

Premiers tests OMS d'évaluation de la sensibilité aux insecticides chez *Anopheles gambiae* et *Culex quinquefasciatus* à Lobito, Angola

Preliminary evaluation of the insecticide susceptibility in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Lobito (Angola), using WHO standard assay

J.C. Toto · P. Besnard · J. LE MIRE · D.S.I. Almeida · M.A. Dos Santos · F. Fortes · V. Foumane · F. Simard · H.P. Awono-Ambene · P. Carnevale

Reçu le 20 août 2010 ; accepté le 26 octobre 2010
© Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France 2010

Résumé Les premiers tests normalisés de l'OMS effectués sur les moustiques collectés entre 2003 et 2005 dans la ville portuaire de Lobito en Angola ont permis de déterminer la sensibilité d'*Anopheles gambiae* et de *Culex quinquefasciatus* vis-à-vis du DDT 4 %, du carbosulfan 0,4 %, de la perméthrine 1 %, de la deltaméthine 0,05 % et de la cyfluthrine 0,15 %. Ces tests ont montré qu'*A. gambiae* (M et S) était sensible à tous les pyréthrinoïdes et au DDT dans la majorité des sites, seules les populations de San João étaient résistantes au DDT (mortalité = 89 %). Par contre, *C. quinquefasciatus* a été résistant à tous les insecticides (mortalité < 70 %), et particulièrement au DDT et au carbosulfan où aucune mortalité n'a été enregistrée. En conclusion, le niveau de sensibilité du vecteur majeur du paludisme (*A. gambiae*) permet d'augurer une bonne efficacité biologique du programme de distributions massives de moustiquaires imprégnées à longue durée d'efficacité. Par contre, la résistance de *C. quinquefasciatus* est à prendre sérieusement en considération, car elle pourrait limiter l'acceptabilité et l'utilisation des moustiquaires

imprégnées et donc leur impact épidémiologique contre le paludisme. Les programmes de lutte antivectorielle doivent donc intégrer une composante de sensibilisation des communautés pour obtenir l'adhésion des communautés et la réduction de la transmission et la morbidité palustre. **Pour citer cette revue : Bull. Soc. Pathol. Exot. 104 (2011).**

Mots clés Sensibilité · Insecticide · *Anopheles gambiae* · *Culex quinquefasciatus* · Lobito · Angola · Afrique

Abstract Field collections of the most common urban mosquito vectors *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* were carried out in June 2003, March 2004 and November 2005 to gather preliminary data on the insecticide susceptibility in mosquitoes from Lobito (Angola) using the WHO standard bioassays. Bioassays were performed on F0 adults emerging from the field larval collections and on unfed adults from landing catches on volunteers. Batches of mosquitoes from three selected locations (Alto Liro, San Jao and Bela Vista) were exposed for 1 hour to several insecticides such as DDT 4%, carbosulfan 0.4%, permethrin 1%, deltamethrin 0.05% and cyfluthrin 0.15%, in order to estimate the immediate knockdown times (kdT50 and kdT95) and the mortality rate after exposure. The results revealed that mosquito susceptibility to insecticides varied depending on the insecticide, the site and the period of collection. The main local malaria vector *A. gambiae* (both M and S forms) was basically resistant to DDT and susceptible to all pyrethroids, regardless of the period and the site of collections. The overall mortality rate due to DDT was 73% in Alto Liro, 89% in San Jao and varied depending on the period in Bela Vista between 95% in March 2004 and 100% in November 2005. The mortality due to pyrethroids was 100% at all locations, with the kdT50 and KdT95 times ranging between 9 and 16 minutes and between 18 and 29 minutes, respectively. Concerning the *C. quinquefasciatus*, populations from

J.C. Toto (✉) · V. Foumane · H.P. Awono-Ambene
Organisation de coordination pour la lutte contre les endémies
en Afrique centrale, Océac Yaoundé, Cameroun
e-mail : jctotofr@yahoo.fr

P. Besnard · J. LE MIRE
Service médical de la Société nationale de métallurgie (Sonamet),
Lobito, Angola

D.S.I. Almeida · M.A. Dos Santos
Programme de contrôle antipaludique de Sonamet (MCP Sonamet),
Lobito, Angola

F. Fortes
Programme national de lutte contre le paludisme, Angola

F. Simard · P. Carnevale
Institut de recherche pour le développement (IRD),
911 Av. Agropolis, B.P. 64501,
34394 Montpellier cedex, France

Yard and Caponte were resistant to all insecticides tested; the mortality rate was 40% with deltamethrin and 70% with permethrin, while no lethal effect was observed with DDT or carbosulfan. In conclusion, despite its probable high resistance to DDT, the main local malaria vector *A. gambiae* remained fully susceptible to pyrethroids. This could forecast a good biological efficacy of the scheduled vector control interventions in Angola, based on a large-scale distribution of long-lasting, insecticide-treated nets and on the implementation of indoor residual spraying. The local vector control programme must include well-adapted IEC campaigns and full participation of the community for better management of the insecticide resistance in targeted mosquitoes and for better control of malaria vector populations. **To cite this journal: Bull. Soc. Pathol. Exot. 104 (2011).**

Keywords Susceptibility · Insecticide · *Anopheles gambiae* · *Culex quinquefasciatus* · Lobito · Angola · Africa

Introduction

Au cours des deux dernières décennies, de nombreuses initiatives internationales se sont mobilisées autour de la lutte contre les maladies à transmission vectorielle. Dans le cas du paludisme, la stratégie mondiale et le programme Roll Back Malaria ont intégré comme perspective commune l'élimination du paludisme d'ici à 2015. Cette vision est basée sur des réductions progressives de la morbidité et de la mortalité dues au paludisme de 50 % avant 2010 et encore de 50 % en 2015. Les mesures recommandées pour atteindre ces objectifs sont essentiellement axées sur le diagnostic précoce et la prise en charge rapide des infections avec des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine, la prophylaxie chez les femmes enceintes avec la sulfadoxine-pyriméthamine et la lutte intégrée contre les vecteurs avec une composante de lutte chimique basée sur la distribution massive de moustiquaires imprégnées, les aspersions intradomiciliaires et l'utilisation des biolarvicides, etc. De nombreux pays ont commencé à mettre en œuvre cette lutte antivectorielle avec l'aide des partenaires locaux ou extérieurs. Les aspersions intradomiciliaires sont actuellement employées à grande échelle dans une quinzaine de pays d'Afrique subsaharienne et semblent montrer une certaine efficacité à court terme dans le contrôle de l'épidémie de paludisme, notamment à Madagascar [22], en Guinée équatoriale (île de Bioko) [25] ou en Afrique australe [18,26]. En Angola, ces interventions sont menées dans le cadre de l'initiative PMI (President's Malaria Initiative), mais la réussite à moyen et long terme de ces interventions est conditionnée par la dynamique du niveau de sensibilité des vecteurs vis-à-vis des insecticides utilisés. En effet, les phénomènes de

résistance des populations de vecteurs vis-à-vis des insecticides en général, et des pyrèthroïdes en particulier, connaissent une certaine expansion en Afrique de l'Ouest [3,4], de l'Est [15], australe et centrale [8,19]. Cette situation pourrait compromettre le succès des interventions [6,13] comme cela fut le cas dans les années 1950 où la résistance au DDT et à la dieldrine [11] avait contribué à l'échec des opérations de lutte antivectorielle menées dans le cadre du programme dit de « prééradication ». Les pyrèthroïdes étant actuellement les insecticides recommandés pour la lutte contre les vecteurs anthropophiles, il est primordial de recueillir des données de base sur la sensibilité des vecteurs ciblés avant de se lancer dans de grands programmes de lutte antivectorielle, coûteux et difficiles à mettre en œuvre, comme les aspersions intradomiciliaires. Une surveillance de la dynamique de cette sensibilité est également à prévoir au fur et à mesure du déroulement des opérations afin de mieux gérer les phénomènes de résistance une fois détectés au sein des populations cibles. Cette gestion peut se traduire par le remplacement d'un insecticide par un autre après l'identification des facteurs et mécanismes impliqués dans la résistance [1,12]. La mutation *kdr* est assez fréquente au sein des populations de vecteurs du paludisme en Afrique, mais, à des fréquences faibles à modérées, la présence de cette mutation semble avoir un impact limité [20], voire aucun impact significatif [14] sur l'efficacité des outils de lutte tels que les moustiquaires imprégnées. La mutation *kdr* a été retrouvée dans des populations d'*Anopheles gambiae* en Angola [24] où le Programme national de lutte contre le paludisme a planifié des opérations de lutte antivectorielle combinant la lutte anti-larvaire avec du *Bacillus thuringiensis*, des aspersions intradomiciliaires (programme PMI) et la distribution massive de moustiquaires imprégnées. Dans ce papier, nous présentons donc les premiers tests normalisés réalisés en 2003 et en 2004 pour déterminer le niveau de sensibilité des vecteurs *A. gambiae* et *Culex quinquefasciatus* collectés dans les quartiers de Lobito en Angola.

Matériels et méthodes

Site d'étude

Lobito (13°33'N, 12°21'E) est une ville portuaire d'environ 150 000 habitants située à environ 300 km au sud de Luanda. Lobito est située dans la province de Benguela et est caractérisée par un faciès semi-aride et un climat tropical dit « tempéré » à deux saisons [17], dont une saison sèche de mai à octobre et une saison humide de novembre à avril. La température annuelle varie entre 21–26 °C et l'humidité relative moyenne est de 80 %. Les précipitations annuelles varient entre 200–1 000 mm. Le centre-ville de Lobito est situé sur le fond de la baie qui protège le port et est traversé par un

réseau de marécages d'eau saumâtre. Cette partie basse de la ville comprend les quartiers Caponte en bordure du lac central, Compão en bordure de mer, Canata, Lobito Velho et San João à l'est du centre-ville et à proximité du chantier (Yard) de la Société nationale de métallurgie (Sonamet). Cette partie basse de Lobito débouche au sud sur la Catumbela, une zone agricole constituée de canaux d'eau d'irrigation et de drainage. La partie haute de Lobito (à une centaine de mètres d'altitude) est caractérisée par un faciès semi-désertique de montagne, et comprend les quartiers Alto Liro et Bela Vista.

Échantillonnage des moustiques

Les anophèles destinés aux tests ont été collectés à l'état larvaire dans les gîtes naturels (rigoles, etc.) et artificiels (citernes d'eau) d'*A. gambiae* dans les trois localités (Alto Liro, San João et Bela Vista), différents des gîtes à eaux saumâtres favorables au développement d'*A. melas* et d'*A. listeri*. Pendant la saison sèche (juin 2003), les larves ont été collectées à Alto Liro et à San João et pendant les périodes humides (mars 2004 et novembre 2005) à Bela Vista. Pour les moustiques de l'espèce *C. quinquefasciatus*, les individus utilisés pour les tests ont été collectés en juin 2003 à l'état adulte à partir des captures sur volontaires au niveau du chantier de la Sonamet (quartier « Yard »), et en mars 2004 à l'état larvaire au niveau des gîtes naturels à Caponte.

Tests standard de sensibilité de l'OMS

Les tests de sensibilité chez *A. gambiae* ont été effectués sur des femelles âgées de deux à quatre jours, issues des collectes larvaires. Pour les tests sur *C. quinquefasciatus*, les individus utilisés étaient soit des femelles de deux à trois jours issues des collectes larvaires, soit des femelles non gorgées, capturées sur les volontaires. Les tests de sensibilité ont été effectués selon le protocole standard normalisé de l'OMS [28]. Les paramètres à mesurer étaient les temps de knock-down, ou temps nécessaire pour que 50 % (Tkd50) et 95 % (Tkd95) des moustiques soient assommés après une heure de contact avec un insecticide de concentration létale pour une souche sensible, et la mortalité observée 24 heures après l'exposition à l'insecticide. Les papiers préalablement imprégnés aux doses diagnostiques contenaient les insecticides suivants : DDT (4 %), carbosulfan (0,15 %), perméthrine (1 %), deltaméthrine (0,05 %) et cyfluthrine (0,15 %). Les Tkds ont été estimés à partir de la droite de régression de l'effet knock-down ou grâce au logiciel PROBIT. Après les tests, quelques spécimens d'anophèles testés (morts et survivants) et sélectionnés dans chaque site ont été conservés pour la confirmation par PCR de l'espèce *A. gambiae* et l'identification de ses formes moléculaires (M et S) suivant le protocole de Fanello et al. [9].

Résultats

Sensibilité d'*A. gambiae* aux insecticides

Les résultats de la PCR d'identification des anophèles ont montré que les populations d'*A. gambiae* collectées en juin 2003, en mars 2004 et en novembre 2005 appartenaient à l'espèce *A. gambiae* S.S., avec la présence en sympatrie des formes M et S dans les localités de Alto Liro et de San João, alors que seule la forme S était retrouvée à Bela Vista (Lobito). Le Tableau 1 présente les variations des temps de knock-down (Tkd50 et Tkd95) et les taux de mortalité observés chez *A. gambiae* S.L. dans les trois sites de Lobito.

Les temps de knock-down ont varié en fonction de l'insecticide, du site et de la période de collecte des moustiques. Avec le DDT, le Tkd50 a été de 35 minutes à San João, de 50 minutes à Liro et variant entre 22 et 48 minutes à Bela Vista. Avec les pyréthrinoides, les Tkd50 étaient moins qu'avec le DDT ; le minimum (< 5 minutes) ayant été observé à Bela Vista avec la perméthrine et la cyfluthrine et le maximum (16 minutes) avec la deltaméthrine à San João. Les Tkd95 les plus élevés (> 45 minutes) ont été observés avec le DDT. Avec les pyréthrinoides, les Tkd95 ont varié entre 18 minutes avec la perméthrine à San João et 35 minutes avec la deltaméthrine à Alto Liro. On a noté une variation significative des Tkds chez les *A. gambiae* collectés à Bela Vista au cours des deux périodes d'étude effectuées en saison humide (mars 2004 et novembre 2005) suggérant une dynamique de la sensibilité des moustiques dans le temps.

Les taux de mortalité ont varié en fonction de l'insecticide, du site et de la période d'étude. Les populations d'Alto Liro, de San João et de Bela Vista collectées en 2003, 2004 et 2005 se sont révélées sensibles à tous les pyréthrinoides (perméthrine, deltaméthrine et cyfluthrine) avec des taux de mortalité de 100 %. Par contre, on a enregistré une baisse de sensibilité des moustiques vis-à-vis du DDT en 2003 à Alto Liro (mortalité = 73 %) et San João (mortalité = 89 %), et en 2005 à Bela Vista (mortalité = 95 %).

Sensibilité de *C. quinquefasciatus* aux insecticides

Les temps de knock-down et les taux de mortalité chez *C. quinquefasciatus* au quartier « Yard » (chantier Sonamet) et Caponte sont présentés au Tableau 2.

Les Tkd50 estimés ont été très élevés avec le DDT et les pyréthrinoides. Un Tk50 de 26 minutes a cependant été observé à Caponte avec la perméthrine, suggérant une différence de sensibilité probablement liée à la différence d'échantillonnage des souches testées. Par ailleurs, les Tkd95 étaient tous supérieurs à 100 minutes.

Tableau 1 Temps de knock-down (Tkd) et mortalités observés chez *Anopheles gambiae* après une heure d'exposition à différents insecticides. / Time to knock-down (Tkd) and mortality observed in *Anopheles gambiae* after an hour of exposure to different insecticides.

	Alto Liro (juin-juillet 2003)			Bela Vista (mars-avril 2004)			Bela Vista (novembre-décembre 2005)			San Joao (juin-juillet 2003)				
	n	Tkd50 (minute)	Tkd95 (minute)	Mortalité (%)	Tkd50 (minute)	Tkd95 (minute)	Mortalité (%)	Tkd50 (minute)	Tkd95 (minute)	Mortalité (%)	n	Tkd50 (minute)	Tkd95 (minute)	Mortalité (%)
DDT 4 %	80	50'	-	73	80	22,4	45,3	100	48'	145'	95	100	35'	89
Perméthrine 1 %	100	12'	25'	100	76	< 5 ^a	-	100	9'	29'	100	100	10'	100
Deltaméthrine 0,05 %	100	16'	35'	100	80	9,5	17,6'	100	15'	29'	100	100	16'	100
cyfluthrine 0,15 %	-	-	-	-	100	< 5 ^a	-	100	-	-	-	-	-	-

Perm : perméthrine ; Delt : deltaméthrine ; Cyf : cyfluthrine.
 - : valeurs non déterminées ou tests non réalisés ; ^a : tous les moustiques assommés à temps t.

Les taux de mortalité chez les femelles de *C. quinquefasciatus* ont varié de 0 % (DDT et carbosulfan) à 70 % (perméthrine) au quartier « Yard », et de 5 % (DDT) à 44 % (perméthrine) à Caponte. Ces observations suggèrent une résistance nette à tous les insecticides testés des populations adultes des quartiers « Yard » ou issues directement des gîtes naturels à Caponte.

Discussion

En Angola, le « paludisme » représenterait la moitié des motifs de consultations et constitue la cause majeure de mortalité des enfants [21]. De plus, la résistance observée de *Plasmodium falciparum* aux antipaludiques habituels [10] induit le besoin d'opérations de lutte intégrée associant la lutte antivectorielle, l'emploi des médicaments à base d'artémisinine [23] et d'autres stratégies de lutte antipaludique à mettre en œuvre par le Programme national. Dans le contexte actuel de la mise en œuvre de grandes opérations d'aspersions pariétales intradomiciliaires par le programme PMI, différents problèmes ont pu être relevés au moment de l'évaluation de l'efficacité épidémiologique des opérations [27]. En effet, les informations de base relatives à la distribution et au niveau de sensibilité vis-à-vis des insecticides des populations de vecteurs n'avaient pas été suffisamment prises en compte. En publiant les résultats originaux obtenus entre 2003 et 2005 en Angola sur la sensibilité des moustiques, nous fournissons des informations complémentaires susceptibles d'améliorer la lutte contre les moustiques dans la région de Lobito.

Notre étude a mis en évidence la présence des deux formes moléculaires (M et S) de l'espèce *A. gambiae* à Lobito. Cette observation a été confirmée plus tard par les travaux menés dans les provinces de Benguela [5]. Les récentes études sur la distribution de l'espèce *A. gambiae* en Angola ont montré que la forme M était plus fréquente en zone tropicale semi-désertique qu'en zone humide et moins anthropisée où la forme S était majoritaire [2]. Par ailleurs, on sait actuellement que la mutation de type kdr est présente en Angola dans les deux formes M et S [16,24]. Avec la réalisation des tests normalisés avec des papiers imprégnés d'insecticide à des doses diagnostiques qui permettent d'évaluer rapidement le niveau de sensibilité selon la méthode classique préconisée par l'OMS, nous avons démontré que les populations d'*A. gambiae* de la ville portuaire de Lobito étaient encore parfaitement sensibles aux différents insecticides recommandés dans la lutte antivectorielle. Dans ce contexte, la mise en œuvre d'une lutte antivectorielle intégrant les moustiquaires imprégnées et les aspersion intradomiciliaires est envisageable, si, et seulement si, elle est accompagnée d'un programme de suivi du niveau de sensibilité des populations vis-à-vis des insecticides utilisés. En

Tableau 2 Temps de knock-down (Tkd) et mortalités observés chez *Culex quinquefasciatus* après une heure d'exposition à différents insecticides. / Time to knock-down (Tkd) and mortality observed in *Culex quinquefasciatus* after an hour of exposure to different insecticides.

	Quartier « Yard » (juin–juillet 2003)				Caponte (mars–avril 2004)			
	<i>n</i>	Tkd50 (minute)	Tkd95 (minute)	Mortalité (%)	<i>n</i>	Tkd50 (minute)	Tkd95 (minute)	Mortalité (%)
DDT 4 %	80	> 60 ^a	–	0	80	–	–	5
Perméthrine 1 %	100	40'	–	70	79	42'	193	44
Deltaméthrine 0,05 %	100	> 60 ^a	–	40	80	63'	290	24
Carbosulfan 0,4 %	100	> 60 ^a	–	0	80	26'	104	36

Perm : perméthrine ; Delt : deltaméthrine ; Cyf : cyfluthrine.
– : valeurs non déterminées ou tests non réalisés ; ^a valeurs estimées par observation.

effet, une évaluation récente a confirmé le rôle protecteur contre les piqûres d'*A. gambiae* conféré par des moustiquaires imprégnées de deltaméthrine procurées à des habitants du quartier Bela Vista [7]. Par contre la résistance de *C. quinquefasciatus* aux insecticides, telle qu'observée à Lobito, est un phénomène courant en zones urbaines en général et dans les villes portuaires africaines où le faciès écologique est dominé par une très forte anthropisation des milieux aquatiques. Ce phénomène, malheureusement très commun, doit désormais être pris en considération et les activités de lutte à envisager doivent intégrer l'aménagement de l'environnement et l'hygiène urbaine, plutôt que les épandages massifs d'insecticides. En plus, la résistance des *Culex* aux insecticides pourrait avoir un effet négatif sur la perception par les communautés des opérations de lutte antivectorielle qui pourraient s'avérer efficaces contre les anophèles, mais pas contre les *Culex*. En effet, la nuisance due aux *Culex* pourrait, à juste titre, réduire l'adhésion des populations aux différentes opérations de lutte antivectorielle et par conséquent compromettre l'efficacité de la lutte basée sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées. Une bonne stratégie de lutte devrait donc comprendre un volet d'information et de sensibilisation des populations et s'inscrire dans l'option d'une lutte intégrée associant l'amélioration de l'environnement, la lutte spécifique et la participation communautaire effective.

Conclusion

Cette étude fournit des données préliminaires à intégrer comme données de base dans le cadre du programme de suivi de la sensibilité des vecteurs du paludisme ou d'évaluation des opérations de lutte menées au niveau local.

Remerciements Nous remercions les autorités administratives de Benguela (vice gouverneur) et la mairie de Lobito

pour avoir permis la réalisation de toutes les enquêtes. Nous tenons à remercier la direction de la Sonamet pour le soutien financier et logistique accordé dans le cadre de ses activités de lutte contre le paludisme à Lobito. Les remerciements vont également à tous les collaborateurs du laboratoire de recherche sur le paludisme de l'Oceac à Yaoundé pour le traitement des échantillons et l'analyse des données de cette étude.

Conflit d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

1. Brooke BD, Kloke G, Hunt RH, et al (2001) Bioassay and biochemical analyses of insecticide resistance in southern african *Anopheles funestus* (diptera: culicidae). Bull Entomol Res 91 (4):265–72
2. Calzetta M, Santolamazza F, Carrara GC, et al (2008) Distribution and chromosomal characterization of the *Anopheles gambiae* complex in Angola. Am J Trop Med Hyg 78(1):169–75
3. Chandre F, Manguin S, Brengues C, et al (1999) Current distribution of a pyrethroid resistance gene (kdr) in *Anopheles gambiae* complex from West Africa and further evidence for reproductive isolation of the Mopti form. Parasitologia 41(1–3):319–22
4. Coetzee M, Van Wyk P, Booman M, et al (2006) Insecticide resistance in malaria vector mosquitoes in a gold mining town in Ghana and implications for malaria control. Bull Soc Pathol Exot 99(5):400–3 [http://www.pathexo.fr/documents/articles-bull/T99-5-2857-b-4p.pdf]
5. Cuamba N, Choi SK, Townson H (2006) Malaria vectors in Angola: distribution of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex, their pyrethroid insecticide knockdown resistance (kdr) status and *Plasmodium falciparum* sporozoite rates. Malar J 5:2
6. Curtis CF (2001) Insecticide resistance and mosquito-borne disease. Lancet 357(9257):656
7. Drame PM, Poinsignon A, Besnard P, et al (2010) Human antibody response to *Anopheles gambiae* saliva: an immunoepidemiological biomarker to evaluate the efficacy of insecticide-treated nets in malaria vector control. Am J Trop Med Hyg 83(1):115–21

8. Etang J, Fondjo E, Chandre F, et al (2006) First report of knock-down mutations in the malaria vector *Anopheles gambiae* from Cameroon. *Am J Trop Med Hyg* 74(5):795–7
9. Fanello C, Petrarca V, della Torre A, et al (2003) The pyrethroid knockdown resistance gene in the *Anopheles gambiae* complex in Mali and further indication of incipient speciation within *Anopheles gambiae* S.S. *Insect Mol Biol* 12(3):241–5
10. Gama B, Pereira-Carvalho G, Lutucuta Kosi F, et al (2010) *Plasmodium falciparum* isolates from Angola show the StctVMNT haplotype in the pfcrt gene. *Malar J* 9:174.
11. Gariou J, Mouchet J (1961) Apparition d'une souche d'*Anopheles gambiae* résistante à la dieldrine dans la zone de la campagne antipaludique du Sud-Cameroun. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* 54:870–5
12. Hargreaves K, Koekemoer LL, Brooke BD, et al (2000) *Anopheles funestus* resistant to pyrethroid insecticides in South Africa. *Med Vet Entomol* 14(2):181–9
13. Hemingway J, Field L, Vontas J (2002) An overview of insecticide resistance. *Science* 298(5591):96–7
14. Henry MC, Assi SB, Rogier C, et al (2005) Protective efficacy of lambda-cyhalothrin treated nets in *Anopheles gambiae* pyrethroid resistance areas of Cote-d'Ivoire. *Am J Trop Med Hyg* 73(5):859–64
15. Himeidan YE, Chen H, Chandre F, et al (2007) Short report: permethrin and DDT resistance in the malaria vector *Anopheles arabiensis* from eastern Sudan. *Am J Trop Med Hyg* 77(6):1066–8
16. Janeira F, Vicente JL, Kanganje Y, et al (2008) A primer-introduced restriction analysis-polymerase chain reaction method to detect knockdown resistance mutations in *Anopheles gambiae*. *J Med Entomol* 45(2):237–41
17. L'atlas du continent africain (1993) Le groupe Jeune Afrique, Éditions du Jaguar, 175p
18. Mabaso ML, Sharp B, Lengeler C (2004) Historical review of malarial control in southern African with emphasis on the use of indoor residual house-spraying. *Trop Med Int Health* 9(8):846–56
19. Moreno M, Vicente JL, Cano J, et al (2008) Knockdown resistance mutations (kdr) and insecticide susceptibility to DDT and pyrethroids in *Anopheles gambiae* from Equatorial Guinea. *Trop Med Int Health* 13(3):430–3
20. N'Guessan R, Corbel V, Akogbéto M, Rowland M (2007) Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin. *Emerg Infect Dis* 13(2):199–206
21. Pinto EA, Alves JG (2008) The causes of death of hospitalized children in Angola. *Trop Doct* 38(1):66–7
22. Randriantsimaniry D (1995) Lutte antivectorielle dans l'épidémie des plateaux de Madagascar. *Santé* 5:392–6
23. Rowe AK, de León GF, Mihigo J, et al (2009) Quality of malaria case management at outpatient health facilities in Angola. *Malar J* 8(1):275
24. Santolamazza F, Calzetta M, Etang J, et al (2008) Distribution of knockdown resistance mutations in *Anopheles gambiae* molecular forms in west and west-central Africa. *Malar J* 7:74
25. Sharp BL, Ridl FC, Govender D, et al (2007) Malaria vector control by indoor residual insecticide spraying on the tropical island of Bioko, Equatorial Guinea. *Malar J* 6:52
26. Sharp BL, Craig MH, Mnvaza A, et al (2001) Review of malaria in South Africa. Durban, Health System Trust 2001.
27. Somandjinga M, Lluberias M, Jobin WR (2009) Difficulties in organizing first indoor spray programme against malaria in Angola under the President's Malaria Initiative. *Bull World Health Organ* 87(11):871–4
28. WHO (1998) Tests procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bioefficacy and persistence of insecticides on treated surfaces. Report of the WHO informal Consultation, Geneva, WHO/MAL/98, 43p