

Prévalence des marqueurs moléculaires de résistance de *Plasmodium falciparum* à la Sulfadoxine-Pyriméthamine et à l'Amodiaquine au début de la chimioprévention du paludisme saisonnier au Togo

Yao Mawuenyégan Agbo, MD, Msc

Faculté des sciences de la santé, Université de Lomé, Togo

Komi Kusiaku, MD, MPH

Kossi Alowe, Msc

Kokou Messan Afanou, Msc

Bakenanmè Lare, Msc

Tinah Atcha-Oubou, MD, MPH

Programme National de Lutte contre le Paludisme, Togo

Prof. Nadiédjoa Kokou Douti, MD

Service de Pédiatrie, CHU Campus, Lomé,

Faculté des sciences de la santé, Université de Lomé, Togo

[Doi:10.19044/esj.2026.v22n24p85](https://doi.org/10.19044/esj.2026.v22n24p85)

Submitted: 21 May 2026

Accepted: 28 July 2026

Published: 31 August 2026

Copyright 2026 Author(s)

Under Creative Commons CC-BY 4.0

OPEN ACCESS

Cite As:

Agbo, Y.M., Kusiaku, K., Alowe, K., Afanou, K.M., Lare, B., Atcha-Oubou, T., & Douti, N.K. (2026). *Prévalence des marqueurs moléculaires de résistance de Plasmodium falciparum à la Sulfadoxine-Pyriméthamine et à l'Amodiaquine au début de la chimioprévention du paludisme saisonnier au Togo*. European Scientific Journal, ESJ, 22 (24), 85. <https://doi.org/10.19044/esj.2026.v22n24p85>

Résumé

Objectif: Déterminer la prévalence des marqueurs de résistance de *P.falciparum* à la Sulfadoxine-Pyriméthamine et à l'Amodiaquine au début de la mise en œuvre de la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) au Togo. **Méthodes:** Une enquête transversale conduite dans la région des Savanes, zone éligible, et dans une zone témoin hors de la zone éligible, a porté sur des enfants âgés de 3 à 59 mois, symptomatiques ou non, résidant depuis plus de 6 mois dans les localités tirées. L'analyse moléculaire a recherché les mutations sur les codons 51, 59 et 108 de *Pfdhfr*, et 437 et 540 de *Pfdhps* pour la sulfadoxine-pyriméthamine ; ainsi que les mutations sur le codon 76 de *Pfcr1* et 86 de *Pfmdr1* pour l'amodiaquine. **Résultats:** La

prévalence de l'allèle triple mutant *Pfdhfr* était élevée avec 86,4% en zone CPS et 77,9% en zone non-CPS avec une différence significative ($p=0,008$). La prévalence de la mutation 437G *Pfdhps* était élevée dans les deux zones (83,2% et 78,2%). Par contre, celle de la mutation 540E était faible (1,8% et 4,3%). La prévalence de l'allèle double mutant *Pfdhps* en a été impacté avec 1,4% et 4,3%, et une différence significative ($p=0,04$). Les prévalences des mutations sur *Pfcr* et *Pfmdr1* étaient inférieures à la moyenne en Afrique. **Conclusion:** L'utilisation de sulfadoxine-pyriméthamine et amodiaquine pour la CPS n'était pas compromise. Des données de base de la surveillance moléculaire de la résistance de *P.falciparum* aux antipaludiques au Togo sont disponibles.

Mots-clés: Chimio-prévention du paludisme saisonnier, marqueurs de résistance, *P. falciparum*, Togo

Prevalence of Molecular Markers of *Plasmodium falciparum* Resistance to Sulfadoxine-Pyrimethamine and Amodiaquine at the Start of Seasonal Malaria Chemoprevention in Togo

Yao Mawuenyégan Agbo, MD, Msc

Faculty of Health Sciences, University of Lomé, Togo

Komi Kusiaku, MD, MPH

Kossi Alowe, Msc

Kokou Messan Afanou, Msc

Bakenanmè Lare, Msc

Tinah Atcha-Oubou, MD, MPH

National Malaria Control Programme, Togo

Prof. Nadiédjoa Kokou Douti, MD

Paediatrics Department, CHU Campus, Lomé,

Faculty of Health Sciences, University of Lomé, Togo

Abstract

Objective: To determine the prevalence of *P.falciparum* resistance markers to Sulfadoxine-Pyrimethamine and Amodiaquine at the start of the implementation of seasonal malaria chemoprevention (SMC) in Togo.

Methods: A cross-sectional survey conducted in the Savanes region, an eligible area, and in a control area outside the eligible area, focused on children aged 3 to 59 months, symptomatic or not, residing for more than 6 months in the selected localities. Molecular analysis was performed to screen for mutations at codons 51, 59, and 108 of *Pfdhfr*, and 437 and 540 of *Pfdhps* for

sulfadoxine-pyrimethamine; as well as mutations at codon 76 of *Pfcr*t and codon 86 of *Pfmdr*1 for amodiaquine. **Results:** Triple mutant *Pfdhfr* allele prevalence was high, 86.4% in SMC area and 77.9% in the non-SMC area, with a significant difference ($p=0.008$). Prevalence of 437G *Pfdhps* mutation was high in both areas (83.2% and 78.2%). In contrast, prevalence of 540E mutation was low (1.8% and 4.3%). Double mutant *Pfdhps* allele prevalence was impacted by this, 1.4% and 4.3%, with a significant difference ($p=0.04$). Prevalence of mutations in *Pfcr*t and *Pfmdr*1 was lower than the average observed in Africa. **Conclusion:** The use of sulfadoxine-pyrimethamine and amodiaquine for SMC was not compromised. Baseline data from molecular surveillance of *P. falciparum* resistance to antimalarial drugs in Togo are available.

Keywords: Seasonal malaria chemoprevention, resistance markers, *P. falciparum*, Togo

Introduction

Le paludisme, comme défi majeur de santé publique, persiste en Afrique subsaharienne depuis plusieurs décennies. En 2023, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a rapporté 263 millions de cas et 597.000 décès. L'Afrique subsaharienne a fourni 94% des cas (soit 246 millions) et 95% des décès (soit 569.000), dont 76% (soit 432.000) ont concernés les enfants de moins de 5 ans (World Health Organization, 2024). Au début des années 2000, les dirigeants africains avaient pris des engagements politiques forts en faveur de la lutte contre le paludisme en Afrique subsaharienne (World Health Organization, 2003). Les changements de politique thérapeutique qui en ont résulté, notamment l'adoption des Combinaisons Thérapeutiques à base de dérivés de l'Artémisinine (CTA) selon les recommandations de l'OMS (World Health Organization, 2006) et l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides, ont apporté des nouvelles perspectives pour le contrôle et l'élimination du paludisme. Les résultats ont été encourageants, avec, d'une part une réduction des cas de plus de 50%, et d'autre part, une réduction de la mortalité spécifique de 26% à l'échelle mondiale et de 33% en Afrique subsaharienne sur la période 2000 – 2011 (World Health Organization, 2011).

Cependant, les chiffres restaient élevés avec 216 millions de cas et 655.000 décès dont 86% ont concernés les enfants de moins de 5 ans (World Health Organization, 2011). De nouvelles stratégies de prévention ont été mise en place au début de la décennie 2010 – 2020, avec l'administration de doses curatives d'antipaludiques dans des conditions spécifiques. Ainsi, la Chimio-prévention du Paludisme Saisonnier (CPS) a été déployée chez les enfants de moins de 5 ans (World Health Organization, 2012), afin d'éviter les décès massifs durant les pics annuels de transmission. Elle utilise l'association

Sulfadoxine-Pyriméthamine et Amodiaquine (SP/AQ). La prévention du paludisme chez les femmes enceintes a également été mise en œuvre à travers le Traitement Préventif Intermittent (TPIg) (World Health Organization, 2013) visant à éviter les avortements, les faibles poids de naissance, les mortinaissances et les décès maternels et infantiles. Elle est basée sur l'administration de Sulfadoxine-Pyriméthamine lors des consultations prénatales. Le succès de ces deux stratégies a été très vite menacé par le problème de la résistance de *Plasmodium falciparum* aux molécules utilisées. En effet, depuis les constatations des échecs thérapeutiques in vivo, des études ont permis d'identifier dans le monde, des marqueurs moléculaires associés à la résistance de *P. falciparum* aux différentes molécules. Ainsi des mutations sur les gènes codant pour la dihydrofolate réductase (Sibley *et al.*, 2001 ; Hyde *et al.*, 2005) et la dihydroptéroate synthétase (Wang *et al.*, 1997a ; Wang *et al.*, 1997b), ont été identifiées comme associés à la résistance de *P. falciparum* à la Sulfadoxine – Pyriméthamine. De même, des mutations sur le multidrug resistance gene 1 (*Pfmdr1*) et le chloroquine resistance transporter (*Pfcr1*) ont été identifiées comme associées à la résistance de *P. falciparum* à l'Amodiaquine (Happi *et al.*, 2006 ; Holmgren G *et al.*, 2006).

Au Togo, le paludisme est endémique dans tous les districts sanitaires et toute la population est à risque, mais les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes sont les plus vulnérables. En 2013, 40% des cas ont été diagnostiqués chez les moins de 5 ans avec plus de 74% des décès (Ministère de la Santé, 2013). Les CTA ont été rendus disponibles à partir de 2006 et les différentes évaluations de leur efficacité thérapeutique ont donné des résultats satisfaisants (Dorkenoo *et al.*, 2012). Toutefois, l'OMS recommandait des tests complémentaires tels que l'étude des marqueurs moléculaires pour la surveillance de la résistance aux antipaludiques (World Health Organization, 2010). Au début de la mise en œuvre de la CPS, il n'existait pas de données de grande échelle sur la prévalence des marqueurs moléculaires de la résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques au Togo. L'adoption de la CPS avec l'utilisation en traitement de masse de la combinaison SP/AQ avait motivé de cette étude. Et même à ce jour il n'existe que des données parcellaires provenant des études d'efficacité thérapeutique des CTA (Dorkenoo *et al.*, 2016).

Les objectifs de cette étude étaient, principalement, de déterminer la prévalence des marqueurs moléculaires de la résistance de *P. falciparum* à la sulfadoxine-pyriméthamine et à l'amodiaquine et d'en établir une cartographie, et accessoirement d'examiner l'influence de quelques facteurs sur la prévalence de ces marqueurs de résistance. Aujourd'hui, dans l'optique de la surveillance moléculaire de la résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques au Togo, il est apparu nécessaire de rendre publiques ces

données de base afin qu'elles servent de point de comparaison aux nouvelles études.

Matériels et méthodes

Collecte des données

Une enquête transversale a été conduite en février 2014 dans une zone constituée de quatre districts sanitaires de la région des Savanes, à savoir Kpendjal, Cinkassé, Tône et Tandjouare. La région des Savanes est située au nord du Togo à la frontière avec le Burkina-Faso et est éligible à la CPS. Parallèlement, une zone témoin a été enquêtée dans deux districts situés hors de la zone CPS, à savoir le district de Tchaoudjo dans la région Centrale et les districts de la région Lomé-Commune, tous au sud de la zone CPS. Dans les deux zones, un échantillonnage en grappes à deux niveaux avec probabilité proportionnelle à la taille des populations a été utilisé pour le choix des localités. En assumant une fréquence attendue de quadruple mutation (*Pfdhfr* 108, 51, 59 et *Pfdhps* 437) de 20% sur la base d'une étude faite au Burkina Faso (Konaté et *al.*, 2011), et une proportion de données manquantes ou incomplètes de 5%, pour une précision de 5% et un risque alpha de 5%, un effectif de 542 enfants ayant un TDR positif a été déterminé. Dix localités ont donc été tirées au hasard dans les districts de la zone CPS et vingt localités dans les districts de la zone non-CPS, soit 9 enfants à TDR positif par localité.

L'enquête s'était déroulée de façon simultanée dans les deux zones. Elle a porté sur des enfants âgés de 3 à 59 mois présentant ou non de la fièvre, et séjournant depuis plus de 6 mois dans les localités tirées dans chaque zone. Le dépistage a été réalisé à l'aide d'un test de diagnostic rapide (TDR) détectant l'antigène spécifique HRP-2 de *P. falciparum* dans le sang total (Bioline® Malaria Antigen P.f, Standard Diagnostics, Inc, Korea). Les enfants chez lesquels le TDR a été positif ont été inclus dans l'étude. Des prélèvements sur confettis par ponction au bout du doigt ont été réalisés chez tous les enfants inclus.

Analyse des échantillons

L'analyse moléculaire des échantillons a été réalisée au Malaria Research and Training Center (MRTC, Bamako, Mali) en fin d'année 2014. Pour la sulfadoxine-pyriméthamine, les mutations étudiées ont porté sur les codons 51, 59 et 108 du gène codant pour la dihydrofolate réductase (*Pfdhfr*), et les codons 437 et 540 du gène codant pour la dihydroptéroase synthétase (*Pfdhps*). Pour l'amodiaquine, les mutations étudiées ont porté sur le codon 76 du gène codant pour la chloroquine résistance transporter (*Pfcrt*) et sur le codon 86 du gène codant pour la multi-drug resistance-1 (*Pfmdr1*). L'ADN parasitaire a été extrait en utilisant le mini kit QIAGEN®. La détection des mutations sur le *Pfcrt* et le *Pfmdr1* (Djimde et *al.*, 2001), ainsi que sur le *Pfdhfr*

et le *Pfdhps* a été réalisée par PCR nichée (Diourte et *al.*, 1999 ; Tekete et *al.*, 2009).

Analyse statistique

Les données ont été analysées par Epi-info 7. Les fréquences absolues des marqueurs de résistance ont été déterminées en faisant le rapport du nombre d'échantillons portant des parasites mutants ou mixtes au nombre total des échantillons analysés avec des résultats disponibles (mutants, mixtes ou sauvages).

Les fréquences absolues et les pourcentages des mutations ponctuelles individuelles du *Pfdhfr* (N51I, C59R et S108N), du *Pfdhps* (A437G et K540E), ainsi que du *Pfcrt* (K76T) et du *Pfmdr1* (N86Y) ont été calculés. Pareillement, les fréquences absolues et les pourcentages des mutations combinées : la triple mutation (*Pfdhfr* 51, 59 et 108), la quadruple mutation (*Pfdhfr* 51, 59 et 108 + *Pfdhps* 437), la quintuple mutation (*Pfdhfr* 51, 59 et 108 + *Pfdhps* 437 et 540), ainsi que la double mutation (*Pfcrt* K76T + *Pfmdr1* N86Y), ont été calculés.

Considérations éthiques

Cette enquête a été approuvée par le comité de bioéthique du Ministère de la Santé du Togo. Dans chaque ménage, l'objectif de l'étude et le contenu du formulaire de consentement ont été expliqués aux parents en langue locale par l'agent de santé communautaire (ASC), et leur signature obtenue avant tout prélèvement. Les résultats des TDR sont directement donnés aux parents. Les enfants présentant une température axillaire supérieure ou égale à 37,5 °C avec un TDR positif ont été pris en charge sur place par l'ASC avec de l'artémether-luméfantrine (AL), ou référé au centre de santé de la localité selon la gravité de leur état après explication aux parents. Les confettis prélevés avant le traitement ont été codés de façon anonyme.



Figure 1 : Carte du Togo avec les districts impliqués dans l'étude

Résultats

L'enquête a porté sur 2965 enfants de 3 à 59 mois répartis entre les deux zones.

Tableau 1 : Caractéristiques générales des enfants

Caractéristiques	Zone CPS	Zone non-CPS
Nombre d'enfants testés (N = 2965)	1047	1918
Nombre d'enfants testés ayant un TDR positif (n = 627)	318 (30,37%)	309 (16,11%)
Sex-ratio des enfants positifs (M/F)	0,89 (150/168)	1,03 (157/152)
Age moyen des enfants positifs (mois)	37,41	33,32
Nombre d'enfants positifs avec des symptômes (n = 245)	67 (21,06%)	178 (57,60%)
Nombre d'enfants positifs vivant en milieu rural	318 (100%)	190 (61,48%)
Nombre d'enfants positifs dormant toujours sous MILDA (n = 309)	134 (42,13%)	175 (56,63%)

Analyse des marqueurs de résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine

L'étude des mutations moléculaires associées à la résistance de *P. falciparum* à la sulfadoxine-pyriméthamine a été réalisée sur 559 échantillons tirés au hasard des 627 positifs, à raison de 279 pour la zone CPS et 280 pour la zone non-CPS (Tableau 2).

➤ Prévalence des mutations et allèles du gène *Pfdhfr*

Sur l'ensemble des échantillons analysés dans les deux zones, la mutation S108N a présenté les allèles mutants 108N (92,8%) et mixte 108S108N (5,5%), ainsi que l'allèle sauvage 108S (1,6%). Elle était moins fréquente en zone CPS, mais la différence entre les deux zones n'était pas significative ($p = 0,3$).

La mutation C59R a présenté les allèles mutants 59R (78%) et mixte 59C59R (11,4%), ainsi que l'allèle sauvage 59C (10,6%). Elle était plus fréquente en zone CPS qu'en zone non-CPS avec une différence significative ($p = 0,04$).

La mutation N51I a présenté les allèles mutants 51I (67,4%) et mixte 51N51I (18,2%), ainsi que l'allèle sauvage 51N (14,3%). Elle était plus fréquente en zone CPS qu'en zone non-CPS avec une différence significative ($p = 0,001$).

L'allèle triple mutant 51I/59R/108N était plus fréquente en zone CPS (86,4%) qu'en zone non-CPS (77,9%) avec une différence significative ($p = 0,008$).

Tableau 2 : Prévalence des mutations sur le gène *Pfdhfr* selon la zone d'étude

Mutations	Zone CPS (n=279)	Zone non CPS (n=280)	p
N51I	252 (90,3%)	227 (81,1%)	0,001
C59R	257 (92,1%)	243 (86,8%)	0,04
S108N	273 (97,8%)	277 (98,9%)	0,3
Triple mutation (51I/59R/108N)	241 (86,4%)	218 (77,9%)	0,008

➤ Cartographie des mutations sur le gène *Pfdhfr* selon les districts

Ces niveaux de prévalence répartis selon les districts sont rapportés dans le tableau 3 :

Tableau 3 : Prévalence des mutations sur le gène *Pfdhfr* selon les districts

Mutations	Cinkassé	Kpendjal	Tandjouare	Tône	Lomé- C	Tchaoudjo
N51I	89,8%	92,5%	85,1%	93,2%	85,3%	71,9%
C59R	92,2%	95,0%	88,1%	91,8%	90,6%	78,7%
S108N	100%	100%	98,5%	93,2%	99,0%	98,9%
Triple mutation (51, 59 et 108)	86,4%	91,3%	82,1%	84,9%	82,7%	67,4%

Dans tous les districts, la prévalence de la mutation S108N est à 100% ou presque, tandis que le triple mutant est supérieur à 80% sauf dans Tchaoudjo (zone non-CPS).

Cette cartographie des mutations sur le gène *Pfdhfr* est visualisée sur la figure 2 ci-après :

Cartographie des mutations sur le gène *Pfdhfr*

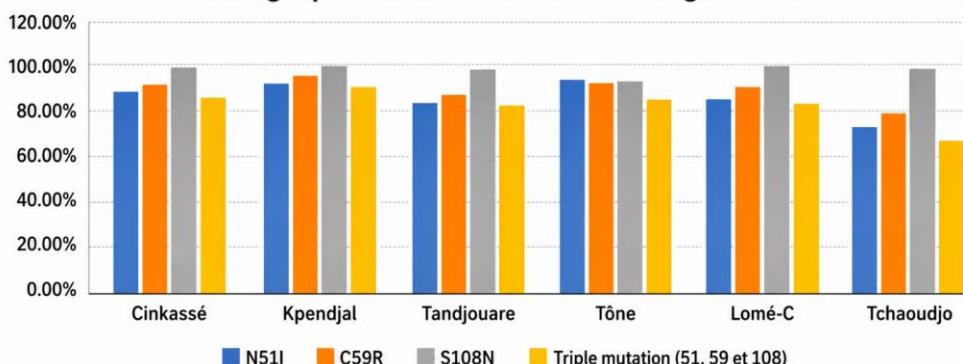


Figure 2 : Cartographie des mutations sur le gène *Pfdhfr*

➤ Prévalence des mutations et allèles du gène *Pfdhps*

Sur l'ensemble des échantillons analysés dans les deux zones (Tableau 4), la mutation K540E a présenté presque exclusivement l'allèle sauvage 540K (97%), mais aussi les allèles mutants 540E (0,5%) et mixte 540K/540E (2,5%). Elle était plus rare en zone CPS qu'en zone non-CPS mais la différence n'était pas significative ($p=0,08$).

La mutation A437G a présenté les allèles mutants 437G (61,9%) et mixte 437A/437G (18,8%), ainsi que l'allèle sauvage 437A (19,3%). Elle était plus fréquente en zone CPS mais la différence n'était pas significative ($p=0,14$).

Tableau 4 : Prévalence des mutations sur le gène *Pfdhps* selon la zone d'étude

Mutations	Zone CPS (n=279)	Zone non CPS (n=280)	p
A437G	232 (83,2%)	219 (78,2%)	0,14
K540E	5 (1,8%)	12 (4,3%)	0,08
Double mutation (437G/540E)	4 (1,4%)	12 (4,3%)	0,04

L'allèle double mutant 437G/540E est plus rare en zone CPS (1,4%) qu'en zone non-CPS (4,3%) avec une différence significative ($p=0,04$).

➤ Cartographie des mutations sur le gène *Pfdhps* selon les districts

Ces niveaux de prévalence répartis selon les districts sont rapportés dans le tableau 5 :

Tableau 5 : Prévalence des mutations sur le gène *Pfdhps* selon les districts

Mutations	Cinkassé	Kpendjal	Tandjouare	Tône	Lomé-C	Tchaoudjo
A437G	93,2%	86,3%	58,2%	94,1%	85,9%	61,8%
K540E	1,7%	0,0%	1,5%	4,1%	4,7%	3,4%
Double mutation (437 et 540)	1,7%	0,3%	1,5%	2,7%	4,7%	3,4%

Dans tous les districts, la mutation K540E est rare et sa prévalence reste inférieure à 5%. Cette cartographie des mutations sur le gène *Pfdhps* est visualisée sur la figure 3 ci-après :

Cartographie des mutations sur le gène *Pfdhps*

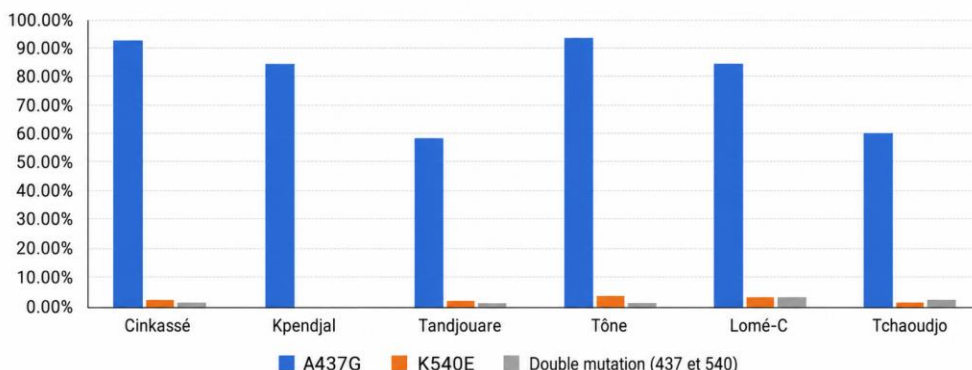


Figure 3 : Cartographie des mutations sur le gène *Pfdhps*

➤ Prévalence des combinaisons de mutations entre les gènes *Pfdhfr* et *Pfdhps*

L'allèle quadruple mutant 51I/59R/108N + 437G était plus fréquent en zone CPS (73,5%) qu'en zone non-CPS (63,2%) avec une différence significative ($p=0,009$).

L'allèle quadruple mutant 51I/59R/108N + 540E était plus rare en zone CPS (1,8%) qu'en zone non-CPS (3,9%) mais la différence n'était pas significative ($p=0,13$).

L'allèle quintuple mutant 51I/59R/108N + 437G/540E était plus rare en zone CPS (1,4%) qu'en zone non-CPS (3,9%) mais la différence n'était pas significative ($p=0,06$).

➤ Cartographie des combinaisons de mutations *Pfdhfr* et *Pfdhps*

Ces niveaux de prévalence répartis selon les districts sont rapportés dans le tableau 6 :

Tableau 6 : Prévalence des combinaisons de mutations sur les gènes *Pfdhfr* et *Pfdhps* selon les districts

Mutations	Cinkassé	Kpendjal	Tandjouare	Tône	Lomé-C	Tchaoudjo
Quadruple mutation <i>dhfr</i> (51, 59 et 108) + <i>dhps</i> 437	83,1%	80,0%	50,7%	79,5%	71,7%	44,9%
Quadruple mutation <i>dhfr</i> (51, 59 et 108) + <i>dhps</i> 540	1,7%	0,0%	1,5%	4,1%	4,2%	3,4%
Quintuple mutation <i>dhfr</i> (51, 59 et 108) + <i>dhps</i> (437 et 540)	1,7%	0,0%	1,5%	2,7%	4,2%	3,4%

La prévalence des combinaisons est très influencée par la rareté ou l'abondance de la mutation sur le gène *Pfdhps*.

Cette cartographie des combinaisons de mutations sur les gènes *Pfdhfr* et *Pfdhps* est visualisée sur la figure 4 ci-après :

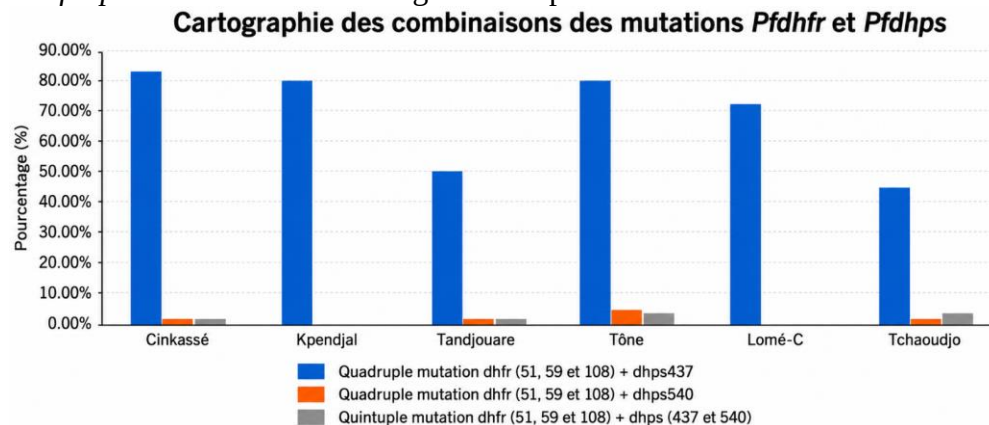


Figure 4 : Cartographie des combinaisons des mutations sur les gènes *Pfdhfr* et *Pfdhps*

Analyse des marqueurs de résistance à l'Amodiaquine

➤ Prévalence des mutations et allèles des gènes *Pfcr* et *Pfmdr1*

L'étude des marqueurs moléculaires associés à la résistance de *P. falciparum* à l'amodiaquine, a été réalisée sur 548 échantillons positifs tirés au hasard, à raison de 272 pour la zone CPS et 276 pour la zone non-CPS (Tableau 7). Les mutations étudiées ont porté sur le codon 76 du gène *Pfcr* et le codon 86 du gène *Pfmdr1*. Sur l'ensemble des deux zones, la mutation K76T a présenté les allèles mutant 76T (9,3%) et mixte 76K76T (22,3%), ainsi que l'allèle sauvage 76K (68,4%). La mutation N86Y a présenté les allèles mutant 86Y (9,9%) et mixte 86N/86Y (11,1%), ainsi que l'allèle sauvage 86N (79%).

Tableau 7 : Prévalence des mutations sur le *Pfcr* et le *Pfmdr1* selon la zone d'étude

Mutations	Zone CPS (n=272)	Zone non CPS (n=276)	p
<i>Pfcr</i> K76T	80 (29,4%)	93 (33,7%)	0,28
<i>Pfmdr1</i> N86Y	42 (15,4%)	73 (26,4%)	0,001
Double mutation (76T et 86Y)	15 (5,5%)	31 (11,2%)	0,01

La mutation K76T était moins fréquente en zone CPS qu'en zone non-CPS, mais la différence n'était pas significative ($p = 0,28$). La mutation N86Y était moins fréquente en zone CPS qu'en zone non-CPS, et la différence était significative ($p=0,001$). L'allèle double mutant 76T/86Y était moins fréquente en zone CPS qu'en zone non-CPS, et la différence était significative ($p=0,01$).

Examen de l'influence de quelques facteurs sur la fréquence des marqueurs

L'influence de certains facteurs tels que le sexe, le milieu d'habitation et la présence de symptômes (hyperthermie) sur la fréquence des marqueurs moléculaires, a été examiné.

Pour les marqueurs associés à la résistance de *P. falciparum* à la SP, il n'y a pas eu de différence significative dans la fréquence des marqueurs en fonction du sexe. L'influence du milieu d'habitation a été notable sur la mutation 540E, qui était plus fréquente en milieu urbain qu'en milieu rural avec une différence significative ($p = 0,01$). Cette influence s'est répercutée sur la prévalence des mutations groupées impliquant cette mutation 540E ; ainsi la double mutation *Pf dhps* 540E/437G ($p = 0,008$), la quadruple mutation 51I/59R/108N + 540E ($p = 0,008$) et la quintuple mutation 51I/59R/108N + 437G/540E ($p = 0,004$) étaient plus fréquentes en milieu urbain avec une différence significative. L'influence de la présence de symptômes (hyperthermie) a été notable, avec une différence significative, sur la mutation individuelle 51I ($p = 0,001$), mais aussi sur la triple mutation 51I/59R/108N ($p = 0,009$) et la quadruple mutation 51I/59R/108N + 437G ($p = 0,01$), qui étaient plus fréquentes chez les enfants asymptomatiques que les enfants symptomatiques.

Pour les marqueurs associés à la résistance de *P. falciparum* à l'amodiaquine, ni le sexe ni le milieu d'habitation, n'ont eu une influence sur les mutations K76T et N86Y. Toutefois, la mutation K76T était plus fréquente chez les enfants asymptomatiques que chez les enfants symptomatiques avec une différence significative ($p = 0,01$).

Discussion

Cette étude réalisée au début de la mise en œuvre de la chimioprévention du paludisme saisonnier au Togo avait pour but de fournir des données de bases sur la prévalence des marqueurs moléculaires associés à la résistance de *P. falciparum* à la sulfadoxine-pyriméthamine et à l'amodiaquine au Togo.

Mutations *Pf dhfr*

Les prévalences des mutations ponctuelles portant sur les codons 51, 59 et 108 du gène *Pf dhfr* étaient globalement élevées comme déjà observé ailleurs à cette époque en Afrique subsaharienne. Elles ont été identifiées de l'Est à l'Ouest du continent par plusieurs auteurs. Ainsi, en 2008, en Tanzanie leurs prévalences étaient respectivement de 96,4%, 94% et 97,6% chez des enfants symptomatiques, et 83,3%, 100% et 100% chez des enfants asymptomatiques (Gesase *et al.*, 2009). Au Bénin, en 2013, leurs prévalences étaient respectivement de 96,2%, 93,9% et 97,6% (Ogouyèmi-Hounto *et al.*, 2013). Les allèles mutants du *Pf dhfr* sont individuellement connus pour être associés à un faible niveau de résistance. Mais en fonction du nombre de mutations présentes, ils codent pour des niveaux de résistance intermédiaire ou élevée. Par contre, leurs combinaisons en triple mutant contenant les

mutations 51-59-108 confère une composante significative de résistance à la sulfadoxine-pyriméthamine (Plowe *et al.*, 1997 ; Naidoo & Roper, 2011).

Mutations *Pfdhps*

Sur le gène *Pfdhps*, la prévalence de la mutation 437G était élevée tandis que celle de la mutation 540E était très faible. Ceci était cohérent avec les prévalences retrouvées au Bénin voisin, où la mutation 437G était à 71,1% tandis qu'aucun allèle mutant de 540E n'avait été retrouvé (Ogouyèmi-Hounto *et al.*, 2013). En Afrique de l'Ouest et du Centre, cette mutation était rare (Naidoo & Roper, 2011). Au même moment, en Afrique de l'Est, les prévalences élevées des mutations sur le gène *Pfdhps* avaient déjà été révélées. Ainsi en Tanzanie, en 2008, les prévalences observées de la mutation 437G étaient de 95,4% chez des enfants symptomatiques et 100% chez des enfants asymptomatiques ; de même les prévalences de la mutation 540E étaient de 94,3% et 100% respectivement dans les mêmes groupes d'enfants (Gesase *et al.*, 2009).

Combinaisons de mutations *Pfdhfr* et *Pfdhps*

En Afrique de l'Est et australe, l'apparition de l'allèle double mutant (A437G+K540E), dans cette région où la prévalence de l'allèle triple mutant *Pfdhfr* était déjà élevé, avait alerté sur l'arrivée d'un niveau significatif d'échec thérapeutique à la sulfadoxine-pyriméthamine (Naidoo & Roper, 2010). En effet, plusieurs études réalisées, notamment au Kenya (Omar *et al.*, 2001), en Ouganda (Staedke *et al.*, 2004) et au Malawi (Kublin *et al.*, 2002), avaient démontré que la combinaison du triple mutant *Pfdhfr* et du double mutant *Pfdhps* était prédictive d'un échec thérapeutique précoce de la sulfadoxine-pyriméthamine. Dès lors, en Afrique, la mutation 540E était devenue un marqueur épidémiologique pertinent de la quintuple mutation et par conséquent de l'efficacité de la sulfadoxine-pyriméthamine (Naidoo & Roper, 2010 ; Organisation Mondiale de la Santé, 2010).

Mutations *Pfcr*t et *Pfmdr1*

Dans les deux zones d'études, les prévalences des mutations 76T du *Pfcr*t (29,40% et 33,70%), 86Y du *Pfmdr1* (15,40% et 26,40%), et du double mutant (5,5% et 11,2%) retrouvées au Togo, étaient inférieures à celles observées sur le continent dans la période. Ainsi au Bénin, les prévalences étaient de 93,9% pour l'allèle mutant 76T du *Pfcr*t, de 57,1% pour le 86Y du *Pfmdr1*, et de 55,2% pour le double mutant 76T86Y (Ogouyèmi-Hounto *et al.*, 2013). En moyenne, les prévalences de ces mutations étaient de 67,6% en Afrique l'Est, et de 73,3% en Afrique de l'Ouest (Meera *et al.*, 2014). Par conséquent, une certaine efficacité semblait être conservée à l'amodiaquine au Togo.

Conclusion

Au terme de cette étude, réalisée au début de la mise en œuvre de la CPS au Togo, il est apparu que malgré une prévalence élevée du triple mutant *Pfdhfr*, la faible prévalence de la mutation 540E a impacté favorablement la prévalence du double mutant *Pfdhps* et du quintuple mutant *Pfdhfr/Pfdhps*, et par conséquent le niveau d'efficacité de la sulfadoxine-pyriméthamine. Parallèlement, les prévalences des mutations sur la *Pfcrt* et la *Pfmdr1*, étaient nettement inférieures à la moyenne en Afrique subsaharienne, conservant également une certaine efficacité à l'amodiaquine. Au vu de ces résultats, l'utilisation de la sulfadoxine-pyriméthamine et de l'amodiaquine dans le cadre la CPS n'était pas compromise.

Toutefois, les prévalences élevées de l'allèle mutant 437G de *Pfdhps* et du triple mutant *Pfdhfr*, ainsi que la possible apparition d'autres mutations pertinentes déjà observées en Afrique subsaharienne, imposent la nécessité de mettre en place une surveillance moléculaire de ces mutations pouvant être à l'origine de la perte de l'efficacité des antipaludiques. Il était donc nécessaire de rendre publique ces données qui constituent la base pour cette surveillance moléculaire de la résistance *P. falciparum* aux antipaludiques au Togo.

Remerciements : Les auteurs remercient les autorités sanitaires nationales, des régions et des districts enquêtés, le personnel de santé des districts, les agents de santé communautaires et les populations pour leur engagement et leur disponibilité.

Conflit d'intérêts : Les auteurs n'ont signalé aucun conflit d'intérêts.

Disponibilité des données : Toutes les données sont incluses dans le contenu de l'article.

Déclaration de financement : Les auteurs n'ont obtenu aucun financement pour cette recherche.

Déclaration relative aux participants humains : Cette recherche a été approuvée par le Comité de Bioéthique pour la Recherche en Santé du Ministère en charge de la santé du Togo et les principes de la Déclaration d'Helsinki ont été respectés.

References:

1. Diourte, Y., Djimdé, A., Doumbo, O. K., Sagara, I., Coulibaly, Y., Dicko, A., Diallo, M., Diakité, M., Cortese, J. F. & Plowe, C. V. (1999). Pyrimethamine-sulfadoxine efficacy and selection for mutations in *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase and

- dihydropteroate synthase in Mali. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 60(3), 475-478.
2. Djimdé, A., Doumbo, O. K., Cortese, J. F., Kayentao, K., Doumbo, S., Diourté, Y., Coulibaly, D., Dicko, A., Su, X. Z., Nomura, T., Fidock, D. A., Wellem, T. E. & Plowe, C. V. (2001). A molecular marker for chloroquine-resistant *falciparum* malaria. *New England journal of medicine*, 344(4), 257-263.
 3. Dorkenoo, M.A., Barrette, A., Agbo, Y.M., Bogreau, H., Kutoati, S., Sodahlon, Y. K. & Morgah, K. (2012). Surveillance of the efficacy of artemether-lumefantrine and artesunate-amodiaquine for the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* among children under five in Togo, 2005-2009. *Malaria Journal*, 11, 338.
 4. Dorkenoo, A. M., Yehadji, D., Agbo, Y. M., Layibo, Y., Agbeko, F., Adjeloh, P., Yakpa, K., Sossou, E., Awokou, F. & Ringwald, P. (2016). Therapeutic efficacy trial of artemisinin-based combination therapy for the treatment of uncomplicated malaria and investigation of mutations in k13 propeller domain in Togo, 2012–2013. *Malaria journal*, 15(1), 1-9.
 5. Gesase, S., Gosling, R. D., Hashim, R., Ord, R., Naidoo, I., Madebe, R., Mosha, J. F., Joho, A., Mandia, V., Mrema, H., Mapunda, E., Savael, Z., Lemnge, M., Mosha, F. W., Greenwood, B., Roper, C. & Chandramohan, D. (2009). High resistance of *Plasmodium falciparum* to sulphadoxine/pyrimethamine in northern Tanzania and the emergence of dhps resistance mutation at Codon 581. *PLoS One*, 4(2), e4569.
 6. Happi, C. T., Gbotosho, G. O., Folarin, O. A., Bolaji, O. M., Sowunmi, A., Kyle, D. E., Milhous, W., Wirth, D. F. & Oduola, A. M. J. (2006). Association between mutations in *plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter and *p. falciparum* multidrug resistance 1 genes and in vivo amodiaquine resistance in *p. falciparum* malaria-infected children in Nigeria. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 75(1), 155-161.
 7. Holmgren, G., Gil, J. P., Ferreira, P. M., Veiga, M. I., Obonyo, C. O. & Björkman, A. (2006). Amodiaquine resistant *Plasmodium falciparum* malaria in vivo is associated with selection of pfCRT 76T and pfMDR1 86Y. *Infection, Genetics and Evolution*, 6(4), 309-314.
 8. Hyde, J. E. (2005). Exploring the folate pathway in *Plasmodium falciparum*. *Acta tropica*, 94(3), 191-206.
 9. Konaté, A. T., Yaro, J. B., Ouédraogo, A. Z., Diarra, A., Gansané, A., Soulama, I., Kangoyé, D. T., Kaboré, Y., Ouédraogo, E., Ouédraogo, A., Tiono, A. B., Ouédraogo, I. N., Chandramohan, D., Cousens, S., Milligan, P. J., Sirima, S. B., Greenwood, B. & Diallo, D. A. (2011).

- Intermittent preventive treatment of malaria provides substantial protection against malaria in children already protected by an insecticide-treated bednet in Burkina Faso : a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *PLoS medicine*, 8(2), e1000408.
10. Kublin, J. G., Dzinjalama, F. K., Kamwendo, D. D., Malkin, E. M., Cortese, J. F., Martino, L. M., Mukadam, R. A. G., Rogerson, S. J., Lescano, A. G., Molyneux, M. E., Winstanley, P. A., Chimpeni, P., Taylor, T. E. & Plowe, C. V. (2002). Molecular markers for failure of sulfadoxine-pyrimethamine and chlorproguanil-dapsone treatment of *Plasmodium falciparum* malaria. *The Journal of infectious diseases*, 185(3), 380-388.
 11. Ministère de la Santé, Togo. Mise en œuvre du plan stratégique national 2011-2015 de lutte contre le paludisme : rapport annuel du Programme National de Lutte contre le Paludisme (2013). Ministère de la Santé, Togo.
 12. Naidoo, I. & Roper, C. (2010). Following the path of most resistance: dhps K540E dispersal in African *Plasmodium falciparum*. *Trends in parasitology*, 26(9), 447-456.
 13. Naidoo, I. & Roper, C. (2011). Drug resistance maps to guide intermittent preventive treatment of malaria in African infants. *Parasitology*, 138(12), 1469-1479.
 14. Ogouyèmi-Hounto, A., Ndam, N. T., Kinde Gazard, D., d'Almeida, S., Koussihoude, L., Ollo, E., Azagnandji, C., Bello, M., Chippaux, J-P. & Massougboji, A. (2013). Prevalence of the molecular marker of *Plasmodium falciparum* resistance to chloroquine and sulphadoxine/pyrimethamine in Benin seven years after the change of malaria treatment policy. *Malaria Journal*, 12(1), 147.
 15. Omar, S. A., Adagu, I. S. & Warhurst, D. C. (2001). Can pretreatment screening for dhps and dhfr point mutations in *Plasmodium falciparum* infections be used to predict sulfadoxine-pyrimethamine treatment failure? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 95(3), 315-319.
 16. Organisation Mondiale de la Santé. (2010). Recommandation générale de l'OMS sur le traitement préventif intermittent du nourrisson à la sulfadoxine-pyriméthamine pour lutter contre le paludisme à *Plasmodium falciparum* en Afrique (No. WHO/HTM/GMP/2010.01). Organisation mondiale de la Santé. <https://iris.who.int/handle/10665/338711>
 17. Plowe, C. V., Cortese, J. F., Djimde, A., Nwanyanwu, O. C., Watkins, W. M., Winstanley, P. A., Estrada-Franco, J. G., Mollinedo, R. E., Avila, J. C., Cespedes, J. L., Carter, J. & Doumbo, O. K. (1997). Mutations in *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase and

- dihydropteroate synthase and epidemiologic patterns of pyrimethamine-sulfadoxine use and resistance. *Journal of Infectious Diseases*, 176(6), 1590-1596.
18. Sibley, C. H., Hyde, J. E., Sims, P. F., Plowe, C. V., Kublin, J. G., Mberu, E. K., Cowman, A. F., Winstanley, P. A., Watkins, W. M. & Nzila, A. M. (2001). Pyrimethamine-sulfadoxine resistance in *Plasmodium falciparum*: what next?. *Trends in parasitology*, 17(12), 582-588.
 19. Staedke, S. G., Sendagire, H., Lamola, S., Kamya, M. R., Dorsey, G. & Rosenthal, P. J. (2004). Relationship between age, molecular markers, and response to sulphadoxine-pyrimethamine treatment in Kampala, Uganda. *Tropical Medicine & International Health*, 9(5), 624-629.
 20. Tekete, M., Djimde, A. A., Beavogui, A. H., Maiga, H., Sagara, I., Fofana, B., Ouologuem, D., Dama, S., Kone, A., Dembele, D., Wele, M., Dicko, A. & Doumbo, O. K. (2009). Efficacy of chloroquine, amodiaquine and sulphadoxine-pyrimethamine for the treatment of uncomplicated falciparum malaria: revisiting molecular markers in an area of emerging AQ and SP resistance in Mali. *Malaria Journal*, 8(1), 34.
 21. Venkatesan, M., Gadalla, N. B., Stepniewska, K., Dahal, P., Nsanjabana, C., Moriera, C., Price, R. N., Mårtensson, A., Rosenthal, P. J., Dorsey, G., Sutherland, C. J., Guérin, P., Davis, T. M. E., Ménard, D., Adam, I., Ademowo, G., Arze, C., Baliraine, F. N., Berens-Riha, N., Björkman, A., Borrmann, S., Checchi, F., ... & Sibley, C. H. (2014). Polymorphisms in *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter and multidrug resistance 1 genes: parasite risk factors that affect treatment outcomes for *P. falciparum* malaria after artemether-lumefantrine and artesunate-amodiaquine. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 91(4), 833.
 22. Wang, P., Lee, C. S., Bayoumi, R., Djimde, A., Doumbo, O., Swedberg, G., Dao, L. D., Mshinda, H., Tanner, M., Watkins, W. M., Sims, P. F. & Hyde, J. E. (1997). Resistance to antifolates in *Plasmodium falciparum* monitored by sequence analysis of dihydropteroate synthetase and dihydrofolate reductase alleles in a large number of field samples of diverse origins. *Molecular and biochemical parasitology*, 89(2), 161-177.
 23. Wang, P., Read, M., Sims, P. F. & Hyde, J. E. (1997). Sulfadoxine resistance in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* is determined by mutations in dihydropteroate synthetase and an

- additional factor associated with folate utilization. *Molecular microbiology*, 23(5), 979-986.
24. World Health Organization, Global Partnership to Roll Back Malaria, World Bank, United Nations Development Programme, African Summit on Roll Back Malaria (2000 : Abuja, Nigeria) et al., (2003). La Déclaration d' Abuja et le plan d' action : extrait du Sommet africain pour faire reculer le paludisme, Abuja, 25 avril 2000 (WHO/CDS/RBM/2000.17). Organisation mondiale de la Santé. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67817>
 25. World Health Organization (2006). Guidelines for the treatment of Malaria, 1st ed. World Health Organization. https://ec.europa.eu/echo/files/policies/sectoral/health_2006_malaria_treatment_guidelines_who.pdf
 26. World Health Organization (2010) : Global report on antimalarial drug efficacy and drug resistance: 2000-2010. Geneva: World Health Organization.
 27. World Health Organization (2011). World malaria report 2011 <https://www.who.int/publications/i/item/9789241564403>
 28. World Health Organization (2012). WHO policy recommendation: seasonal malaria chemoprevention (SMC) for plasmodium falciparum malaria control in highly seasonal transmission areas of the Sahel sub-region in Africa. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/337978>
 29. World Health Organization. Policy brief for the implementation of intermittent preventive treatment of malaria in pregnancy using sulfadoxine-pyrimethamine (IPTp-SP). Geneva, World Health Organization, 2013. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HTM-GMP-2014.4>
 30. World Health Organisation (2024). Rapport 2024 sur le paludisme dans le monde. <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/malaria/world-malaria-reports/world-malaria-report-2024-global-briefing-kit-fre.pdf>