



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Incidence du paludisme et la résistance d'*Anopheles gambiae s.l.*, principal vecteur du paludisme en Côte d'Ivoire : corrélation et mécanismes de résistance dans trois localités à faible et forte incidence du paludisme

Konan Serge Pacôme LOUKOU^{1*}, Mahama TOURÉ², Salifou KONÉ³ et Yapi Grégoire YAPI²

¹Service de Santé des Forces Armées, 01 BP 12243 Abidjan, Côte d'Ivoire.

²Centre d'Entomologie Médicale et Vétérinaire, BPV 18 Bouaké, Côte d'Ivoire.

³Institut National d'Hygiène Publique, BPV 14, Abidjan, Côte d'Ivoire.

*Auteur correspondant ; E-mail lkspacom@gmail.com; Tél : (+225) 0707845941/01 03 30 25 16

Received: 23-03-2024

Accepted: 26-04-2024

Published: 30-04-2024

RÉSUMÉ

Le niveau de résistance d'*Anopheles gambiae* aux insecticides augmente en Côte d'Ivoire. Est-ce liée à l'augmentation de l'incidence du paludisme ? Cette étude avait pour objectif d'identifier la corrélation entre l'augmentation de l'incidence dans les zones à forte incidence et la résistance des anophèles aux insecticides. Premièrement, les anophèles ont été soumis au test de sensibilité en tube, des taux de mortalité ont été comparés à la valeur standard de l'OMS. Ensuite, nous avons recherché des mécanismes de résistance par des tests de biologie moléculaire. Il ressort des travaux que *Anopheles gambiae s.l.* était résistant à presque tous les insecticides sauf le pirimiphos-méthyl 0,25%, l'alpha cyperméthrine 0,05% et la lambda-cyhalothrine 0,05%. Les mutations de cibles Kdr L1014F et Ace-1R G119S ont été enregistrées avec des fréquences alléliques variant entre 0,34 et 0,66 pour la mutation Kdr L1014F et entre 0,45 et 0,55 pour la mutation Ace-1RG119S. Le Test de Kruskal-Wallis a mesuré un p-value à 0,0242 pour chaque insecticide au seuil critique de 5%. On a conclu qu'il n'y avait pas de différence significative entre l'incidence élevée du paludisme et l'augmentation de la résistance d'*Anopheles gambiae s.l.* aux insecticides.

© 2024 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Sensibilité, lutte antivectorielle, insecticides, mutation Kdr, mutation Ace-1^R, malaria.

Malaria incidence and resistance of *Anopheles gambiae s.l.*, the main vector of malaria in Côte d'Ivoire: Correlation and resistance mechanisms in three localities with low and high incidence of malaria

ABSTRACT

The level of resistance of *Anopheles gambiae* to insecticides is increasing in Côte d'Ivoire. Is this linked to the increase in the incidence of malaria? This study aimed to identify the correlation between the increase in incidence in high incidence areas and the resistance of Anopheles to insecticides. First, the Anophelines were subjected to the tube susceptibility test, mortality rates were compared to the WHO standard value. Next, we

© 2024 International Formulae Group. All rights reserved.

DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v18i2.17>

9640-IJBCS

looked for resistance mechanisms using molecular biology tests. The work showed that *Anopheles gambiae* s.l was resistant to almost all insecticides except pirimiphos-methyl 0.25%, alpha cypermethrin 0.05% and lambda-cyhalothrin 0.05%. The Kdr L1014F and Ace-1^R G119S target mutations were recorded with allele frequencies varying between 0.34 and 0.66 for the Kdr L1014F mutation and between 0.45 and 0.55 for the Ace-1^R and G119S mutation. The Kruskal-Wallis Test measured a p-value at 0.0242 for each insecticide at the critical threshold of 5%. It was concluded that there was no significant difference between the high incidence of malaria and the increased resistance of *Anopheles gambiae* s.l to insecticides.

© 2024 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: Susceptibility, vector control, insecticides, Kdr mutation, Ace-1^R mutation, malaria.

INTRODUCTION

Le paludisme demeure un véritable problème de santé publique. Cette pathologie transmise par les moustiques du genre *Anopheles* cause d'important décès chez les enfants et les adultes à travers le monde avec 234 millions de cas estimés et 593 000 décès associés en 2021 (OMS, 2021). La région ouest-africaine est la plus durement touchée par le paludisme (95% des cas et 96% des décès au niveau mondial) en raison de la présence de l'espèce plasmodiale la plus virulente, le *Plasmodium falciparum*, responsable du paludisme grave (OMS, 2022). Les vecteurs majeurs du paludisme les plus retrouvées sont *Anopheles gambiae* (sl) et *Anopheles funestus* (sl) (Louise et al., 2009 ; Djenontin et al., 2010). Il existe des traitements efficaces par voie orale pour le paludisme simple en utilisant les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) (RASS, 2020). Les formes graves sont traitées avec les sels de quinine, l'artésunate injectable et l'artéméther injectable selon les directives nationales de chaque pays (PSN, 2022). Par ailleurs, pour prévenir le paludisme, deux voies se dessinent, dont la lutte antivectorielle ; la seconde voie étant la vaccination. Deux vaccins antipaludiques ont été approuvés par l'OMS, le RTSS/AS01 et le R21/Matrix-M, disponibles et efficaces chez les enfants entre 03 à 59 mois (OMS, 2023). Aussi, la lutte antivectorielle de masse est-elle basée principalement sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées à longue durée d'action (MILDA) d'une part, et d'autre part sur la Pulvérisation Intradomiciliaire (PID). Cependant, la résistance des moustiques aux insecticides entrave les efforts consentis par les

programmes de lutte antivectorielle. En Côte d'Ivoire, des travaux ont indiqués une résistance d'*Anopheles gambiae* (sl) aux quatre familles d'insecticides utilisées en santé publique (Touré et al., 2017 ; Koné et al., 2022). Cette résistance est non seulement liée aux mutations de la cible Kdr et Ace-1^R ; mais elle est aussi métabolique. La mutation Kdr est une résistance croisée aux pyréthrinoides et au DDT, causée par la substitution de la leucine sur le codon 1014 par la phénylalanine (L1014F) ou par la sérine (L1014S) (Camara et al., 2018. Koffi et al., 2013 ; Sadiá-Kacou et al., 2017). Quant à la mutation de l'acétylcholinestérase (Ace-1^R), elle est due à une substitution nucléotidique unique de la glycine en sérine à la position 119 dans le gène Ace-1^R (Weill, 2004) et réduit l'affinité de l'acétylcholinestérase pour les carbamates et les organophosphorés. La résistance aux insecticides chez les moustiques du paludisme croit rapidement et fortement du fait de la pression de sélection exercée à la fois en santé publique et surtout en agriculture (Zoh et al., 2018 ; Czehier et al., 2008 ; Yadouleton et al., 2009). En Côte d'Ivoire, le niveau de résistance des anophèles aux insecticides croit au fil des années (Weill et al., 2003). C'est ainsi que dans le cadre de la distribution de masse tri-annuelle des moustiquaires imprégnées à large durée d'action (MILDA) en 2021, la Côte d'Ivoire a adopté la lutte antivectorielle stratifiée avec le passage à l'utilisation de MILDA standard imprégnées de deltaméthrine et de MILDA de deuxième génération imprégnées soit avec une association de pyréthrinoides et d'un synergisant, le butoxyde de pipéronyle ou le Chlorfénapir dans 29 districts sanitaires sur 113 devant la résistance des anophèles aux

insecticides (PSN, 2022). Ainsi, rechercher l'existence de résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme et déterminer les mécanismes de résistances était-il nécessaire pour la mise en place de nouvelles stratégies pour la gestion efficace de la lutte contre les vecteurs du paludisme. La présente étude avait pour objectif d'évaluer l'impact de la résistance d'*Anopheles gambiae* sur l'incidence dans trois localités à forte ou faible incidences du paludisme en Côte d'Ivoire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Sites d'étude

Cette étude s'est déroulée dans trois localités de la Côte d'Ivoire. Une localité à forte incidence du paludisme qui est le district sanitaire de Béoumi (7° 40' 60'' LN et 5° 34' 60'' LO) situé au centre-nord du pays à 353 Km d'Abidjan (capitale économique) et deux localités à faibles incidences du paludisme, dont l'un dans le district sanitaire d'Agboville (5°49'60" LN et 4°15'0" LO) situé au sud-est du pays à 81 Km d'Abidjan et l'autre Katiola (8° 08' 15''LN/ 5° 06' 07'' LO) au centre de la Côte d'Ivoire, situé à 394 Km d'Abidjan, la capitale économique. (Figure 1).

Dans notre contexte de travail, les informations majeures qui prise en compte sont le niveau d'incidence du paludisme dans le district sanitaire et aussi la sensibilité des moustiques aux insecticides. Pour rappel les incidences inférieures à 400‰ étaient considérées comme faibles et supérieures à 400‰ sont fortes à savoir :

- les localités à faibles incidences sont Katiola avec respectivement avec les taux d'incidence de 332,25 ‰ en 2019, de 304,41 ‰ en 2020 et 332,00‰ en 2021; et Agboville avec les taux d'incidence de 228,42 ‰ en 2019, de 141,98 ‰ en 2020 et 114,91‰ en 2021(RASS, 2020) ;
- la localité à forte incidence est Béoumi avec les taux d'incidence de 420,18 ‰ en 2019, de 317,77 ‰ en 2020 et 437,29‰ en 2021 (RASS, 2020).

Matériel biologique

Le matériel biologique de l'étude était constitué de moustiques adultes femelles de l'espèce *Anopheles gambiae*. Ces moustiques étaient issus de larves récoltées dans les différents sites de l'étude et ont été obtenus après l'élevage. Dans chaque localité, des souches de moustiques sauvages obtenus par élevage ont servies comme témoins ou contrôle pour toutes les manipulations. Par ailleurs la souche sensible Kisumu, originaire du Kenya a été également élevée pour des tests de sensibilité ainsi que pour les témoins.

Matériel technique

Matériel de collecte et d'élevage des larves d'*Anopheles gambiae* (s.l)

Le matériel de récolte larvaire était composé de louches, cuvettes, sceaux, tamis, pipettes, bocal à fermeture, bacs à fond blanc, couvercles en tulle, croquettes pour chat moulu, gobelets en plastique, cages et solution de miel dilué à 10%.

Matériel utilisé pour les tests de sensibilité des moustiques aux insecticides

Le matériel pour les tests de sensibilité des moustiques aux insecticides était constitué de papiers insecticides préimprégnés aux doses diagnostiques ; de papiers non imprégnés servant de contrôle ; d'un kit de matériel pour tests de sensibilité OMS, d'aspirateurs à bouche, de coton de solution de miel dilué à 10%, d'un chronomètre et fiches de notification des résultats du test. Quatre familles d'insecticides ont été utilisées pour les tests insecticides. Il s'agissait notamment de la deltaméthrine 0,05%, la perméthrine 0,75%, le propoxur 0,1%, la lambdacyalothrine 0,05%, l'alphacyperméthrine 0,05%, le carbamate, la malthion 5%, le pirimiphos-méthyl 0,25% et le DDT 4%.

Matériel d'extraction de l'ADN total et de réalisation de PCR

Le matériel d'extraction de l'ADN était constitué d'amorces, d'éthanol absolu (95-96%), d'eau pure pour PCR (H₂O), de tampon de lyse (NTC), de liquide RNASE-free (eau sans nucléase) et tampon (Tris, KCl, MgCl₂) qui ont servi de réactifs. Le matériel était composé de gants propres, de micropipettes à

différents volumes P10, P20, P100, P200 et P1000, d'un homogénéiseur (vortex), d'une centrifugeuse réfrigérée UNIVERSAL 320 de marque Hittech, de tube de 1,5 ml, de tube PCR, de portoirs, d'un thermocycleur qPCR LigthCycler96 Roche, une clé USB pour la sauvegarde des données de qPCR et un ordinateur muni d'un logiciel LightCycler installé pour la lecture des résultats.

Méthodes

Récolte et élevage des larves d'*Anopheles gambiae* (s.l)

Les larves ont été prélevées dans les gîtes potentiels pendant les prospections de juin 2020 à juin 2021 dans les différents sites d'études. Ces larves ont été collectées à l'aide de louches à manche dans les flaques routières, les rizières, les mares, les bas-fonds ensoleillés et les bacs d'élevages de poissons. Elles ont ensuite été bien conservées dans des bouteilles en plastiques de 1,5 litre et transportées à l'insectarium du Centre d'Entomologie Médicale et Vétérinaire (CEMV) pour l'élevage. Les tests de sensibilité ont été réalisés sur les moustiques femelles adultes d'*Anopheles gambiae* âgés de 03 à 05 jours. La souche « Kisumu » d'*Anopheles gambiae* originaire du Kenya (Yadouleton et al., 2018) a été utilisée comme souche de référence sensible.

Réalisation des tests de sensibilité

Des tests de sensibilité aux insecticides ont été réalisés conformément aux directives de l'OMS en utilisant un kit de test de sensibilité en cônes (Hervé, 2003). Ces moustiques adultes ont été mis en contact avec des papiers imprégnés de neuf insecticides aux doses diagnostiques de l'OMS, l'Université Sains Malaysia (Indonésie). Ces papiers insecticides comprenaient quatre pyréthrinoides (Alphacyperméthrine 0,05%, Lambdacyalothrine 0,05%, Deltaméthine 0,05%, Perméthrine 0,75%), un organochloré (DDT 4%), deux organophosphorés (Pirimiphos-méthyl 0,25%, Malathion 5%) et deux carbamates (Bendiocarb 0,1%, Propoxur 0,1%). Les tests de sensibilité ont été effectués au laboratoire de paludologie du CEMV où la température était maintenue à 25°C avec un taux d'humidité de

70% à 80% en utilisant des femelles à jeun non gorgées âgées de 03 à 05 jours. Quatre lots de 25 moustiques ont été exposés à chaque insecticide pendant une heure aux papiers imprégnés d'insecticides pendant 60 minutes. Après l'exposition, les moustiques ont été transvasés dans des cônes OMS et étaient nourris avec du miel dilué à 10%. Une autre observation était faite après 24 heures afin de notifier les mortalités.

Les taux de mortalité ont été calculés et analysés selon les critères de l'OMS afin de déterminer les populations sensibles et résistantes aux insecticides (OMS, 2017). Les tests non paramétriques de Kolmogorov-Smirnov ont été utilisés pour comparer les mortalités des moustiques issus des villes à forte et à faible incidences du paludisme à un niveau de signification de 5%. Ce test a été réalisé à l'aide du Logiciel STATA 12.

Extraction de l'ADN

Chez chaque moustique, l'ADN génomique a été extrait à l'aide de Bromure de Céthyl Triméthyl Ammonium (CTAB) 2%. Chaque moustique a été écrasé et homogénéisé dans un tube de 1,5 ml contenant 200 µl de tampon CTAB et incubé à 65°C dans un bain-marie pendant 5 minutes. Puis 200 µl de chloroforme ont été ajoutés à l'homogénat, mélangés et centrifugés pendant 5 minutes à 1200 tr/min à 25°C. Le surnageant a été pipeté et mis dans un nouveau tube de 1,5 ml. Un volume de 200 µl d'alcool isopropylique a été ajouté au mélange qui a été centrifugé à 12000 tours pendant 15 minutes. Le nouveau surnageant a été éliminé et le culot d'ADN a été ensuite lavé avec de l'éthanol à 70%, avant d'être séché pendant une nuit à température ambiante et reconstitué dans 20 µl d'eau de biologie moléculaire. Des échantillons d'ADN ont ensuite été utilisés pour l'analyse par qPCR afin d'identifier les espèces d'*Anopheles gambiae* présentes et de détecter les mutations Kdr L1014F et Ace-1^R G119S.

Détection de la mutation Kdr L1014F chez *Anopheles gambiae* (s.l)

La mutation Kdr L1014F est détecté par la réalisation d'une PCR en temps réel (qPCR) (Bass et al., 2007). Deux amorces ont été utilisées pour détection cette mutation. Il

s'agissait des amorces kdr-Forward (5'-CATTTTCTTGG CCACTGTAGTGAT-3') et kdr-Reverse (5'-GATCTTGGTCCATGTAAATTTGCA-3'). Ces amorces ont été marquées avec deux fluorophores distincts : VIC pour détecter l'allèle sensible et FAM pour détecter l'allèle résistant. Les conditions d'expérimentation dans le thermocycleur sont ci-après : 95°C pendant 10 min comme étape initiale de dénaturation du double brin d'ADN, suivie de 45 cycles composés de dénaturation à 95°C pendant 10s, puis une hybridation des amorces à 60°C pendant 45s et une polymérisation à 72°C pendant c'est à vérifier. Les fluorescences FAM et VIC ont été capturées à la fin de de chaque cycle et les génotypes ont été déterminés à partir de la fluorescence du point final grâce au logiciel LightCycler 96.

Détection de la mutation Ace-1^R G119S chez *Anopheles gambiae* (s.l)

La détection de la mutation Ace-1^R conférant la résistance par l'acétylcholinestérase insensible est réalisée chez *Anopheles gambiae* s.l par le test qPCR (Bass et al, 2010). Deux amorces ont été choisies pour la détection de cette mutation. Il s'agissait des amorces Ace-1-Forward (5'-GGCCGTCATGCTGTGGAT-3') et Ace-Reverse (5'-GCGGTGCCGAGTAGA-3'). Ces amorces ont été marquées avec deux fluorophores distincts : VIC pour détecter l'allèle sensible et FAM pour la mise en évidence de l'allèle résistant. Le thermocycleur LightCycler 96 a permis de réaliser le qPCR selon les conditions d'expérimentation ci-après : dénaturation du double brin d'ADN à 95°C pendant 10 min, puis réaliser 55 cycles dont une dénaturation à 92°C pendant 15s, une hybridation des amorces à 60°C pendant 60s et une polymérisation à 72°C pendant c'est à vérifier. Les fluorescences FAM et VIC ont été capturées à la fin de chaque cycle et les génotypes ont été générés à partir de la fluorescence du point final grâce à un logiciel LightCycler96.

Analyse des données

Les taux de mortalité ont été calculés et analysés selon l'échelle de l'OMS (OMS, 2017) pour déterminer les niveaux de sensibilité des populations des moustiques testés. Lorsque la mortalité est inférieure à 90%, la population était résistante ; de 90% à 98% de mortalité la population était suspectée de résistance ; et supérieure à 98%, la population était sensible (OMS, 2017). Les fréquences alléliques résistants aux différents locus Kdr L1014F et Ace-1^R ont été calculés à l'aide du logiciel GENEPOP version 4.6 (Rousset et al., 2008). Quant à la différenciation génotypique, elle a été étudiée à travers le test G de Goudet qui a permis de vérifier l'uniformité de la distribution des génotypes entre les différentes populations (Rousset et al., 2008 ; Sere et al., 2017). L'équilibre de Hardy-Weinberg a été testée et l'écart à la panmixie selon Weir et Cockerham a également été estimé par l'indice Fis de Wright (Sere et al., 2017). Pour vérifier l'impact de la résistance sur l'incidence du paludisme dans les différentes localités, les variables d'intérêt sont des variables quantitatives discontinues et la taille de l'échantillon est inférieure à 30. Les tests qui ont convenus dans ce cas pour comparer deux médianes observées étaient des tests non paramétriques. Nous avons procédé en première instance, par du test de Kolmogorov Smirnov pour vérifier l'hypothèse de normalité. Ensuite, nous avons effectué le test Wilcoxon Mann Withney pour comparer avant et après le nombre de moustiques pour chaque insecticide utilisé à un niveau de signification de 5%. Nous avons également effectué le test de Kruskal-Wallis sur les données de comptage des moustiques avant et après l'utilisation des 9 insecticides. Au décours des décisions, issues des différents tests on était s'intéressé à l'ordre du nombre médian de moustiques dans lequel les neufs (09) insecticides diffèrent qu'ils étaient dans une localité à forte ou faible incidence de paludisme.



Figure 1 : Les sites de l'étude en Côte d'Ivoire.

RÉSULTATS

Tests de sensibilité en tube OMS de la souche Kisumu et des moustiques sauvages

Avec la souche de Kisumu de référence sensible, les taux de mortalité sont de 100% des moustiques exposés aux neufs insecticides notamment le DDT, la perméthrine, la deltaméthrine, l'alphacyperméthrine, la lambdacyalothrine, le pirimiphos-méthyl, le malathion, le propoxur et le bendiocarb sur un total de 788 moustiques exposés à raison d'environ 100 moustiques par insecticide testé.

Sur un total de 2779 femelles sauvages d'*Anopheles gambiae*, 667 ont servi de témoins durant les bio-essais. Les taux de mortalité des témoins enregistrés au cours des tests ont été faibles variant de 1 à 3% de sorte qu'aucune correction d'Abbott n'a été nécessaire.

Ces moustiques sauvages testés ont montré une forte sensibilité avec l'alphacyperméthrine, la lambdacyalothrine et le pirimiphos-méthyl dans les localités à forte et faible incidence du paludisme avec des taux compris entre 98% et 100%. De fortes résistances ont été observées avec le DDT, la

perméthrine, le malathion, le propoxur et le bendiocarb avec des taux de mortalité variant de 36 à 86%. Avec la deltaméthrine, les populations d'*Anopheles gambiae* ont été sensibles dans les localités de Béoumi et Agboville et les taux de mortalité étaient compris entre 98% et 99% contre une résistance marquée à Katiola avec un taux de mortalité de 72% (Tableau 1).

Corrélation entre l'augmentation du niveau de résistance des anophèles et l'augmentation de l'incidence du paludisme

Notre étude a permis de montrer que *Anopheles gambiae* était sensible aux insecticides dans les localités à forte et faible incidence du paludisme de Katiola, Béoumi et Agboville avec le pirimiphos-méthyl (organochloré), l'alphacyperméthrine (pyréthrinolide) et la lambdacyalothrine (pyréthrinolides) avec des taux de mortalité de 98% à 100%. Par contre il y avait une résistance dans les localités à forte et faible incidence avec le DDT, la perméthrine, le malathion, le propoxur et le carbamate. Avec la deltaméthrine, une sensibilité des moustiques dans les localités à forte incidence et une résistance dans les localités à faible incidence. Le test non paramétrique de Kolmogorov Smirnov avait mis en évidence un p-value égal à 0,699 pour chaque insecticide des localités à fortes et faible incidence du paludisme au seuil critique de 5%. La différence des variables n'était pas statistiquement significative donc ne respectait pas la loi gaussienne normale amenant à utiliser un test non paramétrique équivalent par comparaison des variables. Le test de Wilcoxon Man-Whitney a permis de mesurer un p-value égal à 0,3173 pour chaque insecticide dans les localités à forte et faible incidence du paludisme au seuil critique de 5%. Cette différence n'était pas statistiquement significative au seuil critique de 5%. Etant question de mesurer la sensibilité des moustiques dès l'application de l'insecticide quel que soit l'incidence du paludisme dans la localité d'origine, nous avons donc eu recours à un test unilatéral qui était plus puissant. Il s'agissait du Test de Kruskal-Wallis. La valeur du p-value était égale à 0,0242 pour chaque

insecticide dans les localités à forte et faible incidence du paludisme au seuil critique de 5%. Cette différence n'était pas statistiquement significative. On a accepté alors l'hypothèse nulle selon laquelle la sensibilité des moustiques aux insecticides ne différait pas en fonction de l'incidence du paludisme. On a conclu donc qu'il n'y avait pas de différence significative entre l'incidence du paludisme et la sensibilité des moustiques aux insecticides utilisés, avec un risque d'erreur de 5% (Tableau 2).

Mécanismes de résistance aux insecticides par mutation de la cible

Distribution des fréquences alléliques aux locus Kdr L1014F et Ace-1^R G119S

Deux cent quatre-vingt-dix-neuf (299) moustiques sauvages d'*Anopheles gambiae* ont été testés pour rechercher les fréquences des mutations L1014F et G119S dans les sites d'études indiqués dans le Tableau 3. Les fréquences des mutations L1014F ont été modérées dans toutes les localités, à Agboville, Katiola et Béoumi avec respectivement 0,68 ; 0,66 et 0,63. Quant aux fréquences des mutations G119S, elles ont été modérées à Agboville avec 0,45 et faibles à Katiola et Béoumi avec respectivement 0,16 et 0,14.

Equilibre de Hardy-Weinberg et différenciation génotypique aux locus Kdr L1014F et Ace-1^R G119S

Au Locus Kdr

Les populations d'*Anopheles gambiae* de tous les sites d'étude étaient à l'équilibre de Hardy-Weinberg avec respectivement P(HW) respectivement à 0,8210 ; 0,4899 et 1,0000 avec un p-value >0,05. L'indice Fis de Wright qui mesurait l'écart à la panmixie montre qu'il y avait un excès d'hétérozygotes au niveau des populations de moustiques de Béoumi au locus Kdr L1014F avec un Fis à -0,0089 qui est négatif (Fis (W&C) < 0) alors que la mesure de la panmixie est normale dans les populations de moustiques de Katiola et d'Agboville avec respectivement un Fis à 0,0859 et 0,0350.

Les tests de différenciation génotypique ne montraient pas de différence significative entre les populations d'Agboville et celles de

Katiola ($p(dG)=0,757$) ; entre les populations de moustiques de Béoumi et d'Agboville ($p(dG)=0,603$) et entre les populations de moustiques de Katiola et Béoumi ($p(dG)=0,412$) qui enregistrait un p-value supérieur à 0,05. Par conséquent, il n'existait pas de différence significative entre les mutations au locus Kdr L1014F des localités à forte incidence (Béoumi) et faibles incidences (Agboville et Katiola)

Au Locus Ace-1^R

Les populations d'*Anopheles gambiae* des localités de Katiola et Béoumi étaient l'équilibre de Hardy-Weinberg avec respectivement $P(HW)= 0,4541$ et $P(HW)= 0,1199$ devant à p-value $>0,05$) tandis que les populations de moustiques d'Agboville ont enregistré un $P(HW) =0,0000$ confirmant que ces dernières et n'étaient donc pas à l'équilibre de Hardy-Weinberg avec p-value $<0,05$.

L'indice Fis de Wright mesurant l'écart à la panmixie montrait qu'il y avait un excès d'hétérozygote au niveau des populations de moustiques de Katiola et d'Agboville au locus Ace-1^R avec des valeurs de Fis négatives mettant en évidence respectivement un Fis égal à -0,1111 et Fis égal à -0,6092 comparés à Fis ($W\&C$) < 0

Les tests de différenciation génotypiques ne montraient pas de différence significative entre les populations de Béoumi et Katiola ($pdG=0,78197$) ; entre Béoumi et Agboville ($pdG=0,60321$) avec p-value supérieur à 0,005. Par contre, ces tests de différenciation montrent une différence significative entre les populations de moustiques d'Agboville et Katiola avec $pgG=0,0000$ comparé à la valeur critique $pdG<0,05$).

Tableau 1 : Pourcentage de mortalité d'*Anopheles gambiae* sauvages par insecticide dans les localités de l'étude en Côte d'Ivoire.

	Béoumi (forte incidence)		Katiola (forte incidence)		Agboville (faible incidence)	
	N	mortalité (%)	N	mortalité (%)	N	mortalité (%)
DDT 4% (Organochlorés)	102	36 (R)	100	42 (R)	106	57 (R)
Permethrine 0,75% (Pyréthrinoides)	103	63 (R)	103	53 (R)	105	74 (R)
Deltaméthrine 0,05% (Pyréthrinoides)	101	98 (S)	100	72 (R)	109	99 (S)
Alpha-cyperméthrine 0,05% (Pyréthrinoides)	102	98 (S)	101	98 (S)	106	98 (S)
Lambdacyalothrine 0,05% (Pyréthrinoides)	101	98 (S)	100	99 (S)	106	98 (S)
Pirimiphos-méthyl 0,25% (Organophosphorés)	102	100 (S)	100	100 (S)	101	100 (S)
Malathion 5% (Organophosphorés)	102	81 (R)	100	71 (R)	102	87 (R)
Propoxur 0,1% (Carbamates)	102	38 (R)	101	52 (R)	110	86 (R)
Bendiocarb 0,1% (Carbamates)	101	52 (R)	103	46 (R)	105	70 (R)

S= Sensible ; R= Résistant ; N = Effectif de moustiques sauvages d'*Anopheles gambiae*

Tableau 2 : Sensibilité cumulé d'*Anopheles gambiae* aux insecticides selon l'incidence du paludisme dans les localités de Katiola, Béoumi et Dabakala.

Insecticide	Niveau d'incidence du paludisme	Effectif cumulé de moustiques testés	Taux de mortalité cumulé des moustiques	Statut sensibilité / résistance
DDT 4%	forte	106	57%	Résistant (R)
	faible	202	39%	Résistant (R)
Perméthrine 0,75%	forte	105	74%	Résistant (R)
	faible	206	58%	Résistant (R)
Deltaméthrine 0,05%	forte	109	99%	Sensible (S)
	faible	201	85%	Résistant (R)
Alpha-cyperméthrine 0,05%	forte	106	98%	Sensible (S)
	faible	203	98%	Sensible (S)
Lambdacyalothrine 0,05%	forte	106	98%	Sensible (S)
	faible	201	99%	Sensible (S)
Pirimiphos-méthyl 0,25%	forte	101	100%	Sensible (S)
	faible	202	100%	Sensible (S)
Malathion 5%	forte	102	87%	Résistant (R)
	faible	202	76%	Résistant (R)
Propoxur 0,1%	forte	110	86%	Résistant (R)
	faible	203	0,45	Résistant (R)
Bendiocarb 0,1%	forte	105	7%	Résistant (R)
	faible	204	49%	Résistant (R)

S=Sensible ; R=Résistant ; p-value=0,699 pour le test de (Kolmogorov Smirnov) pour chaque insecticide utilisé au seuil critique de 5% n'est pas statistiquement significative ; p-value=0,3173 (Wilcoxon Man-Withney) pour chaque insecticide au seuil critique de 5% n'est pas statistiquement significative au seuil critique de 5%. Avec le Test de Kruskal-Wallis, p-value=0,0242 pour chaque insecticide au seuil critique de 5% n'est pas statistiquement significatif.

DISCUSSION

La résistance des anophèles aux insecticides a été observée à des degrés variables. La plupart des moustiques étaient sensibles aux pyréthrinoides. Par contre les moustiques étaient résistants à la perméthrine et la deltaméthrine dans ces localités. Les moustiques étaient sensibles à la deltaméthrine

et résistants au DDT, au Propoxur et au Bendiocarb et au Malathion dans les localités d'Agboville, de Katiola et de Béoumi. Par ailleurs, il a été noté une résistance des anophèles à la deltaméthrine à Katiola et des sensibilités à ce même insecticide à Agboville et Béoumi. Ainsi ces fortes résistances d'*Anopheles gambiae* observées avec ces

insecticides corroborent avec certains travaux réalisés à Korhogo nord et à Jacquerville et Tiassalé, deux localités à fortes incidences du paludisme et Toumodi et Adzopé, deux localités à faibles incidence du paludisme sud de la Côte d'Ivoire (Camara et al., 2018 ; Koné et al., 2022 ; Kouassi et al., 2020). Avec les autres insecticides notamment le primiphos-méthyl, l'alphacyperméthrine et la lambdacyalorthrine, il y avait une forte sensibilité. Ainsi nos résultats sont similaires à ceux rapportés relativement à l'évaluation de l'efficacité de l'alphacyperméthrine dans le cadre de son utilisation pour imprégner les moustiquaires de la campagne de masse en 2021 (Bass et al., 2007 ; Alignon et al., 2010 ; Tia et al., 2017). Avec le DDT et les carbamates, toutes les populations ont été résistantes. Cette résistance au DDT serait due à la pression de sélection antérieure par son utilisation intempestive dans l'agriculture et santé publique lors des épandages au cours de la lutte contre les vecteurs en Afrique de l'ouest (Tia et al., 2006 ; Yadouleton et al., 2018). La forte résistance du DDT dans la nature pourrait persister pendant plusieurs décennies encore après 50 années de pression sélective (Hien et al., 2017 ; Yadouleton et al., 2018.). Par contre, avec les organophosphorés, les moustiques étaient sensibles au pirimiphos-méthyl 0,25% dans toutes les localités à savoir Agboville, Katiola et Béoumi et résistantes au propoxur 0,1% et au bendiocarb 0,1%. Ces résultats étaient superposables à ceux observés au Cameroun (Binyang et al., 2022). La sensibilité des moustiques au pirimiphos-méthyl seraient due à sa faible rémanence dans l'environnement. Cet insecticide pourrait constituer une alternative dans la lutte antivectorielle. La résistance à ces insecticides a été déjà mise en évidence dans plusieurs travaux (Yadouleton et al., 2018). Ces résistances enregistrées pourraient être dues non seulement à la localisation de nos sites d'études en zones agricoles où les populations pratiquent la riziculture, les maraîchères, la pisciculture, la culture du coton et d'anacarde. L'utilisation intempestive d'insecticides en agriculture et les ménages serait impliquée dans la résistance croissante des moustiques du

paludisme (Koffi et al., 2023 ; Yadouleton et al., 2018). En effet, plusieurs travaux menés en Côte d'Ivoire ont mis en évidence l'utilisation intempestive et la méconnaissance des principes actifs d'insecticides contre les ravageurs des cultures mais aussi les moustiques de paludisme ; et cela constitue un facteur de sélection d'insectes résistants chez les ravageurs et les moustiques du paludisme (Tia et al., 2006 ; Touré et al., 2008). Ces pratiques traditionnelles paysannes en matière d'utilisation des insecticides constituaient un facteur de sélection d'insectes résistants non seulement au niveau des de cultures mais aussi chez les moustiques du paludisme (Antonio-Nkondjio et al., 2011 ; Djegbe et al., 2017 ; Yadouleton et al., 2018).

Toutefois, pour un insecticide donné, les niveaux de résistance des populations de moustiques testés sont identiques quelques soit le statut d'incidence forte ou faible, sauf avec la deltaméthrine 0,05%.

Les résultats obtenus par PCR ont mis en évidence la présence de mutations de la cible à savoir Kdr L1014F et Ace-1^R G119S dans les populations sauvages d'*Anopheles gambiae sl* dans les sites d'études. La mutation Kdr L1014F conférant la résistance croisée aux pyréthriinoïdes et au DDT a été modérée dans toutes les localités, à Agboville, Katiola et Béoumi avec respectivement 0,68 ; 0,66 et 0,63. Des fréquences modérées ont été observées à Danané, Sakassou et Yamoussoukro et dans plusieurs localités de la Côte d'Ivoire (Tia et al., 2008 ; Touré et al., 2017 ; Koné et al., 2022). En outre, le nombre élevé d'homozygote corrobore avec les valeurs de Fis (W&C) qui montrent un déficit d'hétérozygotes à Agboville et Katiola. Par contre à ce locus L1014F, il a été observé un excès d'hétérozygote à Béoumi. Les fréquences des mutations Ace-1^R étaient faibles à Béoumi et Katiola avec respectivement 0,14 et 0,16. Par contre, la fréquence de la mutation Ace-1^R était modérée à Agboville avec 0,45. Cela corrobore les tests de bio-essais mettant en évidence un faible niveau de mécanisme de résistance aux organophosphorés à Béoumi, Katiola et Agboville. Ce faible nombre d'homozygotes a

été enregistré en Côte d'Ivoire dans plusieurs travaux (Ahou-Alou et al., 2012 ; Czeher et al., 2008 ; Hervé, 2003). En dehors de Béoumi, les valeurs négatives de Fis (W&C) dans cette étude indiquent un excès d'individus hétérozygotes au locus Ace-1^R, ce qui pourrait avoir un impact sur les niveaux de résistance aux insecticides. Par ailleurs, la quasi-totalité des populations de nos sites d'études étaient à l'équilibre de Hardy-Weinberg au locus Ace-1^R G119S traduisant des échanges alléliques équilibrées entre les populations sauvages d'*Anopheles gambiae s.l* étudiées.

Le Test de Kruskal-Wallis a mesuré un p-value est égale à 0,0242 pour chaque insecticide dans les localités à forte et faible incidence du paludisme au seuil critique de 5%. Cette différence n'était pas statistiquement significative. En formulant l'hypothèse nulle selon laquelle la sensibilité des moustiques aux insecticides ne différait pas en fonction de l'incidence du paludisme, on conclut donc qu'il n'y avait pas de différence significative entre l'incidence du paludisme et la sensibilité des moustiques aux insecticides utilisés avec un risque d'erreur de 5%. On ne pouvait pas accepter l'hypothèse nulle selon laquelle la sensibilité des moustiques aux insecticides ne différait pas en fonction de l'incidence du paludisme. On a conclu donc que l'incidence forte dans une localité ou district sanitaire n'était pas liée à la résistance des moustiques du paludisme aux insecticides ; mais serait due à la pression de sélection de cet insecticide dans cette localité qu'elle soit à forte incidence ou faible incidence du fait de son utilisation intempestive en agriculture et en santé publique favorable à la mise en place de tous moyens de résistance aux moustiques aux insecticides par des méthodes physiques, par des mécanismes biochimiques ou génétiques. Nos résultats corroboraient les travaux de Koné (Koné et al., 2022) qui ont mise en évidence des résistances aux insecticides dans les localités de Adzopé et Toumodi, deux localités à faibles incidences du paludisme et également des sensibilités aux insecticides dans des localités à forte incidence notamment à Jacqueline et Tiassalé.

Conclusion

Les populations sauvages d'*Anopheles gambiae s.l* étaient résistantes à presque toutes les quatre familles d'insecticides sauf à un organophosphoré, le pirimiphos-méthyl et à certains pyréthrinoïdes notamment l'alpha cyperméthrine, la lambda-cyhalothrine et la deltaméthrine partiellement. Ces insecticides peuvent être utilisés comme alternative dans la lutte antivectorielle. Cette étude a permis de confirmer la résistance d'*Anopheles gambiae* au DDT, au bendiocarb, au propoxur et au malathion dans toutes les localités à faible et forte incidences du paludisme. Par ailleurs, *Anopheles gambiae* est sensible à la deltaméthrine, la lambda-cyhalothrine, l'alpha cyperméthrine et au pirimiphos-méthyl. Ils peuvent donc être utilisés comme alternative de lutte antivectorielle comme l'imprégnation de moustiquaires. Les mutations ponctuelles de la cible Kdr L1014F et Ace-1^RG119S ont été retrouvées dans les trois localités d'études. Leurs fréquences étaient faibles pour les mutations Ace-1^R qui constituent une et devra être pris en compte pour les nouvelles stratégies antivectorielle contre le paludisme en Côte d'Ivoire. Au terme de notre étude, nous avons conclu que l'augmentation du niveau de résistance d'*Anopheles gambiae* à un insecticide bien donné n'induisait pas une forte incidence du paludisme dans cette localité.

CONFLITS D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont pas de conflits d'intérêts.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

MT : Il a contribué à formuler la méthodologie et a apporté tous le matériels et consommables nécessaires pour la réalisation des travaux. KSPL : C'est le réalisateur sur le terrain des travaux et a proposé le draft du manuscrit. SK : Il est l'aide terrain de KSPL et a contribué à apporter son aide au cours des travaux de biologie moléculaire. YGY : Il a corrigé le manuscrit en étoffant le volet des discussions.

REMERCIEMENTS

Nous sommes reconnaissants à tous les enseignants chercheurs et chercheurs du Centre d'Entomologie Médicale et Vétérinaire (CEMV) Côte d'Ivoire qui ont contribué à la réalisation de cette étude.

RÉFÉRENCES

- Ahoua Alou LP, Koffi AA, Adja AM, Assi SB, Kouassi PK, N'guessan R. 2012. Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* s.s. M form prior to the scaling up of long-lasting insecticidal nets (LLINs) in Adzopé, eastern cote d'Ivoire. *Parasites & Vectors*, **5**: 289. DOI: 10.1186/1756-3305-5-289
- Aligon D, Bonneau J, Garcia J, Gomez D, Le Goff D. 2010. Estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés, les organophosphorés et les pyréthrinoides. Mémoire, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique de Rennes, Rennes, p78.
- Antonio-Nkondjio C, Fossog BT, Ndo C, Djantio BM, Togouet SZ, Awono-Ambene P, Costantini C, Wondji CS, Ranson H. 2011. Répartition d'*Anopheles gambiae* et résistance aux insecticides dans les villes de Douala et Yaoundé (Cameroun) : influence de l'agriculture urbaine et pollution. *Malar. Journal*, **10**: 154. DOI: doi.org/10.1186/1475-2875-10-154
- Bass C, Nikou D, Donnelly MJ, Williamson MS, Ranson H, Ball A, Vontas J, Field LM. 2007. Detection of knockdown resistance (kdr) mutations in *Anopheles gambiae* : a comparison of two new high-throughput assays with existing methods. *Malaria Journal*, **6**: 111. DOI: doi.org/10.1186/1475-2875-6-111
- Bass C, Nikou D, Vontas J, Williamson MS, Field LM. 2010. Development of high-throughput realtime PCR assays for the identification of insensitive acetylcholinesterase (Ace-1^R) in *Anopheles gambiae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **2**: 96. DOI: doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.09.004
- Binyang AJ, Ndille EE, Fossog BT, Ndo C, Nouage L, Assatse T, Toguem YF, Tabue R, Zeukeng F, Nguifo DN, Etang J, Njiokou F, Wondji CS. 2022. Distribution of acetylcholinesterase (Ace1^R) target-site G119S mutation and resistance to carbamates and organophosphates in *Anopheles gambiae* sensu lato populations from Cameroon. *Parasites & Vectors*, **15**: 53. DOI: doi.org/10.1186/s13071-022-05174-1
- Camara S, Koffi, AA. Ahoua-Alou LP, Koffi K, Kabran JK, Koné A, Koffi MF, N'guessan R, Penetier C. 2018. Mapping insecticide resistance in *Anopheles gambiae* (s.l.) from Cote d'Ivoire. *Parasites Vectors*, **11**: 19. DOI: 10.1186/s13071-017-2546-1
- Czeher C, Labbo R, Arzika I, Duchemin JB. 2008. Preuve de l'augmentation de la mutation de résistance knockdown Leu-Phe chez *Anopheles gambiae* du Niger suite à la mise en place de moustiquaires imprégnées d'insecticide de longue durée à l'échelle nationale. *Malaria Journal*, **7**: 189. DOI: 10.1186/1475-2875-7-189
- Djegbe I, Missihoun AA, Djouaka R, Akogbeto M. 2017. Surveillance Entomologique : Dynamique de la population et de la résistance aux insecticides chez *Anopheles gambiae* s.l en milieu de riziculture irriguée au Sud Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, **111**: 10934-10943 DOI: dx.doi.org/104314/jab.v11i1.10
- Djenontin A, Bio-Bangana S, Moiroux N, Henry M, Bousari O, Chabi J, Osse R, Koudenoukpo S, Corbel V, Akogbeto M, Chandre F. 2010. Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vector in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa) : a pre-intervention study. *Parasites & Vectors*, **3**: 83. DOI: doi.org/10.1186/1756-3305-3-83
- Hervé JP. 2003. Méthodes d'évaluation des densités de population d'*Aedes aegypti*. In : La dengue dans les départements Français d'Amérique, Edition IRD, Collection Expertise Collégiale, Paris.

- Hien AS, Soma DD, Hema O, Bayili B, Namountougou M, Gnankine O, Baldet T, Diabaté A, Dabire KR. 2017. Evidence that agricultural use of pesticides selects pyrethroid resistance within *Anopheles gambiae* s.l. populations from cotton growing areas in Burkina Faso. *West Africa. PloS One*, **12**: 3. DOI: doi.org/10.1371/journal.pone.0173098
- Koffi AA, Ahoua Alou LP, Adja AM, Chandre F, Pennetier C. 2013. Insecticide resistance status of *Anopheles gambiae* s.s. population from M'Be : WHOPES-labelled experimental hut station, 10 years after the political crisis in Côte d'Ivoire. *Malaria Journal*, **12** : 151. DOI: 10.1186/1475-2875-12-151.
- Koné S, Touré M, Yapi GY, Loukou KSP. 2022. Impact of Resistance to Pyrethroids on the Incidence of Malaria into *Anopheles gambiae* (Giles, 1902) in the Southern Forest Area in Côte d'Ivoire. *International Journal of Science and Research*, **11** : 417. DOI : 10.21275/SR22305003253ISSN:2319-7064
- Kouassi BL, Edi C, Tia E, Konan LY, Akre MA, Koffi AA, Ouattara F, Tanoh AM, Zinzindohoue P, Kouadio B, Mckenzie A, Irish SR. 2020. Armistead J, Dengela D, Cissé NG, Flatley C, Chabi J. Susceptibility of *Anopheles gambiae* from Côte d'Ivoire to insecticides used on insecticide-treated nets : evaluating the additional entomological impact of piperonyl butoxide and chlorfenapyr. *Malaria Journal*, **19** : 454. DOI: doi.org/10.1186/s12936-020-03523-y
- Louise A, Kelly-Hope L, Ellis MF. 2009. The multiplicity of malaria transmission: a review of entomological inoculation rate measurements and methods across sub-Saharan Africa. *Malaria Journal*, **8** : 19. DOI: 10.1186/1475-2875
- OMS. 2023. Conseils actualisés en matière de vaccination, Communiqué de presse d'octobre 2023, Genève.
- OMS. 2021. Ligne directrices de l'OMS sur le paludisme 2021, Genève.
- OMS. 2022. Rapport sur le Paludisme dans le monde, Genève.
- OMS. 2017. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes., Second edition, Genève
- PSN. 2022. Plan Stratégique National de Lutte contre le Paludisme (PSN) 2022-20225, Abidjan.
- RASS. 2020: Rapport annuel de la situation sanitaire Côte d'Ivoire RASS 2020, Abidjan.
- Rousset F.2008. Genepop'007, A complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* **8**. DOI : 10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x.
- Sadia-Kacou CMA, Ahoua Alou LP, Edi AVC, Yobo MC, Adja AM, Chandre F, Ouattara A, Malone D, Koffi AA, Tano Y, Koudou GB. 2017. Presence of susceptible wild strains of *Anopheles gambiae* in a large industrial palm farm located in Aboisso, South-Eastern of Côte d'Ivoire. *Malaria Journal*, **16** :157, DOI : 10.1186/s12936-017-1804-1
- Sere M, Thevenon S, Belem AMG, De Meeus T. 2017. Comparison of different genetic distances to test isolation by distance between populations. *Heredity*, **2** :119. DOI :10.1038/hdy.2017.26.
- Tia E, Akogbeto M, Koffi A, Touré M, Adja AM, Moussa K, Yao T, Carnevale P, Chandre E. 2006. Pyrethroid and DDT resistance of *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera : Culicidae) in five agricultural ecosystems from Côte d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot*, **4** : 99. DOI: 10.1007/s13149-011-0176-y
- Tia E. Chouaibou M, Gbalegba CNG, Boby AMO, Koné M, Kadjo AK. 2017. Distribution des espèces et de la fréquence du gène Kdr chez les populations d'*Anopheles gambiae* s.s. et d'*Anopheles coluzzii* dans cinq sites agricoles de la Côte d'Ivoire. *Société de Pathologie Exotique*, **110**: 134. DOI: doi.org/10.1007/s13149-017-0554-1
- Tia E. 2008. Situation de la résistance d'*Anopheles gambiae*, vecteur majeur du paludisme, aux pyréthrinoides dans cinq

- écosystèmes agricoles en Côte d'Ivoire, thèse unique, Université de Cocody, Abidjan
- Weill M, Lutfalla G, Mogensen K, Chandre F, Berthomieu A, Berticat C, Pasteur N, Philip A, Fort P, Raymond M. 2003. Insecticide resistance in mosquito vectors. *Nature*, **423**: 136-137.
- Weill M, Malcolm C, Chandre F, Mogensen K, Berthomieu A, Marquine M, Raymond M. 2004. The unique mutation inace-1giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect Molecular Biology*, **1**: 13. DOI: 10.1111/j.1365-2583.2004.00452.x.
- Yadouleton A, Agbanrin R, Chabi C, Tchiboza C, Ahissou F, Houndeton, Sidick GA, Akogbeto M. 2018. Contribution de l'agriculture dans la sélection et la distribution de la résistance d'*Anopheles gambiae* (Diptera Culicidae) aux insecticides le long du Transect sud-nord en république du Benin. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*, **7**: 57. DOI: 10.19044/esj.2018.v14n33p134
- Yadouleton A, Klotoe JR, Agbanrin R, Ahissou F, Houndeton, Tossou R, Agolinou A, Akogbeto M. 2018. Contrôle de qualité des rideaux imprégnés à la bifenthrine en vue de leur utilisation et vulgarisation au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **12**(5): 2044-2052. DOI: dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v12i5.7
- Yadouleton A, Asidi A, Djouaka RF, Braïma J, Agossou CD, Akogbeto MC. 2009. Development of vegetable farming: a cause of the emergence of insecticide resistance in populations of *Anopheles gambiae* in urban areas of Benin. *Malaria Journal*, **8**: 103. DOI: 10.1186/1475-2875-8-103.
- Zoh DD, Ahoua-Alou LP, Touré M, Penner C, Camara S, Traoré DF, Koffi AA, Akré AM Ahoua Yapi A, Chandre F. 2018. The current insecticide resistance status of *Anopheles gambiae* (s.l.) (Culicidae) in rural and urban areas of Bouaké, Côte d'Ivoire. *Parasites & Vectors*, **11**: 118. DOI: 10.1186/s13071-018-2702-2.