Fontenille D and Glitho IA,** (2010). Seasonal distribution and insecticide resistance of *Anopheles gambiae* s.l. in Lomé Togo. Données non publiées.
- 17. Ketoh KG, Morgah K, Akogbeto M, Faye O and Glitho I.A,** (2005). Insecticide Susceptibility Status of *Anopheles* Populations in Togo. *J. Rech.Sci.Univ.Lomé*, Serie A, 7(2): 13-22
- 18. Ministère de la Santé du Togo.** Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme. Plan Stratégique Nationale (Faire Reculer le Paludisme). 2001-2005, 50p
- 19. Ministère de la Santé du Togo.** (2009). Rapport d'activité du Programme National de Lutte contre le Paludisme, 60p.
- 20. Mueller DH, Wiseman V, Bakusa D, Morgah K, Daré A and Tchamdjia P,** (2009). Cost-treated net distribution as part of the Togo Integrated Child Health Campaign. *Malaria Journal*, 7: 73.
- 21. Ndjemai HNM, Patchoké S, Atangana J, Etang J, Simard F, Charles F, Bilong Reimer L, Cornel A, Lanzaro GC, Fondjo E,** (2009). The distribution of insecticide resistance in *Anopheles gambiae* s.l population from Cameroon: an update. *Trans R Soc Trop Med Hyg*.
- 22. Ngoagouni C,** (2006). Influence de la qualité de l'eau sur le développement post-embryonnaire des stades préimaginaux et Evaluation du potentiel de reproduction et de sensibilité des adultes d'*Anopheles gambiae* s.l (Diptera : Culicidae) au Laboratoire. Mémoire de DEA, 52p.

- 23. Touré YT, Petraca V, Traoré SF, Coulibaly A, Maiga HM, Sankare O, Sow M, Di Deco MA and Coluzzi M**, 1998. The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. *Parassitologia* 40: 477-511.
- 24. Tungu P, Magesa S, Maxwell C, Malima R, Masue D, Sudi W, Joseph Myamba, Pigeon O, Rowland M**, (2010) Evaluation of PermaNet 3.0 a Deltaméthrine-PBO combination net against *Anopheles gambiae* and Pyretroids resistant *Culex quinquefasciatus* mosquitoes: an experimental hut trial in Tanzania. *Malaria Journal*, 9:21.
- 25. UNICEF (2007)**. Le paludisme et les enfants, Rapport d'activité sur la couverture des interventions, 69 p, pp 1
- 26. Verhaeghen K, Wim Van Bortel, Roelants P, Okello PE, Talisuma A and Coosemans M**, (2010). Spatio-Temporal Patterns in *kdr* Frequency in Permethrin and DDT and Resistant *Anopheles gambiae* s.s from Uganda. *Am.J. Trop. Med. Hyg*, 82(4), pp. 566-573.
- 27. Vulule JM, Beach RF., Atieli FK, Roberts JM, Mount DL and Mwangi RW**, (1994). Reduced susceptibility of *Anopheles gambiae* to permethrin associated with the use of permethrin-impregnated bednets and curtains in Kenya. *Med Vet Entomol* 8: 71-75.
- 28. WHO**, (2006). Guidelines for testing mosquito adulticides intended for indoor Residual Spraying (IRS) and Insecticide Treated Nets (ITNs).
- 29. WHO**, (1998). *Report of the WHO Informal Consultation on test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces, WHO, Geneva, 28–30 September 1998*. Geneva, World Health Organization (WHO/CDS/CPC/MAL/98.12).
- 30. Yadouleton AW, Padonou G, Asidi A, Moiroux N, Bio-Banganna S, Corbel V, Nguesson R, Gbenou D, Yacoubou I, Gazard K, Akogbeto MC**, (2010). Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin. *Malaria Journal*, 9:83.
- 31. Zaim M and Guillet P**, (2002). Alternative insecticides: an urgent need. *Trends Parasitol*, 18: 161-163.