

Etude de L'efficacité de L'extrait des *Feuilles de Tephrosia Vogelii Hook.f* Pour le Contrôle de *an. Gambiaes.l* Résistant aux Pyréthrinoides

Armand A. Akpo

*Corresponding Author, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi
Bénin/ Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC)
E-mail: armand.akpo@yahoo.fr*

Daniel C. Chougourou

*Ecole polytechnique d'Abomey-Calavi
Département Génie de l'Environnement
Université d'Abomey-Calavi, Bénin*

Rodrigue Anagonou

*Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi
Bénin/Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC)*

Razaki A. OSSE

*Ecole de Gestion et d'Exploitation des Systèmes d'Elevage
Université Nationale d'Agriculture
Bénin/Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC)*

Dieudonné A. KPOVISSI

*Laboratoire d'Entomologie Agricole (LEAg) Faculté des Sciences Agronomiques (FSA)
Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Cotonou, Bénin*

Joseph Dossou

*Département de Nutrition et Sciences Alimentaires
Faculté des Sciences Agronomiques (FSA), Université d'Abomey-Calavi
01 BP 526 Cotonou, Bénin*

Albert SALAKO

*Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi
Bénin/Centre de recherche Entomologique de Cotonou (CREC)*

Martin Akogbéto

*Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi
Bénin/Centre de recherche Entomologique de Cotonou (CREC)*

Résumé

La présente étude vise l'efficacité de la propriété biocide de *Tephrosia vogelii* dans la lutte contre les vecteurs résistants aux pyréthrinoides. Des tests larvaires ont été réalisés sur les larves des stades 2, 3 et 4 de *An. gambiaes.s.* des souches sauvage

résistant aux pyréthriinoïdes. La souche sensible de référence «Kisumu» a servi de témoin. Les mortalités ont été lues 24 heures et 48 heures après exposition. Les DL 50 et 90 pour 24 heures et 48 heures ont été déterminées suivant la méthode log-probit de détermination de la dose correspondante à une proportion. Les fortes DL50 déterminée correspondent aux larves de stade 3 des populations sauvages en 24 heures et 48 heures. Les faibles DL50 se rapportent aux larves de stade 2 «Kisumu». Les DL90 les plus élevées correspondent aux larves de stade 3 des populations sauvages; les faibles se rapportent au stade 4 «Kisumu». Les ratios déterminés indiquent une influence négligeable de la résistance sur l'efficacité des extraits de la plante. L'activité larvicide des extraits de la plante à des doses non privilégiées sur les larves des souches sensible et sauvage offre un avantage alternatif dans la gestion de la résistance des vecteurs aux pyréthriinoïdes.

Mots-clés: *Tephrosia vogelii*, Activité larvicide, test de sensibilité, *An.gambiae* résistant, lutte antivectorielle

Abstract

The present study aims at the efficacy of the biocidal property of *Tephrosia vogelii* in the control of pyrethroid-resistant vectors. Larval tests were carried out on the larvae of stages 2, 3 and 4 of *An. gambiae s.s.* of wild-type. The susceptible reference strain "Kisumu" served as a control. Mortalities were read 24 hours and 48 hours after exposure. LD 50 and 90 for 24 hours and 48 hours were determined according to the log-probit method of dose determination corresponding to a proportion. The high LD50 determined correspond to stage 3 larvae of wild populations in 24 hours and 48 hours. Low LD50 refer to Stage 2 "Kisumu" larvae. The highest LD90 correspond to stage 3 larvae of wild populations. The weak refer to Stage 4 "Kisumu". The ratios determined indicate a negligible influence of resistance on the efficacy of plant extracts. Larvicidal activity of plant extracts at unprivileged doses on larvae of sensitive and wild strains provides an alternative advantage in the management of vector resistance to pyrethroids.

Keywords: *Tephrosia vogelii*, Larvicidal Activity, Sensitivity test, *An. gambiae* resistant, Vector control.

Introduction

Tephrosia vogelii est une plante connue pour sa toxicité vis-à-vis des animaux à sang froid tels que les vers, les insectes etc. Elouard *et al.* (1982). Au cours du dernier siècle, cette plante a fait objet majeur d'études en santé humaine et la protection des végétaux à cause de ces propriétés insecticides révélées à travers les pratiques traditionnelles des populations rurales dans les activités coutumières de la pêche et la chasse. C'est une espèce largement utilisée comme poison de pêche parmi une cinquantaine d'espèces du genre *Tephrosia* Elouard *et al.* (1982). Les extraits des feuilles, à des dilutions faibles, sont très toxiques pour les poissons par simple contact Hanriot (1907b) Hanriot (1907c) Gaudi et Vacherat (1938). Des essais cliniques réalisés par ces auteurs ont montré les propriétés toxiques de la plante vis-à-vis des animaux à sang chaud. En effet, l'injection intraveineuse ou intrapéritonéale d'une dose de 0,02g / Kg de Téphrosine provoque la mort de tout animal à sang chaud Hanriot (1907c). Ce caractère toxique de *Tephrosia vogelii* a suscité son usage dans les domaines agricole et médical à travers le monde. Par exemple, selon les enquêtes menées en Ouganda Matovu et Olila (2007) et au

Zimbabwe Gadzirayi *et al.* (2009), les huiles essentielles extraites des feuilles de la plante sont utilisées comme acaricide pour la protection des cultures.

Dans le domaine de la santé humaine, des tests d'efficacité des extraits des organes de la plante ont été réalisés visant son intégration pour les moyens locaux de lutte contre les moustiques vecteurs d'agents pathogènes (Abdul *et al.* 2015; Mayunga 2002; Puyvelde *et al.* 1987; Touqeer *et al.* 2013)

La propriété toxique de *Tephrosia vogelii* mérite d'être entretenue dans les grandes circonstances actuelles de lutte contre le paludisme marquées par la généralisation de la résistance des anophèles vecteurs. En effet la lutte antivectorielle contre le paludisme menée essentiellement au moyen de pulvérisations intra domiciliaires et de moustiquaires imprégnées d'insecticide à effet rémanent a connu un échec lié au développement de la résistance des vecteurs aux insecticides (Akogbéto *et al.* 2011; Asidi *et al.* 2012; Djenontin *et al.* 2009; N'GUESSAN *et al.* 2007; Organisation mondiale de la santé 2012). L'Afrique subsaharienne et l'Inde sont les plus concernés Organisation mondiale de la santé (2012). Cette résistance des vecteurs aux insecticides est la conséquence d'un usage intensif et peu contrôlé des pyréthrinoides dans l'agriculture moderne qui sont les insecticides utilisés dans la lutte contre le paludisme (Akogbéto *et al.* 2010; Akogbéto et Yakoubou 1999; Yadouléton *et al.*, 2010). Ces dernières années, plusieurs cas de résistance aux médicaments antipaludiques ont été enregistrés dans les régions où la transmission du parasite persiste Organisation mondiale de la santé (2012). La maîtrise de la transmission du paludisme reste critique les années à venir face à ces résistances conjointe des vecteurs et du parasite en cause. Il est donc urgent que des mesures soient prises afin d'éviter la recrudescence de la parasitose tout en préservant l'efficacité des moyens de lutte antivectorielle disponibles. L'une des mesures alternatives préconisées dans les cas de résistance aux pesticides est l'usage des outils non chimiques à base des plantes.

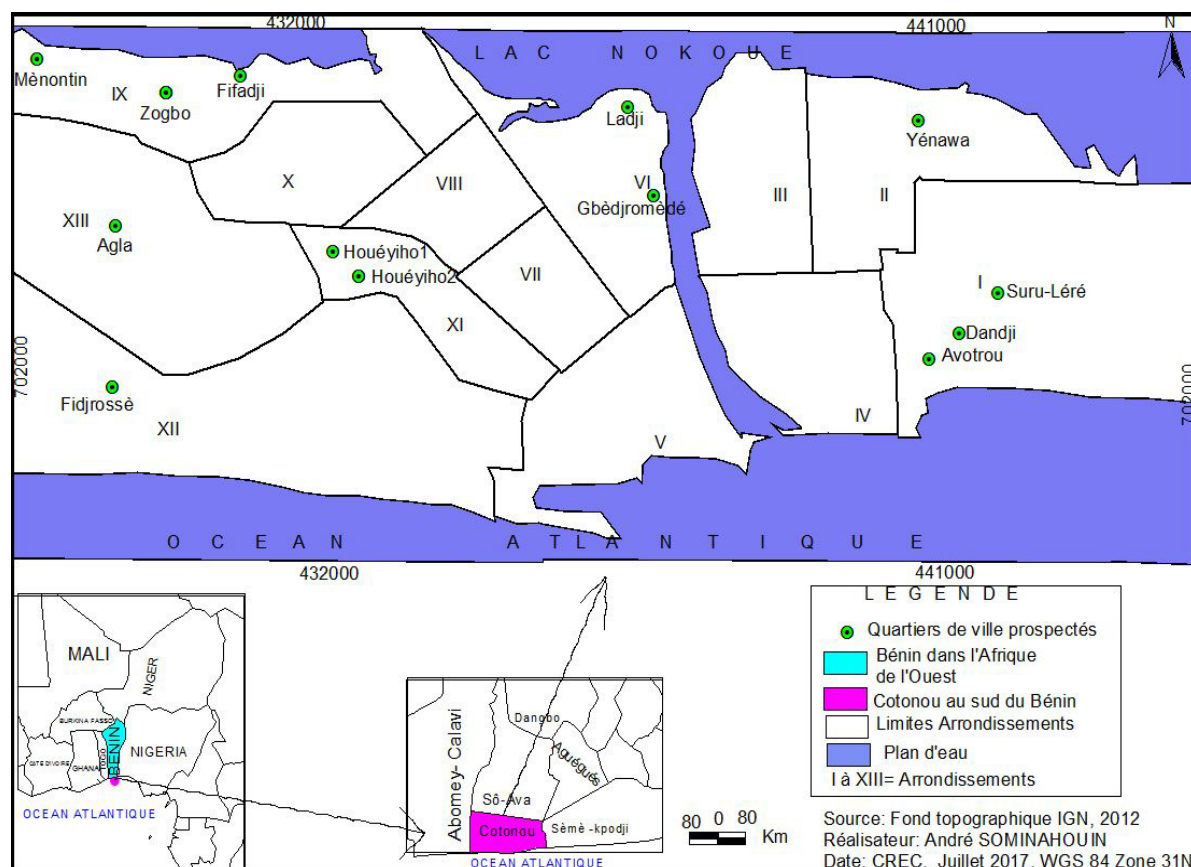
La présente étude vise à tester l'efficacité des extraits des feuilles de *Tephrosia vogelii* récoltées au Bénin sur les larves de *An. gambiae* résistant aux pyréthrinoides. Cette étude est suscitée dans le contexte du contrôle de la nuisance infligée par les piqûres des vecteurs devenus résistants aux insecticides chimiques et la transmission du paludisme dont ils sont responsables.

2. Matériel et Méthodes

2.1 Zone D'étude

L'étude a été menée dans la ville de Cotonou, département du Littoral (Bénin) précisément dans les quartiers Zogbo, Ladji, Fifadji, Gbèdjromèdé, Fidjrossè, Houéyiho 1 et 2, Agla, Yénawa, Mèntonin, Avotrou, Suru-Léré, Dandji. Cette ville a des caractéristiques géographiques qui sont favorables à la prolifération des Culicidae. Elle présente une plaine sableuse sans relief, avec une nappe phréatique peu profonde et affleurant le sol Akogbéto *et al.* (1992). Cette absence de relief, associée à un mauvais drainage des eaux, provoque des inondations pendant les saisons pluvieuses et favorise la multiplication des gîtes des Culicidae dont *An. gambiae* (Akogbéto *et al.* 1992; Akogbéto et Yakoubou 1999). Par ailleurs, la ville de Cotonou est marquée par l'aménagement des terres et périmètres maraîchers, qui créent de véritables gîtes de Culicidae dont *An. gambiae* principal vecteur du paludisme (Akogbéto 1995; Akogbéto *et al.* 1992). Elle abrite aussi le plus grand port du pays qui importe et exporte des conteneurs dans lesquels peuvent se cacher des moustiques venant d'autres horizons. Ces caractéristiques de la ville créent à ses habitants une nuisance culicidienne très forte et exposent les populations à des maladies multiples transmises par les moustiques. C'est l'une des villes les plus affectées par le paludisme au Bénin MS (2013). Les sites d'étude ont été choisis à cause de la fréquence et la permanence des gîtes larvaires qui occasionnent l'abondance et la forte agressivité des moustiques. En effet, on y rencontre des flaques d'eau, des marécages temporaires et permanents, des pneus abandonnés ou stockés dans des garages à ciel ouverts...etc. Tous ces réservoirs constituent donc des gîtes potentiels favorables à la prolifération des moustiques.

Figure 1: Situation des zones d'étude



1.2 Matériel Biologique

1.2.1 Matériel Animal

Les tests ont été réalisés sur les larves de *An. gambiae s.l.* deux souches ont été utilisées. Il s'agit de la souche sensible «Kisumu» de référence de génotype SS, donc dépourvue de l'allèle de résistance et les populations sauvages caractérisées par une fréquence élevée de l'allèle de résistance du gène *kdr* (>80%). La souche «Kisumu» est élevée à l'insectarium du CREC. L'insectarium est constitué de salles où sont conditionnés séparément les stades pré imaginaux et imaginaux des différentes souches. Pour une bonne multiplication des moustiques, des conditions de température et d'hygrométrie doivent être réunies. A cet effet, les adultes sont conditionnés constamment à une température de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative de $72 \pm 4\%$ grâce à un climatiseur qui fonctionne en permanence. La température et l'humidité relative de l'air sont relevées tous les jours grâce à un thermo hygromètre qui permet ainsi de surveiller la température et l'humidité. La ponte des moustiques est assurée par des repas sanguins. Pour cela, des femelles âgées de trois jours sont gorgées pendant une vingtaine de minutes grâce à des lapins mâles immobilisés sur des cages de moustiques par un dispositif élaboré en conséquence. Après le repas sanguin, les femelles gorgées sont continuellement nourries au jus de miel à 10% dans du coton déposé sur le tulle moustiquaire des cages. Cela sert de nourriture pour les femelles gravides. Les œufs des différentes souches sont récoltés quotidiennement en retirant des cages les pondoires après les pontes. Ces pondoires sont systématiquement renouvelés après chaque retrait. Les œufs recueillis sont mis en eau (l'eau de robinet) dans des bacs en vue de leur éclosion. La salle d'élevage des larves est conditionnée à la température de $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ favorables au développement des stades pré imaginaux des moustiques et ceci à l'aide d'un radiateur de chauffage qui diffuse des calories par rayonnement. Les larves obtenues après éclosion sont nourries de croquette de chat dès le premier stade. L'eau d'élevage est renouvelée après 72 heures afin de garantir une bonne croissance

des larves. Cela nous a permis d'obtenir des larves de stades 1, 2, 3, 4 et les pupes des différentes souches nécessaires pour la réalisation de travaux.

1.2.2 Matériel Végétal et Méthodes D'extraction

La plante ayant fait objet d'étude est issue de la flore béninoise. Les matières végétales utilisées sont prélevées entre novembre 2015 et décembre 2016. Une production spéciale a été faite dans un domaine privé dans la commune d'Ab-Calavi compte tenu de la rareté de l'espèce. Les extraits des feuilles de *Tephrosia* préalablement déshydratées par séchage à l'ombre sont réalisés par soxhlet au Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée à l'Ecole Polytechnique de l'université d'Abomey-Calavi. L'extraction par soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement du soluté dans la matière première déshydratée. Le soxhlet est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon qui permet l'évacuation de la solution vers le ballon, d'un tube de distillation et d'un réfrigérant à eau qui permet la condensation des vapeurs de solvant dans la cartouche. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon contenant une réserve de solvant est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé le réfrigérant. Le ballon étant chauffé, le liquide est porté à l'ébullition. Les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné des substances extraites. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche. Le solvant utilisé pour l'extraction est l'acétone. Ce solvant a été choisi sur la base des propriétés physicochimiques (Température d'ébullition basse, liposolubilité) et toxiques (santé humaine et environnement). C'est un composé caractérisé essentiellement par une grande volatilité et une faible neurotoxicité pour l'Homme avec une température d'ébullition relativement basse (56,5°C). La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide de Rotavapor.

Figure 1: Schéma de l'extracteur soxhlet

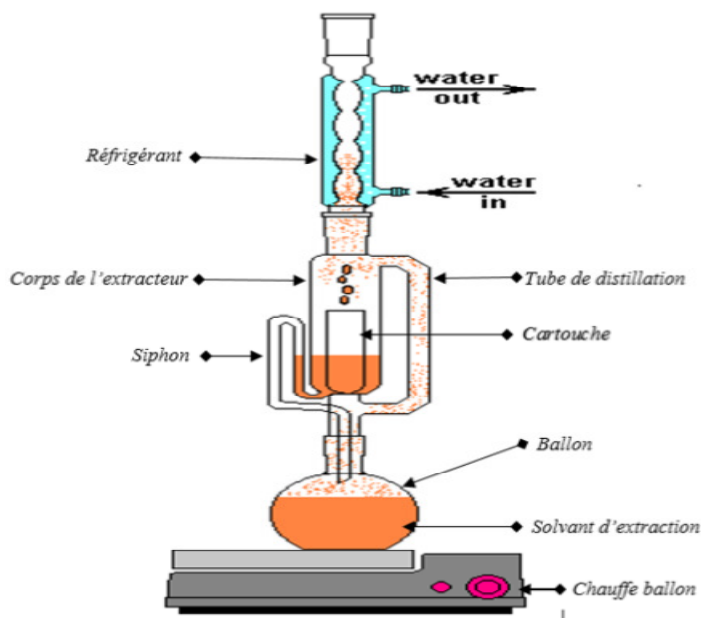


Photo 1: rotavapor permettant la séparation des extraits du solvant



1.3 Etude de L'efficacité des Extraits sur les Larves de *An. Gambiae* Résistant aux Pyréthrinoïdes

Les tests de sensibilité ont été réalisés au CREC sur les larves des stades 2, 3 et 4 des souches sensible «Kisumu» de référence et sauvage conformément au protocole préconisé par l'Organisation Mondiale de la Santé (Abbott 1925; Organisation Mondiale de la Santé 2004 ; Organisation Mondiale de la Santé 1963 ; Organisation mondiale de la santé 2012). Pour chaque stade larvaire des différentes populations des souches de moustiques testés, des concentrations formulées à partir de l'extrait ont été préparées plus les témoins avec cinq gobelets par concentration, contenant chacun 20 larves. Une série de dilutions a été faite à partir de la solution stock de l'extrait dans l'éthanol à 20 mg/ml. Les concentrations sub-létales ont été choisies de manière à obtenir au moins un taux de mortalité de 100%, à ce que certaines concentrations puissent donner un taux de mortalité compris entre de 50 et 100% et allant de 5 à 50%. Les larves mortes ont été dénombrées après 24 heures et 48 heures d'exposition. Les résultats sont exprimés en pourcentage de mortalité qui est déterminé en additionnant les nombres de larves mortes sur les réplifications du test d'exposition par rapport au nombre total de larves de moustique exposées ainsi que dans les lots témoins selon la formule:

$$\text{Mortalité au cours du test} = \frac{\text{Nombre total de larves mortes}}{\text{Taille totale de l'échantillon} - \text{Nombre de pupes}} \times 100$$

Lorsque le taux de mortalité enregistré au niveau des témoins est supérieur à 20%, le test est invalide. Si la mortalité des témoins est supérieure à 5% et inférieure à 20% la mortalité observée est corrigée par la formule d'Abbott:

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{\% \text{ mortalité lors du test} - \% \text{ mortalité témoin}}{100 - \% \text{ mortalité témoin}}$$

Si la mortalité au niveau du témoin est inférieure à 5% elle peut être ignorée et bien, aucune correction n'est nécessaire.

Pour la détermination des doses létales des différents extraits sur les différents stades larvaires, le logiciel R Core Team (Version 3.3.1-2016) a été utilisé. La méthode utilisée est celle de log-probit de détermination de la dose correspondant à une proportion donnée.

Pour les tests réalisés, une résistance de la souche sauvage vis-à-vis de l'extrait testé est notée lorsque le ratio (R) respectif des doses diagnostiques des différents stades de la souche sauvage par rapport à la souche sensible de référence est supérieur à 1 et/ou égal à 2. Dans ces conditions le produit testé est susceptible pour un usage intégré dans la lutte contre ces vecteurs résistants. Un ratio supérieur à 2 ($R > 2$) indique une forte résistance vis-à-vis du produit testé.

1.4 Détermination de la dose Diagnostique pour la souche Sauvage et L'extrait des Feuilles de *Tephrosia*

Les tests larvaires OMS permettent de diagnostiquer la sensibilité d'une population de vecteurs. Dans la présente étude, les tests sont réalisés dans le contexte de la gestion de la résistance de *An. gambiae*

s.s., vecteur majeur du paludisme au Bénin Akogbéto *et al.* (1992). Ils consistent à établir la dose diagnostique pour les souches de *An. gambiae* de référence «Kisumu» et sauvage et l'extrait. Selon le comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle, la dose diagnostique d'un insecticide est égale au double de la DL100 observée sur la souche sensible (Organisation mondiale de la santé 2012 ; WHO 2013). La DL100 correspond à la limite inférieure des doses qui tue 100% des populations cibles. Pour la présente étude, nous nous sommes basés sur les DL99 des stades 2, 3 et 4 de la souche sensible «Kisumu» de référence et des populations sauvages. En effet les DL99 sont des doses qui tuent 99% des populations. Or les doses pouvant induire 99% correspondent aux valeurs limites des intervalles de confiance des DL100. Par conséquent, les DL99 répondent à la logique des doses diagnostiques. Ensuite, les ratios des DL99 des stades respectifs de la souche sauvage sur celles de la souche sensible de référence ont été calculés. Puisque la dose diagnostique fait le double de celle observée sur la souche sensible, un produit pourra susciter un espoir pour la lutte antivectorielle contre le paludisme lorsque le ratio R est inférieur ou égal à 2. Lorsque R est supérieur à 2, cela voudra indiquer un niveau élevé de la résistance des vecteurs cibles vis-à-vis des produits testés.

2. Résultats

2.1 Tests D'efficacité des Extraits des Feuilles de Feuilles de *Tephrosia Vogelii*

Les résultats de cette étude sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau 1). L'analyse des résultats montre que l'extrait à l'acétone des feuilles de *tephrosia vogelii* a une action biocide sur les larves de *An. gambiae*. La souche sensible de référence «Kisumu» et de la souche sauvage. Les mortalités enregistrées en 24 heures d'exposition aux DL50 et DL90 n'ont pas montré une sensibilité privilégiée des larves en fonction des souches. Toutefois les larves de terrain apparaissent moins sensibles aux DL50 et DL90 déterminées pour 24 heures et 48 heures d'exposition. Il ressort de ces résultats que les feuilles de *Tephrosia vogelii* possèdent une activité biocide sur les larves de *An. gambiae s.s.* A forte dose, les larves de la souche sauvage apparaissent moins sensibles à l'effet larvicide des feuilles.

Tableau 1: Résultats des tests d'efficacité de l'extrait des feuilles de *Tephrosia vogelii*. Les doses qui tuent 50% et 90% des larves de stade 2, 3 et 4 des souches sensible de référence «Kisumu», et des populations sauvages de Cotonou

| | | 24 Heures | | | 48 Heures | |
|--|----|--------------|-------|---------------|--------------|---------------|
| Extraits de feuilles de <i>Tephrosia</i> à l'acétone | | Dose (mg/ml) | | I C (95 %) | Dose (mg/ml) | I C (95 %) |
| Kisumu | L2 | DL50 | 0,071 | [0,067-0,075] | 0,057 | [0,054-0,061] |
| | | DL90 | 0,152 | [0,144-0,160] | 0,123 | [0,117-0,130] |
| | L3 | DL50 | 0,117 | [0,114-0,120] | 0,096 | [0,092-0,100] |
| | | DL90 | 0,186 | [0,181-0,192] | 0,155 | [0,150-0,160] |
| | L4 | DL50 | 0,11 | [0,100-0,111] | 0,04 | [0,030-0,043] |
| | | DL90 | 0,14 | [0,13-0,144] | 0,07 | [0,060-0,074] |
| Sauvage | L2 | DL50 | 0,147 | [0,142-0,152] | 0,133 | [0,129-0,137] |
| | | DL90 | 0,281 | [0,269-0,294] | 0,231 | [0,223-0,240] |
| | L3 | DL50 | 0,147 | [0,143-0,151] | 0,125 | [0,120-0,129] |
| | | DL90 | 0,287 | [0,275-0,301] | 0,242 | [0,232-0,253] |
| | L4 | DL50 | 0,108 | [0,105-0,111] | 0,09 | [0,080-0,095] |
| | | DL90 | 0,2 | [0,190-0,210] | 0,115 | [0,114-0,117] |

DL50 et **DL90** sont des concentrations qui tuent respectivement **50%** et **90%** des larves de stade 2, 3 et 4 des souches sensible «Kisumu» de référence et sauvage en 24 heures et 48 heures post exposition à l'extrait des feuilles de *Tephrosia*; **IC (95%)** représente l'intervalle de confiance à **95%**.

2.2 Détermination de Dose Diagnostique de L'extrait des Feuilles de *Tephrosia Vogelii* pour les Larves de Stade 2, 3 et 4 des Moustiques de la Souche Sauvage Résistante et la Souche Sensible de Référence

Les doses létales entraînant les mortalités à la limite de 100% des larves des souches sensible et résistante exposées montrent l'influence de la résistance sur la sensibilité des larves de la souche sauvage. Le tableau 2 rapporte les DL99 de l'extrait des feuilles correspondant aux larves de stades 2, 3 et 4 des deux souches testées. L'analyse du tableau montre qu'il faut plus de dose pour tuer 99% des larves des populations sauvages par rapport à la souche sensible de référence «Kisumu». Les ratios des doses diagnostiques montrent qu'il faut moins du double des doses qui tuent 99% des larves des trois stades testés pour induire 99% de mortalité des larves des populations sauvages. Il ressort de ces résultats que les extraits des feuilles de *Tephrosia vogelii* possèdent une bonne activité larvicide sur les larves de souche sauvage.

Tableau 2: Détermination des doses diagnostiques de l'extrait des feuilles de *Tephrosia vogelii* pour les larves de stades 2, 3 et 4 des populations de moustiques de souches sauvage et «Kisumu» de référence

| <i>Doses diagnostiques des extraits des feuilles de tephrosia</i> | | | | | | |
|---|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <i>Sauvage</i> | | | <i>Kisumu</i> | | | |
| <i>L2</i> | | <i>L3</i> | <i>L4</i> | <i>L2</i> | <i>L3</i> | <i>L4</i> |
| DL99 | 0,478 | 0,497 | 0,344 | 0,281 | 0,271 | 0,178 |
| IC 95% | [0,444-0,514] | [0,458-0,538] | [0,319-0,370] | [0,258-0,306] | [0,257-0,287] | [0,170-0,186] |
| <i>Ratio DL99 Sauvage/Kisumu</i> | | | | | | |
| <i>L2</i> | | | 1,701 | | | |
| <i>L3</i> | | | 1,833 | | | |
| <i>L4</i> | | | 1,930 | | | |

DL99: Dose diagnostique entraînant 99% de mortalité d'une population; Ratio DL99 Sauvage/DL99 sensible : rapport de dose diagnostique de souche sauvage sur celle de «Kisumu» de référence; IC (95%) représente l'intervalle de confiance à 95

3. Discussion

La synthèse bibliographique sur *Tephrosia vogelii* montre que cette plante possède un caractère biocide (Abdul *et al.* 2015 ; Elouard *et al.* 1982 ; Matovu et Olila 2007 ; Touqeer *et al.* 2013). La nécessité de faire usage des méthodes non chimiques pouvant répondre aux contraintes de lutte alternative pour la gestion de la résistance des vecteurs et la préservation de l'écosystème nous ont conduits à tester l'efficacité d'extrait des feuilles de la plante sur les larves de *An. gambiae* résistant aux insecticides chimiques utilisés pour le contrôle des vecteurs.

Il ressort des résultats que les extraits des feuilles de *Tephrosia vogelii* tuent les larves de *An gambiae* de la souche sensible «Kisumu» de référence et des populations des souches sauvages résistant aux pyréthrinoïdes. Les feuilles de la plante contiennent donc des substances à effet larvicides. Cette observation est similaire à celle de Abdul *et al.* (2015) qui ont montré une activité remarquable des feuilles de cette plante non seulement sur les larves de *An. gambiae* mais aussi sur les larves de *Culex quinquefasciatus*. La plante peut être donc utilisée comme moyen biologique dans les programmes d'intervention contre les larves de moustiques. Plusieurs auteurs ont travaillé sur composition des organes de la plante et leurs propriétés chimiques. En effet, la caractérisation des extraits des organes a révélé la présence en proportion majeure des composés organiques tels que la Roténone, la Déguéline et Téphrosine (Castagne 1938 ; Clark 1931a ; Clark 1931b ; Clark et Clarborn 1934 ; Hanriot 1907a ; Sambamurthy *et al.* 1962). Ces composés organiques pourraient être le déterminant de l'activité larvicide de *T. vogelii* sur les différentes souches testées.

Des études plus approfondies pourront permettre la mise en évidence des composés organiques responsables de l'effet larvicide de cette plante, ce qui pourrait permettre certainement une meilleure formulation garantissant une bonne efficacité pour une lutte antivectorielle durable et harmonieuse avec l'environnement. Selon (David *et al.*, 2006; Nkyae *et al.*, 2014; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2014; Poupardin *et al.*, 2008; Raghavendra *et al.*, 2010) la sélection des gènes de résistance est généralement induite avec le contact des doses faibles de polluants. Toutefois, l'activité larvicide de cette plante à faibles doses sur les larves des populations sensibles pourrait par ailleurs engendrer une nouvelle émergence des vecteurs pouvant tolérer des doses létales faibles. Il faut noter aussi sur cet aspect de sélection éventuelle des vecteurs résistant que très peu d'étude ont prouvé jusque-là et de façon tangible les risques de résistance liés à l'usage des biopesticides.

Les doses diagnostiques pour les larves des populations sauvages sont inférieures au double de celles correspondant à la souche sensible de référence, ce qui indique une influence négligeable du portage de la résistance sur l'efficacité de l'extrait testé. Ceci pourra garantir des formulations larvicides à base de cette plante pouvant contribuer efficacement à la gestion de la résistance des vecteurs aux pyréthrinoïdes. Ces différentes observations montrent que cette plante peut être utilisée dans les formulations larvicides contre *An.gambiae* résistant aux pyréthrinoïdes en alternative aux insecticides de synthèses qui sont non seulement néfastes pour l'environnement mais aussi pour la santé de l'homme. Nous suggérons toutefois que des études approfondies soient réalisées afin d'élucider les propriétés toxiques pour l'environnement et son innocuité pour l'homme.

4. Conclusion

Les extraits des feuilles de *Tephrosia vogelii* ont une activité larvicide remarquable sur les larves de *An. gambiae*, vecteur du paludisme résistant aux pyréthrinoïdes. Cet effet biocide de la plante peut être mis en valeur dans le contexte de la gestion de la résistance des vecteurs aux insecticides de synthèse et la préservation contre le risque d'une recrudescence du paludisme. L'usage de *Tephrosia vogelii* contre les souches résistant de *An. gambiae* aux pyréthrinoïdes serait un bon moyen local de lutte contre les vecteurs ; ce qui pourrait être une valorisation de cette plante locale.

Référence Bibliographique

- [1] Abbott, W.S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Ecological Entomology* **18**: 265-267.
- [2] Abdul, W.K., S.M. Maregesi, J. Saria, N.J. Otieno, Y. Lawi, R.S. Nondo, E.M. Innocent, J. Mlimbila, M.J. Mihale, M.J. Moshi. 2015. Larvicidal efficacy of some *Tephrosia* species extracts against *Anopheles gambiae* s.s and *Culex Quinquefasciatus* Say *Anopheles gambiae* Ss and *Culex Quinquefasciatus* Say türü sivrisinek larvalarına karşı *Tephrosia* türü bitki ekstraktlarının etkinliği. *Spatula DD.* . 5: 21-25.
- [3] Akogbéto, M. 1995. Etude entomologique sur la transmission du paludisme côtier lagunaire : cas d'un village construit sur un lac d'eau saumâtre. . *Ann. Soc. Belge Med trop* **75**: 219-227.
- [4] Akogbéto, M., J.-P. Chippaux, M. Coluzzi. 1992. Le paludisme urbain côtier à Cotonou (République du Bénin). Etude entomologique. *Revue d'Epidémiologie et Santé Publique* **40**: 233-239.
- [5] Akogbetou, M., G. Padonou, D. Gbenou, S. Irish, A. Yadouleton. 2010. Bendiocarb, a potential alternative against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* in Benin, West Africa. *Malar J.* **2010**, 9:204.
- [6] Akogbéto, M., G.G. Padonou, H.S. Bankole, D.K. Gazard, G. Gbedjissi. 2011. Dramatic decrease in malaria transmission after large- scale indoor residual spraying with bendiocarb in

- benin, an area of high resistance of *Anopheles gambiae* to pyrethroids. *AmJTrop Med Hyg* 85 586-593.
- [7] Akogbéto, M., S. Yakoubou. 1999. Résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des pyréthréinoïdes utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires au Bénin, Afrique de l'Ouest. *Bull. Soc. Pathol. Exot* 92: 123-130.
 - [8] Antonio-Nkondjio C., Youmsi-Goupeyou M., Kopya E., Tene-Fossog B., Njiokou F., Costantini C. & Awono-Ambene P. 2014. Exposure to disinfectants (soap or hydrogenperoxide) increases tolerance to permethrin in *Anopheles gambiae* populations from the city of Yaoundé, Cameroon. *Malaria journal* 13: 296.
 - [9] Asidi, A., R. N'Guessan, M. Akogbeto, C. Curtis, M. Rowland. 2012. Loss of Household protection from Use Insecticide-Treated Nets against Pyrethroid-Resistant Mosquitoes, Benin. *Emerging infections Diseases*, 18: 1101-1106.
 - [10] Castagne, E. 1938. Contribution à l'étude des légumineuses insecticides du Congo Belge. *Mem.Inst. Roy. Cot.Belge* 1938, 6.
 - [11] Clark, E.P. 1931a Deguelin, the preponation, purification and properties of deguelin, a constituent of certain tropical fish poisoning plants. *J. amer. Soc.* 53: 313-317.
 - [12] Clark, E.P. 1931b. Degueline, relation between deguelin and rotenone. *J. amer.Soc.* 53: 2369-2373.
 - [13] Clark, E.P., H.V. Clarborn. 1934. Tephrosine, isotephrosine. *J. amer. Soc.* 54: 4454-4456.
 - [14] David J.-P., Boyer S., Mesneau A., Ball A., Ranson H. & Dauphin-Villemant C. 2006. Involvement of cytochrome P450 monooxygenases in the response of mosquito larvae to dietary plant xenobiotics. *Insect biochemistry and molecular biology* 36: 410-420.
 - [15] Djenontin, A., C. Joseph, B. Thierry, S. Irish, C. Pennetier, J.M. Hougard, V. CORBEL, M. AKOGBETO, F. CHANDRE. 2009. Managing insecticide resistance in malaria vectors by combining carbamate-treated plastic wall sheeting and Pyrethroid-treated bed nets. 8: 233 239p.
 - [16] Elouard, J., C. Dejoux, J. Troubat. 1982. Action de *Tephrosia vogelii* (Légumineuse) employé dans les pêches traditionnelles sur les invertébrés benthiques de la Maraoué (Côte d'Ivoire). *Rev. Hydrobiol. irop.* 75 (2): 177-188
 - [17] Gadzirayi, C.T., E. Mutandwa, M. Mwale, T. Thindundu. 2009 Utilisation of *Tephrosia vogelii* in controlling ticks in dairy cows by small-scale commercial farmers in Zimbabwe. *African journal of biotechnology* 8: 4134-4136.
 - [18] Gaudi, O., R. Vacherat. 1938 Recherche sur la roténone et le pouvoir ichtyotoxique de quelques plantes du soudan français. *Bull. Sci. Pharmacology* 40: 385-394.
 - [19] Hanriot, M. 1907a Sur les substances actives du *Tephrosia vogelii*. *C. R. Ac. Sci.*, 144: 150-152.
 - [20] Hanriot, M. 1907b Sur la toxicité des principes définis du *Tephrosia vogelii* *C. R. Ac. Sci.* 144 438-500.
 - [21] Hanriot, M. 1907c sur le mode d'action de la téphrosine., *C. R. Ac. Sci.* 144 651-653.
 - [22] Matovu, H., D. Olila. 2007. Acaricidal Activity of *Tephrosia vogelii* Extracts on Nymph and Adult Ticks. *Int. J.Trop. Med* 2: 83-88.
 - [23] Mayunga, H.H.N. 2002. Natural Chemicals for Disease and Insect Management; Professorial Inaugural Lecture, University of Dar es salaam, Tanzania. 130-134.
 - [24] MS. 2013. Annuaire des statistiques sanitaires. Archive Ministère de la Santé: pp 87. 116.
 - [25] N'GUESSAN, R., C. VINCENT, A. MARTIN, R. MARK. 2007. Reduced Efficacy of Insecticide-treated Nets and Indoor Residual Spraying for Malaria Control in in Pyrethroid Resistance Area, Benin. *Emerging Infectious Diseases*. www.cdc.gov/eid. 13.
 - [26] Nkya T.E., Akhouayri I., Poupardin R., Batengana B., Mosha F., Magesa S., Kisinza W. & David J.-P. 2014. Insecticide resistance mechanisms associated with different environments in the malaria vector *Anopheles gambiae*: a case study in Tanzania. *Malaria Journal* 13: 28.
 - [27] Organisation Mondiale de la Sante. 2004 Lutte contre les vecteurs du paludisme. WHO/CDS/WHOPES/2002. 5

- [28] Organisation Mondiale de la Santé. 1963 Méthode à suivre pour déterminer la sensibilité ou la résistance des larves de moustiques aux insecticides. In Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. Treizième rapport du comité OMS d'experts des insecticides, Genève OMS, Sér. Rapp. Techn. 265: 55-60.
- [29] Organisation mondiale de la santé. 2012. Plan mondial de la gestion de la résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme. . WHO/HTM/GMP/2012 5.
- [30] Poupardin R., Reynaud S., Strode C., Ranson H., Vontas J. & David J.-P. 2008. Crossinduction of detoxification genes by environmental xenobiotics and insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*: Impact on larval tolerance to chemical insecticides. *Insect biochemistry and molecular biology* 38: 540–551.
- [31] Puyvelde, L.V., N. De Kimpe, J.P. Mudaheranwa, A. Gasiga, N. Schamp. 1987. *Journal of Natural Products* 50: 349.
- [32] Raghavendra K., Barik T.K. & Adak T. 2010. Development of larval thermotolerance and its impact on adult susceptibility to malathion insecticide and *Plasmodium vivax* infection in *Anopheles stephensi*. *Parasitology research* 107: 1291–1297.
- [33] Sambamurthy, K., S. Rangaswami, P. Veeraswamy. 1962 Isolation and constitution of a new antoxanthin glycoside vogeloside, from the seeds of *Tephrosia vogelii* Hook. *Planta Medica*, 10 173-178.
- [34] Touqeer, S., M.A. Saeed, M.A. Ajaib. 2013. Review on the Phytochemistry and Pharmacology of Genus *Tephrosia*. *Phytopharmacology*. 4: 598-637.
- [35] WHO. 2013. World Malaria Report 2012. Wld Hlth Org, Geneva.
- [36] Yadouleton A.W., Padonou G., Asidi A., Moiroux N., Bio-Banganna S., Corbel V.,
- [37] N'guessan R., Gbenou D., Yacoubou I., Gazard K. & Akogbeto M.C. 2010. Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin. *Malaria Journal* 9: 83.