



REPUBLIQUE DU BENIN

\*\*\*\*\*

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI

\*\*\*\*\*

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

\*\*\*\*\*

DEPARTEMENT DE ZOOLOGIE

\*\*\*\*\*

LICENCE EVOLUTION BIODIVERSITE DES ATHROPODES ET  
ASSAINISSEMENT

\*\*\*\*\*

RAPPORT DE STAGE

**THEME : Durabilité et efficacité de sept types de moustiquaires imprégnés d'insecticides à longue durée d'action dans la même aire géographique au Bénin, Afrique de l'Ouest : commune de Zagnanado**

**Rédigé et présenté :**

Loviat Ywémoubékou N'KOUËI

**Sous la direction de :**

Professeur Martin AKOGBETO

*Année-académique : 2016-2017*

*Deuxième promotion*

**C.R.E. - COTONOU**

## **1. Introduction générale**

Les Arthropodes sont les espèces les plus nombreuses de la terre et sont impliqués dans de nombreux domaines de la vie des Hommes, dont celui de la santé. Pour mieux les connaître et lutter contre les affections dans lesquelles ils sont impliqués ; nombreux sont les scientifiques qui s'intéressent à leurs études. C'est dans ce contexte que le département de zoologie de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC) a commencé par former des cadres de niveaux supérieurs (Docteurs et Techniciens de Recherches) depuis près de deux décennies, avec la création de la première formation Master en Entomologie Appliquée (MEA) pour l'étude et la lutte contre les arthropodes. La création en 2016 d'une formation en Licence Evolution Biodiversité des Arthropodes et Assainissement (LEBA) à la FAST s'inscrit dans la même logique et vise les mêmes objectifs. Cette formation a pour but de préparer et de former des jeunes capables de réaliser des études sur ce règne animal (arthropodes), de pouvoir développer des moyens de lutte et de protection contre les arthropodes hématophages (insectes et acariens), vecteurs d'agents pathogènes à l'homme et aux vertébrés, et leur surveillance ; répondre à des questions d'ordre environnemental, qui est l'un des facteurs de prolifération de ces organismes. Plusieurs instituts et centre de recherches participent conjointement à ces formations et à la surveillance de ces vecteurs de maladies. Dans le but de mettre en pratique les connaissances acquises durant le premier cycle universitaire en Evolution Biodiversité des Arthropodes et Assainissement du Département de Zoologie, nous avons effectué un stage de trois mois allant du 15 décembre au 15 mars 2018 au Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC). Ce Centre est un Etablissement public dépendant du Ministère de la Santé béninois et spécialisé dans la recherche sur le paludisme et autres maladies à transmission vectorielle. Il contribue aussi énormément à la formation des cadres entomologistes médicaux nationaux et internationaux. Deux axes de recherche principaux sont développés : l'entomologie chargée de la biologie et de la caractérisation des vecteurs des maladies et la parasitologie clinique chargée des essais thérapeutiques. Le choix de ce centre est en adéquation avec notre formation professionnelle. La rédaction du présent rapport qui fait le point de notre stage s'articule autour de la présentation des objectifs de notre séjour au CREC, la description du centre, les différentes activités menées, les difficultés rencontrées et l'élaboration d'un projet.

## **2 - Objectifs du stage**

### **2 - 1. Objectif général**

Le principal objectif de notre investigation est d'approfondir nos connaissances tant théoriques que pratiques en Evolution Biodiversité des Arthropodes et Assainissement et de découvrir la faisabilité du point de vue pratique.

### **2 - 2. Objectifs spécifiques**

De façon spécifique, il est question de :

- Connaitre les procédures de l'élevage des moustiques et les pratiques de laboratoire de recherche au CREC
- Evaluer la durabilité et l'efficacité des moustiquaires dans la commune de Zagnanado

### 3. Description du lieu de stage

Le Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) est spécialisé dans la recherche sur le paludisme. C'est un établissement public dépendant du Ministère de la Santé situé dans la zone industrielle de Cotonou. Il est installé dans la même enceinte que le Service National des Laboratoires de Santé Publique et est limité au Nord par le Centre National de Télédétection (CENATEL), au Sud par le bâtiment ayant abritée la Centrale d'Achats des Médicaments Essentiels (CAME), à l'Est par la Société Béninoise des Peintures et Colorants (SOBEPEC), à l'Ouest par le Ministère de la Santé (MS).

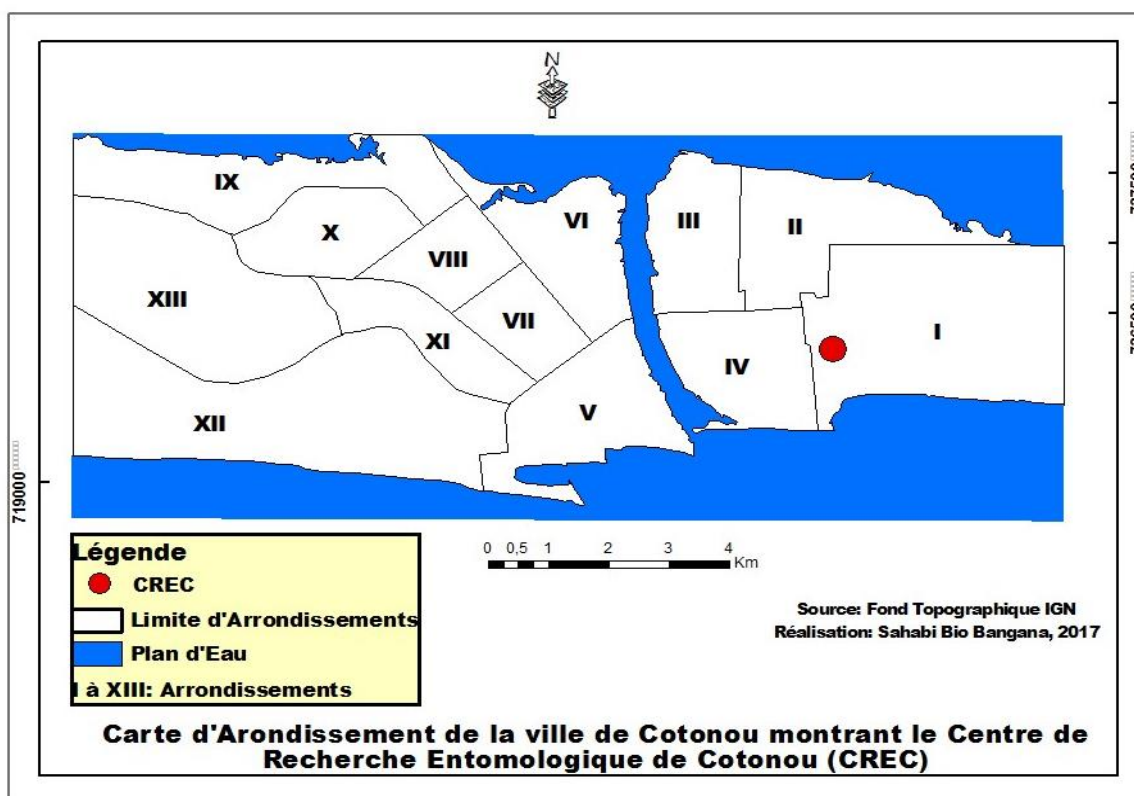


Figure 1 : Carte de la Ville de Cotonou indiquant la localisation du CREC

#### 3.1- Cadre physique

Le CREC dispose d'une direction composée d'un secrétariat, d'un service administratif et financier, de quatre laboratoires d'analyse et de recherche sur les maladies à transmission vectorielle, d'un insectarium et d'une animalerie. Ces laboratoires sont :

A - Le laboratoire d'Entomologie Appliquée où se fait l'identification des insectes diptères à intérêt médical et des moustiques en particulier. Ce laboratoire est doté du matériel pour l'identification et la dissection des différentes espèces de moustiques et autres insectes diptères (loupes, pinces, clés de détermination de Gillie et Meillon), d'un microscope pour la lecture de la parturition des moustiques ;

B - Le laboratoire de parasitologie chargé des essais cliniques. Ce laboratoire évalue la chimio sensibilité du *Plasmodium falciparum* aux anti-malariques.

C - Le laboratoire de biologie moléculaire où se font les tests moléculaires (PCR) et des tests de positivité aux antigènes circum-sporozoitique (Elisa CSP) des vecteurs du paludisme.

D - Le laboratoire de contrôle de qualité des outils de lutte anti vectorielle. Ce laboratoire est chargé de l'évaluation de l'efficacité de moustiquaires imprégnées d'insecticides. Quant à l'insectarium du CREC, il est composé de deux blocs. Le premier bloc appelé larvarium (Figure 2) où sont élevées les larves de différentes souches de moustiques. Ce bloc est constitué de deux compartiments A et B muni des lampes incandescentes, de bacs, de voiles, de levures, de croquettes de chat pour l'élevage des larves et l'incubation des œufs. Le compartiment A accueille les larves de différents genres de moustiques qui proviennent du terrain (populations sauvages). Le compartiment B reçoit les larves de la souche sensible "Kisumu" originaire du Kenya et la souche "VK-Per" originaire de Bobo-Dioulasso au Burkina-Faso.



**Figure 2 : Bacs d'élevages des moustiques à l'insectarium du CREC (L. N'KOUËI ; 2018).**

Le second bloc communément appelé insectarium (Figure 2) est aussi composé de deux compartiments C et D, des cages, des voiles de cages et de climatiseur pour le réglage de l'humidité relative. Le compartiment C reçoit les stades adultes des moustiques sauvages (issus du terrain). Quant au compartiment D, il reçoit les cages (Figure 3) de moustiques adultes de la souche sensible 'Kisumu et VK-Per'.



**Figure 3 : Insectarium des moustiques sensible du CREC (L. N'KOUËI ; 2018)**

L'animalerie (Figure 4), s'occupe de l'élevage de petits mammifères rongeurs (des lapins, des cobayes) et des pigeons sur qui les moustiques se gorgent (prise de sang) pour la maturation de leurs ovaires et la ponte (reproduction des moustiques).



**Figure 4 : Animalerie du CREC (L. N'KOUËI; 2018)**

### **3-2. Personnel**

Le Centre de Recherche Entomologique de Cotonou dispose d'un personnel essentiellement local, avec à sa tête un directeur des cadres administratifs et financiers entourés des Enseignants Chercheurs, de chercheurs, d'étudiants en thèse de doctorat et master qui conduisent conjointement des programmes de recherche sur les vecteurs de paludisme et autres organismes nuisibles. Ce personnel se présente comme suit :

**Le Directeur du CREC :** Professeur Martin AKOGBETO, Coordonnateur de la LEBA, Enseignant à la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) de l'Université d'Abomey-Calavi. Il est chargé de veiller au bon fonctionnement dudit centre. Il élabore des projets de surveillance entomologique en collaboration avec le Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme (PNLP) et d'autres structures de recherches au plan international (IRD, UAC, UAK). Il dirige et supervise les différentes activités de recherche celles des étudiants en master et en thèses de doctorat ;

**Le Secrétariat représenté** par Mesdames Clémence DURAND et Balbine KINDJI. Elles sont chargées de la gestion des dossiers administratifs ;

**Le Chef Service Administratif et Financier :** Mr Safiou IDRISOU assisté par Francine ZONON. Ils sont chargés de la gestion des fonds alloués pour les différentes activités de recherche, du paiement des salaires aux agents du CREC et d'autres questions d'ordre administratifs et financiers ;

**Responsable du laboratoire de biologie moléculaire :** Docteur Razack OSSE, Enseignant Chercheur à l'Université de Kétou. Il assure le bon fonctionnement du laboratoire, dirige les différents tests moléculaires et biochimiques qui sont réalisés dans ledit laboratoire sur les moustiques. Il coordonne la formation des ressortissants étrangers en destination du CREC.

**Responsable du laboratoire de Contrôle de Qualité :** Monsieur Idelphonse AHOGNI. Ce laboratoire assure l'appréciation de l'efficacité, la rentabilité, la pertinence écologique et la durabilité des méthodes de luttés.

**Responsable du laboratoire d'Entomologie Appliquée :** Dr Germain Gil PADONOU, Enseignant Chercheur à l'UAC. Il assure le fonctionnement du laboratoire, où les moustiques et autres insectes d'intérêts forensiques sont identifiés et disséqués après leurs captures sur le terrain.

**Responsable de l'unité de parasitologie :** Dr. Alain NAHUM, coordonnateur des projets d'évaluation de la chimio-sensibilité du *Plasmodium falciparum* aux anti-malariques (essais thérapeutiques). Il travaille en collaboration avec plusieurs médecins, des parasitologues et environnementalistes ;

**Responsable de l'insectarium :** Mr Sébastien KOUDENOUKPO. Il est chargé du suivi et du contrôle de l'élevage des moustiques, ainsi que du fonctionnement de l'insectarium. Il est assisté dans sa mission par Mr Lazare HOUNKANRIN et Mr Issiaka ADELODJOU.

### **3 - 3. Les enseignants chercheurs du centre**

Dr. Germain Gil PADONOU, Enseignant-Chercheur à la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC) et entomologiste au CREC ;

Dr. Rock AIKPON, Enseignant-Chercheur au Centre Universitaire de Natitingou et Entomologiste au CREC ;

Dr. Ange YADOULETON, Enseignant-Chercheur au Centre Universitaire de Natitingou et Entomologiste au CREC ;

Dr. Abdoul Sahabi BIO BANGANA, Enseignant-Chercheur à l'Université Nationale d'Agriculture (UNA) et Environnementaliste au CREC ;

Docteurs Ramzyath AGBARIN, Rodrigue ANAGONOU, Rodrigue Fiacre AGOSSA, tous Chercheur Entomologiste au CREC ;

Messieurs Idelphonse B.AHOGNI, Albert SALAKO, Come KOUKPO et Arsène FASSINOU qui effectuent des travaux de thèse de doctorat au CREC

### **3 - 4. Les thématiques de recherche au CREC**

Le CREC travaille actuellement sur plusieurs sujets de recherche dont nous pouvons citer :

a - Biologie et caractérisation des vecteurs du paludisme ; étude de la résistance des vecteurs aux insecticides ; évaluation de l'efficacité des insecticides et des moustiquaires imprégnées.

b - Inventaire et biologie des Arthropodes d'intérêt forensique à Cotonou.

c - Variabilité de la transmission du paludisme, de la durabilité et l'efficacité des moustiquaires imprégnées d'insecticides en fonction des faciès éco-géographique en zone de savane et de forêt dégradée au Bénin, Afrique de l'Ouest.

d - Utilisation des carbamates et des organophosphorés en pulvérisation intra domiciliaire impact sur la transmission du paludisme et dynamique de la résistance aux insecticides chez *Anophèles gambiae* au Bénin, Afrique de l'Ouest.

e - Portage des mutations Kdr et Ace-1 et sensibilité des formes moléculaires d'*Anopheles gambiae* aux matériaux imprégnés d'insecticides.

f - Contrôle de l'efficacité des moustiquaires imprégnées d'insecticides en fonction du faciès géographique en zone de savane au Benin, Afrique de l'ouest.

g - Evaluation du niveau de résistance d'*Anopheles gambiae* aux insecticides dans les sites sentinelles sur le transect Nord-Sud du Bénin.

h - Déterminants environnementaux, bases génétiques de la résistance puis son impact sur l'efficacité des outils de lutte chez les vecteurs du paludisme au Bénin, Afrique de l'Ouest

i - Bio-écologie de *Anophèles melas* et son infectivité au *Plasmodium falciparum* dans un milieu côtier lagunaire au sud du Bénin en Afrique de l'Ouest et son état de sensibilité aux insecticides ;

j - Etude des mécanismes de résistance par modification de cible (*kdr I1014F* et *ace-1*) et par surexpression des enzymes de détoxification (oxydases, estérases) chez *Anopheles gambiae* et leur impact sur l'efficacité des outils de la lutte anti vectorielle ;

k - Dynamique de transmission de *Plasmodium falciparum* par les populations naturelles de *Anopheles gambiae* s.l et détermination des mécanismes de résistance aux insecticides à Bangui, République Centrafricaine ;

l - Diversité et structure génétiques et la résistance de l'espèce *Anopheles gambiae* s.s (Diptera, Culicidae) dans un contexte de lutte intégrée au Bénin (Afrique de l'Ouest) ;

m - Rôle de l'hétérogénéité écologique et géographique dans la distribution des gènes de résistances aux insecticides chez le principal vecteur du paludisme, *Anopheles gambiae* s.l et les implications pour une lutte efficace contre cette espèce d'insecte

n - Evaluation en Phase II de l'efficacité de Clothianidine50 WG, un nouveau produit insecticide à utiliser en pulvérisation intra-domiciliaire au Bénin ;

o - Evaluation de l'efficacité et l'effet résiduel de l'insecticide mélange Bayer WP 56,25 (mélange Clothianidine200mgm.a/m<sup>2</sup>+ Deltaméthrine25mgm. a/m<sup>2</sup>) en comparaison avec 200mgm. a/m<sup>2</sup> seul et Deltaméthrine25mgm. a/m<sup>2</sup> seul contre une population d'*Anopheles*

*gambiae* sensible aux Pyréthriinoïdes et une population sauvage résistante dans le traitement de la surface intérieure des murs des habitations dans la commune de Dangbo, Bénin ;

p - L'efficacité des Moustiquaires Imprégnées d'insecticides à Longue Durée (MIILD) traitées avec les Synergistes (PBO) sur les populations d'*Anopheles gambiae* à résistance multifactorielles au Bénin.

q - Adaptation des larves des anophèles vecteurs du paludisme aux gîtes d'eau polluée à Cotonou, Bénin

### **3-5 Activités menées au CREC**

Au cours de notre stage au CREC, plusieurs activités ont été réalisées aussi bien à l'insectarium, sur le terrain et au laboratoire.

#### **3-5-1- Activités menées à l'insectarium.**

##### **- Elevage des moustiques**

A l'insectarium, les larves sont triées, séparées suivant leur stade larvaire et mises dans des bacs étiquetés contenant de l'eau. Elles sont réparties en moyenne par lot de 100 par bac pour optimiser non seulement leur croissance mais aussi pour éviter le cannibalisme. Les larves sont nourries avec des croquettes de chat (5 grammes mélangés dans un bac de 500 ml d'eau de gîte larvaire pour 80 larves d'anophèles) qui sont des aliments riches en protéine et en sels minéraux. Chaque bac est recouvert de toile moustiquaire et entreposé dans une salle dont l'humidité relative varie entre 70 et 80% et la température entre 25 et 30°C. La photopériode est assurée par des lampes fluorescentes éclairant de 6h : 00 min du matin à 6h : 00 min du lendemain. A l'apparition des nymphes, elles sont prélevées et mises dans une cage cubique de 30 cm de côté pour l'émergence des adultes. Les adultes issus de l'émergence des larves collectées sur le terrain et mis en cage sont nourris au jus de miel (10%). Les femelles adultes de 2 à 5 jours sont isolées pour être soumises aux tests de sensibilité/résistance aux différents insecticides.

- Les activités menées à l'insectarium chaque semaine sont réparties dans le tableau suivant (tableau I).

**Tableau I : Répartition des travaux à l'insectarium par semaine.**

Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche
Récupérer les adultes et/ou les nymphes	Récupérer les adultes et/ou les nymphes	Récupérer les adultes et/ou les nymphes	Récupérer les adultes et/ou les nymphes	Récupérer les adultes et/ou les nymphes	Récupérer adulte et/ou les nymphes	
Nourrir les larves	Nourrir les larves	Nourrir les larves	Nourrir les larves	Nourrir les larves	Nourrir les larves	
Changer le jus dans les cages	Changer le jus dans les cages	Changer le jus dans les cages	Changer le jus dans les cages	Changer le jus dans les cages		
Gorger sur le lapin des femelles en reproduction		Gorger sur le lapin des femelles en reproduction		Gorger sur le lapin des femelles en reproduction	Mettre les pondoirs	Mettre en eau les pontes
	Mettre les pondoirs		Mettre les pondoirs			Diviser les larves L1
		Mise en eau des pontes		Mise en eau des pontes		Premier gorgement

### 3-5-2. Activité menées au laboratoire

#### 3-5-2-1. Identification et traitement des moustiques

Après la capture, les moustiques collectés sont comptés et séparés en *Culicinae* et *Anophelinae* à l'aide de la loupe binoculaire. Les anophèles sont mis dans des gobelets pour identification selon la clé de Gillies et de Meillon (1968) et de Gillies et Coetzee (1987). Les ovaires d'une partie des femelles d'*A. gambiae s.l.* capturés sur appât humain sont disséqués pour déterminer le taux de parturité, en observant le degré d'enroulement des trachéoles (Detinova *et al*, 1964). Les spécimens d'*A. gambiae* sont conservés séparément selon le lieu de capture dans des tubes eppendorf étiquetés contenant du silicagel à -20°C avant leur analyse.

Tout moustique destiné au test d'ELISA–CSP et à la PCR est divisé en deux parties : la tête thorax pour la première analyse et le reste du corps pour la seconde. La recherche de l'antigène circum sporozoïtique de *Plasmodium falciparum* a été faite par la méthode de titrage immuno enzymatique (Elisa CSP) décrite par Wirtz *et al.* (1987). Les carcasses (abdomen, pattes et ailes) de chaque moustique ont été utilisées pour la caractérisation moléculaire.

### **3-5-2-2. Test de sensibilité**

Les moustiques femelles âgés de 2 à 5 jours, morphologiquement identifiés comme *A. gambiae s.l.* ont été exposés à des doses diagnostiques de divers insecticides pour les tests de sensibilité en utilisant les papiers imprégnés d'insecticides comme le décrit le protocole standard des tests OMS (OMS, 2013). Les insecticides suivants ont été testés : la deltaméthrine (0,05%), la perméthrine (0,75%), le DDT (4%) et le bendiocarde (0,1%) et le pirimiphos méthyl 0,25%. Pour chaque insecticide, cinq tubes à essai ont été utilisés : un papier non traité comme un contrôle et quatre papiers traités pour l'exposition des moustiques. Une moyenne de 20-25 moustiques a été introduite dans chaque tube. Les femelles d'*Anopheles gambiae* utilisées dans cette étude ont été exposées pendant une heure aux papiers imprégnés d'insecticide. Au cours de ce test, le nombre de moustiques tombés sous le choc de l'insecticide (effet knock-down) au bout de différents intervalles de temps (5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 minutes) d'exposition a été enregistré. Après 60 minutes d'exposition, les moustiques ont été transférés dans des tubes contenant des papiers non traités et mis en observation (25°C et 80% d'humidité) avec un accès libre au jus sucré (jus de miel à 10%). La mortalité au bout de 24 heures a été déterminée selon le protocole de l'OMS.

### **3-6. Difficultés rencontrées au cours du stage**

Le Centre de Recherche Entomologique de Cotonou offre un bon cadre pour la recherche mais certaines difficultés ont été également rencontrées au cours de notre stage. Parmi les difficultés rencontrées, figurent :

- L'exposition du personnel aux piqûres de moustiques ; Cette exposition est due au lâchés des moustiques lors des récoltes des moustiques adultes qui s'échappent maladroitement des bacs ou des cages ;
- Difficultés de travail dû aux coupures intempestives de l'énergie électrique ;
- Les coupures de l'énergie électrique rendent difficile les travaux au laboratoire, cela entraîne parfois la reprise complète des manipulations, des dommages des appareils de travail (ordinateur).
- Les difficultés liées au déplacement pour se rendre au centre du stage sont non négligeables.

#### 4. Sujet de recherche

Notre séjour au CREC a été pour nous une occasion de nous familiariser avec les concepts clés de même que les moyens et méthodes utilisés dans la lutte contre *Anophèles gambiae* vecteur du paludisme. C'est ainsi qu'à la suite de notre stage se dégage la thématique intitulée : « **Durabilité et efficacité de sept types de MIILD dans la même aire géographique au Bénin, Afrique de l'Ouest : Commune de Zagnanado** ».

##### 4-1. Introduction

Le paludisme provoque plus d'un million de décès par an, dont 90 pour cent sur le seul continent africain, principalement des jeunes enfants (Rapport de OMS). Cette parasitose véhiculée par des moustiques affecte non seulement la santé des personnes, mais aussi entrave sérieusement le développement économique des pays les plus touchés. Face à ce constat alarmant, plusieurs initiatives internationales, à la tête desquelles le Partenariat pour faire reculer le paludisme (Roll Back Malaria, 1998) et l'Initiative multilatérale sur le paludisme (Multilatéral Initiative on Malaria, 1997), ont remis cette maladie sur le devant de la scène, en incitant les dirigeants des pays les plus touchés à prendre davantage de mesures à son encontre. A cet effet, la moustiquaire, un tissu connu depuis l'Antiquité, en l'associant à un insecticide, est passée en moins d'un quart de siècle du simple statut d'objet de confort à celui de composante clef des stratégies de lutte antipaludique (C. Pennetier *et al.*, 2007). On distingue trois catégories de moustiquaires à savoir : les moustiquaires non imprégnées, les Moustiquaires Imprégnées (imprégnée manuellement) et les Moustiquaires Imprégnées d'Insecticides de Longue Durée d'action faisant l'objet de notre étude. Il existe différents types de MIILD dont chacune est imprégnée à un insecticide spécifique donné, et avec différentes fibres. Dès l'entame de l'utilisation des moustiquaires imprégnées mises à la disposition des populations de l'Afrique occidentale par les initiatives internationales, les résultats ont montré que ces moustiquaires elles-mêmes protègent contre les agressions physiques et sonores (piqûres de moustiques et autres arthropodes hématophages, morsures d'araignées et de serpents, gênes ou bruits occasionnés par les mouches, cafards, etc.) (Hougard, 2008). Cependant, la moustiquaire imprégnée bien qu'elle présente des avantages dans la contribution de la lutte contre le paludisme, présente aussi les inconvénients ou limites. Toutefois, elle ne protège pas complètement contre des moustiques pour peu qu'elle ait le moindre trou, qu'elle soit déchirée, mal bordée et mal traitée ou tout simplement qu'une partie du corps du dormeur entre en contact avec le tulle pendant le sommeil (G. W. Fegan *et al.*, 2007). Certaines personnes sont en effet allergiques aux insecticides employés,

claustrophobes ou intolérantes à la chaleur. Et parfois, l'utilisation des moustiquaires va à l'encontre de certaines traditions, croyances ou pratiques sociales. Aussi, la plupart des moustiquaires sont blanches, ce qui a posé des problèmes d'acceptabilité dans quelques sociétés où le linéul, par tradition, est de couleur blanche (J. Hill *et al.*, 2006). Au regard de tous ces constats, il revient aux organisations internationales de se pencher sur les questions du devenir, la durabilité, et l'efficacité de ces moustiquaires allouées aux populations. Pour cela, des études épidémiologiques et des plans stratégiques ont été initiés dans certains pays africains notamment le Cameroun, la Côte-d'Ivoire, le Bénin dans le but d'apporter la réponse aux différentes préoccupations. C'est dans ce contexte que nous avons choisi mené la présente étude portant sur « **Durabilité et efficacité de sept types de MIILD dans la même aire géographique au Bénin, Afrique de l'Ouest : Commune de Zagnanado** ». Les résultats issus de ces travaux de recherches contribueraient à la prise de décision pour les stratégies de lutttes antivectorielles utilisant les MIILD.

### **Objectif global**

L'objectif général de cette étude vise à évaluer la durabilité et l'efficacité de sept différentes moustiquaires imprégnées utilisées au Bénin en général et dans la commune de Zagnanado en particulier.

### **Objectifs spécifiques**

De façon spécifique, il s'agira de :

O<sub>1</sub> - Déterminer la durabilité de sept MIILD utilisées au Bénin; précisément à Zagnanado

O<sub>2</sub> - Etudier l'efficacité de sept MIILD dans la commune de Zagnanado.

### **Hypothèses**

Pour atteindre ces objectifs les hypothèses ci-après ont été formulées :

H<sub>1</sub> - Il existe de différentes méthodes qui permettent de déterminer la durabilité d'une MIILD;

H<sub>2</sub> - L'efficacité de la moustiquaire s'élève par différents tests en fonction de type d'insecticide utilisé pour son imprégnation.

## **4-2. Synthèse bibliographique**

### **4-2-1. Utilisation des MIILD**

L'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action est l'une des méthodes les plus efficaces et la méthode la plus répandue dans les pays endémiques. Cette

stratégie qui vise à établir une barrière (physique et/ou chimique) entre l'homme et le moustique est utilisée depuis longtemps pour se protéger des piqûres de moustiques (Snow *et al.*, 1987). L'efficacité des moustiquaires a été renforcée lorsqu'elles ont été imprégnées d'insecticides (Darriet *et al.*, 1984). Actuellement, cette imprégnation se fait au moyen des pyréthrinoïdes qui sont les seuls insecticides recommandés pour le traitement des moustiquaires. Il convient de relever que ces pyréthrinoïdes ont un effet excito-répulsif important, mais spécifique pour la plupart des espèces de vecteurs. L'imprégnation réalisée à l'aide de ces pyréthrinoïdes protège efficacement le dormeur d'une barrière chimique qui renforce la barrière physique souvent affaiblie par les trous et les déchirures. L'effet létal de l'insecticide contribue à faire baisser la densité des vecteurs et le taux d'agressivité alors que l'effet répulsif de l'insecticide empêche les piqûres à travers la moustiquaire et la pénétration des moustiques à travers les trous. Cette utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides est une mesure de protection personnelle efficace. Plusieurs études effectuées sur les évaluations de l'efficacité des moustiquaires imprégnées de perméthrine et de deltaméthrine ont donné des résultats satisfaisant (Carnevale *et al.*, 1988 ; Snow *et al.*, 1988). Mais, la nature nomade de certains groupes ethniques, les habitudes culturelles des paysans, les habitudes des villageois à dormir hors de leur case pendant les périodes de chaleur et les représentations liées aux croyances sont autant de barrières qui peuvent rendre inefficaces l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide. A cela s'ajoute son coût élevé, car elle reste pour beaucoup de gens résidant dans les zones rurales, inaccessible car trop onéreuse. Par contre, en milieu urbain où les revenus et le niveau de vie sont supérieurs, l'usage de la moustiquaire imprégnée pourrait être généralisé afin de protéger efficacement les populations contre les moustiques (Hougard, 1991).

#### **4.2.2. Impact de la résistance sur le paludisme**

La résistance des moustiques aux insecticides a de grandes conséquences sur les stratégies de lutte antivectorielle. Si la résistance aux insecticides aboutit à un échec généralisé des insecticides, les conséquences pour la santé publique seraient catastrophiques et une grande partie des progrès enregistrés pour diminuer le fardeau du paludisme pourrait être réduite à néant (WHO 2012).

On estime par exemple qu'avec leur couverture actuelle, les MIILD et les PID ont permis d'éviter chaque année 220 000 décès d'enfants de moins de 5 ans dans la Région OMS de l'Afrique. Si les insecticides venaient à perdre l'essentiel de leur efficacité, plus de 55% des résultats de la lutte antivectorielle disparaîtraient, ce qui aboutirait à environ 120 000 décès

par an (WHO 2012). Si l'on parvenait à une couverture universelle de la lutte antivectorielle, un tel niveau de résistance aux insecticides serait encore plus dommageable en cas d'échec des insecticides : on recenserait alors chaque année environ 260 000 décès d'enfants de moins de 5 ans (WHO 2012).

A ce jour, la communauté du paludisme a encore la possibilité d'agir et de veiller à ce que les interventions antivectorielles continuent d'être une composante essentielle de la lutte Antipaludique ; et ce, en amenant les pays endémiques vers la couverture universelle par le biais d'actions intensifiées et pérennes visant à l'élimination du paludisme (WHO 2012).

#### **4-2-3. Mécanismes de la résistance aux insecticides des vecteurs du paludisme**

La résistance est l'apparition dans une population d'insectes, d'individus ayant la faculté de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet létal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce (WHO, 1998). La toxicité des insecticides résulte de leur interaction avec des cibles biologiques présentes chez l'insecte. Plusieurs étapes sont nécessaires avant que l'insecticide n'exerce son action. Il doit d'abord entrer en contact avec l'insecte, pénétrer dans son organisme, être transformé dans certains cas en métabolite actif, puis transporté jusqu'à la cible. Chacune de ces étapes est sous le contrôle d'un ou de plusieurs gènes. Tout mécanisme qui modifie l'une de ces étapes peut conduire donc à une résistance. La résistance peut impliquer un comportement d'évitement de l'insecte qui ne rentre plus en contact avec l'insecticide (résistance comportementale), une modification de l'absorption ou de l'excrétion de l'insecticide, une modification des voies métaboliques ou enfin une modification de sa cible.

### **4-3. Matériels et Méthodes**

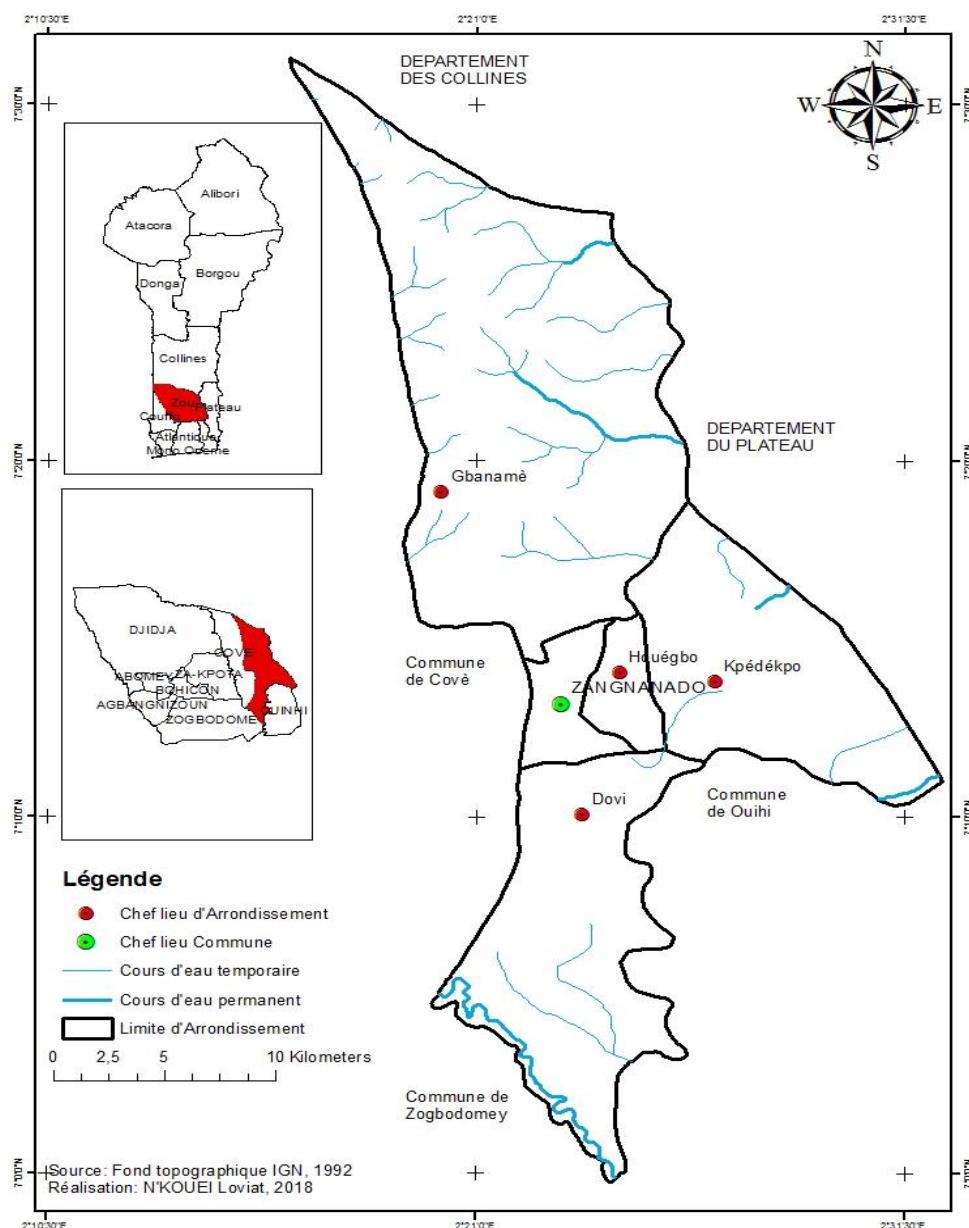
#### **4-3-1. Cadre d'étude**

Etat d'Afrique de l'Ouest ayant une superficie de 114763 km<sup>2</sup>, le Bénin est situé en bordure du Golfe de Guinée, face à l'Océan Atlantique. Compris entre le Togo à l'Ouest, et le Nigeria à l'Est, le Bénin est bordé par le Burkina-Faso et le Niger au Nord. De forme allongée, il s'étend du Sud au Nord dans la zone intertropicale (entre l'équateur et le tropique du Cancer) sur une longueur de 700 km ; la largeur varie de 125 Km (le long de la côte) à 325 Km (à l'altitude Tanguiéta-Ségbana)

#### **4-3-2. Zone d'étude (Zagnanado)**

L'étude sera menée au Bénin, un pays de l'Afrique de l'Ouest, précisément dans la commune de Zagnanado. C'est une commune située entre les parallèles 7°-0' et 7°-30' de latitude Nord

et les méridiens 3° et 3°30' de longitude Est. Elle est limitée au nord par le département des Collines, au Sud par la commune de Zogbodomey, à l'Est par le département du plateau, à l'Ouest par la commune de Covè et au Sud-Est par la commune d'Ouihi (IGN, 1992).



**Figure5 : Situation de la commune de Zagnanado, au Bénin**

### 4-3-3. Le concept des MIILD

Les MIILD sont obtenues par un processus industriel au cours duquel l'insecticide d'imprégnation est incorporé dans les fibres des moustiquaires soit à haute température lors du tissage des fibres polyéthylène (cas des OlysetNet®) ou par enrobage à température relativement basse pendant la confection des fibres polyester (cas des PermaNet®). On obtient ainsi des moustiquaires dont les fibres contiennent des molécules d'insecticide qui remontent

progressivement à la surface des fibres et qui seront graduellement relarguées afin de lutter contre les moustiques adultes. L'efficacité de la moustiquaire imprégnée se limite à une protection individuelle lorsque son effet se fait sentir au niveau de la personne ou de la cellule familiale.

#### **4-3-4. Caractéristique des sept MIILD**

Sept MIILDs feront l'objet de notre étude à savoir : AspirationalNet ; PermaNet® 2.0 ; PermaNet® 3.0 ; Yorkool® ; DawaPlus® 2.0 ; Olyset Net® et Royal®.

- Yorkool® ; est une MIILD imprégné à la deltaméthrine à une dose de 1.8g/kg +/-25%. Le matériel utilisé pour la fabrication est le polyester.

- DawaPlus® 2.0 est une MIILD imprégnés de la deltaméthrine à une dose de 72.8mg/m<sup>2</sup>. Le matériel utilisé pour l'imprégnation cette moustiquaire est moustiquaires à la fabrication est le polyester à 80mg/m<sup>2</sup>.

- PermaNet2.0, MIILD en polyester avec de la deltaméthrine enrobée aux fibres à 55 mg/m<sup>2</sup> +/- 25%.

- Permanet® 3.0, Toit en polyéthylène avec de la deltaméthrine à 2,8 g/kg ± 25% et du Pipéronyl Butoxide (PBO) incorporé à 4,0 g/kg ± 25% incorporés dans les fibres; faces latérales en polyester avec de la deltaméthrine enrobée aux fibres à 2,8 g/kg ± 25%.

- Olyset Net® est aussi une MIILD. Il est sans odeur, de couleur bleu ou blanche de forme rectangulaire ou en forme de cône. Il est imprégné de la perméthrine à 20% +/-0.5%. La dose de la perméthrine utilisé pour l'imprégnation est de 20g/kg +/-5g/kg. Le matériel utilisé est le polyéthylène.

- Royal® est une MIILD imprégné d'alpha-cyperméthrines. Le matériel utilisé pour de sa fabrication est le polyéthylène

- AspirationalNet est une moustiquaire imprégné de la deltaméthrine. Le matériel utilisé est le polyéthylène.

La classe des insecticides utilisés pour l'imprégnation des sept MIILD est le Pyréthrénoïde. De tout ce qui précède nous faisons ce résumé (Tableau II)

**Tableau II : Les différentes types MIILD et leurs insecticides**

Noms moustiquaire	insecticide utilisé	Classe de l'insecticide	Matériels de fabrication
Permanet® 2.0	Deltaméthrine	Pyréthroïde	Polyester
Yorkool®			Polyester
AspirationalNet®			Polyéthylène
DawaPlus® 2.0			polyester
Permanet® 3.0	Deltaméthrine et Deltaméthrine avec du synergistes(PBO) pour le toit		Polyester pour les 4 côtés latéraux et du polyéthylène pour le toit
Olyset Net®	Perméthrine		Polyéthylène
Royal®	Alpha-cyperméthrines		Polyéthylène

#### **4-3-5. Evaluation de l'efficacité et la durabilité entomologique des MIILD**

L'évaluation de l'efficacité et la durabilité se fera par plusieurs tests entomologiques à savoir le test en cône, le test en tunnel, le test de résistance aux déchirements, le test de rétrécissement des mailles, le test d'inflammabilité et le test d'éclatement.

##### **4-3-5-1. Test en cône**

Les tests en cône seront effectués sur 7 types de moustiquaires (AspirationalNet ; PermaNet® 2.0 ; PermaNet® 3.0 ; Yorkool® ; DawaPlus® 2.0 ; Olyset Net® et Olyset Net®). Ces tests en cône seront conduits suivant le protocole adapté de l'OMS (OMS, 1998). Deux(02) cônes sont placés sur chaque face de chacune des moustiquaires à tester. 5 à 8 jeunes femelles (âgés de 2-5 jours) *Anopheles gambiae* Kisumu seront introduites dans chaque cône. Les moustiques seront mis en contact des moustiquaires pendant 3 minutes puis ils seront retirés des cônes et transférés dans des gobelets stériles voilés sur lesquels seront posés des tampons de coton imbibés de jus sucré (solution de sucre à 10%). Par ailleurs une lecture de Knock-down (moustiques tombés sur le dos) sera faite toutes les 05 minutes et ceci pendant 60 minutes. Un témoin négatif (moustiquaire non traitée) sera inclus dans chaque série de tests en cône. Après 24 heures de mise en observation, les taux de mortalités seront enregistrés. Les essais biologiques seront effectués à une température de 25 +/- 2 ° C et une humidité de 70 +/- 10%.

##### **4-3-5-2. Test en Tunnel**

Ce test permettra d'évaluer la présence de l'insecticide dans les supports imprégnés. Dans le cadre de cette étude, le test en tunnel sera utilisé en complément du test en cône afin d'avoir

des informations additionnelles sur l'efficacité des moustiquaires imprégnées. Cent (100) femelles *Anopheles gambiae* âgées de 5 à 8 jours seront transférées dans un tunnel au bout duquel se trouve un appât (cobaye) sur lequel elles doivent se nourrir. Avant d'atteindre le cobaye, les moustiques doivent traverser des fragments de moustiquaires imprégnées perforées. Les moustiquaires imprégnées seront découpées en fragments de 20 cm de côté qui seront utilisés pour ce test. Les taux de mortalité liée au contact libre des moustiques avec les moustiquaires imprégnées seront déterminés après une nuit (15 heures) d'observation des femelles d'anophèles dans le tunnel.



**Figure 6 : Mise en place du dispositif pour le test en tunnel (Azondekon; 2007)**

#### **4-3-5-3. Test de résistance au déchirement**

Des fragments de 20cm de côté seront découpés sur les moustiquaires imprégnées. Ces fragments seront fixés sur des cadres et seront soumis à une force de rupture. A l'aide d'un dynamomètre, l'intensité de la force capable de rompre les fibres sera déterminée pour chaque fragment.



**Figure 7: Mesure de la force de déchirement (Azondekon; 2007)**

#### **4-3-5-4. Test de rétrécissement des mailles**

Le rétrécissement des mailles des moustiquaires imprégnées sera évalué à travers le décompte des mailles des moustiquaires imprégnées sur une surface carrée fixe de 1cm de côté.



**Figure 8: Décompte du nombre de mailles (Azondekon; 2007)**

#### 4-3-5-5. Test d'inflammabilité

Un morceau de 10 x 10cm sera prélevé sur chacune des 5 faces de la moustiquaire imprégnée et sera soumis à la flamme d'une bougie jusqu'à consommation totale. Le temps moyen de consommation des 5 fragments de tulles sera déterminé.



Figure 9 : Inflammabilité d'un fragment de moustiquaire (Azondekon; 2007)

#### 4-3-5-6. Test d'éclatement

Le dispositif du test d'éclatement est constitué d'une pompe et d'un cylindre métallique au bout duquel est adapté un caoutchouc. Des fragments de 20 cm x 20 cm seront découpés sur les moustiquaires et un de ces fragments sera ensuite adapté au caoutchouc du cylindre. L'éclatement du fragment de la moustiquaire sera obtenu en gonflant le caoutchouc à l'aide de la pompe. La pression d'éclatement en Kilo pascal (KPa) sera lue sur le cadran de la pompe.



Figure 10: Dispositif du test d'éclatement (Azondekon; 2007)

#### **4.4. Résultats attendus**

Les résultats espérés dans ce travail dans la commune de Zagnanado :

- L'intégrité physique des sept types de MIILD,
- le suivi des sept types de MIILD,
- le taux de perte des sept types de MIILD,
- l'efficacité des sept types de MIILD,

## **5. Conclusion**

Le stage effectué au Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) a été très bénéfique. Nos attentes ont été largement comblées. Le contact avec le monde de la recherche nous a permis d'approfondir nos connaissances sur plusieurs thématiques, notamment sur le thème de protection contre les piqures des moustiques pour éviter la transmission du paludisme. L'étude de durabilité et efficacité de sept MIILDs dans la même aire géographique au Bénin, Afrique de l'Ouest dans la commune de Zagnanado, contribuerait à une meilleure connaissance et les dispositions à prendre par le PNLP dans la lutte contre le paludisme au Bénin.

## 6. Références bibliographiques

1. Azondekon G. R. (2007) : Contrôle de qualité des moustiquaires imprégnées commercialisées ou distribuées au Bénin par Université d'Abomey Calavi - Diplôme d'Ingénieur.
2. Carnevale P, Robert V, Mouchet J, (1988) : Pyrethroid-impregnated bed nets in the malaria control strategy at community level. *Acta tropica*, 46 : 267-268
3. Carnevale P, Robert V, (2009) : Les anophèles biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. IRD, Marseille, 391p.
4. Darriet F., Robert V., Tho Vien N., Carnevale P. (1984):Évaluation de l'efficacité sur les vecteurs du paludisme de la perméthrine en imprégnation de moustiquaires intactes et trouées. Document miméographié OMS, WHO/VBC/84 ; 899 WHO/MAL/84 ; 1008. 20 p.
5. Darriet F, Hougard JM, (2002) : Scientific note an isolate of *Bacillus circulans* toxic to mosquito larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18(1) : 65-67. 20.
6. Detinova ; CHALLIER(1964) : Epidémiologie générale du paludisme humain en Afrique ; [horizon.documentation.ird.fr/exldoc/pleins\\_textes/pleins\\_textes.../11630.pdf](http://horizon.documentation.ird.fr/exldoc/pleins_textes/pleins_textes.../11630.pdf)
7. Fegan G. W. (2007) : Effect of expanded insecticide-treated bednet coverage on child survival in rural Kenya: a longitudinal study, in *The Lancet*, vol. 370, pp. 1035-1039.
8. Gilles MT, Meillon B. (1968) : The Anophelinae of Africa South of Sahara Ethiopian Zoogeographical Region, 2nd edn, no. 54. Publication of South African Institute for Medical Research, Johannesburg, 343 p 21.
9. Gilles MT, Meillon B, (1968) : The Anophelinae of Africa South of Sahara Ethiopian Zoogeographical Region, 2nd edn, no. 54. Publication of South African Institute for Medical Research, Johannesburg, 343 p
10. Gillies M, Coetzee M, (1987) : A supplement to the anophelinae of Africa south of the Sahara, Publication of South Africa Institue Medical Research, 55 : 143.
11. Hill J. (2006) : Insecticide-treated nets, in *Advances in Parasitology*, vol. 61, pp. 78-117.
12. Hougard : (2008) : Les moustiquaires imprégnées, *Pour la Science*, 366, 48-52.
13. Hougard Jean-Marc, Quillévéré Daniel. (1991) : Le rôle de la lutte contre les simulies en Afrique centrale avec un accent particulier sur la formation.  
[www.documentation.ird.fr/hor/fdi:35460](http://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:35460)

14. Institut National de Géographie; Fond topographique du Benin; 1992
15. Multilateral Initiative on Malaria; (1997) : Are multilateral malaria research and control programs ...Alilio - Cité 97 fois. [www.mimalaria.org/eng/history](http://www.mimalaria.org/eng/history).
16. OMS (2013) : Rapport sur le paludisme dans le monde. Disponible sur : [http://www.who.int/malaria/publications/world\\_malaria\\_report\\_2013/en/](http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/en/)
17. OMS (1998) : World Health Organization, [www.who.int/whr/1998/fr/](http://www.who.int/whr/1998/fr/)
18. OMS(1973) : Résistance aux insecticides et lutte antivectorielle, 17<sup>ème</sup> rapport OMS d'Experts des insecticides, Organisation mondiale de la Santé.
19. Pennetier c. (2007) : Synergism between repellants and non-pyrethroid insecticides strongly extends the efficacy of treated nets against *Anopheles gambiae*, in *Malaria Journal*, vol. 6 (38), pp. 1-7.
20. PNLP (2006) : Plan stratégique de lutte contre le paludisme au Bénin 2006-2010. Disponible sur : <http://www.rollbackmalaria.org/countryaction/nsp/benin>.
21. Roll Back Malaria ; (1998) : Geneva, World Health Organization.
22. Snow, R., Rowan, K., Greenwood, B. (1987) : Un essai de moustiquaires imprégnées de perméthrine dans la prévention du paludisme chez les enfants gambiens, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 81, 563-567
23. Snow, R., Phillips, A., Lindsay, S., Greenwood, B. (1988b) : Comment mieux traiter les moustiquaires imprégnées d'insecticide *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 82, 647-648.
24. WHO, (1998) : Tests procedures for insecticide resistance, monitoring in malaria vectors. Bio efficacy and persistence of insecticide in treated surfaces. Report of the WHO informal consultation, 17-20. WHOPEs Recommendations and Reports of
25. WHOPEs (2012) : Working Group Meetings. Geneva: World Health Organization; [www.who.int/whopes/recommandations/wgm](http://www.who.int/whopes/recommandations/wgm)
26. Wirtz, R.A., Ballou W.R., Schneider I., Chedid L., Gross M.J., Young J.F., Hollingdale M., (1987) : *Plasmodium falciparum*: immunogenicity of Circumsporozoite protein constructs produced in *Escherichia coli*, *Experimental Parasitology* 63: 166–172.