



**UNIVERSITE
D'ABOMEY-CALAVI**

**ECOLE DOCTORALE
PLURIDISCIPLINAIRE**

«Espaces, Cultures et Développement »

**CHAIRE UNESCO DE SCIENCE,
TECHNOLOGIE ET ENVIRONNEMENT**

THESE présentée par :

Abdoul-Sahabi BIO BANGANA

Soutenue le 26 février 2013

Sous le n° 124

Pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université d'Abomey-Calavi**

Discipline : Géographie et Gestion de l'environnement

Spécialité : Environnement Santé et Développement

**DETERMINANTS ENVIRONNEMENTAUX DE LA REPARTITION SPATIALE DES VECTEURS
DU PALUDISME ET AUTRES MOUSTIQUES DANS LA ZONE SANITAIRE OUIDAH-
KPOMASSE-TORI BOSSITO**

THESE dirigée par :

Directeur : Monsieur Martin C. AKOGBETO, Professeur Titulaire des Universités à
l' Université d'Abomey Calavi (UAC)

Co-Directeur : Monsieur Christophe S. HOUSSOU, Professeur Titulaire des Universités à
l'UAC

JURY :

Président : **BOKO Michel**, Professeur Titulaire des Universités, UAC

Rapporteurs : **AKOGBETO C. Martin**, Professeur Titulaire des Universités, UAC
HOUSSOU S. Christophe, Professeur Titulaire des Universités, UAC

Examineurs :

TRAORE Sékou F, Professeur Titulaire des Universités, Université de Bamako

MAKOUTODE Michel, Professeur Titulaire des Universités, IRSP, UAC

GLELE KAKAÏ Romain, Maître de Conférences des Universités, FSA, UAC

Mention : Très Honorable avec les félicitations du jury

SOMMAIRE	PAGES
Liste des abréviations	3
Liste des figures	5
Liste des photos	8
Liste des tableaux	9
Résumé	10
Abstract	11
Dédicace	12
Remerciements	13
Introduction générale	15
Première partie : cadrage thématique, démarche scientifique et méthode	24
<i>Chapitre I : état de la question, définition du champ conceptuel et positionnement scientifique</i>	25
<i>Chapitre II : généralités sur les moustiques et les maladies vectorielles</i>	46
<i>Chapitre III : zone d'étude et approche méthodologique</i>	60
Deuxième partie : Résultats et Discussion	95
<i>Chapitre IV: Caractérisation de la faune culicidiène et répartition des vecteurs</i>	97
<i>Chapitre V: Paramètres environnementaux et répartition spatiale des moustiques vecteurs : une relation à formaliser</i>	119
<i>Chapitre VI : Discussion, conclusion générale et suggestions</i>	139
Bibliographie	153
Annexes	166
Table des matières	174

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARN	Acide Ribonucléique
ASECNA	Agence pour la Sécurité de la Navigation Aérienne
AVHRR	Advanced Very High Resolution Radiometer
BDOT	Base de Données sur l'Occupation des terres
BNDT	Banque National de Données Topographique
Bti	<i>Bacillus thuringiensis var. israelensis</i>
Bs	<i>Bacillus sphaericus</i>
CNLP	Centre National de Lutte contre le Paludisme
CIRAD	Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
CIT	Convergence Intertropicale
CNES	Centre National d'Etudes Spatiales
CREC	Centre de Recherche Entomologique de Cotonou
CRDI	Centre International de Recherche sur le Développement
CTA	Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine
CRU	Climate Research Unit
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
EID	Entente Interdépartementale pour la Démoustication
ESRI	Environmental Systems Research Institute Inc
ETM+	Enhanced Thematic Mapper Plus
ETP	Evapotranspiration
FAO	Food Alimentary Organization
FIT	Front intertropical
GIS	Geographic Information System
GPS	Global Positioning System
IBC	Interventions à Base Communautaire
IDW	Inverse Distance Weigthing
INSD	Institut National de Statistique et de la Démographie
IRD	Institut de Recherche pour le Développement
ISO	International Organization for Standardization

LISA	Local Indices for Spatial Association
LIV	Lutte Intégrée contre les Vecteurs
LocClim	
Local Climate	LocClim Local Climate
LPI	Local polynomial interpolation
MCD	Modèle Conceptuel de Données
MCT	Modèle Conceptuel de Traitement
MILD	Moustiquaire Imprégnée à Longue Durée d'action
MS	Ministère de la Santé
MTI	Moustiquaires Traitées aux Insecticides
NDVI	Normalized Difference Vegetation Index
NIH	National Institute of Health
NOAA	National Oceanic and Atmospheric Administration
OCEAC	Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale
OMD	Objectifs du Millénaire pour le Développement
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	Polymerized Chain Reaction
PDC	Plan de Développement Communal
PNLP	Programme National de Lutte contre le Paludisme
RBF	Radial Basic Fonction
REFS	Recherche en Entomologie Formation et Stratégies de Préventions
SIG	Système d'Information Géographique
SDAC	Schéma Directeur d'Aménagement des Communes
SNIS	Système National d'Information Sanitaire
SPOT	Satellite pour l'Observation de la Terre
TM	Thematic Mapper
TIE	Taux d'Inoculation Entomologique
TPI	Traitement Préventif Intermittent
USGS	United States Geological Service
UTM	Universal Transverse Mercator
WHO	World Health Organization

LISTE DES FIGURES

N°	TITRE	PAGES
FIGURE 1	La place de la télédétection dans la recherche (Bédard, 1995)	36
FIGURE 2	Cycle de développement d'un plasmodium : l'homme est l'hôte intermédiaire et l'Anophèles est l'hôte définitif (WHO, 2009)	49
FIGURE 3	Différences entre moustiques anophélinés et culicinés	51
FIGURE 4	Cycle de développement d'un Anopheles	54
FIGURE 5	Carte administrative de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito	60
FIGURE 6	Carte de relief de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito	63
FIGURE 7	Carte pédologique de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito	63
FIGURE 8	Carte pluviométrique de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito	65
FIGURE 9	Carte de la variation thermique dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito	65
FIGURE 10	Carte hydrographique de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito	67
FIGURE 11	Carte de végétation de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito	69
FIGURE 12	Diagramme d'Ishikawa des facteurs environnementaux influençant les fréquences de moustiques vecteurs de maladie	70
FIGURE 13	Variogramme et fonction de régression pour l'interpolation des nombres de jours de pluie	82
FIGURE 14	Carte de variation du nombre de jour de pluie	83
FIGURE 15	Variogramme et fonction de régression pour l'interpolation des précipitations sur les 17 missions entomologiques	83
FIGURE 16	Répartition des précipitations sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude	84
FIGURE 17	Fonction de régression de l'interpolation des températures moyennes sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude	84

FIGURE 18	Répartition des températures moyennes sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude	85
FIGURE 19	Variogramme et droite de régression de l'interpolation de l'humidité relative moyenne dans la zone d'étude	86
FIGURE 20	Répartition de l'humidité relative moyenne sur les 17 missions entomologiques dans la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito	86
FIGURE 21	Droite de régression des pressions atmosphériques moyennes sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude	87
FIGURE 22	Répartition des pressions atmosphériques moyennes sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude	88
FIGURE 23	Droite de régression de la visibilité moyenne sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude	89
FIGURE 24	Répartition de la visibilité moyenne sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude	89
FIGURE 25	Droite de régression de la vitesse moyenne du vent (2007-2009)	90
FIGURE 26	Répartition des vitesses moyennes des vents (2007-2009)	90
FIGURE 27	Droite de régression des altitudes dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito	91
FIGURE 28	Répartition des distances des localités par rapport aux plans d'eau douce dans la zone d'étude	92
FIGURE 29	Répartition des distances des localités par rapport aux plans d'eau saumâtre dans la zone d'étude	93
FIGURE 30	Répartition des gîtes larvaires de moustiques en fonction du genre	101
FIGURE 31	Répartition des gîtes larvaires en fonction de la durée de leur mise en eau	102
FIGURE 32	Préférences écologiques des larves d'Aedes en fonction de la durée de mise en eau des gîtes	103
FIGURE 33	Typologie des gîtes larvaires à Aedes	103
FIGURE 34	Préférences écologiques des larves d'Anopheles en fonction de la durée de mise en eau des gîtes	104
FIGURE 35	Typologie des gîtes larvaires à Anopheles	105
FIGURE 36	préférences écologiques des larves de Culex en fonction de la durée de mise en eau des gîtes	105

FIGURE 37	Typologie des gîtes larvaires à <i>Culex</i>	106
FIGURE 38	Préférences écologiques des larves de <i>Mansonia</i> en fonction de la durée de mise en eau des gîtes	106
FIGURE 39	Typologie des gîtes larvaires à <i>Mansonia</i>	107
FIGURE 40	Dynamique des gîtes larvaires à moustiques	108
FIGURE 41	Statistiques générales sur les moustiques adultes	109
FIGURE 42	Statistiques sur les moustiques vecteurs retenus	110
FIGURE 43	Répartition spatiale de <i>An. gambiae</i>	111
FIGURE 44	Répartition spatiale de <i>Anopheles funestus</i>	113
FIGURE 45	Répartition spatiale de <i>Cx. quinquefasciatus</i>	115
FIGURE 46	Répartition spatiale de <i>Ae. aegypti</i>	117
FIGURE 47	Prédiction de la distribution spatiale des pourcentages d' <i>An. funestus</i> .	133
FIGURE 48	Prédiction de la distribution spatiale du pourcentage de <i>An. gambiae</i>	134
FIGURE 49	Prédiction de la distribution spatiale des pourcentages relatifs de <i>Cx. quinquefasciatus</i>	135
FIGURE 50	Prédiction de la distribution spatiale des pourcentages relatifs de <i>Ae. aegypti</i>	136
FIGURE 51	Corrélation entre fréquence d' <i>Anopheles</i> capturée et l'incidence palustre d'octobre 2007 à décembre 2009 dans sept localités de la zone d'étude	137

LISTE DES PHOTOS

N°	TITRE	PAGE
PHOTO 1	Végétation favorable au repos des moustiques exophiles à Tanto dans la commune de Tori Bossito (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008)	55
PHOTO 2	Habitat favorable au repos des moustiques endophiles à Abénihoué dans la commune de Kpomassè (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008)	55
PHOTO 3	Habitat favorable aux larves de <i>An. gambiae</i> à Abénihoué dans la commune de Kpomassè (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008).	56
PHOTO 4	Habitat favorable aux larves de <i>An. funestus</i> à Kpagoudin dans la commune de Ouidah (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008).	56
PHOTO 5	Habitat favorable aux larves de <i>Cx. quinquefasciatus</i> à Hinmadou dans la commune de Kpomassè (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008).	57
PHOTO 6	Habitat favorable au développement des larves de <i>Ae. aegypti</i> à Tokoli dans la commune de Tori Bossito (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008).	57
PHOTO 7	Habitat favorable au développement des larves de <i>Ma. africana</i> à Hla dans la commune de Tori Bossito (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008).	57

LISTE DES TABLEAUX

N°	TITRE	PAGE
Tableau I	Dynamique du paludisme de 2006 à 2010 dans la zone d'étude	19
Tableau II	les variables, leurs unités de référence, leurs contenus et leurs apports dans l'écologie des vecteurs	72
Tableau III	Liste des 28 hameaux d'étude indiquant leurs villages d'appartenance	74
Tableau IV	Evaluation de la qualité des données collectées	78
Tableau V	Inventaire et abondance relative des culicidae dans la zone d'étude.	98
Tableau VI	Répartition spatiale de la fréquence des vecteurs et l'indice d'équitabilité	100
Tableau VII	Résultats d'analyse log-linéaire sur les gîtes et la durée de mise en eau	102
Tableau VIII	Analyse de la variance, modèle fixe à deux facteurs sans répétition entre gîtes larvaires et période de prospection	107
Tableau IX	Résultat de l'ANOVA entre moustiques vecteurs de maladies et saisons.	110
Tableau X	Statistiques descriptives sur les variables quantitatives	120
Tableau XI	Coefficients de corrélation entre les axes factoriels et les paramètres environnementaux	121
Tableau XII	Coefficients de corrélation entre espèces de moustiques vecteurs de maladies et les composantes principales	123
Tableau XIII	Statistiques descriptives sur les variables à expliquer.	125
Tableau XIV	Résumé pour les variables explicatives sur 17 missions entomologiques	125
Tableau XV	Valeur du coefficient de détermination pour le meilleur modèle d' <i>An. funestus</i>	127
Tableau XVI	Résultats du test de Fisher pour le meilleur modèle d' <i>An. funestus</i>	127
Tableau XVII	Paramètres du modèle de distribution pour <i>An. funestus</i> .	128
Tableau XVIII	Valeur du coefficient de détermination pour le meilleur modèle de <i>An. gambiae</i>	128
Tableau XIX	Résultats du test de Fisher pour le meilleur modèle d' <i>An. gambiae</i>	128
Tableau XX	Paramètres du modèle de distribution pour <i>An. gambiae</i>	129
Tableau XXI	Valeur du coefficient de détermination pour le meilleur modèle de <i>Cx. quinquefasciatus</i>	129
Tableau XXII	Résultats du test de Fisher pour <i>Cx. quinquefasciatus</i> .	130
Tableau XXIII	Paramètres du modèle de distribution pour <i>Cx. quinquefasciatus</i> .	130
Tableau XXIV	Valeur du coefficient de détermination pour le meilleur modèle de <i>Ae. aegypti</i>	131
Tableau XXV	Résultats du test de Fisher pour <i>Ae. aegypti</i>	131
Tableau XXVI	Paramètres du modèle de distribution pour <i>Ae. aegypti</i>	132

RESUME

Cette thèse a pour objectifs de décrire la répartition spatiale de *An. gambiae* et de *An. funestus* moustiques vecteurs du paludisme, de *Cx. quinquefasciatus* vecteur des filarioses et de *Ae. aegypti* vecteurs des arboviroses dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito (OKT), ensuite d'identifier les paramètres du milieu qui déterminent cette répartition spatiale et enfin de modéliser la distribution spatiale de ces espèces. Ils s'appuient sur les trois hypothèses suivantes : La répartition spatiale des vecteurs est non aléatoire; la contribution des déterminants environnementaux dans la répartition spatiale des vecteurs est différentielle et la connaissance de certains paramètres du milieu permet de prédire les fréquences de population de moustiques vecteurs dans ce milieu.

La zone sanitaire (OKT) est située au sud-ouest du Bénin, entre 1°56'30" et 2°16'20" de longitude est et entre 6°18'30" et 6°38'20" de latitude nord.

La démarche scientifique repose sur la collecte, l'évaluation et le traitement des données climatologiques (la température, les précipitations, le nombre de jours de pluie, l'humidité relative, les vents, la visibilité et la pression de vapeur), des données géographiques (l'hydrographie, le relief, les localités), des données biotiques (la présence humaine et la végétation) et des données entomologiques (les captures nocturnes de moustiques sur appât humain et les prospections larvaires).

Il ressort de cette étude une dépendance spatiale et le fait que l'espace (absolu) est insuffisant pour expliquer la distribution observée. Le nombre de jours de pluie, le NDVI, le relief, la distance des localités aux cours d'eau saumâtres sont les déterminants de la répartition spatiale de *Ae. aegypti*. Ceux de *An. gambiae*, de *An. funestus* et de *Cx. quinquefasciatus* sont : le vent, la visibilité, la pluviométrie, l'humidité relative, la pression, la température, le relief, la distance des localités aux cours d'eau et la fréquence de production d'alcool. De ces résultats, nous avons déduit quatre modèles qui ont servi à l'élaboration des cartes de distribution des quatre espèces vectrices de maladies.

Enfin, cette thèse révèle l'importance de l'approche géographique dans la réflexion sur les questions de santé et cette approche pourrait être testée sur d'autres sites et pour d'autres vecteurs de maladies.

Mots Clés : Moustiques vecteurs, Modélisation, Analyse spatiale, Zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, Bénin.

ABSTRACT

This PhD thesis aimed at describing spatial distribution of *An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* and *Ae. aegypti* in the sanitary area of Ouidah-Kpomasse-Tori Bossito. This is to, identify features of the environment which determine this distribution and at last model the spatial distribution of these species. These objectives were based on three hypotheses which are: the spatial distribution of vector is not random; the contribution of environmental determinants in the spatial distribution of vectors is differential and the possibility, knowing some parameters of an area, anticipate on the frequencies of mosquitoes vectors in this area.

The area of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito is at the south west of Benin, between 1°56'30" and 2°16'20" east longitude and between 6°18'30" and 6°38'20" of north latitude.

The methodology consisted of the collection, the evaluation and treatment of climate data (temperature, rain fall, the number of days rain, the relative humidity, the wind speed, the visibility and the vapour pressure), geographical data (bring together the hydrography, relief, the localities), biotic data (human presence and the vegetation) and entomological data (night caught of mosquitoes on the human body and larval prospections).

It results from this methodology a spatial dependence and the fact that the space (absolute) is insufficient to explain the distribution observed. The numbers of days of rain, the NDVI, topography, distance home dwellings to brackish rivers are the determinants of the spatial distribution of *Ae. aegypti*. Those of *An. gambiae*, *An. funestus* and those of *Cx. quinquefasciatus* are: the wind speed, visibility, rainfall, relative humidité, pressure, temperature, topography, the distances from the localities to freshwater bodies and the frequency for alcohol production. From these results, we could set out four models which have sewed to the elaboration of map of *An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. Quinquefasciatus* and *Ae. aegypti*.

Finally, this thesis reveals the support of the geographical approach to the thought on the questions of health and this approach might be tested on other sites and other disease vectors of sicknesses.

Key Words: Mosquitoes vectors, Modeling, spatial analyst, Sanitary district Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, Bénin.

DEDICACE

A mes filles Nawarath et Nadirath, que ce travail soit pour vous la base de votre ascension future.

REMERCIEMENTS

Nul succès n'est possible sans la contribution des Hommes et nul mérite ne peut s'envisager en dehors des opportunités créées par les Hommes. Nous sommes tous, puissants comme faibles, redevables aux autres dans nos succès et nous devons faire preuve de gratitude.

Les pensées et les paroles sont créatrices de force et d'engagement. Les pensées positives engendrent la force, le courage, l'idéal d'une humanité plus harmonieuse, plus juste, plus équitable. Ce que je voudrais, c'est que ces mots de remerciement créent en toute personne qui les lira, un kraken puisant de sagesse et de paix ; un esprit si puissant que tout leur être matériel et subtil transpire amour et charité. Alors, à vous tous qui avez tant donné pour moi, l'ami d'un jour, le collègue, le père, la mère, le mari, le cousin, l'oncle, le nouvel ami et même le parfait infortuné inconnu, j'adresse ma profonde gratitude. Je prie la Toute Puissance Divine, le Créateur des cieux et de la Terre, Celui de qui nous provenons tous, de vous inspirer toujours cet élan transcendant vers l'autre pour un avenir de paix et de grâce.

Cette thèse est le résultat de plusieurs années de recherches entièrement réalisées au CREC et au CIFRED, entre 2008 et 2013. C'est le fruit d'une collaboration et d'un partenariat soutenus entre plusieurs équipes avec l'apport financier de l'IRD, du CREC et du Gouvernement Béninois à travers les allocations du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique.

Je voudrais citer des noms pour qu'ils incarnent les interactions multiples que j'ai eues avec les êtres de tout bord. Chacun ressentira ma gratitude selon ce qu'il aura fait dans sa conscience. Si vous n'avez pas trouvé votre nom dans cette liste alors que vous pensez avoir fait quelque chose de bien, ne m'en voulez pas car ce document vous appartient.

Sans préséance, merci à vous :

- ☛ Monsieur Moussa Yarou, du Ministère de la Santé ;
- ☛ Monsieur Cyriaque Atti Mama du MTTP et Monsieur Inoussa Yabara ;
- ☛ Monsieur Martin Akogbéto, mon Directeur de thèse ;
- ☛ Monsieur Christophe S. Houssou, mon Co-Directeur de thèse ;
- ☛ Messieurs Michel Boko, Michel Makoutodé, Sékou F. Traoré, Romain G. Kakai, Joseph Attolou et Bruno Lokonon ;
- ☛ Monsieur Amos Johnson de Benin Global Business, son Epouse et ses Enfants;

- ☉ Monsieur Fiacre Adda, son Epouse et tout le personnel de K&K-Ingénieurs-C ;
- ☉ Messieurs et Mesdames Michel Boko, Edorh Patrick, Gratien Boni, Ruffine Sèdjamè, Théodore Adjakpa, Eugénie Kèkè, Wilfrid Boko, Armelle Houkpatin, Modeste Goussi, Daniel Houssou et Barthélemy Dossavi-Yovo tous du CIFRED de l'Université d'Abomey-Calavi;
- ☉ Messieurs et Mesdames Fabrice Chandre, Vincent Corbel, Marie-Claire Henri, Nicolas Moiroux, Thierry Baldet et Martin Thibaut, de l'IRD ;
- ☉ Messieurs et Mesdames Armel Djèrontin, Angès Yadouléon, Razack Ossé, Gil Germain Kpadonou, Sébastien Koudénoukpo, Herbert Noukpo, Alain Nahum, Abibath Odjo, Pélagie Boko, Hermione Adjè, Estelle Vidjinou, Hermione Boko, Joseph Chabi, Ramziath Agbanrin Youssouf, Kéfilath Badirou, Roseline Attolou, Renaud Govoétchan, Arthur Sovi, Virgile Gnanguénon, Nazaire Aizoun, Marina Olé Zélo Sangba, Ulrich Toffodji, Gabriel Ganhoutodé, Firmin Houkanrin, Armand Klotoe, Laurète Kiki, Géraldo Houndéon, Aboubacar Sidik, Roseric Azondékon, Olivier Oussou, Rock Aikpon, Roland Alia, Balbine Kindji, Clémence Durand, Médard Yamadjako et Yannick Djegui, du CREC
- ☉ Messieurs et Mesdames Gorgia Damien, Filémon Tokplonou, Sandra Yamadjako, Christelle Azogo, Judith Hovor, Henriette Déguénon, Achille Zoungonou, Annie Atchadé, Modeste Damassoh, Lin Attigli, Orrianne Aichéou, Sabine Oyimbaodé, Valère Adjihanou, Freed Tohio, Etienne Guédy, Cyrille Agoli Agbo, Kennedy Yovonou, Djiman Oloudé et Alfred Lazo, de l'équipe parasitologique et clinique de la composante 2 du REFS ;
- ☉ Messieurs Wahidi Gamba de la DDTP/Division Kandi et Luc Djogbénou de l'IRSP;
- ☉ Messieurs Sikirou Adam, tout le personnel du CEDA
- ☉ Messieurs Alassane Karim, Mama Daouda, Abou Youssouf de la FAST/UAC ;
- ☉ Monsieur Rousseau Djouaka de l'IITA et tous les habitants de la maison Kpéra ;
- ☉ Feux Yacoubou Bio Bangana, Mariétou, Rafiatou, Rafatou, Rafiou, Mouinath, mon père, ma belle mère, mon frère et mes sœurs rappelés à Dieu;
- ☉ Djamilath Bio Bangana, mon épouse, Koussama et son époux, Fousséni Adam mon Beau Père, Fatimatou, et Lahanatou Bio Bangana ma belle-mère et ma mère;
- ☉ Messieurs et Mesdames Alassane Bio Bangana, Ousmane, Moussilfath, Raim, Kassim, Latif, Ossilath, Hariétou, Sanounou, Sékinath, Latifath, Tanko, Fassassi, Razack, Soulémane, Abdoulaye et tous les autres parents et amis en France, au Sénégal, au Togo, au Nigéria, au Niger et au Bénin dont les noms n'ont pu être cités.

INTRODUCTION GENERALE

1. Contexte et justification

« L'environnement agit quotidiennement sur notre santé par le biais du milieu qui nous entoure : eau, air ou sol. En cas de détérioration brutale de l'environnement, comme dans les camps de réfugiés par exemple, les impacts sanitaires sont considérables », affirme la Fondation Nicolas Hulot pour la Nature et l'Homme. Pour le Centre International de Recherche sur le Développement (CRDI), « Santé des écosystèmes = santé humaine ». Cette mise en miroir de la santé et de l'environnement n'est pas nouvelle. Le fondateur de la médecine moderne, Hippocrate, (460 - 377 av. J.-C.) ne disait-il pas que, « pour approfondir la médecine, il faut considérer d'abord les saisons, connaître la qualité des eaux, des vents, étudier les divers états du sol et le genre de vie des habitants ». La découverte par Louis Pasteur du microbe en 1865 et le développement de la microbiologie ont conduit à la stérilisation, à l'hygiène du milieu et à l'assainissement dont l'impact sur l'espérance de vie de l'homme est indéniable. Dans les années 1980, l'émergence de la médecine environnementale et de l'éco-toxicologie s'inscrit dans cette dynamique de prise en compte de l'environnement dans les questions de santé et du bien-être des hommes (Somé, 2010). Ces progrès médicaux observés au XIX^{ème} et au XX^{ème} siècle ont aussi permis d'enregistrer des avancées considérables notamment dans le domaine de l'épidémiologie et de l'entomologie.

Ainsi en 1880 à Constantine, le paludisme, fléau sous les tropiques, mystérieuses et mortelles fièvres, verra son agent causal, le plasmodium mis en évidence par Alphonse Laveran, prix Nobel de Médecine en 1907. Entre 1895 et 1898, Ross, médecin militaire anglais, soupçonne le moustique du genre Anophèle d'intervenir dans la transmission de cette affection, ce que confirmera Grassi en 1898 (cité par Damien, 2008). Ces avancées ouvrent alors des perspectives dans le domaine de la lutte antivectorielle.

La lutte contre les moustiques vecteurs du paludisme fait appel à plusieurs méthodes dont le contrôle des larves de moustique pour prévenir les fortes densités d'adultes vulnérants (Sérandour, 2007). Les premiers insecticides utilisés pour lutter contre les moustiques étaient des substances naturelles comme la nicotine et la roténone (Tissut *et al.* 1989). La première molécule de synthèse, le DDT

(dichlorodiphenyltrichloroethane) découvert en 1939, fut largement utilisée à travers le monde pour combattre le typhus, les fièvres des tranchées et le paludisme pendant la Deuxième Guerre Mondiale (Smith, 2000). Lui succéda une longue liste de molécules que l'on regroupe par familles aux modes d'actions différents : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes. Lors des premières années de démoustication en France, l'EID a utilisé des organophosphorés comme le téméphos (formulation commerciale ABATE 500E) entre 1970 et 1989 (EID, 1966). Mais ces molécules peu sélectives et dangereuses pour l'environnement, ont progressivement laissé la place aux bactério-insecticides comme le *Bti* (*Bacillus thuringiensis* var. *israëlis*) et le *Bs* (*Bacillus sphaericus*), très sélectifs et sans effet néfaste démontré sur l'environnement (Meritt, 1989 ; Becker & Margalit, 1993 ; Boisvert & Boisvert, 2000). Ces bactério-insecticides produisent, après ingestion sous forme de spores, des cristaux protéiques toxiques qui détruisent l'épithélium intestinal des larves, qui meurent rapidement (Nielsen-Leroux & Charles, 1992). D'autres formes de lutte biologique ont été expérimentées dans le monde, utilisant des prédateurs des larves de moustiques comme les larves de libellules, les poissons (gambusies et épinoches), ou des parasites (nématodes, champignons).

Avec l'interdiction d'usage de l'ABATE dans le cadre de la directive européenne Biocide 98/8/CE, les bactério-insecticides *Bti* et *Bs* sont utilisés en traitement anti-larvaires, et l'utilisation de fénitrothion (organophosphoré), de deltaméthrine et de pyréthrine (pyréthrinoïdes) est permise en pulvérisation contre les adultes de moustiques (EID, 1966). L'emploi d'insecticides en démoustication rencontre des contraintes d'ordre écotoxicologique et écologique. La première limite est liée à la capacité des populations de moustiques à développer des résistances à certains insecticides au fil des générations (Hemingway *et al*, 2004). L'emploi récurrent du même insecticide durant plusieurs années peut induire, chez les individus, une tolérance ou une mutation leur permettant de contrer l'effet de la matière active. Cette résistance peut ainsi se transmettre aux générations suivantes. Les premières résistances décrites ont été observées avec le DDT dès 1959 (Luen & Shalaby, 1962), puis celles au téméphos et au bactéricide *Bs* sont apparues au cours des années 1990 (BenCheik & Pasteur, 1993 ; Rodscharoen & Mulla, 1996). La deuxième limite est liée au choix d'un insecticide respectueux de l'environnement. En

effet, la majorité des insecticides chimiques commercialisés ont un spectre d'action large et sont interdits en lutte contre les moustiques. Les insecticides utilisables en démoustication doivent avoir une faible rémanence dans la zone humide, être sélectifs et ne pas s'accumuler dans les tissus des organismes non-cibles de la faune compagne (Directive Européenne Biocide 98/8/CE). La démoustication doit donc trouver des compromis pour répondre à une double demande de la société : limiter efficacement les nuisances et contrôler les risques liés aux moustiques, tout en respectant l'environnement. Depuis une vingtaine d'années, on observe une demande sociétale grandissante pour la préservation de l'environnement et en particulier des zones humides, particulièrement menacées. Pourtant, notre société cherche toujours à améliorer son confort de vie, et les nuisances dues aux moustiques sont rarement tolérées.

Face à ce paradoxe, les disciplines de la biologie et de l'écologie suffisent-elles pour trouver des solutions applicables aux problèmes rencontrés par la démoustication?

L'environnement est un déterminant majeur de la biodiversité du paludisme à cause du caractère vectoriel de la transmission des *plasmodiums* et des préférences bioécologiques des vecteurs. La saisonnalité, la distribution et la quantité des pluies, la température, l'humidité, l'altitude, la présence d'eau de surface ou de végétation, ainsi que des facteurs anthropogéniques, tels que les activités agricoles, l'irrigation, la déforestation, l'urbanisation, la construction de routes ou de barrages, sont associés au développement des moustiques et indirectement à la transmission des *plasmodiums*. Ces facteurs peuvent déterminer l'apparition et la persistance des gîtes larvaires, la vitesse de développement des larves, la survie des adultes - et donc leur densité - ou la vitesse de développement du parasite chez les anophèles vecteurs (cycle extrinsèque). Ils peuvent donc déterminer la répartition spatiale et temporelle de la transmission du paludisme par les moustiques. La répartition géographique, la densité et la longévité des vecteurs, l'accès aux traitements antipaludiques efficaces et la sensibilité génétique et immunologique des populations humaines au parasite sont à l'origine de l'hétérogénéité du paludisme. Dans ce contexte de concentration des facteurs liés au risque du paludisme, la lutte contre la maladie doit être focalisée sur les facteurs les plus vulnérables afin d'optimiser l'efficacité des méthodes de contrôle et de réduire leurs coûts. Cette focalisation de

la lutte peut tirer un grand avantage de la connaissance des déterminants écologiques de la répartition spatiale et temporelle de la transmission et de la maladie (Machault, 2010). L'obtention de cartes de risques de paludisme (entomologiques et épidémiologiques) peut être considérée comme une étape clé dans le processus de lutte contre la maladie, car ces cartes peuvent permettre de communiquer avec la population pour un changement de comportement et de diriger les équipes de terrain vers les lieux et périodes pour lesquelles le risque et le poids du paludisme sont les plus importants.

Depuis que des satellites d'observation de la terre sont en orbite, ils ont largement été utilisés pour répondre à des questions de santé, même s'ils ne sont pas spécifiquement dédiés à l'enregistrement de données dans ce domaine. De nombreux travaux ont tiré parti des informations environnementales fournies par les plateformes spatiales pour l'étude de maladies infectieuses, en utilisant les techniques de traitement d'images, les SIG (Systèmes d'Information Géographique) et le GPS (*Global Positioning System*). Parmi ces maladies, le paludisme a fait l'objet de nombreuses recherches et des cartes et modèles de risque ont été réalisés à tous les niveaux du cycle de transmission pour évaluer ou prédire différents indicateurs paludométriques : présence de gîtes larvaires, densités larvaires, densités et agressivité vectorielles (nombre de piqûres reçues par individu et par unité de temps), taux d'inoculation entomologique (TIE : nombre de piqûres infectées reçues par individu et par unité de temps), taux de prévalence parasitaire, taux d'incidence des infections plasmodiales et de la morbidité palustre et mortalité attribuée au paludisme. De plus, les données de télédétection ont permis d'obtenir des cartographies de populations humaines, ce qui est un point essentiel dans l'évaluation du nombre de personnes à risque de paludisme et du poids de la maladie (Machault, 2010). La « télé-épidémiologie » a été définie par le CNES (Centre National d'Etudes Spatiales) comme une approche intégrée visant à associer des données médicales, épidémiologiques ou entomologiques de terrain à des données environnementales obtenues par satellites, en s'appuyant sur la compréhension et la mesure des mécanismes physiques et biologiques qui sont en jeu.

Chaque année dans le monde, plus de 3 milliards de personnes sont exposées au risque de paludisme et l'on compte plus de 500 millions de cas aigus entraînant plus

d'un million de décès (OMS, 2007). Selon la même source, dans les pays africains d'endémie, 25 % à 35 % des consultations, 20 % à 45 % des hospitalisations et 15 % à 35 % des décès en milieu hospitalier sont dus au paludisme, ce qui constitue une charge considérable pour des systèmes de soins déjà fragiles. Au Bénin, le paludisme se situe au premier rang des affections courantes et représente 35% des motifs de fréquentation et d'hospitalisation enregistrés dans les centres de santé au plan national (SNIGS/MS, 2009). Dans la zone sanitaire Ouidah Kpomassè et Tori Bossito, malgré les efforts des différents acteurs impliqués dans la lutte contre ce mal, le paludisme est et demeure omniprésent (tableau I)

Tableau I: Dynamique du paludisme de 2006 à 2010 dans la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito.

Année	2006	2007	2008	2009	2010
Total Paludisme	26533	25542	25252	34035	27634
Total Affections	64047	65606	67745	77078	66111
Pourcentage Paludisme	41,40%	38,90%	37,30%	44,20%	41,80%

(SNIGS/MS/2006 à 2010).

Pourquoi depuis plusieurs décennies, le paludisme continue d'être un problème majeur de santé publique ?

Il est largement admis aujourd'hui qu'une lutte anti-vectorielle ne sera efficace à long terme qu'à la condition d'une connaissance approfondie des cycles de transmission, de la biologie et de l'écologie des vecteurs. La non prise en compte de l'hétérogénéité comportementale des vecteurs impliqués dans le système de transmission, c'est-à-dire, la méconnaissance de la biologie et de l'écologie des vecteurs, a été sans doute à la base des échecs enregistrés dans l'éradication du paludisme en Afrique (Chauvet *et al.*, 1969). L'état actuel des connaissances sur l'écologie des anophèles reste insuffisant pour permettre la mise en place de mesures efficaces de contrôle vectoriel. Par exemple, les causes de l'hétérogénéité spatiale observées dans l'abondance et la distribution des membres du complexe *Anopheles gambiae* sont encore méconnues. Il en est de même pour les mécanismes qui interviennent dans la régulation des populations. Il est devenu ainsi nécessaire, dans la perspective du contrôle de la population des vecteurs, de prendre en compte cette diversité spécifique (Somé, 2010).

Compte tenu des effets dévastateurs de cette maladie sur la santé de la population mondiale, de nombreux projets ont été initiés. Certains visent une meilleure connaissance de la biologie, de l'écologie et de l'éthologie de l'espèce *An. gambiae*, voire de ce complexe d'espèces, pour plus d'efficacité dans le contrôle de la population vectorielle. Ainsi, le projet REFS « Recherche en Entomologie, Formation et Stratégie de Prévention », sur lequel s'appuie cette thèse, est initié conjointement par le Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) et l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD). Parmi les objectifs à atteindre, trois ont retenu notre attention :

- décrire le biotope des quatre genres de moustique : *Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, et *Mansonia* rencontrés dans la zone d'étude, tout en mettant un accent particulier sur les vecteurs du paludisme, de la dengue et des filarioses.
- identifier les paramètres du milieu favorisant la présence des quatre principaux vecteurs (*Anopheles gambiae* (Giles, 1902), *Anopheles funestus*, *Culex quinquefasciatus* et *Aedes aegypti*)
- modéliser la distribution spatiale de ces espèces vectrices de maladies.

Pour atteindre ces objectifs, le projet « Recherche en Entomologie, Formation et Stratégie de Prévention » a mis en place un protocole de recherche à plusieurs niveaux dont l'aire d'application la plus détaillée (le niveau géographique) coïncide avec une zone de méso endémie du paludisme et sur une durée de trois ans.

2. Enoncé du sujet

Le projet « Recherche en Entomologie, Formation et Stratégie de Prévention » dont dérive ce travail d'étude et de recherche, vise à résoudre un problème de santé dans lequel intervient l'environnement en tant que cadre de vie du vecteur. Cette problématique soulève un aspect important, celui de la distribution spatiale des vecteurs du paludisme, de la fièvre dengue et des filarioses, d'où le titre que porte cette étude :

« Déterminants environnementaux de la répartition spatiale des vecteurs du paludisme et autres moustiques dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito ».

Aussi, ce travail de recherche s'inscrit-il dans la problématique « environnement et santé », dans le volet lutte contre les vecteurs. Il ne s'agit pas d'une recherche

épidémiologique, encore moins de recherche médicale, mais plutôt une étude dont le but est de contribuer à la lutte contre les vecteurs du paludisme et des filarioses par une meilleure connaissance de la géographie des moustiques vecteurs. La présente étude propose une méthode d'étude de la répartition spatiale des vecteurs. Son ambition est de répondre à des questions essentielles dans la définition de politique et de stratégie de lutte anti-vectorielle. Ces questions sont les suivantes : comment sont repartis, dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè et Tori Bossito, les moustiques vecteurs de maladies? Dans l'environnement, qu'est-ce qui détermine cette répartition spatiale?

3. Les objectifs de la recherche

3.1 Objectif général

Ce travail a pour objectif général d'étudier les facteurs environnementaux de la répartition spatiale des vecteurs du paludisme et autres moustiques vecteurs de maladies dans la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito.

3.2 Objectifs spécifiques

- décrire la répartition spatiale de *An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti* dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito.
- identifier les paramètres du milieu qui déterminent cette répartition spatiale ;
- modéliser la distribution spatiale de ces espèces.

4. Hypothèses

Ces objectifs s'appuient sur trois (03) hypothèses :

- la répartition spatiale des vecteurs est non aléatoire ;
- la contribution des déterminants environnementaux dans la répartition spatiale des vecteurs est différentielle.
- la connaissance de certains paramètres d'un milieu, permet de prédire les fréquences de population de moustiques dans ce milieu.

5. Approche méthodologique

Ce travail s'inscrit dans une approche pluridisciplinaire qui intègre à la fois : la biogéographie comme cadre théorique de structuration de l'étude, l'entomologie, comme discipline qui fournit les connaissances sur les vecteurs (*An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*), la sociologie comme discipline qui fournit les connaissances sur les habitudes de vie et les comportements à risque des populations en liaison avec les moustiques. L'analyse spatiale, la télédétection, le système d'information géographique et l'analyse de données statistiques peuvent être appréhendés comme des méthodes et techniques de structuration et de traitement de données. Ce travail s'inscrit dans une démarche de construction d'une structure formalisée qui rende compte des relations spatiales entre *An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. aegypti* et le milieu. Il doit permettre une représentation formelle simplifiée de la distribution spatiale de chaque espèce de moustique à travers une fonction mathématique et une carte de distribution. Le processus de construction de ces modèles offre une approche de problèmes anciens (la chorologie des espèces) avec des outils nouveaux et des méthodes réactualisées par les nouvelles technologies de traitements de l'information spatiale.

6. Plan de thèse

Cette thèse est structurée en deux parties. La première, intitulée «cadrage thématique, démarche scientifique et méthode», pose les bases de la réflexion. Elle est composée de trois chapitres. Le premier chapitre, «état de la question, définition du champ conceptuel et positionnement scientifique», définit le champ d'investigation. Il permet une analyse des concepts et insère l'étude dans une discipline scientifique, ce qui est indispensable à l'orientation de la réflexion. Le second chapitre « généralités sur les moustiques et les maladies vectorielles» est une présentation des maladies vectorielles à moustique et des moustiques vecteurs. Ces éléments constituent les objets de l'étude, les porteurs de la problématique et des informations traitées dans cette thèse. Leur connaissance est indispensable à la compréhension du problème étudié, au traitement des données, à l'élaboration de la méthodologie et à l'interprétation des résultats. Dans le troisième chapitre « Approche méthodologique » sont présentées les outils et techniques de collecte et de traitement des données.

La deuxième partie de ce travail, « Résultats et Discussions», est orientée vers la vérification des hypothèses et l'évaluation des objectifs. Elle est composée de trois chapitres. Elle présente les résultats du travail à travers « la caractérisation de la faune culicidiène et répartition des vecteurs » au chapitre IV. Le chapitre V contient « les paramètres environnementaux et répartition spatiale des moustiques vecteurs : une relation à formaliser ». Le chapitre VI propose « une discussion, une conclusion générale et des suggestions».

**PREMIERE PARTIE :
CADRAGE THEMATIQUE, DEMARCHE SCIENTIFIQUE ET
METHODE**

CHAPITRE I : ETAT DE LA QUESTION, DEFINITION DU CHAMP CONCEPTUEL ET POSITIONNEMENT SCIENTIFIQUE.

Cette étude comme d'autres, s'intéresse à la distribution spatiale des moustiques vecteurs de maladies. Elle se situe dans le domaine de la santé. Les travaux antérieurs sur la géographie des espèces, la sociologie des populations, l'analyse spatiale, les maladies à transmission vectorielle et l'épidémiologie, ont donné une richesse aux concepts qui s'expriment par la diversité des interprétations. Ils ont apporté beaucoup à l'évolution de la perception des termes et des techniques qui sont en usage dans cette thèse. Dans cet ensemble de résultats scientifiques et techniques, il faut trouver sa voie en faisant un usage original des acquis pour répondre à une problématique donnée. Pour cela, il faut partir de ce qui est fait et définir son champ d'investigation en précisant les concepts structurants du thème et en indiquant un positionnement scientifique. C'est l'objet de ce chapitre.

Ce chapitre est structuré en 2 sections. La première section s'ancre dans la littérature scientifique pour faire une synthèse sur les différents travaux qui abordent la question de la distribution spatiale et temporelle des vecteurs de maladies. Elle doit permettre aussi de montrer le rôle de la géographie dans l'étude des problématiques liées à la santé et positionner ce travail sur le plan scientifique. La seconde section situe ces investigations dans le champ de la géographie. Elle s'appuie sur le paradigme biogéographique qui lui fournit des hypothèses et des indicateurs pour construire un schéma conceptuel.

1.1. Géographie et étude des relations entre environnement et santé.

L'espace physique est classiquement reconnu comme étant l'objet d'étude principal de la géographie et on peut le comprendre car, étymologiquement, il s'agit bien, mot pour mot, de la description de la terre. Cependant, il faut dire qu'au même moment où cette terre s'affirmait comme objet d'étude de la géographie, on s'est aperçu d'une autre réalité, à savoir qu'on ne pouvait écarter l'homme de cette problématique, dans la mesure où il vit sur cette terre et la transforme au gré de ses besoins sans cesse croissants et diversifiés (Assako, 2005). Ainsi s'est constituée toute une série de branches de la géographie, ayant pour centre d'intérêts l'homme. Tantôt cette dernière est étudiée comme élément et acteur de regroupements sociaux qui, de

manière volontaire ou forcée, se constituent ou se désagrègent, selon un rythme non toujours prédéterminé (géographie de la population). Tantôt, la géographie s'intéresse à l'homme dans ses modes de production, d'échange et de consommation (géographie économique) ou dans ses modes de vie, mettant en évidence une remarquable passerelle avec la sociologie et l'anthropologie (géographie culturelle). Claval, (2001) a largement montré cette pluralité et cette diversité de thématiques autour desquelles se construit l'approche géographique. Que vient chercher la géographie dans un questionnement sur la santé humaine ? La maladie est-elle un phénomène qui entre dans le domaine de compétence des géographes et pourquoi ? Ce sont des questions récurrentes auxquelles il faut apporter des réponses qui imposent de définir non seulement la géographie mais également sa démarcation avec les autres sciences dans un esprit de conciliation (Somé, 2010). C'est à cet homme, acteur de la transformation du milieu, que la maladie s'attaque. C'est lui qu'elle affaiblit et même élimine dans bien des cas, le soustrayant de toutes les considérations économiques, politiques et sociales. Par ailleurs, on se rend compte que la plupart des maladies qui affectent l'homme proviennent directement ou indirectement de l'environnement qu'il partage soit avec les agents pathogènes (bactéries et virus notamment) soit avec les vecteurs de ces derniers (insectes, animaux voire l'écobiotopie même). Il s'agit d'offrir une place à la géographie dans ce processus de lutte contre les maladies sans tomber dans ce que Bavoux (2007) qualifie de « boulimie et débordement pangéographique ». Les réponses à ces questions s'appuient sur une définition de l'objet d'étude de la géographie et sa place dans l'étude des problématiques liées à la santé. Il est question, tout en délimitant le champ de compétence de la géographie, de montrer comment elle interagit avec les autres disciplines pour contribuer à une réflexion sur les questions de santé. Cette analyse du rôle de la géographie dans l'étude des questions de santé se fonde sur trois axes :

- l'axe conceptuel qui repose sur une évolution de la perception de la lutte contre les maladies en général et les maladies à transmission vectorielle en particulier, et offre l'opportunité d'une nouvelle contribution de la géographie à la résolution des problèmes de santé,
- l'axe méthodologique fondé sur l'approche géographique dans le cadre de la lutte contre les maladies,

- l'axe technologique orienté vers l'utilisation des outils propres au géographe dans l'étude des problèmes de santé (Somé, 2010).

1.1.1 Géographie et lutte contre les maladies

La plupart des maladies qui affectent l'homme proviennent directement ou indirectement de l'environnement que ce dernier partage soit avec les agents pathogènes (bactéries et virus notamment) soit avec les vecteurs de maladies (insectes, animaux et le biotope). C'est pour cette raison que s'est développée la géographie de la santé, qui par rapport à d'autres applications des sciences de l'homme, étudie les pathologies en les situant dans leur contexte physique et en évaluant leurs conséquences sur la fonctionnalité de l'espace et des groupes humains qui le peuplent.

Ce paragraphe se subdivise en deux sous paragraphes. Le premier est consacré à la définition de l'objet de la géographie. Le second se focalise beaucoup plus sur la relation entre cet objet et les questions de santé.

1.1.1.1 L'objet de la géographie : l'espace

La première personne à utiliser le mot « géographie » était Ératosthène (276-194 avant J.-C.) pour un ouvrage aujourd'hui perdu mais l'arrivée de la géographie est attribuée à Hérodote (484 - 420 avant J.-C); aussi considéré comme étant le premier historien. Durant son évolution sur plus de 2500 ans, la géographie a connu de nombreuses remises en cause et de nombreuses reconstructions de son objet. L'unanimité au sein même de la discipline n'est pas définitivement acquise. Toutefois, la tendance actuelle à laquelle nous souscrivons et qui semble fédérer une grande partie de la communauté des géographes, consiste à dire que l'objet de la géographie, c'est l'espace et son organisation. « Comme beaucoup d'autres, nous pensons que l'objet de la géographie contemporaine porte sur l'espace, son organisation et ses usages. L'espace est formé, soit par des lieux définis par leurs coordonnées géographiques, soit par des portions plus ou moins étendues de la surface terrestre dont les éléments sont des lieux unis par des relations fonctionnelles que leur confèrent ou leur ont conféré les sociétés humaines » (Chamussy et al, 1977; Ciattoni et al, 2005 ; Somé, 2010).

Cette définition de l'objet de la géographie basée sur l'espace est sans doute la plus répandue aujourd'hui dans l'enseignement supérieur. « L'espace est, en réalité l'ensemble des lieux répertoriés et qualifiés par les géographes, la totalité des signes qu'ils identifient et interprètent pour différencier les objets, les phénomènes à la surface de la terre. Les géographes l'inventorier, le découpent et le ramènent à des éléments isolables et combinables, parlant par exemple d'espaces naturels, ruraux, urbains, perçus, vécus, etc. Ils le cartographient, en extraient les structures directrices, en décryptent les formes, les fonctions et les dynamismes. La géographie permet de répondre aux questions suivantes qui sont essentielles dans tout processus humain : à quoi ressemble la terre ? Où sommes-nous sur la terre et qu'est-ce qu'il y a sur la terre ? » La géographie donne aux hommes la connaissance de l'espace dans lequel ils se situent et les clés pour déchiffrer ses fonctionnements et projeter ses usages » (Bavoux, 2007). La notion d'espace se conçoit donc comme milieu géographique, c'est-à-dire un espace doté de propriétés définies en fonction des problématiques de développement de l'homme. Dans le cadre de ce travail, l'espace milieu de vie, habitat des moustiques, influence leur répartition. Sa dimension géométrique (forme, taille) comme ces caractéristiques biophysiques, participe à la distribution des fréquences des vecteurs du paludisme et d'autres maladies dans l'espace.

1.1.1.2 Relation entre espace et lutte contre les maladies

L'espace et ses usages étant l'objet d'étude de la géographie, la lutte contre la maladie s'inscrit en partie dans les compétences du géographe. Cette participation de la géographie à la réflexion sur les problèmes de santé est particulièrement éloquent dans le cas du paludisme, des filarioses, de la dengue et de la fièvre jaune qui sont des maladies à transmission vectorielle. Leur propagation au sein des humains n'est possible que par l'intermédiaire d'un vecteur dont la survie dépend énormément du milieu géographique, de l'environnement. La lutte contre les maladies, surtout celles à transmission vectorielle, tire d'énormes intérêts de la géographie qui permet de caractériser l'espace. Si l'espace et ses usages font partie intégrante de l'objet de la géographie, tout usage de l'espace n'est pas forcément géographique. La géographie a son originalité dans l'usage de l'espace comme moyen de lecture et compréhension des phénomènes.

1.1.2 Contribution de la géographie à la lutte contre les maladies.

L'objet de la géographie justifie son implication dans la recherche sur les questions de santé. L'approche des phénomènes spatiaux en géographie a cependant des spécificités. En effet, l'approche méthodologique des géographes, en tant que spécialistes du spatial, diffère sans doute des autres disciplines scientifiques et constitue une deuxième raison de l'implication de la géographie dans le domaine de la lutte contre les maladies. Comment l'espace intervient-il au plan méthodologique en géographie ? En quoi cette approche de l'espace constitue-t-elle un apport dans l'analyse des problématiques de santé ?

1.1.2.1 L'espace dans l'analyse géographique

Les géographes, dans leur pluralité, ont une conception assez partagée de l'espace qui est leur dénominateur commun. Pour eux, l'espace est une porte d'entrée dans la connaissance des phénomènes. Il est le ferment d'un ensemble de questions permettant de connaître l'état, le fonctionnement et la dynamique des phénomènes. Ces questions fondent une approche particulière en géographie : l'analyse spatiale. Cette dernière, en tant qu'approche géographique, localise les phénomènes, révèle leurs structures et leurs configurations. Elle s'appuie sur l'organisation spatiale des phénomènes pour les comprendre et les expliquer. Considérer l'espace comme source de compréhension des phénomènes est en soit une approche qui confère à la géographie, science de l'espace, une dimension originale. Ainsi, pour le géographe, le caractère d'un lieu dépend, au moins partiellement, de sa situation dans l'espace. La récurrence de certaines structures et configurations spatiales doit donc être étudiée pour comprendre et expliquer le fonctionnement et le dynamisme des phénomènes dans l'espace. La statistique classique, non spatiale par tradition, est largement bâtie sur le postulat d'un espace neutre, simple support des phénomènes étudiés. Dans cette perspective, la localisation d'observations dans l'espace (absolu) et leur position les unes par rapport aux autres (espace relatif) n'exercent aucune influence sur la nature même de ces observations. « Cette négation de la première loi de la géographie de Tobler, selon laquelle chaque phénomène est relié à tous les autres, mais des phénomènes proches dans l'espace auront tendance à être davantage liés que des phénomènes éloignés, ne peut que faire frémir le géographe » (Banos, 2001 cité par Somé, 2010). Cette position

centrale de l'espace comme moyen de compréhension des phénomènes est si importante qu'on ne saurait faire de la géographie en dehors de l'espace. C'est du moins ce qu'affirme Abler et *al.*, (1971 in Banos, 2001) en disant : «la géographie n'aurait pas lieu d'être si l'ubiquité caractérisait toute chose ».

L'analyse spatiale, approche spécifique de l'espace dans l'analyse des phénomènes, est née dans les années 1960 dans le monde anglo-saxon et s'est particulièrement appuyée sur des disciplines comme l'économie spatiale et la sociologie de l'Ecole de Chicago. Ses précurseurs sont Von Thünen, Christaller et, beaucoup plus tard Paul Claval et Philippe Pinchemel. Elle prend corps dans les différentes branches de la géographie qui lui fournissent les paradigmes spécifiques. L'étude de l'armature urbaine d'un pays n'utilise pas les mêmes concepts que celle relative à l'organisation agraire, même si ces deux études peuvent interférer dans certains cas. Ainsi l'espace est territoire, biotope ou écosystème et autre chose en fonction des circonstances. Il est perçu, vécu ou construit. Il est physique ou conceptuel. Cette diversité d'appréhensions de l'espace en géographie s'intègre dans différents schèmes dont les branches de la discipline sont porteuses. L'espace est donc un élément de fécondité dans l'entreprise scientifique du géographe. Il est à la fois diversement utilisé selon les circonstances et porte toujours en lui une source d'explication et de compréhension des phénomènes à étudier.

Dans le cadre de ce travail, l'espace, lieu de vie des Anopheles, des Culex et des Aedes, vecteurs du paludisme et d'autres maladies, présente une variabilité d'état qui le rend plus ou moins propice à la vie de ces Culicidés. L'espace contribue plus ou moins directement à l'amplification ou à la réduction de la transmission du paludisme. Nul ne peut donc comprendre la propagation du paludisme en excluant l'espace qui détermine, au moins en partie, le cycle de transmission de la maladie. Cette vision de l'espace, milieu de vie, provient de la biogéographie et a été déterminante dans la conceptualisation de la démarche de cette étude. Ainsi, l'analyse spatiale en tant qu'approche géographique a pris corps dans le paradigme biogéographique et a permis de proposer une perception objective de la distribution spatio temporelle des principaux vecteurs du paludisme et ceux d'autres maladies vectorielles.

1.1.2.2 Analyse spatiale et analyse des problèmes de santé

La lutte contre les maladies nécessite de comprendre leur étiologie et leur mode de diffusion. Dans le processus d'éclosion des maladies, l'espace peut prendre une importance particulière, car la maladie survient dans certains milieux et pas dans d'autres, parce que l'espace y offre les conditions favorables. Les travaux de Vanessa Machault (2010) sur l'utilisation de données d'observation de la terre par satellite pour l'évaluation des densités vectorielles et de la transmission du paludisme en est une illustration éloquent. Cela est particulièrement vrai pour les maladies infectieuses et les maladies à transmission vectorielle.

La géographie peut permettre de révéler l'organisation spatiale de la maladie en mettant en exergue les structures et les configurations spatiales. Elle connaît un renouveau dans les années 1960 avec des ambitions de modélisation et de quantification. C'est le triomphe des quatre grandes familles, celle de Von Thünen, celle Christaller révisée par Lösch, celle de Reilly et Thiessen, et moins congrûment celle de Brunet (2000). C'est la période d'apparition des modèles de diffusion associés au calcul des probabilités. C'est aussi l'époque des modèles de simulation qui visaient à reproduire des systèmes dynamiques. Ces modèles s'intéressaient à anticiper les chances ou les effets d'un changement. C'est encore l'avènement des modèles de configurations spatiales, notamment de réseaux et graphes sagittaux, visant à modéliser des systèmes (Somé, 2010).

La géographie, à travers la statistique spatiale exploratoire et l'analyse des configurations spatiales, a prouvé son importance dans la compréhension des problèmes de santé et dans la lutte contre les maladies. Lorsqu'il s'agit de maladies à transmission vectorielle, comme c'est le cas dans ce travail de recherche, l'analyse de la répartition spatiale des espèces vectrices de maladies peut apporter une contribution importante dans la compréhension de l'occurrence et de la répartition spatiale des phénomènes morbides. Cette compréhension soutient la conception des plans de riposte efficace.

L'approche spatiale de la géographie apporte certes une contribution intéressante à la connaissance et à la lutte contre les maladies. La mise en oeuvre de cette approche est possible grâce à l'utilisation des technologies dont il convient également d'analyser la contribution à la résolution des problématiques liées à la santé.

1.1.2.3 Techniques géographiques et étude des problèmes de santé

La géographie de la santé s'appuie sur une très longue tradition, initiée par Hippocrate lui-même qui avançait le rôle du climat et de l'environnement, mais aussi de la localisation géographique, sur l'apparition des maladies. Si elle s'est longtemps cantonnée à une « géographie médicale » (avec par exemple Maximilien Sorre qui, en 1933, soulignait que l'environnement, altéré par l'homme, facilite la diffusion des maladies), la géographie de la santé a élargi son champ de recherches depuis trente ans. Elle étudie les maladies selon les inégalités de répartition territoriale, mais également la géographie des soins médicaux en termes d'inégalités spatiales d'accès, d'offres et de besoins. Les recherches qui prennent en compte le contexte social et économique ainsi que l'environnement (tant physique que climatique), s'orientent maintenant vers les inégalités au sein de territoires beaucoup plus restreints, comme les villes (Somé, 2010). Les géographes utilisent certaines techniques en vue d'opérationnaliser leur approche. Il s'agit essentiellement de la cartographie, des systèmes d'information géographiques et de la télédétection. Selon le cas, les outils spatiaux servent à formuler des hypothèses, à vérifier les hypothèses posées, à orienter les activités de terrain et à faire des projections (Pin-Diop, 2006). Ces techniques offrent de ce fait des possibilités de production de données et de traitement fort utile dans de nombreuses disciplines et participent également au positionnement de la géographie comme une science importante dans l'analyse des questions de santé. L'engouement qu'elles suscitent auprès de bien d'autres disciplines est sans doute lié aux opportunités particulières qu'elles offrent à la communauté scientifique. C'est ce que l'on présente très succinctement dans les paragraphes suivants.

i. L'outil cartographique

Le cartographe, est devenu par défaut, dans certaines contrées, à certaines périodes, le géographe. Ainsi, « du XVe au XVIIe siècle, dans le contexte des grandes découvertes maritimes, la figure du géographe et celle du cartographe se confondent en Europe » (Zaninetti, 2005). « La cartographie désigne la réalisation et l'étude des cartes. Elle mobilise un ensemble de techniques servant à la production des cartes. La cartographie constitue l'un des moyens privilégiés pour l'analyse et la communication en géographie. Elle sert à mieux comprendre l'espace, les territoires

et les paysages. Elle est aussi utilisée dans des sciences connexes comme la démographie et l'économie, dans le but de proposer une lecture spatialisée des phénomènes » (Encyclopédie scientifique en ligne). Outil de spatialisation par excellence, la cartographie est à la fois pour le géographe, un outil d'analyse et un puissant moyen de communication. C'est un outil de communication graphique qui s'appuie sur un langage visuel et qui permet une vision simultanée et synthétique des phénomènes spatiaux. Les travaux comme ceux de Jacques Bertin, (1967) ; Serge Bonin, (1975) ; Roger Brunet, (1987) sur la sémiologie graphique pour une utilisation de la carte, en tant que moyen de communication mais également en tant que méthode d'analyse, en sont des preuves. « Les cartes servent à représenter des phénomènes géographiques, c'est-à-dire des phénomènes dont la configuration spatiale produit du sens » (Encyclopédie scientifique en ligne). La cartographie, reconnue plus ou moins unanimement comme un outil privilégié du géographe est l'une des techniques qui a introduit la discipline géographique dans de nombreux champs de recherche et particulièrement celui de la santé. L'évolution technologique, à travers l'avènement de la télédétection et des SIG, a facilité la réalisation des cartes.

ii. L'outil, système d'information géographique (SIG)

Un SIG automatisé est un système d'Information permettant à partir de diverses sources, de rassembler et d'organiser, de gérer, d'analyser et de combiner, d'élaborer et de présenter des informations localisées géographiquement, contribuant notamment à la gestion de l'espace (<http://www.idrc.org/uploads/user>).

«Aujourd'hui la géomatique est considérée comme un puissant outil pour l'élaboration des travaux qui exigent une connaissance plus approfondie de la dynamique spatiale et temporelle des phénomènes et qui requiert la manipulation, le stockage et la visualisation des gros volumes de données » (Fotsing, 2003). Cet outil est très important dans le cadre de la distribution spatiale des moustiques vecteurs de maladies dans la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. L'apparition des premiers logiciels de SIG « bureautiques » sur PC dans les années 1990 (Arcview, Mapinfo, etc.), la réduction considérable des coûts des logiciels et des ordinateurs les rendent accessibles aux petites entreprises individuelles, aux laboratoires de géographie des facultés désargentées. Cette accessibilité aux technologies des SIG va galvaniser

l'usage de la cartographie et de l'analyse spatiale (Zaninetti, 2005). Désormais, l'usage de la carte et de l'analyse spatiale est techniquement accessible. « Jusqu'à cette époque récente, la réalisation d'une carte relevait d'un parcours du combattant. Le spécialiste de la cartographie devait avoir d'énormes connaissances en géodésie, en mathématique etc. et avoir une dextérité extraordinaire dans le maniement de la plume et autres outils de dessin » (Somé, 2006). La prise en charge de nombreux calculs et l'amélioration de la technique de dessin déjà avec la cartomatique puis avec les SIG, ont un intérêt pour l'espace dans de nombreuses disciplines. Cet intérêt pour l'espace dans de nouvelles disciplines est également prouvé par les SIG. Ces derniers ont fourni des modules puissants de calcul de certains paramètres et d'évaluation de certains indicateurs qui ont nécessité de nombreuses recherches sur la structure de l'information géographique. Nous citons comme exemple de réflexion, Souris, (2006). Les modèles d'interpolation et d'estimation, les SIG, dans leur fonction de rassemblement, de stockage et d'intégration de données, utilisent très souvent des informations provenant de la télédétection, la plus grande source actuelle de données spatiales.

iii. La télédétection

La mesure de l'environnement physique ne date pas d'aujourd'hui et la télédétection n'est qu'un des outils de collecte de données sur le territoire. Ce que les satellites ont apporté, ce sont d'autres dimensions thématiques, spatiales et temporelles nécessaires à l'étude de phénomènes environnementaux complexes, très étendus et se déroulant rapidement.

La télédétection est donc l'ensemble des outils et méthodes de mesure, à partir d'un engin volant, des ondes électromagnétiques provenant d'objets au sol.

Cette définition inclut implicitement à la fois la télédétection satellitaire et la photographie aérienne. Ajoutons que la télédétection englobe également le traitement de ces données (Simonett, 1983).

En tant qu'ensemble de méthodes et de techniques permettant d'acquérir des informations sur les surfaces sans contact direct avec celles-ci (Bonn, 1991), la télédétection a permis au cours des trois dernières décennies de produire une grande quantité de données spatiales (Somé, 2010).

«L'application de la télédétection à la surveillance et au contrôle des vecteurs de maladies remonte à 1949, lorsque Audy utilisa des photographies aériennes en noir et blanc pour déterminer les foyers endémiques de typhus en Asie du sud-ouest, à partir de la distribution d'un certain type de végétation » (Pin-Diop, 2006).

Depuis le lancement des premiers satellites civils d'observation de la terre dans les années 1970, les progrès scientifiques dans le domaine de la télédétection sont considérables. Les résolutions spatiales, spectrales et temporelles sont en progrès. Les méthodes de traitement des données issues de la télédétection se sont également beaucoup améliorées. Les logiciels sont de plus en plus performants et intègrent une grande diversité d'indices (indice de végétation, indice minéralogique, indice ferrugineux, indice hydrologique, etc.). Ceux-ci décrivent des aires spécifiques qui peuvent avoir un intérêt dans le profil épidémiologique de certaines maladies.

Par son caractère répétitif, synoptique et diversifié du point de vue des thématiques, la télédétection est une source d'information indispensable dans la prévention et le suivi de certains phénomènes qui affectent la santé des populations. La télédétection, en permettant le suivi de certains paramètres environnementaux, constitue une source d'informations importantes pour l'étude de certaines maladies. Ainsi, et de plus en plus, les capteurs de télédétection sont à même de fournir aux épidémiologistes l'information pertinente sur le milieu pour l'étude et la surveillance des maladies liées à des conditions environnementales, particulièrement les maladies à transmission vectorielle (Tran, 2004).

Son impact sur les intervenants dans le domaine de la santé a conduit à l'émergence du concept de « Télésanté » qui s'appuie à la fois sur la télédétection, les SIG, l'analyse cartographique et d'autres technologies de l'information et de la communication (Internet, télécommunication) dont Sabatier et *al.*, (2004), Vallée et *al.*, (2007) en sont des illustrations.

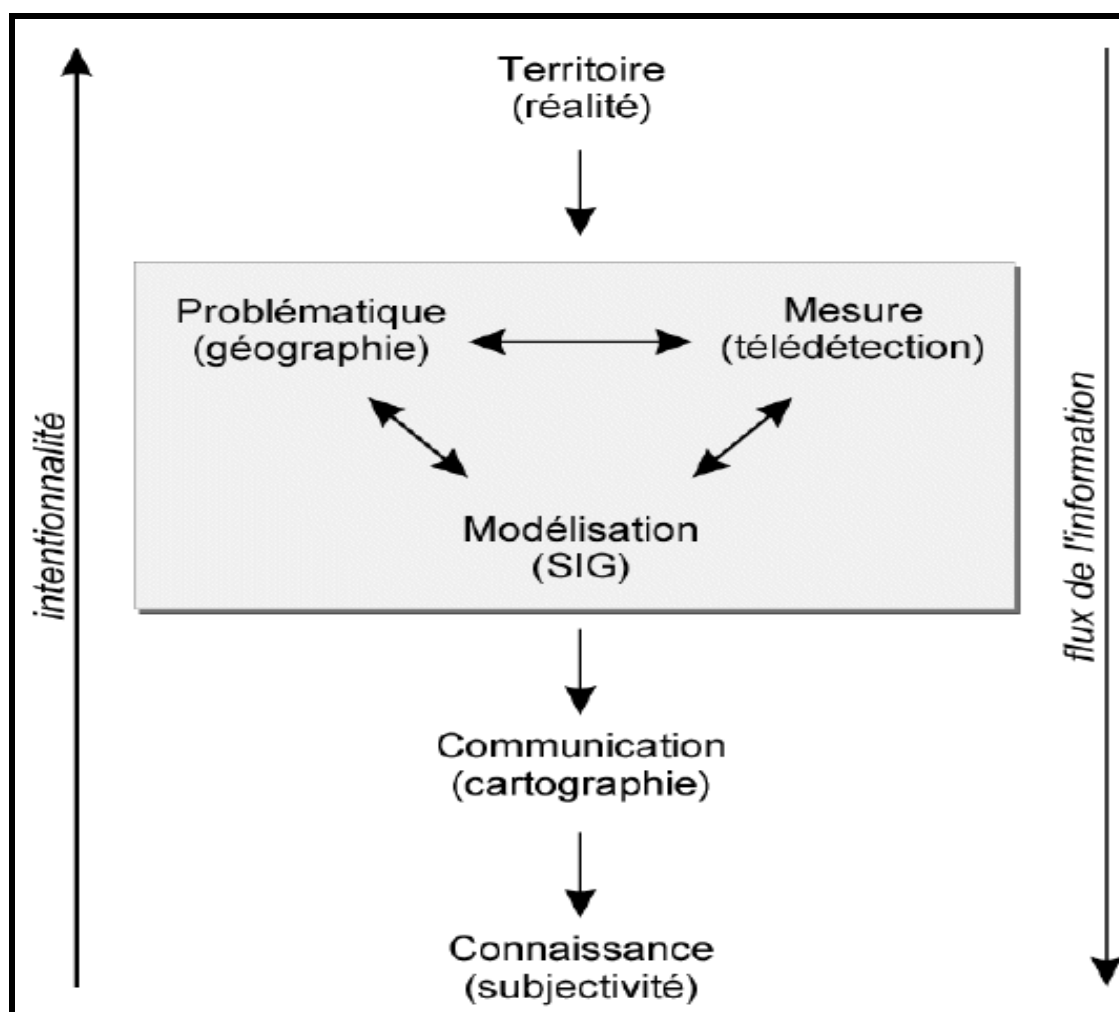


Figure 1: La place de la télédétection dans la recherche (Bédard, 1995)

1.2. Champ conceptuel et positionnement scientifique.

Dans les paragraphes précédents, l'accent a été mis sur le rôle que peut jouer la géographie dans le domaine de la santé. Cette fécondité n'est pas sans inconvénient car, comme la géographie, un travail de réappropriation de concept et des outils est effectué dans ces disciplines. Il est évident, au regard de ce qui précède, que les termes qui constituent le thème de ce travail de recherche peuvent faire l'objet d'une interprétation plurielle. « Une même définition dans une même discipline peut cacher des paradigmes, méthodologies et enjeux différents, voire divergents ou contradictoires, et une même posture théorique dans deux disciplines différentes peut recourir à des mots différents » (Langlois, 2005 ; Somé, 2010). Il convient, en raison des interprétations auxquelles ils sont sujets, de les redéfinir dans le contexte de cette étude. De prime abord, trois concepts sont essentiels : la modélisation, l'analyse spatiale et le SIG.

1.2.1 Modélisation : Définition et type.

Les données environnementales et épidémiologiques peuvent être mises en correspondance dans un Système d'Information Géographique grâce à leurs attributs spatiaux (Guis, 2007). « Le terme modélisation désigne à la fois l'activité de produire un modèle et le résultat de cette activité » (Langlois et Reguer, 2005). « La modélisation est l'art ou la science de produire des modèles au sens fort et de hisser au rang de modèles des observations rassemblées, c'est-à-dire d'identifier les éléments majeurs et les relations les plus assurées qui expriment ou bien la structure d'un objet particulier, ou bien la structure commune à des objets d'une même classe » (Brunet et *al.*, 1993). Le modèle, est « une structure formalisée pour rendre compte d'un ensemble de phénomènes qui possèdent entre eux certaines relations » (Sanders, 2001). Cela fait allusion aux relations entre des objets au sein d'une structure. Elle présuppose une totalité et une interdépendance entre les éléments d'un système. Cette totalité n'est pas le fruit du hasard. Cette acception du modèle renvoie à la notion de système et donc à la perspective holistique. C'est le modèle - structure. « Nous ignorons si ce que nous disons est vrai, mais nous savons que cela a un sens » (Langlois et Reguer, 2005). La modélisation se situe ici dans une démarche de construction de la structure logique, du fonctionnement d'un phénomène conçu comme système. Un modèle est une « représentation schématique d'un processus, d'une démarche raisonnée » (Guermond, 2005). C'est une « représentation idéalisée du monde réel construite pour démontrer certaines de ses propriétés » (Haggett, 1965 in Brunet, 2000). Le modèle est également une « représentation formelle et épurée du réel ou d'un système de relations à des fins d'interprétation » (Brunet, 2000). Cette seconde acception du modèle renvoie à la notion de modèle - schéma, une représentation graphique. Elle consiste donc à « associer à une formalisation verbale (comme en mathématique, en physique, en chimie, en géographie, etc.) une formalisation graphique (comme un graphique associé à un graphe, un diagramme de phase associé à un système différentiel, un schéma moléculaire associé à une formule chimique, une carte associée aux valeurs d'un tableau statistique). Le modèle - schéma est une représentation du modèle - structure » (Langlois et Reguer, 2005 cité par Somé, 2010). Elle peut permettre la mise en forme empirique d'observations non encore expliquées. Dans cette perspective, « nous ignorons si ce que nous disons a un sens, mais c'est vrai »

(Langlois et Reguer, 2005). La démarche, dans ce cas, est de partir d'un jeu de données observées ou d'un système déjà formalisé pour construire une représentation d'un phénomène de façon à en simplifier soit la description, soit l'explication, soit l'interprétation. Quelle que soit la perspective, la modélisation procède de :

- la représentation qui est un exercice d'abstraction de la réalité. Elle aboutit à un schéma fidèle de la réalité mais qui lui est différent. La carte topographique en est une illustration presque parfaite ; elle est une représentation fidèle du territoire mais qui lui est différente ;
- la formalisation est synonyme de rigueur méthodologique et fournit un langage, un corpus de normes et un canevas pour la représentation d'un phénomène (Somé, 2010);
- l'interprétation : le modèle en tant que résultat d'un processus cognitif, débouche sur une interprétation c'est-à-dire qu'il doit donner un sens (Brunet, 2000).

Toute modélisation doit donc avoir pour objectifs de :

- comprendre : saisir les motivations qui ont un sens pour chaque homme ;
- expliquer : trouver une loi générale extérieure à l'objet ;
- interpréter : donner une signification par la mise en relation d'un champ de représentation (signifié) avec un autre (signifiant).

Le sens du concept de modélisation, dans ce travail de recherche, ne s'écarte pas du contenu qui lui est donnée ci-dessus. Il faut donc entendre par modélisation une démarche de construction d'un modèle. Le modèle est à la fois une structure formalisée pour rendre compte d'un ensemble de phénomènes qui possèdent entre eux des relations, et une représentation formelle et épurée du réel ou d'un système de relations à des fins d'interprétation.

Le processus de la modélisation, tel que défini, s'appuie sur une démarche scientifique qui comprend à la fois le choix des données, le choix des échelles, de la métrique pour l'observation et la collecte des données, leur structuration, leur organisation. Pour cela, la modélisation recourt, d'une certaine façon, à d'autres modèles existants dans le cadre de disciplines scientifiques et techniques, utilisé dans ce travail, comme la biogéographie, l'entomologie, l'épidémiologie, la sociologie. La modélisation est donc difficile à envisager en dehors des cadres théoriques scientifiques qui ont fondé les hypothèses et les modes de raisonnement. Elle ne peut se réaliser non plus sans les outils techniques et méthodes

d'opérationnalisation de la conception. Dans le cadre de cette étude, l'analyse spatio temporelle constitue un des cadres méthodologiques de la modélisation.

1.2.2 L'analyse spatiale et temporelle

L'analyse spatiale est l'étude formalisée de la configuration et des propriétés de l'espace produit et vécu par les sociétés humaines (Pumain et Saint-julien Thérèse, 1997). Elle est aussi un « ensemble de méthodes mathématiques et statistiques visant à préciser la nature, la quantité et la qualité attachées aux lieux et aux relations qu'ils entretiennent – l'ensemble constituant l'espace – en étudiant simultanément attributs et localisation » (Brunet, 2000). Elle « recouvre un ensemble de théories géographiques et de méthodes provenant de la physique, des mathématiques et de l'informatique » (Mathian et Piron, 2001). L'analyse spatiale est donc à la fois cadre de pensées et ensemble de méthodes.

En tant que cadre de pensées, elle considère l'espace à la fois comme support d'existence et comme produit de l'action. A ce titre, l'espace peut servir de justification et d'explication scientifique autonome. En tant qu'ensemble de méthodes, l'analyse spatiale regorge de moyens (procédures, modèles, techniques, indices, etc.) qui permettent à la fois la transformation des données, leur analyse et leur interprétation d'un point de vue spatial. L'analyse spatiale est utilisée dans le cadre de cette étude à la fois comme méthode et technique de traitement de données (analyse des séries géostatistiques, choix des techniques d'estimation, d'extrapolation, etc.) et comme méthode d'analyse géographique. Elle doit permettre de montrer s'il existe une organisation / une structuration dans l'espace des populations d'*An. gambiae*, d'*Anopheles funestus*, d'*Aedes aegypti* et de *Culex quinquefasciatus* au Bénin. Elle devra, si cette organisation existe, fournir les outils pour mettre en exergue les facteurs d'organisation permettant d'expliquer la configuration observée. En liaison avec le concept de modélisation, il s'agit de trouver un modèle qui représente la façon dont les configurations spatiales des populations de moustiques vecteurs s'expriment. Ce modèle, doit permettre de les comprendre et de les expliquer. L'espace est une composante importante de cette modélisation, c'est pourquoi, l'analyse spatiale est retenue comme méthode. Encore faut-il des outils pour l'application des techniques !

L'analyse des changements est une des applications les plus répandues et les plus intéressantes de la télédétection. L'analyse des changements peut porter d'une part sur :

- **deux dates** : changement d'un état d'occupation du sol entre deux années, différence de température entre deux mois, etc.
- **plusieurs dates (séries temporelles)** : dans le domaine des images satellitales, ceci concerne notamment l'analyse du climat (variations climatiques à court terme, variations annuelles, anomalies climatiques, etc.)

Le moyen le plus simple d'évaluer un changement est de soustraire deux images prises à des dates différentes. Ces images peuvent être des indices (par ex. NDVI), etc. ;

D'autre part, et de manière plus générale, les changements peuvent s'analyser de deux manières :

- **qualitativement**, c'est-à-dire une analyse de l'évolution de la nature du phénomène étudié (changement de type d'occupation du sol, par ex.)
- **quantitativement**, c'est-à-dire en termes de degré de changement (élévation de la température, du niveau des mers, diminution de la couverture forestière, etc.)

I.2.3 Le système d'information géographique (SIG).

Un système d'information géographique (SIG) est un outil informatique permettant d'organiser et présenter des données alphanumériques spatialement référencées, ainsi que de produire des plans et cartes. Selon Thériault, (1995), le SIG est défini comme un ensemble de principes, de méthodes, d'instruments et de données à référence spatiale, utilisé pour saisir, conserver, transformer, analyser, modéliser, simuler et cartographier les phénomènes et les processus distribués dans l'espace géographique. Ses usages couvrent les activités géomatiques de traitement et diffusion de l'information géographique. La représentation est généralement en deux dimensions, mais on peut rendre cette représentation en 3D. Le rôle du Système d'Information Géographique est de proposer une représentation plus ou moins réaliste de l'environnement spatial en se basant sur des primitives graphiques telles que des points, des lignes, des polygones ou des maillages (raster). A ces primitives sont associées des informations attributaires telles que la nature (route, voie ferrée, forêt, etc.) ou toute autre information contextuelle (nombre d'habitants, type ou

superficie d'une commune par ex.). L'information géographique peut être définie comme l'ensemble de la description d'un objet et de sa position géographique à la surface de la Terre. Les SIG ont deux composantes structurelles :

- la composante utilisateur qui comprend les hommes et les projets ;
- la composante informatique qui regroupe les ordinateurs, les logiciels SIG et les périphériques spécifiques tels que les systèmes de radio positionnement, les scanners, imprimantes, tables à numériser, etc. (Somé, 2010)

Par sa composante utilisateur, le SIG sert de cadre d'organisation de la collecte de données et de leur structuration pour la formalisation de la distribution spatiale des vecteurs de maladies (*An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*). Par sa composante informatique, il offre à l'analyse spatiale des outils de structuration et de stockage des données en vue d'en faciliter l'accès. Il concentre des outils d'application des techniques (statistique, calcul d'indice, interpolation et estimation, représentation cartographique, etc).

Ce travail de recherche s'inscrit dans une démarche de construction d'une structure formalisée qui rende compte des relations spatiales entre les vecteurs de maladie et le milieu. Elle vise une représentation formelle simplifiée pour permettre d'expliquer, de faire comprendre les configurations spatio-temporelles observées. Cette synthèse permet non seulement une meilleure définition des objectifs, mais aussi d'inscrire cette étude dans un champ scientifique qui fournira les outils à la réalisation des objectifs.

1.2.4. Les indicateurs retenus pour la vérification des hypothèses de recherche

Souvent, plusieurs tests peuvent être utilisés pour répondre à la même question. Les conditions de leur emploi sont cependant plus ou moins restrictives, et leur puissance plus ou moins grande (un test plus restrictif étant généralement plus puissant). La vérification de la première hypothèse s'appuie sur un indicateur géostatistique utilisé en analyse spatiale : autocorrélation spatiale.

L'autocorrélation spatiale permet de mesurer l'influence que la proximité géographique ou temporelle peut avoir sur les valeurs attributaires observées sur des entités spatiales ou temporelles, le degré de dépendance spatiale et temporelle d'un processus ponctuel (Zaninetti, 2005).

Elle vérifie la loi de la proximité de Tobler d'après laquelle, toutes choses égales par ailleurs, les points voisins ont une propension plus grande à avoir des valeurs plus proches que les points éloignés.

Ce test est un préalable à l'utilisation d'un certain nombre d'indices. Une distribution autocorrélée présentera un biais dans l'estimation et l'interprétation d'un certain nombre d'indices et de tests statistiques. C'est pourquoi, il est indispensable de tester l'autocorrélation (Aubry, 2000).

Ce test est fait dans ce travail de recherche à partir de la méthode de concentration des valeurs « faible/forte (Getis – Ord Générale G) » et l'indice de Moran au seuil de signification de 95%. L'existence d'une structure spatiale dans la distribution de *An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*, en tant qu'hypothèse, repose sur la mise en rapport de la diversité des milieux et des exigences écologiques. Aussi, une confirmation de cette hypothèse renvoie-t-elle à une interrogation sur la caractérisation du milieu qui met en rapport les facteurs écologiques et les exigences des populations de *An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*, est l'essence même de la deuxième hypothèse.

La question qui se pose est : quels sont les paramètres qui déterminent la distribution spatiale de la population de *An. gambiae*, de *An. funestus*, de *Cx. quinquefasciatus* et de *Ae. aegypti* ? Ces paramètres s'entendent alors comme facteurs écologiques de distribution des espèces concernées. Pour cela, l'analyse des corrélations est mise à contribution. Elle servira de première base de tri de variables pertinentes entrant dans la définition de la niche écologique réalisée pour chaque espèce de moustique étudiée. Elle ouvre vers la modélisation de la distribution spatiale des quatre espèces concernées.

L'hypothèse relative à la mise en relation des facteurs environnementaux et la répartition spatiale des populations de *An. gambiae*, d'*An. funestus*, de *Cx. quinquefasciatus* et d'*Ae. aegypti* est plus envisageable. La régression ou l'analyse de la covariance (ANCOVA) sont des techniques statistiques appropriées pour cela. La régression met en équation les fréquences des espèces prises individuellement et les facteurs environnementaux. Elle permet d'évaluer la possibilité d'une prédiction des fréquences en fonction d'un ou de plusieurs paramètres environnementaux. Le seuil de confiance retenu pour la régression est de 95%.

Cette étude vise donc trois objectifs : la description de la distribution spatiale des espèces *An. gambiae*, *An. funestus*, *Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus*,

l'explication de cette distribution et sa formalisation. Elle s'appuie sur la biogéographie qui fournit les hypothèses. L'analyse spatiale et l'analyse statistique de données sont retenues comme méthodes de traitement de l'information pour la vérification des hypothèses.

1.2.5 Clarification des concepts

❖ L'autocorrélation spatiale

Anselin et Bera (1998) proposent une définition intuitive de l'autocorrélation spatiale: "*Spatial autocorrelation can be loosely defined as the coincidence of value similarity with locational similarity*". L'auto-corrélation spatiale est caractérisée par une corrélation entre les mesures géographiquement voisines d'un phénomène mesuré. L'auto-corrélation peut être positive, négative ou nulle. En d'autres termes, l'auto-corrélation spatiale positive se traduit par une tendance à la concentration dans l'espace de valeurs faibles ou élevées d'une variable aléatoire. En revanche, l'autocorrélation spatiale négative signifie que chaque localisation tend à être entourée par des localisations voisines pour lesquelles la variable aléatoire prend des valeurs très différentes. Enfin, l'absence d'autocorrélation spatiale indique que la répartition spatiale des valeurs de la variable est aléatoire.

❖ L'indice de Moran

En statistiques, l'indice de Moran (ou I de Moran) est une mesure de l'autocorrélation spatiale développée par Patrick A.P. Moran.

❖ Getis-Ord G_i^*

Cet outil identifie des agrégats spatiaux statistiquement significatifs de valeurs élevées (hot spots) et de valeurs faibles (cold spots).

Les résultats de score z et de p valeur sont des mesures de signification statistique qui indiquent si l'on peut rejeter l'hypothèse nulle. Plus le score z est élevé (négatif ou faible), plus l'agrégation est intense. Un score z proche de zéro indique qu'aucune agrégation spatiale n'est apparente.

❖ Géostatistique

Etude des variables numériques réparties dans l'espace à l'aide de méthodes mathématiques d'évaluation statistiques.

❖ **Interpolation**

Processus de prédiction intelligent où l'investigateur et le SIG essayent de faire une estimation raisonnable de la valeur d'une zone continue à des endroits où le terrain n'a pas été mesuré.

❖ **Interpolation par la méthode IDW (Inverse Distance Weigthing)**

C'est une méthode d'interpolation déterministe. Elle s'appuie sur la Loi de Tobler, dite première loi de géographie : "Tout est lié à tout le reste, mais les choses plus proches ont plus d'influence que les choses distantes" ("Everything is related to everything else, but near things are more related than distant things"). IDW ne fournit pas les erreurs-types de prévision, ce qui justifie que l'utilisation de ce modèle peut être problématique.

❖ **Interpolation polynomiale locale (LPI)**

L'interpolation polynomiale locale est une méthode se basant sur des polynômes d'ordre 1. Elle consiste à attribuer à chaque point cible une combinaison linéaire des quatre points sources les plus proches de son antécédent par la transformation inverse.

❖ **L'interpolation polynomiale globale (GPI)**

L'interpolation polynomiale globale est une méthode d'interpolation qui cherche une surface lissée la moins déformée possible passant par tous les points du set d'échantillons. (Processus physique comme la pollution et la direction du vent). En outre, les surfaces calculées sont très sensibles aux valeurs aberrantes (valeurs extrêmement élevées et basses), en particulier sur les bords.

❖ **Le Krigeage, ou Kriging en anglais,**

Le Krigeage est une méthode d'interpolation de type spline, mais qui comporte des outils de décision quant aux paramètres utilisés. Le Krigeage met en jeu différents aspects pour modéliser un phénomène physique. L'un d'eux est le lien entre réalité modélisée, qui peut être évaluée de façon subjective (jugement de l'analyste) et la réalité mathématique, qui est évaluée avec des méthodes mathématiques précises. Dans le cadre de la méthode géostatistique du krigeage, la prise en compte des caractéristiques spatiales naturelles de la donnée se fait à l'aide d'une analyse

variographique encore dénommée analyse structurale. Cette analyse est fondamentale pour le choix du modèle d'interpolation à appliquer aux données expérimentales. L'analyse variographique permet de quantifier la variabilité spatiale de la variable interpolée à partir des valeurs observées et en fonction de la distance qui les sépare.

❖ Fonctions de base radiale (RBF)

Les fonctions de base radiale correspondent à une série de techniques d'interpolation exactes, autrement dit, la surface doit traverser chaque valeur d'échantillonnage mesurée. Cependant, les techniques ne sont pas appropriées lorsque des changements importants dans les valeurs de surface se produisent sur de courtes distances et / ou lorsque vous pensez que l'échantillon de données est sujette à erreur ou d'incertitude.

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES MOUSTIQUES ET LES MALADIES VECTORIELLES.

«La modélisation en géographie commence par deux questions inévitables et associées : où sommes nous? Qu'est-ce qui a des chances d'être en jeu ? » (Brunet, 2000). Ce chapitre vise à répondre à ces deux questions. Son objectif est de présenter le champ d'application de ce travail de recherche. La connaissance du champ d'application (les moustiques et la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito) est indispensable non seulement à la conception d'une méthodologie opérationnelle, mais aussi à l'interprétation des données. Nous y donnons également une présentation des maladies vectorielles puisque ces maladies confèrent à cette étude un caractère utilitaire par son engagement dans une problématique d'actualité sur les questions de santé. Ce chapitre est composé de trois sections : la première est un exposé sur les maladies vectorielles à moustiques (Anopheles, Culex et Aedes) vecteurs respectivement du paludisme, de la fièvre jaune et de la fièvre dengue. La deuxième est consacrée aux caractères distincts entre culicins et anophélins enfin, la troisième fait une présentation de la bioécologie des moustiques.

2.1 Les maladies vectorielles transmises par les moustiques.

Le paludisme (ou *malaria*) est une maladie endémique qui sévit de façon continue dans les régions tropicales et subtropicales de l'Afrique, de l'Asie du sud et du sud-est et de l'Amérique du sud. Il doit son nom au mot latin *palus* (= marais) ou au mot italien *malaria* (= mauvais air). C'est une maladie infectieuse due à des parasites protozoaires du genre *Plasmodium*. Ces parasites sont transmis d'un individu à l'autre par les femelles des moustiques du genre *Anopheles*. Il existe quatre espèces de *Plasmodium* capables d'infecter l'homme : *Plasmodium falciparum*, (Welch, 1897), *P. vivax*, Grassi et Felletti, (1890), *P. malariae*, Laveran, (1881) et *P. ovale*, Stephens, (1922).

Les principales espèces vectrices du paludisme en Afrique tropicale, sont principalement : *An. gambiae*, *An. funestus*, *An. arabiensis*, *An. moucheti*, et *An. nili* (Tatiana, 2008). Au Bénin, le vecteur dominant est l'espèce *An. gambiae* (Afolabi, 1996 cité par Tatiana, 2008). Le paludisme demeure un véritable problème de santé publique et constitue un frein au développement du Bénin, de par les pertes

en vies humaines, en coûts directs et indirects des soins, en journées de travail perdues. Première cause de recours aux soins (37 %) dans nos formations sanitaires, le paludisme constitue un problème de santé grave qui ne pourra être contrôlé que si nous œuvrons à l'harmonisation et à la conjugaison de nos efforts (PNLP, 2011).

-La filariose lymphatique est une maladie parasitaire due à l'infection par *Wuchereria bancrofti* ou plus rarement *Brugia malayi*. La transmission se fait par un moustique vecteur du genre *Culex*, *Anopheles*, *Aedes* ou *Mansonia*. La maladie a été reconnue depuis l'antiquité et a été décrite dans les manuscrits anciens de Chine, du Japon, de Perse et de l'Inde. Les manifestations cliniques les plus dramatiques, caractérisées par l'éléphantiasis et l'hydrocèle ont été associées à l'agent causal dès le XIXe siècle par P. Manson. La maladie est actuellement répandue surtout en Asie (sous continent indien et Asie du sud), en Afrique, dans les îles du Pacifique et en Amérique centrale et du sud. L'efficacité de la diéthylcarbamazine dans le traitement de l'infection filarienne a été reconnue dès le milieu du XXe siècle et ce médicament a été retenu par plusieurs pays pour le traitement de la filariose

2.1.1 Le paludisme dans le monde et au Bénin

Le Paludisme est la maladie la plus répandue dans le monde. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S), 102 pays y sont exposés. Plus de 40% de la population mondiale, soit plus de deux milliards de personnes, vivent dans des régions à risque. Quelques 300 millions de cas cliniques de paludisme sont enregistrés chaque année dans le monde entraînant près de 1 à 1,5 millions de décès par an. Près de 90% de ces décès sont enregistrés en Afrique subsaharienne où les plus touchés sont les enfants de 0 à 5 ans et les femmes enceintes (OMS, 1999). La zone intertropicale dont fait partie le Bénin est une région dont la situation environnementale et sanitaire est essentiellement caractérisée par des pathologies tropicales variées, avec une prédominance des affections endémo-épidémiques dont la plus importante est le paludisme. En Afrique et particulièrement au sud du Sahara, le paludisme est la plus importante maladie de toutes les affections parasitaires. Toutefois on estime que le nombre de cas de paludisme a diminué de 244 millions en 2005 à 225 millions en 2009. Le nombre de décès dus au

paludisme est estimé avoir diminué de 985 000 en 2000 à 781 000 en 2009 (OMS, 2010). La gestion du paludisme est un problème essentiel de santé publique mais aussi de développement au Bénin ; ce qui explique que le Ministère de la Santé en ait fait une maladie prioritaire. Au Bénin, en 2009, L'incidence du paludisme pour 100 habitants était de 15,2% (SNIGS, 2009). Ce taux est estimé à 49,3% chez les enfants de moins d'un an, et 26,9% de 1 à 4 ans et 8,9% pour les 5 à 14 ans SNIGS, (2009). L'évolution de la létalité du paludisme se présente en dents de scie de 2002 à 2009 avec une moyenne de 8,8% (SNIGS, 2009).

La prise en charge du paludisme passe par la confirmation biologique des présomptions cliniques, soit par les tests de diagnostic rapide pour les centres de santé ne disposant pas de laboratoire et la communauté, soit par la goutte épaisse dans les laboratoires (DN, 2011). Les cas confirmés doivent être traités avec des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine CTA (artéméther luméfantrine ou artésunate amodiaquine) (DN, 2011). Si lutter contre le paludisme suffit à lui seul à réduire de 40% les affections du secteur de la santé ; si les cas de paludisme constituent des raisons valables d'absentéisme à l'école et d'absence des mères d'enfants à leur poste de travail ; alors lutter contre le paludisme c'est lutter contre la pauvreté comme le stipule l'objectif 06 des OMD.

Cette réalité a été si bien comprise par le gouvernement, qu'en mai 2011, le chef de l'Etat a décrété la gratuité des soins de prise en charge des cas de paludisme aux femmes enceintes et aux enfants de moins de 5 ans Stratégie de mise en oeuvre de la gratuité de la prise en charge des cas de paludisme (DN, 2011).

2.1.2 Le cycle de transmission du paludisme

Le cycle de développement des *Plasmodium* comporte deux phases : une chez le moustique et une autre chez l'Homme (Somé, 2010).

Le moustique, l'hôte définitif, est une femelle appartenant au genre *Anopheles*, vecteur exclusif de cette maladie. L'homme, hôte intermédiaire, est le seul hôte réservoir. Ces acteurs sont en fait liés par le cycle de développement du parasite (figure 2). Au cours de son repas sanguin, la femelle anophèle inocule à l'homme la forme infectante du parasite: les sporozoïtes. Ces sporozoïtes passent dans le sang puis migrent vers le foie via les vaisseaux sanguins. La phase exo érythrocytaire se met en place. Les sporozoïtes envahissent alors les hépatocytes et s'y multiplient. Ils

évoluent en schizontes contenant plusieurs milliers de jeunes parasites appelés mérozoïtes. Puis la cellule éclate, libérant ainsi les mérozoïtes qui pénètrent alors les hématies par endocytose pour poursuivre leur développement. La phase suivante est dite érythrocytaire. Les mérozoïtes peuvent évoluer en trophozoïtes puis en schizontes qui libèrent à nouveau des mérozoïtes (étape cyclique), ou bien évoluer en gamétocytes. Ces derniers se différencient en gamétocytes mâles et femelles et sont ingérés par un anophèle femelle au cours du repas sanguin. C'est cette étape qui permet au moustique de devenir infectant et de représenter un danger pour l'homme, car contrairement à ce dernier, le moustique ne pâtit pas de la présence du parasite dans son organisme. La première phase au sein du moustique est la phase sporogonique. Les gamétocytes parviennent dans l'estomac du moustique où ils se transforment en gamètes. Les gamètes femelles sont fécondés et il en résulte un zygote qui évolue en ookinète. Ce dernier s'implante au niveau de la paroi stomacale et évolue en oocyste. Une division méiotique et plusieurs mitoses conduisent au développement de sporozoïtes. L'éclatement de l'oocyste libère ces éléments mobiles dans l'hémolymph. Ils gagnent ensuite les glandes salivaires du moustique, qui est alors infectant, et pourront être inoculés à l'homme avec la salive lors d'une prochaine piqûre. Il faut environ 10 à 18 jours, selon les conditions environnementales, pour permettre au parasite de finir son cycle sporogonique au sein du moustique (Yadouléon, 2011).

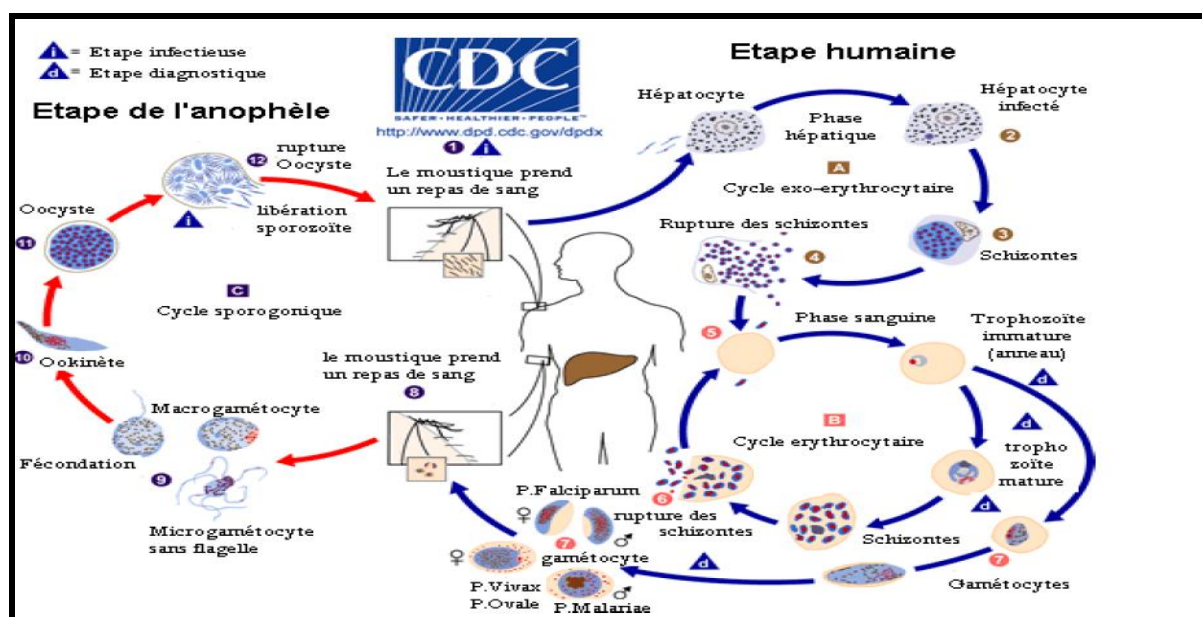


Figure 2: Cycle de développement d'un plasmodium : l'homme est l'hôte intermédiaire et l'anophèle est l'hôte définitif (WHO, 2009)

2.2 Caractères distinctifs entre les différents genres de moustiques et autres insectes.

2.2.1 Caractères distinctifs entre les moustiques et autres insectes.

- Distinction adultes de moustiques /adultes d'autres insectes.

Trois caractéristiques permettent de distinguer les moustiques adultes des autres insectes :

- une seule paire d'ailes
- un long proboscis (pièces buccales tubulaires).
- un corps couvert d'écailles (figure 4).

- Distinction œufs des moustiques /œufs des autres insectes.

Les œufs d'anophèles et de certains culicins, flottent à la surface de l'eau, ceux des autres insectes ne flottent pas mais sont fixés à la végétation ou placés sous des pierres ou d'autres objets.

Les œufs de certains Aedes se trouvent parfois dans les endroits qui peuvent s'assécher ; ils sont en effet capables de résister à la sécheresse pendant un certain temps.

- Distinction larves de moustiques /larves des autres insectes.

Les larves de moustiques se distinguent des larves des autres insectes par les caractéristiques suivantes :

Elles se tiennent juste en dessous de la surface de l'eau.

La tête est plus étroite que le thorax.

- Distinction nymphes des moustiques /nymphes des autres insectes.

Les nymphes de moustiques ont les caractéristiques suivantes :

Elles ont une forme généralement en virgule

Elles pendent juste en dessous de la surface de l'eau ;

Elles nagent très rapidement si elles sont dérangées.

2.2.2 Caractères distinctifs entre les différents genres de moustiques.

- Distinction œufs d'anophèles/ œufs de culicins

Les œufs de culex sont groupés en « radeau » ; les œufs d'aedes flottent séparément tandis que ceux d'anophèles sont pourvus de flotteurs.

- Distinction larves d'anophèles / Larves de culicinés.

- la larve d'anophèle n'a pas de siphon et se tient parallèlement à la surface de l'eau.
- la larve des culicinés a un long siphon et se tient obliquement par rapport à la surface de l'eau.

- Distinction nymphes des anophèles/ nymphes des culicinés.

Il est relativement difficile de distinguer les nymphes des anophèles et celles des culicinés sur le terrain .Il faut donc recueillir toutes les nymphes de moustiques, les ramener au laboratoire et les identifier. Les études au laboratoire montrent que les trompettes respiratoires des nymphes d'anophèles sont courtes et largement ouvertes tandis que celles des nymphes de culicinés sont longues et plus minces avec une ouverture étroite

- Distinctions anophèles adultes / Culicinés adultes.

Lorsque les moustiques sont vivants, on peut distinguer les anophèles des culicinés à leur position de repos.

Lorsqu'il est au repos, l'anophèle forme un angle de 50 à 90° avec la surface tandis que les culicinés sont plus ou moins parallèles au support (figure 4).

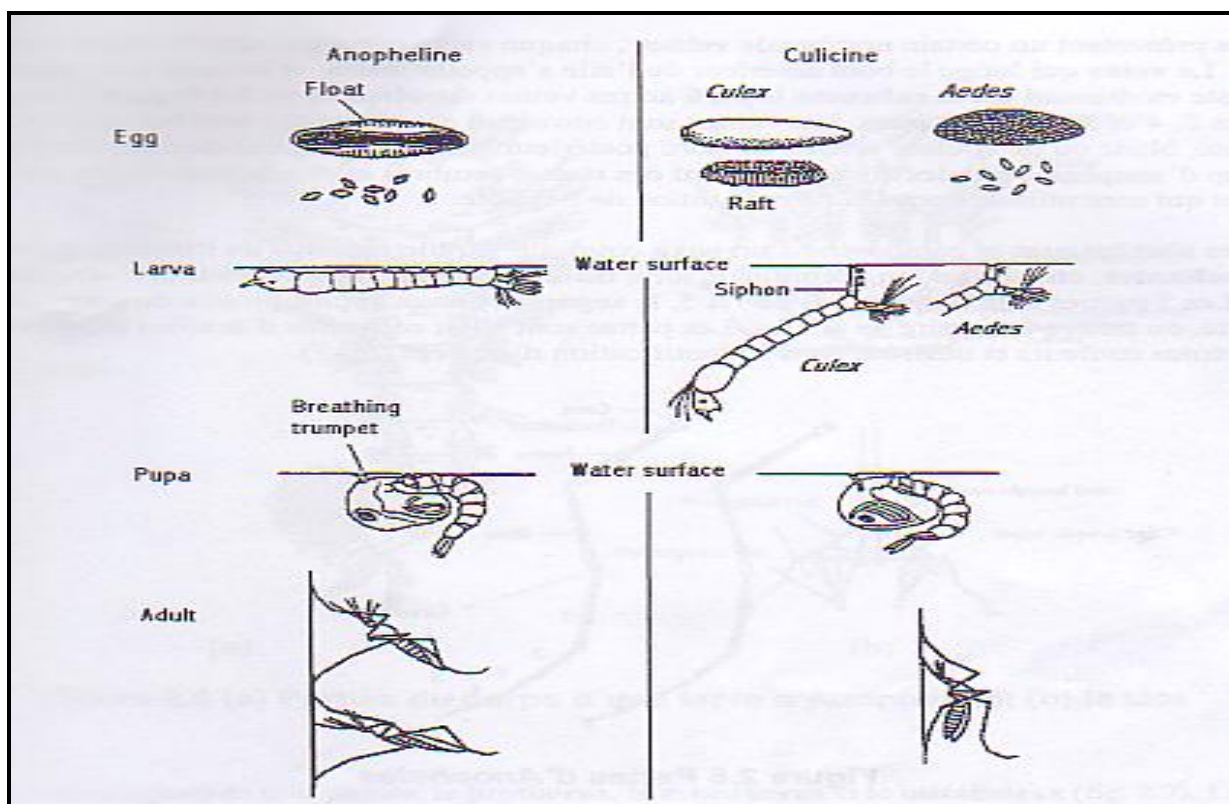


Figure 3 : différences entre moustiques anophélinés et culicinés

2.3 Bio-écologie des moustiques.

Connaître la bio-écologie d'une espèce est une condition *sine qua non* à l'étude de sa répartition dans un espace donné. Il est difficile de saisir les rapports entre un milieu et un organisme sans connaître l'offre écologique de ce milieu et les exigences vitales de l'espèce. Ce paragraphe est un exposé sur la bio-écologie d'*Anopheles gambiae*. Même si la connaissance de ce complexe d'espèces par rapports aux différents facteurs écologiques pris individuellement n'est pas toujours très précise, une synthèse de celle-ci constitue une avancée significative dans la conduite de ce projet de recherche. Ce point, consacré à la bio-écologie des anophèles, s'articule autour de la position zoologique de ces moustiques, de leur cycle de développement et de leur écologie à différents stades de développement.

2.3.1 La position zoologique

Les anophèles sont des arthropodes appartenant à la classe des Insectes, à l'ordre des Diptères, du sous-ordre des Nématocères et à la grande famille des *Culicidae*. Cette famille compte plus de 3 450 espèces et sous-espèces regroupées en trois sous-familles : la sous famille des *Toxorhynchitinae*, la sous-famille des *Anophelinae* et celle des *Culicinae*. Parmi ces sous-familles, celle des *Anophelinae* est constituée de 3 genres (*Bironella* ; *Chagasia* ; *Anopheles*). Le genre *Anopheles* est le plus important sur le plan médical. Il regroupe 400 espèces dont 70 sont des vecteurs de maladies humaines (Bruce-Chwatt et Zulueta, 1985). En Afrique subsaharienne, ce sont les membres du complexe *An. gambiae* et *An. funestus* qui sont les vecteurs majeurs du paludisme. Certaines observations faites sur l'écologie des vecteurs ont mis en exergue une hétérogénéité au sein de cette population *An. gambiae*. Les investigations ont révélé plus tard que *An. gambiae* est un complexe d'espèces (Somé, 2010).

2.3.2 Le cycle de développement des Anopheles

Les anophèles sont des holométaboles qui présentent quatre stades au cours de leur vie. Ces stades constituent le cycle de développement. Ce cycle de développement des anophèles est marqué par deux phases : une phase aquatique et une phase aérienne.

2.3.2.1 La phase de vie aquatique

Cette phase débute avec la ponte des oeufs à la surface de l'eau. Les oeufs au nombre de 30 à 300 par ponte sont déposés un à un à la surface de l'eau et flottent jusqu'à l'éclosion. Sous les tropiques, les oeufs éclosent habituellement 2 à 3 jours après la ponte Rodhain et Perez, (1985). La larve émerge en utilisant une « dent d'oeuf » placée en position postéro-dorsale sur sa tête. Elle possède les trois tagmes caractéristiques des insectes, c'est à dire la tête, le thorax et l'abdomen. La larve est dépourvue de pattes mais possède de nombreuses soies qui recouvrent tout le corps. Elle est capable de nager dans l'eau grâce à des mouvements ondulants de son corps. Elle respire l'air extérieur par des stigmates dorsaux situés à l'extrémité de l'abdomen, ce qui lui impose une position de repos parallèle à la surface de l'eau. Les larves ne se développent pas en continu, elles passent par quatre stades différents. La petite larve qui émerge de l'oeuf est appelée larve de premier stade ou larve de stade I. Elle mesure environ 1,5 mm de long et subit trois mues successives qui la transforment en larve de stade II, III et enfin de stade IV. La larve de 4^e stade mesure environ 8 à 10 mm de long. La vie larvaire dure de 8 à 12 jours dans des conditions favorables Rodhain et Perez, (1985).

La larve de quatrième stade, au terme de son développement, se transforme en une nymphe, dont la forme générale est celle d'une virgule. La nymphe ne se nourrit pas, elle représente un stade intermédiaire. Elle subit de très profondes transformations morphologiques et physiologiques pour donner un moustique adulte aérien après une période de 1 à 4 jours sous les tropiques Rodhain et Perez, (1985).

2.3.3.2 La phase de vie aérienne

L'adulte ou imago qui émerge de la nymphe est un insecte au corps long et grêle, doté de longues pattes et de longues pièces buccales en forme d'aiguille. Peu après leur émergence, les adultes (mâles et femelles) s'envolent et les femelles s'accouplent aussitôt avec des mâles plus âgés qui essaient au-dessus de l'eau. En général, les femelles ne s'accouplent qu'une seule fois dans leur vie, mais pondent périodiquement pendant toute leur existence. Les spermatozoïdes sont stockés dans une spermathèque où ils conservent leur pouvoir fécondant jusqu'à la mort de la femelle Bruce-Chwatt et Zulueta, (1985). Après 24 à 48 heures de vie adulte, la femelle va à la recherche de son premier repas sanguin. Elle a besoin de

sang comme source de protéines pour le développement et la maturation de ses oeufs. Dès la fin du repas, commence la digestion et simultanément les ovaires se développent. Les femelles gravides se mettent en quête d'un lieu favorable à la ponte. La fécondation de l'ovule a lieu lors de la ponte. Une fois qu'elles ont déposé leurs oeufs, elles retournent prendre un autre repas de sang pour aller pondre à nouveau et le cycle reprend. La longévité de l'adulte est estimée à une vingtaine de jours, guère plus d'un mois dans les conditions habituelles (Robert et *al.*, 1989). La période allant du repas sanguin à la ponte est appelée cycle gonotrophique. Elle dure environ 48 heures dans les conditions de températures comprises entre 23°C et 25°C (Bruce-Chwatt et Zulueta, 1985).

Le cycle gonotrophique comprend trois phases :

- la recherche de l'hôte et la prise du repas de sang,
- la digestion du sang et la maturation ovarienne,
- la recherche du lieu de ponte par la femelle gravide.

La ponte a lieu généralement au crépuscule. Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau des gîtes sont analysées par des chémorécepteurs situés sur les pattes (Somé, 2010).

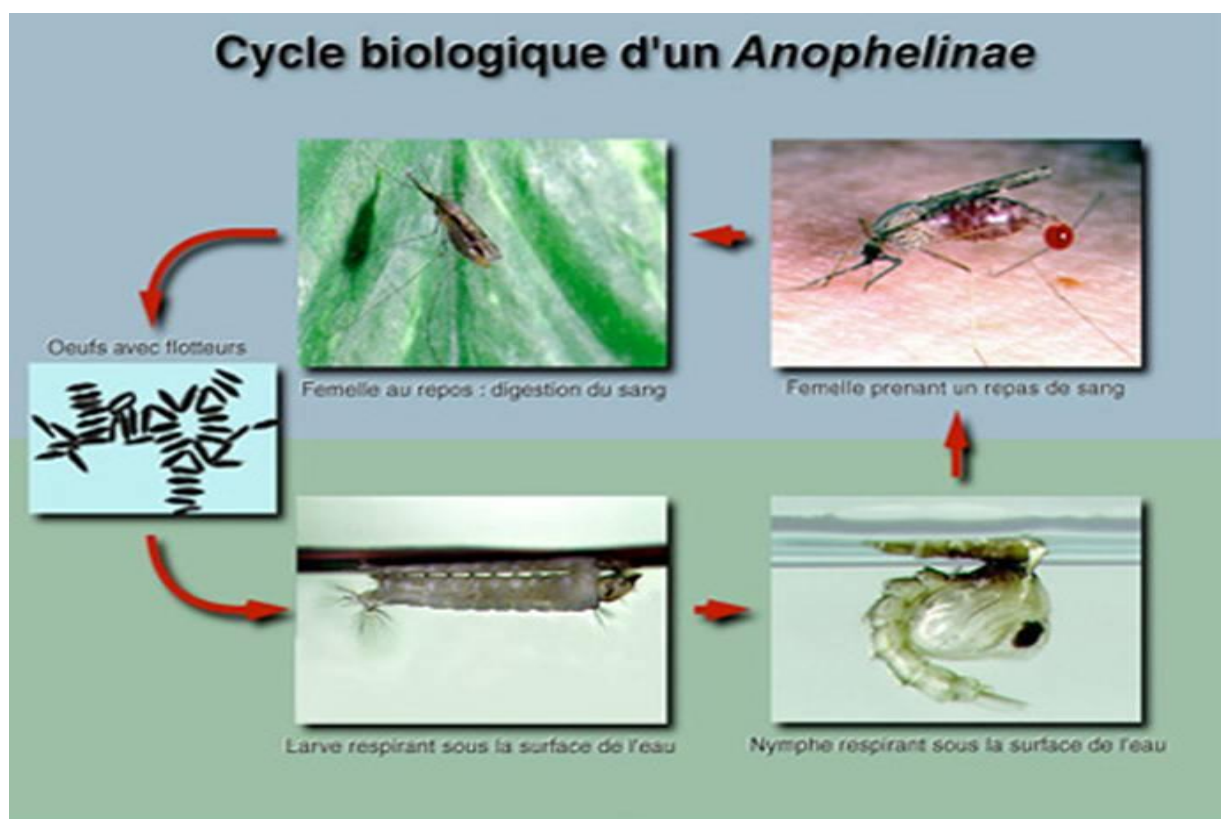


Figure 4: Cycle de développement d'un Anopheles (Yé, 2005)

2.3.3 L'écologie des adultes

Les anophèles sont actifs du coucher au lever du soleil. Toutefois, les heures d'agressivité maximale varient selon les espèces. Il y a également des variations dans les comportements trophiques. Certains moustiques piquent préférentiellement à l'intérieur des habitations, ce sont des endophages, d'autres préfèrent piquer à l'extérieur des habitations, ce sont des exophages. Les anophèles présentent également des choix pour leur repas sanguin. De nombreuses espèces d'anophèles se nourrissent à la fois sur l'homme et sur l'animal. Certaines espèces prennent leur repas sanguin principalement sur les animaux : ceux sont des zoophiles. D'autres ne se gorgent pratiquement que sur l'homme : ceux sont des anthropophiles. Les espèces anthropophiles ont un taux d'infection plus élevé que les zoophiles (White, 1974). Les vecteurs de paludisme sont inégalement repartis sur les continents. En Afrique subsaharienne, *An. gambiae sensu lato* et *An. funestus* sont les vecteurs majeurs du paludisme (Mouchet et Carnevale, 1991).



Photos 1: végétation favorable au repos des moustiques exophiles à Tanto dans la commune de Tori Bossito (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008)



Photos 2: habitat favorable au repos des moustiques endophiles à Abénihoué dans la commune de Kpomassè (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008)

C'est auprès de l'homme que ces moustiques trouvent les gîtes larvaires et les lieux de repos qui leur conviennent le mieux (Coluzzi, 2002; Gillies et Meillon, 1968). D'après Rajagopalan et *al.*, (1991), la plupart des anophèles se dispersent dans un rayon d'environ un kilomètre autour de leur gîte. Pour *An. gambiae* s.s., ce rayon de dispersion autour des gîtes varie en moyenne entre 1 et 1,6 km. Ce rayon est de 0,8 km pour *An. funestus* (Somé, 2010).

2.3.4 L'écologie des larves (stades pré-imaginaux) : caractéristiques des habitats larvaires

La connaissance de la bio-écologie des larves s'avère indispensable si l'on veut élaborer des stratégies efficaces de lutte antivectorielle.



Photos 3: habitat favorable aux larves d'*An. gambiae* à Abénihoué dans la commune de Kpomassé (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008).



Photos 4: habitat favorable aux larves d'*An. funestus* à Kpagoudin dans la commune de Ouidah (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008).



Photos 5: habitat favorable aux larves de *Cx. quinquefasciatus* à Hinmadou dans la commune de Kpomassè (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008).



Photos 6: habitat favorable au développement des larves d'*Ae. aegypti* à Tokoli dans la commune de Tori Bossito (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008).



Photos 7: habitat favorable au développement des larves de *Ma. africana* à Hla dans la commune de Tori Bossito (cliché BIO BANGANA Sahabi, 2008).

2.3.5 L'environnement des moustiques

L'environnement est une notion relative dont la perception effective est fonction d'une entité biologique de référence. C'est à partir des composantes initiales, modifiées par les organismes à mesure de leur implantation, que s'est progressivement constitué « un environnement », propre à l'ensemble biologique localement considéré (Lacoste et Salanon, 2006).

L'environnement ne peut se définir que par rapport à un organisme vivant (Somé, 2010). Les environnements de *An. gambiae*, de *An. funestus*, de *Ae. aegypti* et de *Cx. quinquefasciatus* peuvent être définis à partir d'une synthèse de leurs cycles de vie. Cette synthèse sur la bio-écologie des moustiques vecteurs de maladies nous permet de présumer des facteurs environnementaux qui peuvent influencer leur prolifération.

Très souvent, les facteurs climatiques comme les précipitations et les températures sont pris en compte. La disponibilité et l'accessibilité en eau sont deux autres paramètres importants, parce qu'elles interviennent dans la biologie des larves. La qualité de l'eau (taille, pH, salinité, écoulement, etc.) dépend du contexte physique. Ce sont autant d'éléments qui obligent à intégrer des paramètres tels que la topographie (altitude) et la disponibilité de la matière organique. La présence humaine (nécessité d'un repas sanguin pour la maturation des oeufs) et la végétation (alimentation en jus sucré, biotope des adultes, pédogenèse) interviennent aussi dans la définition de l'environnement du vecteur.

Les environnements de ces moustiques, simples à première vue, sont plus complexes qu'il ne le paraît. Cette complexité est liée à la nécessité d'une variation des exigences en fonction de leurs stades de développement doublée d'une variation en fonction des espèces concernées. Prendre en compte la forte variabilité saisonnière de certains paramètres environnementaux tels que la disponibilité en eau, le climat, conduit à un niveau très élevé de complexité. De plus, la mesure ou l'évaluation objective de certains paramètres ne sont pas évidentes, compte tenu de l'extension spatiale de la zone d'étude.

De cette présentation sur les moustiques, nous retenons qu'il n'y a pas un vecteur du paludisme, de la dengue....etc mais plutôt des vecteurs du paludisme, de la dengue au regard de la diversité des espèces qui composent les genres *Anopheles*, *Culex* et *Aedes*.

Les études sur la biologie et l'écologie des moustiques vecteurs de maladies sont très riches mais non spécifiques aux espèces ciblées dans cette étude. Ainsi, l'état de la connaissance sur la bio-écologie des moustiques vecteurs du paludisme et autres moustiques, est ouvert, et la définition d'un biotope précis pour les anophèles et autres moustiques, devient très complexe. A cette diversité spécifique des anophèles, s'ajoutent, pour une même espèce, des exigences écologiques variables en fonction du stade de développement. Le niveau de complexité devient alors très élevé et impose de réduire le champ d'investigation, d'où la limitation aux quatre espèces pré citées.

Le contrôle de la population vectorielle ne pouvant se concevoir en dehors de l'environnement de vie de celle-ci, il est indispensable de comprendre les déterminants mésologiques de distribution des *An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*.

CHAPITRE III : ZONE D'ETUDE ET APPROCHE METHODOLOGIQUE

Ce chapitre couvre les aspects portant à la fois sur la présentation de la zone d'étude, la collecte et le traitement des données, l'évaluation des indicateurs et la vérification des hypothèses. Il est structuré en quatre sections:

3.1 Présentation de la zone d'étude

La zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito est située au sud ouest du Bénin, entre 1°56'30" et 2°16'20" de longitude est et entre 6°18'30" et 6°38'20" de latitude nord. Elle est limitée au nord par la commune d'Allada, à l'est par la commune de Zè et la commune d'Abomey-Calavi, à l'ouest par les communes de Bopa, de Comé et de Grand-Popo et, enfin, au sud par l'Océan Atlantique. Sa superficie est de 783,763 km². Quelles sont les caractéristiques de cette zone sanitaire, tant au plan physique qu'humain, qui pourraient contribuer à mesurer et à expliquer la distribution spatiale des populations de moustiques?

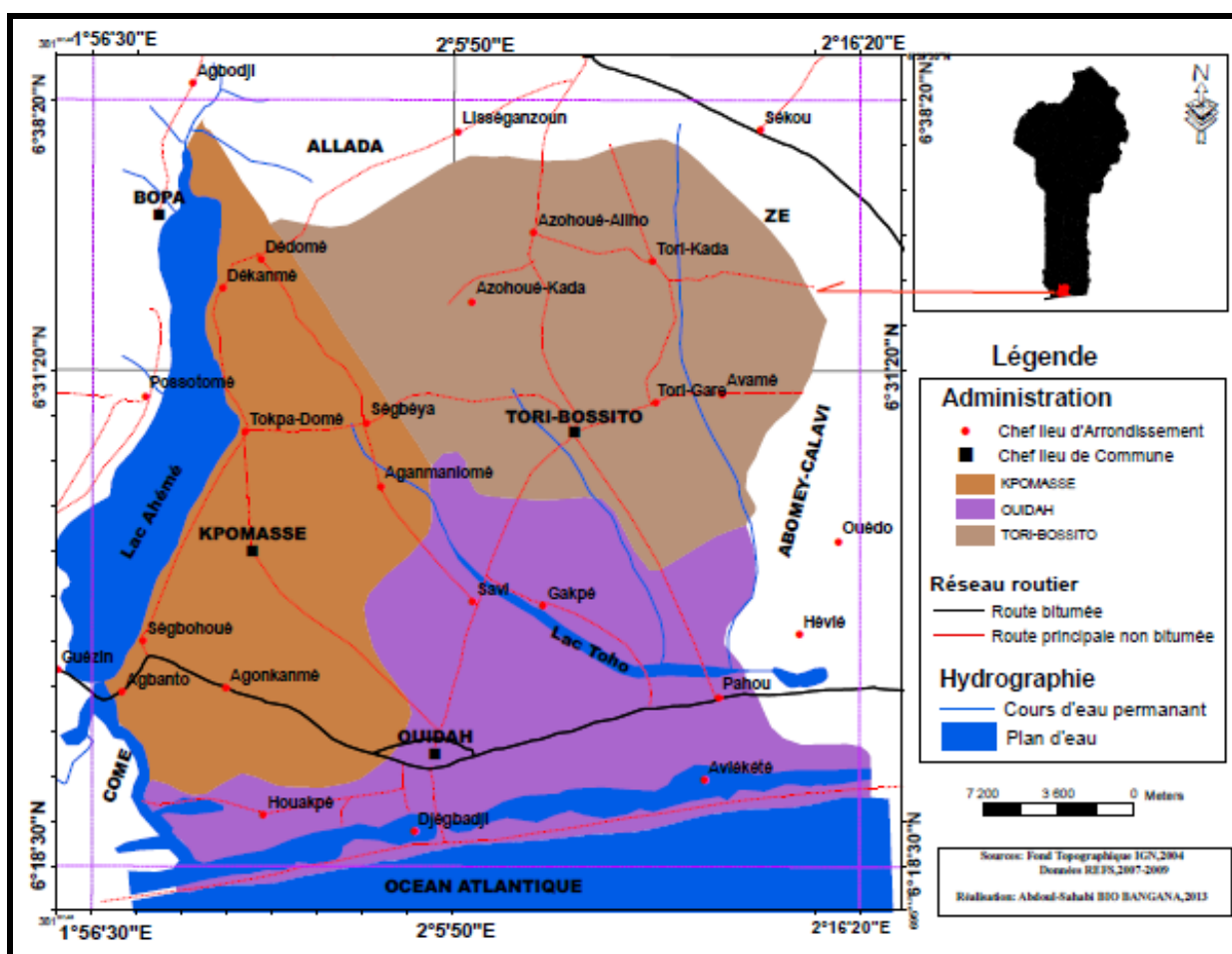


Figure 5: Carte administrative de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito

3.1.1 La Population et l'habitat

La population de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito était de 151 659 habitants en 1992 et de 178 314 habitants en 2002, et on estime cette population à 258 336 habitants en 2010 (MS, 2010).

Les Xuéda ont été les premiers habitants de la ville de Ouidah ainsi que de sa région. Les Fon d'Abomey y sont venus en grand nombre sous le règne du Roi Agadja, qui a conquis le royaume Xuéda de Savi, et a fait de Ouidah sa façade maritime en 1727.

La commune de Kpomassè est peuplée d'une diversité ethnique avec une dominance d'Adja. Les groupes socioculturels rencontrés sont les Adja, Pédah et assimilés (53.4%), Fon (40.4%), Yoruba (4.7%), Peulh (0.2%), Bariba (0.1%), autres (1.2%) (PDC Kpomassè, 2006-2010).

Enfin les groupes socioculturels de la commune de Tori Bossito présents sont : Les Aïzo (84%), Yoruba (1%), Adja (13%), et autres (1%) (PDC Tori Bossito, 2005-2009). Ces ethnies ont des organisations sociales et politiques différentes. Certaines sont des sociétés très hiérarchisées qui faisaient partie, avant la colonisation, de puissants royaumes. C'est le lieu de citer le royaume de Savi, le royaume d'Abomey, le royaume de Tori, etc.

Les vecteurs ont besoin de sang pour la maturation de leurs oeufs. Les moustiques sont attirés par le CO₂ (dioxyde de carbone) que dégagent les humains et les animaux, substance qu'ils peuvent détecter à plus de 6 mètres de distance. Ensuite, pour s'assurer que le CO₂ ne provient pas d'une voiture ou d'une cheminée industrielle, le moustique identifie les attractifs secondaires tels que la chaleur, l'acide lactique ou la vapeur d'eau, lesquels sont produits par les humains lors de la transpiration et de l'activité musculaire et sont libérés dans l'air par la respiration et par la peau (<http://www.infoinsectes.ca/bug/biting/3.aspx>). La densité humaine dans un milieu est donc susceptible d'augmenter le taux du dioxyde de carbone dans le milieu et donc d'attirer davantage les moustiques. L'alcool est une substance qui agit sur le cerveau et qui est capable d'entraîner une dépendance et des complications somatiques, sociales, psychiques. Dans le domaine de l'entomologie, les moustiques sont plus attirés par les consommateurs d'alcool que par les consommateurs d'eau (Lefevre, 2010).

Il est généralement connu que l'habitat est le point de rencontre privilégié entre le vecteur et l'homme. C'est le lieu des contacts les plus longs, simplement parce que l'habitat est l'endroit où l'hôte passe le plus de temps dans l'immobilité (sommeil), au moment le plus indiqué pour l'activité trophique de l'anophèle, à savoir la nuit. Il s'ensuit que l'habitat constitue, dans sa localisation, ses formes et son confort, un paramètre important dans la transmission du paludisme et son endémicité (Assoko, 2005).

Le milieu biophysique présente une organisation et une structure différentes. C'est l'objet de la suite de cette section consacrée à la présentation du milieu et qui s'articule autour de la géomorphologie, du climat, de l'hydrographie et de la végétation.

3.1.2 Le relief

La zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito se caractérise par un relief plat, quasi monotone. La localité la plus haute de la zone, culmine à plus de 78 mètres. L'altitude moyenne est de 39,62 m. Plus de 75 % de la zone se situe entre 12 et 101 mètres. A partir d'une altitude relativement élevée, la nappe phréatique est aussi profonde et oblige les populations à creuser des bassins de rétention d'eau pluviale véritables gîtes larvaires de moustiques (figure 6).

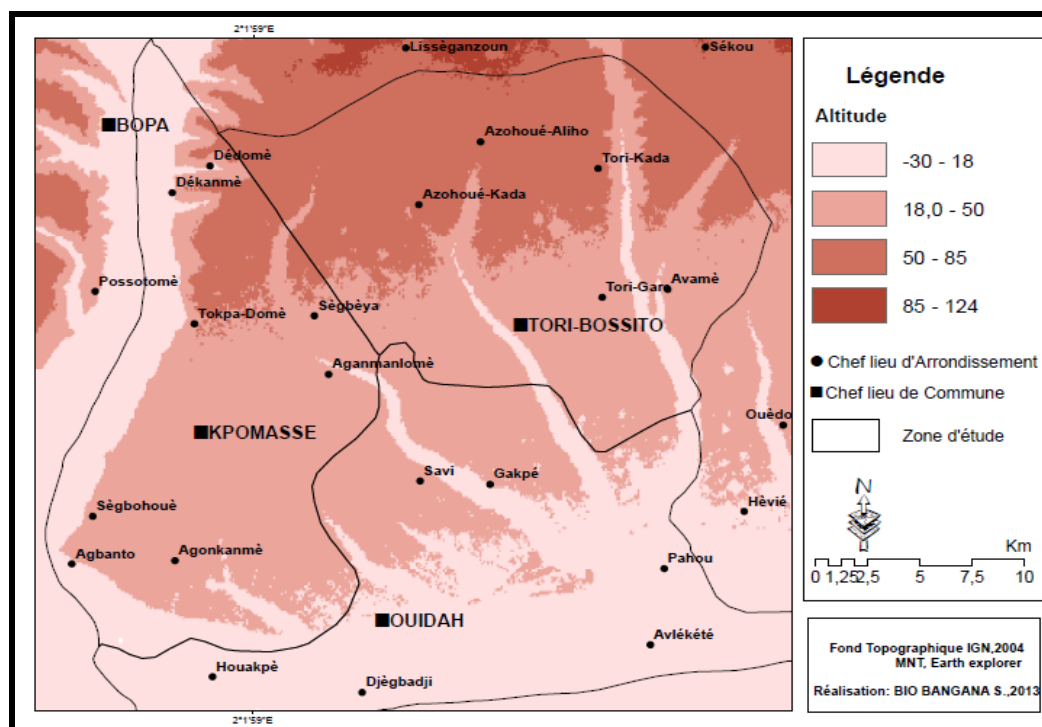


Figure 6: Carte de relief de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito

3.1.3 Les sols.

Les sols sont très diversifiés dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. La carte pédologique de cette zone sanitaire issue de la carte pédologique du Bénin (feuille Porto Novo au 1/200 000) compte 07 classes. La texture du sol peut favoriser la reproduction des moustiques, surtout lorsqu'elle se combine avec une humidité importante (Assoko, 2005). C'est notamment le cas dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito où le sol de type argilo-sableux présente une très faible porosité, favorable à la création des gîtes donnant ainsi aux moustiques des conditions favorables pour leur reproduction. Ainsi les sols, avec leur capacité de rétention durable d'eau à la surface sont importants dans une étude destinée à montrer à quel point la nature du sol dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito est un élément privilégié pour la reproduction des moustiques, leur survie et leur prolifération (figure 7).

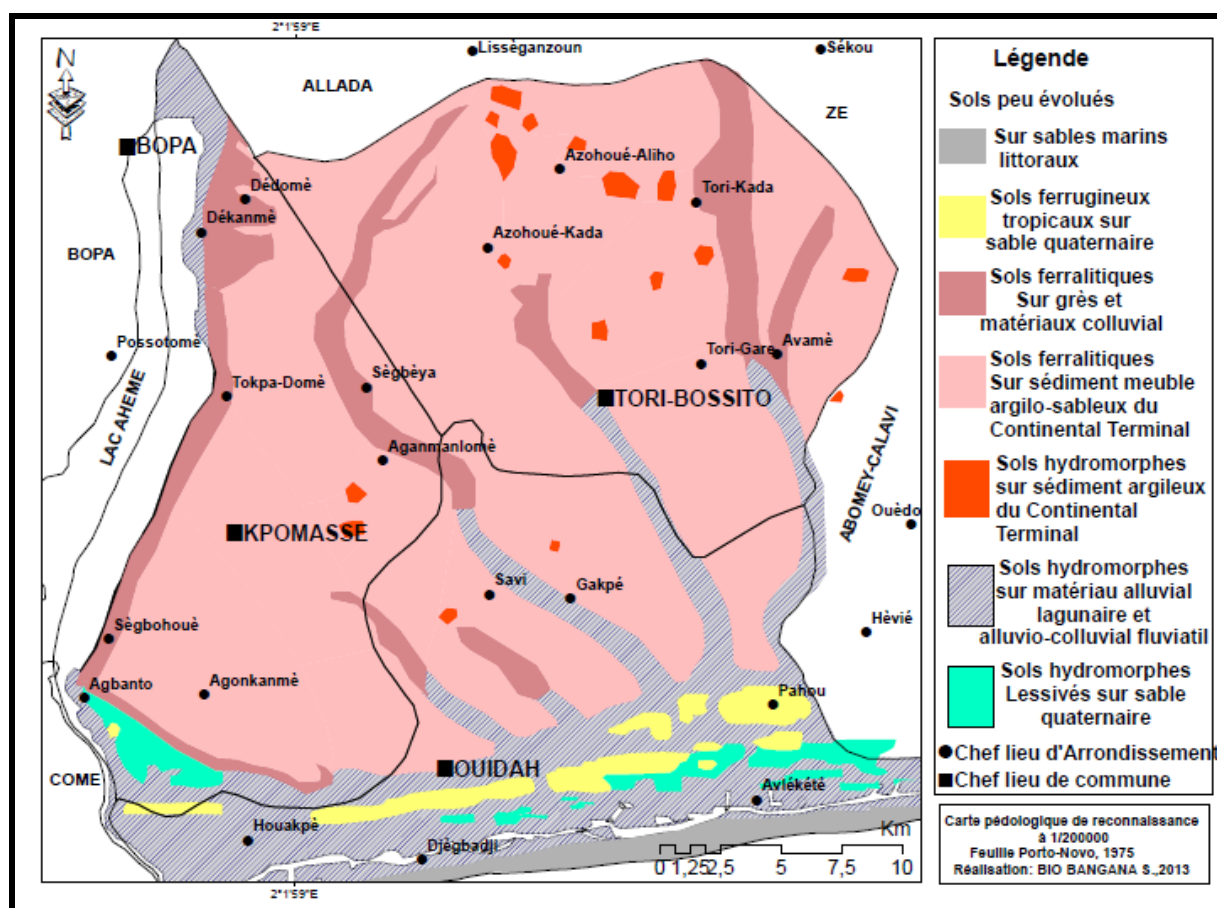


Figure 7: Carte pédologique de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito

3.1.4 Le climat

Les facteurs climatiques ont une influence marquée sur les moustiques adultes. Ce sont des composantes abiotiques qui font que l'activité des femelles responsables des nuisances est maximale dans des conditions précises de température, d'humidité relative et de vent, parfaitement réalisées par l'environnement à la Côte des Esclaves (Kermogant, 1906). Le climat, à travers les paramètres tels que la température, les précipitations, le nombre de jour de pluie et l'humidité relative, conditionne le taux et la durée d'éclosion des œufs. Il influence donc le potentiel reproductif des vecteurs. Aussi, la température et l'humidité relative élevées enregistrées lorsque les vents sont nuls ou faibles soufflant de la mer, représentent-elles les conditions les plus favorables ; au contraire, avec des vents de terre, froids et secs, les imagos quittent difficilement leur gîte de repos (Beaulaton, manuscrit inédit).

La pluviométrie moyenne annuelle est voisine de 1200 mm, dont 700 à 800 mm pour la première saison pluvieuse et 400 à 500 mm pour la seconde saison des pluies (ASECNA, 2008). De telles précipitations sont très favorables à l'existence des moustiques. Elles représentent en effet le principal facteur de submersion des gîtes à moustiques et elles sont en grande partie responsables des aires d'éclosion (A. Kermogant, 1906). On note une diminution des précipitations du sud vers le nord et de l'est vers l'ouest (Figure 8).

Les températures moyennes mensuelles varient entre 27° et 31° C. Les mois de février à avril sont les mois les plus chauds et les mois de juillet à septembre sont les mois les moins chauds (Figure 9). Les moyennes des températures maximales observées entre 2008 et 2009 sont toujours supérieures à 25° C pour l'ensemble des stations. Elles varient entre 26,9°C à Cotonou et Adjohoun à l'est et 27,3°C à Bopa au nord-ouest de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito (ASECNA, 2008 et 2009). Les minima sont enregistrés au mois d'août. Les recherches ont montré que la température a une influence sur le cycle de transmission du paludisme : par son élévation, elle raccourcit le cycle sporogonique, qui est le temps nécessaire pour qu'un moustique devienne infectant après s'être nourri du sang d'un sujet infecté. Elle intervient dans les mécanismes de survie des vecteurs : les moustiques vivent et

se développent mieux sous une température comprise entre 25 et 30°C (Assoko, 2005).

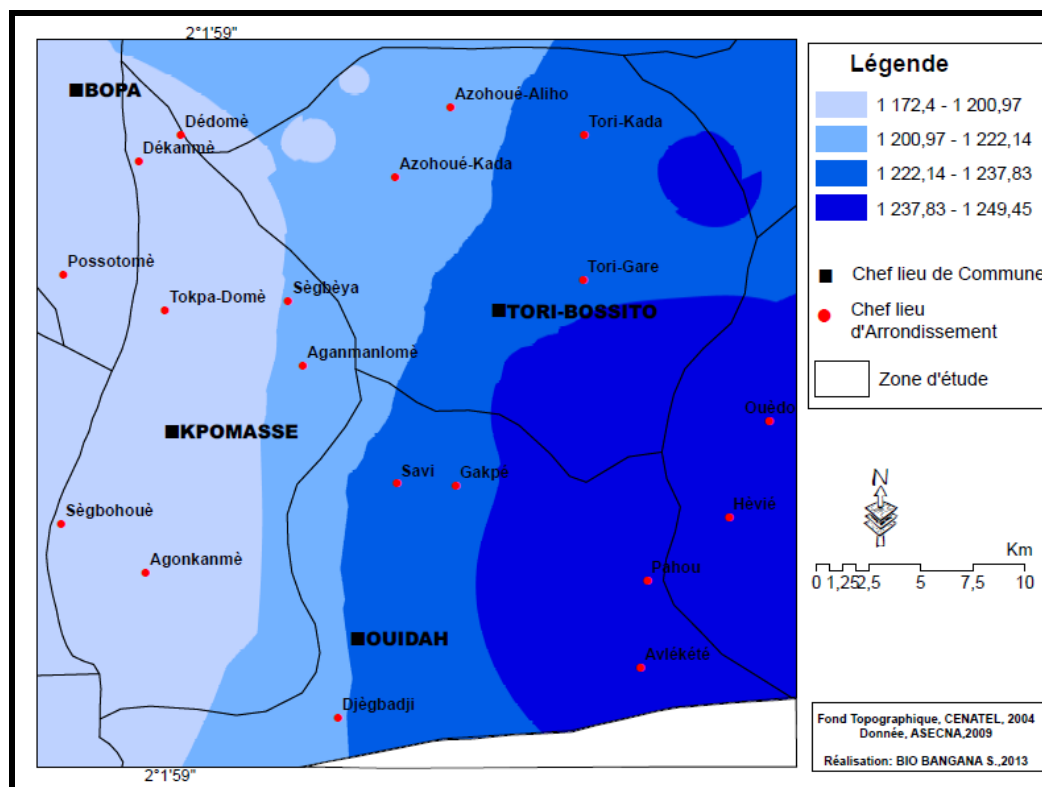


Figure 8: Carte pluviométrique de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito

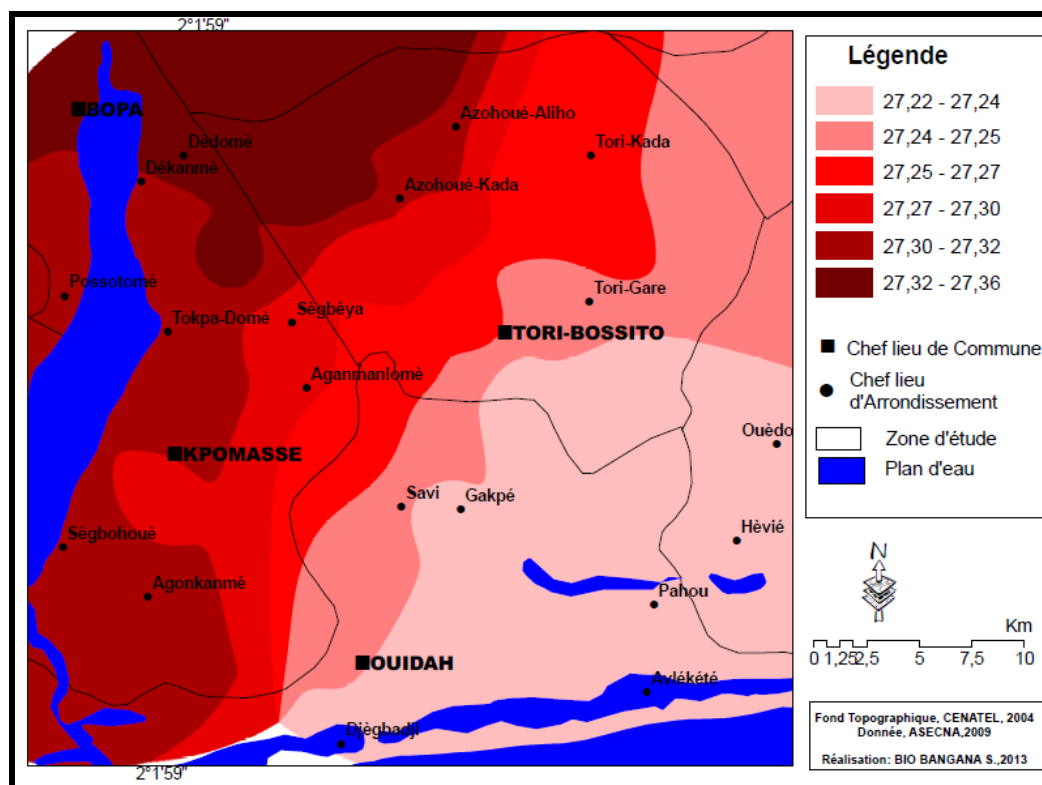


Figure 9: Carte de la variation thermique dans la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito

Une fois remplies les conditions de température (18° au moins), l'eau apparaît comme une donnée fondamentale tout à fait indispensable pour la reproduction des moustiques. Le milieu hydrique leur est indispensable pour la ponte ; leurs oeufs s'y transforment d'abord en larves, en nymphes ensuite avant d'accéder à l'étape d'insecte parfait.

La zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito est une zone chaude. Elle est caractérisée par des températures toujours élevées avec des amplitudes thermiques faibles.

Le climat, à travers les précipitations et l'évaporation, influence énormément la dynamique hydrologique.

3.1.5 L'hydrographie

Le réseau hydrographique de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito relève de trois bassins dont un international (le Mono) et deux nationaux (le Couffo et l'Ouémé) auxquels s'ajoute un système de lagunes et de lac. Sur la figure 12 ci-dessous, est présenté le réseau hydrographique de la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. Ce réseau est très diversifié.

Le lac Ahémé, un plan d'eau permanent de dimensions variables, communique avec la lagune côtière par le biais du chenal Aho et avec le fleuve Couffo par l'intermédiaire d'un petit delta marécageux (PDC Kpomassè, 2006-2010). Le réseau hydrographique à l'est de cette zone (Tori-Bossito) est peu fourni. Il est constitué essentiellement de marécages qui en période hivernale constitue de véritables plans d'eau. Ces marécages qui prennent leur source dans la Commune d'Allada traversent les arrondissements d'Avamè, de Tori-Cada, de Tori Gare et de Tori-Bossito (PDC Tori Bossito, 2005-2009).

Le réseau hydrographique dans le sud de la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito (Commune de Ouidah) est essentiellement caractérisé par un système lacustre et lagunaire dont les principaux plans d'eau sont : la lagune Djessin et le lac Toho. La lagune Djessin est alimentée par les fleuves Couffo et Mono. La production halieutique de ce réseau hydrographique est en baisse (SDAC Ouidah, 2004).

Ce réseau hydrographique de la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito est composé essentiellement de cours d'eau à régime pluvial tropical, fortement tributaire des précipitations. Ceux-ci sont, pour l'essentiel, intermittents, avec des écoulements qui s'arrêtent quelques jours à quelques semaines seulement après les précipitations.

Pendant l'étiage, le lac Ahémé connaît une intrusion marine, ce qui a un impact sur le plan écologique (modification du pH, de la salinité, de la turbidité, de la conductivité..etc). La salinisation du lac Ahémé par exemple peut créer des conditions écologiques impropres au développement des gîtes larvaires à *An. funestus*.

Le lac Toho renferme de l'eau douce qui est utilisée en grande partie pour l'irrigation d'une palmeraie de 400 ha.

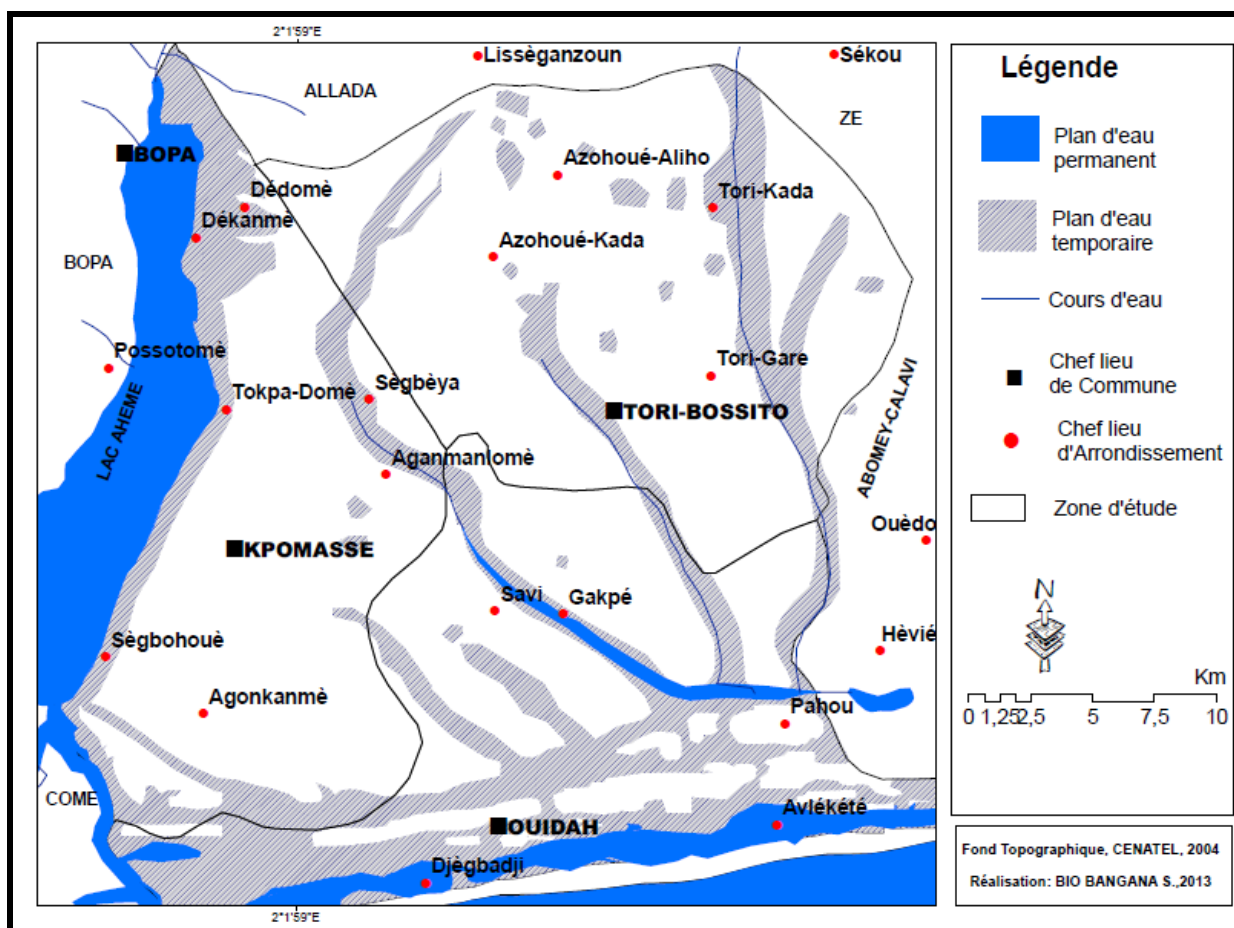


Figure 12: Carte hydrographique de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito (DGE, CENATEL, 2004)

L'organisation du couvert végétal est fortement influencée par le climat et l'hydrographie.

3.1.6 La végétation

La végétation naturelle de la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito relève du domaine sub-équatorial. Des différences de faciès sont perceptibles dans les différents domaines phytogéographiques (figure 11).

Le domaine subéquatorial est celui des forêts. Mais en raison d'une forte densité humaine dans la zone, cette forêt n'existe plus qu'en petits ilots d'extension négligeable.

Actuellement, la végétation est caractérisée par un bush arbustif, associé à des peuplements plus ou moins denses de palmiers à huile que l'on retrouve sur les plateaux, soit à l'état naturel, soit en plantations industrielles (Arrondissement de Gakpé). Cependant, on peut distinguer un certain nombre de formations végétales bien dressées :

- Les vallées des principaux fleuves, lacs et lagunes tels que le fleuve Couffo, le lac Ahémé, le lac Toho, la lagune de Ouidah, sont colonisées par des mangroves à *Rhizophora*, des prairies à *Typha australis* et à *Paspalum vaginatum* très denses.
- Les secteurs nord et ouest de la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito sont constitués pour l'essentiel de savanes fortement anthropisées du fait des densités de population élevées. Ils correspondent à des savanes arbustives à arborées. Ces secteurs renferment aussi des jachères, des cultures de maïs ou de manioc.
- les plantations industrielles de palmiers et de cocotiers sont disséminées un peu partout dans cette zone de même que les plantations forestières (Teck, Eucalyptus).

La végétation joue un rôle primordial dans la constitution des milieux. Elle intervient d'abord dans la pédogenèse en favorisant la sédimentation. L'écran qu'elle constitue et l'apport de matières organiques qu'elle fournit au substrat diminuent l'évaporation : de telles conditions sont favorables à la ponte et à la conservation des oeufs. Les moustiques adultes se nourrissent de jus sucré prélevé sur la végétation. Les berges des ruisseaux couvertes de végétation, rivières à cours lent et des marais avec leurs petites collections naturelles d'eau, sont des gîtes privilégiés de reproduction, entre autres de *Anopheles*.

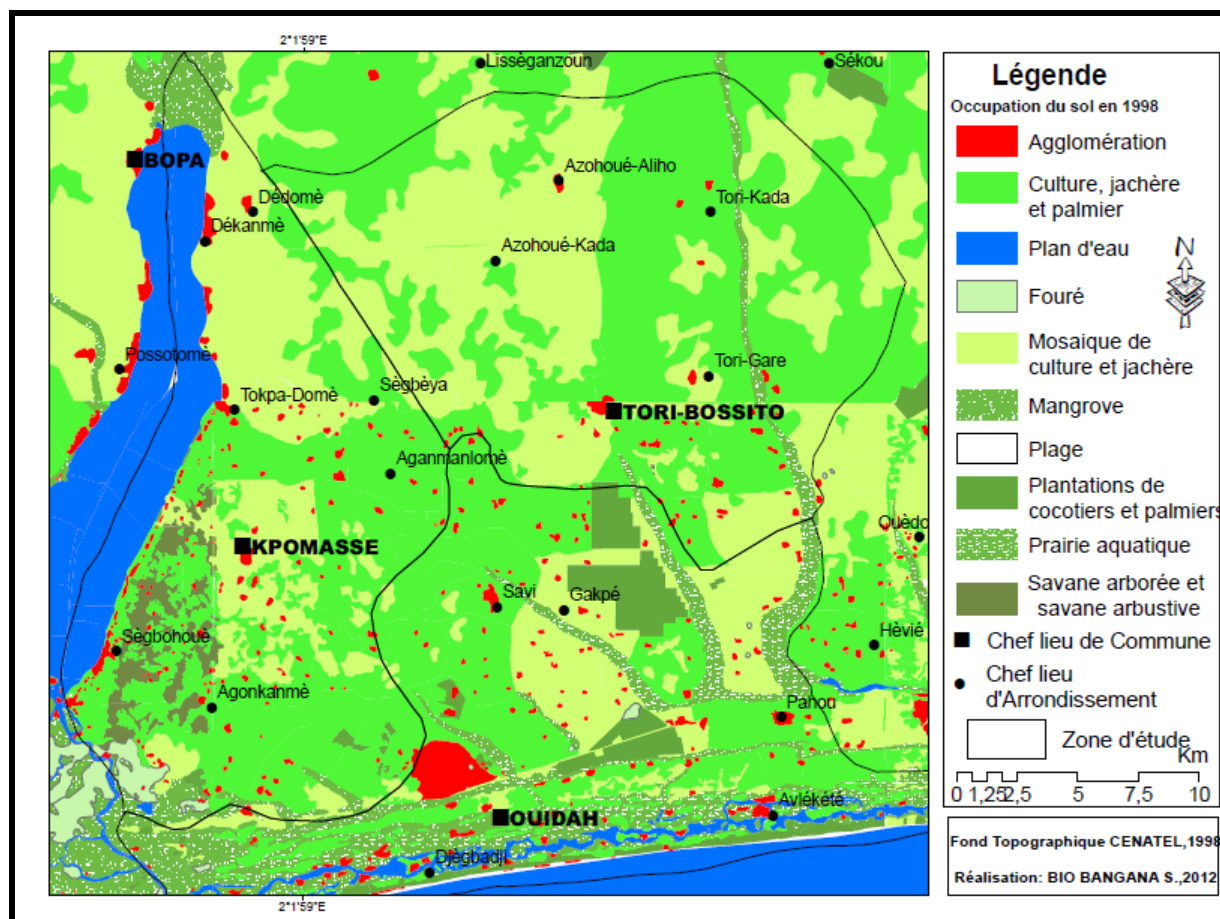


Figure 11: Carte de végétation de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito (CENATEL, 1998)

3.2 Univers des variables

L'univers des variables est l'ensemble des informations visant à caractériser le plus possible les phénomènes étudiés (figure 12).

La figure 14 présente trois grands groupes de facteurs qui contribuent à la distribution spatiale des espèces vectrices de paludisme et de filarioses : les facteurs actuels et passés (historiques), les facteurs internes à l'espèce et les facteurs externes à l'espèce. Dans le cadre de cette étude, l'intérêt est porté sur les facteurs externes. Ces derniers constituent le milieu dans lequel vivent les moustiques vecteurs. Une relation de cause à effet sera établie entre l'ensemble des facteurs externes et la fréquence de chaque espèce de moustique. Ces facteurs externes peuvent être subdivisés en trois sous ensembles : les facteurs géographiques, les facteurs climatiques et les facteurs biotiques.

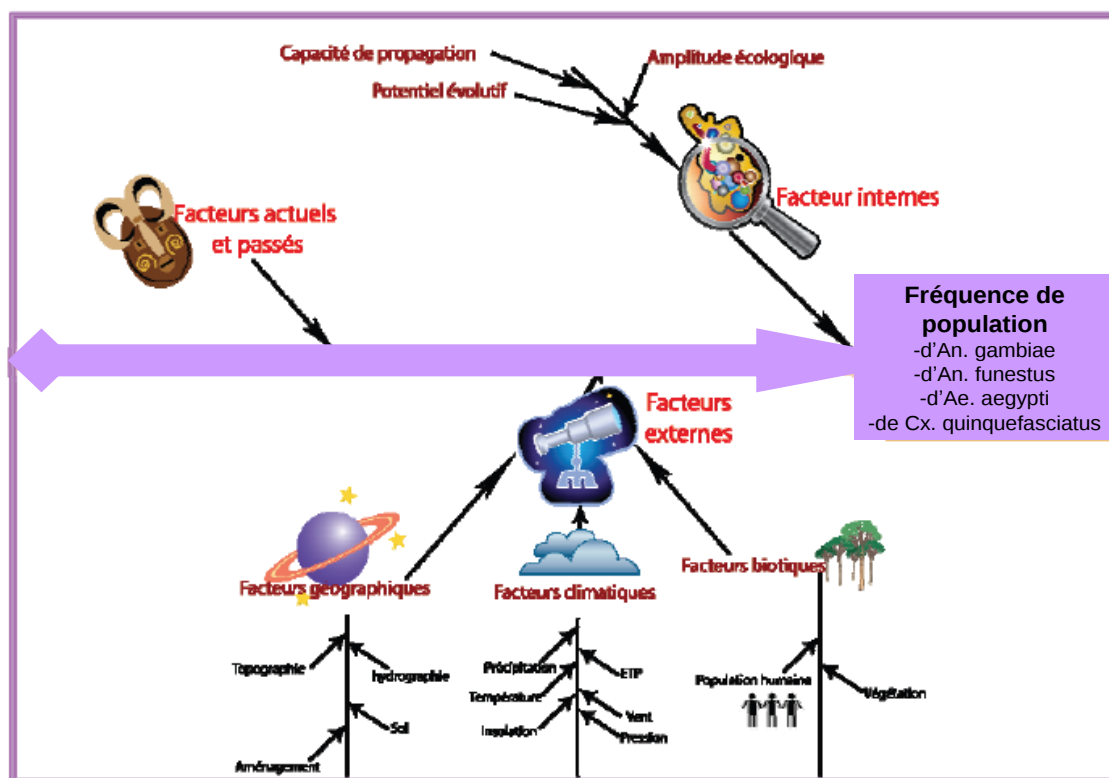


Figure 12: Diagramme d'Ishikawa des facteurs environnementaux influençant les fréquences de moustiques vecteurs de maladie, réalisation BIO BANGANA A. Sahabi, 2011.

3.3 Données collectées.

Les données sont variées et concernent plusieurs domaines : les données climatologiques, les données géographiques, les données biotiques, les données entomologiques, les données socio économiques et les données sanitaires.

- Les variables climatologiques

Regroupent la température, les précipitations, le nombre de jours de pluie, l'humidité relative, les vents, la visibilité et la pression de vapeur.

- Les variables géographiques

Réunissent l'hydrographie, le relief, les localités sont issues de la base de données sur l'hydrographie de la Direction Générale de l'eau, le Modèle Numérique de Terrain du CRU, de la Base de Donnée de l'INSAE (2002) et des données de recensement des hameaux effectué par le Projet REFS en 2007.

- Les variables biotiques

Constituées de la présence humaine et de la végétation (NDVI) sont issues respectivement du recensement de la population en 2007 par le projet REFS/ CREC et de l'image SPOT Végétation couvrant la période allant du 1er juillet 2005 au 31 octobre 2005 ont été retenues.

- Les variables entomologiques et sanitaires

Concernent les captures nocturnes de moustiques sur appât humain et les prospections larvaires. La collecte de ces données couvre la période d'octobre 2007 à décembre 2009. Toutes les six semaines, une mission de capture de moustiques était organisée. Au total, 17 missions entomologiques ont été effectuées. Les données épidémiologiques sur les hameaux proviennent de la composante parasito clinique du Projet REFS.

Certaines de ces données sont couramment utilisées par contre d'autres ont des contenus d'interprétations peu évidents par rapport à l'objectif de l'étude. D'où l'intérêt de préciser les unités, le contenu et leur apport dans l'écologie des vecteurs. Les variables que nous venons de citer sont synthétisées dans le tableau II

Tableau II : les variables, leurs unités de référence, leurs contenus et leurs apports dans l'écologie des vecteurs

Variables	Unités	Contenus	Apport dans l'écologie des vecteurs
Température	Degré Celsius	Degré de chaleur en un lieu	Limite de température tolérable, qualité des gîtes
Précipitation	Millimètre	Hauteur d'eau tombée dans un lieu	Quantité et qualité de gîtes larvaires
Nombre de jours de pluie	jour	Degré de stagnation de l'eau	Quantité et qualité de gîtes larvaires
Humidité Relative	pourcentage		Qualité des gîtes larvaires
Vent	Mètre/second	Vitesse du vent	Qualité des sites de repos
Visibilité	Mètre	Accessibilité aux gîtes de repos	Capacité migratoire
Pression atmosphérique	Hectopascal	Tension de vapeur	Qualité de l'atmosphère
Hydrographie	Mètre	Distance en tout point des cours d'eau. Elle exprime l'accessibilité à l'eau	Disponibilité de site des gîtes larvaires
Relief	Mètre	Altitude (hauteur par rapport au niveau moyen de la mer)	Profondeur de la nappe et construction des bassins de rétention d'eau pluviale.
Aménagement maraîcher		La diversité de l'occupation des terres	Disponibilité de gîtes larvaires de ponte, en gîtes de repos et repas sanguin
Localités	Mètre	Accessibilité par rapport aux implantations humaines	Disponibilité en repas sanguin
Végétation	Proche infrarouge/rouge	Intensité de la reflectance chlorophyllienne	Lieu de repos, alimentation des adultes surtout mâle
Présence humaine (densité de population)	Nombre d'habitants/Km ²	Densité de la population	Disponibilité du repas sanguin, création de gîtes larvaires domestiques
Population de <i>An. gambiae</i>	Nombre d' <i>An.gambiae</i>	Nombre d' <i>An.gambiae</i> en un lieu donné	Expression de l'adéquation aux exigences écologiques d' <i>An.gambiae</i>
Population de <i>An. funestus</i>	Nombre d' <i>An.funestus</i>	Nombre d' <i>An.funestus</i> en un lieu donné	Expression de l'adéquation aux exigences écologiques d' <i>An.funestus</i>
Population de <i>Ae. aegypti</i>	Nombre d' <i>Ae.aegypti</i>	Nombre d' <i>Ae.aegypti</i> en un lieu donné	Expression de l'adéquation aux exigences écologiques d' <i>Ae.aegypti</i>
Population de <i>Cx. quinquefasciatus</i>	Nombre de <i>Cx.quinquefasciatus</i>	Nombre de <i>Cx.quinquefasciatus</i> en un lieu donné	Expression de l'adéquation aux exigences écologiques de <i>Cx.quinquefasciatus</i>

3.4 Méthodes d'échantillonnages des hameaux d'intervention

Les travaux d'échantillonnage des hameaux d'intervention ont duré quatre mois (avril à juillet 2007). Nous avons eu auprès des chefs de village la liste de tous les hameaux. Ce qui nous a permis d'avoir auprès des populations tous les renseignements dont nous avons besoin. Au total, 850 hameaux et chefs lieu de villages ont été identifiés dans la zone sanitaire Ouidah- Kpomassè- Tori Bossito, avec des populations allant de 6 habitants à 700 habitants. Ne pouvant pas travailler dans l'ensemble des 850 hameaux et chefs lieu de villages, une méthode non probabiliste avec une technique de choix raisonné, nous basant sur des critères de sélection, a été définie. Ces critères de sélection sont les suivants :

- Hameau ne disposant pas d'un centre de santé dans le souci d'éviter les conflits entre les promoteurs de ces centres de santé privé et les gestionnaires du projet REFS
- Hameau dont la population estimée est comprise entre 350 à 400 habitants dans le souci de maîtriser les opérations de distribution des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action et des combinaisons thérapeutiques à base d'arthémisinine.
- Ecart de 2 km au moins entre deux hameaux choisis dans le but de ne pas capturer les mêmes espèces.
- Hameau dont les habitations sont très groupées pour la célérité des opérations dans les hameaux.
- Hameau géographiquement accessible pour le transport du personnel et du matériel de travail à l'aide d'un véhicule.
- Effectifs d'enfants de moins de 5 ans supérieurs à 60 dans le hameau pour respecter les exigences de la composante parasito-clinique du projet REFS.

Les 28 hameaux ont été choisis dans le cadre du projet REFS pour la mise en œuvre de l'intervention de lutte par le CREC. L'étude sur les déterminants environnementaux de la répartition spatiale des vecteurs est l'une des composantes de ce projet. Les coordonnées des 28 hameaux sont remises à l'équipe des entomologistes du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) en vue de la capture et du dénombrement des moustiques anthropophiles. Le tableau ci-dessous indique la liste de ces 28 hameaux ainsi que leur village d'appartenance.

Tableau III: Liste des 28 hameaux d'étude indiquant leurs villages d'appartenance

Commune	Arrondissement	Village	Hameau	Abréviation
Kpomassè	Aganmalomè	Agokon	Agokon	KAG
		Adjamè-Allagbèdè	Adjamè	ADJ
	Dédomè	Hinmadou	Hinmadou	HIN
	Kougbedji	Abénihoué	Abénihoué	KOA
		Dékponhoué	Dékponhoué	KOD
	Kpomassè	Aidjèdo	Aidjèdo	AID
	Sègbohoulé	Adjatokpa II	Guézohoulé	GUE
Ouidah	Gakpé	Amouléhoué	Amouléhoué	AMO
		Kindjitokpa	Vidjinnagnimon	GAT
			Kindjitokpa	GAK
		Tchiakpè codji	Lokohoulé	TCH
	Savi	Assogbénou	Assogbénou Daho	ASS
Tori-Bossito	Avamè	Hla	Hla	HLA
	Azohoulé Cada	Agadon	Agadon	ZAG
		Kètèssa	Hounkponouhoué	KET
		Satré	Satré	SAT
		Soko	Soko	SOK
	Tori-Bossito	Agouako	Agouako	AGO
		Ayidohoulé	Ayidohoulé	AYI
		Hèkandji	Hèkandji	HEK
		Manguévier	Manguévier	MAN
		Tokoli	Tokoli	TOK
		Tori-Bossito Centre I	Todo	TOB
		Zoumè	Zoumè	ZOU
	Tori-Cada	Dokanmey	Dokanmey	DOK
		Tori-Cada Centre	Adjahassa	CAD
			Tanto	TAN
	Tori-Gare	Wanho	Wanho	WAN

3.5 Techniques et outils de collecte des données

3.5.1. Techniques et outils de collecte des données entomologiques

3.5.1.1 Prospection larvaire.

Toutes les 6 semaines, une campagne de prospection larvaire a été organisée dans un rayon d'un kilomètre autour de chacun des 28 hameaux d'étude. La densité larvaire de chaque gîte a été mesurée grâce à la méthode des louchées de Bruce-Chwatt (1985). Ces gîtes ont été classés en gîte hypogé domestique (fossé de drainage d'eaux usées, vide sanitaire inondé, puisard) et en gîte épigé domestique (gîtes épigés domestiques liés au relief, aux activités économiques et aux comportements).

3.5.1.2 Capture de moustiques anthropophiles.

A chaque enquête, les moustiques adultes ont été collectés au cours de 2 nuits consécutives dans chacun des 28 hameaux sélectionnés. La collecte des moustiques a été faite par des volontaires éveillés placés à l'extérieur et à l'intérieur de 4 habitations (maisons) choisies par hameau, de 22h à 6h du lendemain (Djènontin *et al.*, 2011).

3.5.1.3 Identification des moustiques anthropophiles.

Les moustiques capturés ont été identifiés en utilisant la clé de détermination taxonomique de Gilles et De Meillon (1968) et de Gilles et Coetzee (1987).

3.5.1.4 Outils de collecte des données entomologiques

Le matériel de collecte des données entomologiques sont : louches, plastiques, tubes à essais, coton hydrophile, clé de détermination, loupes binoculaires, pinces, fiches de renseignement.

3.5.2. Techniques et outils de collecte des données climatologiques

Les données climatologiques proviennent de deux sources : la base de données CRU (Climate Research Unit, 10°x10', 1951-1990) et la base de données de l'ASECNA (2007 à 2009). Ces données concernent 11 stations couvrant toute la zone d'étude, dont 09 (Abomey, Adjohoun, Allada, Bopa, Cotonou ASECNA, Grand Popo, Ouidah, Savè, Sékou) à l'intérieur du Bénin et 02 (Lagos et Lomé) dans les

pays voisins (Nigéria, Togo). Les valeurs archivées sur ces stations qui ont été utilisées sont des séries mensuelles. Les stations sont implantées en point et sont repérées par des coordonnées angulaires (degré, minute, seconde). Seules la pluviométrie et la température ont été collectées dans l'ensemble des 11 stations. Les autres sont incomplètes voire inexistantes.

3.5. 3. Techniques et outils de collecte des données géographiques

Le Modèle Numérique de Terrain du CRU a permis d'avoir une idée d'ensemble du relief dans la zone d'étude. La base de données de l'INSAE (2002) a permis de connaître tous les villages et quartiers de ville de cette zone sanitaire. En 2007 une fiche de recensement de la population a été établie par le projet REFS. Des agents enquêteurs ont été recrutés. Ce recensement a duré trois mois et a permis de connaître la population des 28 hameaux. Pour avoir une idée du réseau hydrographique de la zone d'étude, nous nous sommes rendu à la Direction Générale de l'Eau où la carte hydrographique du Bénin nous a été donnée gratuitement.

3.5. 4. Techniques et outils de collecte des données biotiques.

Les données biotiques sont issues respectivement du recensement de la population en 2007 par le projet REFS/ CREC et de l'image SPOT Végétation couvrant la période allant du 1er juillet 2005 au 31 octobre 2005.

3.6 Evaluation de la qualité des données.

La qualité des données revêt une importance toute particulière. Elle détermine, en effet, la qualité du modèle. Le but de cet exercice est de répondre aux questions essentielles suivantes : est-ce que les données collectées sont adaptées aux besoins ? Sinon, est-il possible de les traiter pour les adapter ? Dans ce cas, quels sont les traitements applicables ?

3.6.1 Le terrain nominal

L'idéal est de réunir sur les lieux de prélèvement, soit sur les 28 points de prélèvements, toutes les caractéristiques du milieu (géographiques, climatiques et biotiques) et des vecteurs du paludisme (*An. gambiae*, *An. funestus*) et autres moustiques vecteurs de maladies (*Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus*). Les données

relatives aux différentes variables doivent se superposer parfaitement au plan spatial pour permettre leur comparabilité. Au plan temporel, la caractérisation du milieu doit être faite sur tous les 28 sites en même temps. La précision temporelle est l'heure avec une répétitivité, toutes les six semaines à la même heure de prélèvement (22heures). Le choix de six semaines est liée à des contraintes de temps et des contraintes financières. Cette répétitivité devrait permettre de suivre la variabilité spatio-temporelle de population des vecteurs et du milieu au cours d'une année. La précision spatiale est le kilomètre. En effet, le kilomètre correspond à la distance de vol de l'anophèle.

3.6.2 Appréciation de la qualité des données

Ce terrain nominal permet d'apprécier les données et de prendre les décisions en matière de recevabilité, compte tenu de la réalité objective de terrain (contrainte temporelle, logistique, budgétaire etc.), et le cas échéant, de décider des traitements visant à rapprocher le plus possible les données au terrain nominal.

Du point de vue de la qualité interne, les données ont une bonne cohérence logique, une bonne exactitude spatiale et une bonne exactitude des attributs. Elles ont cependant des lacunes en termes d'exhaustivité et d'exactitude temporelle. Les données relatives aux facteurs climatiques sont des données historiques et sont collectées à travers un réseau de stations totalement différent des lieux d'observations. Il en est de même pour ce qui concerne les données relatives aux facteurs géographiques. Ce sont des informations historiques agrégées qui ont parfois plus de 20 ans. C'est le lieu de citer les informations sur l'hydrographie et la topographie (altitude) qui relèvent des cartes topographiques et dont les plus récentes datent de 1984. L'ensemble des données ne répond donc pas à l'exhaustivité et à l'exactitude temporelle.

Sur le plan de la qualité externe, la limite observable sur les données concerne particulièrement la couverture et la précision temporelle et spatiale. Pour rapprocher le plus possible le terrain nominal et la nature des données collectées, deux types de traitement sont appliqués: le premier vise à résoudre la question de la temporalité et le second apporte la solution à la question de la spatialité. La méthode d'évaluation et l'appréciation de la qualité des données sont consignées dans le tableau III.

Tableau III : Evaluation de la qualité des données

Paramètres	Données à évaluer															
	Pluie	Nombre de jours de pluie	Température	Vent	Visibilité	Humidité Relative	Pression atmosphérique	Végétation	Relief	Hydrographie	Densité de population	Nombre d'habitation	Gîtes domestiques	Nombre de producteurs d'alcool	Fréquence de production d'alcool	Population de moustiques
Qualité Interne																
Exhaustivité	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON	OUI
Cohérence logique	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Exactitude spatiale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Exactitude temporelle	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Exactitude d'attributs	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Qualité externe																
Définition	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Couverture	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Généalogie	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	NON
Précision	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Légitimité	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Accessibilité	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	NON	NON	NON	NON	NON	NON

3.7 Traitement des données

Cette section concerne essentiellement les matériels et logiciels de traitement, les traitements statistiques descriptifs des données entomologiques et le traitement des données éco géographiques.

3.7.1 Matériels et logiciel de traitement des données

Le traitement des données a été possible grâce à l'utilisation d'un certain nombre de logiciels. Nous regroupons les logiciels en quatre classes : SIG et analyse spatiale, télédétection/traitement numérique d'images, analyse de données/modélisation et gestion des GPS.

-Les logiciels de SIG et d'analyse spatiale ont servi à l'application des traitements de type spatial sur les données : transformation géométrique, projection, interpolation et estimation. Ces logiciels ont également été utilisés pour le calcul de certains indicateurs choisis pour la vérification des hypothèses. Il s'agit des indices d'autocorrélation spatiale. Après la définition des modèles de répartition en fonction des paramètres environnementaux, ces logiciels ont permis de réaliser les cartes prédictives de la répartition des vecteurs. Les logiciels utilisés sont : Arcview 3.2 avec l'extension Spatiale Analyst de ESRI et extension complémentaire et Arcgis 9 x avec les extensions Spatial Analyst et Géostatistical Analyst de ESRI.

-Les logiciels de télédétection (ERDAS Imagine) a été utilisé principalement pour le traitement des images NDVI. Ces traitements ont consisté à géoréférencer les images, à les découper et à calculer un NDVI moyen sur l'image obtenue.

- Les logiciels de traitement statistiques des données/ modélisation ont servi à l'analyse des données. Il s'agit principalement des traitements liés à l'Analyse en Composantes Principales (ACP), au choix du meilleur modèle de régression, à la transformation de la famille de Box-Cox appliqué aux différentes variables dépendantes comme indépendantes, fréquences de moustiques, à l'analyse log-linéaire, à l'analyse de la variance, aux différentes régressions et aux différents tests de validation des modèles (test de BREUSH-PAGAN et test de normalité des résidus). Les logiciels utilisés sont SPSS 18.0, SAS et MINITAB.

- **les logiciels pour GPS** ont permis de télécharger les coordonnées des localités enquêtées. Les logiciels *GPS track maker*, de *Odilon Ferreira Junior*, *DNR de Garming* ont été mis à contribution.

3.7.2 Traitement statistique des données entomologiques.

- La richesse spécifique

La richesse spécifique désigne le nombre d'espèces, animales ou végétales, d'une communauté, d'une station ou d'un territoire.

- La richesse

L'indice le plus simple pour mesurer la biodiversité est le nombre S d'espèces de moustique diminué de 1 afin qu'une collection comprenant une seule espèce ait une biodiversité nulle. Cet indice est appelé richesse (Pavoine et Dufour, 2010) et s'écrit : $Hr = S - 1$

- L'abondance relative

L'abondance relative : $P_k = \frac{nk}{N}$ Où nk =effectif de l'espèce de rang k et N =effectif total) de chaque espèce telle que définie par Barbault (1992) est la quantité relative au nombre d'individus d'une espèce donnée par rapport au nombre total d'individus de toutes espèces confondues.

- La diversité

Il existe plusieurs indices de diversité (indice de diversité de Shannon-Weaver, indice de diversité de Simpson et indice de diversité de Hill). Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé l'indice de diversité de Simpson. L'indice de Simpson (D) mesure la probabilité que deux individus sélectionnés au hasard appartiennent à la même espèce. Cet indice aura une valeur de 0 pour indiquer le maximum de diversité, et une valeur de 1 pour indiquer le minimum de diversité. Dans le but d'obtenir des valeurs « plus intuitives », on peut préférer l'indice de diversité de Simpson représenté par $1-D$, le maximum de diversité étant représenté par la valeur 1, et le minimum de diversité par la valeur 0 (Schlaepfer, Bütler, 2002).

L'indice de diversité de Gini Simpson : $H_{G-S}(p) = 1 - \sum_{k=1}^S p_k^2$ (Simpson, 1949) a permis d'exprimer la diversité.

- L'équirépartition

L'indice de diversité de Simpson est souvent accompagné de l'indice d'équitabilité appelé également indice d'équirépartition (Blondel, 1979). Cet indice peut varier de 0 à 1, il est maximal quand les espèces ont des abondances identiques dans le peuplement et il est minimal quand une seule espèce domine tout le peuplement.

L'équitabilité :
$$Es = Is - \frac{1}{(S-1)}$$
 nous a permis de définir l'équirépartition des effectifs entre les espèces présentes. Où $Is = H_{G-S}(p)$ = indice de diversité de Gini Simpson. Tout comme l'indice de diversité de Gini Simpson, Es est compris entre 0 et 1 (Barbault, 1992).

3.7.3 Traitement des données éco géographiques

Le traitement des données éco-géographiques les opérations d'interpolation, d'estimation et de classification. Aussi, les données éco-géographiques ont-elles été réparties en trois catégories en fonction des traitements effectués.

3.7.3.1 Interpolation des données.

Ces méthodes sont utilisées pour combler les lacunes constatées en termes de couverture spatiale. Le but de l'utilisation de ces méthodes est d'obtenir des valeurs en tout point du site, soit par estimation soit par interpolation. Cinq méthodes d'interpolation ont été utilisées : Global Polynomial Interpolation (GPI), Local Polynomial Interpolation (LPI), Inverse Distance Weigthing (IDW), Radial Basis Fonction (RBF) et le Krigeage. Certaines sont exactes et déterministes comme IDW, d'autres sont stochastiques comme le Krigeage.

Pour chaque variable considérée, nous appliquons par essais successifs les cinq méthodes puis nous choisissons celle qui a l'erreur prédite la plus faible. La résolution retenue pour l'interpolation est de 1km sur 1km, correspondant approximativement à l'aire de compétence en un vol des anophèles.

L'interpolation est utilisée pour les altitudes ainsi que pour les différents paramètres climatiques, température, précipitation, vent, pression, insolation, humidité relative.

► Le nombre de jours de pluie : des données sources aux données interpolées

Les données du nombre de jours de pluie proviennent de la base de données CRU (Climate Research Unit, 10'x10', 1951-1990). Les données utilisées couvrent la période de 1951-1990 et concernent 59 stations dont 02 à l'intérieur de la zone sanitaire Ouidah, Kpomassè et Tori Bossito. Les valeurs archivées sur ces stations qui ont été utilisées sont les nombres de jours de pluies mensuelles. Les stations sont implantées en point et sont repérées par des coordonnées angulaires sexagésimales (degré, minute, seconde) en longitude / latitude.

Les traitements effectués sur les données du nombre de jours de pluie sont :

- la spatialisation et le changement de système de projection avec transformation des coordonnées d'origine en coordonnées rectangulaires dans le système de projection de référence du Bénin (UTM, ellipsoïde de Clarke 1880, Zone 31N) ;
- le calcul du nombre de jours de pluie de chaque station ;
- l'interpolation par la méthode du Krigeage simple avec une fonction d'ajustement trétrasphérique après analyse de la dérivabilité de la variable régionalisée et une analyse de l'erreur (figure 13 et figure 14)
- le calcul des statistiques du nombre de jours de pluie de chacun des 28 localités d'étude.

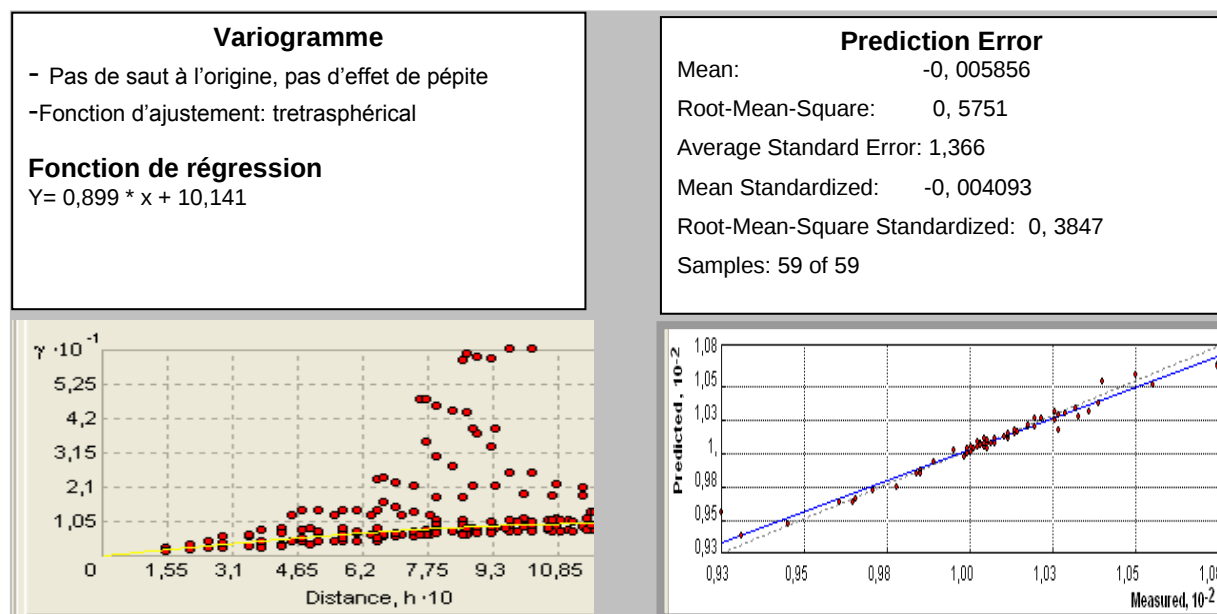


Figure 13: Variogramme et fonction de régression pour l'interpolation des nombres de jours de pluie

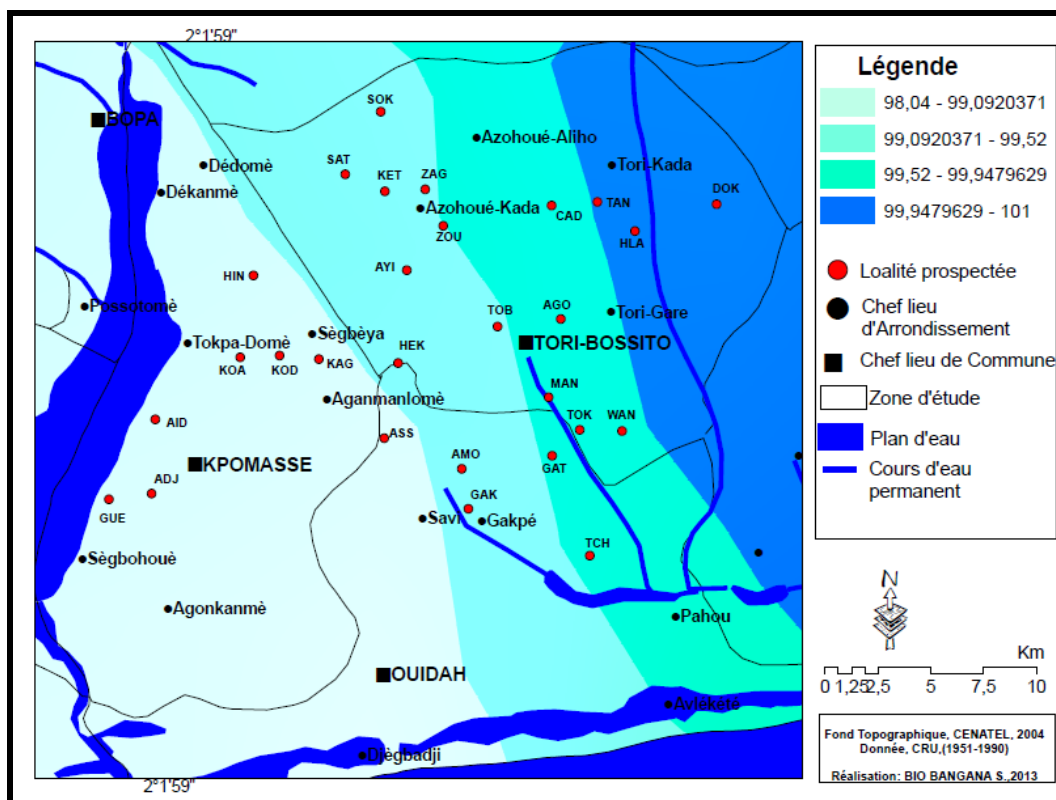


Figure 14: Carte de variation du nombre de jours de pluie (CRU, 1951-1990).

► Les précipitations : des données sources aux données interpolées

Les traitements effectués sur les précipitations sont :

- l'interpolation par la méthode du Krigeage simple avec une fonction d'ajustement trétrasphérique après analyse de la dérivabilité de la variable régionalisée et une analyse de l'erreur (figure15 et figure16)
- le calcul des statistiques pluviométrique de chacune des localités d'enquête.

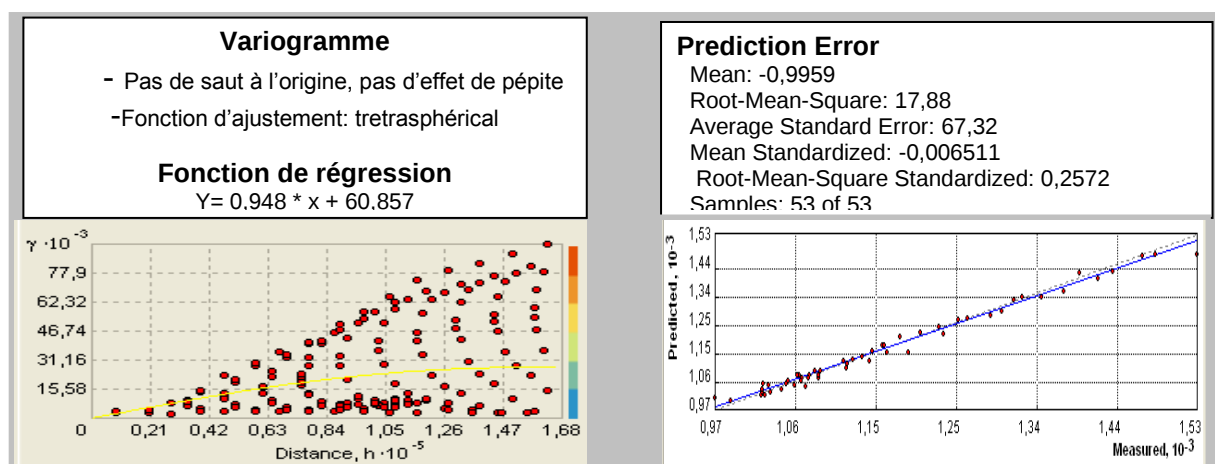


Figure15: variogramme et fonction de régression pour l'interpolation des précipitations

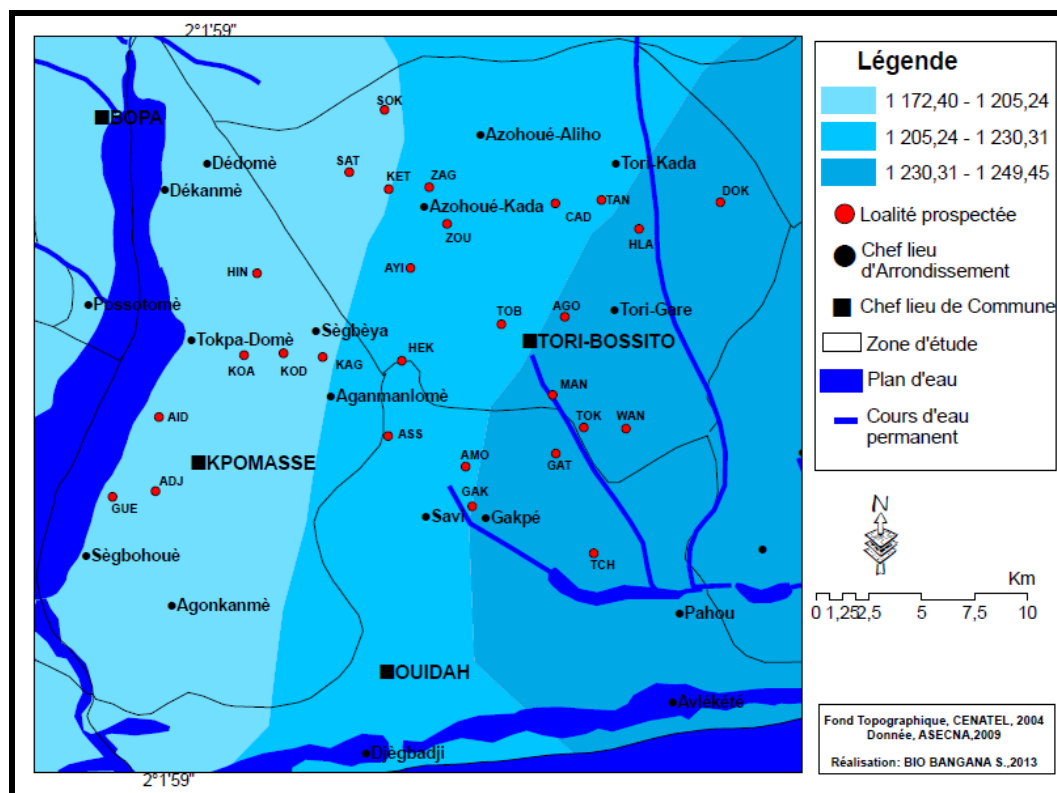


Figure16: Répartition des précipitations dans la zone Ouidah-Kpomassé-Tori Bossito

► Les températures : des données sources aux données interpolées

Les données de température proviennent de la base de données LocClim de la FAO et la base de données de la Direction de la Météorologie Nationale.

Les traitements effectués sur les précipitations sont :

- l'interpolation par la méthode IDW après analyse de la dérivabilité de la variable régionalisée et une analyse de l'erreur (figure 17 et figure18).
- le calcul des statistiques thermiques de chacune des localités d'enquête

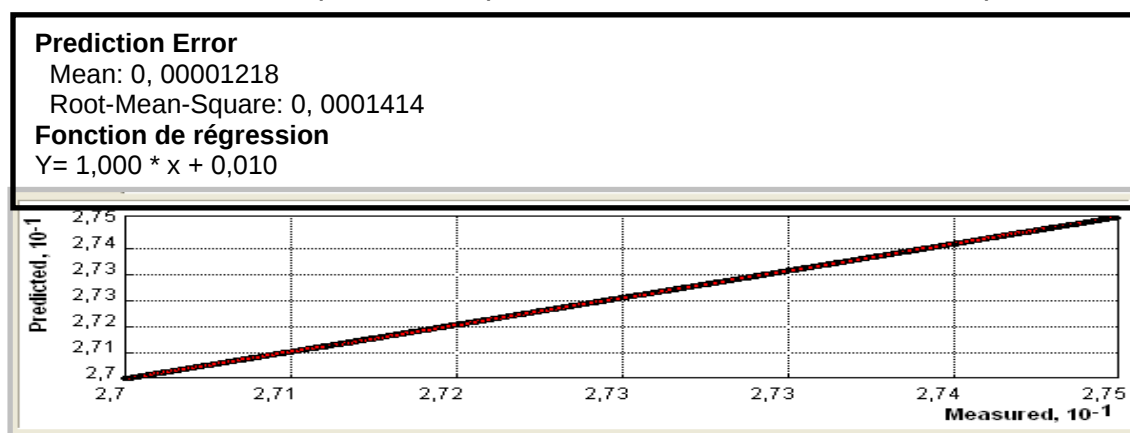


Figure17: Fonction de régression de l'interpolation des températures moyennes bisannuelles

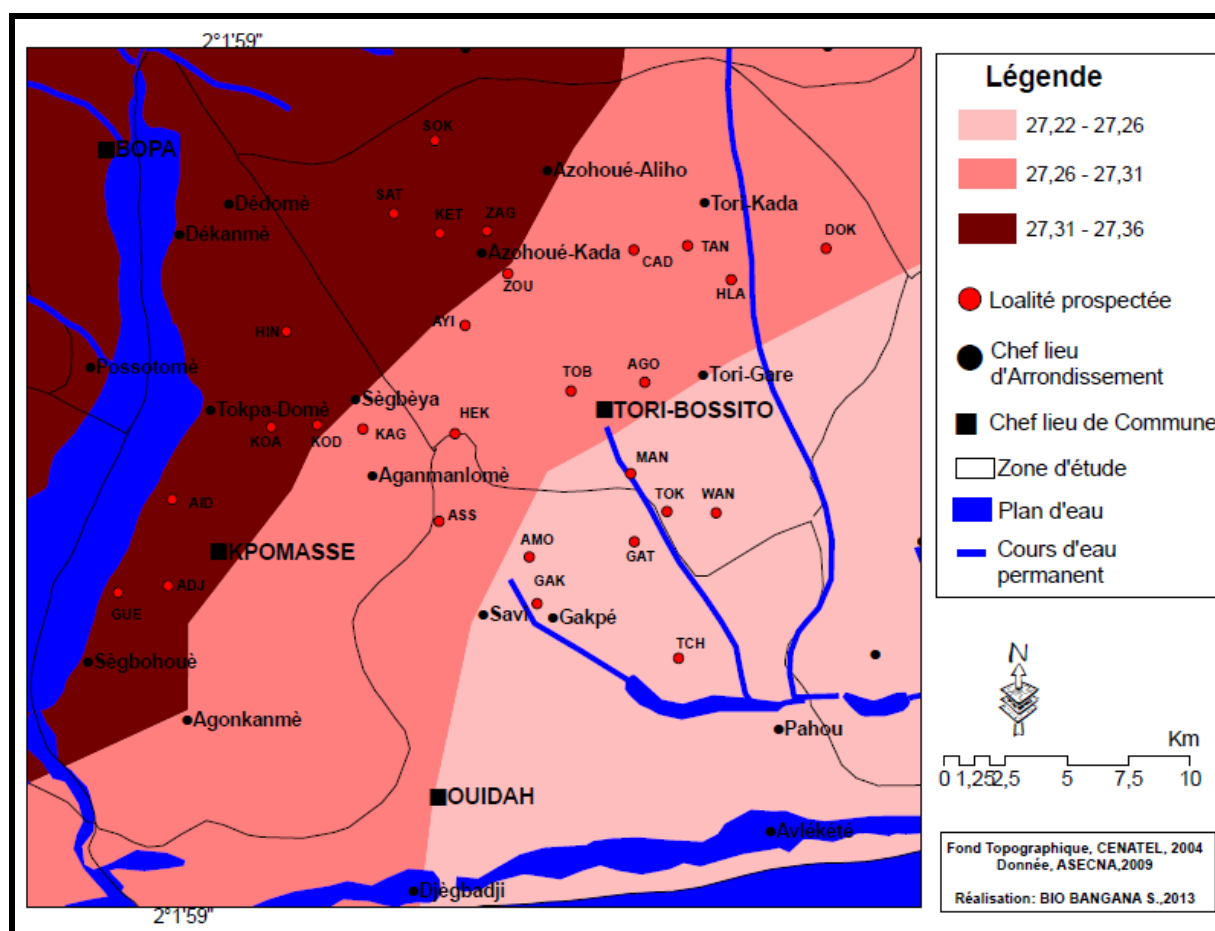


Figure 18: Répartition des températures moyennes sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude

► L'humidité relative

Les données de l'humidité relative proviennent de la base de données de la Direction Générale de la Météorologie Nationale du Bénin et la base de données Loclim de la FAO.

Elles couvrent la période allant d'octobre 2007 à décembre 2009. Les observations ont été effectuées sur 5 stations dont 3 à l'intérieur du Bénin. Les points d'observations sont positionnés en coordonnées géographiques en longitude/latitude et exprimés en unités sexagésimales.

Les traitements ont consisté :

- en la spatialisation et le changement de système de projection avec transformation des coordonnées d'origine en coordonnées rectangulaires dans le système de projection de référence du Bénin défini en méthodologie;
- au calcul de l'humidité relative moyenne annuelle de chaque station ;

- en l'interpolation par la méthode du krigeage ordinaire après analyse de la dérivabilité de la variable régionalisée et une analyse de l'erreur (figures 19 et 20).

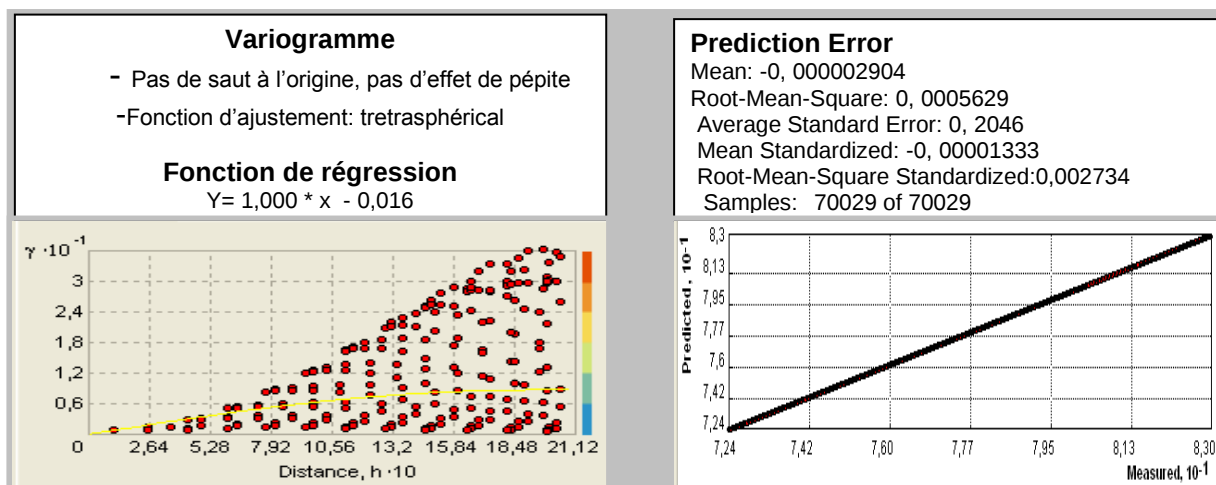


Figure 19: variogramme et droite de régression de l'interpolation de l'humidité relative moyenne sur 17 missions dans la zone d'étude

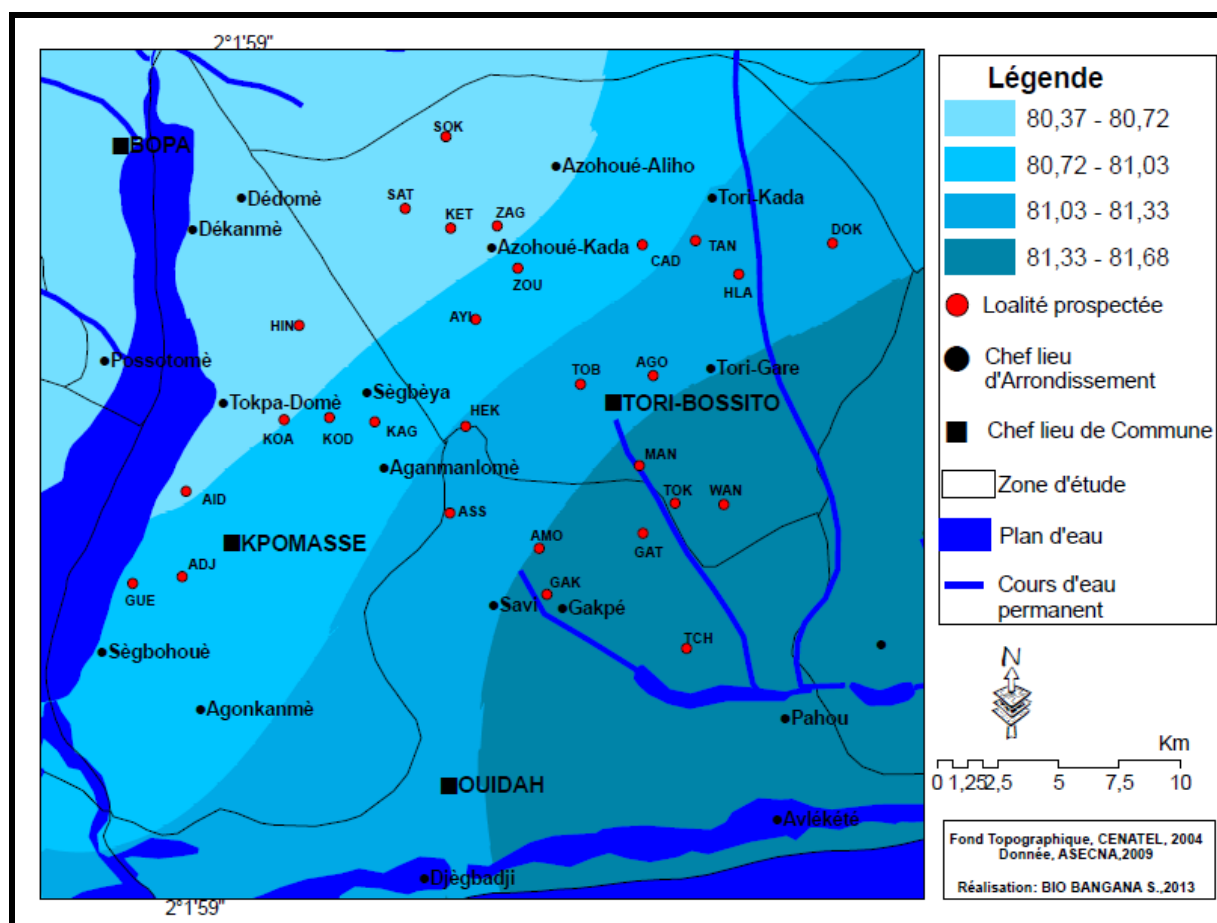


Figure 20: Répartition de l'humidité relative moyenne sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude

► La pression atmosphérique : des données sources aux données interpolées

Les données de pression atmosphérique proviennent de la base de données LocClim de la FAO et celle de l'ASECNA. Elles couvrent également la période allant de octobre 2007 à décembre 2009. Pour notre zone, 05 points d'observations dont 03 à l'intérieur du Bénin sont disponibles. Le géoréférencement de ces points est fait en coordonnées géographiques avec les unités en degrés sexagésimaux. Les traitements effectués sur ces données sont :

- la transformation du système de coordonnées et leur inscription dans le référentiel du Bénin;
- le calcul des valeurs moyennes annuelles des pressions sur l'ensemble des sites;
- l'interpolation par la méthode « *Global polynomial Interpolation* ». Cette méthode a eu les meilleurs taux d'erreur et le meilleur ajustement (figure 21 et figure 22).

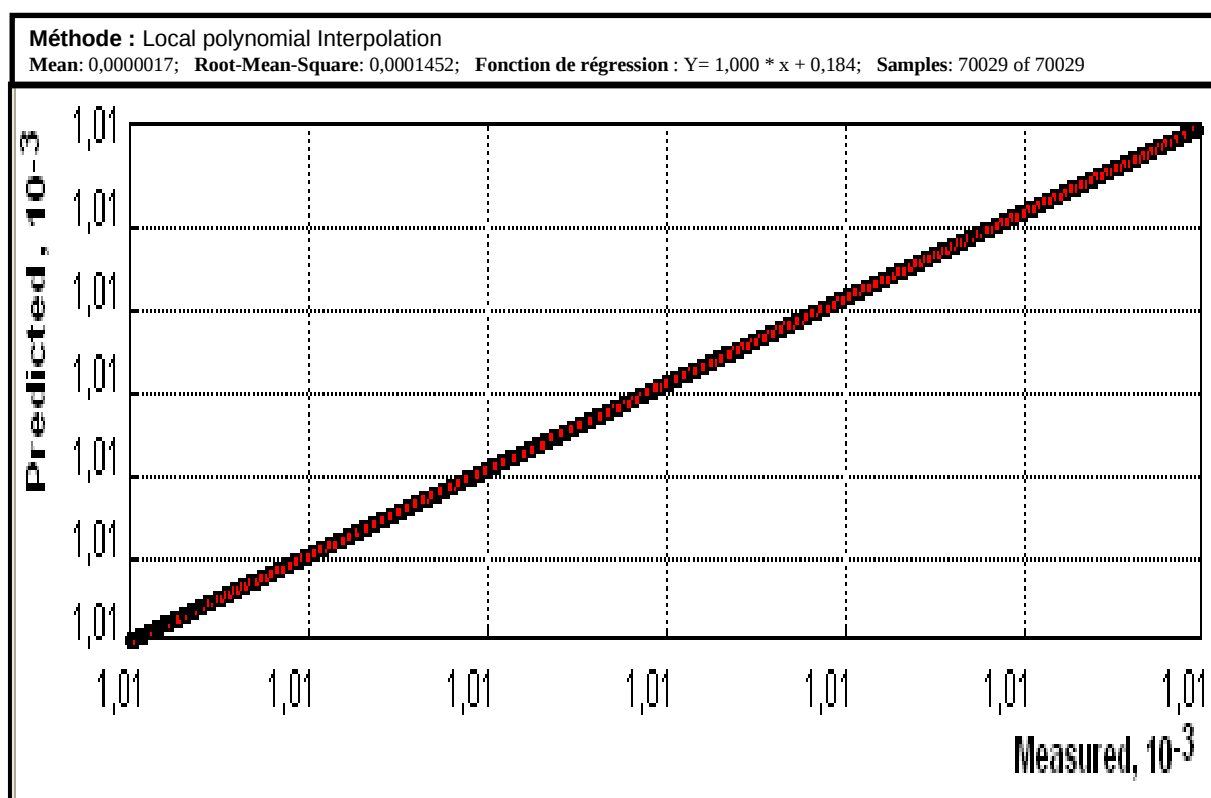


Figure 21: Droite de régression des pressions atmosphériques moyennes sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude

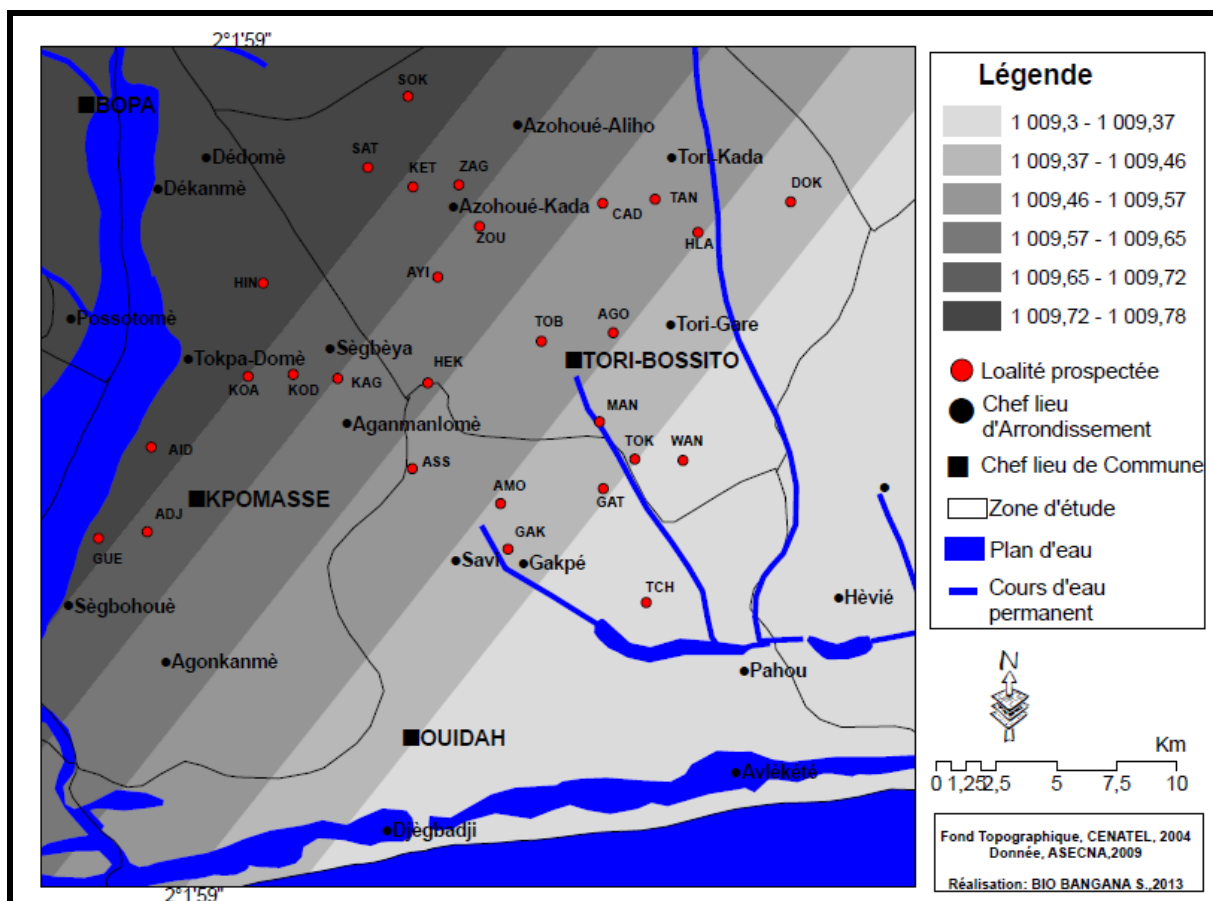


Figure 22: Répartition des pressions atmosphériques moyennes sur 17 missions entomologiques dans la zone d'étude

► La visibilité : des données sources aux données interpolées

Les données de visibilité proviennent de la base de données LoClim de la FAO et celle de l'ASECNA. Les données d'observation couvrent 05 stations, dont 03 sont situées sur le territoire béninois. Ces stations sont repérées par des coordonnées géographiques en degrés sexagésimaux. Les relevés couvrent la période 2007-2009 et sont en moyennes mensuelles. Les traitements subis par ces données concernent à la fois l'adaptation au référentiel technique géographique et au niveau d'échelle temporelle. Après la spatialisation, une re-projection des données en UTM Clarke 1880, Zone 31 est appliquée. Au niveau temporel, la visibilité moyenne annuelle par station a été calculée. Pour la question de couverture et d'exhaustivité, une interpolation avec la méthode *Local Polynomial Interpolation* a été adoptée (Figures 23 et 24).

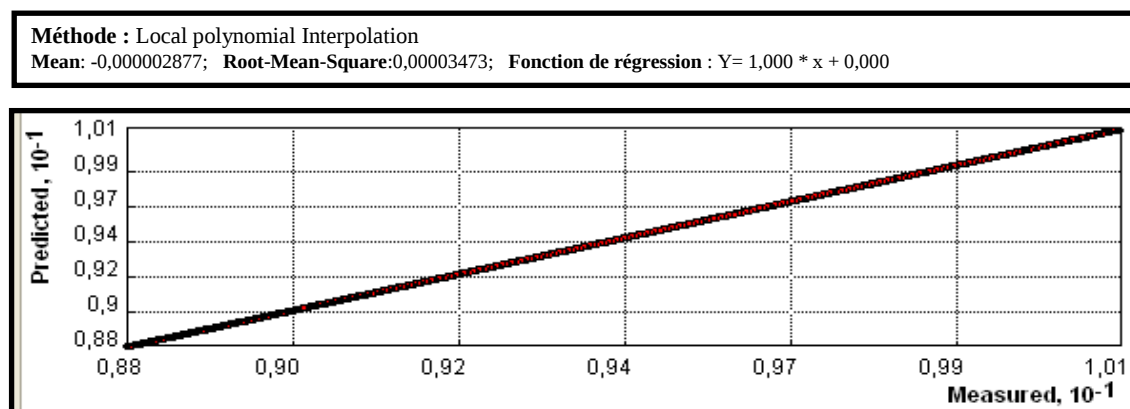


Figure 23: Droite de régression de la visibilité moyenne sur 17 missions entomologiques dans la zone d'étude

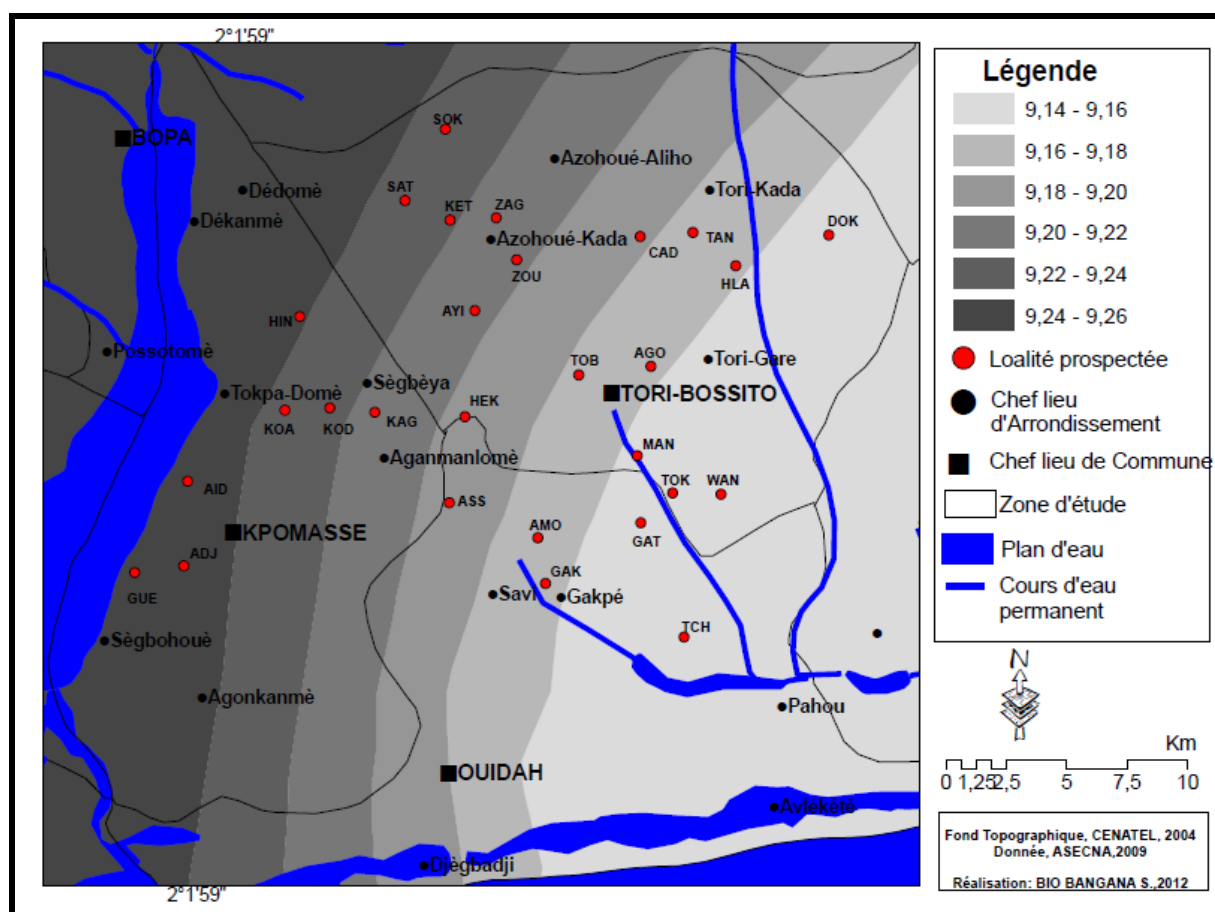


Figure 24: Répartition de la visibilité moyenne sur 17 missions entomologiques dans la zone d'étude

► La vitesse du vent : des données sources aux données interpolées

La méthode *Local Polynomial Interpolation* a été adoptée parce qu'elle présente la plus faible erreur prédite (figure 25 et figure 26).

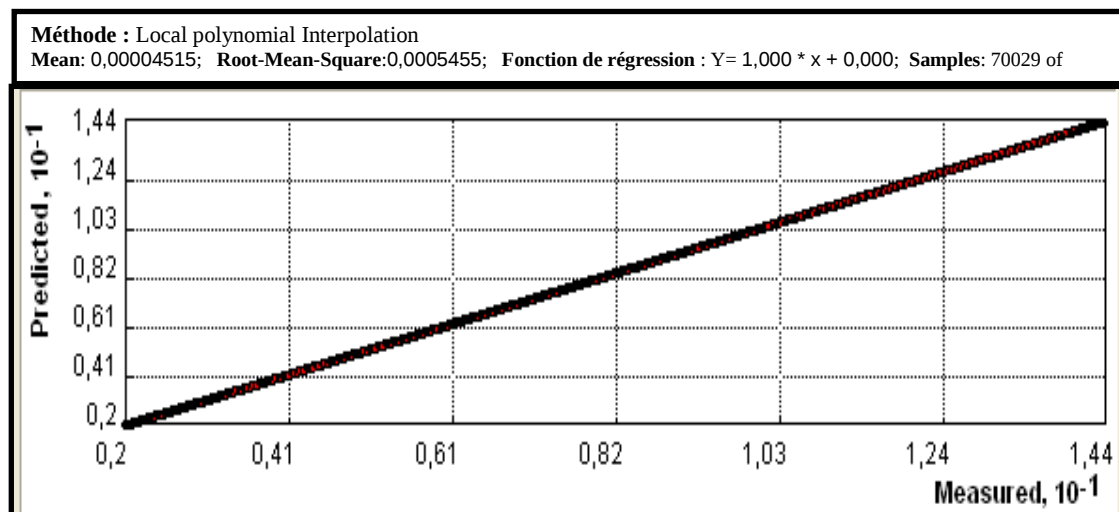


Figure 25: Droite de régression de la vitesse moyenne vent sur les 17 missions entomologiques dans la zone d'étude

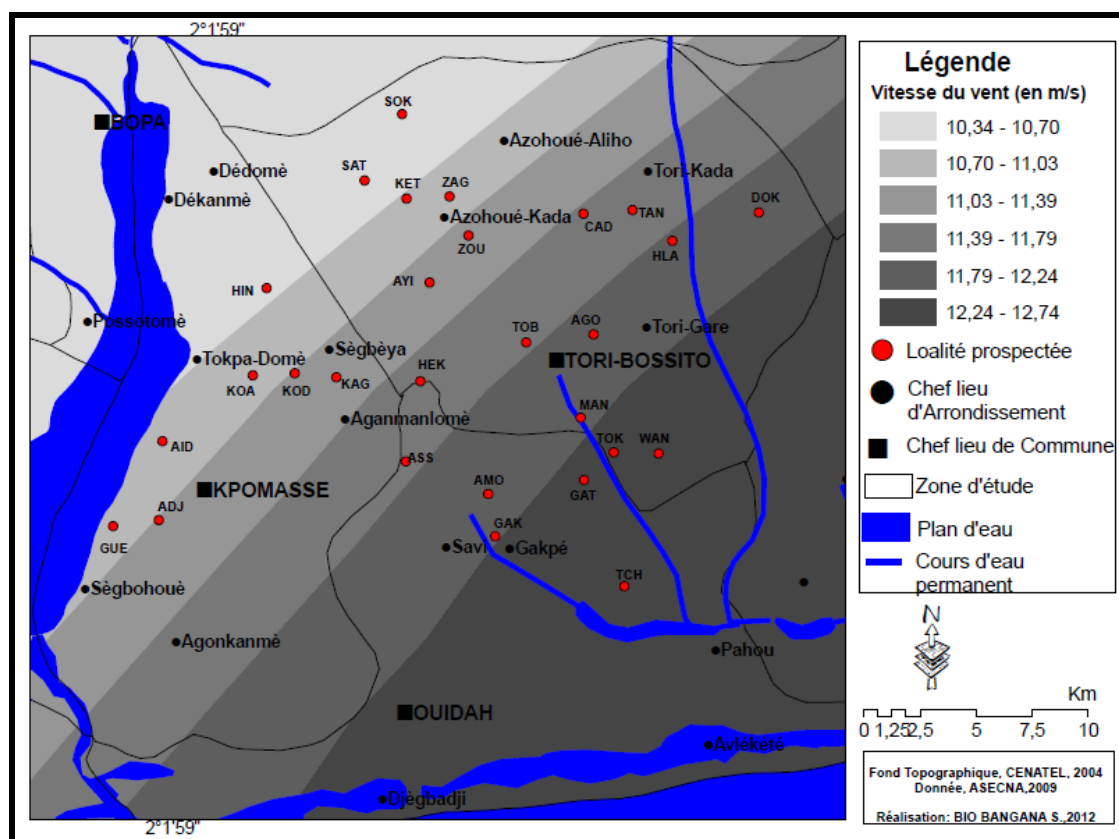


Figure 26: Répartition des vitesses moyennes des vents (2007-2009) dans la zone d'étude

► L'altitude: des données sources aux données interpolées

Les données d'entrée des altitudes proviennent du Modèle Numérique de Terrain (MNT) du sud Bénin. Au niveau spatial, l'altitude moyenne par localité prospectée a été calculée. La méthode *Local Polynomial Interpolation* a été adoptée (figure 6 et figure 27).

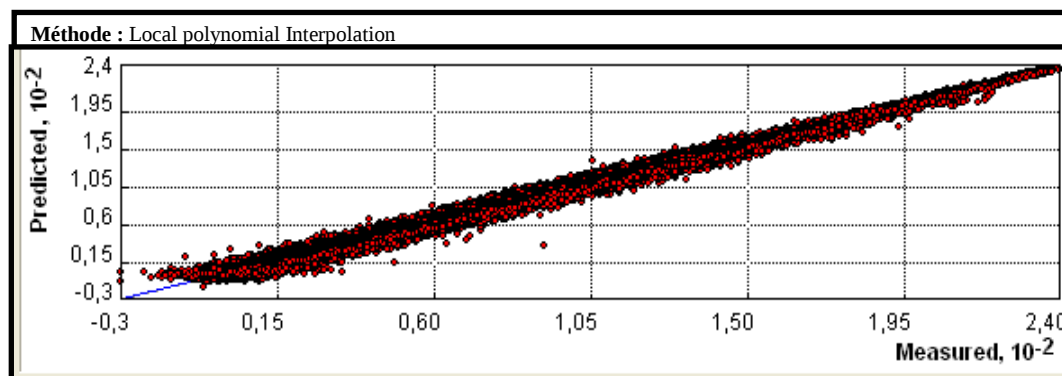


Figure 27: Droite de régression des altitudes dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito

► NDVI : des données sources aux données interpolées

La quantification de la végétation s'est appuyée sur les indices normalisés de la végétation de SPOT Végétation. Les images NDVI du sud Bénin pour la période allant du 1er juillet 2005 au 31 octobre 2005 correspondant à la période de capture ont été retenues. Habituellement, les NDVI ont des valeurs comprises entre -1 et 1.

Les traitements appliqués aux données NDVI concernent leur géoréférencement en coordonnées géographiques, la création d'une image arithmétique par calcul du NDVI moyen sur un buffer d'un (01) kilomètre, le calcul des statistiques zonales des NDVI dans les 28 localités.

3.7.3.2 Estimation des données.

L'interpolation s'adapte mal aux ensembles finis, comme par exemple les cas de dénombrement de population. Pour ces cas, des méthodes d'estimation particulières ont été adoptées. Elles sont mieux adaptées à ce type de données et permettent d'avoir une meilleure précision. L'estimation, dans le cadre de cette thèse, concerne trois données éco-géographiques : les populations, l'hydrographie et les localités. Pour les populations, ce sont les densités qui sont recherchées. Pour l'hydrographie et les localités, les distances en tous points du site par rapport à ces objets géographiques sont requises.

► Population : des effectifs de population aux densités par hameau.

Les données de population proviennent du recensement de la population et de l'habitat de 2007 organisée dans le cadre du projet Recherche en Entomologie, Formation et Stratégie de Prévention (REFS). Ceux sont des données sur les effectifs des populations, nombre d'habitation, type d'habitation par localité. Elles sont géoréférencées et couvrent les 28 hameaux d'étude. Pour la superficie de ces hameaux, un tracking GPS a été réalisé tout autour de l'ensemble des habitations de ces localités. L'extension XTools Defaults (version 2003) applicable dans Arc view 3.2 a été utilisée pour le calcul automatique des superficies de chacune des localités prospectées. Ensuite les densités de population ont été calculées.

► L'hydrographie : la distance des localités par rapport aux plans d'eau douce et saumâtres permanents.

Les données sur l'hydrographie et les localités proviennent de la Base de Données du CENATEL. Aucun autre traitement n'a été effectué sur ces couches en dehors du calcul des distances en tous points de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. Les figures 28 et 29 ci-après présentent les résultats de ces traitements pour l'hydrographie.

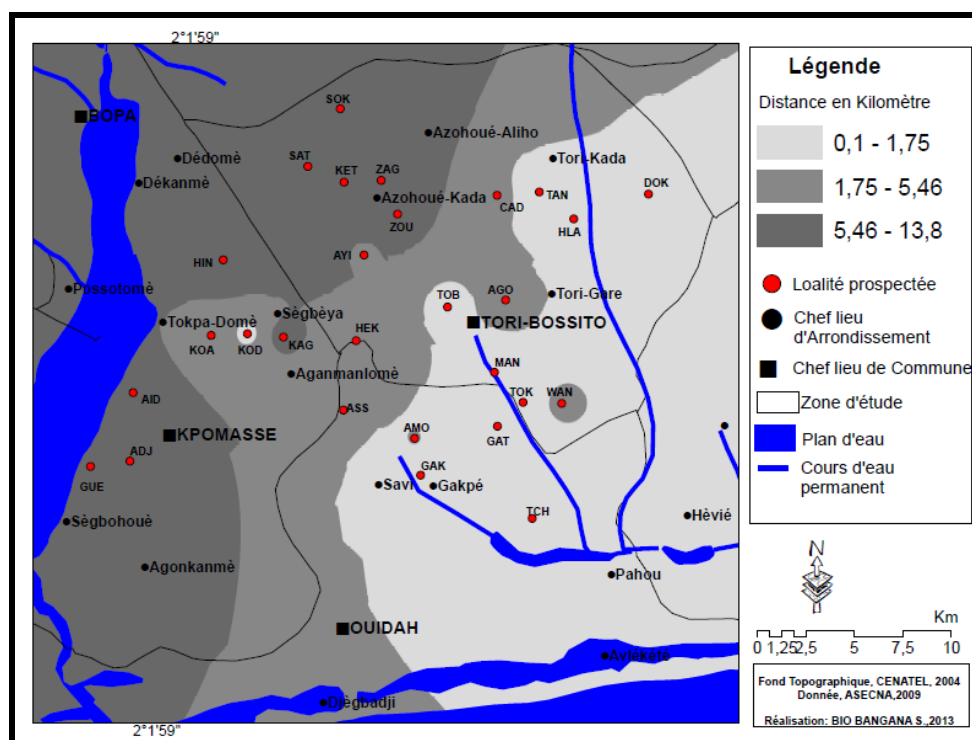


Figure 28: Répartition des distances des localités par rapport aux plans d'eau douce dans la zone d'étude

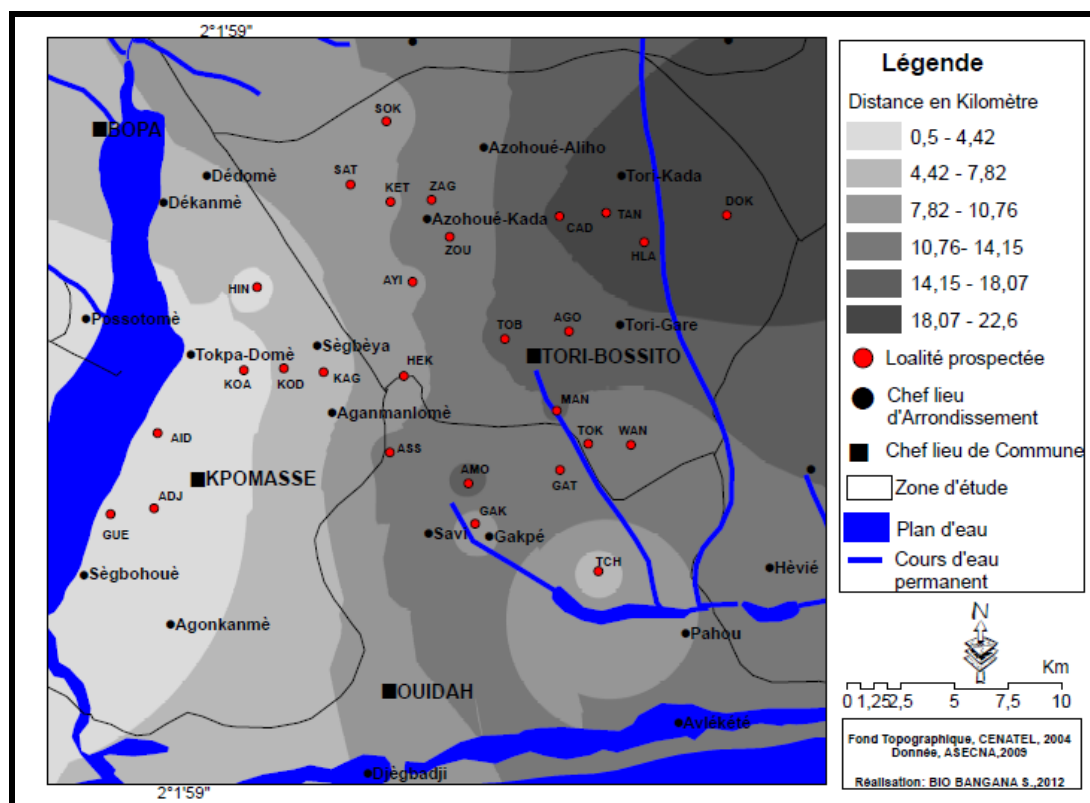


Figure 29: Répartition des distances des localités par rapport aux plans d'eau saumâtre dans la zone d'étude

3.7.3.3 Les données classifiées.

Les données classifiées concernent les données qualitatives. Ce sont les données relatives aux sols et à l'occupation des terres. Elles proviennent respectivement de la Carte pédologique de reconnaissance à 1/200000, Feuille Porto-Novo (1975), de la carte de végétation du Bénin (feuille Porto-Novo, 1978) et de la Base de Données sur l'Occupation des Terres du CENATEL (feuille Porto-Novo, 1998). La nomenclature utilisée dans le cadre de ces bases de données est très détaillée. Ces données sont de production très coûteuse et il n'y a pas une série. Elles n'ont par conséquent subies que deux types de traitement : le changement de projection et la classification.

3.8 Evaluation des modèles de régression linéaire avec la transformation de Box-Cox.

L'évaluation des modèles aide à apprécier leur compatibilité avec la réalité du terrain. Cette évaluation va se faire à partir du test de la normalité des résidus et le test

d'homogénéité des variances. Le modèle est validé si la probabilité liée au test de normalité des résidus est supérieur au seuil de signification (Prob.>0,05) d'une part et si le test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN donne une probabilité égale (Prob.>0,05) d'autre part.

CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE

Cette première partie a permis de délimiter le champ d'investigation de ce travail de recherche. Elle l'a positionné comme un travail de géographie et plus précisément de biogéographie qui procède d'une approche pluridisciplinaire pour contribuer à l'étude de la répartition spatiale des principaux moustiques vecteurs de maladie au Bénin, *An. gambiae*, *An. funestus*, *Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus*.

Sans renier son caractère géographique, ce travail a bénéficié des contributions indispensables de l'entomologie, de la sociologie, de l'analyse statistique des données, de l'analyse spatiale et des systèmes d'information géographique pour la mise en place d'une démarche méthodologique qui permet à chaque méthode d'apporter sa contribution dans le processus d'investigation.

Cette étude ambitionne d'étudier les facteurs de la répartition de *An. gambiae*, *An. funestus*, *Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus*, c'est-à-dire d'en donner une représentation formelle et fidèle. Les contours de l'étude sont définis au plan scientifique. Le champ d'application est connu à travers une présentation des moustiques vecteurs et de la zone sanitaire Ouidah, Kpomasse et Tori Bossito. La démarche méthodologique et l'ensemble du processus ont été exposés.

A quels résultats peut-on aboutir? Quelle interprétation faire de ces résultats ? Quelles appréciations donner par rapport aux hypothèses et aux objectifs de ce travail. C'est le contenu de la seconde partie de ce travail.

DEUXIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

Cette partie présente les résultats et les discussions. Aussi, a-t-elle pour rôle d'évaluer les indicateurs pour vérifier les hypothèses de recherche et apprécier le niveau d'atteinte des objectifs.

Elle est composée de trois chapitres :

- le chapitre 4 est consacré à la caractérisation de la faune culicidienne et la répartition des moustiques vecteurs de maladies;
- le chapitre 5 s'intéresse à la formalisation mathématique de la relation facteurs environnementaux et répartition spatiale de ces moustiques vecteurs de maladies;
- le chapitre 6 est destiné à la discussion des résultats, à la conclusion générale et aux suggestions.

CHAPITRE IV: CARACTERISATION DE LA FAUNE CULICIDIENNE ET REPARTITION DES VECTEURS

Comment se répartissent, dans la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, les culicidae en général et les vecteurs en particulier ? L'objectif de ce chapitre a été de vérifier la première hypothèse, à savoir la répartition spatiale non aléatoire des moustiques vecteurs de maladies. Ce chapitre est composé de deux sections. La première est consacrée à la caractérisation de la faune culicidienne, la seconde à la répartition spatiale et temporelle des moustiques vecteurs.

4.1 Caractérisation de la faune culicidienne

Ce paragraphe fait une synthèse sur la caractérisation de la faune imaginale et de la faune larvaire.

4.1.1 Caractérisation de la faune imaginale

4.1.1.1 Inventaire des moustiques

D'octobre 2007 à décembre 2009, nous avons noté la présence de 24 espèces de Culicidae dans les 28 hameaux. Les espèces identifiées appartiennent à deux sous-familles (Culicinae et Anophelinae) et à six genres (*Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Eremapodites*, *Mansonia* et *Uranotenia*). La sous-famille des Culicinae (17 espèces) est environ deux fois plus riche en espèces que celle des Anophelinae (7 espèces). Les genres *Culex* et *Anopheles* sont plus riches en espèces (07 espèces) que les genres *Aedes* (6 espèces), *Mansonia* (2 espèces), *Eremapodite* (1 espèce) et *Uranotenia* (1 espèce) (Tableau V).

4.1.1.2 L'abondance relative des genres de moustiques capturés

Durant l'étude, 124202 moustiques ont été capturés. Le genre *Culex* vient en tête de classement avec 57,03% contre 35,07% pour *Mansonia* ; 3,76% pour *Anopheles* et 3,76% pour *Aedes*. Les genres *Eremapodites* (0,01%) et *Uranotenia* (0,00%) représentent des espèces accidentelles dans cette zone d'étude. L'abondance relative par espèce de moustique est consignée dans le tableau V.

Tableau V: Inventaire et abondance relative des culicidae dans la zone d'étude.

Sous-famille	Genre	Espèce	Fréquence absolue	Fréquence relative
Anophélinæ	Anopheles	<i>Anopheles broheri</i>	1	0,00%
		<i>Anopheles coustani</i>	10	0,01%
		<i>Anopheles funestus</i>	1752	1,41%
		<i>Anopheles gambiae</i>	2505	2,02%
		<i>Anopheles nili</i>	3	0,00%
		<i>Anopheles pharoensis</i>	477	0,38%
		<i>Anopheles ziemanni</i>	73	0,06%
	01 genre	07 espèces	4821	3,88%
Culicinae	Aedes	<i>Aedes aegypti</i>	1360	1,09%
		<i>Aedes gr. palpalis</i>	465	0,37%
		<i>Aedes gr. tarsalis</i>	275	0,22%
		<i>Aedes luteocephalus</i>	331	0,27%
		<i>Aedes sp</i>	100	0,08%
		<i>Aedes vitatus</i>	2136	1,72%
		06 espèces	4667	3,76%
	Culex	<i>Culex annulioris</i>	1246	1,00%
		<i>Culex gr decens</i>	46544	37,47%
		<i>Culex nebulosis</i>	9540	7,68%
		<i>Culex quinquefasciatus</i>	11766	9,47%
		<i>Culex sp</i>	1609	1,30%
		<i>Culex tigripes</i>	104	0,08%
		<i>Cxulex thalassius</i>	26	0,02%
		07 espèces	70835	57,03%
	Ereemapodites	<i>Ereemapodites gr. quinquevittatus</i>	10	0,01%
		01 espèce	10	0,01%
	Mansonia	<i>Mansonia africana</i>	43840	35,30%
		<i>Mansonia uniformis</i>	25	0,02%
		02 espèces	43865	35,32%
	Urataenia	<i>Urataenia bilineata</i>	4	0,00%
	05 genres	01 espèce	4	0,00%
02 sous-familles	06 genres	24 espèces	124202	100,00%

4.1.1.3 Répartition spatiale de la fréquence relative, richesse spécifique, indice de diversité et indice d'équirépartition.

Analyser la répartition spatiale de la faune culicidiène nécessite la connaissance de la richesse spécifique, la fréquence relative, le calcul des indices de diversité et

d'équirépartition. Ces paramètres nous renseignent sur la viabilité ou non des peuplements de moustiques, l'hétérogénéité spatiale de la zone et les stratégies de lutte contre les vecteurs à adopter. Le tableau VI indique la répartition de ces différents paramètres par localité.

- **La richesse spécifique**

Dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, sur un total de 24 espèces de moustiques collectées, nous avons enregistré dans la localité d'Agadon 19 espèces et 12 à Assogbénou-Daho et Agokon. La situation dans les autres hameaux est consignée dans le tableau VI.

- **La richesse**

Le tableau VI montre que la richesse varie aussi d'un hameau à l'autre. La richesse maximale a été enregistrée à Agadon tandis que la richesse minimale a été signalée dans les hameaux Assogbénou et Agokon. Dans tous les hameaux, une biodiversité nulle n'a été enregistrée dans aucune localité.

- **La diversité**

Le tableau VI présente la répartition spatiale des indices de diversité de Simpson. Cet indice varie d'une localité à une autre. Elle est plus faible dans les localités de Hla (0,31), de Manguévier (0,27) au sud-est de la zone d'étude et élevée dans les localités d'Adjahassa (0,83), Agadon (0,82).

La répartition dans les autres localités est consignée dans le tableau VI.

- **l'équirépartition**

Dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, l'indice d'équitabilité minimal a été enregistré à Manguévier (0,21) en zone de marais alors que le maximal a été noté dans les localités d'Adjahassa et d'Agadon (0,76).

Le tableau VI indique la répartition de l'indice d'équitabilité dans les autres localités.

Tableau VI : répartition spatiale de la fréquence des vecteurs et l'indice d'équitabilité

	Fréquence	Fréquence	Richesse		Indice	Indice
Hameau	absolue	relative (%)	spécifique	Richesse de diversité	d'équitabilité	
ABENIHOUE	7406	6,00%	15	14	0,45	0,38
ADJAHASSA	2575	2,10%	16	15	0,83	0,76
ADJAME	7869	6,30%	14	13	0,67	0,59
AGADON	4456	3,60%	19	18	0,82	0,76
AGOKON	2629	2,10%	12	11	0,72	0,63
AGOUAKO	1230	1,00%	16	15	0,74	0,67
AIDJEDO	5258	4,20%	16	15	0,73	0,66
AMOULEHOUE	6991	5,60%	12	11	0,6	0,51
ASSOGBENOU	4520	3,60%	12	11	0,69	0,6
AYIDOHOUÉ	1975	1,60%	17	16	0,63	0,57
DEKPONHOUE	4057	3,30%	15	14	0,55	0,48
DOKANMEY	1844	1,50%	15	14	0,67	0,6
GUEZOHOUÉ	5821	4,70%	17	16	0,63	0,57
HEKANDJI	1805	1,50%	13	12	0,54	0,46
HINMADOU	8627	6,90%	15	14	0,72	0,65
HLA	5035	4,10%	18	17	0,31	0,25
HOUNKPONOUHOUE	3305	2,70%	17	16	0,67	0,61
KINDJITOKPA	11585	9,30%	14	13	0,46	0,39
LOKOHOUÉ	7799	6,30%	16	15	0,59	0,53
MANGUEVIER	6375	5,10%	17	16	0,27	0,21
SATRE	3414	2,70%	16	15	0,66	0,6
SOKO	4842	3,90%	16	15	0,77	0,7
TANTO	2197	1,80%	17	16	0,77	0,7
TODO	1192	1,00%	14	13	0,76	0,68
TOKOLI	2658	2,10%	16	15	0,64	0,57
VIDJINNAGNIMON	4886	3,90%	16	15	0,67	0,6
WANHO	3196	2,60%	18	17	0,66	0,6
ZOUME	655	0,50%	13	12	0,69	0,61
Total	124202	100,00%				

Les moustiques sont différents par leurs préférences écologiques et leurs comportements. L'homme, face à cette situation hétérogène, ne peut apporter qu'une réponse hétérogène. La stratégie de contrôle des moustiques doit prendre en compte tous les paramètres entrant dans le cycle de développement des moustiques dont la phase larvaire.

4.1.2 Caractérisation des gîtes larvaires de moustique

4.1.2.1 Statistiques générales sur les gîtes larvaires.

De janvier à décembre 2009, huit missions de prospection larvaire ont été organisées sur un rayon de 500 mètres autour de chaque site. Nous avons noté la présence de 04 genres de Culicidae dans les 28 sites. Un total de 3529 gîtes a été répertorié. Les gîtes à *Culex* représentent 44% des gîtes, suivis des gîtes à *Aedes* (36%), des gîtes à *Anopheles* (13%) et des gîtes à *Mansonia* (7%) (figure 30). Les différences observées entre les gîtes larvaires à *Culex* et ceux à *Aedes* sont statistiquement significatives car le test de Khi-2 d'ajustement à une distribution aléatoire sur l'échantillon donne une probabilité (Prob. < 0,0001) au seuil de signification de 0,05.

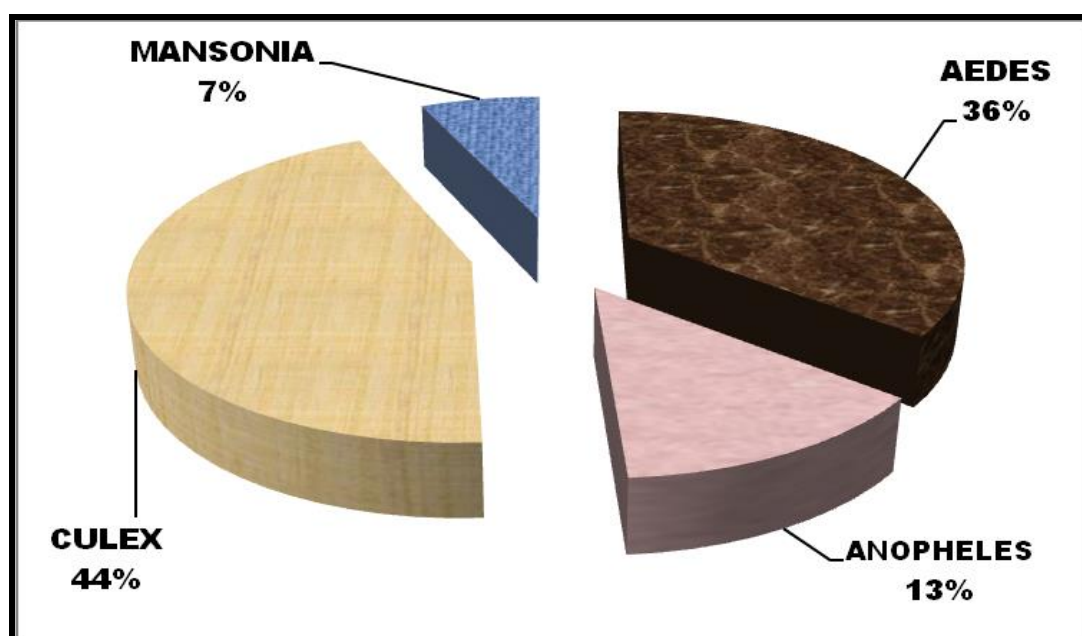


Figure 30 : répartition des gîtes larvaires de moustiques en fonction du genre

4.1.2.2 Statistiques sur la durée de la mise en eau des gîtes larvaires.

Sur les 3529 gîtes larvaires identifiés, 2478 gîtes soit 70% sont temporaires, 19% sont permanents tandis que 11% sont semi permanents (figure 36). Les différences notées entre la fréquence des gîtes temporaires, semi permanents et permanents d'autre part, sont hautement significatives au regard des résultats du test de Khi-2 d'ajustement à une distribution aléatoire (Prob. < 0,0001) au seuil de signification de 0,05. Dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, la plupart des gîtes larvaires sont donc temporaires.

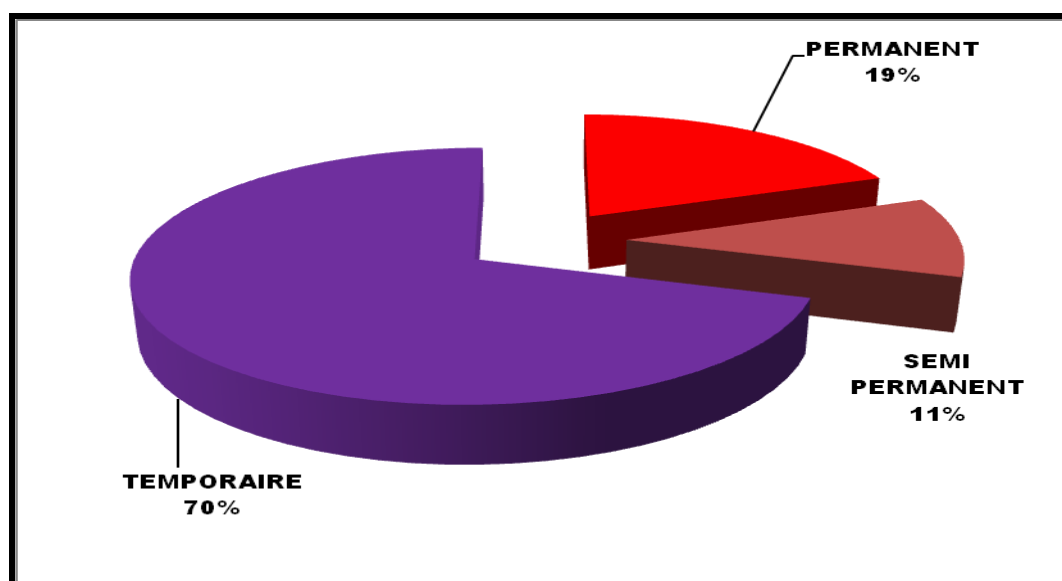


Figure 31: Répartition des gîtes larvaires en fonction de la durée de leur mise en eau

4.1.2.3 Préférences écologiques des larves de moustique en fonction de la durée de mise en eau et typologie de leurs gîtes.

Le tableau ci-dessous présente les résultats d'analyse log-linéaire appliquée aux fréquences absolues des gîtes larvaires des différents genres de moustique en fonction de leur durée de mise en eau et de leur typologie. On constate que l'effet du genre et celle de la durée de mise en eau des gîtes larvaires des moustiques sur leurs fréquences sont très hautement significatif (Prob. < 0,0001). Le même résultat est obtenu en ce qui concerne l'interaction entre ces deux facteurs, ce qui implique que l'effet du genre sur la fréquence dépend de la durée de mise en eau des gîtes larvaires de moustiques et vice versa.

Tableau VII: Résultats d'analyse log-linéaire sur les gîtes et la durée de mise en eau

Source	DDL	Khi-2	Prob. > Khi-2
Gîtes larvaires	3	849.81	<0,0001
Durée de leur mise en eau	1	192.26	<0,0001
GITES*DUREE	3	368.77	<0,0001

-Les huit missions entomologiques relatives à la prospection larvaire ont permis de recenser 1259 gîtes larvaires à Aedes dont 1212 gîtes temporaires soit 97% ; 31 gîtes larvaires semi permanents soit 2% et 16 gîtes permanents soit 1%.

Cette répartition des gîtes à Aedes en fonction de la durée de leur mise en eau révèle que les larves à Aedes préfèrent les gîtes temporaires que les gîtes semi permanents et permanents.

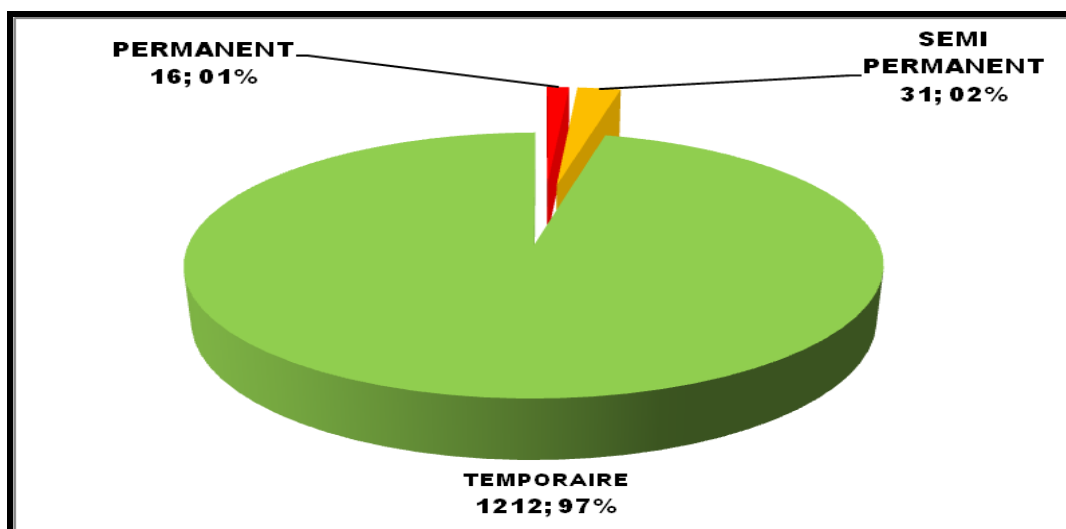


Figure 32 : Préférences écologiques des larves d'Aedes en fonction de la durée de mise en eau des gîtes.

Pour ce qui est de la typologie des gîtes larvaires, 86% sont des jarres ; 05% sont des tonneaux ; 03% sont des bassins ; 04% sont des bidons et 02% représentent d'autres gîtes (bassines, marmites, calebasses). Cette typologie des gîtes larvaires à Aedes révèle que les larves de ce genre de moustique prolifèrent plus dans les jarres.

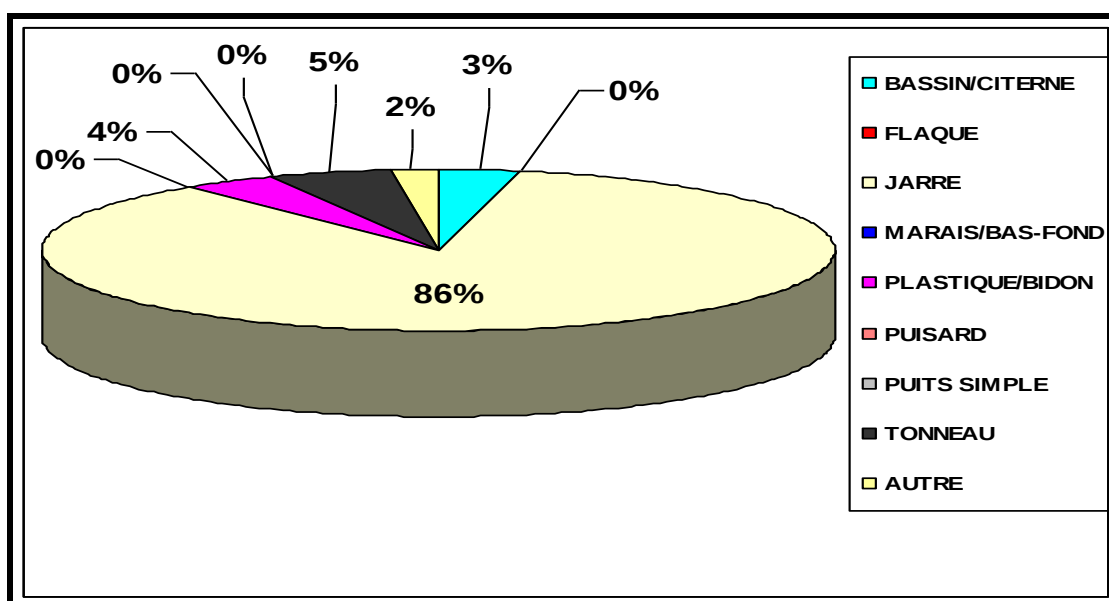


Figure 33: typologie des gîtes larvaires à Aedes

-Abordant dans le même sens, ces missions entomologiques ont permis de recenser 470 gîtes larvaires à Anopheles dont 330 gîtes temporaires, 64 gîtes larvaires semi permanents et 76 gîtes permanents. Cette répartition des gîtes à Anopheles en fonction de la durée de leur mise en eau révèle aussi que les larves à Anopheles préfèrent les gîtes temporaires que les gîtes semi permanents et permanents.

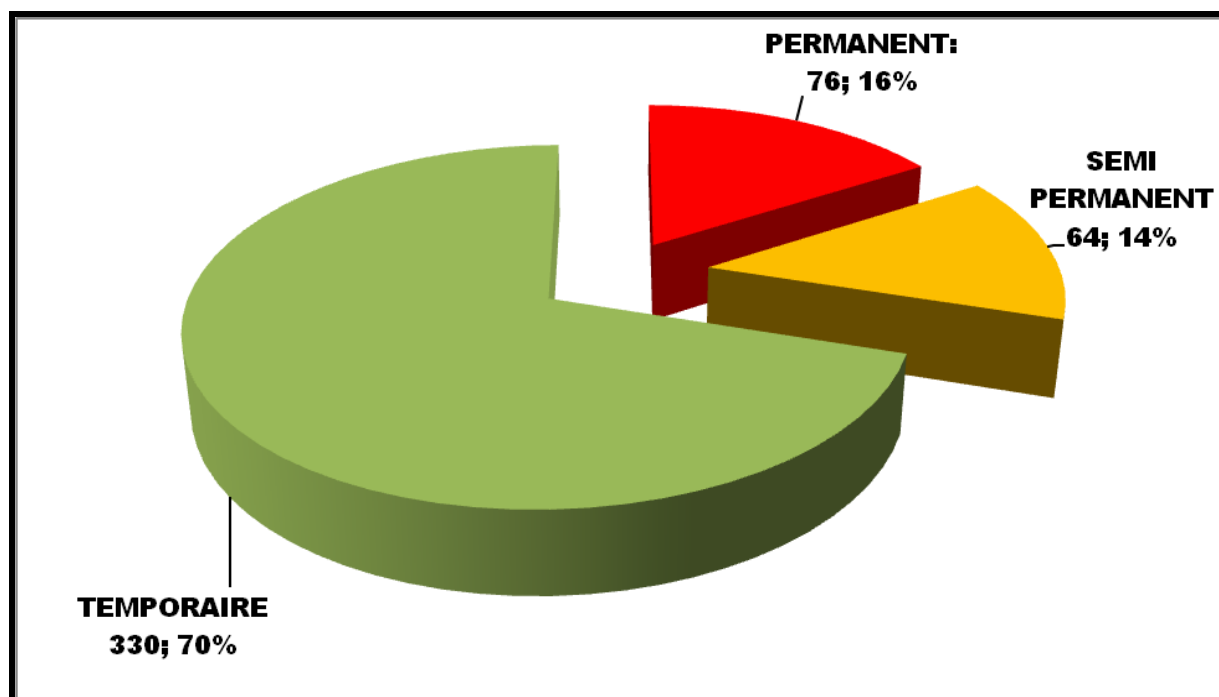


Figure 34: Préférences écologiques des larves d'Anopheles en fonction de la durée de mise en eau des gîtes.

La typologie des gîtes larvaires à Anopheles se présente comme suit : 48% sont des jarres ; 17% sont des flaques d'eau ; 15% sont des marais ; 12% sont des bassins ; 04% des tonneaux ; 02% de bidons et autres gîtes.

Cette typologie des gîtes larvaires à Anopheles révèle que les larves de ce genre de moustique prolifèrent plus dans les jarres que dans les autres types de gîtes larvaires. Cette prolifération des larves d'Anopheles dans les jarres est anormale et peut s'expliquer par un phénomène d'adaptation.

La fréquence des larves d'Anopheles est aussi élevée dans les flaques d'eaux laissées par les emprunts de véhicule, dans les marais et dans les bassins.

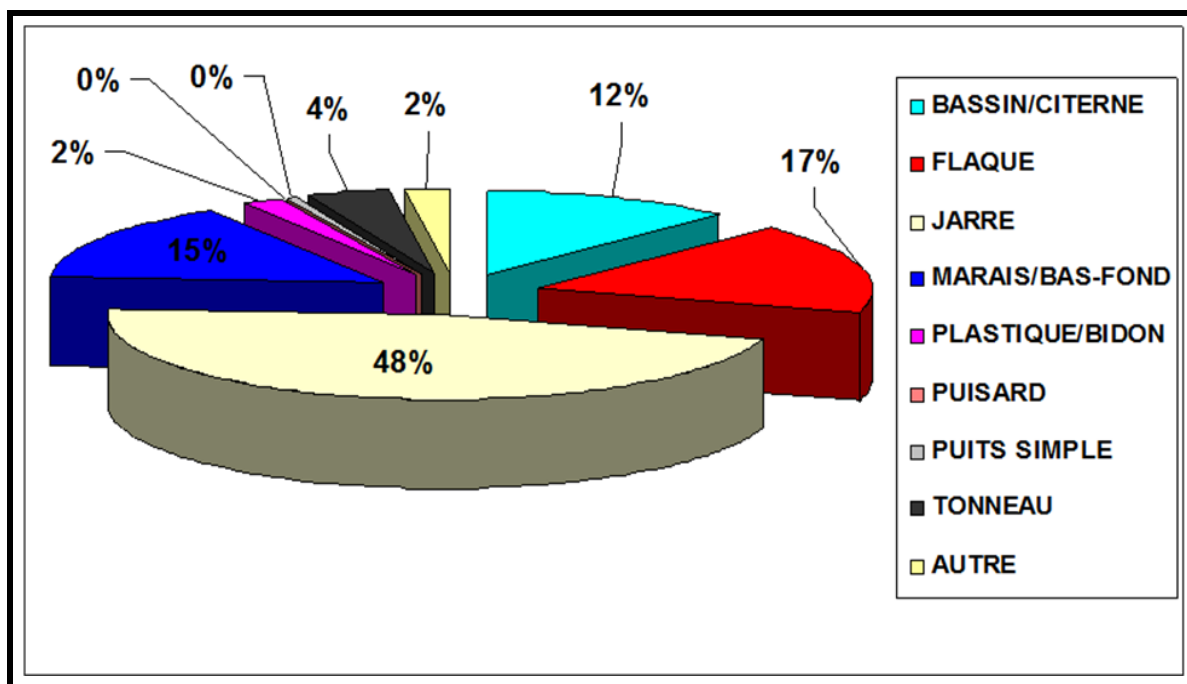


Figure 35: Typologie des gîtes larvaires à Anopheles

- Sur un total de 1562 gîtes larvaires à Culex recensés au cours de huit missions entomologiques de janvier à décembre 2009, 58% sont temporaires ; 14% sont semi permanents et 28% sont permanents. Cette répartition des gîtes larvaires à Culex en fonction de la durée de leur mise en eau révèle que les larves de moustiques Culex préfèrent les gîtes temporaires que les gîtes semi permanents et permanents.

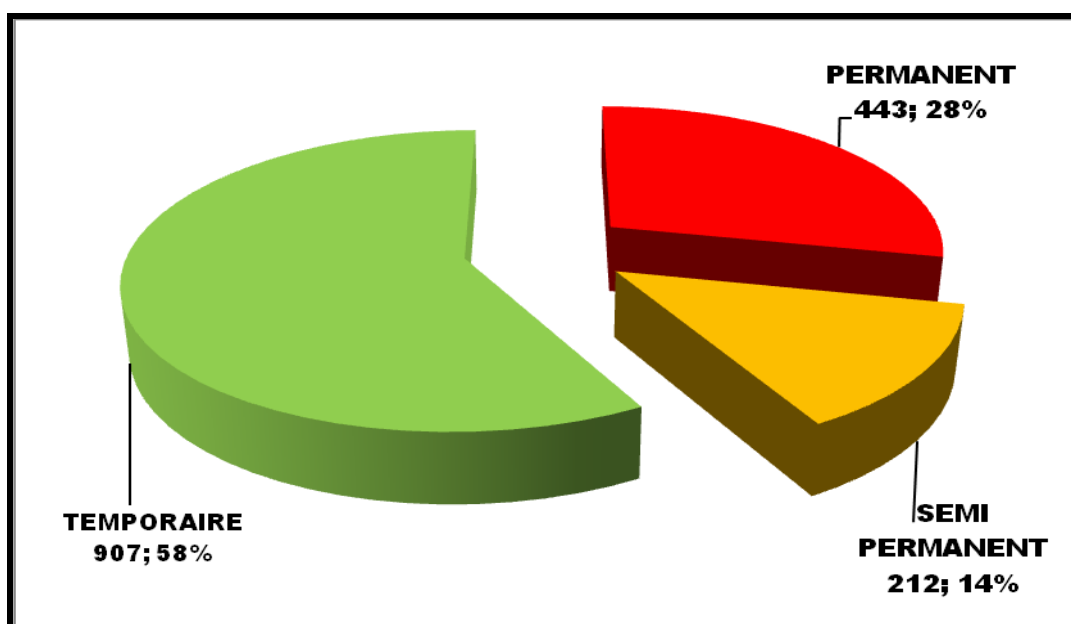


Figure 36: Préférences écologiques des larves de Culex en fonction de la durée de mise en eau des gîtes.

La typologie des gîtes larvaires à *Culex* se présente comme suit : 48% sont des jarres ; 24% sont des bassins ; 22% sont des tonneaux ; 03% sont des plastiques ; 02% pour autres gîtes larvaires et 01% de marais. Cette typologie des gîtes révèle que les larves de *Culex* prolifèrent plus dans les jarres que dans les autres types de gîtes larvaires. Les larves de *Culex* ont aussi tendance à se développer dans les tonneaux et dans les bassins. Il est important de souligner que tous ces gîtes sont pollués par des matières organiques en décomposition.

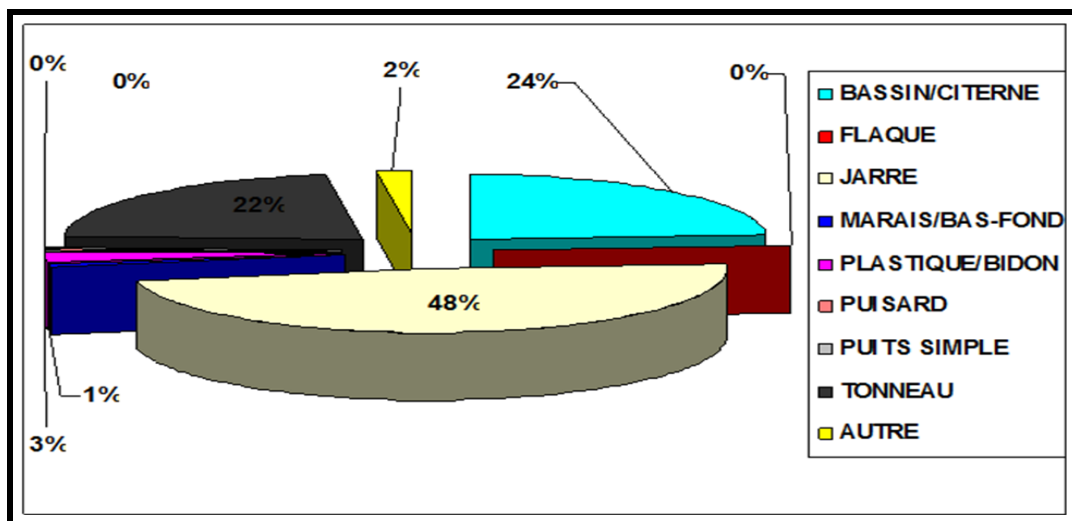


Figure 37 : Typologie des gîtes larvaires à *Culex*

- Par contre, sur un total de 238 gîtes larvaires à *Mansonia* recensés au cours de ces huit missions entomologiques, 62% sont permanents ; 26% sont semi permanents et 12% sont temporaires. Cette répartition des gîtes larvaires à *Mansonia* en fonction de la durée de leur mise en eau révèle que les larves de ce genre de moustique préfèrent les gîtes permanents que les gîtes semi permanents et temporaires.

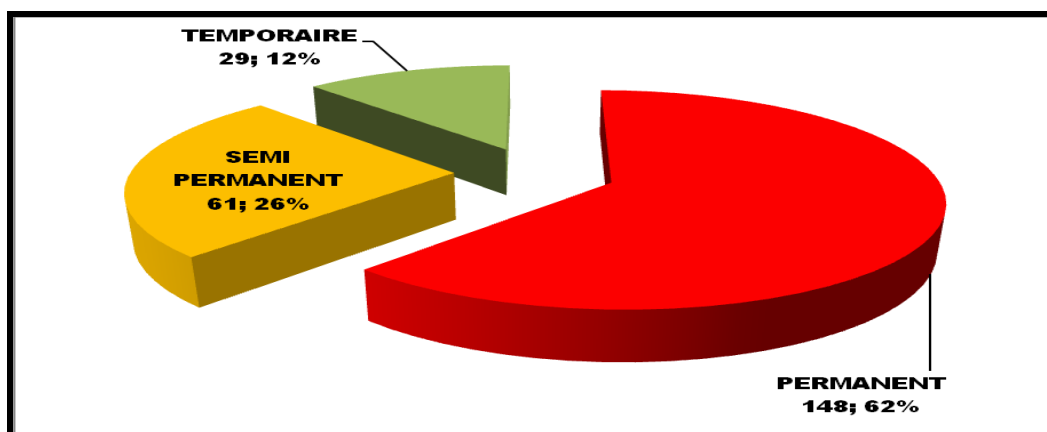


Figure 38: Préférences écologiques des larves de *Mansonia* en fonction de la durée de mise en eau des gîtes.

La typologie des gîtes larvaires à *Mansonia* se présente comme suit : 77% sont des marais ; 12% sont des bassins ; 11% sont des jarres. Cette typologie des gîtes larvaires à *Mansonia* révèle que les larves de ce genre de moustique prolifèrent plus dans les marais que dans les autres types de gîtes larvaires. Les larves de *Mansonia* ont aussi tendance à se développer dans les bassins et dans les jarres.

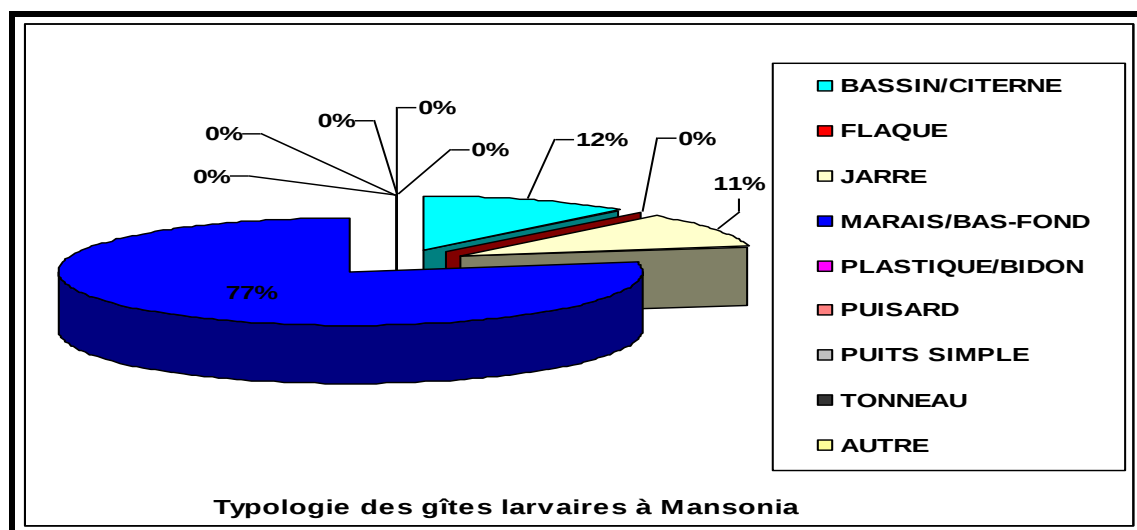


Figure 39 : typologie des gîtes larvaires à *Mansonia*

4.1.2.4 Dynamique des gîtes larvaires

Une analyse de la variance, modèle fixe à deux facteurs sans répétition : gîtes larvaires des différents genres de moustiques (*Anopheles*, *Culex*, *Aedes* et *Mansonia*) et les périodes de prospection larvaire a permis d'analyser la dynamique temporelle des gîtes larvaires. Le tableau ci-dessous présente les résultats de cette analyse.

Tableau VIII : Tableau d'analyse de la variance, modèle fixe à deux facteurs sans répétition entre gîtes larvaires et période de prospection.

Sources	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F de Fisher	Probabilité
Gîtes	148966	3	49655,4	32,00	0,000
Période	35876	7	5125,1	3,30	0,016
Erreur	32585	21	1551,7		
Total	217427	31			

L'effet du facteur « Gîte » en d'autres termes la dynamique temporelle du nombre de gîtes larvaires positifs est très hautement significatif (Prob.=0,000) alors que celui du facteur « Période de prospection » est significatif (Prob.=0,016). On conclut alors que les différences entre les gîtes larvaires des différents genres de moustiques d'une part et entre les périodes de prospection d'autre part entraînent des différences au niveau des fréquences des différents genres de moustiques.

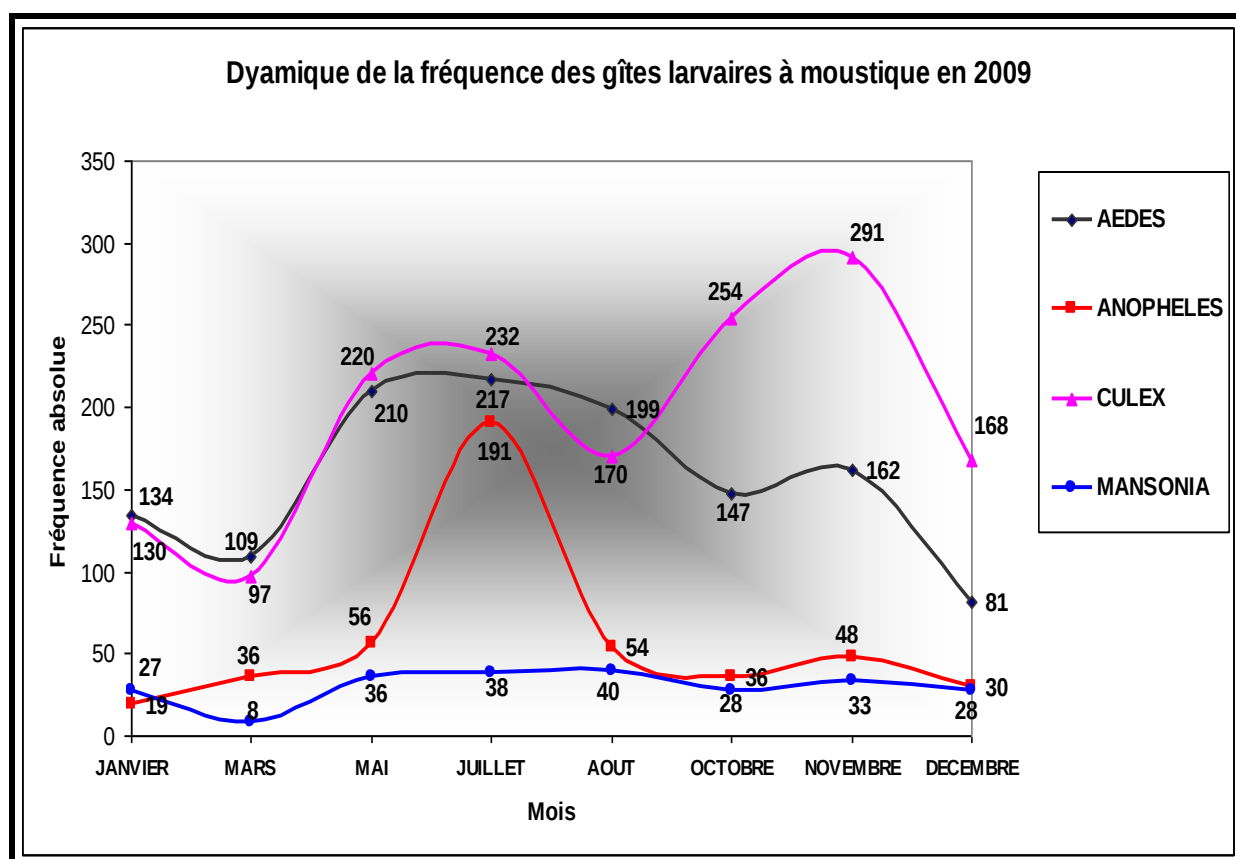


Figure 40 : Dynamique de la fréquence des gîtes larvaires à moustiques en 2009.

Les mois de mai à juillet et d'octobre à novembre sont très favorables à la prolifération des gîtes larvaires des quatre genres de moustique. Ces périodes correspondent aux saisons des pluies. Au cours de ces saisons, le sol est gorgé d'eau, et les gîtes temporaires et semi permanents s'installent.

4.2 Répartition spatio temporelle des moustiques vecteurs de maladies.

Cette étude postule de l'existence d'une structure dans la distribution spatiale des espèces. En d'autres termes, l'espace géométrique (proximité, distance,...) ne peut pas expliquer entièrement la distribution observée. Pour le vérifier, une statistique spatiale comme indicateur est retenue. Il s'agit de l'autocorrelation spatiale.

L'autocorrelation spatiale vise à étudier l'organisation et la structuration des moustiques vecteurs. L'organisation spatiale de ces moustiques est abordée au niveau de chaque espèce et analysée de façon indépendante. Cette section est subdivisée en trois paragraphes : le premier est consacré aux statistiques générales sur les moustiques vecteurs retenus, le deuxième est consacré à la dynamique temporelle de ces vecteurs et le troisième à leurs répartitions spatiales.

4.2.1 Statistiques générales sur les moustiques vecteurs.

- La collecte de données a été effectuée d'octobre 2007 à décembre 2009. A chaque enquête, les moustiques adultes ont été collectés au cours de 2 nuits consécutives dans chacun des 28 hameaux sélectionnés. La collecte des moustiques a été faite par des volontaires éveillés placés à l'extérieur et à l'intérieur de 4 habitations choisies par hameau de 22 heures à 6 heures du lendemain. Au total, 124 202 moustiques capturés ont été identifiés utilisant la clé de détermination taxonomique de Gilles, (2002). Les moustiques vecteurs de maladies retenus dans le cadre de cette étude (*Ae. aegypti*, *An. gambiae*, *An. funestus* et *Cx. quiquefasciatus*) représentent 14%(17383) des moustiques capturés (figure 41).

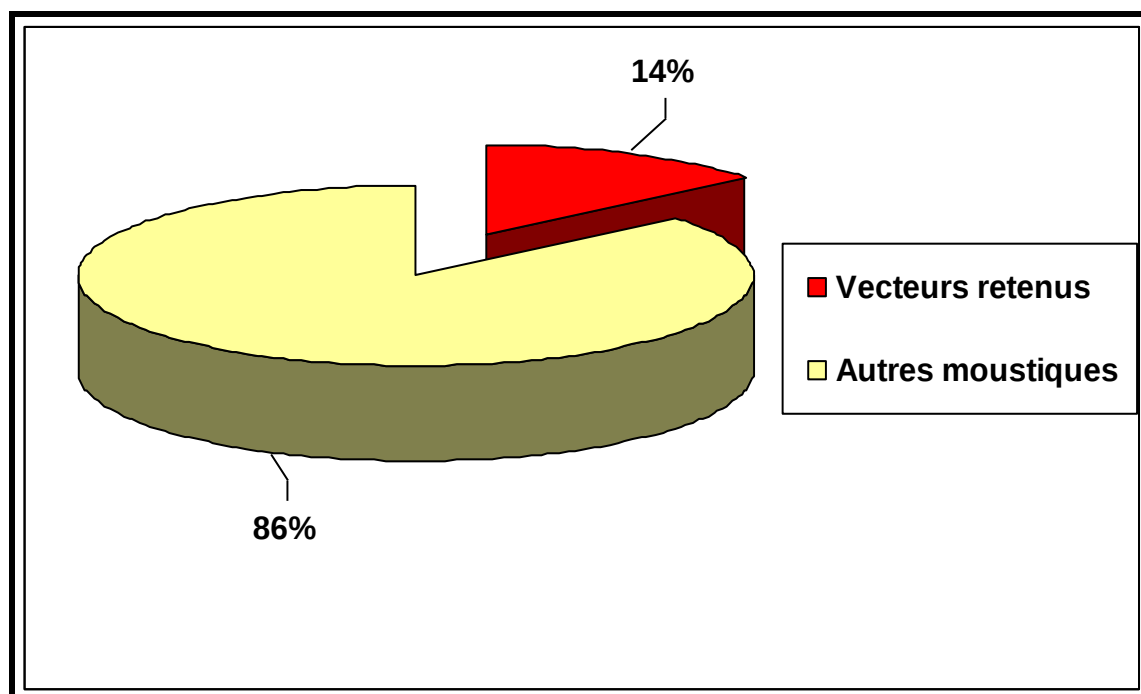


Figure 41 : Statistiques générales sur les moustiques adultes

- La répartition des 14% des vecteurs retenus se présente comme suit : *An. funestus* (10%), *An. gambiae* (14%), *Cx. quinquefasciatus* (68%) et *Ae. aegypti* (08%) (Figure 42). Les différences notées entre la fréquence des moustiques vecteurs de maladies sont hautement significatives au regard des résultats du test de Chi-2 d'ajustement à une distribution aléatoire (Prob. < 0,0001) au seuil de signification de 0,05.

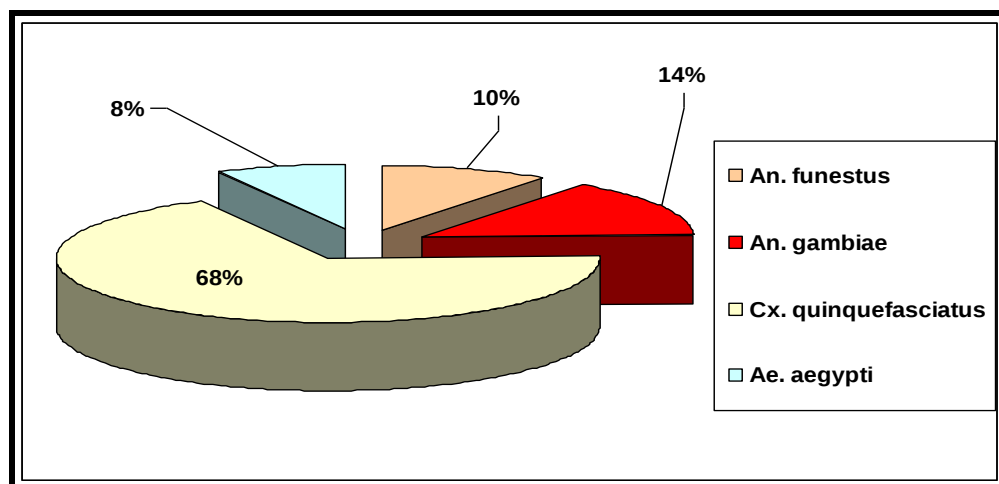


Figure 42 : Statistiques sur les moustiques vecteurs retenus

4.2.2 La dynamique temporelle des moustiques vecteurs

Une ANOVA, modèle fixe à deux facteurs : espèces de moustiques (*An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*) et saisons de l'année (grande saison sèche, grande saison pluvieuse, petite saison sèche et petite saison pluvieuse) a permis d'étudier efficacement l'interaction entre ces deux facteurs. Le tableau ci-dessous présente les résultats de cette analyse.

Tableau IX: Résultat de l'ANOVA entre moustiques vecteurs de maladies et saisons.

Sources	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F de Fisher	Probabilité
Espèces	1179623	3	393208	4,83	0,029
Saisons	253910	3	84637	1,04	0,420
Espèces*Saisons	732048	9	81339	0,71	0,691
Erreur	1827346	16	114209		
Total	3992926	31			

On constate que les saisons de l'année n'ont aucun effet significatif sur les fréquences des espèces vectrices. Cependant, la différence entre les espèces de moustiques adultes induit un effet significatif sur leurs fréquences.

4.2.3 Répartition spatiale des moustiques vecteurs

4.2.3.1 La répartition spatiale d'*Anopheles gambiae*

La distribution spatiale d'*An. gambiae* (figure 43) se caractérise par une population plus dense dans la partie nord-est et sud-est du site. Une telle répartition permet de soupçonner une dépendance spatiale dans la distribution des fréquences d'*An. gambiae*, d'où la nécessité de tester l'autocorrelation spatiale.

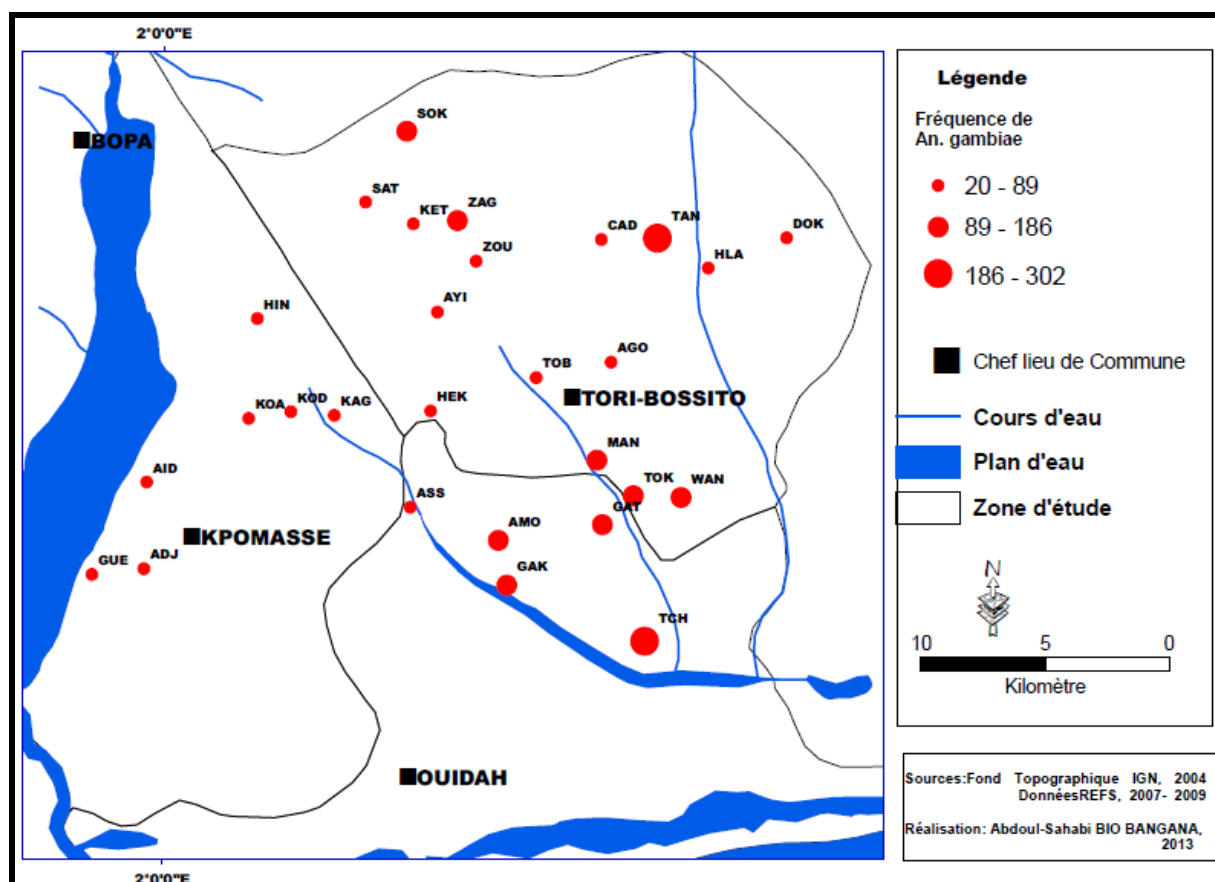


Figure 43: Répartition spatiale de *An. gambiae*

Le calcul de l'indice d'autocorrelation spatiale effectué sur les 28 hameaux de collecte et les fréquences observées sur ces hameaux présentent les résultats suivants :

Indice d'autocorrelation spatiale de Moran = 0,290596;

Indice attendue = -0,037037;

Variance = 0,020007;

Z Score = 2,316324.

L'indice de Moran est proche de 0. La réalisation de la variable aléatoire régionalisée est donc indépendante. Cela signifie que les fréquences d'*An. gambiae* dans un

hameau de collecte ne sont pas influencées par les fréquences observées dans les hameaux voisins. Il n'est donc pas possible de prédire les fréquences dans un hameau, connaissant les fréquences observées en un autre hameau s'appuyant sur la distance qui les sépare.

Cette indépendance spatiale observée peut être le fruit du hasard et n'a de valeur que pour l'échantillon qui a servi au calcul. Il est donc nécessaire de faire un test pour vérifier la validité de cette indépendance spatiale pour la variable spatiale dans sa totalité. Ce test statistique d'indépendance de la variable régionalisée donne un Z score égal à 2,316324 au seuil de confiance de 95%. Il se situe en dehors de l'intervalle de confiance [-1,96 ; 1,96]. Il est difficile d'en déduire l'absence totale d'autocorrelation spatiale sur l'ensemble de la variable. Il existe sans doute des agrégats spatiaux exprimant l'existence locale d'autocorrelation spatiale.

Le calcul des concentrations des valeurs fortes et des valeurs faibles de Getis-Ord General G présente les résultats suivants :

Général G Observé = 0,000047;

Général G attendus = 0,000040;

Variance de Général G = 0,000000;

Z Score = 1,040106.

Le Z Score est différents de 0 et faible. D'après ces statistiques, il y a indépendance spatiale sur les observations effectuées. Il existe toutefois des agrégats spatiaux de valeurs faibles à l'intérieur desquels peut s'exprimer une autocorrelation spatiale. La structure spatiale mise en exergue ne trouve pas d'explication dans les relations de voisinage. Il est donc important de recourir à d'autres facteurs qui expliquent cette répartition observée. Mais avant, il faut se demander si ces conclusions qui concernent *An. gambiae* sont les mêmes lorsqu'on s'intéresse aux autres espèces (*An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*).

4.2.3.2 La répartition spatiale d'*Anopheles funestus*

La distribution spatiale d'*An. funestus* (figure 44) se caractérise par une densité de population concentrée dans la partie sud-est du site.

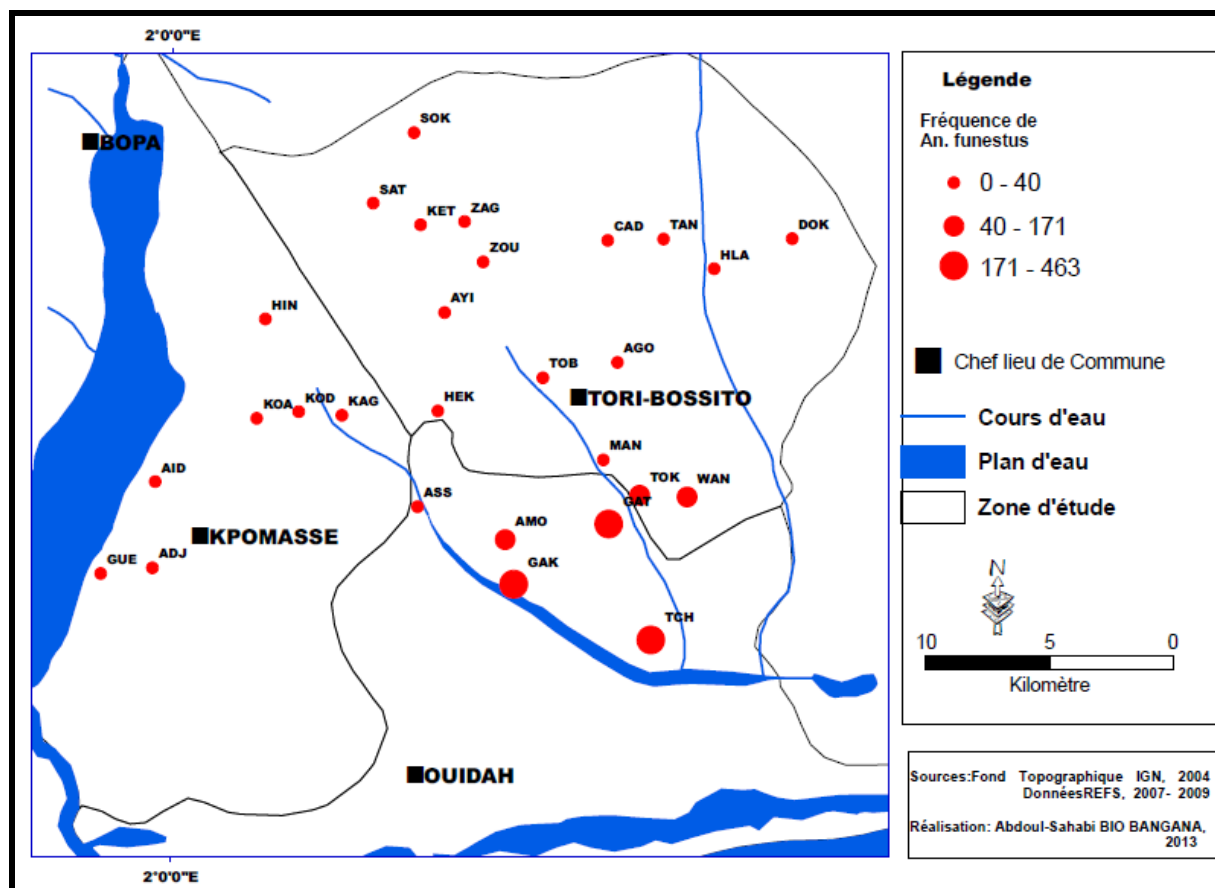


Figure 44: Répartition spatiale d'*Anopheles funestus*

L'indice d'autocorrélation spatiale de Moran utilisé pour mesurer le niveau de dépendance spatiale donne les résultats suivants :

Indice de Moran = 0,515182;

Expected Index = 0,037037;

Variance = 0,017741;

Z score = 4,145941.

La valeur de l'indice de Moran n'est pas proche de 0. La réalisation de la variable aléatoire régionalisée n'est donc pas indépendante. Il y a donc autocorrélation spatiale dans la distribution observée. Cela signifie que les fréquences d'*An. funestus* collecté dans un hameau sont influencées par les fréquences observées dans les hameaux voisins. Il est donc possible de prédire les fréquences d'*An. funestus* dans un hameau quelconque, connaissant les fréquences observées dans un autre hameau en s'appuyant sur la distance qui les sépare.

Cependant, le test statistique devant valider cette dépendance spatiale pour l'ensemble de la variable aléatoire régionalisée donne un Z score de 4,145941 qui relativise l'interprétation de l'indice d'autocorrélation de Moran. En effet il se situe en dehors de l'intervalle de confiance $[-1,96 ; 1,96]$. Il est difficile d'en déduire la présence d'autocorrélation spatiale sur l'ensemble de la variable. Il existe sans doute des agrégats spatiaux exprimant l'existence locale d'autocorrélation spatiale.

Le calcul de l'indice de concentration des valeurs fortes et des valeurs faibles de Getis-Ord General G donne les valeurs suivantes :

Observed General G = 0,000147;

Expected General G = 0,000040;

General G Variance = 0,000000;

ZScore = 3,742241.

Il y a sans doute existence d'une autocorrélation spatiale mais elle est locale. En somme, *An. funestus* a tendance à se concentrer au sud-est de la zone sanitaire, dans les régions des marais et des prairies marécageuses. Cette zone correspond à la partie où les précipitations sont les plus abondantes avec la prédominance des prairies à *Thallia welwetchii*. C'est la partie la plus humide de la zone d'étude. Nous pensons donc à une préférence par rapport à la présence de l'eau. Les fréquences observées dans un hameau ne dépendantes pas de celles des hameaux voisins. Il n'est pas convenable de dériver les fréquences dans toute la région sur la base des fréquences obtenues dans les 28 hameaux étudiés. Toutefois, la concentration au sud crée des agrégats, des zones dans lesquelles les fréquences peuvent avoir des similarités (gîtes permanents ou semi permanents, végétation donnant de l'ombre sur les gîtes). Le sud-est de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito présente sans doute des conditions écologiques plus favorables à *An. funestus*. Qu'en est-il pour *Cx. quinquefasciatus*?

4.2.3.3 La répartition spatiale de *Culex quinquefasciatus*

La distribution spatiale de *Cx. quinquefasciatus* (figure 45) se caractérise par une tendance à une concentration des fréquences dans les parties nord et sud-ouest du site.

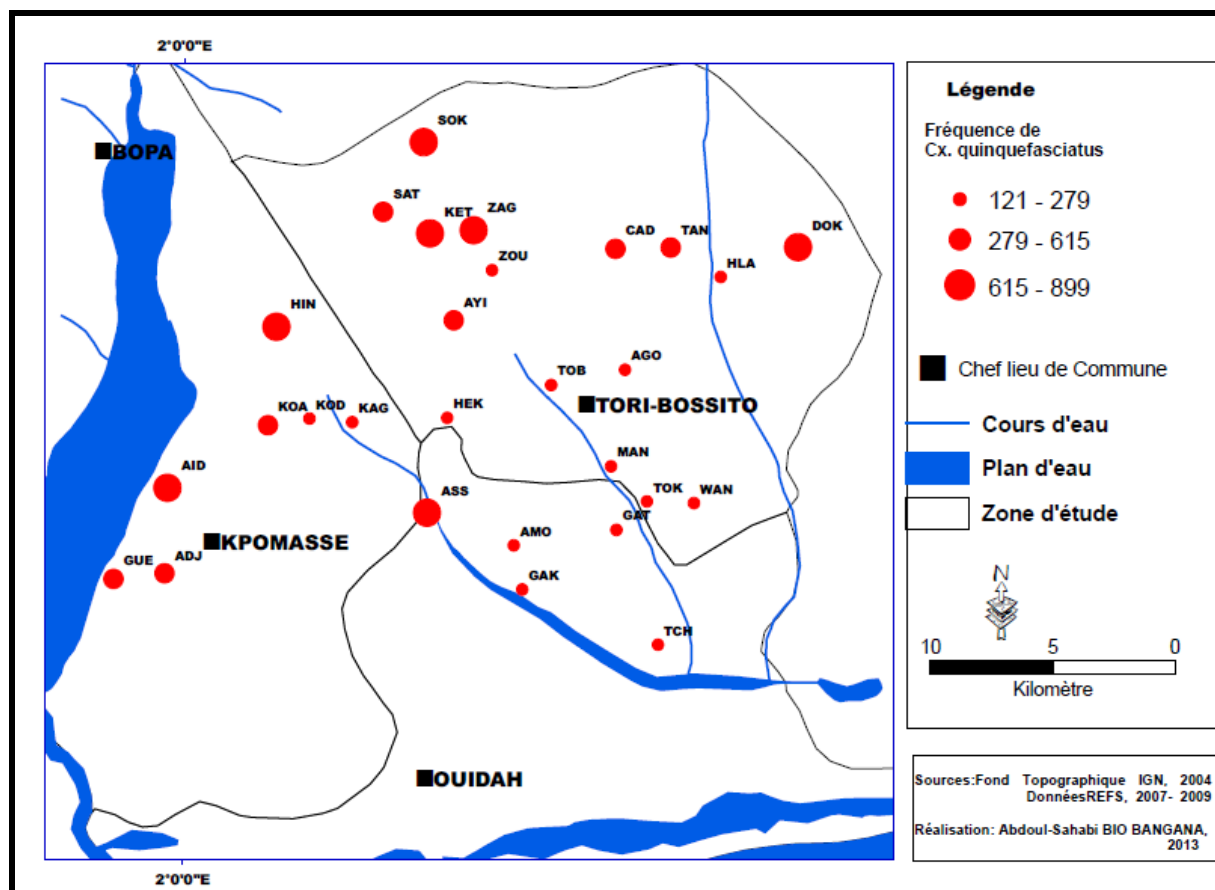


Figure 45: Structure spatiale de *Cx. quinquefasciatus* dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito

L'évaluation de l'indice d'autocorrelation de Moran donne les résultats suivants :

Indice de Moran = 0,216246;

Indice attendu = -0,037037;

Variance = 0,022155;

Z Score = 1,701664.

L'indice d'autocorrelation de Moran est proche de 0, il y a indépendance spatiale pour cette réalisation de la variable aléatoire régionalisée. D'après ces statistiques, les fréquences de *Cx. quinquefasciatus* en un point de collecte ne sont pas influencées par les fréquences observées aux points voisins. Il n'est donc pas possible de prédire les fréquences de *Cx. quinquefasciatus* dans un hameau, connaissant les fréquences observées dans un autre hameau, en nous appuyant sur la distance qui les sépare.

L'indice de concentration des valeurs fortes et des valeurs faibles de Getis-Ord General G, donne les résultats suivants :

Général G Observé = 0,000041;

Général G attendu = 0,000040;

Variance du Général G = 0,000000;

Z Score = 0,303864.

Le Z Score est différent de 0 et faible. Il existe sans doute des agrégats spatiaux de valeurs faibles exprimant l'existence locale d'autocorrelation spatiale.

L'infirmité statistique de l'indépendance spatiale de la variable aléatoire régionalisée observée avec l'indice de Moran, impose de pousser l'analyse en vérifiant les relations entre les fréquences observées et l'environnement.

En somme, *Culex quinquefasciatus* a tendance à se concentrer au nord et au sud-ouest de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. Ses fréquences diminuent du nord vers le sud. Cette partie de la zone sanitaire correspond à celle où les producteurs traditionnels d'alcool sont plus concentrés, mais la fréquence de production d'alcool est la plus faible. C'est la partie la moins humide de la zone, le domaine de prolifération des bassins de retenue d'eau. Face à la faible pluviosité, les populations sont contraintes à creuser des bassins de retenue d'eau pour la production artisanale d'alcool et d'autres usages.

4.2.3.4 La répartition spatiale d'*Aedes aegypti*.

Ae. aegypti (figure 46) est rencontré essentiellement dans la partie nord et sud-est de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito.

Il existe probablement un lien entre cette espèce et le lieu préférentiel de son développement. Il en résulte une dépendance spatiale dans la répartition de cette espèce sur le site, d'où la nécessité de tester l'autocorrelation spatiale.

L'évaluation de l'indice d'autocorrelation de Moran donne les résultats suivants :

Indice de Moran = 0,034791;

Indice attendu = -0,037037;

Variance = 0,005929;

Z Score = 0,932862.

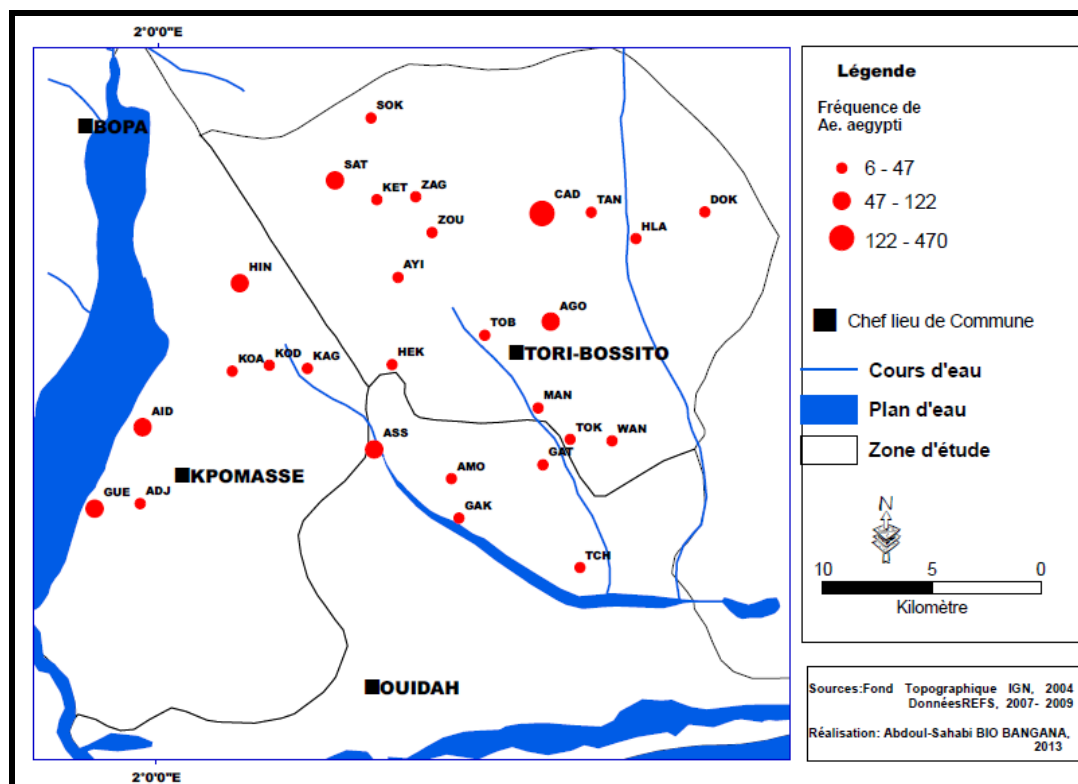


Figure 46: Répartition spatiale de *Ae. aegypti* dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito

L'indice d'autocorrelation de Moran étant proche de 0, il y a indépendance spatiale pour cette réalisation de la variable aléatoire régionalisée. Cela signifie que les fréquences d'*Ae. ægypti* dans un hameau étudié ne sont pas influencées par les fréquences observées dans les hameaux voisins.

L'indice de concentration des valeurs fortes et des valeurs faibles de Getis-Ord General G, donne les résultats suivants :

Général G Observé = 0,000036;

Général G attendu = 0,000040;

Variance du Général G = 0,000000 ;

Z Score = -0,252209.

Le Z Score est négatif. Etant donné qu'un faible z score négatif et une p valeur basse indiquent une agrégation spatiale de valeurs faibles alors nous pouvons dire que d'après ces statistiques, Il existe des agrégats spatiaux de valeurs faibles à l'intérieur desquels peut s'exprimer une autocorrelation spatiale. L'infirimation statistique de l'indépendance spatiale de la variable aléatoire régionalisée observée avec l'indice de Moran, impose de pousser l'analyse en vérifiant les relations entre les fréquences observées et l'environnement. Puisqu'il y a indépendance spatiale

doublée d'une concentration des fréquences au nord et au sud-ouest, ces régions semblent avoir de meilleures conditions écologiques et anthropiques (tendance à stocker de l'eau et à utiliser économiquement les jarres, pots de médicaments traditionnels, pneus, tonneaux ...etc.) pour *Ae. aegypti* que le sud-est.

Nous retenons de l'analyse des structures spatiales une tendance à l'allopatricité entre les quatre espèces de vecteurs identifiées (*An. funestus*, *An. gambiae*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*). L'espèce *An. funestus* présente de fortes concentrations au sud-est dans les régions des marais et des bas-fonds de la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. L'espèce *An. gambiae*, quant à elle, est plus dominante au nord-est et au sud-est, dans les régions de bassins de retenue d'eau pluviale du nord et dans la zone des marais du sud.

Cette occupation différentielle de l'espace entre *An. funestus* et *An. gambiae* est en conformité avec les résultats de Armel Djènonatin et *al.* (2010) dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. L'espèce *Cx. quinquefasciatus* présente de fortes concentrations au nord et à l'ouest dans les régions de faible production d'alcool mais de forte concentration de producteurs d'alcool de la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. Pour ce qui est de l'espèce *Ae. aegypti*, elle prolifère dans toute la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito sauf dans le sud-est, dans la zone des marais et des cours d'eau pérennes. Cette forte prédominance d'une espèce vectrice sur l'autre évoque également des zones d'occupation préférentielle. L'analyse de la répartition spatiale a également montré l'absence d'autocorrélation spatiale. Toutefois, elle laisse entrevoir, malgré l'indépendance spatiale globale, la présence d'agrégats spatiaux, témoignant de l'existence, au niveau local, d'autocorrélation spatiale. Ces résultats permettent de dire que l'hypothèse de distribution spatiale non aléatoire des vecteurs retenus est vérifiée. Les tests d'autocorrélation montrent une dépendance spatiale locale et le fait que l'espace (absolu) est insuffisant pour expliquer la distribution observée. Il convient de mettre en relation les facteurs environnementaux et les fréquences de moustique vecteurs de paludisme et autres moustiques vecteurs de maladies: c'est l'objet du chapitre V. Ce chapitre vise à vérifier les deux dernières hypothèses à savoir : la contribution différentielle des déterminants environnementaux dans la répartition spatiale des vecteurs et la possibilité, connaissant certains paramètres d'un milieu, de prédire les fréquences de population de moustiques vecteurs dans ce milieu.

CHAPITRE V: PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX ET REPARTITION SPATIALE DES MOUSTIQUES VECTEURS DE MALADIES: UNE RELATION A FORMALISER.

Si l'espace dans sa dimension géométrique est insuffisant pour expliquer la distribution des fréquences observées, certaines de ses caractéristiques peuvent être plus pertinentes. Il convient donc de vérifier la relation entre les attributs de l'espace en tant que milieu de vie, environnement des moustiques vecteurs de maladies et les fréquences observées. L'environnement se positionne dans cette perspective comme facteur susceptible d'expliquer la distribution observée. Il joue donc le rôle de variable explicative. L'environnement se décline à travers 21 paramètres.

Pour résoudre le problème de colinéarités entre les paramètres environnementaux, susceptible de faire biaiser le calcul des coefficients de corrélation, une Analyse des composantes principales sur les paramètres environnementaux qui génèrent des axes non corrélés entre eux est envisagée afin de supprimer l'existence d'une colinéarité. Des coefficients de corrélation entre chacun de ces axes et les fréquences des moustiques vecteurs de maladies ont été calculés et interprétés puisque chaque axe est lié aux paramètres environnementaux de départ. Les paramètres environnementaux qui présentent de forts liens avec les fréquences des différentes espèces vectrices de maladies ont été sélectionnés pour modéliser la relation entre fréquence de moustiques vecteurs de maladies et facteurs environnementaux.

5.1 Résultat de l'analyse en composantes principales (ACP)

5.1.1 Caractérisation des données et paramètres de l'analyse

L'analyse en elle-même est une analyse en composantes principales (ACP normée), sans axe de rotation. Le coefficient de corrélation est celui de Pearson. Le seuil de signification est de 0,05. Le tableau soumis à l'analyse compte 25 variables quantitatives dont quatre variables à expliquer (Fr_Ae. *aegypti*, Fr_An. *funestus*, Fr_An. *gambiae*, Fr_Cx. *quinquefasciatus*) et 21 variables explicatives. Seules les 21 variables explicatives sont prises en compte par l'ACP. Le tableau X ci-dessous présente les statistiques descriptives sur l'ensemble des variables.

Tableau X: Statistiques descriptives sur les variables quantitatives

VARIABLES	SIGNIFIANT DE LA VARIABLE	MOYENNE	ECART TYPE
FR_AA	Fr_Ae. aegypti	48,57	87,89
FR_AF	Fr_An. funestus	62,57	129,50
FR_AG	Fr_An. gambiae	89,46	76,96
FR_CQ	Fr_Cx. quinquefasciatus	420,21	257,40
VENT	Vitesse moyenne du vent (sur les 17 missions)	11,51	0,68
VISIBILITE	Visibilité moyenne (sur les 17 missions)	9,19	0,04
PLUIE	Pluviométrie moyenne (sur les 17 missions)	1216,61	22,28
HR	Humidité relative moyenne (sur les 17 missions)	81,02	0,36
PRESSION	Pression de vapeur moyenne (sur les 17 missions)	1009,57	0,15
TEMPER	Température moyenne (sur les 17 missions)	27,29	0,04
NJP	Nombre de jour de pluie (sur les 17 missions)	99,33	0,59
NDVI	Végétation / Intensité moyenne de l'activité chlorophyllienne	0,41	0,09
TOPO	Topographie/ altitude	40,32	16,52
POP	Population	354,21	129,00
NH	Nombre total d'habitations	96,07	29,77
DCED	Distance des localités aux cours d'eau douce	4,61	4,55
DCES	Distance des localités aux cours d'eau saumâtre	10,90	6,02
NPA	Nombre de producteurs d'alcool	2,07	1,39
FPA	Fréquence de production d'alcool	6,18	4,03
GDCP	Gîtes domestiques, épigés liés au comportement des populations	96,75	63,64
GDAE	Gîtes domestiques, épigés liés aux activités économiques	18,43	16,62
GDR	Gîtes domestiques, épigés liés au relief	7,21	10,37
TH_TB	Nombre d'habitations dont le mur est en terre battue	88,04	27,49
TH_MB	Nombre d'habitations dont le mur est en brique (ciment)	7,21	10,25
TH_A	Nombre d'habitations dont le mur est en brique (ciment) et en terre battue	0,82	1,70

5.1.2 Analyse des coordonnées des variables environnementales

L'analyse en composantes principales effectuée sur les données liées aux paramètres environnementaux obtenus dans différents hameaux montre que l'ensemble des trois premiers axes expliquent 62,25 % de l'information initiale, ce qui est suffisant pour garantir une précision d'interprétation. Le tableau XI montre les coefficients de corrélation entre chacun des trois axes et les paramètres environnementaux.

Tableau XI: Coefficients de corrélation entre les trois axes et les paramètres environnementaux

Paramètres environnementaux	Axe1	Axe2	Axe3
VENT	0,97	-0,05	-0,16
VISIBILITE	-0,68	0,01	-0,35
PLUIE	0,94	0,09	0,27
HR	0,97	-0,07	-0,19
PRESSION	-0,97	0,06	-0,03
TEMPER	0,65	-0,22	-0,31
NJP	0,63	0,24	0,65
NDVI	-0,01	0,12	0,83
TOPO	-0,7	0,2	0,51
POP	-0,03	0,9	-0,22
NH	0,04	0,95	-0,18
DCED	-0,83	0,02	-0,02
DCES	0,58	0,29	0,62
NPA	0,42	0,06	-0,31
FPA	0,56	-0,2	-0,09
GDCP	0,32	0,31	-0,12
GDAE	-0,05	-0,09	0,06
GDR	0,45	0,06	-0,25
TH_TB	-0,1	0,9	-0,1
TH_MB	0,37	0,38	-0,29
TH_A	0,14	-0,09	0,2

Légende : VENT=Vent ; VISIBILITE=Visibilité ; PLUIE= Pluie ; HR= Humidité Relative ; PRESSION=Pression ; TEMPER =Température ; NJP =Nombre de Jour de Pluie ; NDVI =indice de végétation de la différence normalisée ; TOPO=Topographie/ Relief ; POP=Population ; NH=Nombre d'Habitats ; DCED=Distance des localités au Cours d'Eau Douce ; DCES= Distance des localités au Cours d'Eau Saumâtre ; NPA=Nombre de Producteurs d'Alcool ; FPA= Fréquence de Production d'Alcool ; GDCP=Gîtes Domestiques liés aux Comportements des Populations ; GDAE=Gîtes domestiques liés aux Activités Economiques ; GDR= Gîtes Domestiques liés au Relief ; TH_TB =Habitations en terre battue ; TH_MB= Habitations en briques ; TH_A=Habitations issues de association brique+terre de barre

L'analyse de ce tableau montre que :

- les paramètres environnementaux vent, visibilité, pluie, humidité relative, pression, température, topographie, distance des localités au cours d'eau douce, fréquence de production d'alcool sont pris en compte par l'axe 1 (coefficients de corrélation en valeur absolue > 0,5). De cet axe, on note qu'une forte pluie est souvent associée à un grand vent, une humidité relative, une température, et une fréquence de production d'alcool élevés mais à une faible visibilité, une faible pression, un relief topographique faiblement accidenté et une faible distance des localités au cours d'eau douce.
- les paramètres démographiques comme la population, le nombre d'habitations et d'habitations en terre battue sont pris en compte par l'axe 2.
- l'axe 3 quant à lui prend en compte le nombre de jours de pluie, l'indice de la différence normalisée de végétation et la distance des localités au cours d'eau saumâtre. On en déduit qu'un nombre élevé de jours de pluie est associé à un indice de la différence normalisée de végétation élevé et à une distance des localités au cours d'eau saumâtre élevée.

5.1.3 Analyse de la qualité de la représentation des variables par rapport aux différents axes factoriels

La qualité de la représentation des différentes variables par rapport à l'axe factoriel s'exprime à travers les valeurs du coefficient de corrélation de Pearson qui sont consignées dans le Tableau XII.

Tableau XII: Coefficients de corrélation entre espèces de moustique vecteurs de maladies et les composantes principales.

Axes	Coefficient et Prob.	Fréquence			
		<i>Ae. aegypti</i>	<i>An. funestus</i>	<i>An. gambiae</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>
Axe 1	R	-0,31	0,41	0,49	-0,41
	Prob.	0,107	0,031	0,008	0,029
Axe 2	R	0,29	0,03	0,25	0,02
	Prob.	0,139	0,874	0,195	0,918
Axe 3	R	-0,45	0,01	0,04	0,07
	Prob.	0,016	0, 967	0,843	0,735

L'analyse de ce tableau indique une corrélation hautement significative au seuil de 5 % entre l'axe 1 et la fréquence de *An. gambiae*. La corrélation entre les fréquences de *An. funestus* et de *Cx. quinquefasciatus* est significatif alors qu'il n'existe pas de corrélation significative entre cet axe et la fréquence de *Ae. aegypti*. Tenant compte des paramètres environnementaux pris en compte par cet axe, on en déduit que lorsqu'il y a un grand vent, une forte pluie, une humidité relative, une température, et une fréquence élevée de production d'alcool, les fréquences de *An. funestus* et de *An. gambiae* augmentent par opposition à une faible visibilité, une faible pression, un relief topographique faiblement accidenté et à une faible distance des localités au cours d'eau douce qui font baisser leurs fréquences. L'axe 1 est négativement corrélé avec la fréquence de *Cx. quinquefasciatus*. De ce fait, lorsqu'il y a un grand vent, une forte pluie, une humidité relative, une température, et une fréquence de production d'alcool élevés, la fréquence de *Cx. quinquefasciatus* diminue par opposition à une faible visibilité, une faible pression, un relief topographique faiblement accidenté et à une faible distance des localités au cours d'eau douce qui font augmenter sa fréquence.

L'axe 2 ne présente pas de corrélation significative avec les fréquences des moustiques vecteurs de maladies.

En ce qui concerne l'axe 3, il est significativement corrélé avec la fréquence de *Ae. aegypti*. Il s'agit d'une corrélation négative avec l'axe 3. Donc on peut déduire que

lorsque le nombre de jour de pluie, l'indice normalisé de végétation et la distance des localités au cours d'eau saumâtre sont élevés la fréquence de *Ae. aegypti* baisse. De cette analyse en composantes principales, nous déduisons :

1. qu'il existe des relations entre les facteurs de l'environnement et la distribution des moustiques vecteurs de maladies ;
2. qu'il existe une opposition entre les préférences écologiques des moustiques vecteurs de maladies.
3. que les facteurs écologiques nombre de producteurs d'alcool (NPA), Gîtes domestiques (GDCP, GDAE et GDR) et les types d'habitat (TH_MB et TH_A) ne présentent pas un intérêt dans la détermination de la distribution ; leurs contributions sont négligeables dans la répartition spatiale des moustiques vecteurs de maladies considérées;

En somme, la deuxième hypothèse est vérifiée. En effet, tous les facteurs environnementaux ne contribuent pas de la même façon à la détermination de la structure spatiale observée. Certains facteurs environnementaux peuvent devenir plus facilement une contrainte importante, un facteur limitant au développement et à la propagation des espèces. D'après les résultats de l'analyse, nous pouvons :

- procéder à la réduction du nombre de variables explicatives par exclusion des variables nombre de producteurs d'alcool (NPA), Gîtes domestiques (GDCP, GDAE et GDR) et les types d'habitat (TH_MB et TH_A);
- identifier le meilleur modèle en comparant les critères AIC (Akaike Information Criterion) et BIC (Bayesian Information Criterion) des modèles (modèle de poisson, modèle binomiale négative, modèle de régression linéaire avec transformation de la famille Box-Cox des variables dépendantes et indépendantes)
- procéder à une modélisation séparée de la relation entre la fréquence des quatre espèces de moustiques vectrices de maladies et les paramètres environnementaux;
- procéder à la régression linéaire multiple.

5.2 Configuration de la régression et description des données

L'analyse des relations entre l'environnement et la distribution de chaque espèce de moustique laisse penser à une possibilité de formalisation mathématique de leur distribution en s'appuyant sur les facteurs environnementaux. De plus, il est apparu nécessaire de considérer séparément chaque espèce, compte tenu des différences

observées dans leurs relations avec l'environnement. La régression réalisée est de type linéaire. Elle est exécutée une première fois avec la fréquence de *An. funestus* comme variable dépendante, une deuxième fois avec la fréquence de *An. gambiae* comme variable dépendante, une troisième fois avec *Cx. quinquefasciatus* comme variable dépendante et une quatrième fois avec *Ae. aegypti* comme variable dépendante. Sur les 28 individus (hameaux) que constitue l'échantillon, 28 (soit 100%) ont été utilisés pour la modélisation. Les variables à expliquer présentent les caractéristiques suivantes (tableau XIII).

Tableau XIII: Statistiques descriptives sur les variables à expliquer (28 Hameaux).

Variable	Nbre de valeurs totales	Nbre de Valeurs Utilisées	Nbre de Valeurs ignorées	Somme des poids	Moyenne	Ecart-type
Fr_ <i>Ae. aegypti</i>	28	28	0	28	48,57	87,89
Fr_ <i>An. funestus</i>	28	28	0	28	62,57	129,49
Fr_ <i>An. gambiae</i>	28	28	0	28	89,46	76,97
Fr_ <i>Cx. quinquefasciatus</i>	28	28	0	28	420,21	257,40

Les variables explicatives retenues dans le cadre de la modélisation de la distribution spatiale des moustiques vecteurs sont toutes des variables quantitatives.

Le tableau XIV ci-dessous contient la liste des variables explicatives et leurs caractéristiques statistiques.

Tableau XIV: Résumé pour les variables explicatives sur 17 missions entomologiques (28 Hameaux).

VARIABLE	SIGNIFIANT DE LA VARIABLE	MOYENNE	ECARTYPE
VENT	Vitesse moyenne du vent (sur les 17 missions)	11,51	0,68
VISIBILITE	Visibilité moyenne (sur les 17 missions)	9,19	0,04
PLUIE	Pluviométrie moyenne (sur les 17 missions)	1216,61	22,28
HR	Humidité relative moyenne (sur les 17 missions)	81,02	0,36
PRESSION	Pression de vapeur moyenne (sur les 17 missions)	1009,57	0,15
TEMP	Température moyenne (sur les 17 missions)	27,29	0,04

NJP	Nombre de jour de pluie (sur les 17 missions)	99,33	0,59
NDVI	Végétation / Intensité moyenne de l'activité chlorophyllienne	0,41	0,09
TOPO	Topographie/ altitude	40,32	16,52
POP	Population	354,21	128,99
NH	Nombre total d'habitation	96,07	29,77
DCAD	Distance des localités aux cours d'eau douce	4,61	4,55
DCAS	Distance des localités aux cours d'eau saumâtre	10,90	6,02
FPA	Fréquence de production d'alcool	6,18	4,03
TH_TB	Nombre total d'habitation en terre battue	88,04	27,49

Le seuil de confiance est de 95% et le critère d'évaluation de la régression est le coefficient de détermination (R^2 -ajusté). Le test de Fisher est associé au traitement pour l'évaluation de la significativité de la quantité de l'information apportée par les différentes variables à la modélisation.

5.3 Résultats de la régression

Le modèle approprié pour exprimer la fréquence des moustiques vecteurs de maladies en fonction des facteurs environnementaux, en se basant sur les critères AIC et BIC, est le modèle de régression linéaire avec la transformation de la famille de Box-Cox sur les fréquences de moustiques vecteurs de maladie et les paramètres environnementaux.

La présentation des résultats de la régression est faite de façon séparée pour chaque espèce de moustique afin de conserver ce caractère individualisé de la modélisation. Chaque espèce de moustique fait donc l'objet d'un sous paragraphe qui présente les paramètres de la modélisation et une analyse de la qualité des variables explicatives.

5.3.1 Modèle de distribution spatiale d'*An. funestus*

Les résultats de cette régression sont les suivants pour *An. funestus*. En tenant compte du R^2 -ajusté, le meilleur modèle pour *An. funestus* est consigné dans le tableau XV.

Tableau XV: Valeur du coefficient de détermination pour le meilleur modèle d'*An. funestus*

Modèle	Nombre de variables dans le modèle	Nom des variables	R ²	R ² -ajusté
1	5	VENT, DCES, PLUIE, TEMPER, VISIBILITE	0,780	0,731

L'analyse de la variance de la significativité de la quantité d'information apportée par les variables à la régression pour *An. funestus* donne les résultats suivants (tableau XVI).

Tableau XVI: Résultats du test de Fisher pour le meilleur modèle d'*An. funestus*.

Sources	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F de Fisher	Probabilité (P)
Modèle	-817,23	5	163,45	15,64	<0,000
Résidus	229,91	22	10,45		
Total	1047,14	27			

La probabilité associée au test F de Fisher est de 0,0001 soit moins de 0,01% de chance de se tromper en considérant que les quantités d'information apportée par le vent, la distance des localités aux cours d'eau saumâtre, la pluie, la température, et la visibilité dans leur ensemble sont significatives pour le modèle. Les cinq meilleurs facteurs qui permettent donc d'expliquer la variance observée sont : le vent (VENT), la distance des localités aux cours d'eau saumâtre (DCES), la pluie (PLUIE), la température (TEMPER), et la visibilité (VISIBILITE). Le coefficient de détermination ajusté atteint 0,73. Cela signifie que 73,0% de la variance sont expliqués par la combinaison linéaire des cinq variables que sont le vent, la distance des localités aux cours d'eau saumâtre, la pluie, la température, et la visibilité. Puisque les variables sont pertinentes par rapport au modèle du fait de la significativité de la quantité d'informations apportées, les paramètres du modèle peuvent être présentés (tableau XVII).

Tableau xvii: Paramètres de l'équation de distribution d'*An. funestus* en fonction des paramètres environnementaux

Paramètre	Valeur	Ecart-type	t de Student	P
Constante	-744,5	862,8	-0,86	0,398
VENT	-3,833	4,308	-0,383	0,383
DCES	-1,4182	0,2991	-4,74	1E-04
PLUIE	0,6859	0,2062	3,33	0,003
TEMPER	-23,82	21,38	-1,11	0,277
VISIBILITE	67,9	33,49	2,03	0,055

L'équation s'écrit :

$$\text{Rac}(\text{FR_AF}) = -745 - 3,83 \text{ VENT} - 1,42 \text{ DCES} + 0,686 \text{ PLUIE} - 23,8 \text{ TEMPER} + 67,9 \text{ VISIBILITE}$$

5.3.2 Modèle de distribution spatiale de *An. gambiae*

Les résultats de la régression linéaire avec transformation de la famille de Box-Cox sont les suivants pour *An. gambiae*. En tenant compte du R^2 -ajusté, le meilleur modèle pour *An. gambiae* est consigné dans le tableau XVIII.

Tableau XVIII: Valeur du coefficient de détermination pour le meilleur modèle d'*An. gambiae*

Modèle	Nombre de variables dans le modèle	Nom des variables	R^2	R^2 -ajusté
1	2	PLUIE, DCES	0,526	0,487

L'analyse de la variance de la significativité de la quantité d'information apportée par les variables à la régression pour *An. gambiae* donne les résultats suivants (tableau XVIII).

Tableau XIX: Résultats du test de Fisher pour le meilleur modèle de *An. gambiae*.

Sources	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F de Fisher	Probabilité
Modèle	157,17	2	78,585	13,32	<0,000
Résidus	141,599	24	5,9		
Total	298,769	26			

La probabilité associée au test F de Fisher est de 0,0001 soit moins de 0,01% de chance de se tromper en considérant que les quantités d'information apportée par la PLUIE et la DCES dans leur ensemble sont significatives pour le modèle. Pour ce modèle, le coefficient de détermination ajusté est de 0,487. Cela signifie que 48,7% de la variance sont expliqués par la combinaison linéaire des deux variables que sont : la PLUIE et la distance des localités aux cours d'eau saumâtre (DCES). Puisque les variables sont pertinentes par rapport au modèle du fait de la significativité de la quantité d'informations apportées, les paramètres du modèle peuvent être présentés (tableau XX).

Tableau XX: Paramètres de l'équation de distribution d'*An. gambiae* en fonction des paramètres environnementaux

Paramètres	Valeur	Ecartype	t de student	Probabilité
CONSTANTE	-184,66	37,5	-4,92	0,000
PLUIE	0,1625	0,03161	5,14	0,000
DCES	-0,429	0,1221	-3,51	0.002

L'équation s'écrit : $Rac(FR_AG) = - 185 + 0,163 \text{ PLUIE} - 0,429 \text{ DCES}$

5.3.3 Modèle de distribution spatiale de *Cx. quinquefasciatus*

Les résultats de la régression linéaire avec la transformation de la famille de Box-Coss sont les suivants pour *Cx. quinquefasciatus*. En tenant compte du R^2 -ajusté, le meilleur modèle pour *Cx. quinquefasciatus* est consigné dans le tableau XXI.

Tableau XXI: Valeur du coefficient de détermination du meilleur modèle de *Cx. quinquefasciatus*.

Modèle	Nombre de variables dans le modèle	Nom des variables	R^2	R^2 -ajusté
1	2	FPA, DCED	0,664	0,637

Le test de Fisher sur l'analyse de la significativité de la quantité d'information apportée par les variables à la régression pour cette espèce vectrice de maladie donne les résultats suivants pour ce meilleur modèle (tableau XXII).

Tableau XXII : Résultats du test de Fisher pour *Cx. quinquefasciatus*.

Sources	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F de Fisher	Probabilité
Modèle	701,74	2	350,87	24,68	0,000
Résidus	355,45	25	14,22		
Total	1057,19	27			

La probabilité associée au test F de Fisher est de 0,0001 soit moins de 0,01% de chance de se tromper en considérant que les quantités d'information apportée par la fréquence de production d'alcool (FPA) et la distance des localités aux cours d'eau douce(DCED) dans leur ensemble sont significatives pour le modèle.

D'après le critère retenu pour l'évaluation de la régression, le R^2 -ajusté, les deux meilleurs facteurs qui permettent donc d'expliquer la variance observée sont : la fréquence de production d'alcool et la distance des localités aux cours d'eau douce.

Le coefficient de détermination ajusté atteint 0,637. Cela signifie que 63,7% de la variance sont expliqués par la combinaison linéaire des deux variables précitées. Puisque les variables sont pertinentes par rapport au modèle du fait de la significativité de la quantité d'informations apportées, les paramètres du modèle peuvent être présentés (tableau XXIII).

Tableau XXIII: Paramètres de l'équation de distribution de *Cx. quinquefasciatus* en fonction des paramètres environnementaux

Paramètre	Valeur	Ecart-type	t de Student	Pr > t
Constante	24,216	1,730	14,00	0,000
FPA	-1,0541	0,1887	-5,59	0,000
DCED	0,4023	0,1671	2,41	0,024

L'équation s'écrit : $Rac(FR_CQ) = 24,22 - 1,05 FPA + 0,40 DCED$

5.3.4 Modèle de distribution spatiale de *Ae. aegypti*

Les résultats de la régression linéaire avec la transformation de la famille de Box-Coss sont les suivants pour *Ae. aegypti*. En tenant compte du R^2 -ajusté, le meilleur modèle pour *Ae. aegypti* est consigné dans le tableau XXIV.

Tableau XXIV: Valeur du coefficient de détermination du meilleur modèle de *Ae. aegypti*.

Modèle	Nombre de variables dans le modèle	Nom des variables	R ²	R ² -ajusté
1	4	NJP, NDVI, TOPO, DCES	0,536	0,455

Le test de Fisher sur l'analyse de la significativité de la quantité d'information apportée par les variables à la régression pour *Ae. aegypti* donne les résultats suivants pour ce meilleur modèle (tableau XXV).

Tableau XXV : Résultats du test de Fisher pour *Ae. aegypti*

Sources	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F de Fisher	Probabilité
Modèle	0,140973	4	0,035243	6,65	0,001
Résidus	0,121966	23	0,005303		
Total	0,262939	27			

La probabilité associée au test F de Fisher est de 0,001 soit moins de 0,1% de chance de se tromper en considérant que les quantités d'information apportée par le nombre de jour de pluie (NJP), le NDVI, le relief (TOPO) et la distance des localités aux cours d'eau saumâtre (DCES) dans leur ensemble sont significative pour le modèle.

D'après le critère retenu pour l'évaluation de la régression, le R²ajusté, les meilleurs facteurs qui permettent donc d'expliquer la variance observée sont : le nombre de jour de pluie, le NDVI, le relief et la distance des localités aux cours d'eau saumâtre.

Le coefficient de détermination ajusté atteint 0,455. Cela signifie que 45,5% de la variance sont expliqués par la combinaison linéaire des quatre variables précitées.

Puisque les variables sont pertinentes par rapport au modèle du fait de la significativité de la quantité d'informations apportées, les paramètres du modèle peuvent être présentés (tableau XXVI).

Tableau XXVI: Paramètres de l'équation de distribution de *Ae. aegypti* en fonction des paramètres environnementaux

Paramètre	Valeur	Ecart-type	t de Student	Pr > t
Constante	0,079	4,564	0,02	0,986
NJP	0,00157	0,04644	0,03	0,973
NDVI	0,6634	0,2006	3,31	0,003
TOPO	-0,005324	0,001039	-5,12	0,000
DCES	-0,007067	0,004753	-1,49	0,151

L'équation s'écrit :

$$1/\text{rac}(\text{FR_AA}) = 0,08 + 0,0016 \text{ NJP} + 0,663 \text{ NDVI} - 0,00532 \text{ TOPO} - 0,00707 \text{ DCES}$$

5.4 Expression cartographique des équations.

La probabilité liée au test de normalité des résidus et celle liée au test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN étaient satisfaisantes (Annexe 3). Les modèles sont donc validés. Cette validation des modèles donne la possibilité de production d'une carte théorique de la distribution de chaque espèce vectrice de maladies dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito (figure 47, 48, 49 et 50)

❖ Pour *An. funestus*

Nous observons sur cette carte des zones très homogènes de pourcentage de l'espèce *An. funestus*. En dehors de quelques îlots très restreints, surtout dans la partie nord de la zone, les pourcentages prédits sont disposés en bandes, avec une augmentation quasi régulière du sud-est vers nord-ouest. Cette structure rubanée est très semblable à celle que présentent certains éléments du milieu physique comme : les précipitations.

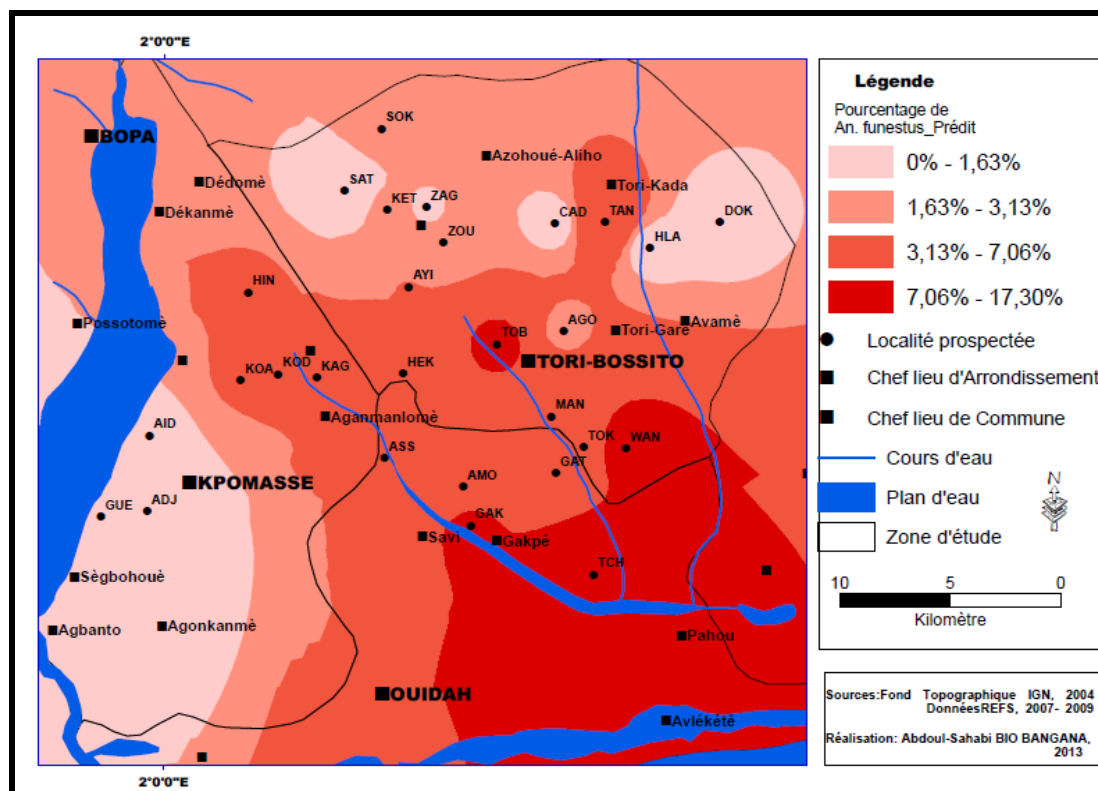


Figure 47: Prédiction de la distribution spatiale des pourcentages d'*An. funestus*.

❖ Pour *An. gambiae*

En dehors de quelques îlots très restreints, les pourcentages prédits sont disposés en bandes, avec une augmentation quasi régulière de l'est vers l'ouest. Cette structure rubanée est très semblable à celle que présentent certains éléments du milieu physique comme : les précipitations. Nous pouvons donc dire que l'environnement présente une qualité décroissante pour *An. gambiae* au fur et à mesure que l'on va de l'est vers l'ouest. L'ouest n'est donc pas favorable à la prolifération de l'espèce *An. gambiae* et correspond également à des zones où la nappe phréatique est très profonde. Les cours d'eau même temporaires sont rares. Elles présentent les conditions les moins favorables à l'écologie de l'espèce *An. gambiae*, puisque le modèle y prédit des abondances relatives faibles. Au fond, il s'agit des zones les plus sèches. Elle montre également que les facteurs écologiques invoquant l'humidité/aridité demeurent les déterminants les plus importants dans la répartition de l'espèces de *An. gambiae*.

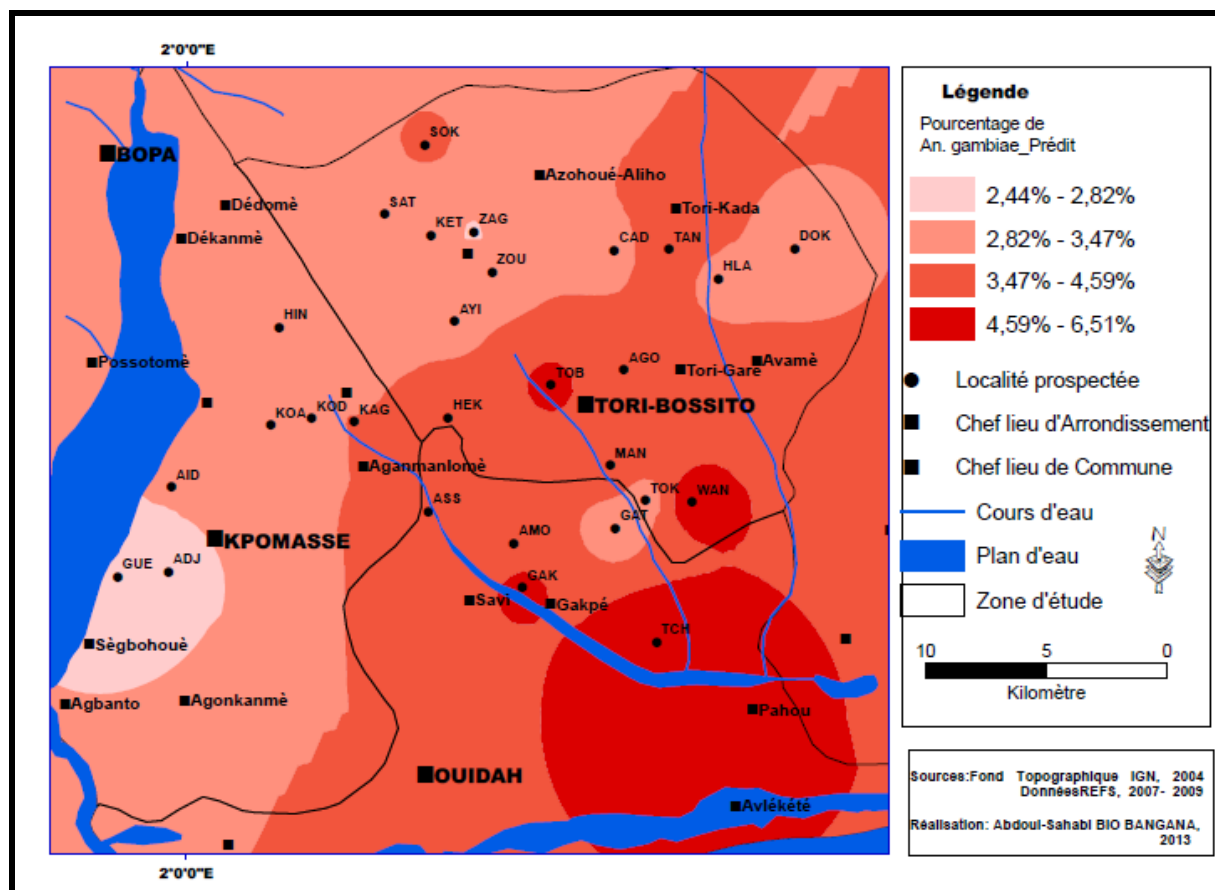


Figure 48: Prédiction de la distribution spatiale du pourcentage de *An. gambiae*

❖ Pour *Cx. quinquefasciatus*

Nous observons sur cette carte des zones très hétérogènes de pourcentage de l'espèce *Cx. quinquefasciatus*.

Dans l'ensemble de la zone sanitaire, les pourcentages prédits sont disposés en bandes, avec une diminution du nord-ouest vers le sud-est.

Les cours d'eau même temporaires étant rares dans le nord de la zone sanitaire, les populations sont contraintes à creuser des bassins de rétenue d'eau pluviale. Sans protection majeur, ces bassins se voient obstruer par des débris de toutes sortes. En contact avec l'eau, ces derniers se décomposent et rend le milieu organique. Cette situation est très favorable à la prolifération des gîtes larvaires à moustiques *Culex quinquefasciatus*. Le nord de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito présente des conditions les plus favorables à l'écologie de l'espèce *Culex quinquefasciatus* puisque le modèle y prédit des abondances relatives élevées par rapport à la zone sud.

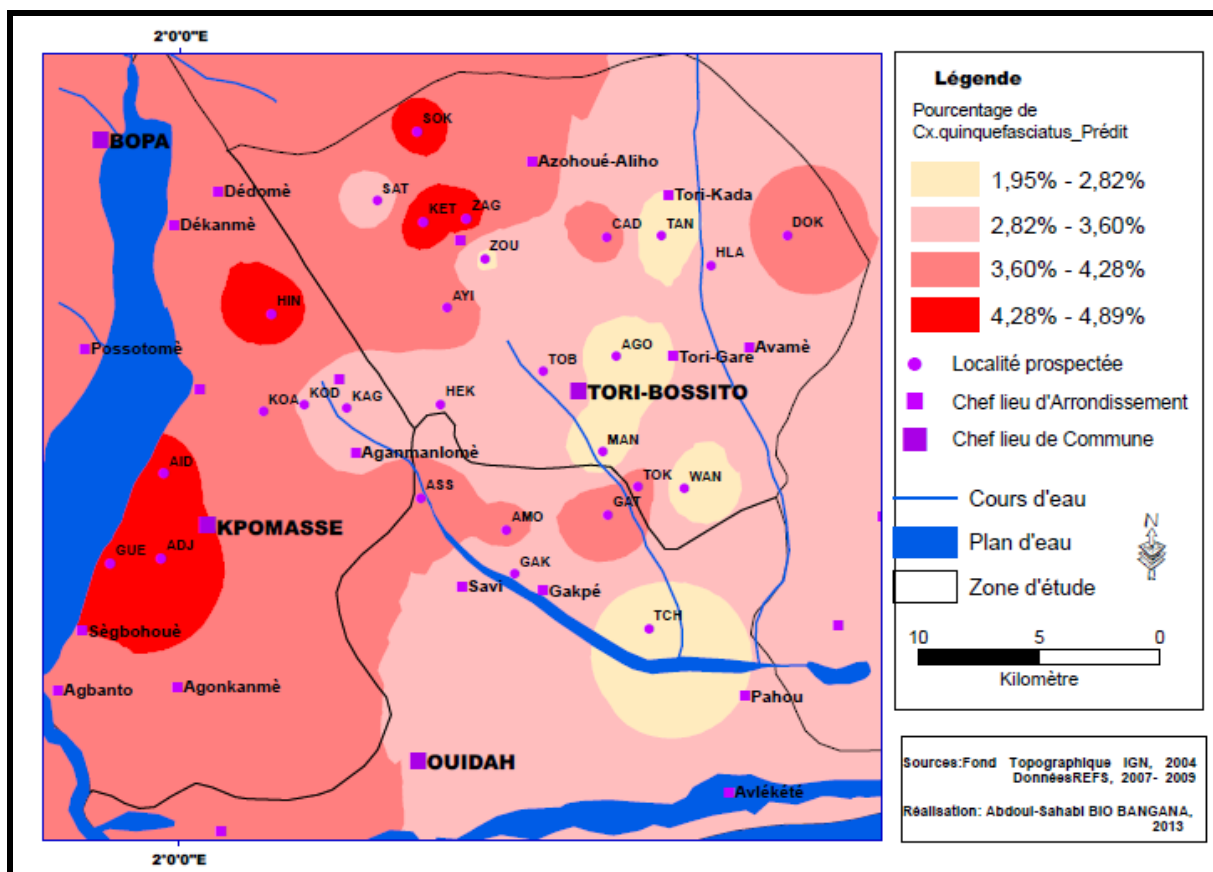


Figure 49: Prédiction de la distribution spatiale des pourcentages relatifs de *Cx. quinquefasciatus*

❖ Pour *Ae. aegypti*

Nous observons sur cette carte des zones très hétérogènes de pourcentage de l'espèce *Ae. aegypti*. Les pourcentages prédits sont disposés en bandes, avec une diminution quasi régulière du nord vers le sud. Nous pouvons donc dire que l'environnement présente une qualité décroissante pour *Ae. aegypti* au fur à mesure que l'on va du nord vers le sud-est. Le sud-est n'est donc pas favorable à la prolifération de cette espèce. Cette répartition est opposée avec certains paramètres du milieu comme le NDVI et le nombre de jour de pluie. Dans le nord de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, le nombre de jour de pluie est faible par rapport à la zone sud. Cette situation oblige les populations à multiplier les jarres pour la conservation des eaux de pluie, véritables gîtes larvaires de moustiques *Ae. aegypti*. De plus l'absence de cours d'eau et plan d'eau dans la région nord limite le développement d'une importante végétation. Cette situation fait que le NDVI est minimal par comparaison au sud plus humide et plus arborescente.

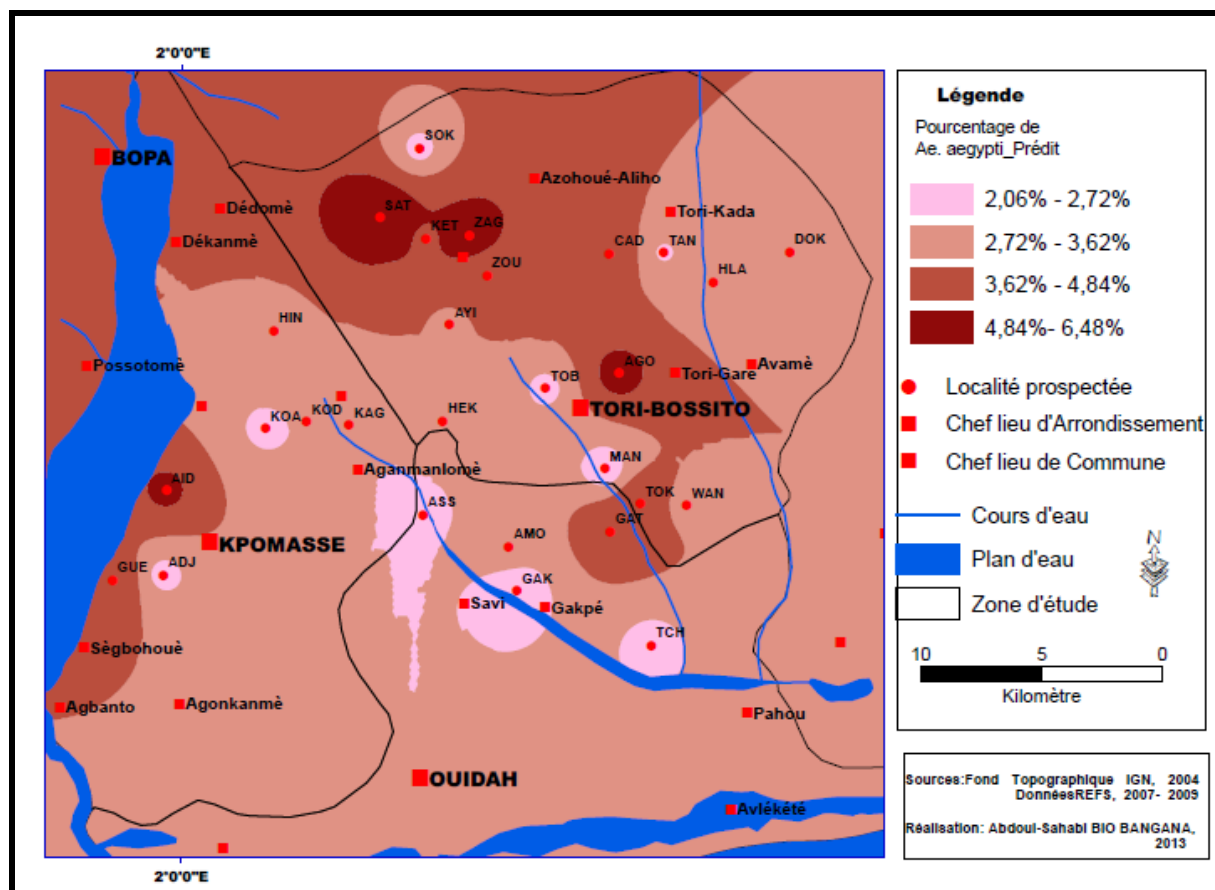


Figure 50: Prédiction de la distribution spatiale des pourcentages relatifs de *Ae. aegypti*

5.5 Confrontation de l'incidence palustre à *Plasmodium falciparum* à la vérité du terrain

La transmission du paludisme repose sur le contact entre un hôte et un vecteur. Pour que la maladie se développe, il faut qu'un nombre suffisant d'hôtes et de vecteurs soit rassemblé. Une augmentation de l'intensité de ce contact constitue un des facteurs de risque d'émergence de la maladie. La présence, l'abondance et la dynamique des vecteurs dépendent de nombreux facteurs environnementaux.

Pour les deux espèces d'*Anopheles* identifiées (figure 51), le coefficient de corrélation entre la distribution observée et l'incidence palustre à *Plasmodium falciparum* est de 0,825. Le coefficient de corrélation est positif, élevé et proche de 1, le niveau de ressemblance maximum, le niveau d'identité parfaite. Ce qui signifie que l'abondance anophélienne évolue dans le même sens que l'incidence palustre.

Cette situation montre bien qu'une lutte ciblée contre les vecteurs du paludisme aura forcément un impact important sur l'incidence du paludisme.

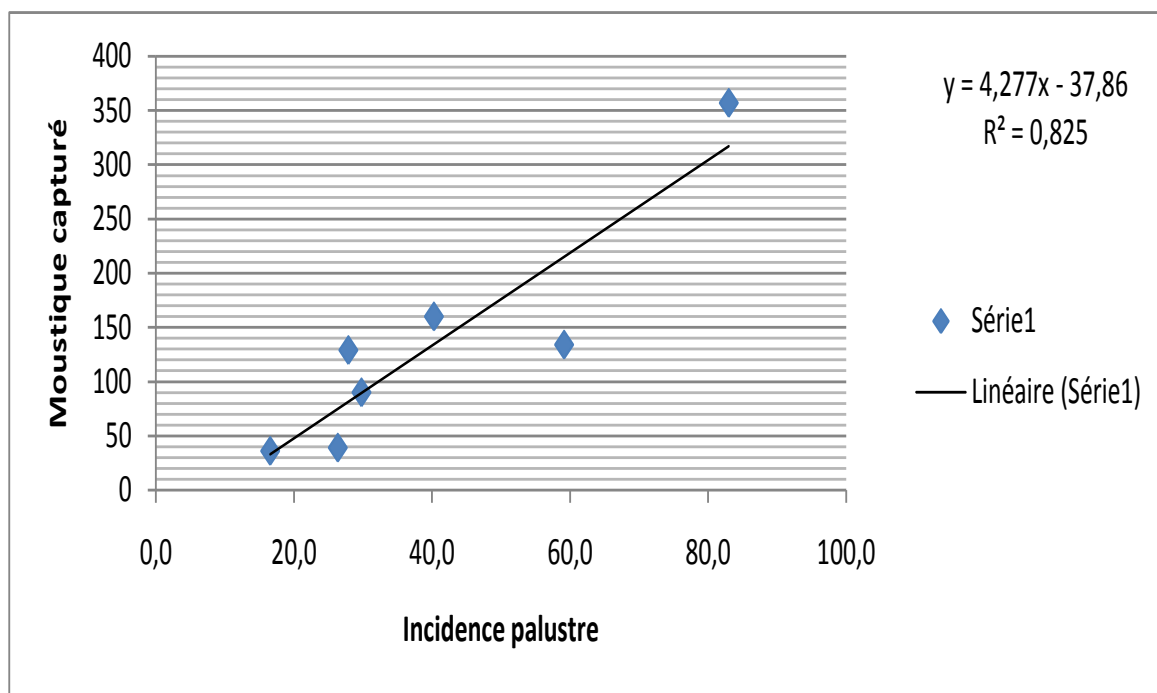


Figure 51: Corrélation entre fréquence d'*Anopheles* capturés et l'incidence palustre d'octobre 2007 à décembre 2009 dans sept localités de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito

Conclusion du chapitre IV et V.

Les principaux résultats de l'étude des relations entre la distribution spatiale des fréquences observées et celle des facteurs environnementaux mettent en exergue des zones de colonisation préférentielle entre les différentes espèces. Dans la famille des Anophelinae, l'espèce *An. gambiae* trouve de meilleures conditions de développement dans les régions du sud-est et du nord-est qui sont les régions les plus humides tandis que l'espèce *An. funestus* préfère uniquement les régions du sud-est où prédominent les marais et les prairies aquatiques. Dans la sous-famille des Culicinae, *Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus* prolifèrent dans les régions nord-ouest et sud-ouest de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. L'analyse des configurations spatiales des quatre espèces montre que la répartition spatiale des vecteurs est non aléatoire.

L'analyse en composante principale a révélé que les fréquences de *An. gambiae* et de *An. funestus* sont en relation positive avec l'axe 1. Tenant compte des paramètres environnementaux pris en compte par cet axe, on en déduit que lorsqu'il y a un grand vent, une forte pluie, une humidité relative, une température, et une Fréquence

élevée de production d'alcool, les fréquences de *An. funestus* et de *An. gambiae* augmentent par opposition à une faible visibilité, une faible pression, un relief topographique faiblement accidenté et à une faible distance des localités au cours d'eau douce qui font baisser leurs fréquences. Cet axe est négativement corrélé avec la fréquence de *Cx. quinquefasciatus*. De ce fait, lorsqu'il y a un grand vent, une forte pluie, une humidité relative, une température, et une fréquence de production d'alcool élevés, la fréquence de *Cx. quinquefasciatus* diminue par opposition à une faible visibilité, une faible pression, un relief topographique faiblement accidenté et à une faible distance des localités au cours d'eau douce qui font augmenter sa fréquence. L'axe 3 est significativement corrélé avec la fréquence de *Ae. aegypti*. Il s'agit d'une corrélation négative avec l'axe 3. Donc on peut déduire que lorsque le nombre de jour de pluie, l'indice normalisé de végétation et la distance des localités au cours d'eau saumâtre sont élevés la fréquence de *Ae. aegypti* baisse. Ces paramètres représentent les déterminants environnementaux de la répartition spatiale des différentes espèces considérées. Ces résultats confirment la deuxième hypothèse selon laquelle, la contribution des déterminants environnementaux dans la répartition spatiale des vecteurs est différentielle.

Sur la base de ces tendances, la distribution des espèces vectrices a été décrite de façon formelle par quatre fonctions. Lors de cette formalisation, nous avons procédé à l'expression des fréquences transformées des quatre espèces (*An. funestus*, *An. gambiae*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*) en fonction des facteurs les plus déterminants. Ces fonctions de répartition de la distribution spatiale ont permis de réaliser des cartes de distribution spatiale de chacune des quatre espèces.

L'évaluation de la qualité des modèles à partir de l'analyse de la normalité des résidus et le test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN était satisfaisante. Ces résultats confirment la troisième hypothèse selon laquelle la connaissance des facteurs les plus déterminants de la répartition spatiale des vecteurs permet de prédire en tout point les fréquences de population de moustique vecteur dans ce milieu.

CHAPITRE VI : DISCUSSION- CONCLUSION GENERALE ET SUGGESTIONS

6.1 DISCUSSION

6.1.1 Caractérisation de la faune culicidienne et répartition des vecteurs.

La faune culicidienne du Bas Dahomey avait déjà été étudiée en juin et juillet par Huttel (1947). Cet auteur avait principalement travaillé sur les moustiques récoltés dans les habitations et avait recensé 13 espèces dans les environs de Porto Novo et de Cotonou. J. Hamon lui emboîta le pas en 1953. Les localités ciblées par les travaux de J. Hamon et collaborateurs lors de deux séjours dans le Bas Dahomey, en mars puis en novembre et décembre 1953, couvraient une zone littorale allant de la frontière Bénin Nigéria à 20 kilomètres à l'ouest de Cotonou et s'étendant environ sur 20 kilomètres dans l'intérieur des terres. Zoogéographiquement, toute cette zone fait partie, selon Chapin, de la sous région occidentale, et plus précisément du District de la savane guinéenne supérieure (Upper Guinea Savanna District). En réalité la zone d'étude de J. Hamon et collaborateurs prend en compte les actuelles communes de Porto Novo, Sème, Aguégoués, Abomey Calavi, Sô- Ava, l'arrondissement de Pahou dans la commune de Ouidah et Cotonou. Les travaux de J. Hamon ont permis de recenser 45 espèces de moustiques. Pour notre part, 24 espèces de moustiques ont été répertoriées. Cet écart entre les résultats de Hamon et al (1953) et nos résultats serait lié au fait que les captures de Tori Bossito et environs concernent seulement les moustiques anthropophiles alors que Hamon a travaillé aussi sur des espèces zoophiles. Soulignons que plusieurs autres espèces de moustiques ont été capturées lors de notre séjour à Tori Bossito qui n'ont jamais été mentionnées par les travaux de Hamon et de Huttel . Il s'agit de *An. brohier* ; *Ae. gr palpalis*, *Ae. gr tarsalis*, *Ae. vittatus* ; *Cx. gr decens*, *Cx. quinquefasciatus* et *Cx. thalassius* et un autre genre rare, celui de *Eretmapodites* dont l'espèce capturée sur appât humain lors de nos prospections est : *Eretmapodites gr quiquevittatus*. Aussi les travaux de M. Akogbéto réalisés à Cotonou, Kétonou, Porto Novo et Bopa ont montré l'existence de l'espèce *Cx. quinquefasciatus* dans les habitations.

Une étude réalisée en 2010 par Patrick Akono portant sur l'abondance et la diversité de la faune culicidienne à Yaoundé au Cameroun avait révélé la présence de 11 espèces de moustiques regroupées en deux genres dans la région. Pour notre part, nous avons noté 24 espèces de moustiques regroupées en six genres (*Aedes*,

Anopheles, *Culex*, *Eremapodites*, *Mansonia* et *Uranotenia*). La différence entre nos résultats et ceux de Patrick Akono est liée au fait que ce dernier a travaillé uniquement dans un lac et une rivière, alors que pour notre part nous avons travaillé dans une zone où les gîtes larvaires à moustique sont plus diversifiés.

Durant l'étude, 124202 moustiques ont été capturés. Le genre *Culex* vient en tête de classement avec 57,03% contre 35,32% pour *Mansonia* ; 3,88% pour *Anopheles* et 3,76% pour *Aedes*. Les genres *Eremapodites* (0,01%) et *Uranotenia* (0,001%) représentent des espèces accidentelles dans cette zone d'étude. Parmi les espèces *Anopheles* identifiées par Patrick Akono, *An. gambiae* et *An. funestus* étaient plus abondantes. Nos résultats sont similaires à ceux de Patrick Akono puisque sur 4821 moustiques *Anopheles* identifiés dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, 2505 moustiques étaient des *An. gambiae* soit 51,96% et 36,34% pour *An. funestus* contre 11,4% pour autres moustiques *Anopheles*. La nature temporaire des gîtes dans cette zone sanitaire, ajoutée au fait qu'ils sont plus ou moins riches en végétations aquatiques, semblent largement contribuer à la prolifération des espèces *An. gambiae* et *An. funestus* qui sont du reste considérées respectivement comme vecteurs majeur et secondaire du paludisme en Afrique subsaharienne (Vercruysse, 1981; Lebras *et al.*, 1986; Robert *et al.*, 1986; Gazin *et al.*, 1987). Les larves des deux espèces ont sensiblement les mêmes exigences écologiques, la seule différence étant le fait que les larves de *An. gambiae* sont héliophiles (photo 3), alors que celles de *An. funestus* affectionnent les gîtes ombragés (photo 4). Ces résultats confirment ceux de Hamon en 1956 et de Gillies et Coetze en 1987. La forte concentration de matières organiques et minérales en décomposition explique la présence de Culicinae dans un milieu (Bruce-Chwatt, 1983). Cependant, *Cx. quiquefasciatus* n'a pas été identifié par Patrick Akono. Nos résultats montrent bien l'existence de l'espèce *Cx. quiquefasciatus* dans la zone sanitaire. L'absence de cette espèce dans la zone d'étude de Patrick Akono est liée au fait que ce dernier n'a pas travaillé dans un milieu urbain. Les travaux de Karch sur la faune cullicidienne et sa nuisance à Kinshasa ont révélés que la variation de la nuisance est très hétérogène. Selon lui, le moustique urbain *Culex quiquefasciatus* est l'espèce la plus abondante et la plus agressive dans la plupart des zones urbaines où la moyenne des piqûres est environ 400p/h/n (Karch, 1993).

Dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, les espèces de moustique sont plus diversifiées dans les hameaux d'Adjahassa (0,83) et d'Agadon (0,82) au nord de la zone sanitaire et moins diversifiée dans le sud-est (dans les localités de Hla (0,31), de Manguévier (0,27) où prédominent les marais et les bas-fonds. Dans ces marais, prédominent plus les larves de *Mansonia africana*. Nos travaux sont similaires à ceux de Karch qui, travaillant sur la faune culicidienne et sa nuisance à Kinshasa avait remarqué que les *Mansonia* colonisent plutôt les marécages couverts des plantes aquatiques du côté au fleuve Zaïre et de la rivière de Ndjili ainsi que les mares du côté des rizières dans les zones suburbaines et semi-rurales (Karch, 1993).

De janvier à décembre 2009, huit missions de prospection larvaire ont été organisées sur un rayon de 500 mètres autour de chaque site. Nous avons noté la présence de 04 genres de Culicidae dans les 28 sites. Un total de 3529 gîtes a été répertorié. Les gîtes à *Culex* représentent 44% des gîtes, suivis des gîtes à *Aedes* (36%), des gîtes à *Anopheles* (13%) et des gîtes à *Mansonia* (7%). Les différences observées entre les gîtes larvaires des divers genres de moustique sont statistiquement significatives car le test de Khi-2 d'ajustement à une distribution aléatoire sur l'échantillon a donné une probabilité (Prob. < 0,0001) au seuil de signification de 0,05. La faible prolifération des gîtes larvaires à *Mansonia* est certainement liée à la méthode du « dipping » utilisée pour récolter les larves de moustiques. Cette méthode n'est pas adaptée à la capture de larves de ce genre, qui vivent fixées sur les végétaux aquatiques (Patrick, 2010). La présence des larves *Mansonia* dans les jarres est liée à leur transport passif par les populations des marais vers les habitations (Bio-Bangana, 2012). Sur les 3529 gîtes larvaires identifiés, 2478 gîtes soit 71% sont temporaires, 19% sont permanents tandis que 10% sont semi permanents. Les différences notées entre la fréquence des gîtes temporaires, semi permanents et permanents, sont hautement significatives. Le test de Khi-2 d'ajustement à une distribution aléatoire (Prob. < 0,0001) au seuil de signification de 0,05 le confirme bien. Dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, la plupart des gîtes larvaires sont donc temporaires. L'analyse log-linéaire appliquée aux fréquences absolues des gîtes larvaires des différents genres de moustique en fonction de leur durée de mise en eau et de leur typologie a révélé que l'effet du genre et celle de la durée de mise en eau des gîtes larvaires de moustiques

sur leurs fréquences sont très hautement significatif (Prob. < 0,0001). Le même résultat est obtenu en ce qui concerne l'interaction entre ces deux facteurs, ce qui implique que l'effet du genre sur la fréquence dépend de la durée de mise en eau des gîtes larvaires de moustiques et vice versa. Les gîtes larvaires à *Anopheles*, à *Culex* et à *Aedes* sont temporaires et représentés par des jarres tandis que ceux à *Mansonia* sont permanents et représentés par les marais. Les marais produisent les larves de moustique en grande quantité durant toute l'année tandis que le pouvoir productif des jarres est limité dans le temps (les saisons sèches). Les différences notées entre les quatre genres seraient liées aux différences de conditions biotiques et abiotiques dans le milieu (Bio-Bangana, 2012). Une analyse de la variance, modèle fixe à deux facteurs sans répétition : gîtes larvaires des différents genres de moustiques et les périodes de prospection larvaire a permis d'analyser la dynamique temporelle des gîtes larvaires. Ces gîtes prolifèrent plus en saison des pluies par opposition à la saison sèche. Au cours de ces saisons, le sol est gorgé d'eau, et les gîtes temporaires et semi permanents s'installent. Ces résultats confirment ceux de Patrick en 2010. Selon ce dernier, les variations saisonnières des larves de Culicidae sont fortement corrélées à la pluviométrie.

Dix sept missions entomologiques ont été effectuées d'octobre 2007 à décembre 2009. 124 202 moustiques capturés ont été identifiés utilisant la clé de détermination taxonomique de Gilles, (2002). La faible prolifération des moustiques *Ae. aegypti* (8%) dans un milieu pourtant favorable à leur développement (existence de nombreux gîtes larvaires constitués par des jarres) a été confirmée par d'autres chercheurs. En effet nos résultats sont similaires à ceux de Karch obtenus sur la faune culicidienne et sa nuisance à Kinshasa en 1990. Cette situation s'expliquerait par le fait que les captures ont démarré à partir de 22 heures, heure à laquelle les *Aedes* ne piquent plus, leurs activités étant diurnes (Karch, 1990). Dans le même temps, la faible prolifération des moustiques *Anopheles* serait liée au fait que les gîtes larvaires de ce genre de diptère sont à 70% temporaires et constitués de flaques d'eau et exceptionnellement par des jarres. Aussi les moustiques *An. funestus* ont été capturés seulement dans quelques localités dans le sud-est de la zone d'étude où prolifèrent les marais. Ces deux situations ont pour conséquence la production des larves d'*Anopheles* limitée dans le temps et dans l'espace, d'où la faible prolifération des adultes issus de ces *Anopheles*. Les moustiques *Culex* et

Mansonia représentent les genres les plus rencontrés dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè- Tori Bossito. Ils posent un énorme problème de nuisance. Cette forte prolifération serait liée non seulement aux nombreux bassins de rétention d'eau de pluie mais aussi aux nombreux bas-fonds qui entretiennent une humidité permanente dans certaines localités. Les gîtes larvaires de ces genres de moustiques sont permanents et semi permanents, d'où leur pouvoir de production illimité dans le temps et dans l'espace. Nos travaux ont révélé d'autres genres comme : *Eremapodites* (0,01%) et *Uranotenia* (0,00%). La faible représentation de ces genres peut-être liée au mode de capture adopté. En effet ces moustiques sont plus zoophiles qu'anthropophiles.

Les moustiques vecteurs de maladies retenus dans le cadre de cette étude (*Ae. aegypti*, *An. gambiae*, *An. funestus* et *Cx. quinquefasciatus*) représentent 14% (17383) des moustiques capturés. La répartition des 14% des vecteurs retenus se présente comme suit : *An. funestus* (10%), *An. gambiae* (14%), *Cx. quinquefasciatus* (68%) et *Ae. aegypti* (08%). Les différences notées entre la fréquence des moustiques vecteurs de maladies sont hautement significatives au regard des résultats du test de Chi-2 d'ajustement à une distribution aléatoire (Prob. < 0,0001) au seuil de signification de 0,05.

La distribution spatiale des espèces vectrices de maladies varie d'une espèce à une autre. La répartition de *An. gambiae* et *An. funestus* se caractérise par une population plus dense dans la partie nord-est et sud-est du site. Celle de *Cx. quinquefasciatus* et de *Ae. aegypti* se caractérise par une concentration dans la zone nord-ouest et sud-ouest de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. De telles répartitions permet de soupçonner une dépendance spatiale dans la distribution des fréquences de moustiques vecteurs de maladies, d'où la nécessité de tester l'autocorrelation spatiale. Le calcul des indices d'autocorrelation spatiale effectué sur les 28 hameaux de collecte a révélé que : l'indice de Moran est proche de 0 pour toutes les espèces considérées sauf *An. funestus* (0,52). La réalisation de la variable aléatoire régionalisée est donc indépendante. Cela signifie que les fréquences de *An. gambiae*, de *Cx. quinquefasciatus* et de *Ae. aegypti* dans un hameau de collecte ne sont pas influencées par les fréquences observées dans les hameaux voisins. Il n'est donc pas possible de prédire les fréquences dans un hameau, connaissant les fréquences observées dans un autre hameau s'appuyant

sur la distance qui les sépare d'où la nécessité de pousser l'analyse en vérifiant les Z scores de l'indice de concentration des valeurs fortes et faibles de Getis-Ord General G. En effet cet indice donne des Z Scores faibles voire négatifs. Etant donné qu'un faible Z Score négatif et une p valeur basse indiquent une agrégation spatiale de valeurs faibles alors nous pouvons dire que d'après ces statistiques, Il existe des agrégats spatiaux de valeurs faibles à l'intérieur desquels peut s'exprimer une autocorrelation spatiale.

Pour ce qui est de *An. funestus*, la réalisation de la variable aléatoire régionalisée n'est pas indépendante. Il y a donc autocorrélation spatiale dans la distribution observée. Cela signifie que les fréquences de *An. funestus* collectées dans un hameau sont influencées par les fréquences observées dans les hameaux voisins. Cependant, le test statistique devant valider cette dépendance spatiale pour l'ensemble de la variable aléatoire régionalisée donne un Z score de 4,145941 qui relativise l'interprétation de l'indice d'autocorrélation de Moran. En effet, il se situe en dehors de l'intervalle de confiance $[-1,96 ; 1,96]$. Il est difficile d'en déduire la présence d'autocorrelation spatiale sur l'ensemble de la variable. Il existe sans doute des agrégats spatiaux exprimant l'existence locale d'autocorrelation spatiale. Ces résultats permettent de dire que l'hypothèse de distribution spatiale non aléatoire des moustiques vecteurs de maladies est vérifiée. Une direction et des agrégats ont été également identifiés. Les tests d'autocorrelation montrent l'indépendance spatiale et le fait que l'espace (absolu) est insuffisant pour expliquer la distribution observée. Les structures spatiales mises en exergue ne trouvent pas d'explication dans les relations de voisinage. Il est donc important de recourir à d'autres facteurs qui expliquent ces répartitions observées. Nos résultats sont similaires à ceux de Somé qui, travaillant sur la modélisation de la distribution spatiale des formes moléculaires M et S d'*Anopheles gambiae sensu stricto* au Burkina Faso avec les SIG et l'analyse spatiale, avait remarqué que l'espace absolue, c'est-à-dire la distance entre les localités ne pouvait pas expliquer la répartition spatiale de ces espèces. Si l'espace dans sa dimension géométrique est insuffisant pour expliquer la distribution des fréquences observées, certaines de ses caractéristiques peuvent être plus pertinentes. Il convient donc de vérifier la relation entre les attributs de l'espace en tant que milieu de vie, environnement des moustiques vecteurs de maladies et les fréquences observées. L'environnement se positionne dans cette perspective comme

facteur susceptible d'expliquer la distribution observée, d'où la nécessité de modéliser cette distribution spatiale.

6.1.2 Modélisation de la distribution spatiale des vecteurs de maladies.

Une analyse en composantes principales (ACP) réalisée sur les facteurs environnementaux a généré trois axes factoriels non corrélés. Ces trois axes ont été corrélés avec les fréquences de moustiques vecteurs de maladies identifiés.

La corrélation entre les fréquences de *An. gambiae*, de *An. funestus* et de *Cx. quinquefasciatus* est significatif alors qu'il n'existe pas de corrélation significative entre l'axe 1 et la fréquence de *Ae. aegypti*. Tenant compte des paramètres environnementaux pris en compte par cet axe, on en déduit que lorsqu'il y a un grand vent, une forte pluie, une humidité relative, une température, et une fréquence élevée de production d'alcool, les fréquences de *An. funestus* et de *An. gambiae* augmentent par opposition à une faible visibilité, une faible pression, un relief topographique faiblement accidenté et à une faible distance des localités au cours d'eau douce qui font baisser leurs fréquences. L'axe 1 est négativement corrélé avec la fréquence de *Cx. quinquefasciatus*. De ce fait, lorsqu'il y a un grand vent, une forte pluie, une humidité relative, une température, et une fréquence de production d'alcool élevés, la fréquence de *Cx. quinquefasciatus* diminue par opposition à une faible visibilité, une faible pression, un relief topographique faiblement accidenté et à une faible distance des localités au cours d'eau douce qui font augmenter sa fréquence. L'axe 2 ne présente pas de corrélation significative avec les fréquences des moustiques vecteurs de maladies. En ce qui concerne l'axe 3, il est significativement corrélé avec la fréquence de *Ae. aegypti*. Il s'agit d'une corrélation négative avec l'axe 3. Donc on peut déduire que lorsque le nombre de jour de pluie, l'indice normalisé de végétation et la distance des localités au cours d'eau saumâtre sont élevés et un relief topographique accidenté, la fréquence de *Ae. aegypti* baisse. De cette analyse en composantes principales, nous déduisons d'une part qu'il existe des relations entre les facteurs de l'environnement et la distribution des moustiques vecteurs de maladies et d'autre part qu'il existe une opposition entre les préférences écologiques de ces moustiques. En somme, la deuxième hypothèse est vérifiée. En effet, tous les facteurs environnementaux ne contribuent pas de la même façon à la détermination de la structure spatiale observée. Certains facteurs environnementaux peuvent devenir plus facilement une contrainte importante, un facteur limitant au

développement et à la propagation des espèces. D'après les résultats de l'analyse, nous avons procédé à la réduction du nombre de variables explicatives par exclusion des variables : nombre de producteurs d'alcool (NPA), Gîtes domestiques et les types d'habitat; identifié le meilleur modèle en comparant les critères AIC (Akaike Information Criterion) et BIC (Bayesian Information Criterion) des modèles (modèle de poisson, modèle binomiale négative, modèle de régression linéaire avec transformation de la famille Box-Cox de la variable dépendante ; procédé à une modélisation séparée des quatre espèces de moustiques vectrices de maladies et enfin procédé à la régression linéaire multiple.

Le modèle de distribution de *An. funestus* montre bien que les cinq principaux déterminants de sa distribution sont le vent, la distance des localités aux cours d'eau saumâtre, la pluviométrie, la température et la visibilité. Rappelons également que plus l'on s'approche des cours d'eau saumâtres, plus la fréquence de l'espèce *An. funestus* diminue. Cette espèce apprécie davantage les gîtes naturels plus larges plus permanents (mares, étangs, lacs, bras de rivières, rizières) ombragés et aux eaux claires Hamon et al (1959). Ce modèle de distribution montre que l'espèce *An. funestus* ne prolifère pas dans les eaux saumâtres et salées. Ces résultats sont confirmés par d'autres chercheurs (Diagne, 1994).

Le modèle de *An. gambiae* fait intervenir deux principaux déterminants que sont: la pluviométrie, la distance des localités aux cours d'eau saumâtre. La pluviométrie constitue le principal facteur de submersion des gîtes larvaires. Une étude réalisée par Coz en 1973 et portant sur la contribution à l'étude du complexe *Anopheles gambiae* en Afrique de l'ouest a montré que *An. gambiae* n'est pas très exigeant pour la qualité de l'eau mais préfère comme lieux de ponte les collections d'eau limoneuse peu profondes non ombragées proches des habitations et d'étendue réduite, fossés, flaques d'eau (Coz ,1973). Dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, les larves de *An. gambiae* ont été retrouvées exceptionnellement dans des jarres.

Le modèle de *Cx. quiquefasciatus* fait intervenir deux principaux déterminants que sont: la fréquence de production d'alcool et la distance des localités aux cours d'eau douce. Mais il convient de remarquer que la fréquence de l'espèce *Cx. quiquefasciatus* augmente lorsque la fréquence de production d'alcool diminue et

que l'on s'éloigne des cours d'eau douce. Les *Culex* se développent dans les bassins permanents ou temporaires de condensation d'alcool dans zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. Leurs œufs, regroupés en « radeaux » à la surface de l'eau, ne supportent pas de forte température (Nasci et Miller, 1996). En fait l'éloignement des localités des cours d'eau douce associé à la nappe phréatique très profonde dans le nord et le sud-ouest de la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè et Tori Bossito, augmentent la périodicité de stockage des eaux destinées pour la condensation de l'alcool. Etant donné que les larves de moustiques ont juste besoin de 7 à 10 jours pour leur émergence, il est donc possible que cette eau assure plusieurs cycles aquatiques avant une nouvelle opération de production d'alcool qui va forcément assurer la destruction des œufs. Aussi, dans cette zone, le nombre de producteurs d'alcool est plus élevé que dans la zone sud-est (Ouidah et sud de Tori Bossito). Mais ces producteurs ne sont pas des professionnels. Donc la fréquence de production d'alcool est faible c'est-à-dire de l'ordre de 3 à 4 fois l'an. Il est généralement connu que l'habitat est le point de rencontre privilégié entre les vecteurs et les hommes. C'est le lieu des contacts les plus longs, simplement parce que l'habitat est l'endroit où l'hôte passe le plus de temps dans l'immobilité (sommeil), au moment le plus indiqué pour l'activité nutritionnelle du moustique, à savoir la nuit (Assoko, 2005). Une étude réalisée au Burkina Faso en zone irriguée, a montré que l'éloignement de l'habitat à quelques centaines de mètres d'une zone irriguée ou d'un cours d'eau est la seule mesure réaliste pour limiter la nuisance culicidienne (Tia, 1992). Ces résultats sont contraires aux nôtres. En effet dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, l'espèce *Cx. quinquefasciatus* prolifère plus dans les localités éloignées des cours d'eau douce. En réalité la profondeur de la nappe phréatique et l'absence de cours d'eau obligent les populations à creuser des bassins de rétention d'eau pluviale, véritables gîtes de moustiques à *Culex* (Bio- Bangana, 2012).

Le modèle de distribution spatiale de *Ae. aegypti* fait intervenir le NDVI, le nombre de jour de pluie, la topographie et la distance des localités aux cours d'eau saumâtre. Le NDVI permet de représenter la variation de l'activité photosynthétique (Sellers, 1985) et est donc corrélé à la variation de la biomasse végétale, elle-même reliée, en grande partie, aux variations pluviométriques. Il est considéré comme un indicateur fiable du niveau des précipitations (Tucker *et al*, 1985; Linthicum *et al*, 1987) et donc

de l'abondance des gîtes larvaires. Une étude réalisée au Kenya, a montré que les fortes valeurs du NDVI correspondent généralement à des périodes de précipitations abondantes et, selon Linthicum *et al* (1990), il existe une corrélation entre le NDVI et le niveau d'inondation des sites de ponte des moustiques (l'inondation des sites s'observant juste avant ou en même temps que le pic du NDVI). Ces résultats sont contraires aux nôtres. En effet, les fréquences de *Ae. aegypti* diminuent avec les valeurs de NDVI et du Nombre de jour de pluie élevées. Les différences notées sont liées au fait que Tucker (1985) et Linthicum (1987) ont travaillé dans une zone de forêt alors que nos travaux ont porté sur une zone hautement anthropisée, découverte de couvert végétale dans sa majeure partie et à nappe phréatique très profonde. En effet la profondeur de la nappe phréatique, obligent les populations à multiplier les jarres véritables gîtes larvaires de moustiques *Ae. aegypti*.

Sur la base de ces tendances, la distribution de ces espèces vectrices a été décrite de façon formelle par quatre fonctions. Lors de cette formalisation, nous avons procédé à l'expression des fréquences transformées des quatre espèces (*An. funestus*, *An. gambiae*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*) en fonction des facteurs les plus déterminants. Ces fonctions de répartition de la distribution spatiale ont permis de réaliser des cartes de distribution spatiale de chacune des quatre espèces. L'évaluation de la qualité des modèles à partir de l'analyse de la normalité des résidus et le test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN était satisfaisante. Ces résultats confirment la troisième hypothèse selon laquelle la connaissance des facteurs les plus déterminants de la répartition spatiale des vecteurs permet de prédire en tout point les fréquences de population de moustique vecteur dans ce milieu. Ces résultats confirment ceux de Somé en 2010 au Burkina Faso.

L'intérêt de modéliser la répartition spatiale de *An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti* est de contribuer à la mise en place de stratégies de lutte ciblée contre ces vecteurs pour mieux lutter contre le paludisme, la nuisance culicidienne, la filariose lymphatique et la fièvre dengue dans le monde en menant des investigations sur l'un des maillons de la chaîne de transmission de ces espèces (Bio- Bangana, 2012).

6.2 CONCLUSION GENERALE

L'intérêt de ce travail est d'étudier la relation entre les facteurs environnementaux et l'occupation du territoire par les vecteurs de maladie afin de mieux comprendre l'écologie de ces vecteurs pour mieux les combattre. En effet une bonne stratégie de contrôle des vecteurs doit d'abord prendre en compte l'environnement qui offre à ces vecteurs les conditions écologiques favorables à leur survie et à leur reproduction.

Cette thèse a permis de décrire l'organisation spatiale des espèces *An. gambiae sl*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti* dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito et d'en identifier les facteurs déterminants. Elle a permis également de produire des modèles de distribution spatiale des espèces rencontrées.

La biogéographie, enrichi des apports indispensables de l'entomologie et des outils et méthodes de l'analyse spatiale, de l'analyse statistique des données et des systèmes d'information géographique, a permis de structurer l'étude autour de la distribution spatiale des espèces *An. gambiae s.l.*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti* dans une perspective pluridisciplinaire.

Cette thèse a montré une hétérogénéité spatiale dans les préférences écologiques des espèces *An. gambiae sl.*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*. Le sud-est et le nord-est de la zone d'étude, correspondant aux régions des marais et des prairies aquatiques, sont les zones où prédominent les espèces *An. gambiae sl* et *An. funestus*. Dans le nord-ouest et le sud-ouest, régions les plus arides, régions des bassins artificiels utilisés pour la production artisanale d'alcool, l'espèce *Cx. quinquefasciatus* est largement dominante. Dans l'ensemble de ces deux zones se concentre l'espèce *Ae. aegypti*. Deux groupes de facteurs environnementaux caractérisent les zones de concentration et influencent de façon significative la distribution spatiale des quatre espèces de vecteurs (*An. gambiae sl.*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti*). Le premier groupe de facteurs est naturel et se compose du vent, de la visibilité, de l'humidité relative, de la température, des précipitations, de la végétation et du relief. Le deuxième groupe évoque plutôt l'anthropisation du milieu et se compose de la fréquence de production d'alcool et de la distance des localités aux cours d'eau douce et saumâtre. A partir de ces facteurs de l'organisation spatiale des quatre espèces, quatre modèles de distribution spatiale (un modèle pour chaque espèce) ont été réalisés. Ces modèles ont permis la

réalisation d'une carte de distribution spatiale des fréquences des espèces *An. funestus*, *An. gambiae*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti* dans la zone Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito.

Au regard de ces résultats, nous pouvons affirmer que l'hypothèse de distribution non aléatoire des espèces *An. funestus*, *An. gambiae*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti* est confirmée. Les facteurs environnementaux expliquent bien la répartition spatiale des vecteurs. Mais ils y contribuent toutefois de façon différentielle. Ceci confirme la seconde hypothèse de cette étude. Celle de la contribution différentielle des facteurs de l'environnement dans la répartition spatiale des moustiques vecteurs de maladies dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. La troisième hypothèse, celle de la possibilité de prédiction des fréquences de moustiques vecteurs connaissant certains paramètres d'un milieu est aussi confirmée, même si la fonction de répartition de l'un n'est pas l'opposé *sensu stricto* de l'autre.

Les trois objectifs fixés au départ de ce travail de recherche à savoir : la description de la répartition spatiale de *An. gambiae*, de *An. funestus*, de *Cx. quinquefasciatus* et de *Ae. aegypti* dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, l'identification des paramètres du milieu qui déterminent cette répartition spatiale et la modélisation de la distribution spatiale de ces espèces sont tous atteints.

Les descriptions cartographiques et statistiques de la distribution spatiale des trois espèces vectrices sont disponibles. Des modèles de distribution spatiale validés ont été mis au point.

Le niveau d'atteinte des objectifs et de validation des hypothèses voudrait que l'on regarde la méthodologie utilisée avec intérêt. Cette méthodologie met en œuvre un ensemble de processus qui pourraient être répliqués à bon escient sur d'autres sites et pour d'autres vecteurs de maladies. En combinant dans une démarche géographique, l'analyse spatiale, l'analyse statistique de données, les systèmes d'information géographique, la sociologie et l'entomologie, ce travail constitue un point d'application des méthodes géographiques dans l'analyse des problèmes de santé, particulièrement dans leurs aspects environnementaux.

6.3 SUGGESTIONS

Cette étude veut apporter un autre regard sur les questions « environnement et santé » en éclairant, sous un angle géographique, les décideurs et les chercheurs qui s'investissent dans la lutte antivectorielle.

A l'endroit de :	Actions à mener	Impacts
Etat central	Multiplier les adductions d'eau villageoise, les rendre géographiquement et financièrement accessible à tous	La multiplication des adductions d'eau villageoise permet de limiter le recours aux eaux des marais par les populations, le remblai des bassins pluviaux, la limitation du transport passif des larves de moustiques des marais vers les habitations et du coup celle de la nuisance et de la maladie
	Décourager l'investissement foncier sur tout le territoire national en exigeant les permis de construire avant toute installation, en augmentant les taxes sur le bâti et en veillant au strict respect de cette réglementation	L'investissement foncier (achat des carrés et leur construction) entraîne une stagnation de l'économie locale et nationale. Ne permet pas la création massive d'emploi. Occasion des problèmes d'aménagement et d'assainissement. Le découragement de cette investissement permet donc de libérer les zones inondables, de réduction des gîtes larvaires (puisards, puits perdus, marais), de diminuer le risque de propagation des maladies d'origines hydriques, de stimuler la culture d'entreprise, l'accessibilité et la possibilité de traitement des gîtes larvaires permanents.
	Rendre navigable les cours d'eau de la zone sanitaire en endiguant leurs bordures. Ce qui a pour effet la réduction de la surface d'écoulement de ces cours d'eau et l'augmentation de la surface cultivable.	Le développement des infrastructures de transport fluvial a pour rôle d'augmenter les potentialités économiques (la pisciculture, le transport fluvial, le maraichage) des communes, de créer de l'emploi et de s'auto financer (achat de moustiquaires imprégnées à longue durée d'action, médicaments antipaludiques)
	Aménager et procéder à l'entretien périodique des infrastructures de transport rural	L'aménagement des infrastructures de transport rural assure l'amélioration de l'accessibilité géographique aux soins de santé aussi bien pour la population locale que pour les services d'urgence

Communes	La communication avec la population pour un changement de comportement. Cette communication doit s'appuyer sur la nécessité d'agir sur les risques de prolifération des gîtes larvaires (la non fermeture et le non lavage régulier des jarres, des bassins, des bidons et autres, l'automédication pour cause du paludisme).	La plus part des gîtes dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito sont temporaires et constitués par des jarres, des bassines, des calebasses, des bidons. Envisager un traitement anti larvaire de ces gîtes est possible mais peu efficient. L'intervention des autorités communales à travers les chaînes de radios communautaires à l'endroit de leur électorat peut réduire de manière significative le risque de propagation des moustiques et des affections
	Assurer l'entretien courant des infrastructures de transport rural	L'entretien courant des infrastructures de transport rural consiste au remblai des dépressions de la voie, aux curages des caniveaux. Une telle action permet la suppression des nids de poule (flaque d'eau sur les pistes) qui sont de véritables gîtes larvaires de moustiques Anopheles. Il permet aussi d'écouler facilement les produits agricoles et d'éviter le bradage des produits agricoles principale cause de pauvreté en milieu rural.
	Lotissement des villages et hameaux	Le lotissement des villages et hameaux permet de prévoir des problèmes d'aménagement et d'assainissement pour une gestion durable des maladies vectorielles.
Chercheurs	Mener des recherches pour l'identification des insecticides respectueux de l'environnement et de la santé humaine et animale, gérer efficacement la résistance des vecteurs aux insecticides et aux médicaments.	Le ciblage de la lutte anti vectorielle permet d'être efficient en matière de lutte contre les vecteurs, de préserver la santé de la population contre les maladies vectorielles et de préserver l'environnement contre les insecticides utilisés pour la démoustication..

BIBLIOGRAPHIE

1. **Akogbéto M, Padonou GG, Gbénou D, Irish S and Yadouleton A (2010):** Bendiocarb, a potential alternative against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* in Benin, West Africa. *Malaria Journal*, 9:204 doi: 10.1186/1475-2875-9-204
2. **Akogbeto MC, Djouaka RF and Kinde-Gazard DA (2006):** Screening of pesticide residues in soil and water samples from agricultural settings. *Malar J*, 5: 22 doi: 10.1186/1475-2875-5-22
3. **Akogbeto MC, Djouaka RF and Noukpo H (2005):** Use of agricultural insecticides in Benin. *Bull Soc Pathol Exot*, 98: 400-405.
4. **Anyamba A, Linthicum KJ and Tucker CJ (2001):** Climate-disease connections: Rift Valley Fever in Kenya. : *Cadernos de Saúde Pública*, v. 17, p. 133-140.
5. **Arnaud M et Emery X (2000) :** Estimation et interpolation spatiale, Méthodes déterministes et méthodes géostatistiques. Hermès, Paris. 221 p.
6. **Assako ARJ, Bley D & Simard F (2005) :** Apports des sciences sociales et de l'entomologie dans l'analyse de l'endémicité du paludisme à HEVECAM, une agro-industrie du Sud-Cameroun. *Geo-Eco-Trop*, 29: 101-114.
7. **Aubry P (2000) :** Le traitement des variables régionalisées en écologie apports de la géomatique et de la géostatistique: Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard - Lyon 1, 480 p.
8. **Balenghien T (2006) :** De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France [Thèse de doctorat, thesis], Université Des Sciences Des Technologies et De La Santé De Grenoble, 223p.
9. **Barbault R (1992) :** Ecologie des peuplements- Structure, Dynamique et Evolution. Ed. Masson, Paris. 273 p.
10. **Banos A (2001) :** A propos de l'analyse spatiale exploratoire des données: Cybergeo <http://www.cybergeo.presse.fr>, n° 197, 15 p.
11. **Barrett A et Frank (2000):** Finke's 1792 map of human diseases: the first world disease map? *Social Science & Medicine*, 50: 915-921.
12. **Bavoux JJ (2007) :** La géographie Objet, méthodes, débats, Paris ; A. Colin, coll. V, Série géographie, 239 p.
13. **Bedard Y et Valliere D (1995) :** Qualité des données à Référence Spatiale dans un contexte gouvernemental, Rapport de recherche pour le Plan géomatique du gouvernement du Québec (PGGQ), 55p.

- 14. Becker N & Margalit J (1993):** Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquitoes and blackflies. In: *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: theory and practice (Edited by P.F. Entwistle, J.S. Cory, M.J. Bailey and S. Higgs). Wiley, New York. pp. 147-170.
- 15. Ben Cheikh H & Pasteur N (1993):** Resistance to temephos, an organophosphorus insecticide, in *Culex pipiens* from Tunisia, North Africa. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 9, 335-337.
- 16. Binka FN, Kubaje A, Adjuik M, Williams LA, Lengeler C, Maude GE, Kajihara B, Adiamah JH et Smith PG (1996):** Impact of permethrin impregnated bednets on child mortality in Kassena-Nankana district, Ghana: a randomized controlled trial: *Trop Med int Health* 1, 147-154.
- 17. Bio-Bangana S, Houssou C, Ossé O, Etorh P, Djogbénou L, Ahouangninou CA, Boko M, Akogbéto M (2012):** Characterization of mosquito fauna in the sanitary district Ouidah-Kpomasse-Tori Bossito in Benin. *International Journal of Biosciences* 2, 31- 39,
- 18. Bio-Bangana S, Boko M, Etorh P, Djogbénou L, Ahouangninou CA, Boussari O, Houssou C, Akogbéto M (2012):** Impact of water provision from the marshes on the culicidae proliferation in Tori Bossito, Benin Republic. *Continental J. Sustainable Development* 3, 39 – 46.
- 19. Bio-Bangana S (2008) :** Caractérisation de la faune culicidiène dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito. [Thèse de DESS, thesis], Université d'Abomey-Calavi, 56 pages.
- 20. Biteau FC (2006) :** Surveillance et évaluation du risque de transmission des maladies vectorielles émergentes : apport de la capacité vectorielle Exemple de la fièvre catarrhale du mouton [Epidémiologie thesis], Doctorat de L'Université Montpellier II, 260 pages.
- 21. Boisvert M & Boisvert J (2000):** Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on target and nontarget organisms: a review of laboratory and field experiments. *Biocontrol Science and Technology*, 10: 517-561.
- 22. Bonn F (1991) :** Précis de télédétection, Principes et méthodes, Presse Universitaire du Québec, 485 pages.
- 23. Bouyer J (2006) :** Ecologie des glossines du Mouhoun au Burkina Faso : intérêt pour l'épidémiologie et le contrôle des trypanosomoses africaines [Thèse de Doctorat thesis], Université Montpellier II, 204 pages

- 24. Bouzou IM, Somé CYS, Nonguierna A et Royer A (2001) :** Evaluation et suivi des plans d'eau de surface par télédétection dans le bassin de Loumbila au Burkina Faso: Revue Sécheresse 12 : 31-36.
- 25. Bruce-Chwatt LJ et Zulueta JD (1985):** Essential Malariology: W. Heinemann med. Books Ltd, London chap. 8, p. 166-209.
- 26. Brunet R (2000) :** Des modèles en géographie ? Sens d'une recherche, Bulletin de la Société de Géographie de Liège 2, 21-30.
- 27. Brunet R, Ferras R et Thery H (1993) :** Les mots de la géographie : dictionnaire critique: Montpellier-Paris, DDIPR française, 470 p.
- 28. Carlson J, Olson K, Higgs S et Beaty B (1995):** Molecular genetic manipulation of mosquito vectors: Annual Review of Entomology 40, 359-388.
- 29. Chauvet G, Davidson G et Coz J (1969) :** Le complexe *Anopheles gambiae* en Afrique Continentale et à Madagascar: Cah. ORSTOM, Série Ent. Méd. et Parasitologie 7, 9-12.
- 30. Ciattoni A, Beucher S et Reghezza M (2005) :** La géographie : pourquoi ? Comment ? Objets et démarches de la géographie d'aujourd'hui, Ed. Hatier, Coll. Initial, Paris.
- 31. Claval P (2001)** Epistémologie de la géographie. Paris, Nathan, 265 p.
- 32. Collins FH, Mendez MA, Rasmussen MO, Mehaffey PC, Besansky NJ and Coluzzi M (2002) :** *Plasmodium falciparum* en Afrique subsaharienne. Spéciation récente des vecteurs, transmissibilité, évolution de la pathogenèse contrôle de la malaria et capacité vectorielle. : Ann. Inst. Pasteur Actualités, p.81-99.
- 33. Coluzzi M. and Sabatini A. (1967):** Cytogenetic observations on sp. A and B of the *Anopheles gambiae* complex: Parassitologia 9: 73-88.
- 34. Coluzzi M, Sabatini A, Petrarca V and Deco MAD (1979):** Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. : Trans. Of the Roy. Soc. Of Trop. Med. and Hyg 73: 483-497.
- 35. Corbel V, N'Guessan R, Brengues C, Chandre F, Djogbenou L, Martin T, Akogbeto M, Hougard JM and Rowland M (2007):** Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. *Acta Trop*, 101(3):207-216.
- 36. Costantini C, Ayala D, Guelbeogo WM, Pombi M, Somé CY, Bassole IH, Ose K, Fotsing JM, Sagnon NF, Fontenille D, Besansky NJ et Simard F (2009):** Living at the edge: biogeographic patterns of habitat segregation conform to speciation by

niche expansion in *Anopheles gambiae*: BioMed Center Ecology, v. 9:16. 9:16. doi: 10.1186/1472-6785-9-16.

37. Costantini C, Sagnon NF, Della TA and Gibson G (1998): Odor-mediated host preference of West Africa mosquitoes, with particular preferences to malaria vectors: Am J Trop Med Hyg, 58, 56-63.

38. Coz J (1973) : Contribution à l'étude du complexe *Anopheles gambiae*. Répartition géographique et saisonnière en Afrique de l'ouest: Cahier ORSTOM, Série Ent. Méd. et Parasitologie, 9, 3-31.

39. Crampton JM et Hill SM (1993): DNA probes for identification of malaria vectors: Parasitologia, 35, 31-44.

40. Curtis CF (1996) : Impregnated bed nets, malaria control and child mortality in Africa: Tropical medicine and international Health, 1, 137 - 138.

41. Dajoz R (2006) : Précis d'écologie, 631 p.

42. Damien BG (2008) : Aspects épidémiologiques du paludisme dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomasse-Tori Bossito. [Thèse de Doctorat en médecine, thesis], Université d'Abomey-Calavi, Bénin. 130 pages

43. Davidson G (1964): *Anopheles gambiae*, a complex of species: Bull. Wld. Hlth. Org. p. 625.

44. Davidson G et Jakson C (1962): Incipient speciation in *Anopheles gambiae* Giles: Bull. Wld. Hlth. Org. 27, 303-305.

45. Davies FG, Kileulu E, Linthicum KJ et Pegram RG (1992): Patterns of Rift Valley fever activity in Zambia: Epidemiology and Infections. 108, 185-191.

46. Devilliers R et Jeansoulin R (2005) : Qualité de l'information géographique : Concepts généraux: Qualité de l'information géographique, v. IGAT, p. Pages 37-47.

47. Diagne N, Fonteinille D, Konaté L, Faye O, Lamizana MT and al. (1994) : Les anophèles du Sénégal, Liste commentée et illustrée, Bull Soc Path Ex 267-277.

48. Djènontin A (2011) : Stratégie de gestion de la résistance aux insecticides des vecteurs du paludisme et impact opérationnel en Afrique de l'Ouest. [Thèse de Doctorat, thesis], Université d'Abomey-Calavi, Bénin.

49. Djènontin A, Bio-Bangana S, Moiroux N, Henry MC, Bousari O, Chabi J, Ossè R, Koudénoukpo S, Corbel V, Akogbéto M and Chandre F (2010): Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasit Vectors*, 3:83. 1-7

- 50. Djogbénou L, Dabire R, Diabate A, Kengne P, Akogbeto M, Hougard JM and Chandre F (2008):** Identification and Geographic Distribution of the ACE-1R Mutation in the Malaria Vector *Anopheles gambiae* in South-Western Burkina Faso, West Africa. *Am J Trop Med Hyg*, 78: 298–302.
- 51. EID du littoral méditerranéen (1966):** Extension de *Mansonia richiardii* dans le département du Gard. Montpellier, Entente Interdépartementale pour la Démoustication du littoral méditerranéen. EID. 7
- 52. ESRI (2006):** ArcGIS 9, Using ArcGIS Desktop.
- 53. Favia G, Della TA, Bagayoko M, Lanfrancotti A, Sagnon NF, Touré YT and Coluzzi M (1997):** Molecular identification of sympatric chromosomal forms of *Anopheles gambiae* and further evidence of their isolation. : *Insect Molecular Biology* 6(4), 377-383.
- 54. Favia G, Lanfrancotti A, Spanos L and Coll (2001):** Molecular characterization of ribosomal DNA (rDNA) polymorphisms discriminating chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. : *Insect Mol Biol*. 10, 19-23.
- 55. Fontenille D, Faye O, Konate L, Sy N et Collins F (1993):** Comparaison des techniques PCR et cytogénétique pour la détermination des membres du complexe *Anopheles gambiae* au Sénégal. : *Ann.Parasitol. Hum. Comp.* 68(5/6), 239-240.
- 56. Fotsing JM (2003) :** Qu'apportent les SIG à la recherche scientifique ? Colloque International Géomatique et application, v. Presses Universitaire d'Orléans 1, 13-14.
- 57. Franc A (2001) :** Formalisation mathématique des interactions spatiales, Modèles en analyse spatiale, IGAT, 283-299.
- 58. Frankel H (2004) :** Les comportements de recours aux soins en milieu rural au Sénégal : le cas d'enfants fébriles à Niakhar. [Thèse de Doctorat, thesis], Université Paris X-Nanterre. 465 pages
- 59. Gaudart J. (2007) :** Analyse spatio-temporelle et modélisation des épidémies : application au paludisme à *P. falciparum*. [Thèse de Doctorat, thesis], Université de la Méditerranée-AIX-Marseille. 121 pages
- 60. Gazin P et Robert V (1987) :** Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso) : Les indices paludologiques. *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie Médicale et Parasitologie* 25(1), 27-31.
- 61. Gillies MT et Coetzee MC (1987):** A supplement to the Anophelinae of Africa south of the sahara (Afrotropical region): publication of the south African institute for Medical Research, Johannesburg, 55. 143pp.

- 62. Gillies MT and Meillon BD (1968):** The Anophelinae of Africa south of the sahara (Ethiopian Zoogeographical region): The south African institute for Medical Research, Johannesburg, 2nd Ed. 343p.
- 63. Green C (1972):** Cytological maps for the practical identification of females of the three freshwater species of the *Anopheles gambiae* complex. Ann. Trop. Med. Parasitol. 66: 143-147.
- 64. Guermond Y (2005) :** Modélisations en géographie, déterminisme et complexité, Paris Hermes. 389 pages
- 65. Guinko S (1984) :** Végétation des savanes marécageuses du sud Dahomey Bordeaux III. 318 pages
- 66. Guis H (2007) :** Géomatique et épidémiologie : Caractérisation des paysages favorables à Culicoïdes imicola, vecteur de la fièvre catarrhale ovine en Corse. [Thèse de Doctorat, thesis], Université de Franche-comté. 415 pages
- 67. Guisan A et Zimmermann NE (2000) :** Prédictive habitat distribution models in ecology: Elsevier Ecological modelling. 135: 147-186.
- 68. Gumuchian H et Marois C (2000) :** Initiation à la recherche en géographie, Aménagement, développement territorial, environnement. 425 pages.
- 69. Hamon J, Adam JP et Grjebine A (1956):** Observation sur la répartition et le comportement des anophèles de l'Afrique Equatoriale française, du Cameroun et de l'Afrique Occidentale. : Bulletin de l'Organisation mondiale de la santé.15: 549-591.
- 70. Hemingway J, Hawkes NJ, McCarroll L and Ranson H (2004):** The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 34: 653-666.
- 71. Hendrickx G, de-La-Rocque S, Reid R et Wint W (2001):** Spatial trypanosomosis management: from data-layers to decision making. Trends Parasitology. 17: 35-41.
- 72. Jambou M (1999):** Méthodes de base de l'analyse des données. p. 412.
- 73. Joost S (2006):** The geographical dimension of genetic diversity: a giscience contribution for the conservation, of animal genetic resources: Thèse de Doctorat, École Polytechnique Fédérale de Lausanne. p. 178.
- 74. Kennedy P (1992):** A Guide to Econometrics, Blackwell Publishers, 410 p.
- 75. Koenraadt CJM, Githeko AK and Takken W (2004):** The effect of rainfall and evapotranspiration on the temporal dynamics of *Anopheles gambiae* s.s and *Anopheles arabiensis* in a Kenyan village: Acta Tropica. 90: 141-153.

- 76. Lacey LA, Urbina MJ and Heizman CM (1984):** Sustained-release formulations of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* (H-14) for control of container-breeding *Culex quinquefasciatus*.: Mosquito news. 44 : 26-32.
- 77. Langlois P (2005) :** Complexité et système spatiaux: Modélisations en géographie, déterminisme et complexité. IGAT, 299-319.
- 78. Langlois P et Reguer D (2005) :** La place du modèle et de la modélisation en sciences humaines: Modélisations en géographie, déterminisme et complexité. IGAT, 35-48.
- 79. Lebart L, Piron M et Morineau A (2006) :** Statistique exploratoire multidimensionnelle. Visualisation et inférence en fouilles de données. 464 pages.
- 80. Lebras M, Soubiran G, Baraze A, Meslet B, Combe A, Glap G & Fabre A (1986):** Paludisme urbain et rural au Niger, le cas du département de Maradi. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 79 : 695-706
- 81. Le-Bras M et Malvy JMD (2004) :** Le complexe pathogène tropical : Regard nouveau sur un concept ancien: Médecine tropicale. 64 : 613-618.
- 82. Lefevre T (2010) :** Les moustiques préfèrent les buveurs de bière : Sciences au Sud-Le journal de l'IRD-n°55-juin-juillet-aout p. 14
- 83. Le-Moigne JL (1990)** La modélisation des systèmes complexes: Paris, Dunod, 180 p.
- 84. Le-Sueur D et Sharp BL (1988):** The breeding requirements of three members of the *Anopheles gambiae* Giles complex (Diptera: Culicidae) in the endemic malaria area of Natal, : south Africa. Bull. Ent. Res. 78: 549-560.
- 85. Linthicum KJ, Anyamba A, Tucker CJ, Kelley PW, Myers MF and Peters CJ (1999):** Climate and satellite indicators to forecast Rift Valley Fever epidemics in Kenya: Science. 285: 397-400.
- 86. Linthicum KJ, Bailey CL, Davies FG and Tucker CJ (1987):** Detection of Rift Valley fever viral activity in Kenya by satellite remote sensing imagery. : Science. 235: 1656-1659.
- 87. Linthicum KJ, Bailey CL, Tucker CJ, Mitchell KD, Logan TM, Davies FG, Kamau CW, Thande PC and Wagatoh JN (1990):** Application of polar-orbiting, meteorological satellite data to detect flooding of Rift Valley Fever virus vector mosquito habitats in Kenya. : Medical and Veterinary Entomology. 4: 433-438.

- 88. Luen SC & Shalaby AM (1962):** Preliminary note on the development of DDT resistance in *Anopheles culicifacies* Giles, in Panchmahal district. *Bull. World Health Organ.* **26** : 128.
- 89. Machault V (2010):** Utilisation des données d'observation de la terre par satellite pour l'évaluation des densités vectorielles et de la transmission du paludisme. [Thèse de Doctorat, thesis], Université de la Méditerranée-Marseille. 259 pages
- 90. Manguin S, Fontenille D, Chandre F, Lochouart L, Mouchet J, Kengne P et**
- 91. Guillet P (1999) :** Interactions génétiques entre population vectrices parasites et humains: l'exemple du paludisme à *Plasmodium falciparum*, Journée SPE du 13 octobre 1999 : Génétique et maladies infectieuses dans l'environnement tropical. Institut Pasteur à Paris, p. 7.
- 92. Mathian H et Piron M (2001):** Echelles géographiques et méthodes statistiques multidimensionnelles: Modèles en analyse spatiale. IGAT, 61-101.
- 93. Merritt RW (1989):** A broad evaluation of *B.t.i.* for black fly (Diptera: Simuliidae) control in a Michigan river: efficacy, carry and nontarget effects on invertebrates and fish. *J. Am. Mosq. Contr. Ass.*, **5**(3): 397-415.
- 94. Minakawa N, Mutero CM, Githure JI, Beier J and Yan G (1999):** Spatial distribution and habitat characterization of Anopheline mosquito larvae in Western Kenya. : American Tropical Medicine Hygiene. **61**: 1010-1016.
- 95. Mouchet J, Carnevale P, Coosemans M, Julvez J, Manguin S, Richard-Lenoble D et Sircoulon J (2004) :** Biodiversité du paludisme dans le monde: Paris, 428 p.
- 96. Muirhead-Thomson R (1951):** Studies on salt-water and fresh-water *Anopheles gambiae* on the East African coast: *Bull. Entomol.* **41**: 487-502.
- 97. Mushinzimana E, Munga S, Minakawa N, Feng CC, Bian L, Kitron U, Schmidt C, Beck L, Zhou G, Githeko AK and Yan G (2006):** Landscape determinants and remote sensing of anopheline mosquito larval habitats in the western Kenya highlands: *Malaria Journal.* **5**:13 doi: 10.1186/1475-2875-5-13.
- 98. Nasci RS, Miller BR (1996):** Culicine mosquitoes and the agents they transmit. Dans: Beaty BJ, Marquardt WC. The biology of disease vectors. University press of Colorado. p. 90.
- 99. Nielsen-Leroux C & Charles JF (1992):** Binding of *Bacillus sphaericus* binary toxin to a specific receptor on midgut brush-border membranes from mosquito larvae. *Eur. J. Biochem.* **210** : 585-590.

- 100. OMS (2006) :** Prévenir les maladies par des environnements salubres - vers une évaluation de la charge des maladies environnementales: Génève, OMS.
- 101. Paterson H (1964):** Direct evidence for the specific distinctness of Forms A, B and C of the *Anopheles gambiae* complex. Riv. Malar. 43: 191-196.
- 102. Patrick AN, Eric MB, Philippe B, Sévilor K, Gisèle F, Jean M. (2010) :** Abondance et diversité de la faune culicidienne à Yaoundé, Cameroun, Entomologie faunistique – Faunistic Entomology. 62: 115-124.
- 103. Pavoine S and Dufour AB (2010) :** Mesures de biodiversité. Logiciel R version 2.11.1 (2010-05-31) {tdr28.rnw {Page 14/14 {Compilé le 2010-11-18. Disponible sur le site : <http://pbil.univlyon1.fr/R/pdf/tdr28.pdf>
- 104. Pin-Diop R (2006):** Spatialisation du risque de transmission de la Fièvre de la Vallée du Rift en milieu agropastoral sahélien du Sénégal septentrional [Géographie - Espace, Développement et Santé thesis], 238p.
- 105. PDC (2006):** Plan de Développement de la Commune de Kpomassè, période 2006-2010, archive
- 106. PDC (2005):** Plan de développement de la Commune de Tori Bossito, période 2005-2009, archive
- 107. PNLP (2011):** Stratégie de mise en oeuvre de la gratuité de la prise en charge des cas de paludisme chez les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans: Ministère de la Santé Bénin, p. 52.
- 108. Ratana S, Lee WJ, Ugsang DM and Linthicum KJ (2005):** Identification and characterization of larval and adult anopheline mosquito habitats in the Republic of Korea: potential use of remotely sensed data to estimate mosquito distributions: International Journal of Health Geographics. 4:17. doi: 10.1186/1476-072X-4-17
- 109. Robert V, Gazin P, Ouedraogo V et Carnevale P (1986):** Le Paludisme urbain à Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso). 1- Etude entomologique de la transmission. *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie Médicale et Parasitologie*. 24(2) : 121-128.
- 110. Robert V, Awono-Ambene HP and Thioulouse J (1998):** Ecology of larval mosquitoes, with special reference to *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) in market-garden wells in urban Dakar, Senegal. : J Med Entomol. 35(6): 948-55.
- 111. Robert V et Carnevale P (1984):** Les vecteurs des paludismes en Afrique subsaharienne: Etudes Médicales. 2 : 79-90.

- 112. Robert V, Petrarca V, Carnevale P, Ovazza L et Coluzzi M (1989):** Analyse cytogénétique du complexe *Anopheles gambiae* dans la région de Bobo Dioulasso (Burkina Faso). Annales de Parasitologie humaine Comparée. 64 : 290-311.
- 113. Robinson TP, Rogers DJ et Williams BG (1997):** Mapping tsetse habitat suitability in the common fly belt of Southern Africa using multivariate analysis of climate and remotely sensed vegetation data: Medical and Veterinary Entomology. 11: 235-245.
- 114. Rodhain F et Perez C (1985):** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire: Paris France, éditeur Maloine S.A., 485p.
- 115. Rodcharoen J & Mulla MS (1996):** Cross resistance to *Bacillus sphaericus* strains in *Culex quinquefasciatus*. J. Am. Mosq. Control Assoc., 12 (2) : 247-250.
- 116. Rodolphe D et Robert J (2005):** Qualité de l'information géographique, p. 302.
- 117. Rogers DJ and Randolph SE (1993):** Distribution of tsetse and ticks in Africa: past, present, future. Parasitology today. 9: 266-271.
- 118. Rogers DJ and Williams BG (1993):** monitoring trypanosomiasis in space and time Parasitology. 106: 77-92.
- 119. Sabatier P, Babouchkine JM, Morvan J, Polidori L, Lacaux JP, Braak L, Dubois MA, et Chaude H (2004):** Dengue. Surveillance spatiale et de la dengue. Conception d'outils d'acquisition, de cheminement, d'analyse et de prévision épidémiologique: ITBM-RBM 25 (2004) p. 292-296.
- 120. Sagnon NF (1999):** Identification moléculaire dans l'Etude de la distribution spatiale et de la structure de la population préimaginale des taxa du complexe *Anopheles gambiae* vecteurs du paludisme au Burkina Faso [PhD thesis]: Rome, Université de Rome «la Sapienza»
- 121. Sanders L (2001):** Modèles en analyse spatiale, Hermes-Lavoisier, Paris (coordination), 333 p.
- 122. Sangaré D. (2000):** Dynamique des populations d'*Anopheles gambiaes.l.*, d'*Anopheles funestus* et *Plasmodium falcipharum* dans le système de transmission par relais du paludisme à Donéguebougou Arrondissement de Kati, Université du Mali.
- 123. Scott JA, Brogdon WG and Collins FH (1993):** Identification of single specimens of *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction. . Am. J. Trop. Med. Hyg. v. 49, 520-529.

- 124. Sellers PJ (1985)** Canopy reflectance, photosynthesis and transpiration. *International Journal of Remote Sensing* 6:1335-1372.
- 125. Service MW (1993)** Mosquitoes(culicidae): Lane R.P. et Crosskey R.W.(eds), *Medical insects and Arachnids*. Chapman and Hall, London. p. 51-77.
- 126. Service MW, Joshi GP and Prodhan GD (1978)** A Survey of *Anopheles gambiae* (species A) and *An.arabiensis* (Species B) of the *An. gambiae* Giles complex in the Kisumu aera of Kenya following insecticidal spraying with OMS-43 (fenitrothion): *Annales of Tropical Medicine and Parasitology*, v. Vol. 72, No.4, p. 377-386.
- 127. SDAC (2004)** Schéma Directeur d'Aménagement de la Commune de Ouidah, archive
- 128. Simpson EH (1949)** Measurement of diversity. *Nature*. 163: 688.
- 129. Sirima SB, Konaté A, Tiono AB, Convelbo-Cousens S, Pagnoni F (2003)** Early traitment of childhood fevers with prepackaged antimalarial drug in the home reduces severe malaria morbidify in Burkina Faso, *Tropical medicine and International Health*. 8(2), pp 133-139
- 130. Smith AG (2000)** how toxic is DDT? *Lancet* 356: 267-268.
- 131. Snow RW and Marsh K (1995)** Will reducing Plasmodium falciparum transmission alter malaria mortality among? *Parasitol.* 11(11):188-190
- 132. Somé YSC (2010)** Modélisation de la distribution spatiale des formes moléculaires M et S d'*Anopheles gambiae* sensu stricto au Burkina Faso avec les SIG et l'analyse spatiale. [Thèse de Doctorat, thesis], Université d'Orléans. 209 pages
- 133. Souris M (2006)** Contraintes d'intégrité spatiales *Traité IGAT*, Hermès, v. Fondements des bases de données spatiales, sous la direction de Sylvie Servigne et Thérèse Libourel. p. 99-123.
- 134. Sysbase (1994)** Aide en ligne de Power AMC Designor.v.11. 425 pages
- 135. Thériault M (1995)** Système d'Information géographique, concept fondamentaux, notes de cours LATG: Québec, Université de Laval.
- 136. Tissut M (1989)** Initiation à la physiologie cellulaire des plantes. Université Joseph Fourier. 192p.
- 137. Touré YT (1988)** Les indicateurs des situations épidémiologiques: Conférence internationale sur les stratégies de lutte contre les paludismes OCCGE - Centre Muraz Bobo-Dioulasso. p. 31-35.

- 138. Tran A (2004)** Télédétection et Épidémiologie : Modélisation de la dynamique de populations d'insectes et application au contrôle de maladies à transmission vectorielle [Thèse de Doctorat, thesis], Université Louis Pasteur Strasbourg 1. 199 pages
- 139. Tran A, Biteau-Coroller F, Guis H et Roger F (2005)** Modélisation des maladies vectorielles: *Epidémiol et santé anim.* 47, 35-51.
- 140. Trape JF and Roger C (1996)** Combating malaria morbidity by reducing transmission. : *Parasitology today.* 12, 236-240.
- 141. Tucker CJ, Vanpraet CL, Sharman MJ et Van I (1985)** Satellite remote sensing of total herbaceous biomass production in the Senegalese Sahel: 1980-1984, *Remote Sens. Environ.* 17, 233-249
- 142. Vallée J, Souris M, Fournet F, Bochaton A, Mobillion V, Peyronnie K and Salem, G (2007)** Sampling in health geography: reconciling geographical objectives and probabilistic methods. An example of a health survey in Vientiane (Lao PDR): *Emerging Themes in Epidemiology*, v. 4:6.
- 143. Vercruysse J et Jancloes M (1981)** Etude entomologique de la transmission du paludisme dans la zone urbaine de Pikine (Sénégal). *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie Médicale et Parasitologie* 19(3), 165-178.
- 144. Wernsdorfer WH (1991)** The development and Spread of drug resistant malaria: *Parasitology Today*, v. 7, p. 297-303.
- 145. White GB (1974)** *Anopheles gambiae* complex and disease transmission in Africa: *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and hygiene*, v. 68, p. 278-301.
- 146. White GB and Rosen P (1973)** Comparative studies on sibling species of the *Anopheles gambiae* Giles complex (Diptera, Culicidae). II. Ecology of species A and B in savanna around Kaduna, Nigeria, during transition from wet to dry season. : *Bull. Ent. Res.*, v. 62, p. 613-625.
- 147. World Health Organization (2000)** WHO Expert committee on malaria. Twentieth report. Geneva :WHO, 892 p.
- 148. World Health Organization (1998)** The world health report – Life in the 21st century : a vision for all. Geneva : WHO, 90-104.
- 149. Yadouléton TA (2011)** Développement de la résistance d'*Anopheles gambiae* aux pyréthrinoïdes au Bénin: facteurs favorisants, mécanismes et impacts sur la

transmission du paludisme. [Thèse de Doctorat, thesis], Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 110 pages.

150. YÉ Y (2005) Incorporating environmental factors in modelling malaria transmission in under five children in Rural Burkina Faso: Doctor scientiarum humanarum, Ruprecht-Karls-University Heidelberg, p. 170.

151. Zaninetti JM (2006) Ségrégation raciale, pauvreté et vulnérabilité aux catastrophes naturelles : Le cas de la Nouvelle Orléans. *Revue de géographie du Cameroun*, volume double XVII n°2, 2005, XVIII n° 1, 2006, p. 73 –76.

SITES INTERNET

- 1.<http://www.musicme.com/Moustique/biographie/ biographie de Moustique>
- 2.http://www.scienceshumaines.com/-0ales-sciences-humaines-et-la-sante-0a_fr_13795.html
- 3.<http://www.csiss.org/classics/content/106>
- 4.http://fr.wikipedia.org/wiki/John_Snow
- 5.<http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=16594466>
- 6.<http://www.techno-science.net/?onglet=glossaire&definition=2569>
- 7.<http://www.idrc.org/uploads/user>
- 8.http://fr.wikipedia.org/wiki/Syst%C3%A8me_d%27information_g%C3%A9ographique
- 9.http://www.th.ird.fr/publications/publications_auteurs_souris.html
- 10.<http://www.infoinsectes.ca/bug/biting/3.aspx>
- 11.<http://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9ographie>
- 12.http://www.ask.com/web?qsrc=2417&o=10148&l=dis&locale=fr_BJ&tpr=2&q=Tucker+et+al%2C+1985
- 13.<http://ciesin.columbia.edu/docs/005-391/005-391.html>
- 14.<http://geo.arc.nasa.gov/sge/health/landepi.html>
- 15.http://www.asprs.org/a/publications/pers/2002journal/february/2002_feb_137-145.pdf
- 16.<http://www.cgd.ucar.edu/vemap/ndvi.html>
- 17.<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/aj215e/aj215e00.pdf>

Tous les liens ont été contrôlés actif pour la dernière fois le 25 mars 2013

ANNEXES

ANNEXE 1 : Fiche d'identification des gîtes larvaires de moustiques dans la Zone Sanitaire Ouidah- Kpomassè- Tori Bossito.

I-Identification de l'habitation.

Case (N° d'habitation) :
Hameau :
Village :
Arrondissement :
Commune :

II- Caractéristiques de l'habitation (case).

1-Type de case (case à plusieurs pièces, case isolée, villa moderne...etc.) :
2-Murs de l'habitation (tôle, brique simple, terre battue, planche, banco, bambou...etc.) :
3-Statut d'occupation (propriétaire, locataire, hébergé gratuitement, autres).....
4-Mode d'aisance (dans la nature, latrine publique, fosse septique, autre.).....
5-Mode d'éclairage (SBEE, huile de palme, pétrole lampant, groupe électrogène, autres).
6-Mode d'approvisionnement en eau(AEV, SONEB, forage payant, forage non payant, puits, citerne, rivière/lac/marigot, autres).....
7-Mode de conservation de l'eau(plastique, jarre, autres).....
8-Equipement (radio, radio cassette, télévision, ventilateur, cuisinière,..)

III- Données socio-culturelles.

Taille démographique :
Effectif féminin.....
Effectif masculin.....
Nombre de pièces dans la case.....
Ethnie :
Religion :

IV- Identification du gîte

Rec.....

Date

Typologie	Nbre	Nature(An,cx, Ae, Man)	Caractéristique Permanent ou non	Densité larvaire	Salinité	pH	Lat	Long
Puisard								
Jarre								
Bas-fond								
Marais								
Usine de Production d'alcool								
Caniveau								
Dépression de la voie								
Bassin								
Autre								

ANNEXE 2 : Fiche synthèse moustique adulte par village

Code du village																				
Nuits de captures	1ère nuit								2ième nuit								TOTAUX			
Espèces	Intérieur				Extérieur				Intérieur				Extérieur							
	Pt1	Pt2	Pt3	Pt4	Pt1	Pt2	Pt3	Pt4	Pt1	Pt2	Pt3	Pt4	Pt1	Pt2	Pt3	Pt4	Intérieur	Extérieur	Int+Ext	
<i>Anopheles gambiae</i>																				
<i>Anopheles funestus</i>																				
<i>Anopheles nili</i>																				
<i>Anopheles pharoensis</i>																				
<i>Anopheles ziemanni</i>																				
<i>Anopheles broheri</i>																				
<i>Anopheles coustani</i>																				
Autres <i>Anopheles</i>																				
<i>Aedes aegypti</i>																				
<i>Aedes vittatus</i>																				
<i>Aedes luteocephalus</i>																				
<i>Aedes gr. palpalis</i>																				
<i>Aedes gr. tarsalis</i>																				
Autres <i>Aedes</i>																				
<i>Culex quinquefasciatus</i>																				
<i>Culex gr decens</i>																				
<i>Culex nebulosus</i>																				
<i>Culex tigripes</i>																				
<i>Culex annulioris</i>																				
Autres <i>Culex</i>																				
<i>Mansonia africana</i>																				
<i>Mansonia uniformis</i>																				
<i>Ereemapodites gr. quinquevittatus</i>																				
TOTAL																				

ANNEXE 3 : *Evaluation des modèles.*

L'analyse de la contribution globale puis individuelle des variables et celle des coefficients permettent d'apprécier la qualité de l'information par rapport au modèle. L'évaluation du modèle aide à apprécier sa compatibilité avec la réalité du terrain. Cette évaluation va se faire à partir du test de la normalité des résidus et le test d'homogénéité des variances. L'évaluation par le test de normalité des résidus est une évaluation statistique. La validité d'un modèle linéaire suppose au plan statistique que les résidus suivent une loi normale et une égalité des variances. Le seuil de confiance retenu est de 95%.

❖ Test de normalité des résidus et d'homogénéité des variances pour *An. funestus*

La figure 1 montre le test de normalité des résidus. On constate que la probabilité liée à ce test est supérieure à 0,1 (Prob.>0,05) ce qui signifie que les résidus sont normaux. Par ailleurs, le test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN (tableau I) indique une probabilité égale à 0,98 (Prob.>0,05) ce qui signifie l'égalité des variances. En conclusion le modèle est validé.

Tableau I : Résultat du test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN pour *An. funestus*

Row	Ch2	Prob
1	0,7	0,98

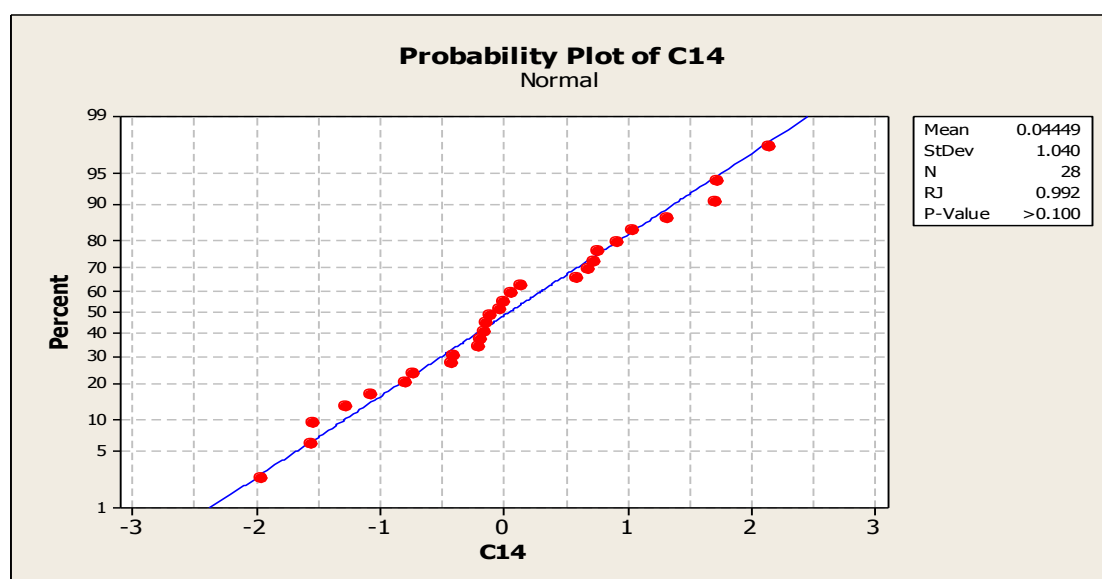


Figure 1: Graphe montrant le test de normalité des résidus pour *An. funestus*.

❖ **Test de normalité des résidus et d'homogénéité des variances pour *An. gambiae***

La figure 2 montre le test de normalité des résidus pour *An. gambiae*. On constate que la probabilité liée à ce test est supérieure à 0,1 (Prob.>0,05) ce qui signifie que les résidus sont normaux. Par ailleurs, le test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN (tableau II) indique une probabilité égale à 0,78 (Prob.>0,05) ce qui signifie l'égalité des variances. En conclusion le modèle est validé.

Tableau II: Résultat du test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN pour *An. gambiae*

Row	Ch2	Prob
1	0,49	0,98

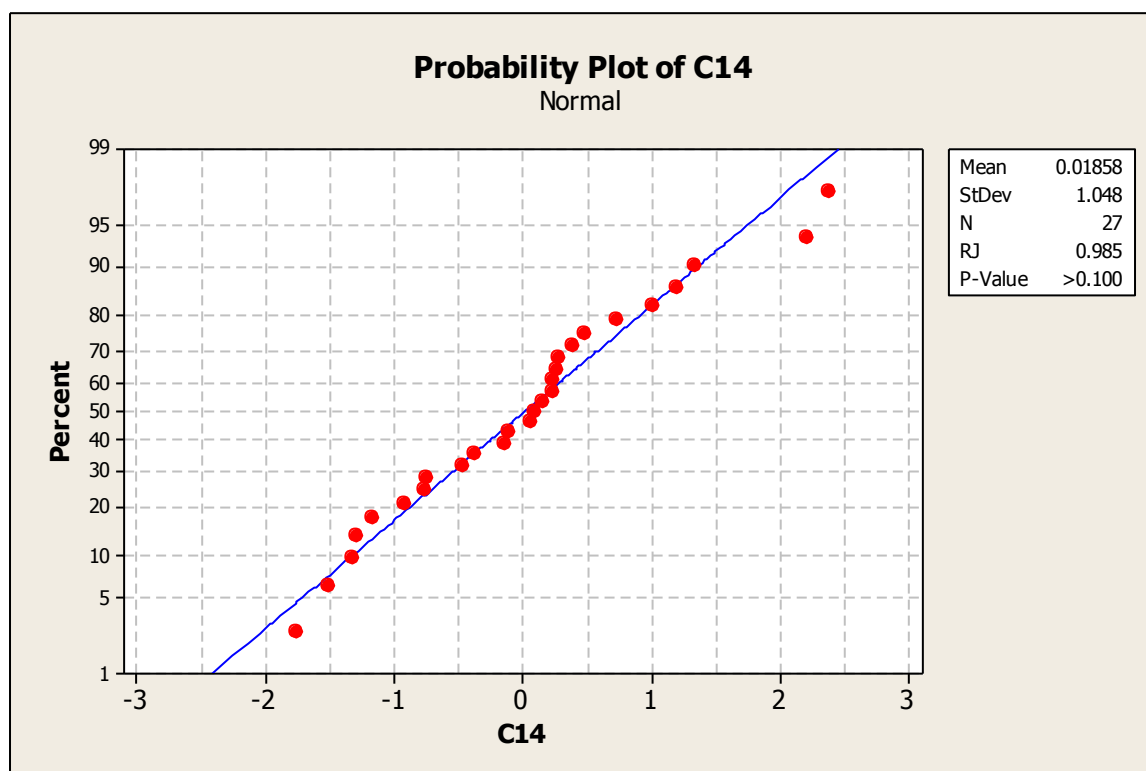


Figure 2: Graphe montrant le test de normalité des résidus pour *An. gambiae*.

❖ **Test de normalité des résidus et d'homogénéité des variances pour *Cx. quinquefasciatus***

La figure 3 montre le test de normalité des résidus pour *Cx. quinquefasciatus*. On constate que la probabilité liée à ce test est supérieure à 0,07 (Prob.>0,05) ce qui signifie que les résidus sont normaux. Par ailleurs, le test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN (tableau III) indique une probabilité égale à 0,90 (Prob.>0,05) ce qui signifie l'égalité des variances. En conclusion le modèle est validé.

Tableau III: Résultat du test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN pour *Cx. quinquefasciatus*

Row	Ch2	Prob
1	0,58	0,90

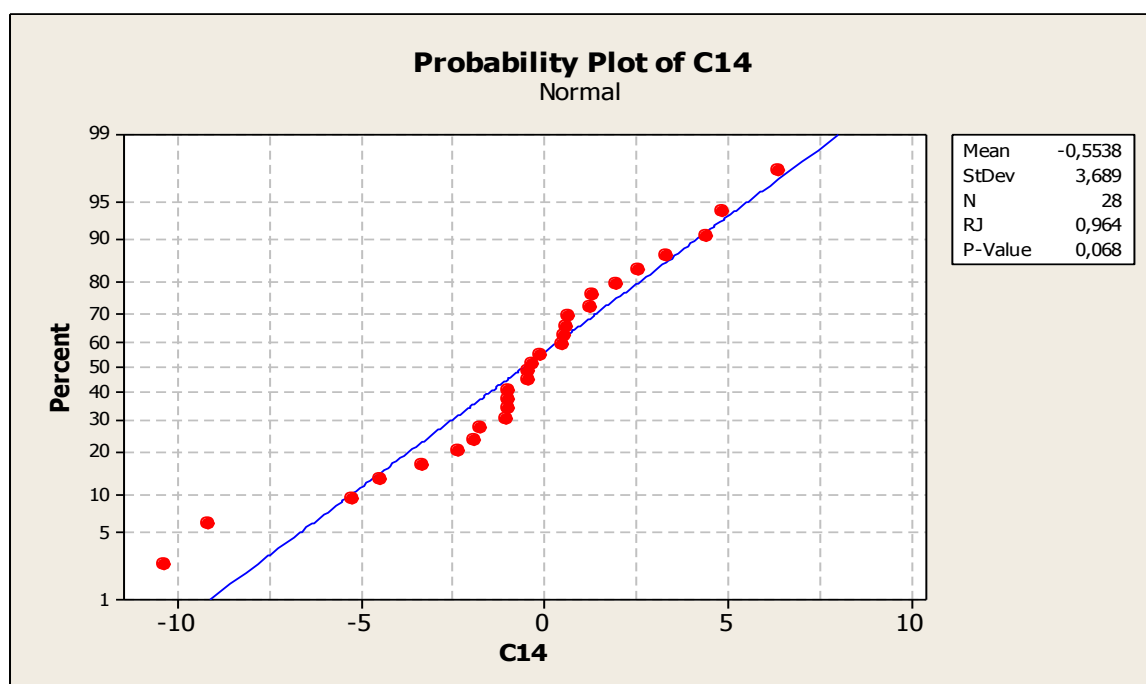


Figure 3: Graphe montrant le test de normalité des résidus pour *Cx. quinquefasciatus*

❖ **Test de normalité des résidus et d'homogénéité des variances pour *Ae. aegypti***

La figure ci-dessous montre le test de normalité des résidus. On constate que la probabilité liée à ce test est inférieure à 0,1 (Prob.>0,05) ce qui signifie que les résidus sont normaux. Par ailleurs, le test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN (tableau IV) indique une probabilité égale à 0,99 (Prob.>0,05) ce qui signifie l'égalité des variances. En conclusion le modèle est validé.

Tableau IV: Résultat du test d'homogénéité des variances de BREUSH-PAGAN pour *Ae. aegypti*

Row	Ch2	Prob
1	0,14	0,99

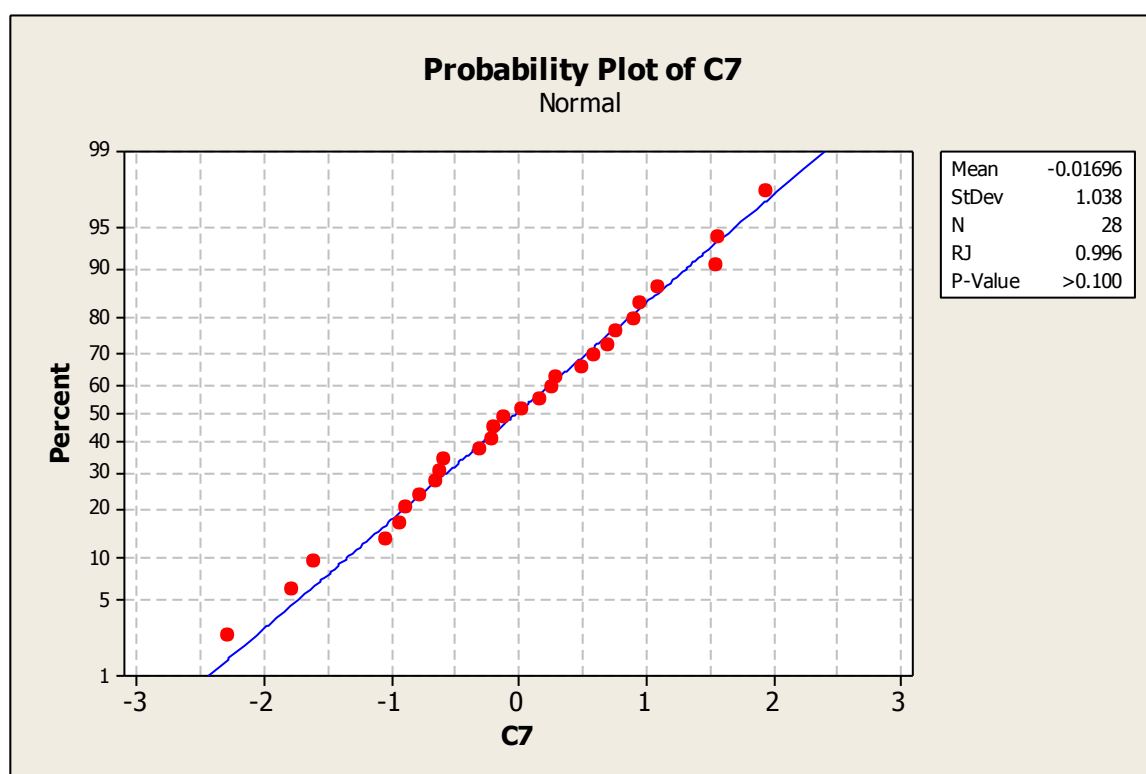


Figure 4: Graphe montrant le test de normalité des résidus pour *Ae. aegypti*

TABLE DES MATIERES	PAGES
SOMMAIRE	2
LISTE DES ABREVIATIONS	3
LISTE DES FIGURES	5
LISTE DES PHOTOS	8
LISTE DES TABLEAUX	9
RESUME	10
ABSTRACT	11
DEDICACE	12
REMERCIEMENTS	13
INTRODUCTION GENERALE	15
1. Contexte et justification	15
2. Enoncé du sujet	20
3. Les objectifs de la recherche	21
3.1 Objectif général	21
3.2 Objectifs spécifiques	21
4. Les hypothèses	21
5. Approche méthodologique	22
6. Plan de thèse	22
PREMIERE PARTIE: CADRAGE THEMATIQUE, DEMARCHE SCIENTIFIQUE ET METHODE	24
CHAPITRE I : ETAT DE LA QUESTION, DEFINITION DU CHAMP CONCEPTUEL ET POSITIONNEMENT SCIENTIFIQUE	25
1.1. Géographie et étude des relations entre environnement et santé	25
1.1.1 Géographie et lutte contre les maladies	27
1.1.1.1 L'objet de la géographie : l'espace	27
1.1.1.2 Relation entre espace et lutte contre les maladies	28
1.1.2 Contribution de la géographie à la lutte contre les maladies	29
1.1.2.1 L'espace dans l'analyse géographique	29
1.1.2.2 Analyse spatiale et analyse des problèmes de santé	30
1.1.2.3 Techniques géographiques et étude des problèmes de santé	32
<i>L'outil cartographique</i>	32
<i>L'outil, système d'information géographique (SIG)</i>	33

<i>La télédétection</i>	34
1.2. Champ conceptuel et positionnement scientifique	36
1.2.1 Modélisation : Définition et type	37
1.2.2 L'analyse spatiale et temporelle	39
1.2.3 Le système d'information géographique (SIG)	40
1.2.4 Paradigme biogéographique	40
1.2.4.1 Paradigme biogéographique et conceptualisation de la modélisation de la distribution spatiale	41
1.2.4.2 Les indicateurs retenus pour la vérification des hypothèses de recherche	41
1.2.5 Clarification des concepts	43
CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES MOUSTIQUES ET LES MALADIES VECTORIELLES	46
2.1 Les maladies vectorielles transmises par les moustiques	46
2.1.1 Le paludisme dans le monde et au Bénin	47
2.1.2 Le cycle de transmission du paludisme	48
2.2 Caractères distinctifs entre les différents genres de moustiques et autres insectes	50
2.2.1 Caractères distinctifs entre les moustiques et autres insectes	50
<i>Distinction adultes de moustiques /adultes d'autres insectes</i>	50
<i>Distinction œufs des moustiques /œufs des autres insectes</i>	50
<i>Distinction larves de moustiques /larves des autres insectes</i>	50
<i>Distinction nymphes des moustiques /nymphes des autres insectes</i>	50
2.2.2 Caractères distinctifs entre les différents genres de moustiques	50
<i>Distinction œufs d'anophèles/ œufs de culicins</i>	50
<i>Distinction larves d'anophèles / Larves de culicins</i>	51
<i>Distinction nymphes des anophèles/ Nymphes des culicins</i>	51
<i>Distinctions anophèles adultes / Culicins adultes</i>	51
2.3 Bio-écologie des moustiques	52
2.3.1 La position zoologique	52
2.3.2 Le cycle de développement des Anopheles	52
2.3.2.1 La phase de vie aquatique	53
2.3.3.2 La phase de vie aérienne	53

2.3.3 L'écologie des adultes	55
2.3.4 L'écologie des larves (stades pré-imaginaux) : caractéristiques des habitats larvaires	56
2.3.5 L'environnement des moustiques	58
CHAPITRE III : ZONE D'ETUDE ET APPROCHE METHODOLOGIQUE	60
3.1 Présentation de la zone d'étude	60
3.1.1 La population et l'habitat	61
3.1.2 Le relief	62
2.1.3 Les sols	63
.2.1.4 Le climat	64
2.1.5 L'hydrographie	66
2.1.6 La végétation	68
3.2 Univers des variables	69
3.3 Données collectées	70
3.4 Méthodes d'échantillonnages des hameaux d'intervention	73
3.5 Techniques et outils de collecte des données	74
3.5.1. Techniques et outils de collecte des données entomologiques	75
3.5.1.1 Prospection larvaire	75
3.5.1.2 Capture de moustiques anthropophiles	75
3.5.1.3 Identification des moustiques anthropophiles	75
3.5.1.4 Outils de collecte des données entomologiques	75
3.5.2. Techniques et outils de collecte des données climatologiques	75
3.5. 3. Techniques et outils de collecte des données géographiques	76
3.5. 4. Techniques et outils de collecte des données biotiques	76
3.6 Evaluation de la qualité des données	76
3.6.1 Le terrain nominal	76
3.6.2 Appréciation de la qualité des données	77
3.7 Traitement des données	79
3.7.1 Matériels et logiciel de traitement des données	79
3.7.2 Traitement statistique des données entomologiques	80
3.7.3 Traitement des données éco géographiques	81
3.7.3.1 Interpolation des données	81
3.7.3.2 Estimation des données	91

3.7.3.3 Les données classifiées	93
3.8 Evaluation des modèles de régression linéaire avec la transformation de Box-Cox	93
CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE	94
DEUXIEME PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSION	95
CHAPITRE IV: CARACTERISATION DE LA FAUNE CULICIDIENNE ET REPARTITION DES VECTEURS	97
4.1 Caractérisation de la faune culicidienne	97
4.1.1 Caractérisation de la faune imaginale	97
4.1.1.1 Inventaire des moustiques	97
4.1.1.2 L'abondance relative	97
4.1.1.3 Répartition spatiale de la fréquence relative, richesse spécifique, indice de diversité et indice d'équirépartition	98
4.1.2 Caractérisation de la faune larvaire	101
4.1.2.1 Statistiques générales sur les gîtes larvaires	101
4.1.2.2 Statistiques sur la durée de la mise en eau des gîtes larvaires	101
4.1.2.3 Préférences écologiques des larves de moustique en fonction de la durée de mise en eau et typologie des leurs gîtes	102
4.1.2.4 Dynamique des gîtes larvaires	107
4.2 Répartition spatio temporelle des moustiques vecteurs de maladies	108
4.2.1 Statistiques générales sur les moustiques vecteurs	109
4.2.2 La dynamique temporelle des moustiques vecteurs	110
4.2.3 Répartition spatiale des moustiques vecteurs	111
4.2.3.1 La répartition spatiale d' <i>Anopheles gambiae</i>	111
4.2.3.2 La répartition spatiale d' <i>Anopheles funestus</i>	112
4.2.3.3 La répartition spatiale de <i>Culex quinquefasciatus</i>	114
4.2.3.4 La répartition spatiale d' <i>Aedes aegypti</i>	114
CHAPITRE V : PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX ET REPARTITION SPATIALE DES MOUSTIQUES VECTEURS DE MALADIES: UNE RELATION A FORMALISER	119
5.1 L'analyse en composante principale (ACP)	119
5.1.1 Caractérisation des données et paramètres de l'analyse	119

5.1.2 Analyse des coordonnées des variables environnementaux	121
5.1.3 Analyse de la qualité de la représentation des variables par rapport aux différents axes factoriels	122
5.2. Configuration de la régression et description des données	124
5.3 Résultats de la régression	126
5.3.1 Modèle de distribution spatiale de <i>An. funestus</i>	126
5.3.2 Modèle de distribution spatiale de <i>An. gambiae</i>	128
5.3.3 Modèle de distribution spatiale de <i>Cx. quinquefasciatus</i>	129
5.3.4 Modèle de distribution spatiale de <i>Ae. aegypti</i>	130
5.4 Expression cartographique des équations	132
5.5 Confrontation de l'incidence palustre à <i>Plasmodium falciparum</i> à la vérité du terrain	136
CONCLUSION DES CHAPITRES IV et V	137
CHAPITRE VI : DISCUSSIONS- CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	139
6.1 DISCUSSION	139
6.2 CONCLUSION GENERALE	149
6.3 SUGGESTIONS	150
BIBLIOGRAPHIE	153
ANNEXES	166
TABLE DES MATIERES	174

Liste des Publications

PUBLICATIONS

01. Sahabi Bio-Bangana, Christophe Houssou, Razaki Ossé, Patrick Edorh, Luc Djogbénou, Claude C.A. Ahouangninou, Michel Boko, Martin Akogbéto (2012). Characterization of mosquito fauna in the sanitary district Ouidah-Kpomasse-Tori Bossito in Benin. **International Journal of Biosciences (IJB)**. ISSN: 2220-6655 (Print) 2222-5234 (Online). Vol. 2, No. 5, p. 31-39, 2012
<http://www.wiloludjournal.com/ojs/index.php/cjsd>

02. Sahabi Bio-Bangana, Michel Boko, Patrick Edorh, Luc Djogbénou, Claude C.A. Ahouangninou, Olayidé Boussari, Christophe Houssou, Martin Akogbéto (2012). Impact of water provision from the marhes on the culicidae proliferation in Tori-Bossito, Benin Republic. **Continental J. of Sustainable Development** 3 (1):39-46. ISSN: 2251 - 0486. <http://www.wiloludjournal.com/ojs/index.php/cjsd>

03. Armel Djènontin, Sahabi Bio-Bangana, Nicolas Moiroux, Marie-Claire Henry, Olayidé Bousari, Joseph Chabi, Razaki Ossé, Sébastien Koudénoukpo, Vincent Corbel, Martin Akogbéto, Fabrice Chandre (2012): Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study **Parasites & Vectors** 09/2010; 3(1):83. DOI: 10.1186/1756-3305-3-83.
<http://www.parasitesandvectors.com/content/3/1/83>

04. Luc Djogbénou, Nicole Pasteur, Sahabi Bio-Bangana, Thierry Baldeta, Seth R. Irish, Martin Akogbeto, Mylène Weill, Fabrice Chandre (2010). Malaria vectors in the Republic of Benin: Distribution of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex. **Acta tropica** 02/2010; 114(2):116-22.
DOI:10.1016/j.actatropica.2010.02.001 ·
<http://www.researchgate.net/publication/41413332>

05. Vincent Corbel, Martin Akogbeto, Georgia B Damien, Armel Djenontin, Fabrice Chandre, Christophe Rogier, Nicolas Moiroux, Joseph Chabi, **Bio Banganna**, Gil G Padonou, Marie-Claire Henry (2012): Combination of malaria vector control interventions in pyrethroid resistance area in Benin: a cluster randomized controlled trial. **The Lancet Infectious Diseases** 06/2012; 12(8):617-26. DOI: 10.1016/S1473-3099(12)70081-6.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70081-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70081-6)

06. Olayide Boussari, Nicolas Moiroux, Jean Iwaz, Armel Djenontin, **Sahabi Bio-Bangana**, Vincent Corbel, Noe Fonton, Rene Ecochard (2012). Use of a Mixture Statistical Model in Studying Malaria Vectors Density. **PLOS ONE** 11/2012; 7(11):e50452. DOI:10.1371/journal.pone.0050452. PLOS ONE | www.plosone.org

07. Angès W Yadouleton · Gil Padonou · Alex Asidi · Nicolas Moiroux · **Sahabi Bio-Bangana** · Vincent Corbel · Raphael N'guessan · Dina Gbenou · Imorou Yacoubou · Kinde Gazard · Martin C Akogbeto (2010). Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin. *Malar J* 9:83 **Malaria Journal** 03/2010; 9(1):83. DOI: 10.1186/1475-2875-9-83.
<http://www.researchgate.net/publication/42540831>

08. Georgia B Damien, Armel Djènontin, Christophe Rogier, Vincent Corbel, **Sahabi B Bangana**, Fabrice Chandre, Martin Akogbéto, Dorotheé Kindé-Gazard, Achille Massougbodji, Marie-Claire Henry (2010). Malaria infection and disease in an area with pyrethroid-resistant vectors in southern Benin. **Malaria Journal** 2010, 9:380.
<http://www.malariajournal.com/content/9/1/380>

09. Claude Ahouangninou, Thibaud Martin, Patrick Edorh, **Sahabi Bio-Bangana**, Onil Samuel, Louis St-Laurent, Sylvain Dion, Benjamin Fayomi (2012). Characterization of Health and Environmental Risks of Pesticide Use in Market-Gardening in the Rural City of Tori-Bossito in Benin, West Africa. **Journal of Environmental Protection**, 2012, 3, 241-248. doi:10.4236/jep.2012.33030.
<http://www.SciRP.org/journal/jep>

10. G. G. Padonou, M. Sezonlin, G. L. Gbedjissi, I. Ayi, R. Azondekon, A. Djenontin, S. Bio-Bangana, O. Oussou, A. Yadouleton, D. Boakye and M. Akogbeto (2011). Biology of *Anopheles gambiae* and insecticide resistance: Entomological study for a large scale of indoor residual spraying in South East Benin. **Journal of Parasitology and Vector Biology** Vol. 3(4), pp. 59-68, <http://www.academicjournals.org/JPVB> . ISSN 2141-2510 ©2011 Academic Journals

Présentation des Publications



Characterization of mosquito fauna in the sanitary district Ouidah-Kpomasse-Tori Bossito in Benin

Sahabi Bio-Bangana^{1,2*}, Christophe Houssou³, Razaki Ossé¹, Patrick Edorh², Luc Djogbénou¹, Claude C.A. Ahouangninou¹, Michel Boko^{2,3}, Martin Akogbéto¹

¹*Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, 06 BP 2604 Cotonou Rép. du Bénin. Téléphone (229) 21330825*

²*Centre Interfacultaire de Formation et de Recherche en Environnement pour le Développement Durable. 03 BP 1463 Jéricho-03 Rép. du Bénin. Téléphone (229) 97 08 11 06 Télécopie (229) 21305550*

³*Laboratoire Pierre PAGNEY "Climat, Eau, Ecosystème et Développement" (Laceede) 03 BP 1122 Jéricho Cotonou Rép. du Bénin*

Received: 29 March 2012

Revised: 16 May 2012

Accepted: 17 May 2012

Key words: Culicidienne fauna, specific richness, abundance, diversity and equal distribution.

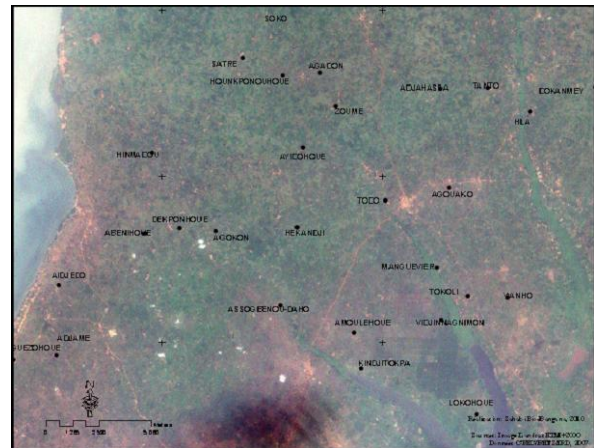
Abstract

The characterization of culicid fauna in 28 villages of the health district Ouidah Kpomassè and Tori-Bossito was carried out during five months (October and December 2007, January, March and May 2008). Adults mosquitoes were collected by human landing caught from 22:00 PM to 06:00 AM. 44693 adult mosquitoes were caught. 29 species were identified in the 28 hamlets by taxonomic studies. The specific richness varies between 8 species (Agokon) and 19 species (Agadon), while abundance vary between 688 individuals (Hèkandji) and 4577 individuals (Kindjitokpa). Five species are common on the whole of the 28 sites: *Aedes aegypti*, *Culex annulioris*, *Culex gr. decens*, *Culex quinquefasciatus* and *Mansonia africana*. The maximal index of equitability was 0, 47 in Dokanmey showing a large spatial heterogeneity in the 28 localities. The differences noted between the 28 communities would be related to differences in the biotic and abiotic conditions in the area.

*Corresponding Author: Sahabi Bio-Bangana ✉ biobanganaa@yahoo.fr

In the district of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito (OKT) in Benin, there is no recent data on biogeography of mosquitoes since these insects are the vectors of many diseases such as malaria which kills every 30 seconds a child in Africa and which represent in Benin the main cause of morbidity and hospitalization of children less than 5 years (Kindé, 2011). Due to the consequence of malaria and filarioses disease, many strategies are developed and implemented against vectors to better control these diseases. However, based on the plasticity of the genome of the mosquitoes and their capacity to adapt to the several modifications of their environment resistance to one or more insecticides has been reported in several species of the *Anopheles gambiae* complex, the main malaria vector in these regions (OMS, 2006) and this may impair vector control strategies. This situation is occurring in the district Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, where the

Rural character of this area in addition to the abundance of many dregs, made of this medium a framework favourable to the development of Anophelinae, Culicinae and Aedinae. In addition, the aspect of the dwellings and the worship lifestyle of the population could support the development of the mosquitoes.



Many entomological studies were carried out these last years by the Entomological Research centre of Cotonou, for the majority in little before prospected areas or not, in particular the area of Grand Popo, Malanville and Ketonou, within the framework of epidemiological studies on malaria and the filarioses (Djènontin, 2009). Within the framework of the Research project in Entomology, Formation and Strategies of preventions (REFS), entomological and epidemiologic studies were led in 28 hamlets of the health district Ouidah- Kpomassè- Tori Bossito from October to December 2007 and January to May 2008.

Within the framework of this project, it is question of using the indices of diversity, abundance and the equal distribution with other parameters to gather the 28 hamlets in 4 categories of 07 hamlets. Each category will receive a specific intervention to create anthropic disturbances being able to lead to the fall of specific

diversity and the abundance of the mosquitoes with an ultimate aim of carrying out interventions targeted against the vectorial diseases.

Materials and methods

Site of study

The present study was done from October 2007 to May 2008 in the district of Ouidah-Kpomassè and Tori Bossito (3°87' N and 11°52' E), located at the south-west of Benin (Map 1). This area is largely cleared and the original Equatorial forest does not exist anymore but in small islands of negligible extension. Currently, the vegetation is characterized by a shrubby bush, associated with more or less dense settlements of palm trees with oil, which one finds on the plates either in a natural state, or in industrial plantations (District of Gakpé). However, one can distinguish a certain number of quite distinct vegetable formations: coconuts; a bush pre-littoral consisted of tufts of rhizophora on the current cord which finishes with the coastal lagoon; the marshy savanna more or less formed of loudetia and various cyperaceous in the low area; the shrubby thicket with prevalence of *Eleasis guineensis*; classified plantations and forests. Apart from the hydromorphe grounds located in bottoms marshy dregs, the health district of Ouidah-Kpomassè and Tori Bossito is dominated by the ferralitics grounds. The hydrographic network is dense, made of many marshy dregs and river among which the Toho lake, the Couffo river which is thrown in the Aheme lake. The health district of Ouidah-Kpomassè and Tori Bossito belongs to the subequatorial field and its climate of the subequatorial type, shows two seasons of rains (September-November and March-June) which alternate with two dry seasons (February-December and July-August). This climate is characterized by the abundance of the rains (1200 mm/year); such precipitations are very favourable to the existence of mosquitoes. They indeed represent the independent factor of immersion of the breeding sites with mosquitoes and they are mainly responsible for the main part of the surfaces of hatching (Kermogant,

1906). An annual average temperature contrasted between 27 and 31°C according to the seasons and annual thermal amplitude of 3, 5°C.

Sampling of the hamlets.

The hamlets of intervention were selected from March to June 2007, following a census of 850 hamlets covering the whole area of Ouidah-Kpomassè and Tori Bossito. These hamlets were selected according to well defined criteria (hamlet not having health centre, population considered ranging between 350 at 400 inhabitants, variation of at least 2 km between two hamlets, grouped dwellings and geographically accessible).

Larval prospection

Every 6 weeks, a larval prospection campaign was organized in a radius of 500 meters of each of the 28 hamlets of studies. The larval density of each breeding sites was measured using Bruce-Chwatt (1985) method.

Capture and Identification of anthropophiles mosquitoes

Research method consists in mosquito capturing during the months of October 2007, December 2007 and January 2008 on voluntary individuals using Human Landing Catch (HLC). Adults mosquitoes were collected during 2 nights consecutive in each of the 28 selected hamlets. The collection of the mosquitoes was made by waked up volunteers placed outside and inside 4 dwellings chosen by hamlet from 22:00 to 6:00 of following day (Djènonin and Al, 2010). The captured mosquitoes were identified by using the taxonomic key of determination of Gilles & De Meillon (1968) and Gilles & Coetzee (1987).

Data analysis

The simplest index to measure the biodiversity is the number S of categories decreases by 01 so that a collection including/understanding only one category

has a null biodiversity. This index is written: $Hr = S - 1$ and is called richness (Pavoine, 2005).

The relative abundance $P_k = \frac{nk}{N}$ or (nk = effectif of the species of row k, N = total effectif) of each species as defined by Barbault (1992) was calculated; The index of diversity of Gini Simpson:

$$H_{G-S}(p) = 1 - \sum_{k=1}^S p_k^2.$$

allowed us to express the diversity (Simpson, 1949).

The equitability $Es = Is - \frac{1}{(S-1)}$ enabled us to

define the equal distribution of effectives between the present species. Just like the index of diversity of Gini Simpson, Es lies between 0 and 1 (Barbault, 1992). Software PASW version 18.0 enabled us to test with the test of correlation of Pearson the relations between precipitations and the number of adults of mosquitoes on one hand and the relations between the number of adults and the number of larval breeding sites on the other hand.

Results

Specific richness of culicidienne in the health district of Ouidah, Kpomasse and Tori-Bossito

From October 2007 to May 2008, we recorded 29 species of Culicidae in the 28 hamlets (Table 1). All species belong to two sub families (Culicinae and Anophelinae) and to seven genus (Aedes, Anopheles, Coquillettia, Culex, Eremapodites, Mansonia and Uranotenia). The sub family of Culicinae (22 species) is approximately three times richer in species than that of Anophelinae (7 species). The Culex genus is richer in species (11 species) than the Anopheles genus (7 species); Aedes (6 species); Mansonia (2 species); Coquillettia (1 specie); Eremapodites (1 specie) and Uranotenia (1 specie) (Table 1). From these species of mosquitoes, 05 (belonging to the subfamily of Culicinae) were captured in all 28 hamlets. It is about:

Aedes aegypti, *Culex annulioris*, *Culex gr. decens*, *Culex quinquefasciatus* and *Mansonia africana*.

Evolution of the specific richness according to the biotope

The specific richness or number of species varies from one village to another. The strongest specific richness was recorded in Agadon (19 species) follow-up of: Hla (18 species); Adjahassa and Soko (17 species) follow-up of Manguévier (16 species); Satré and Wanho (15 species); Agouako, Ayidohoué, Kindjitokpa, Guézohoué, Hounkponouhoué and Tanto (14 species); Adjamè and Dokanmey (13 species); Zoumè, Assogbénou Daho, Hélandji and Hinmadou (12 species); Aidjèdo, Amouléhoué, Abénihoué, Dékponhoué, Lokohoué and Tokoli (11 species). The lowest specific richness were observed in Tokoli Vidjinnagnimon (10 species); Agokon and Todo (8 species). This variation of the richness in the 28 hamlets would be related to the diversity of the larval breeding sites in the area.

Relative abundance of culicidienne fauna in the health district of Ouidah, Kpomasse and Tori-Bossito

During the study, 44693 mosquitoes were captured. The Culex and the mansonia represent the abundant genus (49. 29% of Culex and 44. 87% of mansonia of the whole of the captured mosquitoes), Aedes and Anopheles are minority (3. 25% for Aedes and 2. 55% for Anopheles). The genus Coquillettia (0. 01%), Eremapodites (0. 01%) and Uranotenia (0. 00%) are the genus the least met in the area. The relative abundance of culicidienne fauna by species arise as follows: *Ae. aegypti* Linné (1.58%), *Aedes gr. Palpalis* (0.09%), *Aedes gr. Tarsalis* (0.02%), *Aedes luteocephalus* (0.14%), *Aedes sp* (0.09%), *Aedes vittatus* (1.33%), *Anopheles brohieri* (0.002%), *Anopheles coustani* (0.02%), *Anopheles funestus* Gilles (1.30%), *Anopheles gambiae* Gilles (0.72%), *Anopheles nili* Théobald (0.004%), *Anopheles pharoensis* (0.44%), *Anopheles ziemannii* Gruenberg (0.07%), *Culex annulioris* (1.37%), *Culex gr. decens* (29.91%),

Culex nebulosis (6.22%), *Culex quinquefasciatus* (9.81%), *Culex tigripes* Charmoy (0.12%), *Cx sp* (0.06%), *Cx thalassius* (0.06%), *Culex duttoni* Théobald (0.12%), *Culex poicilipes* Théobald (0.04%), *Culex perfuscus* Edwards (0.004%), *Culex fatigans* (1.58%), *Eremapodites gr. Quinquevittatus* (0.01%), *Mansonia africana* (44.84%), *Mansonia uniformis*

(0.02%), *Coquilletidia aurites* (0.01%) and *Uranotenia gr. billinéata* (0.002%).

Evolution of the relative abundance of culicidienne fauna according to the biotope

Table 1. Distribution of mosquitoes abundance, Specific richness, Simpson Indice of diversity and Equal distribution Indice in the health district Ouidah Kpomassè and Tori Bossito from October 2007 to May 2008.

Hamlet	Abundance	Relative abundance	Specific richness	Simpson Indice of diversity	Equal distribution Indice
ADJAME	2446	5.5%	13	0.44	0.36
AGOUAKO	471	1.1%	14	0.53	0.45
AIDJEDO	1471	3.3%	11	0.52	0.42
AMOULEHOUE	3059	6.8%	11	0.53	0.43
ASSOGBENOU	1675	3.7%	12	0.52	0.42
AYIDOHOU	813	1.8%	14	0.47	0.39
ADJAHASSA	1286	2.9%	17	0.49	0.43
DOKANMEY	786	1.8%	13	0.56	0.47
KINDJITOKPA	4577	10.2%	14	0.35	0.28
VIDJINNAGNIMON	2320	5.2%	10	0.55	0.44
GUEZOHOU	1718	3.8%	14	0.38	0.30
HEKANDJI	688	1.5%	12	0.35	0.26
HINMADOU	3282	7.3%	12	0.33	0.24
HLA	2290	5.1%	18	0.24	0.18
AGOKON	795	1.8%	8	0.48	0.33
HOUNKPOUHOUE	1006	2.3%	14	0.35	0.27
ABENIHOUE	3015	6.7%	11	0.32	0.22
DEKPONHOUE	1550	3.5%	11	0.39	0.29
MANGUEVIER	2315	5.2%	16	0.21	0.14
SATRE	882	2.0%	15	0.38	0.31
SOKO	1329	3.0%	17	0.39	0.32
TANTO	975	2.2%	14	0.56	0.48
LOKOHOU	2456	5.5%	11	0.46	0.36
TODO	325	0.7%	8	0.51	0.37
TOKOLI	658	1.5%	11	0.46	0.36
WANHO	890	2.0%	15	0.46	0.39
AGADON	1376	3.1%	19	0.46	0.40
ZOUME	239	0.5%	12	0.35	0.26
	44693	100.0%	29		

Relative abundance vary from one hamlet to another. The higher abundance was recorded in Kindjitokpa (10. 2%) while the lowest one was noted in Zoumè (0. 5%). Table 1 in appendix indicates the distribution of this relative abundance in the other hamlets.

Evolution of diversity according to the biotope

It can be interpreted as the probability that two drawn individuals randomly in the sample be different

species. It is included/understood in the interval [0; 1]. Its value decreases with the regularity of the distribution. $H_{G-S}=0$ if only one species has a frequency of 1, $H_{G-S}=1-1/k$ if k present species have the same $P_k=1/k$ frequency. 01 Value is reached for a number k infinite of species, of null frequencies. For an identical regularity, the index of diversity of Gini-Simpson increases with the number of species, Simpson, (1949). Index of Simpson calculated starting from the data

recorded on each locality (H_g -s ranging between 0.21 and 0.56) show that diversity in this area is very variable; the distribution of the index of diversity of Gini-Simpson per hamlet is consigned in Table 1.

Evolution of the equal distribution according to the biotope

The informations obtained with the richness and the indices of diversity are supplemented by the variations of the equal distribution of taxon within the hamlets. The values of equitability and the difference in equitability also make it possible to apprehend seasonal dynamics (Bernez, 2000). The equitability (E_s) lies between 0 (only one species at a frequency of 1) and 1 (all the species have the same frequency). An expression of the equitability is often given starting from the index of diversity of Gini-Simpson ($E_s = 1/S-1$) (Pavoine, 2005). The settlement of the mosquitoes of the 28 prospected sites appears heterogeneous in comparison with the value of the indices of equitability which exceeded 0.47 forever (in Dokanmey). Nevertheless, heterogeneity is more remarkable in Manguévier ($E_s = 0.14$). The distribution of the index of equitability per hamlet is consigned in Table 1.

Table 2. Temporal variation of culicidienne abundance according to rain and the larval breeding sites in the health district Ouidah, Kpomassè and Tori Bossito.

Month	Abundance culicidienne	Rain	Number of Breeding sites
October_2007	18145	125.7	465
December_2007	9133	14.2	309
January_2008	2048	9.9	310
March_2008	2920	80.3	250
May_2008	13230	165.8	530

Relation between precipitation and abundance of the mosquitoes

The test of correlation of Pearson shows that the monthly variations of the adults of Culicidae are strongly correlated with pluviometry in all the 28

hamlets ($r = 0.45$). The Fig. 1 and Table. 2 indicates that the abundance of the culicidienne decreases systematically from October to January. It is weak between January and December. It increases in March (a few weeks after the first rains of the year), to reach a second peak in May.

Linear relation between larval breeding sites and abundance of the mosquitoes

The test of correlation of Pearson shows that the monthly variations of the adults of Culicidae are strongly correlated with the frequency of the larval breeding site in all 28 hamlets ($r = 0.68$). Indeed, Fig. 2 and table. 2 indicates that the abundance of the culicidienne decreases systematically from October 2007 to January 2008. It is weak between January and December. It increases in March (a few weeks after the filling of the larval breeding sites by the first rains of the year), to reach a second peak in May.

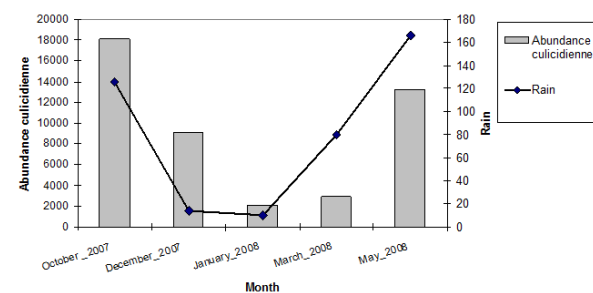


Fig. 1. Temporal variation of culicidienne abundance according to rain.

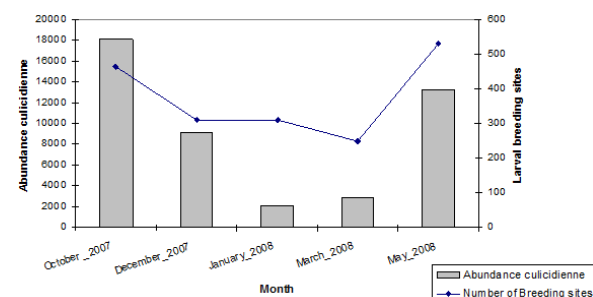


Fig. 2. Temporal variation of culicidienne abundance according to larval breeding sites.

Discussion

The study shows that the mosquito fauna in the 28 hamlets is rich and is diversified. These results

corroborate those of Djènontin et al, (2010) which working in the same site had obtained *Culex gr. decens*, *Mansonia africana*, likes the most abundant species. The weak correlation (0.45) between pluviometry and abundance culicidienne explains a weak link between these two parameters. This correlation does not explain it only the determinants of abundance, since the test of Fisher of the linear model gives a probability of 0.213. Pluviometry explains only 45% of the variation of abundance culicidienne. The strong correlation ($r = 0.68$) between the abundance culicidienne and larval breeding sites explains a strong link between these two parameters. The larval breeding sites explain 68% of abundance culicidienne. The larval breeding sites and pluviometry do not explain alone abundance culicidienne in the area of Ouidah Kpomassè and Tori Bossito. The high abundance of the culicidae in this area would be as related to the favourable conditions as offered the anthropic activities (production of alcohol, water provision in the marshes, instrument of conservation of water not closed) and natural (proliferation of the marshes, depth of the ground water).

The strong specific richness observed in the hamlets of Hla, Adjahassa, Agadon and Soko (between 16 and 19 species) would be related on the depth of the ground water on one hand and the traditional manufacture of alcohol on the other hand. Indeed in this area, the ground water is very deep (65 meters of altitude in Agadon). This situation obliges the populations to preserve water in the barrels, the earthenware jars, basins... etc. To this comes to be added the artisanal manufacture of alcohol which accentuates the requirement of water and thus the stressing of the instruments of conservation of water in these localities and it costs the proliferation of various species of mosquitoes. These results corroborate those of Tsila, 2003 and Patrick, 2010 who working on a lake in Cameroon had noticed that the specific richness and the high abundance of the mosquitoes could be related to the favourable conditions which offered the

anthropic activities (the exploitation of sand on the edges of the domestic Nkolbisson Lake and the excessive deposit of refuse by the bordering populations create favourable conditions with the development of many species of mosquitoes).

A comparative study of the recorded data shows the significant differences in indices of diversity from one site to another. Several biotic and abiotic factors would explain the strong density of mosquitoes observed during the rainy season ($n = 18145$ in October and $n = 13230$ in May) compared to the dry season ($n = 9133$ in December; $n = 2048$ in January and $n = 2920$ in March). Indeed, during May and October, the repeated rains contribute to maintain a ground gorged with water. Such a ground is very favourable to the production of the larval breeding sites, since without hydrous contribution, the mosquitoes cannot develop. This situation added to the argillaceous texture of the ground of this medical area would limit the infiltration of rainwater by places, and maintains for a good period of the rainy season the temporary breeding sites of mosquitoes. Let us also underline that during this period; the sunning is moderated, which would limit the evaporation of water and the evapotranspiration by the plants. After emergence of the larvae and because of the shade of bulky vegetation, the young mosquitoes exophiles do not find any difficulty to colonize their places of rest. These factors are very favourable to the nesting and the proliferation of the mosquitoes in rainy season in opposition to the dry season.

The weak proliferation of the mosquitoes of the *Aedes* genus ($n = 3.25\%$) in a medium however favourable to their development (existence of many larval breeding sites consisted earthenware jars) was confirmed by other researchers. Indeed our results are similar to those of Karch obtained on culicidienne fauna and its harmful effect in Kinshasa in 1990. This situation would be explained by the fact that the captures started as from 10 p.m., hour in which the *Aedes* do not bite any more, their activities being diurnal. (Karch, 1990).

In the same time, the weak proliferation of the anopheles mosquitoes (n=2.55%) would be related to the fact that our research tasks on the capture of the mosquitoes started from October, at which time the temporary and semi permanent breeding sites of these dipterous rarefy.

The *Culex* and *Mansonia* represent the genus the most present in the health district Ouidah- Kpomassè- Tori Bossito. They pose an enormous problem of harmful effect in particular in the majority of the localities. This strong proliferation would be related to the natural factors and anthropic (retaining tanks of rainwater, water resulting from the drainage for the gardening but also to the many hollows and marsh) which maintain a permanent humidity in certain localities of this health district (Bio-Bangana, 2012).

The entomological study undertaken in the health district Ouidah Kpomassè and Tori Bossito in October and December 2007 then in January, March and May 2008 permitted to know specific diversity, the abundance and the equal distribution of the anthropophiles mosquitoes in this area of Benin. These various indices enabled us to obtain several ecological information on the viability or not of the settlements, their distribution. The fight against the mosquitoes in the health district Ouidah Kpomassè and Tori Bossito requires the taking into account of all these elements for the regrouping of the 28 hamlets in 04 groups of 07 hamlets. Anthropic disturbances or unusual factors (various strategies) in the various groups of hamlets will make it possible to make decrease the diversity and the abundance of the mosquitoes in the area. Taking into account all these geographical, cultural and entomological data about culicidian fauna in Tori-Bossito area is important to implement integrated fight method against disease vectors.

Acknowledgments

This work was completed within the framework of component 2 of mobilizing project FSP "Research in

Entomology, Formation and Strategy of prevention: the case of malaria and THA (REFS)". I am grateful to CREC's and IRD's staff for technical assistance.

References

Barbault R. 1992. Ecologie des peuplements (Structure, dynamique et évolution). Masson Eds 272.

Bernez I, Daniel H, Haury J. 2000. Etude des variations des communautés végétales aquatiques sous l'effet de perturbations anthropiques en rivière régulée. *Bull. Fr. Pêche Piscic.* 357/358. 169-189.

Bio-Bangana S, Boko M, Edoth P, Djogbénou L, Ahouangninou CA, Boussari O, Houssou C, Akogbéto M. 2012. Impact of water provision from the marshes on the culicidae proliferation in Tori Bossito, Benin Republic. *Continental J. Sustainable Development* 3, 39 – 46.

Bruce-Chwatt LJ, Zulueta JD. 1985. Essential Malariology: W. Heinemann med. Books Ltd, London 8, 166-209.

Diagne N, Fonteinille D, Konaté L, Faye O, Lamizana MT and al. 1994. Les anophèles du Sénégal, Liste commentée et illustrée, *Bull Soc Path Ex* 267-277.

Djènantin A, Bio-Bangana S, Moiroux N, Henry MC, Bousari O, Chabi J, Ossè R, Koudénoukpo S, Corbel V, Akogbéto M, Chandre F. 2010. *Culicidae* diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasites & Vectors* 3:83 doi:10.1186/1756-3305-3-83

Djènantin A, Chabi J, Baldet T, Irish S, Pennetier C, Hougard JM, Corbel V, Akogbéto M and Chandre F. 2009. Managing insecticide resistance in malaria vectors by combining carbamate-

treated plastic wall sheeting and pyrethroid-treated bed nets: *Malaria Journal*, **8**:233 doi: 10.1186/1475-2875-8-233.

Gilles M, Coetzee M. 1987. A supplement to Anophelinae of Africa South of the Sahara. South African Institute of Medical Research 135-141.

Gilles M, De Meillon B. 1968. The Anophelinae of Africa south of the Sahara, 2nd ed. South African Institute of Medical Research 131-135.

Hamon J, Chauvet G, Mouchet J. 1963. Quelques aspects de l'écologie des vecteurs du paludisme humain en Afrique, Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie Médicale et Parasitologie **1**, 5-12.

Karch S, Asidi N, Manzambi Z, Salaun JJ. 1992. La faune anophélienne et le paludisme humain à Kinshasa, Zaïre. Bull. Soc. Path. Ex. **85**, 304-309.

Kermorgant A. 1906. Prophylaxie du paludisme, Annales d'hygiène et de médecine coloniale, Ed Paris 31.

Kindé GD. 2011. Stratégie de mise en oeuvre de la gratuité de la prise en charge des cas de paludisme chez les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans, MS 01-52.

Mouchet J, Carnevale P, Coosemans M, Julvez J, Manguin S, Richard-Lenoble D, Sircoulon J. 2004. Biodiversité du paludisme dans le monde: Paris, p. 428 .

Patrick AN, Eric MB, Philippe B, Sévilor K, Gisèle F, Jean M. 2010. Abondance et diversité de la faune culicidienne à Yaoundé, Cameroun, Entomologie faunistique – Faunistic Entomology **62**, 115-124.

O.M.S. 2006. Prévenir les maladies par des environnements salubres - vers une évaluation de la charge des maladies environnementales: Genève, OMS.

Pavoine S. 2005. Méthodes statistiques pour la Mesure de la biodiversité. Thèse Université Claude Bernard-Lyon I. p. 391.

Simpson EH. 1949. Measurement of diversity. Nature 163-688.

Tsila H. 2003. Anopheles funestus Gilles 1900: Biologie Ecologie et productivité des larves dans un lac permanent de Nkolbisson (Yaoundé). Mémoire, Diplôme d'Etudes Approfondies, p. 61.

IMPACT OF WATER PROVISION FROM THE MARSHES ON THE CULICIDAE PROLIFERATION IN TORI-BOSSITO, BENIN REPUBLIC

Sahabi Bio-Bangana^{1,2}, Michel Boko², Patrick Edorh², Luc Djogbénou^{1,3}, Claude C.A. Ahouangninou¹, Olayidé Boussari¹, Christophe Houssou, Martin Akogbéto¹.

¹Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, 06 BP 2604 Cotonou Rép. du Bénin. ²Centre Interfacultaire de Formation et de Recherche en Environnement pour le Développement Durable 03 BP 1465 Jéricho-03 Rép. du Bénin. ³Institut de Recherche pour le Développement, Cotonou, Bénin

ABSTRACT

The harmful effect of culicidae was studied for 12 months in two hamlets in swamps of the commune of Tori-Bossito located at the south-west of Benin Republic. It appears a difference in the density of aggressive fauna between a hamlet of Tanto where the populations are supplied out of water in the marsh area (7 bites /man /night) and Todo where the water of the swamp is not used for domestic purposes (5 bites /man /night). The larval breeding sites of *Anopheles* are 3 times more diversified in the area of water provision in the marsh area (Tanto). The frequency of the larval breeding site of *Anopheles* is constantly 8 times higher at Tanto than in Todo. *Mansonia africana* was found in the earthenware jars in Tanto but not in Todo. Water provision systems are undoubtedly one of the determinants of space-time distribution of the mosquitoes in Tori Bossito.

KEYWORDS: Benin Republic, water provision, mosquitoes, typology, marsh area.

INTRODUCTION

Benin, like the whole of Africa in the south of Sahara, pays heavy tribute to the diseases transmitted by the mosquitoes such as malaria, dengue, yellow fever and filarioses. If the therapeutic component of these diseases is fundamental, it does not remain less that the control of the vectors is a considerable shutter in the fight against these diseases (Bakwo *et al*, 2009). However, the fight against these various parasitoses transmitted by the mosquitoes requires a good knowledge of the bio ecology and the distribution of these vectors (Akogbéto, 2003). The increase in population in Africa and the spacial irregularities in the drinking water service road have encouraged for several decades to resort to marsh water.

The water provision in the marshes and their conservation in and around the houses involve modifications of the typology of the larval breeding site and culicidienne fauna. Malaria is the most important by far of the tropical parasitic diseases in the world and it makes more victims than any other transmissible diseases, exception of tuberculosis. Malaria maintains poverty. It costs Africa 12 billion dollars US\$ each year in lost GDP. It absorbs up to 25% of the income of households and accounts for 40% of the health expenditure of the government. One year of healthy life is gained for 1 to 8 Euro spent for the effective cure of the cases of malaria, which puts this disease at the same level cost effectiveness as vaccination against measles (UN, 2009). The fight against malaria is a priority of the health policy but the diversity of the epidemiologic facies and its diagnostic and clinical implications make this fight difficult but not impossible. (Djeutchouang, 2010). However the removing of the housing to the marshes can reduce malaria in a marked way (Akono *et al*, 2009).

The study of culicidienne fauna of two areas of marsh of old creation, the area of Tanto and Todo, was carried out by the Entomological Research center of Cotonou to reduce morbidity due to the vectorial diseases. This study will contribute to reinforce the social mobilization in favour of the behavioural change and the safeguarding of the environment.

METHODOLOGY

Site of study

The localities of Tanto and Todo are located at the south-west of Benin in the Tori-Bossito commune, at 37 km from Cotonou, the first city of the country. They are located in edge of semi-permanent marshes presenting weak variations of flow according to precipitations. The climate béninien, of subequatorial type which characterizes the area, counts four definitely marked seasons: two rainy seasons from March to July then from

September to November, with annual precipitations of order of 1.200 mm; two dry seasons from November to March then from July to August. The maximum temperatures are reached in March and the minimal ones in August. Tanto means near the “Tan” hollow and Todo to mean that before the creation of Tori-Bossito it is at this place that the populations used to carry water for their various activities. These localities are built in an alluvial area with hydromorphic ground. The level of the ground water is 56 meters of depth in Tanto while it is 22 meters in Todo. A rural track serves Tanto and crosses the marsh in its northern part. In rainy season, this rural track shows water puddle pools, true breeding sites of anopheles. There exists in these two hamlets of the relics of dense forest. One also meets in the west of Todo a very bulky plantation of palm tree with oil. The vegetation plays a central role in the constitution of these mediums. It intervenes initially in pedogenesis by supporting sedimentation. The screen which it constitutes and the organic matter contribution which it provides to the substrate decrease evaporation: such conditions are very favourable to the laying and the conservation of the eggs (31). At 200 meters of Todo, exists an adduction of running water. The permanent buildings are rare. Only collective installations are village water conveyance near Tanto. This water point serves all the population of Tori-cada center, that is to say a population of 1275 inhabitants according to the statistics (INSAE, 2002).

Sociological investigations

In order to see the influence of the behaviour of the man on the proliferation of the larval breeding sites of mosquitoes and on their imagos, a quantitative study on the census of the works of water provision, the mode of storage, the periodicity of storage was subject of a cross-sectional study in August 2009. For that purpose, a census of the population and number of dwelling like their typology was subject of a preliminary study; the distant of each locality in the marsh was measured. The mode of water provision took into account a certain number of parameter like: backwater, simple well, well with large diameter, village water conveyance (AEV), AEV and backwater, basin/cistern. As far as the mode of water storage is concerned, we took into account the elements hereafter: (earthenware jar, pans, barrel, closed can, open can). As far as the periodicity of washing equipment water conservation, it varies from one day to three months. Finally in terms of washing mode (simple sponge, mode of palm, sponge and soap, hand alone, leaf of tree and broom). On the whole, 68 dwellings in Tanto and 85 in Todo were listed. A representative of each dwelling was selected and questioned. We privileged the mothers compared to the fathers because the mothers are the one who occupy more water provision in the villages. The children less than 18 years did not make object of questioning.

Larval prospection

From January 2009, and every 6 weeks, larval prospection were carried out in the accesses of the marshes of Tanto and Todo like inside of the two localities. They consisted in systematically seeking all the potential pre-imaginaux breeding sites with mosquitoes, identifying them and out taking away of larvae in the positive breeding sites. These taking away were made according to the method of the “dipping” using the equivocal. Some various species were taken, fed up and then, the larval densities were determined by the method of had a cast of Bruce-Chwatt (1983).

Capture and identification of the adult mosquitoes

The sampling of the adult mosquitoes was carried out every 6 weeks during two consecutive nights from 22:00 to 6:00 in the morning on voluntary human subjects placed inside and outside of four dwellings retained for this purpose. The points of captures were selected in a reasoned way inside the groups of dwellings. The captured mosquitoes and the emerged larvae were identified individually on the level of the genus and the species under binocular magnifying glass, on the basis of morphological criterion using a taxonomic key of determination of Gilles & De Meillon (1968) and Gilles & Coetzee (1987) and counted by point of capture and time slot. These samples allowed the estimate of the densities of aggressiveness of the populations culicidiennes.

Data processing

Software PASW version 18.0 enabled us to use the test of correlation of Pearson to evaluate the relations between the mode of water provision, the larval and adult breeding sites mosquitoes.

RESULTS

Mode of water provision

The transverse investigation carried out in August 2009 into the mode of water provision of the populations of Tanto and Todo, revealed the following results: In Tanto, on a total of 68 surveyed, 58 supply themselves in backwater of the hamlet (Photo1 and 2) that is to say 85,3% of the population; 57 are supplied in water in AEV

water of the locality that is to say is 83,8% of the population; 05 are supplied out of water primarily in their basin/cistern (Photo 3) that is to say 7,4% of the population.

In Todo on the other hand, on 85 surveyed all affirm to supply itself in of water only in a well that is to say 100% of the population compared with 0% in the marshes, AEV, basin/cistern. Let us stress that simple wells, the Village Water conveyance (AEV) and the SONEB does not shelter the larvae of the mosquitoes because of their hermetically closed character and their depth. The backwaters and the basins thus constitute larval breeding sites of mosquito risk factors of malaria and filarioses.



Picture1: water provision in a marsh



Photo 2: transport of water towards Tanto. Located at 150 meters of Tanto (Tori Bossito).



Photo 3: water provision in a rain Basin of Tanto.

Table 1: source of waters provision in two Hamlet of Tori Bossito.

Source of waters provision	Tanto		Todo	
	Frequence	Percentage	Frequence	Percentage
Back waters	58	85,3%	0	0,0%
Simple well	0	0,0%	83	97,6%
Adduction Village Waters (AEV)	57	83,8%	0	0,0%
Basin/ citem	5	7,4%	0	0,0%
National company of water of the Benin (SONEB)	0	0,0%	2	2,4%

Mode of conservation of water

Once the conditions of provisioning fulfilled, water is preserved in the earthenware jars. A study carried out in this direction during the same time showed that 68 dwellings preserve their water in the earthenware jars at Tanto that is to say 100% of the population and 57 preserve it in cans hermetically closed from 20 to 50 liters of capacity or 83, 8% of the population. In Todo for a total of 85 surveyed the results present themselves as follows:

Table 2: Mode of storage of water

Mode of storage of water	Tanto		Todo	
	Frequency	Percentage	Frequency	Percentage
Earthenware jar	68	100,0%	83	97,7%
Barrel	0	0,0%	0	0,0%
Basin/citem	0	0,0%	0	0,0%
Pan	0	0,0%	0	0,0%
Pot	0	0,0%	0	0,0%
Firm can	57	83,8%	2	2,3%

Typology of the larval lodgings

In the locality of Tanto where the populations supply themselves out of water in the marsh, the larval breeding sites anophelienne are diversified (6 various types of larval breeding sites) compared to Culicinae (3 various types of larval breeding sites). In Todo on the other hand the breeding sites of Culicinae are diversified. Thus in Tanto, the earthenware jars shelter larvae of *Mansonia*, which is not the case in Todo.

Table 3: Typology of the larval breeding sites in Tanto and Todo in the commune of Tori-Bossito.

SUB-FAMILY	GENUS	TPOLOGY	TANTO	TODO	THE TWO SITES
Culicinae	Aedes	Earthenware jar	X	X	X
		T1	1	1	1
	Culex	Basin/citem	X		X
		Earthenware jar	X	X	X
		Barrel		X	X
	Mansonia	T1	2	2	3
		Basin/citem	X		X
		Earthenware jar	X		X
		Back waters	X	X	X
	Ts	T1	3	1	3
			3	3	4
Anophelinae	Anopheles	Feeding trough	X		X
		Basin/citem	X		X
		Can	X		X
		Puddle pool	X		X
		Earthenware jar	X	X	X
		Back waters	X	X	X
	Ts	T1	6	2	6
St			6	3	6

X= presence, larval T1= Typology of larval genus, larval Ts= Typology of larval sub family, larval St= Typology of total larval.

Frequency of the larval breeding sites

In the first hamlet where the populations water provision in the marsh, the frequencies of the larval breeding sites of the principal genus are: Anopheles (49; 27%), Mansonia (46; 25%), Culex (63; 35%), and Aedes (23; 13%). In the second hamlet, they are Mansonia (18; 30%), Anopheles (6; 10%), Culex (26; 42%), and Aedes (11; 18%). If the four genus were found in the two hamlets, their frequencies in term of larval breeding sites vary from a hamlet to another. Thus the larval breeding sites Anopheles are 2, 7 times superiors in Tanto that in Todo. This is related to the fact that the populations at the same time as they take water in the marshes transport also the larvae of Anopheles and mansonia. And then that they are accustomed to preserving their water in the earthenware jars, it is completely obvious that these latters be more prolific in Anopheles in Tanto (18 earthenware jars shelter Anopheles in Tanto against 03 earthenware jars in Todo). Non negligible differences of jars sheltering the mansonia were noted in the two hamlets. Thus 100% of earthenware jars met in Tanto once sheltered the larvae of mansonia against 0% in Todo.

Table 4: Frequency of the larval lodgings of Tanto and Todo in the commune of Tori-Bossito.

SUB-FAMILY	GENUS	TPOLOGY	TANTO	TODO	THE TWO SITES
Culicinae	Aedes	Earthenware jar	23	11	34
		F1	23	11	34
	Culex	Basin/citern	2	0	2
		Earthenware jar	61	24	85
		Barrel	0	2	2
		F1	63	26	89
	Mansonia	Basin/citern	4	0	4
		Earthenware jar	18	0	18
		Back waters	24	18	42
		F1	46	18	64
	SF		132	55	187
Anophelinae	Anopheles	Feeding trough	1	0	1
		Basin/citern	3	0	3
		Can	2	0	2
		Puddle pool	6	0	6
		Earthenware jar	18	3	21
		Back waters	19	3	22
		F1	49	6	55
	SF		49	6	55
SFt			181	61	242

F1= number of larval breeding sites genus, SF= number cumulated breeding sites sub family, SFt= Full number of larval breeding sites.

Density of the larval breeding sites.

In the locality of Tanto, hamlet where the populations water provision in the marsh, the full numbers of larvae of the prospected breeding sites (cumulated density) of the principal genus are: Anopheles (149; 8%), Mansonia (1290; 69%), Culex (373; 20%), Aedes (52; 3%). In the second hamlet i.e. Todo, this cumulated density is: Anopheles (9; 4%), Mansonia (33; 15%), Culex (143; 67%), and Aedes (29; 14%). If the four genus were found in the two hamlets, their cumulated density varies from a hamlet to another. Thus the larval breeding sites Anopheles are 2 times superiors in Tanto that in Todo. The cumulated density of the mansonia is 4, 6 superiors in Tanto that in Todo (Table 5)

Table 5: Cumulated larval density of the lodgings of Tanto and Todo in the commune of Tori-Bossito.

SUB-FAMILY	GENUS	TYPOLOGY	TANTO	TODO	THE TWO SITES
Culicinae	Aedes	Earthenware jar	52	29	81
		D1	52	29	81
	Culex	Basin/citern	4	0	4
		Earthenware jar	369	138	507
		Barrel	0	5	5
		D1	373	143	516
	Mansonia	Basin/citern	14	0	14
		Earthenware jar	112	0	112
		Back waters	1164	33	1197
		D1	1290	33	1323
	SD		1715	205	1920
Anophelinae	Anopheles	Feeding trough	1	0	1
		Basin/citern	5	0	5
		Can	4	0	4
		Puddle pool	28	0	28
		Earthenware jar	38	6	44
		Back waters	73	3	76
		D1	149	9	158
	SD		149	9	158
SDt			1864	214	2078

D1= larval Density of the genus, larval SD= cumulated density of the sub family, SDt= full cumulated larval density

Distribution of the adult mosquitoes

If the distribution of the adult genus of mosquitoes varies only little from a hamlet to other, abundances culicidiennes, are very different on the whole of the study. Abundances of *Mansonia* are (232; 37%) in Tanto and (161; 24%) in Todo; those of *Culex* are (332; 37%) and (438; 65%); those of *Anopheles* from (189; 22%) and from (64; 10%) and those of *Aedes* from (121; 14%) and (9; 1%). Among the anopheles, species *A. gambiae* is the most frequent, as that is traditional in West Africa. They are aggressive especially after midnight. In dry high season, in December, January, March and August, the cumulated abundance of these anopheles are (19) in Tanto against (06) in Todo. In October, November, May and June, in period of rains, abundances increase until 168 in Tanto and 56 in Todo.

Table 6: Manpower culicidiennes and many bites per man and night

Hamlet	Tanto	Todo
Number of adult mosquitoes	874	672
Number of nights capture	2	2
Number of capturer	8	8
Number of missions of capture	8	8
Number of bite/man/night	7	5

DISCUSSION

A study carried out in 2009 by Patrick Akono Ntonga on the Abundance and the diversity of culicidienne fauna in Yaounde, Cameroon in a lake and a river had shown that the absence of the individuals of the *Mansonia* kind in its results, however announced in the locality of Nkolbisson by BOM II (sea-green Com.) is certainly related to the method of the “dipping” used to collect the larvae of mosquitoes. This method is not adapted to the capture of larvae of this kind, which live fixed on the watery plants, from where the need for being accustomed to combining the methods of capture of mosquitoes in order to increase the probability of obtaining the most

species possible in a given site (Akono et Al, 2009). According to their recommendations, we noted indeed the presence of mansonias at the time of the eight captures of mosquitoes on human bait. As far as we are concerned we noted during the larval prospection the larvae of mansonias in the earthenware jars in Tanto. This situation is primarily related to the passive transport of the larvae of mansonias towards the earthenware jars by the population as earthenware jars do not constitute a biotope of predilection mansonias.

In dry season, absence of rains and the draining of the marshes under the effect of an intense sunning explain the weak density anophelienne. However there does not have total disappearance of the larval breeding sites. Since the earthenware jars used to preserve water ensure the relay of the production of the larvae and thus of the adults. But their capacity to produce the larvae remains definitely lower compared to those of marsh and the basins. The strong increase of vectorial density in rain season is primarily related to the setting in water of the marshes and the basins. This setting in water of the marshes leads the populations to take the water for its conservation in the earthenware jars placed outside the dwellings. What makes multiply not only the diversity of the breeding site in rain season but more especially abundance culicidienne. Many breeding sites are also created in the immediate vicinity of the marshes by the prints of vehicles (puddle pools) in Tanto.

The great difference in the harmful effect culicidienne between the two hamlets of Tori-Bossito is remarkable. The element which differentiates them is the water provision in the marshes. Tanto where the water provision is done in the marshes undergoes most strongly this aggression, even in dry season. The populations of Todo are less victim of the culicidiennes aggressions. The improvement of the requirement in drinking water by the construction of 04 adduction village waters in the village for Tori-cada centers (village to which belongs the Tanto hamlet) is the first challenge the authorities will have to reach. The construction of these adduction village waters must take account of space because the ground water is very deep (56 meters) in the area, and the populations do not have financial resources to improve the requirement out of water by the construction of ordinary wells. It is precisely this possibility of construction of ordinary wells by the populations of Todo because of not very deep ground water (22 meters) which prevent them from looking back to water of the marshes.

The water provision in the marshes in Africa and their storage in the villages involve an increase marked in the production of culicidae. This situation is related to space disparities of the water service road. The improvement of the water service road, the communication for a behavioural change, the cleansing of the floodplains and dwellings, the spreading of biological insecticides like Bti and Bs, the construction of the remote settlements from the floodplains are solutions among to take to reduce the harmful effect culicidienne. Individual protection by ITNs is a complementary strategy of great value. The fight against the mosquitoes requires the implication of all.

REFERENCES

- Akogbeto M. (2003). Efficacité et acceptabilité d'un nouvel outil de lutte antivectorielle: les moustiquaires bi-imprégnées. *Bulletin de la Société Pathologique et Exotique* 96(3), p. 168-171.
- Akono. P., Eric M. B., Philippe B., Sévilor K., Gisèle F. and Jean M. (2009). Abondance et diversité de la faune culicidienne à Yaoundé, Cameroun. *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology* 2010 (2009) 62 (3), 115-124
- Bakwo E. M., Ntonga Akono P., Belong P. and Messi J. (2009). Impact des aménagements piscicoles sur le pullulement culicidien à Yaoundé, Cameroun. *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology* 62 (3), p 109-114.
- Bruce-Chwatt L.J. (1983). Paludisme et urbanisation. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 76, p. 243 249.
- Djeutchouang S. C., (2010) Intérêt de l'utilisation des tests de diagnostic rapide du paludisme sur le coût et l'efficacité de la prise en charge des patients fébriles à Yaoundé, Cameroun, Thèse de la faculté de médecine de Marseille disponible sur le site www.theses.fr/2010AIX20663/document
- INSAE, (2002). Institut Nationale des Statistiques Appliquées et d'Economie, Cotonou/Bénin.

Gilles M.T. and Coetzee M.A. (1987). A supplement to the Anophelinae of Africa south of the Sahara (Afro Tropical Region). In Publications of the South African Institute for Medical research. Johannesburg. p. 55.

Gillies M.T. and De Meillon B. (1968). The Anophelinae Africa of south of Sahara (Ethiopian zoogeographical region). South Africa Institute for Medical Research, Publication 54, 2nd edition.

UN, 2009. United Nations. The Millenium Development Goals Report 2009. TheUnited Nations Department of Economic and Social Affairs 2009; 60p.[http://www.un.org/millenniumgoals/pdf/MDG_Report_2009_ENG.pdf ; consulté le 16 fevrier 2010].

Received for Publication: 10/02/2012

Accepted for Publication: 27/04/2012

Corresponding author

Abdoul-Sahabi BIO BANGANA

Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, 06 BP 2604 Cotonou Rép.du Bénin

Email: biobanganaa@yahoo.fr

RESEARCH

Open Access

Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study

Armél Djènontin^{1,2*}, Sahabi Bio-Bangana¹, Nicolas Moiroux², Marie-Claire Henry^{2,4}, Olayidé Bousari², Joseph Chabi², Razaki Ossè¹, Sébastien Koudénoukpo¹, Vincent Corbel², Martin Akogbéto¹, Fabrice Chandre³

Abstract

Background: To implement an Insecticide Resistance Management (IRM) strategy through a randomized controlled trial (phase III), 28 villages were selected in southern Benin. No recent entomological data being available in these villages, entomological surveys were performed between October 2007 and May 2008, before vector control strategies implementation, to establish baseline data.

Methods: Mosquitoes were sampled by human landing collection (16 person-nights per village per survey per village) during 5 surveys. Mosquitoes were identified morphologically and by molecular methods. The *Plasmodium falciparum* circumsporozoite indexes were measured by ELISA, and the entomological inoculation rates (EIRs) were calculated. Molecular detection of pyrethroid knock down resistance (*Kdr*) and of insensitive acetylcholinesterase were performed.

Results: 44,693 mosquitoes belonging to 28 different species were caught from October 2007 to May 2008. Among mosquitoes caught, 318 were *An. gambiae* s.s., 2 were *An. nili*, 568 were *An. funestus* s.s., and one individual was *An. lesoni*. EIR was 2.05 ± 1.28 infective bites per human per 100 nights on average, of which 0.67 ± 0.60 were from *An. funestus* and 1.38 ± 0.94 infective bites were from *An. gambiae*. Important variations were noted between villages considering mosquito density and malaria transmission indicating a spatial heterogeneity in the study area. The *kdr* allelic frequency was 28.86% in *An. gambiae* s.s. on average and significantly increases from October 2007 (10.26%) to May 2008 (33.87%) in M molecular form of *An. gambiae* s.s. *Ace 1* mutation was found in S molecular of *An. gambiae* s.s. at a low frequency (< 1%).

Conclusion: This study updates information on mosquito diversity and malaria risk in rural villages from south Benin. It showed a high spatial heterogeneity in mosquito distribution and malaria transmission and underlines the need of further investigations of biological, ecological, and behavioral traits of malaria vectors species and forms. This study is a necessary prerequisite to cartography malaria risk and to improve vector control operations in southern Benin.

Background

Malaria remains a major cause of morbidity and mortality in sub-Saharan Africa and represents one of the most critical public health challenges for Africa. In 2008, 243 million cases of malaria was estimated worldwide leading to 863 000 deaths of which 89% were in the African

Region [1]. Treatment with Artemisinin Combination Therapy (ACT), the use of Indoor Residual Spraying (IRS) and Insecticide Treated Nets (ITNs) represent the main approaches of malaria control [1]. Household ITNs ownership reached more than 50% in several high burden African countries [1]. Pyrethroids are the only insecticides used for net impregnation because of their strong efficacy, their fast acting effect at low doses and their low toxicity for mammals [2]. Unfortunately, pyrethroids resistance in malaria vectors has spread across Africa and

* Correspondence: armeldj@yahoo.fr

¹Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC), 06 BP 2604 Cotonou, Bénin

Full list of author information is available at the end of the article

is now present in most of countries where national malaria control programmes (NMCP) are implementing large scale distribution of Long Lasting Nets to populations at risk, i.e. children under five and pregnant women [3]. Up to now, there is no evidence that pyrethroids resistance reduce the effectiveness of ITNs for malaria control at operational scale [4]. However, a small scale field trial carried out in an area of resistance in southern Benin (Ladji) and Burkina Faso (Kou Valley) showed a reduction of personal protection and overall insecticidal effect of ITNs in experimental huts [5-7].

It is then urgent to find ways to manage this resistance in malaria vectors. In this context, malaria vectors control and insecticide resistance management tools based on the use (alone or in combination with pyrethroid-treated mosquito nets) of alternative classes of insecticides with different mode of action than pyrethroids were developed and have already been evaluated in experimental huts, with good results against wild populations of strongly resistant *An. gambiae* [6,7].

To validate these strategies, their impact on malaria transmission and insecticide resistance dynamic in malaria vectors must be assessed through randomized controlled trials under phase III. For that purpose, 28 villages were selected in Ouidah-Kpomasse-Tori (OKT) health district in southern Benin. No entomological data from OKT health district was available. Recent data relative to *Culicidae* fauna of Benin go back up to 1950s [8,9]. Thus, in order to collect baseline data relative to mosquito's diversity and abundance, malaria transmission and the prevalence of insecticide resistance alleles in malaria vectors, entomological surveys were performed between October 2007 and May 2008 in the study area before implementing the vector control strategies. This paper reports these baseline data.

Methods

Study area

The study was carried out in OKT health district. Twenty eight villages were selected considering a size between 250-500 inhabitants, a distance between two villages higher than two kilometers and the absence of a local health center. The OKT health district is one of 36 health districts in Benin. This district has essentially a sub-equatorial climate, with two dry seasons (August-September and December-March), and two rainy seasons (April-July and October-November). The average annual rainfall is around 1200 mm, of which 700-800 mm come in the first rainy season and 400-500 mm come in the second rainy season. The average monthly temperatures vary between 27 and 31°C. The northern part of the health district is made of a plateau that drops into the Couffo

valley and the Allada depression. The southern is watered by several ramification arms of Toho Lake (Fig 1). The study zone is totally cleared of the original equatorial forest. Currently, the vegetation is characterized by bushes and isolated trees, associated with areas with more or less densely populated areas with oil palm trees.

Mosquito's collection and identification

Sampling of mosquitoes was done in 28 villages by human landing catches using tubes that were plugged with cotton. Mosquitoes collection was carried out during 5 surveys from October 2007 to May 2008 (2 in the beginning of rainy periods and 3 in dry periods) every 6 weeks both indoors and outdoors at 4 sites per village from 10 p.m. to 6 a.m. and for two consecutive nights per survey (i.e. 16 person-nights per village per survey). Teams of collectors were rotated among the collection points on different collection nights to minimize sampling bias. Ethical clearance was given for the study by the National Ethical Committee in Benin (Comité National Provisoire d'Ethique pour la Recherche en Santé) and IRD ethical committee (Comité Consultatif de Déontologie et d'Ethique). Collectors gave prior informed consent and they were vaccinated against yellow fever. Since study was done in area where malaria is endemic, adult collectors that already acquired immunity against malaria parasites, did not received chemoprophylaxis, but were medically supervised by local physicians in case of illness.

Mosquitoes were identified on the field to species level using morphological criteria according to the identification keys [10-12]. All mosquitoes belonging to the *An. gambiae* complex or *An. funestus* group were stored in individual tubes with silica gel and preserved at -20°C in the laboratory.

Determination of EIRs

Heads and thoraces of anopheline females were tested by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for detection of *P. falciparum* circumsporozoite protein (CSP), as previously described [13]. Samples having an optical density higher than 3 times the average of the optical density of negative control were considered as positive. Those having an optical density between 2 and 3 times this average were considered as doubtful and were retested.

The CSP index was calculated as the proportion of mosquitoes found to be positive for CSP. Entomological inoculation rates (EIRs) were estimated as the number of infective bites per human per 100 nights.

Molecular analysis

All mosquitoes belonging to *An. gambiae* complex and *Anopheles funestus* group were identified by polymerase chain reaction (PCR) at the species levels [14,15].

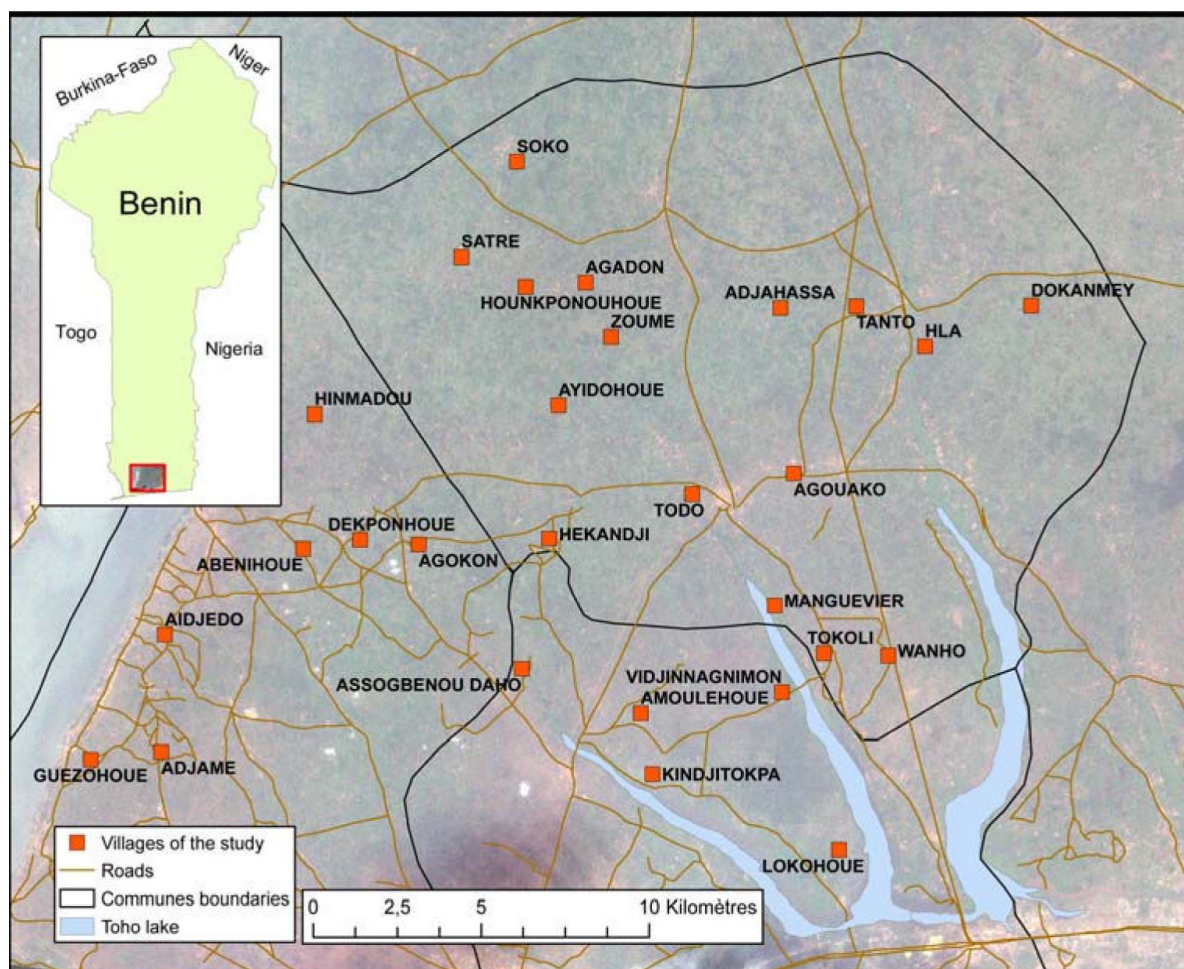


Figure 1 Map of the study area.

Molecular forms in *Anopheles gambiae* s.s. were also identified [16].

Molecular characterizations of the *Kdr* (west-African Leu-Phe mutation) and *Ace1* mutations were carried out on all mosquitoes belonging to *An. gambiae* complex as previously described [17,18]

Statistical analysis

Chi-square tests were done to determine the odds of association of the CSP index with malaria vectors *An. gambiae* and *An. funestus*.

Data relative to mosquito's density and EIRs according to villages were analyzed using a Linear Mixed Effects (LME) model implemented in R software and written as follow:

$$\text{Log}(x) = \beta_0 + \beta_{1i} + a_i, \text{ where:}$$

x = means of mosquitoes number (or EIRs) per village per survey

β_0 = estimated value of coefficient associated to the reference village

β_{1i} = estimated value of coefficient associated to a village i

a_i = intra-village variance

i = village index

Villages were grouped according to their homogeneity for the entomological indicator considered taking into account β_i and its P value. In each group, the average of the number of mosquitoes caught per village per survey (or the number of infective bites per human per 100 nights) was calculated with its 95% confidence interval.

The genotypic differentiation of *kdr* and *Ace1* loci was tested using the Fischer exact test implemented in GenPop software [19].

Results

Species diversity and density

A total of 44,693 mosquitoes belonging to 28 species were caught (table 1). *Mansonia Africana* (44.84%), *Culex gr. decens* (29.91%), *Culex quinquefasciatus* (9.81%), and *Culex nebulosis* (6.22%) were the most

Table 1 Mosquitoes species caught from October 2007 to May 2008 in the study area

Species	Indoor	Outdoor	Total	%
<i>Aedes aegypti</i>	388	318	706	1.58
<i>Aedes gr. palpalis</i>	12	28	40	0.09
<i>Aedes gr. tarsalis</i>	4	4	8	0.02
<i>Aedes luteocephalus</i>	21	41	62	0.14
<i>Aedes sp</i>	13	37	50	0.11
<i>Aedes vittatus</i>	199	396	595	1.33
<i>Anopheles brohierii</i>	1	0	1	0.00
<i>Anopheles coustani</i>	3	5	8	0.02
<i>Anopheles funestus</i>	314	265	579	1.30
<i>Anopheles gambiae</i>	149	173	322	0.72
<i>Anopheles nili</i>	1	1	2	0.00
<i>Anopheles pharoensis</i>	60	135	195	0.44
<i>Anopheles ziemanni</i>	12	20	32	0.07
<i>Culex annulirostris</i>	185	428	613	1.37
<i>Culex duttoni</i>	36	18	54	0.12
<i>Culex fatigans</i>	270	436	706	1.58
<i>Culex gr. decens</i>	4720	8649	13369	29.91
<i>Culex nebulosus</i>	1040	1738	2778	6.22
<i>Culex perfuscus</i>	2	0	2	0.00
<i>Culex poicilipes</i>	2	14	16	0.04
<i>Culex quinquefasciatus</i>	1170	3213	4383	9.81
<i>Culex tigripes</i>	17	38	55	0.12
<i>Cx sp</i>	17	17	34	0.08
<i>Cx thalassius</i>	10	16	26	0.06
<i>Eretmapodites gr. quinquevittatus</i>	0	3	3	0.01
<i>Mansonia africana</i>	7652	12390	20042	44.84
<i>Mansonia uniformis</i>	7	4	11	0.02
<i>Uranotaenia gr bilineata</i>	1	0	1	0.00
Total	16306	28387	44693	

abundant species caught. The proportion of malaria vectors (*Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus*) was very low (~2%).

All mosquitoes belonging to *Anopheles gambiae* s.l., were *An. gambiae* s.s. (217 from S molecular form and 101 from M form). Concerning *Anopheles funestus* group all mosquitoes were identified by PCR as *Anopheles funestus* s.s. except one individual which was *An. leesoni*, caught in Tokoli-Vidjinangnimon village.

Large variations were observed between villages considering mosquito's density. An average of 212 ± 46 *Culicidae* per village per survey and 531 ± 139 *Culicidae* per village per survey were caught in two different homogenous villages groups (Table 2). Concerning *An. gambiae* s.l. on average 0.4 ± 0.2 ; 1.8 ± 0.6 and 7.4 ± 3.5 individuals were caught per village per survey in three different homogenous villages groups (Table 3). In villages close to a arm of the Toho Lake, 13.48 ± 5.9 *An. funestus* s.l. were caught on average per village per

Table 2 Average of *Culicidae* number caught per survey per village from October 2007 to May 2008 with 95% confidence intervals

Villages groups	Average <i>Culicidae</i> number per survey per village with 95% confidence intervals
Group 1: Agouako; Assogbenoudaho; Guezohoue; Hla; Todo; Zoume; Adjahassa; Satre; Agadon; Aidjedo; Ayidohoue; Dokanme; Tokoli Vidjinangnimon; Hekandji; Hounkponouhou; Dekponhou; Soko; Wanho; Tokoli; Tanto	212 ± 46
Group 2 : Lokohoue; Tokoli Vidjinangnimon; Manguevier; Adjame-Allagbede; Amoulehoue; Kindjitokpa; Abenihoue; Hinmandou	531 ± 139

survey, in contrast with 0.29 ± 0.1 in the others villages (Table 4).

Vectors infection to CSP and malaria transmission risk

The CSP positivity rate was $9.63 \pm 3.2\%$ in *An. gambiae* s.s. ($5.94 \pm 0.4\%$ in M molecular form and $11.52 \pm 0.2\%$ in S form) and $2.64 \pm 1.3\%$ in *An. funestus* s.l.. *An. gambiae* s.s. was more infected than *An. funestus* s.l. (OR = 4.00 (95%IC 2.13-7.54), $P < 0.001$). The average of EIR from October 2007 to May 2008 was 2.05 ± 1.28 infective bites per human per 100 nights of which 0.67 ± 0.60 infective bites of *An. funestus* per human per 100 nights and 1.38 ± 0.94 infective bites of *An. gambiae* per human per 100 nights. EIR was very variable according to villages. Two homogenous villages groups with respectively 0.7 ± 0.4 and 6.1 ± 3.4 infective bites per human per 100 nights were observed (Table 5).

Table 3 Average of *An. gambiae* s.l. number caught per survey per village from October 2007 to May 2008 with 95% confidence intervals

Villages groups	Average <i>An. gambiae</i> s.l. number per survey per village with 95% confidence intervals
Group 1: Adjame-Allagbede; Agouako; Assogbenoudaho; Kindjitokpa; Guezohoue; Hinmandou; Hla; Abenihoue; Todo; Zoume	0.4 ± 0.2
Group 2: Adjahassa; Satre; Lokohoue; Agadon; Aidjedo; Ayidohoue; Dokanme; Tokoli Vidjinangnimon; Hekandji; Agokon; Hounkponouhou; Dekponhou; Manguevier	1.8 ± 0.6
Group 3: Amoulehoue; Soko; Tokoli; Tanto; Wanho	7.4 ± 3.5

Table 4 Average of *An. funestus* s.l. number caught per survey per village from October 2007 to May 2008 with 95% confidence intervals

Villages groups	Average <i>An. funestus</i> s.l. number per survey per village with 95% confidence intervals
Group 1: Adjame-Allagbede; Agouako; Assogbenoudaho; Guezohoue; Hinmandou; Hla; Abenihoue; Todo; Zoume; Adjahassa; Satre; Agadon; Agokon; Aidjedo; Ayidohoue; Dokanme; Hekandji; Hounkponouhoue; Dekponhoue; Soko	0.29 ± 0.1
Group 2: Amoulehoue; Tokoli; Tanto; Lokohoue; Manguevier; Kindjitokpa; Tokoli Vidjinangnimon; Wanho	13.48 ± 5.9

***Kdr* resistance gene status in *An. gambiae*.**

The average of *kdr* allelic frequency from October 2007 to May 2008 was 28.86% in *An. gambiae* s.s. At the beginning of the study (From October to December 2007), *kdr* allelic frequency was significantly higher in S molecular form of *An. gambiae* s.s. (28.08%) compared to the M molecular form (10.26%) ($P = 0.001$). This allelic frequency significantly increased in the M molecular form and has reached 33.87% ($P < 0.001$) from January to May 2008 (Table 6).

Insensitive acetylcholinesterase gene status in *An. gambiae* s.l.

The allelic frequency of this gene was less than 1%. Only two heterozygous individuals was found in the S molecular form of *An. gambiae* s.s. at Tanto and Hekandji during October 2007.

Discussion

The present study provides entomological baseline data on OKT health district. Twenty eight different species

Table 5 Number of infective bites per human per 100 nights from October 2007 to May 2008 with 95% confidence intervals

Villages groups	Number of infective bites per human per 100 nights with 95% confidence intervals
Group 1 : Adjame; Agouako; Aidjedo; Asogbenoudaho; Ayidohoue; Adjahassa; Dokanme; Kindjitokpa; Guezohoue; Hinmandou; Hla; Hounkponouhoue; Abenihoue; Dekponhoue; Manguevier; Satre; Todo; Tokoli; Wanho; Agadon; Zoume	0.7 ± 0.4
Group 2 : Amoulehoue; Tokoli Vidjinangnimon; Hekandji; Agokon; Soko; Lokohoue; Tanto	6.1 ± 3.4

Table 6 *kdr* in M and S molecular forms of *An. gambiae* s.s. from October 2007 to May 2008 in the study area

	October-December 2007		January-May 2008	
	M form	S form	M form	S form
RR	0	10	13	16
RS	8	62	16	20
SS	31	74	33	35
Total	39	146	62	71
Allelic frequency (%)	10.26 ^a	28.08 ^b	33.87 ^b	36.62 ^b

Kdr allelic frequency values carrying the same letter was not significantly different ($P > 0.05$)

were caught during surveys whereas Huttel (1950) and Hamon (1954) had collected respectively 13 species (adult's collection in the dwellings) and 45 species (adult and larval collection) in the south-east of Benin (Cotonou and Porto-Novo) [8,9]. If the *Culicidae* diversity is lower in our study, we have identified 3 *Anopheles* species that was not mentioned in Hamon study: *An. brohierii*, *An. coustani* and *An. nili*. These 3 species were present at very low densities, explaining why they were not reported previously. More unexpected is the predominance in our study of *Mansonia africana* and the presence of *Cx. quinquefasciatus* that were not reported by Hamon. The relative abundance of *Cx. quinquefasciatus* is particularly surprising for a species which is adapted to polluted larval breeding sites and usually more familiar with urban environment than traditional villages from this study. Results showed a high heterogeneity of the study area in terms of *Culicidae* and especially malaria vectors abundance. It could be due to the geographic pattern of this area that is characterized by a northern part made of a plateau and the southern watered by several ramification arms of Toho Lake. *An. funestus* density was higher in villages close to arms of Toho Lake (< 2 km), since some of its larval breeding sites are the bank of lake or river with vegetation. In most villages of the study area, the soil is made of a thick bed of a mixture of sand and clay allowing a rapid water infiltration after rain. This impedes the formation of *An. gambiae* larval breeding sites that could explain the low density of malaria vectors. However, on the 5 surveys conducted in each village, only two were conducted during a rainy period (in the beginning of the rainy periods). This could explain the very low number of anopheles vectors caught during the study. Further studies conducted on a long period and taking into account environmental factors are required to better understand mosquito's distribution determinants in this area.

Anopheles gambiae s.s. and *An. funestus* s.s. were shown to be the main vectors in the study area, confirming previous studies in West Africa [20-22]. The

relative abundance of *An. funestus* in the study area and its CSP positivity rate (2.64 ± 1.3) indicate that this mosquito is involved in malaria transmission in southern Benin. No data relative to resistance status and mechanisms of this vector being available in Benin, further studies about *An. funestus* populations and their resistance mechanisms are required. The EIR, 2.05 ± 1.28 infective bites per human per 100 nights on average, indicates that in the study area, malaria is mesoendemic. These data agree with parasitological and clinical data collected in the same way in these villages indicating an annual prevalence rate of 21.8% (19.1-24.4) in young asymptomatic children and a clinical incidence of *Plasmodium falciparum* malaria of 1.5 (1.2-1.9) per child per year (Damien et al. 2010, unpublished data).

The *kdr-w* resistance allele was identified in *An. gambiae* populations examined in this study and have significantly increased from October 2007 to May 2008 in M molecular form in contrast with S form, indicating probably that M and S molecular forms of this vector undergo different selection pressures in the study area and underlines the need of further studies taking into account ecological and others factors. The presence of the *kdr-w* allele in *An. gambiae* s.s. and the increase of its frequency are worrying because this gene and metabolic resistance mechanisms in southern Benin appears to have a significant impact on LLIN efficacy as demonstrated by recent experimental hut trial [23]. Many other studies have showed a strong decrease of Pyrethroid-Treated Nets performance against pyrethroid-resistant malaria vectors in Benin [5,6], Burkina Faso [7], and Côte d'Ivoire [24].

Regarding carbamate resistance, we confirmed the low allelic frequency of the *ace-1^R* allele (< 1%) in *An. gambiae* s.s. in West Africa [25], showing that there is no (or very low) selection pressure on this allele in the study area. However, a monitoring of this resistance gene is required considering the large scale implementation of Indoor Residual Spraying using bendiocarb by President's Malaria Initiative program in south Benin that will inevitably increase the selection pressure on vectors populations.

Conclusion

This study updates information on mosquito's distribution and their role in malaria transmission in southern Benin. It showed a high spatial heterogeneity in mosquitoes distribution and malaria transmission and then underlines the need of further investigations of biological, ecological, and behavioral traits of malaria vectors species and forms. That will allow to cartography

malaria risk and then to improve vector control interventions in Benin.

Acknowledgements

We thank the Ministère Français des Affaires Etrangères for project REFS N° 2006-22 and the Institut de Recherche pour le Développement, which financially and materially supported the work. We thank populations of the study area, OKT health district, for their collaboration. We also thank Seth Irish for his linguistic assistance while drafting this manuscript.

Author details

¹Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC), 06 BP 2604 Cotonou, Bénin. ²Institut de Recherche pour le Développement (IRD/UR016), 01 BP 4414 Cotonou, Bénin. ³Laboratoire de lutte contre les Insectes Nuisibles (LIN/IRD), 911 Ave Agropolis BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France. ⁴Service de Coopération française, Ambassade de France, Cotonou, Bénin.

Authors' contributions

FC and M-CH conceived of the study. AD, JC and FC have participated in the design of the study. Entomologic data was collected by AD, JC, RO, SK, AD, SK and RO carried laboratory analysis. AD, FC, OB and VC have participated in the analysis and interpretation of data. Maps were provided by SBB and NM. The manuscript has been drafted by AD. AD, SBB, NM, M-CH, OB, JC, RO, SK, VC, MA and FC have been involved in manuscript revising. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 14 July 2010 Accepted: 6 September 2010

Published: 6 September 2010

References

1. WHO: **World Malaria Report 2009**. World Health Organization, Geneva 2009.
2. Zaim M, Aitio A, Nakashima N: **Safety of pyrethroid-treated mosquito nets**. *Med Vet Entomol* 2000, **14**:1-5.
3. Santolamazza F, Calzetta M, Etang J, Barrese E, Dia I, Caccone A, Donnelly MJ, Petrarca V, Simard F, Pinto J, della Torre A: **Distribution of knock-down resistance mutations in *Anopheles gambiae* molecular forms in west and west-central Africa**. *Malar J* 2008, **7**:74.
4. Henry MC, Assi SB, Rogier C, Dossou-Yovo J, Chandre F, Guillet P, Carnevale P: **Protective efficacy of lambda-cyhalothrin treated nets in *Anopheles gambiae* pyrethroid resistance areas of Cote d'Ivoire**. *Am J Trop Med Hyg* 2005, **73**:859-864.
5. N'Guessan R, Corbel V, Akogbeto M, Rowland M: **Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin**. *Emerg Infect Dis* 2007, **13**:199-206.
6. Djènontin A, Chabi J, Baldet T, Irish S, Penetier C, Hougard JM, Corbel V, Akogbeto M, Chandre F: **Managing insecticide resistance in malaria vectors by combining carbamate-treated plastic wall sheeting and pyrethroid-treated bed nets**. *Malar J* 2009, **8**:233.
7. Djènontin A, Chandre F, Dabiré KR, Chabi J, N'Guessan R, Baldet T, Akogbeto M, Corbel V: **The Indoor Use of Plastic Sheetting Impregnated with Carbamate in Combination with Long Lasting Insecticidal Mosquito Nets for the Control of Pyrethroid-resistant Malaria**. *Am J Trop Med Hyg* 2010, **83**:266-270.
8. Huttel J: **Note sur la répartition des moustiques dans le Bas-Dahomey**. *Bull Soc Path Exot* 1950, **43**:563-566.
9. Hamon J: **Contribution à l'étude des Culicidés de la région de Porto-Novo (Bas-Dahomey)**. *Ann parasitologie* 1954, **29**:588-594.
10. Edwards F: **Mosquitoes of the Ethiopian Region III. Culicine adults and pupae**. *British Museum (Nat Hist), London* 1941.
11. Gillies MT, De Meillon BL: **The Anophelinae of Africa south of the Sahara**. Publication of the South African Institute for Medical Research, Johannesburg 1968, 54.

12. Gillies MT, Coetzee M: *A Supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara (Afrotropical Region)* Publication of the South African Institute for Medical Research, Johannesburg 1987, 55.
13. Wirtz RA, Zavala F, Charoenvit Y, Campbell GH, Burkot T, Schneider I, Esser KM, Beaudoin RL, Andre RG: **Comparative testing of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* sporozoites for ELISA development.** *Bull World Health Organ* 1987, **65**:39-45.
14. Scott JA, Brogdon WG, Collins FH: **Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction.** *Am J Trop Med Hyg* 1993, **49**:520-529.
15. Koekemoer LL, Kamau L, Hunt RH, Coetzee M: **A cocktail polymerase chain reaction assay to identify members of the *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) group.** *Am J Trop Med Hyg* 2002, **66**:804-811.
16. Favia G, Lanfrancotti A, Spanos L, Siden Kiamos I, Louis C: **Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s.** *Insect Mol Biol* 2001, **10**:19-23.
17. Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson MS, Darriet F, Berge JB, Devonshire AL, Guillet P, Pasteur N, Pauron D: **Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s.** *Insect Mol Biol* 1998, **7**:179-184.
18. Weill M, Malcolm C, Chandre F, Mogensen K, Berthomieu A, Marquine M, Raymond M: **The unique mutation in *ace-1* giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors.** *Insect Mol Biol* 2004, **13**:1-7.
19. Raymond M, Rousset F: **GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism.** *J Heredity* 1995, **86**:248-249.
20. Akogbeto M: **Entomological study on the malaria transmission in coastal and lagoon areas: the case of a village built on a brackish lake.** *Ann Soc Belg Med Trop* 1995, **75**:219-227.
21. Fontenille D, Simard F: **Unravelling complexities in human malaria transmission dynamics in Africa through a comprehensive knowledge of vector populations.** *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004, **27**:357-375.
22. Louise A, Kelly-Hope L, Ellis McKenzie F: **The multiplicity of malaria transmission: a review of entomological inoculation rate measurements and methods across sub-Saharan Africa.** *Malar J* 2009, **8**:19.
23. WHO: **Report of the twelfth WHOPES Working group meeting.** *WHO/HTM/NTD/WHOPES* 2009, **1**.
24. N'Guessan R, Darriet F, Doannio JM, Chandre F, Carnevale P: **Olyset Net efficacy against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* after 3 years' field use in Côte d'Ivoire.** *Med Vet Entomol* 2001, **15**:97-104.
25. Djogbénou L, Dabire R, Diabate A, Kengne P, Akogbeto M, Hougard JM, Chandre F: **Identification and geographic distribution of the ACE-1R mutation in the malaria vector *Anopheles gambiae* in south-western Burkina Faso, West Africa.** *Am J Trop Med Hyg* 2008, **78**:298-302.

doi:10.1186/1756-3305-3-83

Cite this article as: Djènontin *et al.*: *Culicidae* diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasites & Vectors* 2010 **3**:83.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit





Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actatropica



Malaria vectors in the Republic of Benin: Distribution of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex

Luc Djogbénou^{a,b,*}, Nicole Pasteur^c, Sahabi Bio-Bangana^a, Thierry Baldet^{a,b},
Seth R. Irish^d, Martin Akogbeto^a, Mylène Weill^c, Fabrice Chandre^b

^a Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, 06 BP 2604 Cotonou, Benin

^b Laboratoire de Lutte Contre Les Insectes Nuisibles/Institut de Recherche Pour le Développement, 911 Av. Agropolis, 34394 Montpellier, France

^c Université Montpellier 2 - CNRS, Institut des Sciences de l'Evolution, Equipe Génétique de l'Adaptation, C.C. 065, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier, France

^d London School of Hygiene and Tropical Medicine, Keppel Street, WC1E 7HT London, UK

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 July 2009

Received in revised form 22 January 2010

Accepted 1 February 2010

Available online xxx

Keywords:

Anopheles gambiae

Malaria

Specie

Molecular form

Benin

ABSTRACT

Members of the *Anopheles gambiae* complex are among the best malaria vectors in the world, but their vectorial capacities vary between species and populations. A large-scale sampling of *An. gambiae sensu lato* was carried out in 2006 and 2007 in various bioclimatic areas of Benin (West Africa). The objective of this study was to collate data on the relative frequencies of species and forms within the *An. gambiae* complex and to produce a map of their spatial distribution. Sampling took place at 30 sites and 2122 females were analyzed. Two species were identified through molecular methods. The overall collection showed a preponderance of *An. gambiae* s.s., but unexpectedly, *An. arabiensis* was reported in the coastal-Guinean bioclimatic area characterized by a mean annual rainfall of >1500 mm where only *An. gambiae* s.s. was reported previously. Our study of Benin indicates that *An. arabiensis* would be adapted not only to the urban areas but also to the rural humid regions. Among 1717 *An. gambiae* s.s., 26.5% were of the M form and 73.3% were S form. Few hybrid specimens between the M and S forms were observed (0.2%). Only the spatial distribution of the M form appears to be mainly a function of bioclimatic area.

Factors that influence the distribution of these malaria vectors are discussed. This study underlines the need of further investigations of biological, ecological, and behavioral traits of these species and forms to better appreciate their vectorial capacities. Acquisition of entomological field data appears essential to better estimate the stratification of malaria risk and help improve malaria vector control interventions.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In West Africa, *An. gambiae sensu stricto* and *Anopheles arabiensis* constitute the main vectors of malaria. Both species are members of the *Anopheles gambiae* complex that comprises at least seven sibling species (Gillies and Coetzee, 1987; Coetzee et al., 2000). *An. gambiae* s.s. is subdivided into reproductively isolated sub-populations. Five chromosomal forms were initially identified (Forest, Savanna, Bamako, Mopti, and Bissau) based on the patterns of chromosome 2 inversions (Coluzzi et al., 1985; Touré et al., 1998). The distributions of mosquito species are related to bioclimatic factors, and in West Africa, it appears that the different chromosomal forms of *An. gambiae* s.s. may occur sympatrically but are segregated environmentally (Coluzzi et al., 1979; Coluzzi et al., 2002). Subsequent studies revealed that *An. gambiae* s.s. contains two molecular forms,

M and S, recognizable by the differences of their rDNA sequences, either in the intergenic spacer or in the internal transcribed spacer (della Torre et al., 2001; Gentile et al., 2002). Both molecular forms co-exist in West Africa whereas the S form is the only one reported in eastern Africa (della Torre et al., 2005).

Currently, identification of field-collected specimens of the *An. gambiae* complex requires multiple steps. Individual mosquitoes are first identified to the species level by a PCR reaction based on species specific differences in the rDNA region, which includes part of the 28S coding region and part of the IGS region (Scott et al., 1993). In a second step, *An. gambiae* s.s. specimens are identified at the molecular form level by either one method based on PASA (Favia et al., 1997), or another method based on RFLP (Fanello et al., 2002).

The M and S forms are presently considered as units of an ongoing incipient speciation process (della Torre et al., 2001), and many studies have reported a partial or complete reproductive isolation. Evidence of reproductive isolation is based on three types of observations. First, even the M and S forms mate freely in the laboratory, yielding fertile progeny (Diabaté et al., 2007), M/S hybrids

* Corresponding author. Present address: Institut Régional de Santé Publique, Ouidah, 918 Cotonou, Benin. Tel.: +229 21341674; fax: +229 21341672.

E-mail address: Luc.Djogbenou@ird.fr (L. Djogbénou).

are absent or very rare in nature, notably in areas in sympatry (della Torre et al., 2001; Taylor et al., 2001; Wondji et al., 2002). Second, genetic studies using microsatellite loci (Wang et al., 2001; Wondji et al., 2002; Lehmann et al., 2003; Stump et al., 2005) and/or insertion polymorphisms of short interspersed elements (Barnes et al., 2005) revealed an important genetic differentiation between sympatric M and S populations in Cameroon, Burkina Faso, Mali and Kenya. Overall, studies using molecular markers seem to indicate that the differentiation between the M and S forms is restricted to a few regions of the genome, one close to the centromere of the 2nd chromosome, and the other in the centromeric region of the X chromosome that contains the rDNA used for differentiating the two molecular forms (Gentile et al., 2001; Lehmann et al., 2003; Turner et al., 2005). Third, genes conferring resistance to insecticides display large frequency differences in M and S sympatric populations. The *kdr* allele (conferring cross-resistance to DDT and pyrethroids) is very frequent in the S form but not or less in the sympatric M mosquitoes from Côte d'Ivoire, Nigeria and Burkina Faso (Chandre et al., 1999; Awolola et al., 2003; Diabaté et al., 2003). However, this allele is present in both forms in Southern Benin, probably as a result of introgressive hybridization (Weill et al., 2000). Recently, the *ace-1^R* allele (responsible for cross-resistance to carbamate and organophosphate compounds) was found to have the same DNA sequence in M and S molecular forms from Côte d'Ivoire and Burkina Faso. Because the *ace-1^S* susceptible allele displays a high DNA sequence polymorphism, the presence of the same *ace-1^R* sequence in the two molecular forms indicates a recent introgression (Djogbénou et al., 2008). The large genetic heterogeneity observed within natural populations of *An. gambiae* s.s. is expected to be accompanied by biological, ecological and behavioral heterogeneities leading to different vector capacities. Previous study carried out on this subject in Burkina Faso showed that the M form was predominant in (and therefore better adapted to) permanent breeding sites such as rice fields, whereas the S form was predominant in temporal habitats notably rain-filled

puddles which are productive during the wet season (Diabaté et al., 2005).

In order to improve the understanding of these adaptations, it appears necessary to acquire precise data on the spatial distribution of the members of *An. gambiae* complex as well as of the two molecular forms of *An. gambiae* s.s.

We report here the distribution of species and molecular forms of the *An. gambiae* complex observed in Republic of Benin, a West African country not yet investigated which covers three strongly contrasted bioclimatic regions. In the south, near the Atlantic coast, a Guinean-bioclimatic zone with two rainy seasons (April–July and September–November) and an average annual rainfall of >1500 mm with degraded tropical forest. In the north, a Sudanian semi-arid bioclimatic zone with only one rainy season from June to October (mean annual rainfall below 900 mm) and characterized by a dry savanna. In the center, an intermediate bioclimatic zone (tropical Sudano-Guinean climate) with an average rainfall of 1000 mm per year, characterized as humid savanna. As one travels from north to south, mean annual rainfall increases, the number of dry season months decreases, and the vegetation becomes taller and more compact. We compared data from this study to those acquired in the past in the same bioclimatic regions to discuss the long term variation in the relative frequency of each species and molecular form.

2. Materials and methods

2.1. Study areas

The study was conducted in 30 areas, distributed along a south-north transect across Benin, and representing permanent, semi-permanent and temporal breeding sites from urban and rural localities. Seven, eleven and twelve localities were sampled in the Guinean, Sudano-Guinean, and Sudanian bioclimatic zones, respectively (Table 1 and Fig. 1).

Table 1

Sampling sites (listed in each bioclimatic region), dates of collection, rural/urban status.

Climate zone	Sentinel site	Date of collection	Rural or urban status	Longitude	Latitude
Sudanian	Malanville	October 2007	Rural	3°24E	11°52N
	Kandi	October 2007	Rural	2°56E	11°86N
	Tanguiéta	October 2007	Rural	1°16E	10°34N
	Bembereke	October 2007	Rural	2°42E	10°17N
	Natitingou	October 2007	Rural	1°22E	10°18N
	Guessou sud	July 2006	Rural	2°39E	10°28N
	Ina	July 2006	Rural	2°43E	9°59N
	Ndali	July 2006	Rural	2°43E	9°51N
	Djougou	October 2007	Urban	1°39E	9°42N
	Parakou	June 2006	Urban	2°37E	9°21N
	Tchatchou	July 2006	Rural	2°33E	9°67N
	Bassila	October 2007	Rural	1°40E	9°00N
Sudano-Guinean	Tchaourou	July 2006	Rural	2°36E	8°54N
	Papane	July 2006	Rural	2°36E	8°49N
	Save	May 2007	Urban	2°29E	8°20N
	Glazoue	May 2007	Urban	2°14E	7°58N
	Savalou	October 2007	Urban	1°58E	7°56N
	Dassa-Zoume	May 2007	Urban	2°11E	7°47N
	Paouignan	June 2006	Rural	2°13E	7°40N
	Abomey	June 2006	Urban	1°59E	7°11N
	Bohicon	May 2006	Urban	2°49E	7°11N
	Zogbodomey	May 2006	Rural	2°75E	7°33N
	Cana	May 2006	Rural	2°58E	7°63N
Guinean	Sehoue	April 2006	Rural	2°16E	6°55N
	Niaouli	April 2006	Rural	2°67E	6°50N
	Houegbo	April 2006	Rural	2°10E	6°48N
	Allada	March 2006	Urban	2°98E	6°40N
	Tori Bossito	March 2006	Rural	2°89E	6°30N
	Pahou	March 2006	Rural	2°13E	6°23N
	Cotonou	October 2007	Urban	2°28E	6°21N

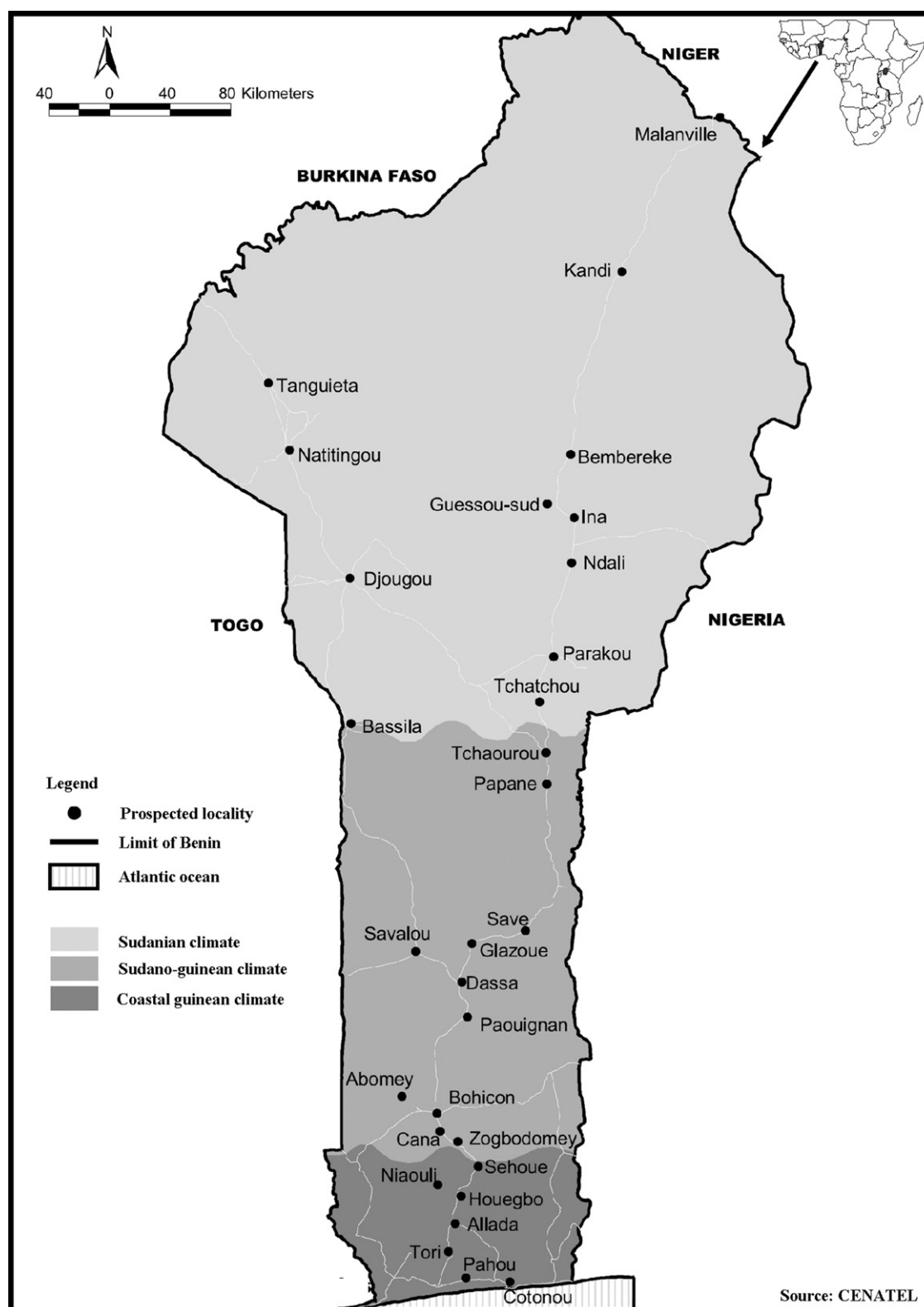


Fig. 1. Map of republic of Benin showing the position of the 30 study sites within each bioclimatic area.

2.2. Sample collections

Mosquitoes were collected as larvae or pupae during the rainy seasons, between March and July 2006, between April and May 2007, and in October 2007. The sampling was guided by the availability and the accessibility of larvae in breeding sites of *An. gambiae*

s.l. Larvae and pupae were stored in separate bottles for each breeding site of each locality. They were transported to the CREC laboratory. Pre-imaginal stages were then reared to adults as follows: larvae from different breeding sites of a same locality were mixed in rearing bowls (each bowl contained larvae from several breeding sites) in order to ensure that the samples used for species

Table 2
Frequencies of species within *Anopheles gambiae* complex and of molecular forms of *Anopheles gambiae* s.s. in Benin.

Bioclimatic area	Locality	Sibling species identification			<i>An. gambiae</i> s.s. molecular forms identification		
		N	<i>An. arabiensis</i>	<i>An. gambiae</i> s.s.	N	M form	S form
Sudanian	Malanville	68	3% (2)	97% (66)	66	100% (66)	0%
	Kandi	68	47% (32)	53% (36)	36	0%	100% (36)
	Tanguieta	64	12.5% (8)	87.5% (56)	56	0% (0)	100% (56)
	Bembereke	71	0%	100% (71)	67	0%	100% (67)
	Natingou	72	0% (0)	100% (72)	72	0% (0)	100% (72)
	Guessou sud	67	0% (0)	100% (67)	63	0% (0)	100% (63)
	Ina	31	0% (0)	100% (31)	30	0% (0)	100% (30)
	Ndali	81	1.2% (1)	98.8% (80)	81*	5% (4)	95% (76)
	Djoungou	48	0% (0)	100% (48)	48	0% (0)	100% (48)
	Parakou	156	86.5% (135)	13.5% (21)	21	4.8% (1)	95.2% (20)
	Tchachou	72	0% (0)	100% (72)	71	10% (7)	90% (64)
	Bassila	80	0% (0)	100% (80)	80	0% (0)	100% (80)
Sudano-Guinean	Tchaourou	67	0%	100% (67)	67	3% (2)	97% (65)
	Papane	68	3% (2)	87% (66)	66	0% (0)	100% (66)
	Save	72	14% (10)	86% (62)	62	0%	100% (62)
	Glazoue	62	91.9% (57)	8.1% (5)	5	0%	100% (5)
	Savalou	72	52.8% (38)	47.2% (34)	34	3% (1)	97% (33)
	Dassa-Zoume	92	13% (12)	87% (80)	79	12.7% (10)	87.3% (69)
	Paouignan	69	37.7% (26)	62.3% (43)	43	0%	100% (43)
	Abomey	72	0%	100% (72)	72	4.2% (3)	95.8% (69)
	Bohicon	72	91.7% (66)	8.3% (6)	6	33.3% (2)	66.7% (4)
	Zogbodomey	24	0% (0)	100% (24)	24	58.3% (14)	41.7% (10)
	Cana	64	0%	100% (64)	63	60.3% (38)	39.7% (25)
Guinean	Sehoue	69	0%	100% (69)	69	27.5% (19)	72.5% (50)
	Niaouli	68	0%	100% (68)	68*	80.6% (54)	19.4% (13)
	Houegbo	71	0% (0)	100% (71)	68	22% (15)	78% (53)
	Allada	72	2.8% (2)	97.2% (70)	70*	8.7% (6)	91.3% (63)
	Torri Bossito	69	0%	100% (69)	69*	75% (51)	25% (17)
	Pahou	69	0%	100% (69)	69	100% (69)	0%
	Cotonou	92	0%	100% (92)	92	100% (92)	0%

N: number of mosquito tested by PCR analysis.
* The population in which each M/S heterozygote was reported.

and molecular forms identification will be representative of a locality and not of specific breeding sites. Larvae of the *An. gambiae* were sorted out morphologically and fed with fish food (TetraMikromin, Tetra Werke, Germany). They were reared to adults under standard conditions, and deep frozen for further analyses.

2.3. Molecular analyses

DNA was extracted from individual adults (Collins et al., 1987). DNA from each specimen was first analyzed using the *An. gambiae* species specific PCR (Scott et al., 1993). Then the DNA of all mosquitoes identified as *An. gambiae* s.s. was subjected to the PCR-PASA assay described by Favia et al. (1997) for identifying the molecular M and S forms. The use of similar standardized techniques for sampling and processing mosquitoes across surveys ensured data consistency.

3. Results

3.1. Species distribution

Among the 2122 mosquitoes of the *An. gambiae* complex collected over 30 sites of the Benin Republic (Table 2), two species, *An. gambiae* s.s. and *An. arabiensis*, were identified (no other member of the complex was detected). They represented 81.4% and 18.6% of the identified mosquitoes, respectively.

An. gambiae s.s. was present in all samples, and was the only species present in 17 out of the 30 sampled sites. In other sites, its frequency varied between 8.1% and 98.8%. In the humid coastal-Guinean area, it represented 99.5% of mosquitoes of the *An. gambiae* complex. It was also more common than *An. arabiensis* in 8 of the

11 sites of the Sudano-Guinean zone and in 11 of the 12 sites of the Sudanian areas.

An. arabiensis was observed in less than half of the sampled sites (13/30 = 43%) where it was sympatric with *An. gambiae* s.s. It was rare in the coastal-Guinean area (frequency of 2.8% in only one of the seven studied sites: the urban site of Allada), but present in 7 of the 11 Sudano-Guinean sites and in 5 of the 12 Sudanian sites. This species was observed at high frequency (>50%) in several urban areas (Bohicon, Savalou, Glazoue, and Parakou) of the Sudano-Guinean and Sudanian areas (Table 2).

3.2. Identification of the molecular forms of *An. gambiae* s.s.

Of the 1728 *An. gambiae* s.s. collected, the majority (99.4%, $n=1717$) was successfully identified to molecular level using PCR (Table 2). Over all samples, the S molecular form was predominant (73.3%). The two molecular forms of *An. gambiae* s.s. was sympatric in 15 out of the 30 studied sites. Four M/S heterozygotes (0.2% of the total analyzed) were found in four different sites where the two molecular forms were sympatric (Tori Bossito, Allada, and Niaouli in the coastal guinean zone, and N'dali in the sudanian zone).

The M form was present in all sites of southern Benin, including the coastal-Guinean zone and southern part of the Sudano-Guinean zone up to Bohicon. The M form was the only form present on the Atlantic coast (Cotonou and Pahou), and up to Bohicon, its frequency was above 20% in 7 of 8 sites (including 4 sites where it was about 60% or more). Then from Abomey to Kandi, it was absent or present at a frequency usually below 10%. The frequency of the M form shows a strong decline with increasing latitudes (Fig. 2). The exception is the Malanville site, where the M form was the only one present, prob-

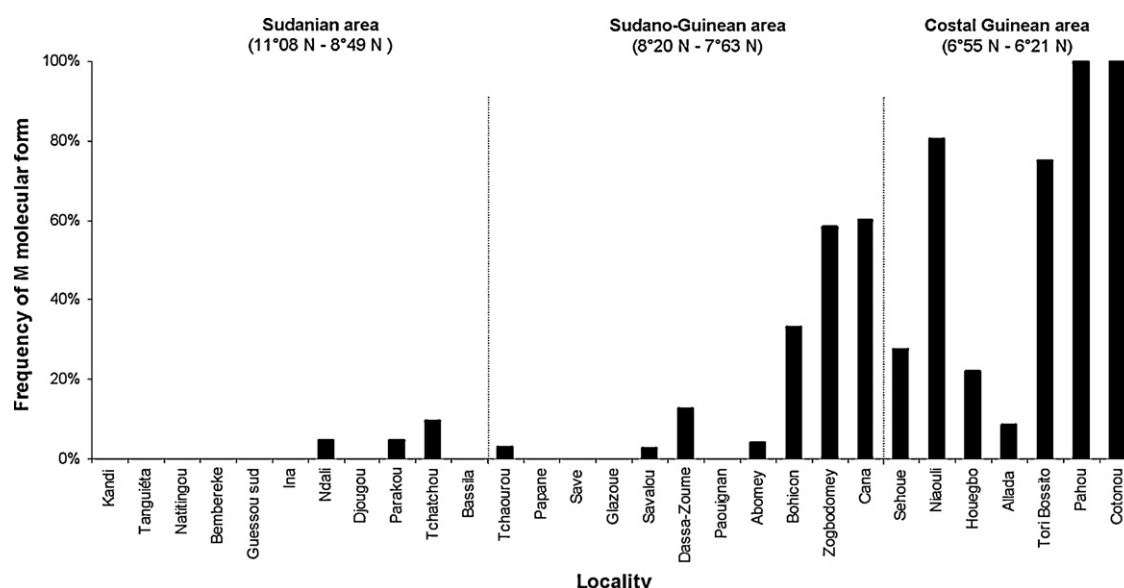


Fig. 2. Comparison of the frequencies of the M molecular form of *Anopheles gambiae* in the different sites between bioclimatic zones. The bar chart indicates the frequency of this molecular form in each site.

On the x-axis, the name of different localities is aligned from north to south.

ably because of the abundance of rice fields irrigated by the Niger River.

The S form was the only molecular form of *An. gambiae* s.s. in 12 sites (3 in the Sudano-Guinean area and 9 in the Sudanian area), and it was the predominant form in 11 other sites (3 coastal-Guinean, 5 Sudanian-Guinean, and 3 Sudanian).

4. Discussion

In this study, we used molecular tools to accurately identify species and forms of the *An. gambiae* complex and, thus, to analyze their precise geographic distribution in the Republic of Benin. Such studies are important for the implementation of targeted vector control interventions, especially in this country where several large campaigns based either on massive distribution of long lasting nets or indoor residual spraying are currently supported by organizations like the Global Fund or President Malaria Initiative. This field survey is also the first one providing data on *An. gambiae* complex over large areas which have never been documented in Benin.

An. gambiae is a complex, with seven sibling species that are closely related and morphologically indistinguishable from each other by routine taxonomic methods. They are however different with respect to ecological and behavioral characteristics and to vectorial competence (White, 1974). In West Africa, *An. gambiae* s.s. and *An. arabiensis* are the two main species of the complex that transmit malaria, with the former being the most efficient vector due to its high anthropophily (Pates et al., 2001; Besansky et al., 2004).

The species of the *An. gambiae* complex observed in Benin were *An. gambiae* s.s. and *An. arabiensis*. *An. melas*, member of the same complex, which has been reported in the coastal lagoon area of South Benin (Akogbeto and Di Deco, 1995) and to some extent along the whole coast of West Africa, is not considered here. Due to its ecological preferences, this halophilic species is limited to saline coastal habitats (e.g. mangrove swamps) which have not been sampled in our study. In addition to its geographical restriction, *An. melas* usually plays a secondary role in malaria transmission due to its strong zoophily and exophily. Despite its behavior, the role of *An. melas* during dry season need to be clarify.

An. gambiae s.s. was predominant (>80%) and had a wide distribution across the country. This agrees with a recent study by Corbel

et al. (2007) carried out in 4 localities from Benin and conforms to the well known distribution of *An. gambiae* s.s. in West Africa (see review of Coetzee et al., 2000).

However, we observed large and sometimes unexpected variations in the relative proportion of *An. arabiensis* and *An. gambiae* s.s. when considering different localities. In West Africa, *An. arabiensis* is generally concentrated in the arid savannah areas due to its high tolerance of dry environment (Gillies and Coetzee, 1987). Previous studies conducted in Nigeria using cytogenetics (Coluzzi et al., 1979) and microsatellites (Onyabe and Conn, 2001) have revealed that *An. arabiensis* existed also in the Guinean region, south of the country. The authors hypothesized that *An. arabiensis* extended its range southward, from drier savannah into humid forest habitats. In Benin, the last study which can serve as a stepping-stone is that of Akogbeto and Di Deco (1995) which found *An. arabiensis* only in the dry savannah areas in the north. In the present study, we sampled *An. arabiensis* at relatively high frequencies in the centre of Benin, characterized by a mean annual rainfall of 1000 mm, (Glazoue, Savalou, Dassa-Zoume, Paouignan, Bohicon and Parakou). Furthermore, two individual mosquitoes belonging to *An. arabiensis* were found in a city (Allada) located in the Guinean climate area, a more humid region. Although differences in sampling technique may explain the disparity in distribution between the two studies and that only few specimens have been found in the southern humid area, our recent work suggests a change in the distribution of *A. arabiensis* in Benin. Thus, we give credence to the hypothesis made by Lindsay and Martens (1998) that *An. arabiensis* may be in process of expanding its range southward from arid savannah into more humid area affected by drought and/or human activities (deforestation and urbanization). This situation corroborates findings from the neighboring country, Nigeria, which has a same climatic pattern as that of Benin republic (Coluzzi et al., 1979; Onyabe and Conn, 2001; Kristan et al., 2003).

Several studies reported that abiotic and biotic characteristics related to climate, topographic, human disturbance of the natural environment (deforestation, urbanization, and irrigation) can favor the spread and colonization of new areas by efficient malaria vectors, increasing the risk of transmission (Antonio-Nkondjio et al., 2005; Guerra et al., 2006). Overall, do malaria vectors change their ranges in response to environmental changes? Do they colonize

new areas that have become suitable? Does the ecological niche shift over time? The answers to these questions can be used to examine factors affecting the dynamics of malaria vectors species distribution. Nevertheless further studies are needed to confirm our preliminary results: the spreading of *An. arabiensis* in south Benin, not only in urban settlement but also in rural environment.

An. arabiensis and *An. gambiae* s.s. have a different vectorial competency (White, 1974) but *An. arabiensis* is also known to have a higher behavioral plasticity with respect to feeding and resting (Gillies and De Meillon, 1968; Chauvet and Rajaonarivelo, 1973; Gillies and Coetzee, 1987). The spreading of *An. arabiensis* may affect the distribution and abundance of these species and can therefore affect the transmission of malaria. Furthermore, more recent surveys indicated that this species is less resistant to insecticides (Czeher et al., 2008; Ndjemai et al., 2009) and should be easier to control. However, such *An. arabiensis* spreading, particularly in West African cities, may induce an increase of its anthropophily and thus of its vectorial capacity that will severely raised the risk of urban malaria in the next future. The vectorial competency of *An. arabiensis* newly adapted to urban zone should now be compared to those of *An. arabiensis* rural mosquitoes and to *An. gambiae* s.s. Our findings emphasize the need to understand how *An. arabiensis* populations evolve in the field and how its high adaptive potential could influence the design and implementation of an integrated vector control program.

Our study shows that the S molecular form of *An. gambiae* s.s. is predominant with a large distribution across the country. This agrees with findings from a study in Nigeria (Onyabe et al., 2003) and similar to reports from other west African countries such as Cameroon (Wondji et al., 2002) and Burkina Faso (Dabiré et al., 2009). Finally, the level of hybridization between M and S forms is variable in West Africa. While, a very low frequency of hybrids (less than 2%) was observed in Burkina Faso, Côte d'Ivoire and Nigeria (della Torre et al., 2005), a relatively high frequency of hybrids (up to 24%) was recorded in Gambia and Guinea Bissau, both countries located in the extreme western part of the continent (Caputo et al., 2008; Oliveira et al., 2008). In Benin, we observed only 4 M/S hybrids among the 1717 *An. gambiae* s.s. tested (0.2%), and 3 of them were found in the coastal-Guinean bioclimatic region. This observation reinforces the hypothesis of incomplete but substantial barriers to gene flow between the two molecular forms in this country. In particular it strengthens the previous observation that insecticide resistance genes, such as the *ace-1^R* allele (conferring cross-resistance to organophosphates and carbamate insecticides) found in the two forms was the result of a recent and ongoing introgression (Djogbénou et al., 2008).

The evolution of insecticide and drug resistance and the complexity of vectorial system have seriously challenged standard public health approaches to control malaria and to date, alternative measures are desperately needed. One approach to controlling transmission that is being actively pursued by several laboratories is to develop mosquitoes that are genetically modified to resist infection and then drive the refractory genes into wild vector populations. Another approach that may be effective is based on sterile male release. Both approaches that target particular vector populations require a thorough understanding of the spatial and temporal distribution of species and forms of *An. gambiae* s.l.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from Institut de Recherche pour le Développement (BSTD/DSF/IRD). It is the contribution ISEM-XX-2010 of the Institut des Sciences de L'Evolution de Montpellier (UMR CNRS-UM2 5554).

Authors are grateful to S. Koudénoukpo for his technical assistance during laboratory assays and mosquito collections.

References

- Akogbeto, M., Di Deco, M.A., 1995. Répartition des membres du complexe *Anopheles gambiae* et de leurs variants chromosomiques au Bénin et au Togo, Afrique occidentale. *J. Afr. Zool.* 109, 443–454.
- Awolola, T.S., Brooke, B.D., Koekemoer, L.L., Coetzee, M., 2003. Absence of the *kdr* mutation in the molecular 'M' form suggests different pyrethroid resistance mechanisms in the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* s.s. *Trop. Med. Int. Health* 8, 420–422.
- Antonio-Nkondjio, C., Simard, F., Awono-Ambene, P., Ngassam, P., Toto, J.C., Tchuinkam, T., Fontenille, D., 2005. Malaria vectors and urbanization in the equatorial forest region of south Cameroon. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 99, 347–354.
- Barnes, M.J., Lobo, N.F., Coulibaly, M.B., Sagnon, N.F., Costantini, C., Besansky, N.J., 2005. SINE insertion polymorphism on the X chromosome differentiates *Anopheles gambiae* molecular forms. *Insect. Mol. Biol.* 14, 353–363.
- Besansky, N.J., Hill, C.A., Costantini, C., 2004. No accounting for taste: host preference in malaria vectors. *Trends Parasitol.* 20, 249–251.
- Caputo, B., Nwakanma, D., Jawara, M., Adiamoh, M., Dia, I., Konate, L., Petrarca, V., Conway, D.J., Della Torre, A., 2008. *Anopheles gambiae* complex along the Gambia river, with particular reference to the molecular forms of *An. gambiae* s.s. *Malar. J.* 7, 182.
- Chandre, F., Darriet, F., Manguin, S., Brengues, C., Carnevale, P., Guillet, P., 1999. Pyrethroid cross resistance spectrum among populations of *Anopheles gambiae* s.s. from Côte d'Ivoire. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 15, 53–59.
- Chauvet, G., Rajaonarivelo, E., 1973. Modification de comportement d'une espèce et variation de la composition d'une population appartenant au complexe *Anopheles gambiae* pendant et après les pulvérisations d'insecticides domiciliaires dans les environs de Tananarive (Madagascar). *Cah. ORSTOM. Sér. Ent. Méd. Parasitol.* 11, 155–167.
- Coetzee, M., Craig, M., Sueur, D.L., le Sueur, D., 2000. Distribution of African malaria mosquitoes belonging to the *Anopheles gambiae* complex. *Parasitol. Today* 16, 74–77.
- Collins, F.H., Mendez, M.A., Rasmussen, M.O., Mehaffey, P.C., Besansky, N.J., Finnerty, V., 1987. A ribosomal RNA gene probe differentiates member species of *Anopheles gambiae* complex. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 37, 37–41.
- Coluzzi, M., Sabatini, A., Petrarca, V., Di Deco, M.A., 1979. Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 73, 483–497.
- Coluzzi, M., Petrarca, V., Di Deco, M.A., 1985. Chromosomal inversion intergradation and incipient speciation in *Anopheles gambiae*. *Bollettino di Zoologia* 52, 45–63.
- Coluzzi, M., Sabatini, A., della Torre, A., Di Deco, M.A., Petrarca, V., 2002. A polytene chromosome analysis of the *Anopheles gambiae* species complex. *Science* 298, 1415–1418.
- Corbel, V., N'Gouessan, R., Brengues, C., Chandre, F., Djogbénou, L., Martin, T., Akogbeto, M., Hougaard, J.M., Rowland, M., 2007. Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. *Acta Trop.* 101, 207–216.
- Czeher, C., Labbo, R., Arzika, I., Duchemin, J.-B., 2008. Evidence of increasing Leu-Phe knockdown resistance mutation in *Anopheles gambiae* from Niger following a nationwide long-lasting insecticide-treated nets implementation. *Malaria J.* 7, 189.
- Dabiré, K.R., Diabaté, A., Namountougou, M., Toé, K.H., Ouari, A., Kengne, P., Bass, C., Baldet, T., 2009. Distribution of pyrethroid and DDT resistance and the L1014F *kdr* mutation in *Anopheles gambiae* s.l. from Burkina Faso (West Africa). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 103, 1113–1120.
- della Torre, A., Fanello, C., Akogbeto, M., Dossou-yovo, J., Favia, G., Petrarca, V., Coluzzi, M., 2001. Molecular evidence of incipient speciation within *Anopheles gambiae* s.s. in West Africa. *Insect Mol. Biol.* 10, 9–18.
- della Torre, A., Tu, Z., Petrarca, V., 2005. On the distribution and genetic differentiation of *Anopheles gambiae* s.s. molecular forms. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 35, 755–769.
- Diabaté, A., Baldet, T., Chandre, F., Dabire, K.R., Kengne, P., Guiguemde, T.R., Simard, F., Guillet, P., Hemingway, J., Hougaard, J.M., 2003. *kdr* mutation, a genetic marker to assess events of introgression between the molecular M and S forms of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in the tropical savannah area of West Africa. *J. Med. Entomol.* 40, 195–208.
- Diabaté, A., Dabire, K.R., Kim, E.H., Dalton, R., Millogo, N., Baldet, T., Simard, F., Gimnig, J.E., Hawley, W.A., Lehmann, T., 2005. Larval development of the molecular forms of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in different habitats: a transplantation experiment. *J. Med. Entomol.* 42, 548–553.
- Diabaté, A., Dabiré, K.R., Millogo, N., Lehmann, T., 2007. Evaluating the effects of postmating isolation between molecular forms of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 44, 60–64.
- Djogbénou, L., Chandre, F., Berthomieu, A., Dabire, R., Koffi, A., Alout, H., Weill, M., 2008. Evidence of introgression of the *ace-1(R)* mutation and of the *ace-1* duplication in West African *Anopheles gambiae* s.s. *PLoS ONE* 3, e2172.
- Fanello, C., Santolamazza, F., Torre, A.D., Della Torre, A., 2002. Simultaneous identification of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex by PCR-RFLP. *Med. Vet. Entomol.* 16, 461–464.
- Favia, G., Torre, A.D., Bagayoko, M., Lanfrancotti, A., Sagnon, N.F., Touré, Y.T., Coluzzi, M., Della Torre, A., 1997. Molecular identification of sympatric chromosomal forms of *Anopheles gambiae* and further evidence of their reproductive isolation. *Insect Mol. Biol.* 6, 377–383.

- Gentile, G., Slotman, M., Ketmaier, V., Powell, J.R., Caccone, A., 2001. Attempts to molecularly distinguish cryptic taxa in *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol. Biol.* 10, 25–32.
- Gentile, G., Della Torre, A., Maegga, B., Powell, J.R., Caccone, A., 2002. Genetic differentiation in the African malaria vector, *Anopheles gambiae* s.s., and the problem of taxonomic status. *Genetics* 161, 1561–1578.
- Gillies, M.T., De Meillon, B., 1968. The Anophelinae of Africa south of the Sahara, 2nd edn. Publications of the South African Institute for Medical Research, Johannesburg, p. 54.
- Gillies, M.T., Coetzee, M., 1987. Supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara. South African Institute of Medical Research Johannesburg, Publication no. 55., South Africa.
- Guerra, C.A., Snow, R.W., Hay, S.I., 2006. A global assessment of closed forests, deforestation and malaria risk. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 100, 189–204.
- Kristan, M., Fleischmann, H., Della Torre, A., Stich, A., Curtis, C.F., 2003. Pyrethroid resistance/susceptibility and differential urban/rural distribution of *Anopheles arabiensis* and *An. gambiae* s.s. malaria vectors in Nigeria and Ghana. *Med. Vet. Entomol.* 17, 326–332.
- Lehmann, T., Licht, M., Elissa, N., Maega, B.T., Chimumbwa, J.M., Watsenga, F.T., Wondji, C.S., Simard, F., Hawley, W.A., 2003. Population Structure of *Anopheles gambiae* in Africa. *J. Hered.* 94, 133–147.
- Lindsay, S.W., Martens, W.J., 1998. Malaria in the African highlands: past, present and future. *Bull. World Health Organ.* 76, 33–45.
- Ndjemai, H.N., Patchoke, S., Atangana, J., Etang, J., Simard, F., Bilong, C.F., Reimer, L., Cornel, A., Lanzaro, G.C., Fondjo, E., 2009. The distribution of insecticide resistance in *Anopheles gambiae* s.l. populations from Cameroon: an update. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 103, 1127–1138.
- Oliveira, E., Salgueiro, P., Palsson, K., Vicente, J.L., Arez, A.P., Jaenson, T.G., Caccone, A., Pinto, J., 2008. High levels of hybridization between molecular forms of *Anopheles gambiae* from Guinea Bissau. *J. Med. Entomol.* 45, 1057–1063.
- Onyabe, D.Y., Conn, J.E., 2001. Population genetic structure of the malaria mosquito *Anopheles arabiensis* across Nigeria suggests range expansion. *Mol. Ecol.* 10, 2577–2591.
- Onyabe, D.Y., Vajime, C.G., Nock, I.H., Ndams, I.S., Akpa, A.U., Alaribe, A.A., Conn, J.E., 2003. The distribution of M and S molecular forms of *Anopheles gambiae* in Nigeria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 97, 605–608.
- Pates, H.V., Takken, W., Stuke, K., Curtis, C.F., 2001. Differential behaviour of *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae) to human and cow odours in the laboratory. *Bull. Entomol. Res.* 91, 289–296.
- Scott, J.A., Brogdon, W.G., Collins, F.H., 1993. Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 49, 520–529.
- Stump, A.D., Fitzpatrick, M.C., Lobo, N.F., Traore, S., Sagnon, N., Costantini, C., Collins, F.H., Besansky, N.J., 2005. Centromere-proximal differentiation and speciation in *Anopheles gambiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 15930–15935.
- Taylor, C., Touré, Y.T., Carnahan, J., Norris, D.E., Dolo, G., Traore, S.F., Edillo, F.E., Lanzaro, G.C., 2001. Gene flow among populations of the malaria vector, *Anopheles gambiae*, in Mali, West Africa. *Genetics* 157, 743–750.
- Touré, Y.T., Petrarca, V., Traore, S.F., Coulibaly, A., Maiga, H.M., Sankare, O., Sow, M., Di Deco, M.A., Coluzzi, M., 1998. The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. *Parassitologia* 40, 477–511.
- Turner, T.L., Hahn, M.W., Nuzhdin, S.V., 2005. Genomic islands of speciation in *Anopheles gambiae*. *PLoS Biol.* 3, e285.
- Wang, R., Zheng, L., Touré, Y.T., Dandekar, T., Kafatos, F.C., 2001. When genetic distance matters: measuring genetic differentiation at microsatellite loci in whole-genome scans of recent and incipient mosquito species. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 10769–10774.
- Weill, M., Chandre, F., Brengues, C., Manguin, S., Akogbeto, M., Pasteur, N., Guillet, P., Raymond, M., 2000. The *kdr* mutation occurs in the Mopti form of *Anopheles gambiae* s.s. through introgression. *Insect Mol. Biol.* 9, 451–455.
- White, G.B., 1974. *Anopheles gambiae* complex and disease transmission in Africa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 68, 278–301.
- Wondji, C., Simard, F., Fontenille, D., 2002. Evidence for genetic differentiation between the molecular forms M and S within the Forest chromosomal form of *Anopheles gambiae* in an area of sympatry. *Insect Mol. Biol.* 11, 11–19.

Combination of malaria vector control interventions in pyrethroid resistance area in Benin: a cluster randomised controlled trial



Vincent Corbel, Martin Akogbeto*, Georgia B Damien*, Arnel Djenontin, Fabrice Chandre, Christophe Rogier, Nicolas Moiroux, Joseph Chabi, Bio Banganna, Gil G Padonou, Marie-Claire Henry

Summary

Background Malaria control efforts and elimination in Africa are being challenged by the development of resistance of parasites to antimalarial drugs and vectors to insecticides. We investigated whether the combination of long-lasting insecticidal mosquito nets (LLINs) with indoor residual spraying (IRS) or carbamate-treated plastic sheeting (CTPS) conferred enhanced protection against malaria and better management of pyrethroid-resistance in vectors than did LLINs alone.

Methods We did a cluster randomised controlled trial in 28 villages in southern Benin, west Africa. Inclusion criteria of the villages were moderate level of pyrethroid resistance in malaria vectors and minimum distance between villages of 2 km. We assessed four malaria vector control interventions: LLIN targeted coverage to pregnant women and children younger than 6 years (TLLIN, reference group), LLIN universal coverage of all sleeping units (ULLIN), TLLIN plus full coverage of carbamate-IRS applied every 8 months (TLLIN+IRS), and ULLIN plus full coverage of CTPS lined up to the upper part of the household walls (ULLIN+CTPS). The interventions were allocated to villages by a block randomisation on the basis of preliminary surveys and children of each village were randomly selected to participate with computer-generated numbers. The primary endpoint was the incidence density rate of *Plasmodium falciparum* clinical malaria in children younger than 6 years as was analysed by Poisson regression taking into account the effect of age and the sampling design with a generalised estimating equation approach. Clinical and parasitological information were obtained by active case detection of malaria episodes during 12 periods of 6 consecutive days scheduled at six weekly intervals and by cross-sectional surveys of asymptomatic plasmodial infections. Children or study investigators were not masked to study group. This study is registered with Current Controlled Trials, number ISRCTN07404145.

Findings Of 58 villages assessed, 28 were randomly assigned to intervention groups. 413–429 children were followed up in each intervention group for 18 months. The clinical incidence density of malaria was not reduced in the children from the ULLIN group (incidence density rate 0.95, 95% CI 0.67–1.36, $p=0.79$), nor in those from the TLLIN+IRS group (1.32, 0.90–1.93, $p=0.15$) or from the ULLIN+CTPS group (1.05, 0.75–1.48, $p=0.77$) compared with the reference group (TLLIN). The same trend was observed with the prevalence and parasite density of asymptomatic infections (non significant regression coefficients).

Interpretation No significant benefit for reducing malaria morbidity, infection, and transmission was reported when combining LLIN+IRS or LLIN+CTPS compared with a background of LLIN coverage. These findings are important for national malaria control programmes and should help the design of more cost-effective strategies for malaria control and elimination.

Funding Ministère Français des Affaires Etrangères et Européennes (FSP project 2006-22), Institut de Recherche pour le Développement, President's Malaria Initiative (PMI) of US Government.

Introduction

Despite substantial efforts and increasing international funding dedicated throughout the world to control and eliminate malaria,¹ the disease is still a major public health issue with nearly 216 million cases a year and about 655 000 deaths, 86% of whom are children younger than 5 years.² Recommendations of the World Health Organization (WHO Global Malaria Programme-Roll Back Malaria [RBM] Partnership) to combat malaria include artemisinin-based combination therapy and long-lasting insecticidal nets (LLIN), supported by indoor

residual spraying of insecticide (IRS) and intermittent preventive treatment during pregnancy. Between 2008 and 2010, nearly 289 million insecticide-treated mosquito nets were delivered to sub-Saharan Africa, enough to protect 578 million people. Additionally, about 81 million people, representing 11% of the population at risk, were also protected by IRS.² Deployment of such strategies has shown important reduction in malaria-associated morbidity and mortality in settings with moderate-to-high transmission levels in sub-Saharan Africa,^{3,4} but a recent increase of malaria cases was

Published Online

June 7, 2012

DOI:10.1016/S1473-3099(12)70081-6

See Online/Comment

DOI:10.1016/S1473-3099(12)70139-1

*These authors contributed equally

Institut de Recherche pour le Développement, Maladies Infectieuses et Vecteurs, Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle (IRD 224-CNRS 5290 UM1-UM2), Cotonou, Benin, and Montpellier, France (V Corbel PhD, G B Damien MD, A Djenontin PhD, F Chandre PhD, N Moiroux MSc, J Chabi BSc); Centre de Recherches Entomologiques de Cotonou, Cotonou, Benin (V Corbel, Prof M Akogbeto PhD, G B Damien, A Djenontin, N Moiroux, J Chabi, B Banganna MSc, G G Padonou MSc); Laboratoire de lutte contre les Insectes Nuisibles, Montpellier, France (F Chandre); Institut Pasteur de Madagascar, Madagascar (Prof C Rogier MD); Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes, Faculté de Médecine La Timone, Université de la Méditerranée, Marseille, France (Prof C Rogier); and Service de Coopération et d'Actions Culturelles, French Embassy, Cotonou, Benin (M-C Henry MD)

Correspondence to:

Dr Vincent Corbel, Institut de Recherche pour le Développement, Maladies Infectieuses et Vecteurs, Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle (IRD 224-CNRS 5290 UM1-UM2), et Centre de Recherches Entomologiques de Cotonou, Cotonou, Benin
vincent.corbel@ird.fr

reported in some African countries, hence underlining the fragility of malaria prevention and control in this part of the world.^{2,5}

The overarching goal of malaria vector control is to decrease the vectorial capacity of local vector populations below the critical threshold needed to achieve a malaria reproduction number (R_0 , the expected number of human cases that arise from each human case in a population) of less than one. Unfortunately, current methods (LLIN and IRS) are highly dependent on a single class of insecticides, the pyrethroids, for which malaria vectors have developed various resistance mechanisms.⁶ To ensure the success of vector control efforts and malaria elimination in Africa, the WHO-RBM and Malaria Eradication Research Agenda (malERA) consultative vector control group emphasised the need to search for innovative strategies. These strategies should aim at more effective control of pyrethroid-resistant malaria vectors to strongly decrease and interrupt disease transmission in endemic areas.^{7,8}

In some countries where more resources have become available, malaria control programmes have recently deployed both IRS and LLIN in the same malaria risk areas.² The aims of this combined approach are to reduce transmission—and hence the malaria burden—more rapidly than might be feasible with one method alone and to delay the emergence of insecticide resistance by use of different classes of insecticide for IRS and LLINs. So far, a small number of studies^{9,10} and mathematical modelling exercises^{11,12} suggest that such combination has an added benefit for reduction of the risk of infection because the people not protected by one of the interventions are protected by the other. However, all the available studies were observational (ie, non experimental, without randomised allocation of the interventions), and in none of them could confounding factors be entirely excluded. Despite the great interest in combining methods for malaria control and elimination, no evidence exists for an epidemiological effect of LLIN and IRS, which we define here as the implementation of both interventions at the same time, in the same community, and against the same vector population.

The aim of this study was to investigate whether the use of both interventions in combination (ie, LLIN plus IRS or LLIN plus carbamate-treated plastic sheeting [CTPS]) afforded enhanced protection against clinical malaria at community level and a better management of pyrethroid-resistance in malaria vectors than did a selective coverage of LLIN in children younger than 6 years (reference group according to recommendations by the National Malaria Control Programme [NMCP]). The rationale behind the use of CTPS came from results of preliminary experimental hut studies in west Africa that showed good insecticidal activity of CTPS against pyrethroid-resistant malaria vectors.^{13,14} The trial also aimed at determining whether universal coverage of LLIN could afford better protection against malaria than

would selective coverage by achieving a mass killing effect.¹⁵ The assumption is that much more reduction of transmission is expected with universal coverage of all sleeping units with LLIN (ULLIN) because of a reduction of the infection rate of vectors by poor access to the largest part of the human population that is infected (oldest children and adults) and the shortening of the life expectancy of the vectors.

Methods

Study design

We did a cluster randomised controlled trial in the health district of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito (OKT), southern Benin, between June 23, 2008, and Dec 24, 2009. The inclusion criteria for villages were moderate level of pyrethroid resistance in malaria vectors (*kdr* allelic frequency <40%), minimum distance of 2 km between villages, population size of 250–500 inhabitants with non-isolated habitations, and absence of a local health centre. Inclusion criteria for children were age (0–71 months) and their effective domiciliation in these villages. A random sample of children of each village was selected to participate. Before the trial, the head of the family (or the guardian) of the selected children gave their written informed consent. Mosquito collectors gave their written informed consent and were treated free of charge for malaria presumed illness throughout the study. All sick children (presenting symptoms such as fever, shiver, asthenia, vomiting, diarrhoea, etc) participating or not in the study were treated according to integrated management of childhood illness.¹⁶ At the end of the study, all villages that participated in the study received universal coverage of LLINs. There was no subsidised or free distribution policy of other vector control methods and artemisinin combination therapy in agreement with the NMCPs. Ethics clearance for the study was obtained from the National Ethical Committee for Medical Research in Benin and Institut de Recherche pour le Développement (IRD)'s ethics committee. Ethics clearance was registered as IRB00006860.

Randomisation and masking

The interventions were allocated to the villages by a block randomisation on the basis of preliminary surveys (appendix). Villages were first ranked (1) for clinical malaria incidence, (2) for densities of *Anopheles gambiae*, (3) for densities of *Anopheles funestus* (secondary vector), and (4) for the size of the population per village; these ranks were multiplied by 5, 2, 1, and 0.5, respectively. The four weighted ranks were summed per village and villages were sorted in seven blocks of four villages having successive ranks. In each block, villages were randomly allocated to one of the four interventions, using computer-generated random numbers. In each village, we randomly selected 60 children younger than 6 years from the census list of the inhabitants to participate using computer-generated random numbers. The

See Online for appendix

allocation sequence and randomisation of the blocks and children were prepared by the study statistician at IRDCREC. Children and study investigators were not masked to treatment allocation.

Procedures

The four malaria vector control interventions assessed were; (1) LLIN-targeted coverage [TLLIN] to pregnant women and children younger than 6 years that served as a reference group; (2) ULLIN, (3) LLIN-targeted coverage to pregnant women and children younger than 6 years plus full coverage of carbamate-IRS (TLLIN+IRS), and (4) LLIN-universal coverage of sleeping units plus full coverage of CTPS lined up to the walls of the household (ULLIN+CTPS). Before the study, all existing impregnated nets were replaced by new Permanet 2.0 (Vestergaard Frandsen, Lausanne, Switzerland), a WHO approved LLIN containing 55 mg active ingredient of deltamethrin per m². Before allocation of the intervention, we did a comprehensive census in every village to identify the number of houses and sleeping units to be covered. For LLIN-targeted coverage (ie, TLLIN and TLLIN+IRS), one LLIN was provided per sleeping unit of children younger than 6 years or pregnant women, or both, whereas one net was given to every sleeping unit for LLIN-universal coverage (ie, ULLIN and ULLIN+CTPS). Overall, this corresponds to an average of one LLIN every four people for TLLIN and one net every two people for ULLIN (census showed that the mean number of people per house was four). For IRS, treatment was given every 8 months with bendiocarb (FICAM 80, Bayer, Leverkusen, Germany) at the WHO recommended target dose of 400 mg/m².¹⁷ The CTPS were made of polypropylene (Filtisac SA, Abidjan, Côte d'Ivoire) and were impregnated manually by a qualified staff of the Centre de Recherches Entomologiques de Cotonou (Ministry of Health), Benin, as previously described.¹⁴ CTPS were impregnated with bendiocarb at 200 mg/m² and fixed just to the upper third part of the walls to comply with the human risk assessment done by the manufacturer. The CTPS was reimpregnated every 4 months according to the residual efficacy of bendiocarb on the polypropylene fabric.¹⁴ The residual activity of bendiocarb on walls and polypropylene-treated material was checked regularly with WHO cone bioassays in houses selected at random with a laboratory-susceptible reference strain (Kisumu) of *A. gambiae*.

Active case detection for malaria episodes was done on the cohort of children during 12 periods of 6 consecutive days at six weekly intervals. Every day, a nurse assisted by a local villager trained for the study visited participated children and recorded data on each case of sickness detected at home under the supervision of a head physician. A thick blood film was taken from every sick child, and children were treated according to the clinical diagnosis made by the nurse. Cross-sectional surveys were done at each period of clinical monitoring on every

asymptomatic child who showed axillary's temperature of less than 37.5°C. A thick film sample was taken on the fourth day to ensure that asymptomatic children were not sick in preceding days. Detailed methodology of active case detection and cross-sectional surveys is described elsewhere.¹⁸

From Jan 14, to Dec 24, 2009, mosquitoes were collected through eight surveys of 2 consecutive days every 6 weeks. This collection occurred 2 weeks before medical surveys. Adult female mosquitoes were caught using human landing catches technique both indoors and outdoors at four sites per village from 10 pm to 6 am and for two consecutive nights per survey (ie, 16 person-nights per village per survey). Independent staff regularly checked quality of the mosquito collections on a randomly selected sample representing 12% of the total night-collection. Anopheline species were identified with morphological criteria according to the identification keys for anophelinae of sub-Saharan Africa.^{19,20} Ovaries of female mosquitoes belonging to the *A. gambiae* complex and *A. funestus* were examined to determine the parity rate (percentage of parous female individuals). Then, mosquitoes were stored in the laboratory, as described by Djénontin and colleagues.¹⁴

Plasmodium infections were detected on Giemsa stained thick smears, as described previously.¹⁸ Cross-check quality control was regularly done on a randomly selected sample representing 10% of all thick smears. Clinical malaria was defined by symptoms evoking malaria plus a parasite density above 2000 parasites per μ L.¹⁸

Heads and thoraces of anopheline female mosquitoes were tested by ELISA for detection of *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein (CSP).²¹ All mosquitoes belonging to *A. gambiae* complex and

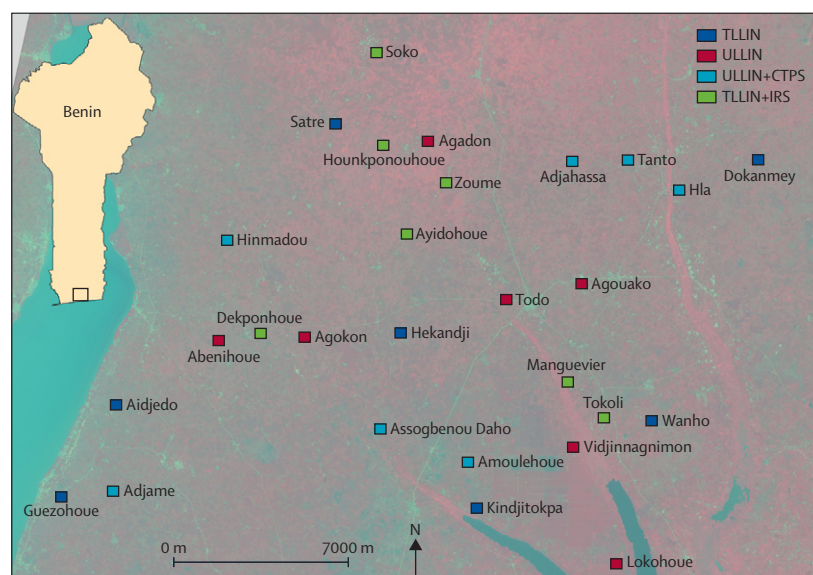


Figure 1: Map of the study area showing the allocation of the study groups

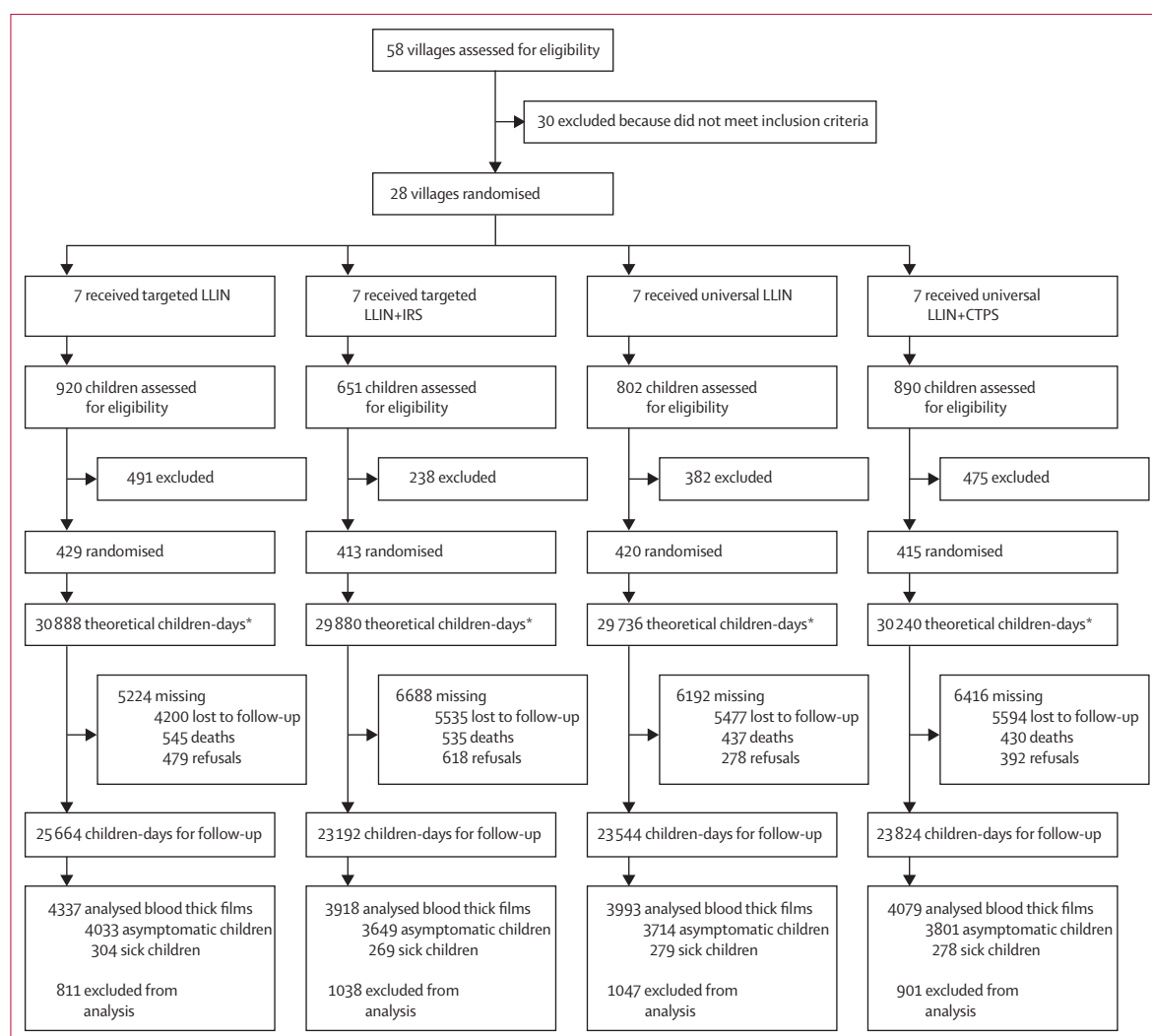


Figure 2: Trial profile

LLIN=long-lasting insecticidal mosquito nets. IRS= residual spraying of insecticide. CTPS=carbamate-treated plastic sheetings. *Number of children multiplied by number of days of follow-up (12 surveys×6 days).

	TLLIN	ULLIN	ULLIN+CTPS	TLLIN+ IRS	Total
Number of inhabitants	3018	1996	2251	2660	9925
Population density per km ²	449	462	577	579	..
Average number of people per household	3.9	3.4	3.7	3.6	3.7
Proportion of mud houses (%)	96%	88%	92%	89%	92%
Number of registered children	920	651	802	890	3263
Mean age (years, SD)	1.4 (1.1)	1.4 (1.1)	1.4 (1.0)	1.3 (1.1)	1.4 (1.1)
Sex ratio (female/male)	0.98	0.96	1.0	0.85	0.96

LLIN=long-lasting insecticidal mosquito nets. TLLIN=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years (reference group). ULLIN=LLIN-universal coverage of sleeping units. TLLIN+IRS=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years plus full coverage of carbamate-IRS. ULLIN+CTPS=LLIN-universal coverage of sleeping units plus full coverage of carbamate-treated plastic sheetings (CTPS).

Table 1: Baseline characteristics of villages just before implementation of the interventions

A *funestus* group were identified by PCR at the species levels.^{22,23} Molecular characterisation of the L1014F *knr* mutation (conferring resistance to pyrethroids) and the *ace.1* G119S substitution (conferring resistance to carbamates) was done on all mosquitoes belonging to A *gambiae* complex as previously described.^{24,25}

We monitored the ownership, coverage, use, and integrity of the different vector control interventions every 3 months during the trial. At every one of five surveys, 40% of the households were checked at random. LLINs were initially labelled with wash-resistant ink to check whether nets initially distributed were still in place in the households at every survey. We defined the ownership as the number of owned LLINs relative to the total number of LLINs distributed. We defined the coverage as the total number of hung nets relative to the total number of sleeping units. LLIN use was the proportion of children younger than 6 years sleeping

	n/N	Value (95% CI)	Incidence density ratio (95% CI)	Multiplicative coefficient (95% CI)	Odds ratio (95% CI)	p value	Overall p value
Clinical incidence density (per 100 children-months)							0.99
TLLIN	..	10.2 (5.8–14.1)	1	..	..	..	
ULLIN	..	9.3 (5.7–14.2)	0.98 (0.65–1.49)	..	..	0.94	
TLLIN+IRS	..	8.4 (5.1–13.1)	0.93 (0.57–1.54)	..	..	0.78	
ULLIN+CTPS	..	9.1 (5.6–14.0)	0.96 (0.62–1.47)	..	..	0.83	
Geometric mean (per µL) of <i>Plasmodium falciparum</i> parasite densities							0.33
TLLIN	..	470 (411–538)	..	1	..	..	
ULLIN	..	527 (439–632)	..	1.04 (0.95–1.15)	..	0.37	
TLLIN+IRS	..	576 (482–688)	..	1.09 (0.99–1.20)	..	0.08	
ULLIN+CTPS	..	554 (461–667)	..	1.06 (0.96–1.18)	..	0.21	
Prevalence rates (%) of <i>P falciparum</i> infection							0.05
TLLIN	350/1383	25.3% (22.4–30.2)	..	..	1	..	
ULLIN	319/1060	30.1% (24.8–35.3)	..	..	1.16 (0.84–1.61)	0.35	
TLLIN+IRS	399/1071	37.3% (32.2–42.3)	..	..	1.56 (1.15–2.10)	0.01	
ULLIN+CTPS	304/1030	29.5% (25.2–33.8)	..	..	1.12 (0.84–1.48)	0.42	

LLIN=long-lasting insecticidal mosquito nets. TLLIN=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years (reference group). ULLIN=LLIN-universal coverage of sleeping units. TLLIN+IRS=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years plus full coverage of carbamate-IRS. ULLIN+CTPS=LLIN-universal coverage of sleeping units plus full coverage of carbamate treated plastic sheetings (CTPS).

Table 2: Baseline characteristics of malaria disease in children younger than 6 years before allocation of the interventions

under the net the night preceding the visit according to the WHO.²⁶ We defined the integrity of LLINs according to the proportion of intact nets (ie, no holes) present in the houses at each survey. For IRS and CTPS, coverage corresponded to the number of houses covered by one or the other intervention relative to the total number of houses inspected. The threshold for coverage justifying additional sensitisation for compliance was fixed at 80% for IRS, 80% for CTPS, and 70% for LLIN.

Statistical analysis

The primary endpoint was the incidence density rates of *P falciparum* clinical malaria in children younger than 6 years. Secondary endpoints were the prevalence and parasite density of asymptomatic infections in children younger than 6 years, the entomological inoculation rates (as defined by the number of infected bites per man per year), the human biting rates (as defined by the number of bites per man per year) and the prevalence of pyrethroid resistant 1014F *kdr* allele in malaria vectors.

All data were double entered independently in an Access 2003 database and were analysed using the survey commands of STATA 11.0. We calculated the numbers of communities and children required for epidemiological assessment of the treatments to detect either a 37% protective efficacy conferred by universal LLINs or a 50% protective efficacy conferred by the combinations compared with the reference group (TLLIN), with a power of 80%, significance level of 5%, a design effect of 0.25, an average of 1.5 clinical malaria episodes per child-year in the study area,¹⁸ and 20% of children lost

	Observations			Incidence density (per 100 children-month; 95% CI)	Adjusted* incidence density ratio (95% CI)	p value
	n	Child-day	Malaria fever			
TLLIN (reference group)	304	25 664	43	5.0 (3.6–6.8)	1	..
ULLIN	279	23 544	38	4.8 (3.4–6.6)	0.95 (0.67–1.36)	0.79
TLLIN+IRS	269	23 192	51	6.6 (4.9–8.7)	1.32 (0.90–1.93)	0.15
ULLIN+CTPS	278	23 824	43	5.4 (3.9–7.3)	1.05 (0.75–1.48)	0.77

TLLIN=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years (reference group). ULLIN=LLIN-universal coverage of sleeping units. TLLIN+IRS=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years plus full coverage of carbamate-IRS. ULLIN+CTPS=LLIN-universal coverage of sleeping units plus full coverage of carbamate-treated plastic sheetings (CTPS). *Adjustment on age. Overall p value=0.35. LLIN=long-lasting insecticidal mosquito nets.

Table 3: Incidence density of *P falciparum* clinical malaria in children aged younger than 6 years in the reference and intervention groups at 18 months follow-up

during the follow-up.²⁷ The estimated number of communities for every intervention was seven (28 villages in total) and the required number of children younger than 6 years per village was 60. We compared incidence density of *P falciparum* clinical malaria, prevalence rate, and log-transformed parasite densities of asymptomatic infections between the treatments (ULLIN, TLLIN+IRS, ULLIN+CTPS) and the reference group (TLLIN) taking into account the effect of age and the sampling design in Poisson, logistic, and linear multivariate regression models using a generalised estimating equations (GEE) approach, as appropriate. We estimated annual human biting and entomological inoculation rates assuming a negative binomial distribution of the number of

	Number	Geometric mean (per µL; 95% CI)	Adjusted* multiplicative coefficient	p value
TLLIN (reference group)	788	707 (634–788)	1	..
ULLIN	744	647 (600–696)	0.96 (0.91–1.01)	0.14
TLLIN+IRS	935	685 (631–743)	0.99 (0.93–1.05)	0.66
ULLIN+CTPS	630	680 (624–740)	0.98 (0.92–1.04)	0.49

LLIN=long-lasting insecticidal mosquito nets. TLLIN=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years (reference group). ULLIN=LLIN-universal coverage of sleeping units. TLLIN+IRS=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years plus full coverage of carbamate-IRS. ULLIN+CTPS=LLIN-universal coverage of sleeping units plus full coverage of carbamate-treated plastic sheetings (CTPS). *Adjustment on age. Overall p value=0.46.

Table 4: Parasite densities of *P. falciparum* among asymptomatic and infected children younger than 6 years in the reference and intervention groups at 18 months follow-up

	Pos. n/N	Prevalence (%; 95% CI)	Adjusted* odds ratio (95% CI)	p value
TLLIN (reference group)	788/4033	19.5% (16.6–22.5)	1	..
ULLIN	744/3714	20.0% (16.0–24.0)	1.01 (0.74–1.38)	0.95
TLLIN+IRS	935/3649	25.6% (21.0–30.2)	1.43 (1.05–1.93)	0.02
ULLIN+CTPS	630/3801	16.6% (13.7–19.5)	0.81 (0.61–1.07)	0.13
Overall				0.02

TLLIN=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years (reference group). ULLIN=LLIN-universal coverage of sleeping units. TLLIN+IRS=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years plus full coverage of carbamate-IRS. ULLIN+CTPS=LLIN-universal coverage of sleeping units plus full coverage of carbamate-treated plastic sheetings (CTPS). *Adjustment on age. LLIN=long-lasting insecticidal mosquito nets.

Table 5: Prevalence of asymptomatic infections in children younger than 6 years in the reference and intervention groups at 18 months follow-up

	Person-night catching	Annual mean	Incidence rate ratio	p value
Human biting rate* (number of bites per man per year)				
TLLIN (reference group)	896	331 (218–504)	1	..
ULLIN	896	464 (306–702)	1.40 (0.78–2.52)	0.26
TLLIN+IRS	896	228 (149–348)	0.69 (0.38–1.25)	0.22
ULLIN+CTPS	896	202 (132–309)	0.61 (0.33–1.11)	0.10
Entomological inoculation rate* (number of infected bites per man per year)				
TLLIN (reference group)	896	9.4 (5.1–17.1)	1	..
ULLIN	896	15.5 (9.3–25.8)	1.65 (0.75–3.64)	0.21
TLLIN+IRS	896	7.3 (3.8–14.2)	0.78 (0.32–1.91)	0.59
ULLIN+CTPS	896	5.7 (2.8–11.8)	0.61 (0.24–1.56)	0.30

TLLIN=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years (reference group). ULLIN=LLIN-universal coverage of sleeping units. TLLIN+IRS=LLIN-targeted coverage to pregnant women and children aged <6 years plus full coverage of carbamate-IRS. ULLIN+CTPS=LLIN-universal coverage of sleeping units plus full coverage of carbamate-treated plastic sheetings (CTPS). *Includes all malaria vectors (*A. gambiae* and *A. funestus*).

Table 6: Annual human biting rate and entomological inoculation rate in the reference and intervention groups at 12 months follow-up

anopheline vectors caught and infected anopheline vectors, taking into account the two-stage sampling design. We compared human biting and entomological inoculation rates between the reference and intervention groups by fitting negative binomial regression models using a GEE approach that took into account the sampling design—ie, the interdependence of

observations made in the same village. We analysed differences in *kdr* allelic frequency between groups using the exact test of Fisher with the GENEPOP's software (Montpellier, France). This study is registered with Current Controlled Trials, number ISRCTN07404145.

Role of the funding source

The sponsor of the study and manufacturers had no role in study design, data collection, data analysis, data interpretation, or writing of the report. The corresponding author had full access to all the data in the study and had final responsibility for the decision to submit for publication.

Results

Of the 58 villages screened, 28 were enrolled and randomly assigned to vector control intervention (TLLIN, ULLIN, TLLIN+IRS, and ULLIN+CTPS; figure 1). Between 651 and 920 children were assessed for eligibility in every group and 40–60% of them were randomised (figure 2). A total of 16 327 blood thick films were analysed (about 4000 in each group). In every group, about 20% of the recordings were not taken into account because of loss to follow-up (17%), death of children (1.5%), and refusal (1.5%; figure 2). Table 1 describes the demographic and environmental characteristics of the different groups. The four groups of children were similar in age, and the sex ratios (female vs male) varied from 0.85 to 1.0. Children's participation in clinical monitoring was high; 47% (429/920) for TLLIN, 52% (420/802) for ULLIN, 63% (413/651) for TLLIN+IRS, and 47% (415/890) for ULLIN+CTPS.

Overall, baseline epidemiological data obtained between Oct 10, 2007, and May 19, 2008, showed no difference in clinical and parasitological endpoints in the four groups of villages before allocation of the treatments (table 2), except that a higher prevalence of infections was observed in the group that received TLLIN+IRS relative to the reference group (table 2). 18 months after allocation of the interventions, malaria morbidity did not differ between the reference and the interventions groups; multivariate analysis taking into account the effect of age showed that the monthly incidence density of clinical malaria for 100 children was not significantly lower in the group receiving an ULLIN and those receiving either TLLIN+IRS or ULLIN+CTPS, relative to the reference group (table 3). Also, the mean parasite densities of infection did not differ significantly between groups (table 4). However, the prevalence of asymptomatic infection differed significantly between groups when adjusted on age; it was higher in the group of children that received the combination of TLLIN+IRS than in the reference group (table 5).

Entomological indicators did not differ significantly between groups (table 6). The mean number of bites of anopheline vectors (*A. gambiae* and *A. funestus*) per man per year did not differ significantly between the reference

group and the other groups (table 6). Sporozoite rates were 2.83% (95% CI 1.69–3.97) for TLLIN, 3.34% (2.30–4.38) for ULLIN, 3.22% (1.76–4.68) for TLLIN+IRS, and 2.83% (1.37–4.29) for ULLIN+CTPS ($p>0.05$). The annual entomological inoculation rates were neither significantly reduced by the universal coverage of LLIN nor by the combinations of TLLIN+IRS or ULLIN+CTPS (table 6). Parity rates were similar between the reference group (86%, 95% CI 83–88, 610 of 711) and the ULLIN (85%, 82–88, 634 of 746; $p=0.93$) or TLLIN+IRS (86%, 83–89, 458 of 534; $p=1$) groups, but a greater proportion of parous female mosquitoes was noted with ULLIN+CTPS (91%, 88–94, 401 of 441; $p=0.01$). Moreover, the proportion of malaria vectors (*A gambiae* and *A funestus*) collected outside the houses was higher with TLLIN+IRS (57%, 95% CI 53–61, 320 of 560; OR 1.27, 1.03–1.58; $p=0.0279$) and ULLIN+CTPS (59%, 55–64, 293 of 495; OR 1.39, 1.10–1.74; $p=0.0051$) relative to the reference (51%, 48–55, 417 of 816; $p<0.05$); the group that received ULLIN did not differ in exophagy rates from the reference group (OR 1.07, 0.90–1.28; $p=0.46$).

Before the intervention, the mean *kdr* allelic frequency in *A gambiae* was 29% (95% CI 26–32, $n=317$). 18 months after allocation of the interventions (figure 3), the prevalence of the *kdr* allele significantly increased in both the reference (86%, 95% CI 80–92, $n=65$) and the intervention groups (91%, 84–98, $n=33$ for ULLIN; 86% 79–93, $n=49$ for TLLIN+IRS; and 74%, 64–84, $n=38$ for ULLIN+CTPS, $p<0.0001$ for all). Prevalence of *ace.1^r* (119S) allele that confers resistance to carbamates was almost absent in the anopheline populations in the OKT district (frequency of *ace.1^r* $<5\%$, $n=2123$).

Results of the quality control showed that mean ownership rate was 93% (95% CI 91–94, 970 of 1046) with the reference group (TLLIN), 87% (85–89, 1219 of 1405) with ULLIN, 94% (93–95, 1409 of 1493) with ULLIN+CTPS, and 90% (88–92, 868 of 968) with TLLIN+IRS. Mean LLIN coverage was 38% (95% CI 36–41, 662 of 1730) with TLLIN, 65% (62–67, 985 of 1524) with ULLIN, 70% (68–73, 1104 of 1569) with ULLIN+CTPS, and 45% (43–48, 611 of 1349) with TLLIN+IRS. The mean rates of LLIN use in children younger than 6 years was 43% (40–45, 517 of 1213) with TLLIN, 58% (54–61, 429 of 743) with ULLIN, 60% (57–64, 526 of 872) with ULLIN+CTPS, and 43% (40–46, 380 of 882) with TLLIN+IRS. Proportion of nets in good state (without holes) was 62% (59–65, 602 of 975) with TLLIN, 71% (68–73, 924 of 1308) with ULLIN, 75% (72–77, 1054 of 1413) with ULLIN+CTPS, and 69% (66–72, 602 of 873) with TLLIN+IRS.

Mean coverage of IRS and CTPS in the households was 92% (95% CI 86–96, 654 of 709) and 94% (85–98, 11592 of 12357), respectively. WHO cone bioassays initially done on random samples of 42 LLINs, eight sprayed walls, and six CTPS showed a mean mortality rate of 97% ($n=1633$), 100% ($n=200$), and 99% ($n=198$) against susceptible mosquitoes, respectively. At the end of the trial, 50 LLINs

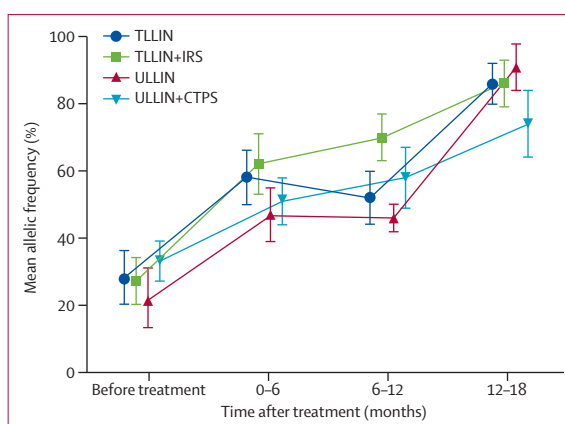


Figure 3: Changes in the frequency of the pyrethroid-resistant *kdr* (1014F) allele in *Anopheles gambiae* (with 95% CI) according to the intervention

taken at random from villages showed a good long-lasting insecticide activity (84% mean efficacy, with 19 bednets with mortality of less than 80%). The efficacy of CTPS against susceptible mosquitoes was excellent after 4 months (100% mortality, $n=99$) whereas that of IRS was rather low after 8 months (31%, $n=88$; ie, intervals of time corresponding to the retreatment of CTPS and IRS, respectively).

Discussion

We investigated the efficacy of new vector control strategies for malaria control and whether the use of combined interventions (ie, LLIN+IRS or LLIN+CTPS) would reduce malaria morbidity and transmission and allow better management of pyrethroid-resistance in malaria vectors relative to a background of LLIN coverage. Overall, however, neither clinical malaria nor the prevalence of infection and parasite density of asymptomatic infection in children younger than 6 years were reduced in southern Benin characterised by a malaria mesoendemic area.¹⁸ Additionally, transmission intensity and human biting rates did not significantly differ between the interventions and the reference group, and the insecticide combinations did not slow down the evolution of the *kdr* allele in *A gambiae ss* compared with LLIN. Despite the fact that the results reported in the manuscript are rather inconclusive, almost all the variables (clinical, parasitological, and entomological) showed the same trend. The consistence of these results is then in favour of the validity of the conclusion—ie, similar effect of the vector control measures in the reference group and in the three intervention groups.

The rationale behind expecting benefits from the combinations of LLINs and IRS was that more effective reduction of malaria-related morbidity would be expected by deploying the two interventions concurrently, with a non-pyrethroid insecticide for IRS, to maximise chances to interrupt fully the transmission.¹¹ Furthermore, since full coverage of either LLIN or IRS is usually difficult to

Panel: Research in context

Systematic review

We searched Medline and Pubmed with the terms “malaria”, “vector control”, “combined interventions”, “IRS and LLIN”, or “pyrethroid resistance” for published reports, with no date restriction. Relevant original or review references were selected on the basis of the aims of the article. Limited number of observational studies^{9,10,28} or mathematical modelling exercises^{11,12} investigated the benefit of combinations of long-lasting insecticidal nets (LLIN) and indoor residual spraying (IRS) for malaria control in Africa. Results were sometimes contradictory and in none of them could confounding factors be entirely excluded.

Interpretation

Our cluster randomised controlled trial showed no significant benefit of using LLIN combined with carbamate-IRS or with CTPS for reducing malaria morbidity and for managing pyrethroid-resistance relative to a background of LLIN coverage. The rapid increase in *kdr* resistance in malaria vectors, the short-lived activity of the carbamate deployed for the IRS treatment, and the behavioural change in malaria vector populations in response to the insecticide treated materials may have accounted for the absence of effect of the combinations on malaria transmission and subsequently on malaria disease. Cost-effectiveness of combined vector control interventions need to be carefully considered in Africa to ensure that increased efforts and international funding dedicated to malaria control effectively contribute to reduce the disease burden. Alternative chemicals and improved vector control strategies are urgently needed to achieve malaria control and elimination in this part of the world..

achieve, a combination of the two interventions might offer a way of reaching and maintaining high coverage of malaria vector control. To our knowledge, a limited number of field trials have investigated the efficacy of LLIN and IRS for malaria control in Africa (panel). In Bioko (Equatorial Guinea) and in Mozambique, significant reduction of the prevalence of *P falciparum* infection in children aged from 2 to younger than 15 years was reported with IRS combined with insecticide-treated mosquito nets compared with IRS alone (OR 0.71, 95% CI 0.59–0.86 for Bioko and OR 0.63, 0.50–0.79 for Mozambique).⁹ In Burundi, however, pyrethroid-IRS and LLINs did not confer additional protection against *P falciparum* infection in children aged 1–9 years compared with those who slept under a net in the IRS-treated area (OR 0.88, 95% CI 0.60–1.31).²⁸ In these observational studies, which aimed to assess the effectiveness of vector control methods under real field conditions, several confounding factors might have influenced the outcomes such as access to diagnosis and treatment as well as coverage and effective use of vector control intervention. In the present study, we implemented an experimental approach with randomised allocation of the interventions to allow a robust analysis of the combined effect of LLINs and IRS (or CTPS) on malaria disease (ie, by controlling confounding factors related to secular trends in yearly vector density or malaria transmission, or both).

The results of this study indicated that TLLIN+IRS and ULLIN+CTPS did not sufficiently affect the vector population to decreased the malaria burden, despite the

high coverage of all interventions. The fact that ULLINs did not reduce malaria transmission compared with TLLIN indicate that ULLIN did not induce a mass killing effect on vector populations. Several assumptions can explain this trend. First, the additional LLIN use and coverage reported with ULLIN might not have been sufficient to strongly affect vector density, infectivity, and life expectancy of the vectors. Although several authors reported limited flight range of malaria vectors during host seeking,²⁹ one cannot totally exclude the fact that mixing of mosquito populations (ie, contamination) occurred between villages. Indeed, studies of the dispersal of malaria vectors done in Africa agree that mosquitoes are able to fly 4–5 km but, in most cases, more than 50% of vectors are recaptured within 1 km from the release point.³⁰ Moreover, we recently showed that the density of malaria vectors in the study area was strongly associated with the house's immediate surroundings and the proximity of a watercourse, hence confirming the preference for *A gambiae* mosquitoes to bite locally.³¹ Finally, the rapid increase of *kdr* frequency in malaria vectors might have accounted for the reduction of efficacy of LLIN at a community level. In the OKT district, Damien and colleagues¹⁸ have previously reported a poor protective effect against malaria infection (26%) in LLIN users (*vs* non users) without any effect on malaria morbidity. In Niger and Senegal, increased *kdr* frequency was also reported after nationwide distribution of LLINs by NMCPs.^{5,32} In this study,⁵ a rebound of clinical malaria attacks was noted in adults and children aged 10 years or older and that rebound was attributed to the rise in pyrethroid-resistance in malaria vectors. Clearly, further investigation is needed to assess whether pyrethroid-resistance can account for reduced efficiency of LLINs for malaria prevention in Africa.

In the past decade, carbamates have been increasingly used for malaria control in Africa as they represent promising alternatives to pyrethroids for IRS. On the island of Bioko, an IRS campaign with bendiocarb (two spray rounds per year) was associated with modest but significant reduction in transmission index and malaria reported cases.^{9,33} In Benin, a before-and-after comparison trial done in the Ouémé district showed significant effect of bendiocarb-IRS (400 mg/m²) on vector density and malaria transmission in areas where *A gambiae* has developed high resistance to pyrethroids.³⁴ In the present study, however, we did not observe additional effect of carbamate-based treatments on mosquito density relative to LLIN alone. This is surprising given that malaria vectors in the area are susceptible to these chemicals.³⁵ Bendiocarb-IRS was sprayed at the same rate (400 mg/m²) and at the same interval of time (ie, 8 months) as the Ouémé study in agreement with the policy of PMI in Benin.³⁴ However, only 34% efficacy was recorded 8 months post treatment against susceptible mosquitoes, hence suggesting a rapid decay of bendiocarb on the walls of the houses. The fact

that around 90% of the huts of the villages were made of mud could partly explain this trend since more porous substrates are known to absorb the insecticide and then limit the duration of the treatment.

Generally, one spray round per year of bendiocarb is done in African countries because of poor human and financial resources.³⁶ According to the WHO-Pesticide Evaluation Scheme,¹⁷ the expected residual activity of bendiocarb is 2–6 months, suggesting that more frequent spray rounds would be needed to maintain good effectiveness in areas of perennial malaria transmission. With the present policy, we think that IRS campaigns with the available insecticidal products might not be a cost-effective strategy for malaria control in highly endemic malaria settings. More information on the life expectancy of the insecticides used for IRS is needed to guide national authorities on the interval of time to adopt for effective control of malaria vectors in different settings. Regarding the CTPS, the lower dosage than that used for IRS and the possibility that mosquitoes rest on the untreated part of the wall might have had a role in the absence of effect on malaria disease and transmission. The development of long-lasting IRS formulations or durable residual wall lining (DL), or both, could overcome these limitations.³⁷

Finally, fewer mosquitoes entered the houses containing both IRS and LLINs than houses containing LLINs alone. The greater exophagy rates recorded with the combinations might portray a behavioural change in the malaria vector populations in response to the combined deterrent-repellent effects of carbamates and pyrethroids. In Tanzania, *A. gambiae* has changed from being endophagic to exophagic and endophilic to exophilic as coverage of pyrethroid impregnated nets increases.³⁸ Whether these changes show phenotypic plasticity or selection of inherited characteristics in the mosquito population remains unclear, the consequence could be an increase of outdoor residual transmission of malaria. Similar trends were reported elsewhere,^{10,39,40} suggesting that intradomiciliary treatments (ie, LLIN and IRS) that exclusively target endophagic or endophilic populations, or both, could not be sufficient to reduce the vectorial capacity of malaria vectors even with high coverage. As suggested by mathematical models,¹² combinations of interventions that target different stages in the mosquito's lifecycle—eg, the aquatic stages with larvicides in areas with high insecticide-treated mosquito nets or IRS coverage, could be more efficient to reduce mosquito density and hence achieve a mass killing effect.

To conclude, this study showed that in areas with low malaria vector density (about one anopheline bite per man per night) and with low but perennial malaria transmission (0.5 to one infective bite per man per month), the combination of LLINs and carbamate-IRS applied every 8 months (or CTPS impregnated with bendiocarb fixed to the upper part of the walls) was not

sufficiently powerful to decrease the incidence of clinical malaria compared with a background of LLIN coverage. This finding could be an obstacle to the malaria pre-elimination phases in Africa if the current vector control interventions cannot reduce malaria transmission under a critical threshold. As pointed out by the malERA consultative group on vector control,⁸ an urgent need exists for improved strategies to effectively reduce the vectorial capacity of mosquitoes, especially as we move into the malaria elimination and eradication era.

Contributors

M-CH, FC, MA, and VC conceived the study. GBD, AD, NM, JC, BB, and GGP acquired the lab and field data, and CR did the statistical analysis and contributed to the study design. VC drafted the paper and all co-authors contributed to the critical revision and development of intellectual content. VC, FC, MA, and M-CH were the study supervisors.

Conflicts of interest

We declare that we have no conflicts of interest.

Acknowledgments

This study was done in the context of the Project FSP/REFS N° 2006–22 supported by the Ministère Français des Affaires Étrangères et Européennes (MAEE). A financial contribution was also provided by the President's Malaria Initiative (PMI) of the US Government for indoor residual spraying. Bayer provided free of charge the bendiocarb (FICAM 80 WP) and binding agent to the investigators. We thank populations and authorities of the OKT district for their kind support and collaboration. We also thank all the staff of CREC (Sandra Yamadjako, Razack Ossé, Sébastien Koudenoukpo) for their commitment and motivation during the trial. Thanks to Raphael N'Guessan (LSHTM) for helpful comment and discussion. We thank France Agid, Xavier Garde, Jean-Paul Moulia-Pelat, and Patrice Leroy for their continuous support during the preparation and follow up of the project. We thank Bayer for providing the insecticide products free of charge.

References

- 1 Feachem RG, Phillips AA. Malaria: 2 years in the fast lane. *Lancet* 2009; **373**: 1409–11.
- 2 WHO. World Malaria Report 2011. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2011. http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/en/ (accessed May 21, 2012)
- 3 Pluess B, Tanser FC, Lengeler C, Sharp BL. Indoor residual spraying for preventing malaria. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; **4**: CD006657.
- 4 Lengeler C. Insecticide-treated bed nets and curtains for preventing malaria. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; **2**: CD000363.
- 5 Trape J-F, Tall A, Diagne N, et al. Malaria morbidity and pyrethroid resistance after the introduction of insecticide-treated bednets and artemisinin-based combination therapies: a longitudinal study. *Lancet Infect Dis* 2011; **11**: 925–32.
- 6 Ranson H, N'Guessan R, Lines J, Moiroux N, Nkuni Z, Corbel V. Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control? *Trends Parasitol* 2011; **27**: 91–98.
- 7 WHO. Global Malaria Action Plan World Health Organization; 2009. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2009.
- 8 The malERA consultative group on vector control. A research agenda for malaria eradication: vector control. *PLoS Med* 2011; **8**: e1000401.
- 9 Kleinschmidt I, Schwabe C, Shiva M, et al. Combining indoor residual spraying and insecticide-treated net interventions. *Am J Trop Med Hyg* 2009; **81**: 519–24.
- 10 Okumu FO, Moore SJ. Combining indoor residual spraying and insecticide-treated nets for malaria control in Africa: a review of possible outcomes and an outline of suggestions for the future. *Malar J* 2011; **10**: 208.
- 11 Chitnis N, Schapira A, Smith T, Steketee R. Comparing the effectiveness of malaria vector-control interventions through a mathematical model. *Am J Trop Med Hyg* 2010; **83**: 230–40.
- 12 White MT, Griffin JT, Churcher TS, Ferguson NM, Basanez MG, Ghani AC. Modelling the impact of vector control interventions on *Anopheles gambiae* population dynamics. *Parasit Vectors* 2011; **4**: 153.

- 13 Djenontin A, Chabi J, Baldet T, et al. Managing insecticide resistance in malaria vectors by combining carbamate-treated plastic wall sheeting and pyrethroid-treated bed nets. *Malar J* 2009; **8**: 233.
- 14 Djenontin A, Chandre F, Dabire KR, et al. Indoor use of plastic sheeting impregnated with carbamate combined with long-lasting insecticidal mosquito nets for the control of pyrethroid-resistant malaria vectors. *Am J Trop Med Hyg* 2010; **83**: 266–70.
- 15 Hawley WA, Phillips-Howard PA, ter Kuile FO, et al. Community-wide effects of permethrin-treated bed nets on child mortality and malaria morbidity in western Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 2003; **68**: 121–27.
- 16 WHO. Technical updates of the guidelines on the Integrated Management of Childhood illness (IMCI). Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2005.
- 17 WHO. Guidelines for testing mosquito adulticides intended for indoor residual spraying (IRS) and insecticide treated nets (ITNs). Geneva, Switzerland: WHO, 2006.
- 18 Damien G, Djenontin A, Rogier C, et al. Malaria infection and disease in an area with pyrethroid-resistant vectors in southern Benin. *Malar J* 2011; **9**: 380.
- 19 Gillies M, De Meillon B. The *Anophelinae* of Africa South of the Sahara (Ethiopian zoogeographical region). 2nd edn. Johannesburg: South African Institute for Medical Research, 1968: 343.
- 20 Gillies M, Coetzee M. A supplement to the *Anophelinae* of Africa South of the Sahara (Afrotropical Region). Johannesburg: South African Institute for Medical Research, 1987: 143.
- 21 Wirtz RA, Zavala F, Charoenvit Y, et al. Comparative testing of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* sporozoites for ELISA development. *Bull World Health Organ* 1987; **65**: 39–45.
- 22 Scott JA, Brogdon WG, Collins FH. Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg* 1993; **49**: 520–29.
- 23 Koekemoer LL, Kamau L, Hunt RH, Coetzee M. A cocktail polymerase chain reaction assay to identify members of the *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) group. *Am J Trop Med Hyg* 2002; **66**: 804–11.
- 24 Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson MS, et al. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol Biol* 1998; **7**: 179–84.
- 25 Weill M, Malcolm C, Chandre F, et al. The unique mutation in ace-1 giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect Mol Biol* 2004; **13**: 1–7.
- 26 Anonymous. Monitoring and evaluation toolkit, HIV/AIDS, tuberculosis and malaria. WHO/World Bank/UNICEF, 2004. http://www.who.int/hiv/pub/epidemiology/en/me_toolkit_en.pdf (accessed May 21, 2012).
- 27 Hayes RJ, Bennett S. Simple sample size calculation for cluster-randomized trials. *Int J Epidemiol* 1999; **28**: 319–26.
- 28 Protopopoff N, Van Bortel W, Marcotty T, et al. Spatial targeted vector control is able to reduce malaria prevalence in the highlands of Burundi. *Am J Trop Med Hyg* 2008; **79**: 12–18.
- 29 Service MW. Mosquito (Diptera: Culicidae) dispersal—the long and short of it. *J Med Entomol* 1997; **34**: 579–88.
- 30 Silver JB. Measuring adult dispersal. In: Silver JB, ed. Mosquito ecology: field sampling methods. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2008: 1377–424.
- 31 Cottrell G, Kouwaye B, Pierrat C, et al. Modeling the influence of local environmental factors on malaria transmission in Benin and its implications for cohort study. *PLoS One* 2012; **7**: e28812.
- 32 Czeher C, Labbo R, Arzika I, Duchemin JB. Evidence of increasing Leu-Phe knockdown resistance mutation in *Anopheles gambiae* from Niger following a nationwide long-lasting insecticide-treated nets implementation. *Malar J* 2008; **7**: 189.
- 33 Sharp BL, Ridl FC, Govender D, Kuklinski J, Kleinschmidt I. Malaria vector control by indoor residual insecticide spraying on the tropical island of Bioko, Equatorial Guinea. *Malar J* 2007; **6**: 52.
- 34 Akogbeto M, Padonou GG, Bankole HS, Gazard DK, Gbedjissi GL. Dramatic decrease in malaria transmission after large-scale indoor residual spraying with bendiocarb in Benin, an area of high resistance of *Anopheles gambiae* to pyrethroids. *Am J Trop Med Hyg* 2011; **85**: 586–93.
- 35 Djegbe I, Boussari O, Sidick A, et al. Dynamics of insecticide resistance in malaria vectors in Benin: first evidence of the presence of L1014S *kdr* mutation in *Anopheles gambiae* from west Africa. *Malar J* 2011; **10**: 261.
- 36 USAID. The President's Malaria initiative: fourth annual report. Washington: US Agency for International Development, 2010.
- 37 Corbel V, Henry MC. Prevention and control of malaria and sleeping sickness in Africa: where are we and where are we going? *Parasit Vectors* 2011; **4**: 37.
- 38 Russell TL, Govella NJ, Azizi S, Drakeley CJ, Kachur SP, Killeen GF. Increased proportions of outdoor feeding among residual malaria vector populations following increased use of insecticide-treated nets in rural Tanzania. *Malar J* 2011; **10**: 80.
- 39 Nyarango PM, Gebremeskel T, Mebrahtu G, et al. A steep decline of malaria morbidity and mortality trends in Eritrea between 2000 and 2004: the effect of combination of control methods. *Malar J* 2006; **5**: 33.
- 40 Moiroux N, Boussari O, Djènontin A, et al. Dry season determinants of malaria disease and net use in Benin, west Africa. *PLoS One* 2012; **7**: e30558.

Use of a Mixture Statistical Model in Studying Malaria Vectors Density

Olayidé Boussari^{1,2,3,4,5*}, Nicolas Moiroux^{6,7,8}, Jean Iwaz^{2,3,4,5}, Armel Djènontin^{9,10}, Sahabi Bio-Bangana¹⁰, Vincent Corbel^{7,8,9}, Noël Fonton¹, René Ecochard^{2,3,4,5}

1 International Chair in Mathematical Physics and Applications, Université d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Bénin, **2** Service de Biostatistique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France, **3** Université de Lyon, Lyon, France, **4** Université Lyon 1, Villeurbanne, France, **5** Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Centre National de la Recherche Scientifique – Unité Mixte de Recherche 5558, Villeurbanne, France, **6** Maladies Infectieuses et Vecteurs Écologie, Génétique, Évolution et Contrôle, Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier, France, **7** Université Montpellier 1, Montpellier, France, **8** Université Montpellier 2, Montpellier, France, **9** Maladies Infectieuses et Vecteurs Écologie, Génétique, Évolution et Contrôle, Institut de Recherche pour le Développement, Cotonou, Bénin, **10** Centre de Recherche en Entomologie de Cotonou, Ministère de la Santé, Cotonou, Bénin

Abstract

Vector control is a major step in the process of malaria control and elimination. This requires vector counts and appropriate statistical analyses of these counts. However, vector counts are often overdispersed. A non-parametric mixture of Poisson model (NPMP) is proposed to allow for overdispersion and better describe vector distribution. Mosquito collections using the Human Landing Catches as well as collection of environmental and climatic data were carried out from January to December 2009 in 28 villages in Southern Benin. A NPMP regression model with “village” as random effect is used to test statistical correlations between malaria vectors density and environmental and climatic factors. Furthermore, the villages were ranked using the latent classes derived from the NPMP model. Based on this classification of the villages, the impacts of four vector control strategies implemented in the villages were compared. Vector counts were highly variable and overdispersed with important proportion of zeros (75%). The NPMP model had a good aptitude to predict the observed values and showed that: i) proximity to freshwater body, market gardening, and high levels of rain were associated with high vector density; ii) water conveyance, cattle breeding, vegetation index were associated with low vector density. The 28 villages could then be ranked according to the mean vector number as estimated by the random part of the model after adjustment on all covariates. The NPMP model made it possible to describe the distribution of the vector across the study area. The villages were ranked according to the mean vector density after taking into account the most important covariates. This study demonstrates the necessity and possibility of adapting methods of vector counting and sampling to each setting.

Citation: Boussari O, Moiroux N, Iwaz J, Djènontin A, Bio-Bangana S, et al. (2012) Use of a Mixture Statistical Model in Studying Malaria Vectors Density. PLoS ONE 7(11): e50452. doi:10.1371/journal.pone.0050452

Editor: Luciano A. Moreira, Centro de Pesquisas René Rachou, Brazil

Received: August 7, 2012; **Accepted:** October 22, 2012; **Published:** November 21, 2012

Copyright: © 2012 Boussari et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: The Ministère Français des Affaires Étrangères (MAEE) supported the project FSP/REFS N°2006-22 that generated the data analyzed in this paper. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: olayide.boussari@chu-lyon.fr

Introduction

Malaria is still a major public health issue in Sub-Saharan Africa. In 2010, this region bore 91% of the global disease death burden estimated to 655,000 deaths [1]. Studying the risk of vector transmission is at the basis of every survey about the importance of malaria in a given zone. The overarching goal of vector control is to decrease the transmission of the malaria parasite *Plasmodium spp* to humans by mosquito vectors of the genus *Anopheles*. Among the recommendation of the World Health Organization (WHO) to fight malaria, the deployment of long-lasting insecticidal mosquito nets (LLIN) and indoor residual spraying (IRS) at national scale has shown important reductions of malaria burden although evidences of malaria resurgence have been recorded in several African countries [1,2].

The most common indicator to evaluate vector control interventions such as LLIN and IRS relies on malaria transmission through estimation of the Entomological Inoculation Rate (EIR). EIR is the product of the Human Biting Rate (HBR; number of

bites of malaria vectors per human per unit time) and the prevalence of *Plasmodium* infection in mosquitoes. HBR is usually measured using the Human Landing Catches (HLC) counting technique that is the method of reference to quantify the human-vector contact [3].

In 28 villages of Southern Benin, a recent cluster randomized controlled trial (RCT) aiming at comparing the efficacy of combined LLIN and carbamate IRS or carbamate-treated plastic sheeting (CTPS) with a background of LLIN coverage did not show benefits of the combination for reducing HBR and EIR [4]. In the study area, high variations in the density of malaria vectors were observed in time and space [5] and there were many localities with zero mosquitoes collected during several nights.

The most ancient and popular statistical distribution used to describe count data is the Poisson distribution that assumes equidispersion of the counts. However, in real datasets, these counts are often overdispersed [6–8] and there are various means to demonstrate it [9–11]. Among the causes of overdispersion is

the excess of zeros. Within the context of malaria vectors counts, the excess of zeros may result from the absence of mosquitoes at some locations (houses, village...) or during some period of time (dry season, cold temperatures...).

To deal with such overdispersed data with excess zeros, Johnson and Kotz [12] introduced the zero-inflated Poisson model (ZIP); i.e., a Poisson mixture model that combines a point mass at zero with a Poisson count distribution. Later, Lambert [13] extended this model to allow for covariates. Another way to deal with count overdispersion is the use of the negative binomial (NB) model or, better, the zero-inflated negative binomial (ZINB) model constructed on the same principle as that of the ZIP.

Besides these well-known models, other finite mixture distribution models have been proposed (e.g., McLachlan and Peel [14]) and have been the object of numerous applications. In fact, these models extend the previous ones; instead of considering a mixture of two distributions as with the ZIP or the ZINB, they consider a mixture of three or more Poisson or NB distributions. In addition, a non-parametric approach of the maximum likelihood introduced by Aitkin [15] has shown to be an excellent tool to allow for overdispersion. An extension of this approach by the same author [16] allowed its application to repeated measurements. Thus, a non-parametric mixture of Poisson model (NPMP) seems adapted to take into account the frequent changes in vector counts in various sites of a study zone.

In the present work, we assessed the ability of Poisson, NB, ZIP, ZINB and NPMP to fit the distribution of counts of malaria vectors measured in 28 villages in southern Benin where a clinical trial was implemented to evaluate the efficacy of vector control interventions for malaria prevention [4]. Using a multivariate NPMP, we introduced a classification of the villages based on the mean vector density after adjustment for a set of environmental and climatic covariates. Then, we assessed the relationship between this classification and the vector interventions implemented in the villages. The results of this work will help design site-specific malaria vectors sampling.

Methods

Mosquito collection

The data analyzed in the present study stem from mosquito collections carried out every 6 weeks between January and December 2009 (i.e. 8 surveys) in 28 villages of the sanitary region of Ouidah-Kpomassè-Tori (OKT) in South Benin. Of the 58 villages screened at the baseline, 28 were enrolled. The other villages were excluded because they did not fulfill inclusion criteria i.e. distance between two villages >2 km, population size between 250 and 500 inhabitants with non-isolated habitations and absence of any local health care centre.

Entomological surveys were performed using the HLC technique, on two successive nights (22:00 to 06:00) at four sites (both indoor and outdoor) per village. Collectors were hourly rotated along collection sites and/or position (indoor/outdoor). Malaria vectors collected on humans were identified using morphological keys [17]. Only *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus* mosquito counts were considered in the present work because these are the main malaria vectors in West Africa [18–20] and practically the only present in the study area [5].

These villages were divided into four groups (seven villages per group) where four different vector control measures were implemented (see Corbel et al. [4] for details): i) targeted-coverage LLIN (TLLINs) destined to protect pregnant women and children <6 years old (the reference group); ii) universal-coverage LLIN destined to protect sleeping units (ULLINs), iii) TLLINs plus full

IRS of carbamate every eight months (TLLIN+IRS), and ULLIN plus full CTPS taped to the upper part of the walls (ULLIN+CTPS).

Ethics statement

The IRD (Institut de Recherche pour le Développement) Ethics Committee and the National Research Ethics Committee of Benin approved the study (CNPERS, reference number IRB00006860). The study was also registered with Current Controlled Trials, number ISRCTN07404145. All necessary permits were obtained for the described field studies. No mosquito collection was done without the approval of the village chief, the owner and occupants of the collection house. Mosquito collectors gave their written informed consent and were treated free of charge for malaria presumed illness throughout the study.

Demographic, geographic and environmental data

The following data were collected: the average distance (in km) from each village to the nearest freshwater body (Toho lake), the presence of market gardening 2 km around each village, the presence of cattle farms inside the village, the presence of water conveyance in the village, and the population density. The layout (or structure) of each village was described by the distribution of its clusters of houses, these clusters being separated by vegetated strips. Two modalities were then considered: single-cluster vs. multi-cluster villages. Daily rainfall data from 8 weather stations were spatially interpolated to compute the cumulated rainfall (in mm) and the number of rainy days in each village during the 15 days preceding each survey. The Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) was derived from a “Satellite pour l’Observation de la Terre (SPOT-5)” satellite image acquired on 12/28/2003. The mean NDVI was computed in a buffer area of 50 m diameter around each mosquito collection site (house).

Checking overdispersion and excess of zero in the data

The mean-variance relationship regarding the number of collected malaria vectors was analyzed graphically to explore data dispersion. A linear relationship of slope 1 (variances equal to means) indicated a Poisson distribution without overdispersion whereas a linear relationship with slope >1 or a quadratic relationship indicated overdispersion. We also assess the “excess of zero” through a graphical representation of the distribution of vector counts.

Approximation of the distribution of the data

The approximations of the distribution of the number of collected malaria vectors by the Poisson, ZIP, NB, ZINB and NPMP distributions were compared using the maximum likelihood (ML) estimation. Poisson, ZIP, NB and ZINB models were fitted using the function *nlm* [21,22] in the ‘R’ software version 2.14.0. Parameters of the NPMP model were estimated with the function *alldist* [15,23] which used an EM algorithm [24]. In this approach, the dispersion of the data is described by a probability law that does not take into account the hierarchical structure of the data. This is thus a “marginal” model. A graphical representation of comparison results is used to show the counts as well as the predictions given by each of the above-cited distributions.

Multivariate Analysis

Given the hierarchical structure of the data collection system, another NPMP model was considered to allow for various components of the variance of the counts. In this model, the counts of malaria vectors were assessed according to environmen-

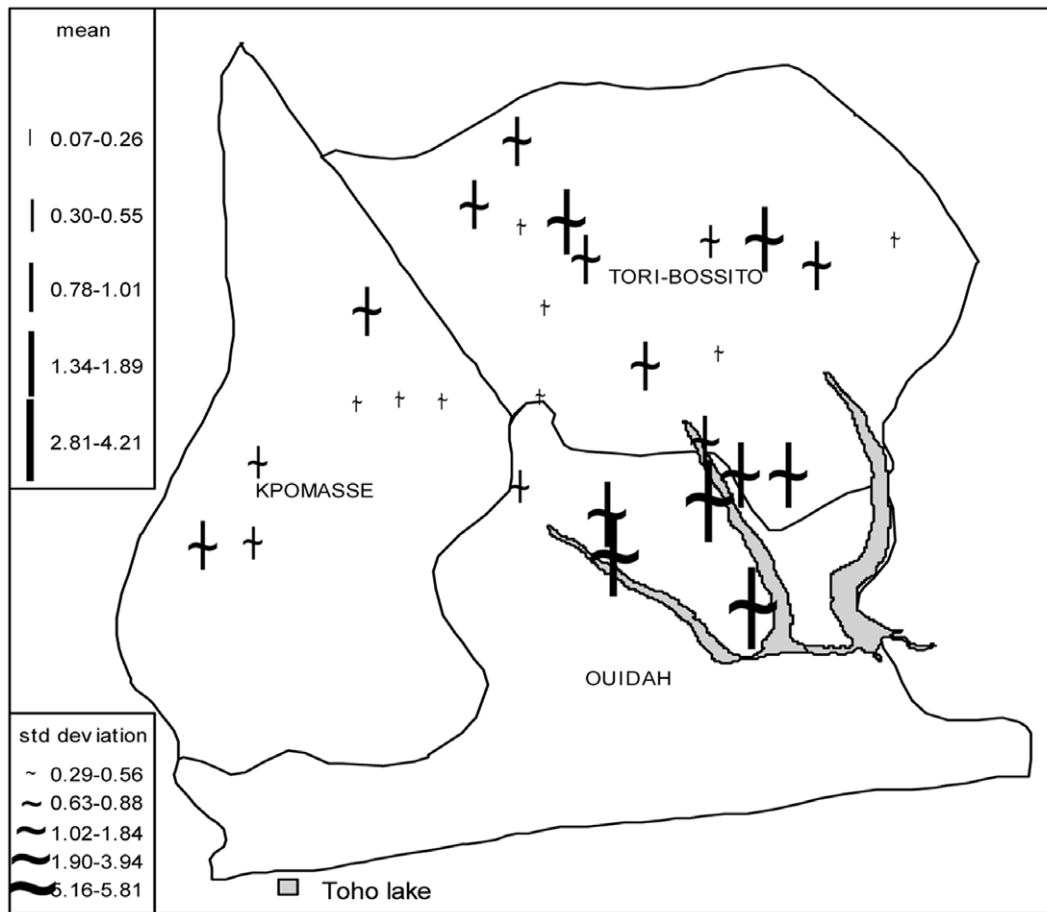


Figure 1. Means and standard deviations of the number of mosquitoes collected per site and per night at each of the 28 villages of the study.

doi:10.1371/journal.pone.0050452.g001

tal and climatic covariates with the “village” as a random effect. It is thus a “conditional” model (on “village”). The latter model allows for the following variables: average distance to Toho lake (in km), water conveyance (0 = absence, 1 = presence), market gardening (0 = absence, 1 = presence), cattle farms inside the village (0 = absence, 1 = presence), the layout of the village (0 = multi-cluster, 1 = single-cluster), population density (inhabitants per 100 m²), both the mean cumulated rainfall over the 8 surveys (in mm) and the deviation from this mean at each survey, both the mean cumulated number of rainy days over the 8 surveys and the deviation from this mean at each survey, both the averaged NDVI over the 4 collection houses per village and the deviation from this average for each house and, finally, the specific collection site (0 = inside of the house, 1 = outside of the house).

According to the current recommendation for the use of hierarchical models, each covariate was centered on its mean before introduction into the model [25]. Variable “survey” was introduced into the model as a fixed effect. Mosquito collections made inside or outside each house of each village were considered as repeated measurements within that village.

In the NPMP conditional model, the number of malaria vectors y_{ig} collected at a given site of a given village g during a given night i is supposed, conditionally to “the village”, to follow a mixture of four Poisson distribution. Each Poisson distribution has a mean μ_{ig} so that $\log(\mu_{ig}) = \eta_{ig} = x_{ig}\beta + \zeta_{ig}$. Note that x_{ig} is the vector of values taken by the covariates, β the corresponding

fixed effects, ζ_{ig} the random intercept specific to each village so that $\zeta_{ig} = ac$, with probabilities π_c [25]. The values taken by ac are called “latent variables”; c indicating each latent class, here fixed to four $c \in \{1, 2, 3, 4\}$. Hence, the density function of the model

can be expressed as $f(y_{ig}) = \sum_{c=1}^4 \pi_c f_c(y_{ig})$ where f_c is the density

function of a Poisson distribution with mean μ_{ig} . Thus, a non-parametric mixture model may also be called “latent class model”. The four values $\exp(ac)$ (one value for each latent class) are the predicted mean numbers of malaria vectors collected whenever all the model covariates, centered on their means, are equal to zero.

Function *allvc* [16,23], a variant of *alldist* adapted for hierarchical data, was used for the latter model implementation in R software.

Assessing the impact of vector control strategies

For each village, a posteriori probability of belonging to each class after adjustment on all the covariates is estimated by the NPMP conditional model. Here, “a posteriori probability” means the conditional probability for a village to belong to a given class, given the data. For a village g and a latent class k , this probability

can be expressed: $p_{kg} = \frac{\pi_k P(yg|k)}{\sum_{c=1}^4 \pi_c P(yg|c)}$. In this expression, yg is the

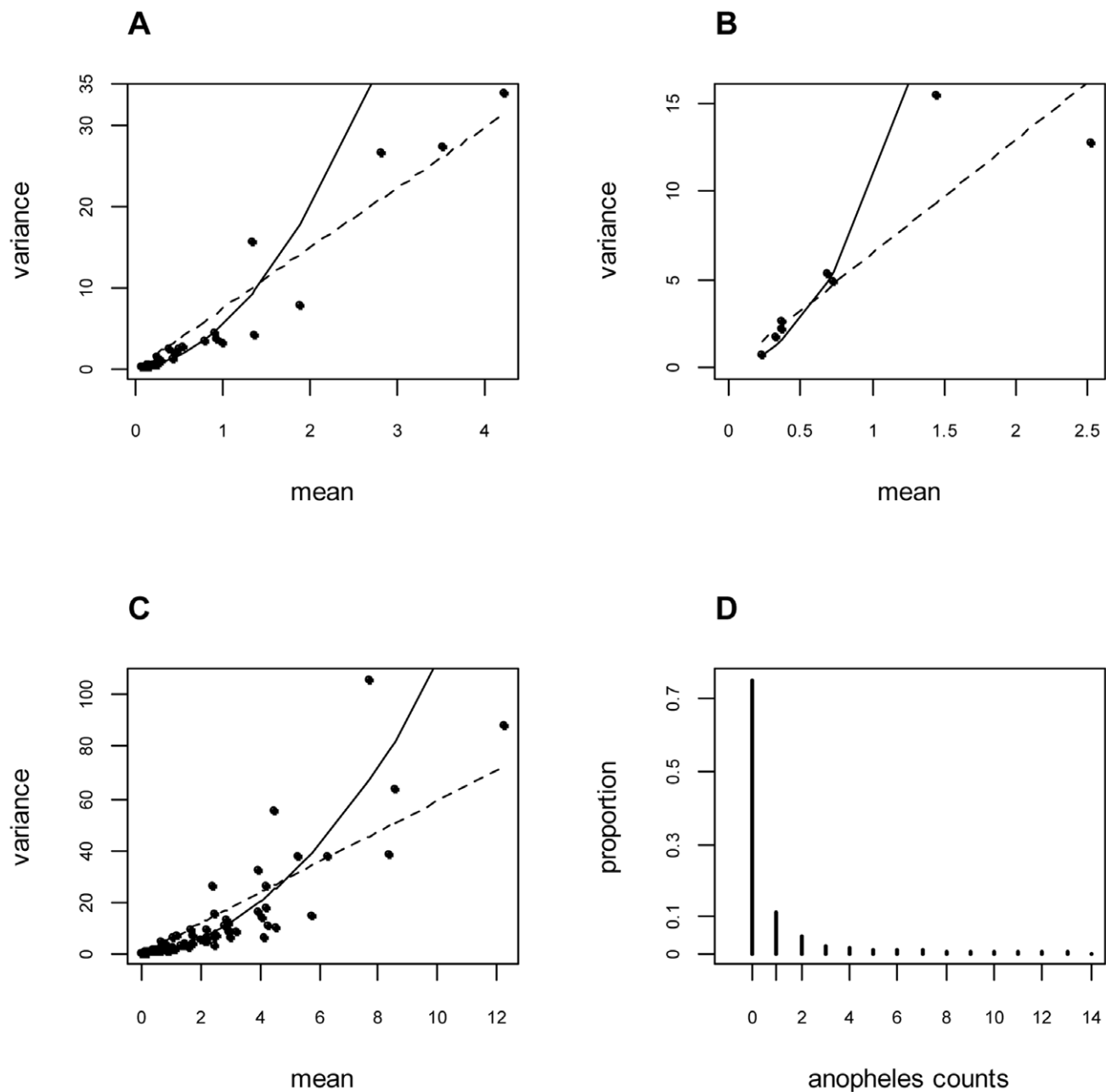


Figure 2. Mean-variance diagrams of the number of malaria vectors collected per village (Panel A), per mission (Panel B), and per village-mission (Panel C). Panel D shows a bar diagram of the distribution of mosquito counts at each collection site (the scale of the X-axis was limited to 14). On panels A, B and C: the dotted lines represent a linear link between the means and the variance ($\text{variance} = \alpha \times \text{mean}$ with $\alpha = 7.4, 6.48$ and 5.9 respectively); the curves represent a quadratic link between mean and variance ($\text{variance} = \text{mean} + \beta \times \text{mean}^2$ with $\beta = 4.4, 8.9$ and 1.1 respectively).

doi:10.1371/journal.pone.0050452.g002

vector of observations in the village g and $P(yg|c)$ the probability of yg assuming membership in class c .

Hence, each village is assigned to one of the classes based on the maximum of the a posteriori probabilities (MAP). This provides a classification of the villages according to the average number of malaria vectors collected at a given site over a given night after adjustment on all the covariates.

In order to assess the impact of TLLIN, ULLIN, ULLIN+CTPS and TLLIN+IRS vector control strategies, the village grouping for implementation of these vector control strategies and

the classification resulting from the NPMP conditional model were compared using a Kruskal-Wallis test.

About the number of the latent classes

The relevance of a NPMP model also called Poisson latent classes model, be it marginal or conditional, depends jointly on its ability to provide a close distribution to that of the observed counts and on its ability to assign each count one of the classes. Essentially, two criteria contributed to the choice of the number of classes: the closeness of the predicted values to the observed ones,

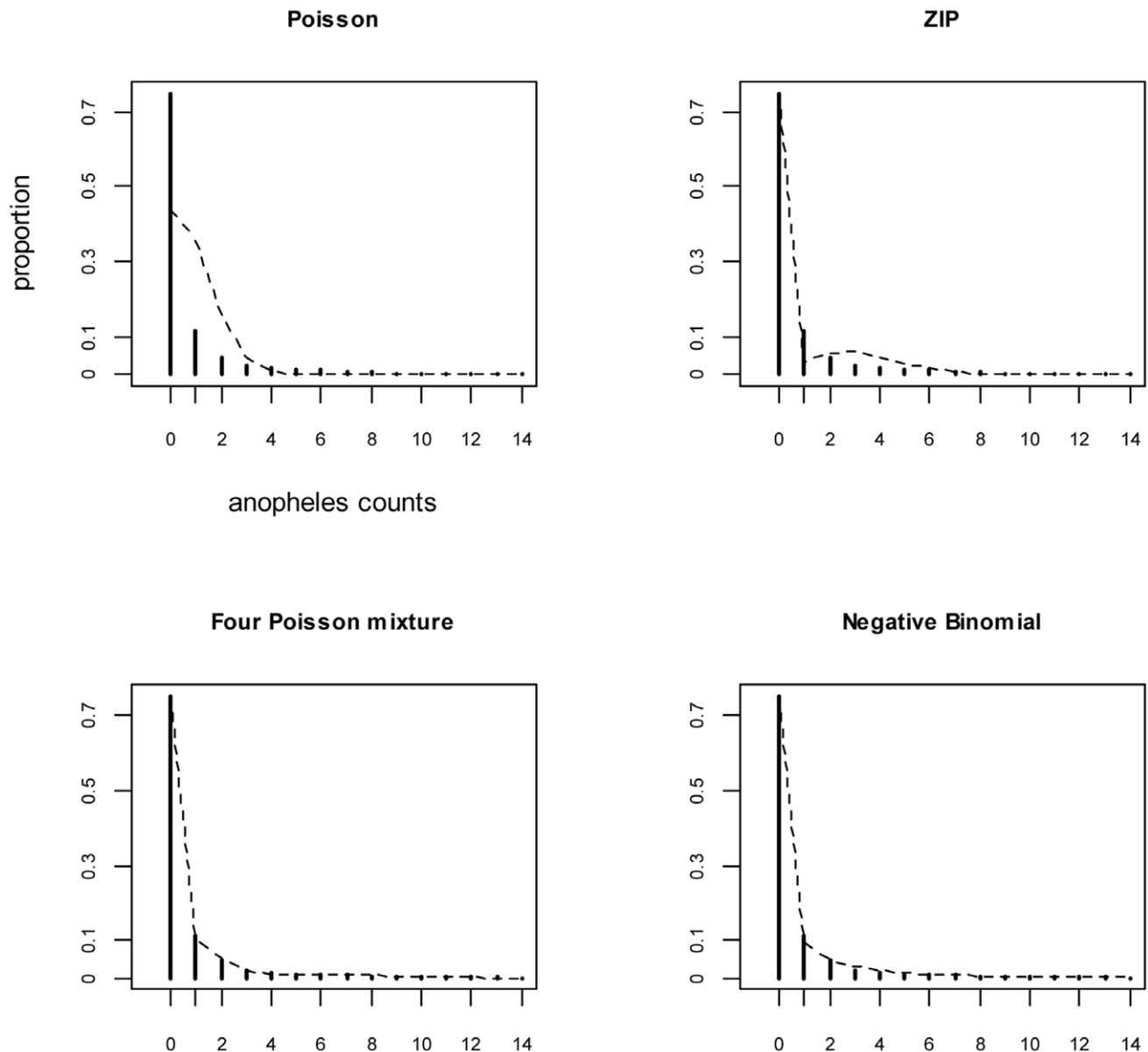


Figure 3. Observed and expected proportions of mosquito counts according to Poisson, ZIP, NPMP and NB distributions.
doi:10.1371/journal.pone.0050452.g003

which is the deviance expressed under the form of a Bayesian Information Criterion [26]; and, the ability of the model to assign each count one of the classes, which is expressed by the Entropy [27]. The Integrated Complete-data Likelihood (ICL-BIC) [28] is a combination of these two criteria; precisely, the BIC plus two times the entropy. Hence, the number of classes chosen for a latent class model is the one that maximizes the likelihood with low entropy equivalent to a minimum ICL-BIC.

Results

Entomological Data

Total of 2,994 malaria vectors were collected during 3,584 human-nights of mosquito collection. This corresponded to an average HBR of 0.835 bites per human per night. Among these vectors, 1,872 belonged to the *An. gambiae* complex and 1,122 belonged to the *funestus* Group. The density of anopheline collected

changed over space and time (Figure 1). Indeed, the mean HBR in OKT ranged from 0.070 to 4.219 bites per human per night when the standard deviation ranged from 0.286 to 5.812. In most villages, high standard deviations corresponded to high means and between surveys the number of malaria vectors collected varied.

Study of the dispersion

Village, survey, and village-survey mean numbers of malaria vector collected per night on humans were plotted with their corresponding variances in Figures 2A, 2B and 2C respectively. The assumption of mean-variance equality of the Poisson distribution was not met. Indeed, the variances were much higher than the means and the slopes of the linear relationships were >1 showing even quadratic relationships. This indicates overdispersion of the data.

Table 1. Parameters and deviance as estimated by the Poisson, ZIP, NPMP, NB and ZINB models.

Distribution	Parameters			–2logL
	Mean (SE)	Proportion (SE)	Dispersion parameter	
Standard Poisson	0.835 (0.015)	1 (-)		13492.470
Zero-inflated Poisson (ZIP)				9229.370
Zero-class	0 (-)	0.736 (0.008)		
Poisson	3.169 (0.062)	0.264 (0.008)		
Poisson mixture model with 4 latent classes (NPMP)				7591.700
Low	0 (7×10^{-6})	0.630 (-)		
Median-low	0.923 (0.029)	0.296 (-)		
Median-high	6.555 (0.161)	0.070 (-)		
High class	24.480 (1.281)	0.004 (-)		
Negative Binomial (NB)	0.835 (0.038)	1 (-)	0.156 (0.007)	7581.856
Zero-inflated negative binomial (ZINB)				7581.856
Zero-class	0 (-)	3.6×10^{-6} (1.7×10^{-5})		
NB	0.835 (0.038)	0.999 (1.7×10^{-5})	0.156 (0.007)	

–2logL: –2 times the log-likelihood
doi:10.1371/journal.pone.0050452.t001

Distribution analysis

Frequency plot of the collected malaria vectors is shown in Figure 2D. The cases for which zero malaria vectors were

collected represented 74.7% of the total. Table 1 shows the parameters for Poisson, ZIP, NPMP (the marginal model), NB and ZINB distributions. Based on the Poisson distribution with a mean

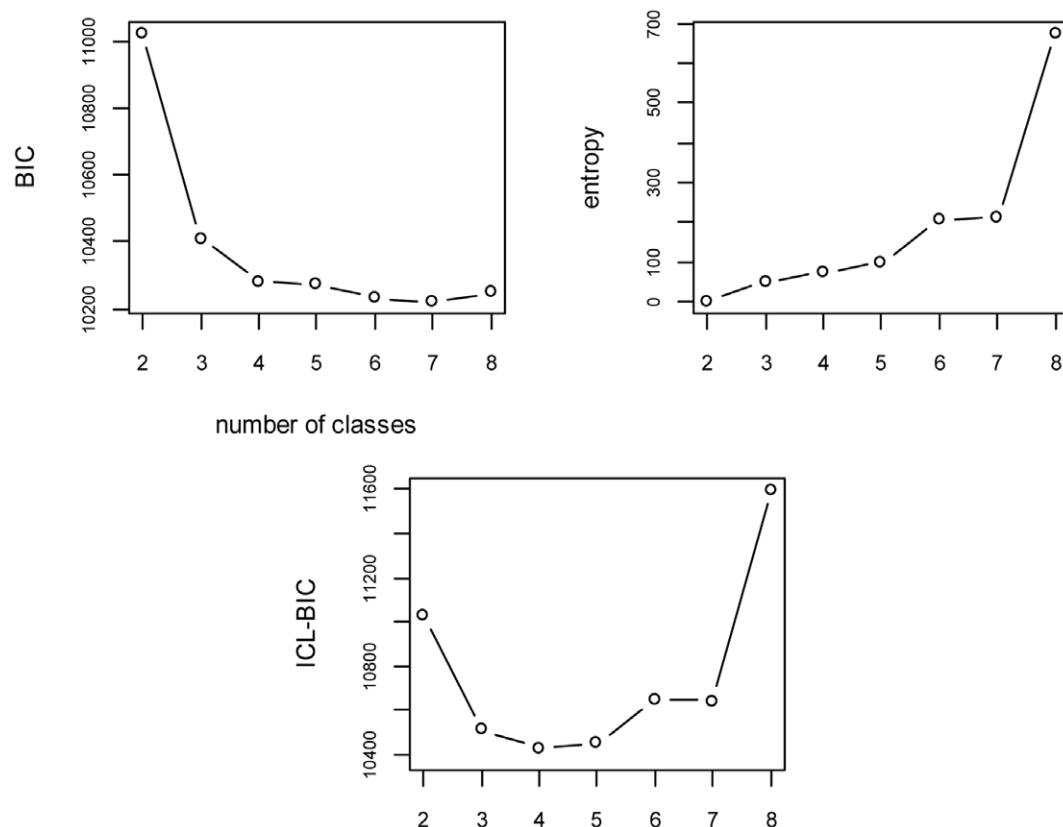


Figure 4. Changes in the values of the Bayesian Information Criterion (BIC), the entropy, and the Integrated Complete-data Likelihood (ICL-BIC) according to the number of latent classes.

doi:10.1371/journal.pone.0050452.g004

Table 2. Estimations of the relationships between mosquito density and various geographical and environmental factors in OKT region according to the conditional NPMP model.

Level and covariate	Relative Risk (95% CI)
<i>Village</i>	
Distance to a freshwater body (per additional km)	0.885 (0.871–0.899)
Presence of water conveyance (Yes vs. No)	0.411 (0.348–0.485)
Presence of market gardening (Yes vs. No)	1.146 (1.016–1.292)
Presence of cattle (Yes vs. No)	0.817 (0.700–0.954)
Layout of the village (single- vs. multi-cluster)	0.466 (0.377–0.574)
Population density (per additional inhabitant/100 m ²)	1.335 (1.079–1.651)
Mean rain quantity over all surveys (per additional mm)	1.325 (1.292–1.359)
Mean number of rainy days over all surveys (per additional day)	2.148 (1.675–2.754)
Mean NDVI (per additional grade)	0.849 (0.827–0.872)
<i>House</i>	
Deviation from the mean NDVI of the village (per additional grade)	0.990 (0.978–1.003)
Collection site (outside vs. inside)	1.182 (1.100–1.270)
<i>Mission</i>	
Deviation* from the mean rain quantity (per additional mm)	0.993 (0.989–0.997)
Deviation* from the mean number of rainy days (per additional day)	0.902 (0.827–0.984)

*Difference between the mean value over all surveys and the value at a given survey
doi:10.1371/journal.pone.0050452.t002

of 0.835, we would expect 43.4% of zero (Figure 3A) which is significantly lower than that observed in the dataset. In contrast, ZIP, NB and NPMP models well predicted the proportion of zero (respectively 74.7%, 74.9%, and 74.7%; Figure 3). Excluding the sites where no anopheline were collected, the ZIP model estimated the mean number of collected anopheline per site per night at 3 but this does not solve the problem of data overdispersion. The NPMP model suggested that, in the study area, the sites where the anopheline counts over a single night would be generally high (mean 24.48) were rather rare (nearly 0.4%). However, the model estimated at 63% and 30%, respectively, the proportions of counts with 0 and 1 as the mean number of collected anopheline per night. The dispersion parameter estimated by the NB model was 0.156 indicating high overdispersion. Since the NB model allows for the excess of zeros, the proportion of zeros estimated by the ZINB model is nearly null. The NB and the ZINB models are therefore equivalent.

There were a significant decrease of the model deviance when a ZIP model was used instead of the standard Poisson model and also when the NPMP was used instead of the ZIP model (Table 1). The NB and ZINB fitted the data as well as the NPMP (deviance were not significantly different). Figure 3 shows the bar diagrams and the expected density probability curves of the counts with the Poisson, ZIP, NPMP and NB models. The curves relative to the NB and to the NPMP models are very similar and fit well the observed data distribution. Conversely, the curve relative to the standard Poisson model does not fit the observed frequency of counts between 0 and 10. Aside from the proportion of zeros, the ZIP model was not able to reproduce the observed proportions of counts ranging from 1 to 10.

Choosing the number of latent classes

Figure 4 shows for the NPMP model conditional on “village”, the progress of the BIC, the entropy, and the ICL-BIC according to the number of classes. Starting from 4 classes, the BIC became very low. The entropy augmented together with the number of

classes. Their combination ICL-BIC was at its minimum with 4 classes. Therefore, the model with 4 latent classes was used to assess the number of malaria vector caught on humans according to climatic and environmental factors.

Multivariate Poisson mixture analysis

Table 2 shows the relative risk of the fixed effects as estimated by the model. Presence of market gardening, population density, mean cumulated rainfall over the 8 surveys, mean cumulated number of rainy days over the 8 surveys and outdoor position were positively associated with the number of malaria vectors caught on human. On the other hand, distance to a freshwater body, presence of water conveyance, presence of cattle, single-cluster village houses, mean NDVI and deviation at each survey from mean cumulated number of rainy days over the 8 surveys were negatively associated with the number of malaria vectors caught on human.

Table 3 shows the random effects of the model. These are the predicted mean number of collected malaria vectors per night for each of the four latent classes when all the covariates are at their mean values. This table shows also the final classification of the villages according to their respective MAP. The mean number of malaria vectors collected ranged from 0.050 vectors per human per night in the 1st class (with only one village: Hekandji) to 0.713 in the 4th class (with 8 villages).

A Kruskal-Wallis test did not show a significant association between villages classification obtained from the model and the villages grouping for vector control strategies (Chi2 = 2.029, p-value = 0.566). Thus, according to HBR, a significant difference in term of impact of vector control strategies (TLLIN, ULLIN, ULLIN+CTPS and TLLIN+IRS) is not showed.

Discussion

Knowledge of malaria vector density in a given area is often needed for implementing and evaluating vector control interven-

Table 3. Classification of the 28 villages according to the maximum a posteriori probability (MAP) of belonging to each class after adjustment on all other covariates.

Village	Latent class	Mean number of mosquitoes	Proportion of villages	MAP
Hekandji	1	0.050	0.036	0.992
Aidjedo	2	0.137	0.218	0.997
Assogbenou				1
Ayidohoue				0.990
Dokanmey				0.998
Hounkponouhoue				1
Abenihoue				1
Adjame	3	0.324	0.466	1
Amoulehoue				1
Adjahassa				0.924
Kindjitokpa				1
Vidjinnagnimon				1
Guezohoue				1
Hla				1
Agokon				0.968
Dekponhoue				0.998
Lokohoue				1
Todo				1
Wanho				1
Zoume				0.994
Agouako	4	0.713	0.280	0.775
Hinmadou				0.925
Manguevie				0.925
Satre				0.925
Soko				0.925
Tanto				0.925
Tokoli				0.925
Agadon				0.925

doi:10.1371/journal.pone.0050452.t003

tions. This requires vector counts at several sites of the area and statistical analyses of these counts.

McCullagh and Nelder [29] asserted that whenever the variable of interest is a count, its distribution is often an overdispersed Poisson distribution. The present data are another illustration of this assertion. The first part of this work aimed at comparing which distribution among Poisson, NB, ZIP, ZINB and NPMP better fit on counts of malaria vectors recorded using the HLC technique. Both NB and NPMP models dealt with the excess of zero, with overdispersion and provided the best predictions of the distribution of the observed data. However, unlike NB model, the NPMP does not do any further assumption about the distribution of the means of malaria vectors counts. Besides, the hierarchical structure of the observed data was taken into account by a NPMP model conditional on “village”. Based on a posterior probability criterion, the NPMP model allowed ranking the villages in four latent classes according to the mean of vector density after adjustment on environmental and climatic covariates. The optimal number of latent classes was established on conventional criteria. Furthermore, the part each covariate played in the variability of malaria vector density in the area was estimated by the fixed effects of the model. However, the present study could not take

into account all the possible hierarchical levels of the data because of the limits of software R in dealing with latent classes. Indeed, function *allvc* of package “npmlreg” cannot deal with more than two levels. We considered thus the catches at all sites of the same village as repeated measurements of the same variable. Therefore, we were not able to take into account the possible correlation between the counts from houses within the same village [30]. “Human bait” is another level that could induce correlation in the data but there is no sufficient information about all mosquito collectors. Besides, the rotation of the collectors during data collection reduces considerably such a correlation. “Season” could be another possible level of correlation; it was taken into account through rainfall data which is the main seasonal factor in the context of malaria vector density.

Moreover, the numbers of collected vectors during the 8 surveys are assumed to be uncorrelated although one may speculate about a correlation structure along time. Nevertheless, the correlation between mosquito counts from successive surveys is deemed to be very low because the time span between two successive surveys is 6 weeks whereas the lifespan of the vectors is only 3 to 4 weeks. Studying the correlation between counts from two nights during the same survey may reveal interesting results.

In southern Benin, both spatial and temporal heterogeneities in vector densities were mentioned by Djènontin et al. [5]. This can be explained by some factors we found associated with the density of malaria vectors. Firstly, cumulated rainfalls during the 15 days preceding the catches were positively associated with vector density as previously reported in Benin [30]. Moreover, the mean number (over all surveys) of rainy days was positively associated with the vector density whereas the deviation at each survey from this mean was negatively associated with the vector density. This suggested that high frequency of rainy events might flush out vectors breeding sites [31]. The vector density was lower in villages with water supply; this could be due to the absence of water storages that could have provided breeding sites for malaria vectors [32,33]. Moreover, the presence of irrigated market gardening could have provided breeding sites [34,35] and then, increased the density of vectors in villages closed to this activity as previously observed in Benin [36]. Permanent freshwaters of the Toho Lake could also have provided breeding sites for both *An. funestus* and *An. gambiae* [37–39] that are both present in our study area [5]. This explains why the vector density decreased when moving away from freshwater bodies as showed by Amek et al. [40] in Western Kenya. The presence of cattle was negatively correlated with vector density suggested that a part of the vector population could have bite on cattle instead of human. More vectors were caught in multi-cluster villages than in single-cluster villages. This might indicate that a multi-cluster village layout might increase the attractiveness of the village for malaria vectors because of the extra vegetation surrounding houses. Thus, the attractiveness of a multi-cluster village may be higher than that of a single-cluster village of same size. Catches were also more abundant outside than inside the houses. This indicates an exophagic behavior of malaria vectors in the study area. As suggested by two studies in the OKT region [4,41], a part of the exophagic population of vectors could have avoided indoor residual insecticides.

One unexpected finding of the present study was that the NDVI was negatively correlated with the density of malaria vectors. This finding contrasts with several studies that used satellite imagery at a lower resolution [42,43] but agrees with a study carried out in Burkina Faso that used the same SPOT images than ours [44]. In this study, the authors found a negative relationship between the larval productivity in ponds and the NDVI calculated from high

resolution SPOT images. Indeed, a high NDVI might reflect the presence of submerged vegetation or water covered with vegetation that are usually related to very high *Anopheles* larval densities [44–46]. Moreover, the NDVI usually decreases with freshwater and unvegetated surfaces likely to provide breeding sites for the malaria vectors [37,47]. Nevertheless, the discussion about the NDVI effect can be more complex because of the co-existence in the region of two major malaria vectors with different breeding-site requirements.

In this work, villages were ranked into four classes of increasing mean malaria vector density but we were not able to find any relationship between this grouping structure and the vector control intervention implemented in the village. This confirms the finding of Corbel et al. [4] who demonstrated with the same data, that vector density was not significantly different between treatment arms (TLLIN, ULLIN, TLLIN+IRS, and ULLIN+CTPS).

In conclusion, we found that the NPMP model was useful to assess the relationships between vectors density and villages or environmental characteristics. It might therefore be an efficient tool to compute risk maps of the host-vector contact. Moreover, the NPMP model provided a classification of the villages after taking into account some covariates. Such a classification could be used at a pre-study step to improve the study design of mosquito collection and adapt the sampling effort according to the village characteristics, especially in region with high spatial and temporal heterogeneities of mosquito density, like in the OKT region. Furthermore, NPMP model could help in the study design of RCT when a stratified sampling is needed. The same model may be adapted and used in other settings for the study of the distribution of vectors of other diseases.

Acknowledgments

We thank the populations and authorities of the OKT district for their kind support and collaboration. We also thank Pr. Jean-François Etard for his helpful contribution to the conception and design of the present study.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: RE VC NF OB. Analyzed the data: OB RE. Wrote the paper: OB RE JI NM VC. Collected the data: AD NM SBB. Revised the manuscript: RE NF VC NM JI AD OB.

References

1. WHO (2011) World Malaria Report 2011. Geneva: World Health Organization.
2. Trape JF, Tall A, Diagne N, Ndiath O, Ly AB, et al. (2011) Malaria morbidity and pyrethroid resistance after the introduction of insecticide-treated bednets and artemisinin-based combination therapies: a longitudinal study. *The Lancet Infectious Diseases*.
3. Silver JB SM (2008) Sampling adults by animal bait catches and by animal-baited traps. *Mosquito ecology field sampling methods*: Springer. pp. 493–675.
4. Corbel V, Akogbeto M, Damien GB, Djènontin A, Chandre F, et al. (2012) Combination of malaria vector control interventions in pyrethroid resistance area in Benin: a cluster randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* 12: 617–626.
5. Djènontin A, Bio-Bangana S, Moiroux N, Henry MC, Boussari O, et al. (2010) Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasit Vectors* 3: 83.
6. Alain E, Brenac T (2001) Modèles linéaires généralisés appliqués à l'étude des nombres d'accidents sur des sites routiers. Le modèle de Poisson et ses extensions. *Recherche Transports Sécurité*: 3–16.
7. Bouche G, Lepage B, Migeot V, Ingrand P (2009) Application of detecting and taking overdispersion into account in Poisson regression model. *Rev Epidemiol Sante Publique* 57: 285–296.
8. Gardner W, Mulvey EP, Shaw EC (1995) Regression analyses of counts and rates: Poisson, overdispersed Poisson, and negative binomial models. *Psychol Bull* 118: 392–404.
9. Breslow N (1990) Tests of hypotheses in overdispersed Poisson regression and other quasi-likelihood models. *Journal of the American Statistical Association*: 565–571.
10. Dean C, Lawless JF (1989) Tests for detecting overdispersion in Poisson regression models. *Journal of the American Statistical Association*: 467–472.
11. Hauer E, Ng JCN, Lovell J, Board NRC (1988) Estimation of safety at signalized intersections: National Research Council, Transportation Research Board.
12. Johnson NL, Kotz S (1969) Discrete distributions: Wiley Online Library.
13. Lambert D (1992) Zero-inflated Poisson regression, with an application to defects in manufacturing. *Technometrics*: 1–14.
14. McLachlan GJ, Peel D (2000) Finite mixture models: Wiley-Interscience.
15. Aitkin M (1996) A general maximum likelihood analysis of overdispersion in generalized linear models. *Statistics and computing* 6: 251–262.
16. Aitkin M (1999) A general maximum likelihood analysis of variance components in generalized linear models. *Biometrics* 55: 117–128.
17. Gillies M, De Meillon B (1968) The Anophelinae of Africa south of the Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). Johannesburg: S. Afric Inst Med Res.
18. Akogbeto M (1995) Entomological study on the malaria transmission in coastal and lagoon areas: the case of a village built on a brackish lake. *Ann Soc Belg Med Trop* 75: 219–227.
19. Fontenille D, Simard F (2004) Unravelling complexities in human malaria transmission dynamics in Africa through a comprehensive knowledge of vector populations. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 27: 357–375.

20. Kelly-Hope LA, McKenzie FE (2009) The multiplicity of malaria transmission: a review of entomological inoculation rate measurements and methods across sub-Saharan Africa. *Malar J* 8: 19.
21. Dennis J, Schnabel RB (1983) Numerical methods for nonlinear equations and unconstrained optimization. *Classics in Applied Math* 16.
22. R Development Core Team and contributors worldwide. The R Stats Package, version 2.14.1.
23. Einbeck J, Darnell R, Hinde J (2009) nplmreg: Nonparametric maximum likelihood estimation for random effect models. R-project.org/package=nplmreg. 0.44 ed.
24. Dempster AP, Laird NM, Rubin DB (1977) Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)*: 1–38.
25. Rabe-Hesketh S, Skrondal A (2004) Counts. Generalized latent variable modeling: multilevel, longitudinal, and structural equation models: Chapman & Hall. pp. 349–372.
26. Schwarz G (1978) Estimating the dimension of a model. *The annals of statistics* 6: 461–464.
27. Nagin DS, Odgers CL (2010) Group-Based Trajectory Modeling in Clinical Research. *Annual Review of Clinical Psychology* 6:109–138.
28. Biernacki C, Celeux G, Govaert G (2000) Assessing a mixture model for clustering with the integrated completed likelihood. *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on* 22: 719–725.
29. McCullagh P, Nelder JA (1989) Generalized linear models: Chapman & Hall/CRC.
30. Cottrell G, Kouwaye B, Pierrat C, le Port A, Bouraima A, et al. (2012) Modeling the influence of local environmental factors on malaria transmission in Benin and its implications for cohort study. *PLoS One* 7: e28812.
31. Paaïjmans KP, Wandago MO, Githeko AK, Takken W (2007) Unexpected high losses of *Anopheles gambiae* larvae due to rainfall. *PLoS One* 2: e1146.
32. Bio-Bangana S, Chandre F, Djènontin A, Chabi J, Ossè R, et al. (2009) Characterization of mosquito fauna in Ouidah, Kpomasse and Tori-Bossito Sanitary Zone in Benin (West Africa). Multilateral Initiative on Malaria. Nairobi, Kenya. Poster.
33. Holstein MH (1954) Biology of *Anopheles gambiae*: research in French West Africa: World Health Organization.
34. Matthys B, Vounatsou P, Raso G, Tschannen AB, Becket EG, et al. (2006) Urban farming and malaria risk factors in a medium-sized town in Cote d'Ivoire. *Am J Trop Med Hyg* 75: 1223–1231.
35. Klinkenberg E, McCall P, Wilson MD, Amerasinghe FP, Donnelly MJ (2008) Impact of urban agriculture on malaria vectors in Accra, Ghana. *Malar J* 7: 151.
36. Yadouleton A, N'Guessan R, Allagbe H, Asidi A, Boko M, et al. The impact of the expansion of urban vegetable farming on malaria transmission in major cities of Benin. *Parasit Vectors* 3: 118.
37. Hamon J (1955) Biologie d'*Anopheles funestus*. Biologie des anophèles d'AOF et d'AEF. Paris: ORSTOM. pp. 6 multigr.
38. Costantini C, Ayala D, Guelbeogo WM, Pombi M, Some CY, et al. (2009) Living at the edge: biogeographic patterns of habitat segregation conform to speciation by niche expansion in *Anopheles gambiae*. *BMC Ecol* 9: 16.
39. Simard F, Ayala D, Kamdem GC, Pombi M, Etouana J, et al. (2009) Ecological niche partitioning between *Anopheles gambiae* molecular forms in Cameroon: the ecological side of speciation. *BMC Ecol* 9: 17.
40. Amek N, Bayoh N, Hamel M, Lindblade KA, Gimnig J, et al. (2012) Spatial and temporal dynamics of malaria transmission in rural Western Kenya. *Parasit Vectors* 5: 86.
41. Moiroux N, Bustamante GM, Pennetier C, Elanga E, Djègbé I, et al. (2012) Changes in *Anopheles funestus* biting behaviour following universal coverage of long-lasting insecticidal nets in Benin. *J Infect Dis*: In press.
42. Thomson MC, Connor SJ (2000) Environmental information systems for the control of arthropod vectors of disease. *Med Vet Entomol* 14: 227–244.
43. Hay SI, Omumbo JA, Craig MH, Snow RW (2000) Earth observation, geographic information systems and *Plasmodium falciparum* malaria in sub-Saharan Africa. *Adv Parasitol* 47: 173–215.
44. Dambach P, Sie A, Lacaux JP, Vignolles C, Machault V, et al. (2009) Using high spatial resolution remote sensing for risk mapping of malaria occurrence in the Nouna district, Burkina Faso. *Glob Health Action* 2.
45. Gillies M, Coetzee M (1987) A supplement to the *Anophelinae* of Africa South of the Sahara (Afrotropical Region). Johannesburg, South Africa: South African Institute for Medical Research. 143 p.
46. Gimnig JE, Ombok M, Kamau L, Hawley WA (2001) Characteristics of larval anopheline (Diptera: Culicidae) habitats in Western Kenya. *Journal of Medical Entomology* 38: 282–288.
47. Edillo FE, Toure YT, Lanzaro GC, Dolo G, Taylor CE (2002) Spatial and habitat distribution of *Anopheles gambiae* and *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) in Banambani village, Mali. *J Med Entomol* 39: 70–77.

RESEARCH

Open Access

Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin

Anges W Yadouleton^{1*}, Gil Padonou¹, Alex Asidi³, Nicolas Moiroux^{1,2}, Sahabi Bio-Banganna¹, Vincent Corbel^{1,2}, Raphael N'guessan^{1,3}, Dina Gbenou⁴, Imorou Yacoubou⁵, Kinde Gazard⁶, Martin C Akogbeto¹

Abstract

Background: The emergence of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* has become a serious concern to the future success of malaria control. In Benin, the National Malaria Control Programme has recently planned to scaling up long-lasting insecticidal nets (LLINs) and indoor residual spraying (IRS) for malaria prevention. It is, therefore, crucial to monitor the level and type of insecticide resistance in *An. gambiae*, particularly in southern Benin where reduced efficacy of insecticide-treated nets (ITNs) and IRS has previously been reported.

Methods: The protocol was based on mosquito collection during both dry and rainy seasons across forty districts selected in southern Benin. Bioassay were performed on adults collected from the field to assess the susceptibility of malaria vectors to insecticide-impregnated papers (permethrin 0.75%, deltamethrin 0.05%, DDT 4%, and bendiocarb 0.1%) following WHOPES guidelines. The species within *An. gambiae* complex, molecular form and presence of *kdr* and *ace-1* mutations were determined by PCR.

Results: Strong resistance to permethrin and DDT was found in *An. gambiae* populations from southern Benin, except in Aglangandan where mosquitoes were fully susceptible (mortality 100%) to all insecticides tested. PCR showed the presence of two sub-species of *An. gambiae*, namely *An. gambiae s.s.* and *Anopheles melas*, with a predominance for *An. gambiae s.s.* (98%). The molecular M form of *An. gambiae* was predominant in southern Benin (97%). The *kdr* mutation was detected in all districts at various frequency (1% to 95%) whereas the *Ace-1* mutation was found at a very low frequency ($\leq 5\%$).

Conclusion: This study showed a widespread resistance to permethrin in *An. gambiae* populations from southern Benin, with a significant increase of *kdr* frequency compared to what was observed previously in Benin. The low frequency of *Ace-1* recorded in all populations is encouraging for the use of bendiocarb as an alternative insecticide to pyrethroids for IRS in Benin.

Background

More than 90% of recorded malarial deaths occur in Africa among the most vulnerable low immune response individuals, such as children under five years old and pregnant women [1,2]. The National Malaria Control Programmes (NMCP) in African countries currently relies on strategies targeting mosquito vector control, which involve the use of long-lasting insecticidal nets (LLINs) and/or indoor residual spraying (IRS), the two most effective preventive measures. Both methods have shown to be very effective against *Anopheles* mosquitoes

[3-8]. In 2010 in Benin, a full coverage of LLINs countrywide couple with IRS in the department of Ouémé in southern Benin will become a new tool to improve malaria prevention and control.

However, the development of pyrethroid resistance in populations of *Anopheles gambiae* has become a serious threat to the effectiveness of these two vector control measures [9]. N'Guessan *et al* [10] recently established a clear relationship between pyrethroid resistance caused by *kdr* and the failure of LLINs and IRS in experimental huts in south Benin. In the last decade, the emergence of resistance in populations of *Anopheles* to common classes of insecticides used in public health has been reported in many African countries including Kenya [11], Côte d'Ivoire [12], Benin [13-15], Niger [16],

* Correspondence: anges33@yahoo.fr

¹Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC), 06 BP 2604 Cotonou, République du Bénin

Burkina Faso [17,18], Mali[19], Nigeria[20], South Africa [21], and Cameroun [22].

In West Africa, the main mechanism involved in pyrethroid-resistance in *An. gambiae* is caused by target site insensitivity through a knockdown resistance (*kdr*)-like mutation caused by a single point mutation (*Leu-Phe*) in the para-sodium channel gene [23]. Preliminary surveys done in Benin southern in *An. gambiae* populations by Corbel et al [14], indicated that the *Leu-Phe kdr* mutation has been found almost only in the M form at high frequency (0.95).

Indeed, several authors reported that the use of insecticides in households and pesticides in agricultural settings has greatly increased selection pressure leading to the emergence of insecticide resistance in malaria vectors [13-15,24]. In Benin, it was reported that DDT resistance in *An. gambiae sensu lato (s.l.)* was the result of massive use of DDT house spraying applications in several districts of the country during the WHO malaria eradication campaign in the 1950s [25].

A study in Burkina Faso documented a relatively high frequency of *kdr* mutations (*Leu-Phe*) in *An. gambiae* collected from cotton farms under massive insecticide treatment compared to farms with no pesticide utilization [18]. Therefore, several studies on insecticide resistance have currently been addressing the agenda of most malaria scientists in sub-Saharan Africa and around the world to approach in different ways the crucial issues of insecticide resistance in malaria vectors which threatens the effective usefulness of ITNs and IRS for malaria prevention [6,26].

Previous resistance monitoring surveys conducted in Benin had focused on the south-north transect. It is then a priority to investigate the status of insecticide resistance in *An. gambiae* in southern Benin, because pyrethroid resistance has been reported with a clear evidence of reduced efficacy of ITNs and IRS in experimental huts [10,26]. In addition to the *kdr* mutation, which is the main mechanism of resistance to pyrethroids, it's important to address also the distribution of the *Ace.I* allele that causes resistance to organophosphates and carbamates. With support of Presidential Malaria Initiative (PMI), a large-scale programme based on free-ITN distribution in combination with IRS was implemented since 2008 in four districts in Department of Ouémé in southern Benin. To attain a better understanding of the resistance situation in Benin particularly in these localities because of the use of bendiocarb in IRS, it is important to characterize the spatial distribution of resistance in *An. gambiae* in a variety of ecological settings and then attempt to correlate this resistance with pesticide usage. The present study propose to assess the resistance status of malaria vectors to carbamates, pyrethroids and assessed the implications for

vector control strategy in a new geographical setting of an opposite east-west transect of the southern part of Benin. This area has a different bioclimatic characteristic with high rainfall (1,500 mm yearly), where insecticides are extensively used for both public health and agricultural purposes.

Methods

Study areas

The study was carried out in forty districts of southern Benin characterized by a continual practice of urban and peri-urban agriculture, with two rainy seasons (March- July and October- November) and two dry seasons (December-March and August-September). The annual mean rainfall is 1,500 mm in July, relative humidity (RH) of $70\% \pm 5$ and a minimum/maximum temperature ranging from 23 to 32°C. The choice of these environments is justified by their particular bioclimatic characteristics and the use of insecticides or fertilizers in public health and agriculture. Indeed, the presence of susceptible population of *An. gambiae* to pyrethroids and organophosphorous recorded in some districts will help to effectively use the IRS and ITNs in the study areas.

Mosquito collections

Mosquitoes were collected during the dry (from February to March) and the rainy seasons (April-July) across the forty districts selected in south Benin. Larvae and pupae were collected using the dipping on breeding sites and then kept in separated labelled bottles related to each locality. A part of the larvae samples was reared up to adult emergence at the CREC (Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, Benin) insectary for further bioassay tests.

Insecticide susceptibility test

Females mosquitoes aged 2-5 days old were exposed to diagnostic doses of various insecticides for susceptibility tests using insecticide-impregnated papers, as described by the standard WHO testing protocol [27]. The following insecticides were tested: deltamethrin (0.05%), permethrin (0.75%), DDT (4%) and bendiocarb (0.1%). The emphasis was also put on deltamethrin, because of a nationwide distribution of PermaNets by the NMCP. The use of DDT is justified by the detection of cross-resistance between pyrethroids and organo-chlorine in *Anopheles* populations. The carbamate bendiocarb was one of the alternative insecticides to pyrethroids currently used for IRS in Benin [28].

For each treatment, five test tubes were used: one untreated paper as a control and four treated papers to expose mosquitoes. Control tubes contained filter papers impregnated with silicon oil (insecticide carrier) only,

whereas treated papers were impregnated with diagnostic doses of insecticide plus carrier.

An average of twenty-five mosquitoes was introduced into each tube. Females of *An. gambiae* used in this study were exposed for one hour to insecticide-treated papers and monitored at different time intervals (10, 15, 20, 30, 45, 60 minutes) to record the "knock-down" times. After one-hour exposure, mosquitoes were transferred into holding tubes and provided with cotton wool wetted with a 10% honey solution. Mortalities were recorded after 24 hours and the susceptibility status of the population was graded according to the WHO recommended protocol [27]. Dead and survived mosquitoes from this bioassay were separately kept in Carnoy solution at -20°C for further molecular characterization.

Molecular characterization of *Anopheles* populations using PCR analysis

In each locality, 25-35 females of *An. gambiae* samples from the WHO bioassays were analysed at the molecular level. PCR analysis for species identification [29] was performed to identify various members of *An. gambiae* complex collected in each site. The next set of PCR focused on molecular forms using PCR-RFLP [30], which involved only *An. gambiae sensu stricto* (s.s.). The PCR forms sub-grouped the *An. gambiae* s.s. into two molecular forms: *An. gambiae* s.s. M and *An. gambiae* s.s. S forms. The last series of PCRs determined the presence of *kdr* mutations in *An. gambiae* ss. Populations, as described by Martinez-Torres et al [31]. The PCR-RFLP diagnostic test was used to detect the presence of G119S mutation (*Ace-1* gene) as described by Weill et al [32].

Data interpretation

The resistant status of mosquito samples was determined according to the WHO criteria [27].

Following the WHO protocol

- Mortality rates is > 97%: the population was considered fully susceptible
- Mortality rates ranged between 80 > x < 97%: resistance suspected in the population
- Mortality rates < 80%, the population was considered resistant to the tested insecticides.

Mortality rates were corrected using Abbott formula when control mortality was above 5% [33]. Molecular results (PCR *Kdr* and *Ace-1*) were compared to insecticide susceptibility tests performed with the WHO method to conclude on the *An. gambiae* status in the districts surveyed.

Mapping insecticide resistance in mosquito vectors in southern Benin

Using geographical information recorded with GPS, screened localities were projected on a map of southern

Benin where mosquito larvae were collected. Resistance data were obtained from 40 districts in 6 departments (Ouémé, Plateau, Littoral, Atlantique, Mono, Couffo) and spatialized using the ESRI ArcGis Software.

Data analysis

Analysis using the computer software Excel, Fisher's exact tests was performed on the data sets gathered from the localities surveyed. Parameter for analysis included the resistance status of each tested population of *An. gambiae*. The insecticide susceptibility test on resistant strains from different districts was compared and analysed using Statcalc-Epi-info software, to compare the status of insecticide resistance in the different sites investigated. A Fisher's exact test was performed to determine if there was any significant difference between two given sites.

Results

Resistance status

Additional file 1 shows the insecticide resistance status of *An. gambiae* s.l populations from the 40 districts of southern Benin. Following the exposure of females of *An. gambiae* to permethrin impregnated papers, all 40 populations were fully susceptible to deltamethrin and bendiocarb, 39 out of 40 were resistant to permethrin and 39 out of 40 showed resistant to DDT (see Additional file 1)

Identification of molecular forms of *Anopheles gambiae* s.s

1,500 mosquitoes from the 40 districts were successfully analysed by species, molecular forms. PCR revealed the presence of two sub-species of *An. gambiae*: *An. gambiae* s.s., and *Anopheles melas* with a predominance of *An. gambiae* s.s (98%). The M form was predominant over the S form (M = 98%; S = 2%).

Detection of resistance genes

Allele and genotype frequencies at the *kdr* and *Ace-1* loci are shown in Additional file 2. Results from this study showed that the *kdr* mutation was present in all *An. gambiae* populations collected from the different district. The highest frequencies were recorded in Dogbo, Lokossa and Lanta (96%, 95% and 95%, respectively) and the lowest frequency was recorded in *An. gambiae* strains from Aglandan (1%). The *Ace-1* mutation was found in *An. gambiae* populations collected from the different districts but at very low frequency (from 1% to 5%).

Mapping insecticide resistance in mosquito vectors in southern Benin

Using geographical information recorded with GPS, screened localities were projected on a map of Benin and areas of permethrin and bendiocarb resistance or

susceptibility were marked. The map generated from this study showed a spread of resistance of permethrin in most districts of South Benin (Figure 1). However, the levels of resistance registered in the following localities, Sakété, Kétou, Lokossa, Dogbo, Comè and Lanta were relatively consistent compared to other sites of the districts. On the other hand, no resistance was found in, Houeyogbé, Aglangandan, and Ifangni, districts.

Discussion

The species composition of *Anopheles gambiae* complex identified during this study did not differ from those recorded in previous studies in Benin. It was shown that, within the *An. gambiae* complex, *An. gambiae* s.s. M form was predominant (> 98%) and has as a wide distribution across southern Benin Corbel et al [14]. The same trend was found in some localities of Mali, Nigeria [34-36]. The absence of *An. melas* in many districts in southern Benin can be attributed to the fact

that larvae were mostly sampled from pools and puddles rather than flooded water, which is the preferred breeding site of *An. melas* [37]. No *An. arabiensis* was found in the different localities.

The study showed a wide distribution of resistance in *An. gambiae* s.l. to permethrin and DDT in southern Benin whereas all samples of *An. gambiae* tested were fully susceptible to deltamethrin and bendiocarb. The widespread resistance to DDT and permethrin in southern Benin can be explained by a long-standing, massive use of DDT house-spraying in several districts of the country during the WHO malaria eradication programme in the 1950s [25]. In addition, the rapid expansion of urban agriculture is one of the major factors that contributes to a large distribution of pyrethroid resistance in *An. gambiae* s.l. Corbel et al [14]. A recent report by Yadouleton et al [15] has confirmed that urban farming in Benin has enormously contributed to the emergence of resistance in *Anopheles* populations.

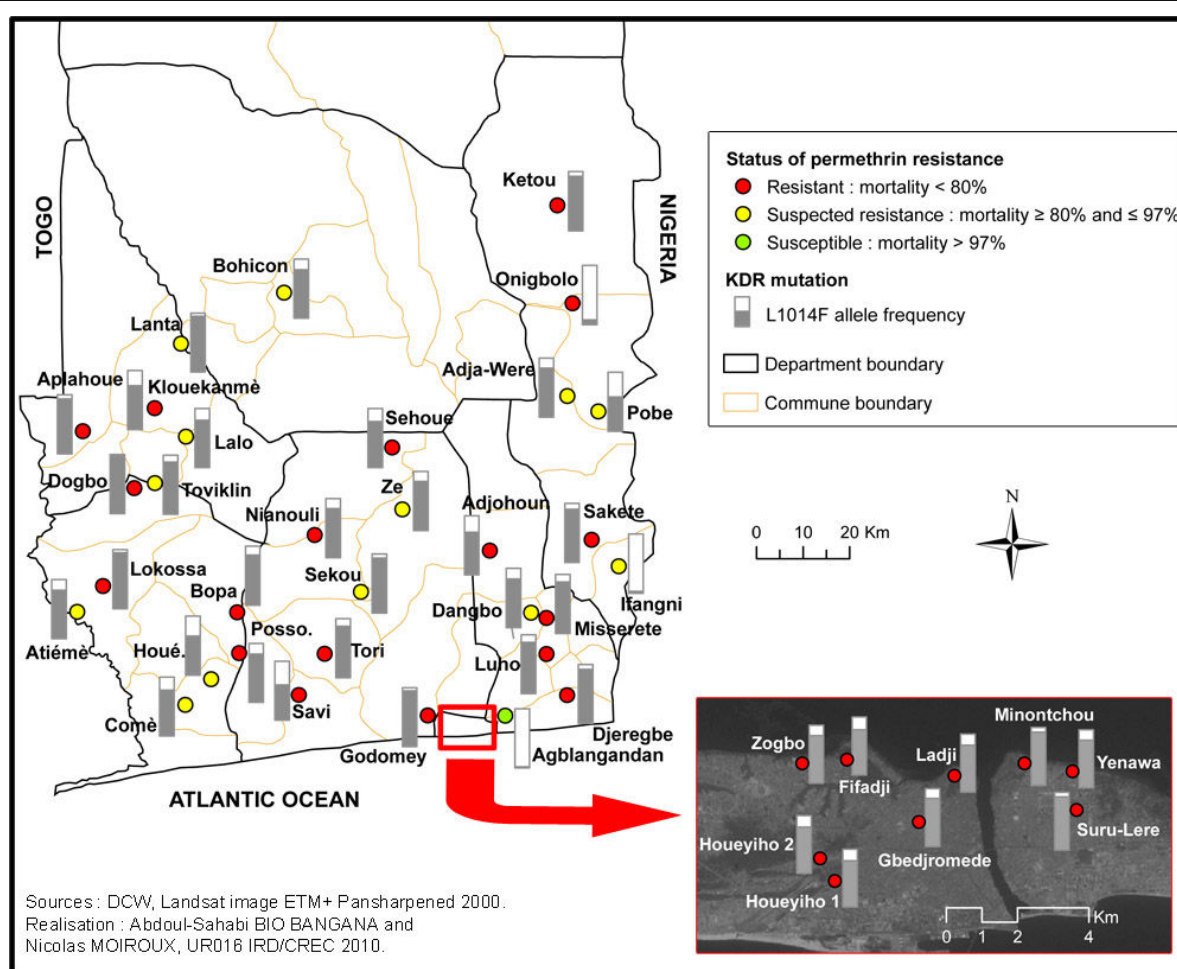


Figure 1 Distribution of *Anopheles gambiae* resistance/susceptibility to permethrin (0.75%) in southern Benin.

As reported by Akogbeto *et al* [24], some populations of *An. gambiae* lay their eggs in breeding sites containing insecticide residues. A study in vegetable farming in Benin [15] has shown that such activities in urban areas directly led to an improper use of insecticides to control vegetable pests, thus exerting a huge selection pressure on mosquito larval population. Moreover, the liberalization of the pesticide sector and the increased cost of pesticides registration have incited most of the farmers to illegally procure insecticides and an uncontrolled use of these chemicals in Benin. This factor has also contributed to the emergence of insecticide resistance in *An. gambiae* populations [15,24].

However, the absence of pyrethroid-DDT cross resistance in *An. gambiae* from Aglangandan in the Département of Ouémé can be explained by the absence of agriculture activities in this area. Recently, qualitative data were collected from direct observations, in-depth interview and focus group discussions to confirm this hypothesis [15].

Some populations of *An. gambiae* have developed low resistance to bendiocarb in southern Benin. This can be explained by the fact that in these areas, carbamate and organophosphorous insecticides were mostly used by farmers for crop protection [38]. The results confirm those of Corbel *et al* [14] and Djogbenou *et al* [39] that previously showed a low frequency of the Ace1 allele in malaria vectors populations in Benin. This is particularly relevant to strengthen vector control campaigns using Indoor Residual Spraying based on carbamate and/or organophosphate as alternatives to pyrethroids, which are currently used by the NMCP in several areas of Benin.

Conclusion

The emergence of pyrethroid resistance in *An. gambiae* has become a serious concern for the success of malaria control in the last decades. To date, pyrethrinoids remain the only family of insecticides currently recommended by the WHO for the impregnation of bed nets. This study showed a relatively wide distribution of insecticide resistance in *An. gambiae*, especially to permethrin and DDT. The current findings will help for decision-making in the National Malaria Control Programme especially in the choice of insecticide to use during the next campaigns of Indoor Residual Spraying (IRS) in Benin.

Additional file 1: Percentage of dead *Anopheles gambiae* observed after 1 hour exposure to permethrin (0.75%), bendiocarb (0.1%), DDT (4%), deltamethrin (0.05%) in 6 departments in southern Benin.

Additional file 2: Species identification, molecular forms and frequency of the *kdr*, and *Ace1* alleles and genotypes in *Anopheles gambiae* s.l.

Acknowledgements

This work was supported by the Presidential Malaria Initiative and Bill/Melinda Gates and I am grateful to the CREC's team for technical assistance during laboratory bioassays and field collections.

Author details

¹Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC), 06 BP 2604 Cotonou, République du Bénin. ²Institut de Recherche pour le Développement (IRD), UR016, Caractérisation et Contrôle des Populations de Vecteurs, 01 BP 4414 RP Cotonou, République du Bénin. ³London School of Tropical Medicine and Hygiene, London, UK. ⁴WHO-Benin. ⁵National Malaria Control Programme, Benin. ⁶Faculté des Sciences de la Santé, Benin.

Authors' contributions

AWY contributed to design of the study and conceived the protocol, proceed data analysis and interpretation. MCA, DG, KD, IY contributed to the study design, provided funding and coordination. GP, contributed in the study design and in the implementation of this research. BB and NM contributed to the mapping. AA, NR, VC contributed to manuscript drafting. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 9 September 2009 Accepted: 24 March 2010

Published: 24 March 2010

References

1. Lindblade KA, Walker ED, Onapa AW, Katungu J, Wilson ML: **Highland malaria in Uganda: prospective analysis of an epidemic associated with El Nino.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999, **93**:480-487.
2. Malakooti MA, Biomndo K, Shanks GD: **Reemergence of epidemic malaria in the highlands of western Kenya.** *Emerg Infect Dis* 1998, **4**:671-676.
3. Akogbeto M: **Etude de la transmission du paludisme côtier lagunaire: Cas d'un village construit sur un lac d'eau saumâtre.** *Ann Soc Belge Méd Trop* 1995, **75**:219-227.
4. Beach R: **International vector resistance testing.** Annual Meeting of the American Mosquito Control Association, Larch, Utah 1997, 23-27.
5. Carnevale P, Robert V, Boudin C, Halna JM, Pazart L-H, Gazin P, Richard A, Mouchet J: **La lutte contre le paludisme par les moustiquaires imprégnées de pyrèthrinoides au Burkina-Faso.** *Bull Soc Path Exot* 1988, **81**:832-842.
6. Coluzzi M, Petrarca V: **Aspirator with paper cup for collecting mosquitoes and others insects.** *Ann Soc Belge Méd Trop* 1973, **33**:249-250.
7. Magesa SM, Wilkest J, Minzawa AEP, Myamba J, Philip MD: **Trial of pyrethroid impregnated bed nets in area of Tanzania hole endemic of malaria. Part II. Effects on vector population.** *Acta Trop* 1990, **49**:97-108.
8. Service MV, Davidson G: **A light incident of dieldrin resistance in *An gambiae* Giles from an unsprayed area in northern Nigeria.** *Nature* 1964, **203**:209-210.
9. Santolamazza Federica, Calzetta Maria, Etang Josiane, Barrese Elena, Dia Ibrahim, Caccone Adalgisa, Donnelly JM, Petrarca Vincenzo, Simard Frederic, Pinto Joao, Torre Alessandra della: **Distribution of knock-down resistance mutations in *Anopheles gambiae* molecular forms in west and west-central Africa.** *Malar J* 2008, **7**:192.
10. N'Guessan R, Corbel V, Akogbeto M, Rowland M: **Reduced efficacy of insecticide treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin.** *Emerg Infect Dis* 2007, **13**:199-206.
11. Vulule JM, Beach RF, Atieli FK, McCallister JC, Brogdon WG, Roberts JM, Mwangi RW, Hawley WA: **Elevated oxidase and esterase levels associated with permethrin tolerance in *Anopheles gambiae* from Kenyan villages using permethrin impregnated nets.** *Med Vet Entomol* 1999, **13**:239-244.
12. Elissa N, Mouchet J, Rivière F, Meunier JY, Yao K: **Resistance of *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroids in Côte d'Ivoire.** *Ann Soc Belge Méd Trop* 1993, **73**:291-294.
13. Corbel V, Chandre F, Brengues C, Akogbeto M, Lardeux F, Hougard JM, Guillet P: **Dosage-dependent effects of permethrin-treated nets on the behaviour of *Anopheles gambiae* and the selection of pyrethroid resistance.** *Malar J* 2004, **3**:22.

14. Corbel V, N'Guessan R, Brengues C, Chandre F, Djogbenou L, Martin T, Akogbeto M, Hougard JM, Rowland M: **Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa.** *Acta Trop* 2007, **101**:207-216.
15. Yadouleton AW, Asidi A, Djouaka RF, Braïma J, Agossou CD, Akogbeto MC: **Development of vegetable farming: a cause of the emergence of insecticide resistance in populations of *Anopheles gambiae* in urban areas of Benin.** *Malar J* 2008, **7**:189.
16. Czeher C, Labbo R, Arzika I, Duchemin JB: **Evidence of increasing Leu-Phe knockdown resistance mutation in *Anopheles gambiae* from Niger following a nationwide long-lasting insecticide-treated nets implementation.** *Malar J* 2009, **8**:103.
17. Diabate A, Baldet T, Chandre F, Guiguemde RT, Brengues C, Guillet P, Hemingway J, Hougard JM: **First report of the *kdr* mutation in *Anopheles gambiae* M form from Burkina Faso, West Africa.** *Parassitologia* 2002, **44**:157-158.
18. Diabate A, Baldet T, Chandre F, Akogbeto M, Guiguemde RT, Darriet F, Brengues C, Guillet P, Hemingway J, Graham JS, Hougard JM: **The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae* s.l. in Burkina Faso.** *Am J Trop Med Hyg* 2002, **67**:617-622.
19. Fanello C, Petrarca V, Della Torre A, Santolamazza F, Dolo G, Coulibaly M, Allouche A, Curtis CG, Toure YT, Coluzzi M: **The pyrethroid knock-down resistance gene in the *Anopheles gambiae* complex in Mali and further indication of incipient speciation within *An. gambiae* s.s.** *Insect Mol Biol* 2003, **12**:241-245.
20. Awolola TS, Brooke BD, Koekemoer LL, Coetzee M: **Resistance of the malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroid insecticides, in south-western Nigeria.** *Ann Trop Med Parasitol* 2002, **96**:849-852.
21. Hargreaves K, Koekemoer LL, Brooke B, Hunt RH, Mthembu J, Coetzee M: ***Anopheles funestus* resistant to pyrethroid insecticides in South Africa.** *Med Vet Entomol* 2000, **14**:181-189.
22. Etang J, Manga L, Chandre F, Guillet P, Fondjo E, Mimpfoundi R, Toto JC, Fontenille D: **Insecticide susceptibility status of *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) in the Republic of Cameroon.** *J Med Entomol* 2003, **40**:491-497.
23. Chandre F, Darriet F, Manga L, Akogbeto M, Faye O, Mouchet J, Guillet P: **Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae sensu lato*.** *Bull World Health Organ* 1999, **77**:230-234.
24. Akogbeto M, Djouaka R, Noukpo H: **Use of agricultural insecticides in Benin.** *Bull Soc Pathol Exot* 2005, **98**:400-405.
25. Joncour G: *Lutte anti-palustre au Dahomey* Rapport no 13: Ministère de la Santé Publique 1959.
26. Magesa SM, Wilkest J, Minzawa AEP, Myamba J, Philip MD: **Trial of pyrethroid impregnated bed nets in area of Tanzania hole endemic of malaria. Part II. Effects on vector population.** *Acta Trop* 1990, **49**:97-108.
27. WHO: **Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides. Tenth report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control.** Geneva. WHO Technical Report Series, No: 737 World Health Organization 1986.
28. RTI International: **Indoor Residual Spraying (IRS) Indefinite Quantity Contract (IQC).** PMI, USAID 2008.
29. Scott J, Brogdon W, Collins F: **Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by PCR.** *Am J Trop Med Hyg* 1993, **49**:520-529.
30. Favia G, Della Torre A, Bagayoko M, Lanfrancotti Sagnon NF, Toure Y, Coluzzi M: **Molecular identification of sympatric chromosomal forms of *Anopheles gambiae* and further evidence of their reproductive isolation.** *Insect Mol Biol* 1997, **6**:377-383.
31. Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson MS, Darriet F, Berge JB, Devonshire AL, Guillet P, Pasteur N, Pauron D: **Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s.** *Insect Mol Biol* 1998, **7**:179-184.
32. Weill M, Malcolm C, Chandre F, Mogensen K, Berthomieu A, Marquine M, Raymond M: **The unique mutation in *ace-1* giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors.** *Insect Mol Biol* 2004, **13**:1-7.
33. Abbott WS: **A method of computing the effectiveness of an insecticide.** *J Am* 1987, **3**:302-303.
34. Awolola TS, Oyewole IO, Amajoh CN, Idowu ET, Ajayi MB, Oduola A, Manafa OU, Ibrahim K, Koekemoer LL, Coetzee M: **Distribution of the molecular forms of *Anopheles gambiae* and pyrethroid knock down resistance gene in Nigeria.** *Acta* 2005, **95**:204-209.
35. Toure YT, Petrarca V, Traore SF, Coulibaly A, Maiga HM, Sankare O, Sow M, Di Deco MA, Coluzzi M: **The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa.** *Parassitologia* 1998, **40**:477-511.
36. Wondji C, Simard F, Fontenille D: **Evidence for genetic differentiation between the molecular forms M and S within the Forest chromosomal form of *Anopheles gambiae* in an area of sympatry.** *Insect Mol Biol* 2002, **11**:11-19.
37. Diabate A, Baldet T, Chandre C, Dabire KR, Kengne P, Guiguemde TR, Simard F, Guillet P, Hemingway J, Hougard JM: **KDR mutation, a genetic marker to assess events of introgression between the molecular M and S forms of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in the tropical savannah area of West Africa.** *J Med Entomol* 2003, **40**:195-198.
38. IFDC: **L'état du marché des intrants agricoles au Bénin.** Technical Bulletin, IFDC-T70 2005, 83.
39. Djogbénou L, Dabire R, Diabate A, Kengne P, Akogbeto M, Hougard JM, Chandre F: **Identification and geographic distribution of the *ace-1r* mutation in the malaria vector *Anopheles gambiae* in south-western Burkina Faso, West Africa.** *Am J Trop Med Hyg* 2008, **78**:298-302.

doi:10.1186/1475-2875-9-83

Cite this article as: Yadouleton et al.: Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin. *Malaria Journal* 2010 **9**:83.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



RESEARCH

Open Access

Malaria infection and disease in an area with pyrethroid-resistant vectors in southern Benin

Georgia B Damien^{1*}, Armel Djènontin^{1,2}, Christophe Rogier³, Vincent Corbel^{1,2}, Sahabi B Bangana¹, Fabrice Chandre⁴, Martin Akogbéto¹, Dorothée Kindé-Gazard⁵, Achille Massougboji⁵, Marie-Claire Henry^{1,6}

Abstract

Background: This study aimed to investigate baseline data on malaria before the evaluation of new vector control strategies in an area of pyrethroid-resistance of vectors. The burden of malaria was estimated in terms of infection (prevalence and parasite density) and of clinical episodes.

Methods: Between December 2007 and December 2008 in the health district of Ouidah - Kpomassè - Tori Bossito (southern Benin), a descriptive epidemiological survey of malaria was conducted. From 28 selected villages, seven were randomized from which a total of 440 children aged 0 to 5 years were randomly selected. Clinical and parasitological information was obtained by active case detection of malaria episodes carried out during eight periods of six consecutive days scheduled at six weekly intervals and by cross-sectional surveys of asymptomatic infection. Entomological information was also collected. The ownership, the use and the correct use of long-lasting insecticide-treated nets (LLINs) were checked over weekly-survey by unannounced visits at home in the late evening.

Results: Mean parasite density in asymptomatic children was 586 *P. falciparum* asexual forms per μL of blood (95% CI 504-680). Pyrogenic parasite cut-off was estimated 2,000 *P. falciparum* asexual blood forms per μL . The clinical incidence of malaria was 1.5 episodes per child per year (95%CI 1.2-1.9). Parasitological and clinical variables did not vary with season. *Anopheles gambiae* s.l. was the principal vector closely followed by *Anopheles funestus*. Entomological inoculation rate was 5.3 (95%CI 1.1-25.9) infective bites per human per year. Frequency of the L1014F *kdr* (West) allele was around 50%. Annual prevalence rate of *Plasmodium falciparum* asymptomatic infection was 21.8% (95%CI 19.1-24.4) and increased according to age. Mean rates of ownership and use of LLINs were 92% and 70% respectively. The only correct use of LLINs (63%) conferred 26% individual protection against only infection (OR = 0.74 (95%CI 0.62-0.87), $p = 0.005$).

Conclusion: The health district of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito is a mesoendemic area with a moderate level of pyrethroid-resistance of vectors. The used LLINs rate was high and only the correct use of LLINs was found to reduce malaria infection without influencing malaria morbidity.

Background

Despite considerable worldwide efforts made in recent years to control malaria [1], the disease is still a major public health problem with nearly 250 million cases and about one million deaths each year. Eighty five percent of deaths occur among children under five [2] from which nearly all are in sub-Saharan Africa. In 2007, malaria was declared to be the most important disease

in this age group, in Benin, leading to 43% of all medical consultations and 29% of hospital admissions [3]. The National Malaria Control Programme (NMCP) has implemented WHO/GMP's (World Health Organization/Global Malaria Programme) recommended preventive and curative strategies [4]. These include i) Artemisinin combination therapy (ACT) which is dispensed at health centers and has recently been made available to communities for children under five years old; ii) Intermittent preventive treatment (IPT) during pregnancy; iii) Long-lasting insecticide-treated mosquito nets (LLINs) which have continued to be distributed

* Correspondence: barikiss2000@yahoo.fr

¹Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC), 06 BP 2604 Cotonou, Bénin

Full list of author information is available at the end of the article

following the nation-wide deployment among high-risk populations (i.e. children of under five and pregnant women) and iv) Indoor residual spraying (IRS) using carbamate insecticide applied in specific districts through the President's Malaria Initiative [5]. Many studies have demonstrated that the use of insecticide treated nets reduced uncomplicated malaria episodes by at least 50% [6]. Unfortunately, insecticide resistance in malaria vectors has dramatically increased in Africa [7], especially in Benin [8-10] and may seriously compromise the success of vector control management. Two studies conducted in experimental huts in South Benin, where *Anopheles gambiae* was resistant to pyrethroids, have reported that significant reduction in the efficacy of pyrethroids was applied either in treated nets or IRS [11,12]. In order to manage insecticide resistance, the Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) in collaboration with the Institut de Recherche pour le Développement (IRD) and the NMCP has evaluated successfully (WHOPES phases I and II) a new insecticide resistance management (IRM) strategy combining in the same household a LLIN and a carbamate treated plastic sheeting [13,14]. In the context of a future community-based evaluation of this promising IRM strategy (phase III trial), the malaria burden was evaluated in a health district of southern Benin where a nation-wide distribution of LLINs to children <5 had been implemented in 2007. This study constitutes an analysis of the baseline situation of malaria in terms of infection (prevalence and parasite density) and clinical episodes. Entomological information was also collected.

Methods

Site description

This epidemiological study was carried out in the Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito health district in southern

Benin (Figure 1), from December 2007 to November 2008. The population size in the study area was 178,314 inhabitants according to the results of the 3rd General Census of the Population and the Environment (RGPH3) of February 2002. The population is rural and lives on agriculture with scattered settlement. The main ethnic group is Aïzo. The climate is essentially sub-equatorial, with two dry seasons (a long dry season from December to March and a short dry season in August and September), and two rainy seasons (a long rainy season from April to July and a short rainy season from October to November). The average annual rainfall is around 1,200 mm, of which 700-800 mm and 400-500 mm rain down respectively in the first and in the second rainy season. The hottest months (31°C) are February to April and the coldest months (27°C) are July to September. Less than 30% of children are present at the health centre when sick. They are mostly treated by traditional medication [15]. A recent survey in Benin indicated that less than half of febrile children <5 were received anti-malarial drugs of which only 7% of cases were given ACT [16,17]. Malaria vectors show resistance to pyrethroids in south of Benin [18].

Sampling

Twenty eight villages were chosen according to the following criteria: having between 250-500 inhabitants, distance between any villages greater than two kilometers and the absence of a local health centre. From these, seven villages were randomly selected. Geographical, demographical and environmental characteristics are described in Table 1. After census, about 60 children aged 0-71 months were randomly selected in each village. They were clinically monitored for a total of 48 days spread over one year. Children born during the study were not included. Ethical clearance was given for the study by the National Ethical Committee in Benin (Comité National Provisoire d'Ethique pour la Recherche en Santé, Reference number IRB00006860) and IRD ethical committee. Mosquito collectors gave their written informed consent and were treated free of charge for malaria presumed illness. They were also vaccinated against yellow fever. Each head of family or the guardian of the selected child gave their written informed consent. During the monitoring periods, all children of villages, whom participating in the study or not to, were treated free of charge by the medical staff.

Data collection

Parasitological and clinical measures

Active case detection (ACD) for malaria episodes was carried out during eight periods of six consecutive days at six weeks intervals throughout the year. Each day a nurse assisted by a local village helper trained for the

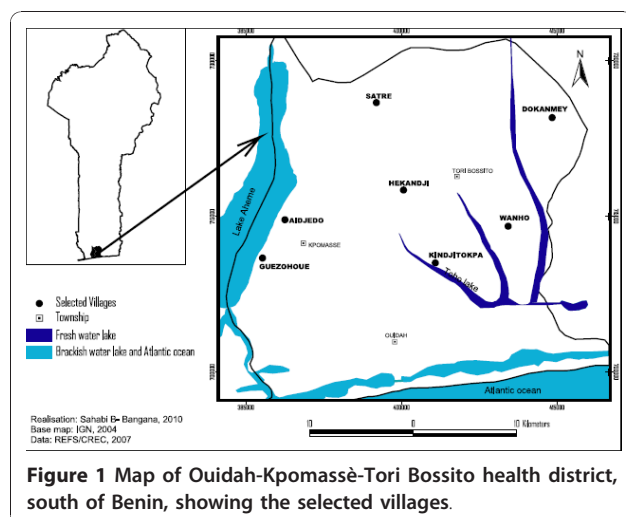


Table 1 Description of the study area

Village	Spatial coordinates		Density of population (People/Km ²)	Environnemental characteristics				
	Longitude (°E)	Latitude (°N)		Open water cisterns (N)	Swamps*	Distance from lake (fresh water) (Km)	Distance from lagoon (brackish water) (Km)	Distance from health center (Km)
Aïdjèdo	06° 24'	02° 20'	47	2	-	7.9	0.6	3
Dokanmè	06° 33'	02° 13'	61	5	-	0.5	22.6	4
Kindjitokpa	06° 25'	01° 58'	78	0	+	0.1	9.7	2
Guézohoué	06° 29'	02° 05'	91	0	-	11.1	0.5	2
Hékandji	06° 25'	02° 07'	67	4	-	4.0	10.0	5
Satré	06° 34'	02° 04'	45	17	-	13.8	8.5	4
Wanho	06° 27'	02° 11'	63	0	+	2.2	12.2	2

* Presence of swamps (+) and absence of swamps (-).

study, visited the households in the sample. A physician supervised the field work. The presence or absence and state of health of each child were recorded daily on a specially prepared form (one form per household). The nurse examined and recorded data on every case of sickness detected at home. A thick blood film was taken from every sick child. Children were treated according to the clinical diagnosis made by the nurse. When malaria was suspected, the patient was treated with artemether-lumefantrine for three days according to the recommendations of WHO and NMCP [19,20]. Cross-sectional surveys (CSS) were carried out at each monitoring clinical period (n = 8) on every asymptomatic child (confirmed by axillary temperature < 37.5°C). A thick film sample was taken on the fourth day to be sure that asymptomatic children were free of illness in preceding days. Cross-check quality controls were conducted every six weeks during the collection of field data.

Entomological measurements

Data were collected two weeks before each clinical monitoring. Adult mosquitoes were caught using Human Landing Catches (HLC) technique [21]. In the study area, 896 human-nights of capture of human landing mosquitoes were organized every six weeks over a year period (128 nights per village; eight places per village and per night, half indoor and half outdoor). Treated nets were present in the mosquito collection sites. The mosquito species were identified using morphological characteristics according to the identification keys of Gillies & De Meillon [22] and Gillies & Coetzee [23]. All mosquitoes of *An. gambiae* complex and *Anopheles funestus* group were stored in individual tubes with silicagel and preserved at -20°C for *P. falciparum* circumsporozoite index estimation and molecular identification.

Control of LLINs

The ownership, the use and the correct use of LLINs (Permanet® 2.0) which were distributed in October 2007

were checked over weekly-survey. The visits of the nurse were unannounced and took place in the late evening around 9.00 PM when children were expected to be asleep [24]. The unannounced visits determined the ownership (whether the LLINs were seen during the control), the use (whether children were sleeping under it during the control) and the correct use (whether the LLINs were correctly hung and tucked and were not torn). The rates of LLINs ownership, use and correct use were calculated relative to the total number of observations.

Laboratory examination

Laboratory processing was done at the CREC, Cotonou. Parasitological infection was detected on Giemsa-stained thick smears. Asexual stages of each *Plasmodium* species were counted in the blood volume occupied by 200 leucocytes and parasite density was calculated by assuming 8,000 leucocytes/μL of blood. Thick smears from each village were read by the same experienced technician, under the supervision of a parasitologist. The readings of the two technicians were also compared on the same set of blood samples. Their estimations of parasite detection and parasite density did not differ significantly. Cross-check quality control was regularly done on a randomly selected sample representing 10% of all thick smears.

After scoring field-collected *Anopheles* mosquitoes and identifying the species of each specimen by Polymerase Chain Reaction (PCR) [25], the presence and relative frequency of the molecular M and S forms of *An. gambiae sensu stricto* (s.s) were determined according to the method of Favia [26]. Infection of mosquitoes was determined on the head and thorax of individual vector specimens by ELISA using monoclonal antibodies against *P. falciparum* circumsporozoite protein (CSP) [27]. The method of Martinez-Torrez was used for the molecular detection of the L1014F *kdr* allele [28].

Data analysis

Demographic, parasitological, clinical and entomological data were double entered independently in the Access 2003 database. Parasitological and clinical data were analyzed using the `svy` command (STATA 11.0). For each person only one blood sample per monitoring period was considered for analysis. When a pathological condition was detected, the blood sample taken during the clinical episode was retained for analysis. Parasitological data were analyzed separately in terms of prevalence of *P. falciparum* asexual blood forms, density of *P. falciparum* asexual blood forms in parasite positive blood thick films and prevalence of *P. falciparum* gametocytes. A generalized estimating equation (GEE) approach, which can be used with normal distributions and discrete data was used for statistical analysis of repeated measures. To take into account the interdependence of observations made on the same person, an exchangeable correlation structure was used in which the correlation between these observations made on one person at different times was assumed to be the same. The prevalence of asymptomatic malaria infections was analyzed as a binomial response by using a logistic regression model. The parasite density was log transformed for a normally distributed response and analyzed with a link function by using a linear regression model.

The association between the parasite density and the occurrence of clinical episodes was tested using a Poisson regression model, taking clinical status (pathological episode *versus* asymptomatic state) as the dependent variable, and parasite density as the independent variable. In this type of model, a random intercept variable is allowed to vary with subjects, and this random subject-specific intercept allows the interdependence of the observations made on the same person to be taken into account. For each pathological period, the probability that it was caused by malaria was estimated by the Attributable Fraction (AF) calculated from the odds ratios associated with the estimated parasite density in the logistic model [29,30]. The pathological episodes were clinically defined by a high axillary temperature ($\geq 37.5^\circ\text{C}$), sweats, shivers, headaches, nausea or vomiting [31] or by a history of fever during the 48 hours proceeding the first day of ACD or, for infants under one year of age, anorexia or any pathological condition described by the mother [32,33]. For individuals, the number of malaria attacks over a given periods was estimated by the sum of probabilities that pathological episodes were due to malaria, depending on the parasite density. The malaria incidence rate was calculated dividing the ratio of pathological episodes attributable to malaria by the number of child-days.

The three dependent variables (i.e. prevalence rate of *P. falciparum* infection, mean parasite density in positive

children and clinical incidence rate) were analyzed according to demographic (age groups 0-23, 24-59, 60-71 months and sex), environmental (season and villages) and sanitary (LLIN's ownership, use and good use) variables. The χ^2 test was used to compare the rate of ownership, use and correct use of LLINs. An optimum pyrogenic parasite density cut-off was calculated using the estimated AFs with a logistic model. The sensitivity and the specificity were similarly determined [34]. The sensitivity was estimated by the ratio of malaria episodes with positive cut-off to a total of malaria episodes. The specificity was estimated by the ratio of no malaria febrile episodes with parasite density below the cut-off to the total of no malaria febrile episodes. The suitable positive Likelihood-ratio (>10), negative Likelihood-ratio (<0.1) results and Youden's J index were also determined from the model.

The human biting rate (HBR) was expressed as the number of anopheles bites per human per night. The sporozoite index was calculated as the proportion of mosquitoes found to be positive for CSP. The entomological inoculation rate (EIR) was calculated as the product of the HBR and the sporozoite index and expressed as the number of infected bites per human per year.

Results

Population description

A total of 440 children in seven villages were parasitologically and clinically monitored during 18,262 person-days from which 402 (2.2%) were missing for the following reasons: 366 not found and 36 refusals. Ten children died during the study. The mean age of the children at inclusion was 2.1 years. The female/male ratio was 1:1. Each child in the survey was visited on an average of 42 days out of the 48. A total of 3,074 thick blood films were taken, comprising 2,838 in asymptomatic children and 236 in sick children, with an average of seven per child.

Parasitological indexes of asymptomatic children observed by CCS

Plasmodium falciparum, *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale* were present alone or mixed (Table 2). The annual prevalence rate of *P. falciparum* infection was 21.8% (95%CI 19.1-24.4). In the multivariate random-effects logistic regression model, age of children, season, village and correct use of LLINs, but not the ownership and the use of LLINs were significantly associated with the prevalence of infection (Table 3). The correct use of LLINs conferred a 26% individual protective effect against infection prevalence (OR = 0.74 (95% CI 0.62-0.87), $p = 0.005$). The prevalence of infection increased with age. Children aged 1 to 2 years and 3 to 5

Table 2 Distribution of Plasmodium species according to clinical status

<i>Plasmodium</i> species	Asymptomatic children	Sick children	Total
<i>Pf</i>	593	102	695
<i>Pf+Pm</i>	9	0	9
<i>Pf+Po</i>	15	3	18
<i>Pf+Pm+Po</i>	1	0	1
<i>Pm</i>	21	3	24
<i>Pm+Po</i>	1	0	1
<i>Po</i>	14	2	16
Total	654	110	764

Pf: *Plasmodium falciparum*; *Po*: *Plasmodium ovale*; *Pm*: *Plasmodium malariae*.
The plamodial formula on the 764 of the *Plasmodium*-positive thick blood film is *Pf* = 0.95; *Pm* = 0.05; *Po* = 0.05.

years were three to five times more frequently infected than children aged less than one year (22.0% (CI95% 17.0-27.0) and 33.0% (CI95% 28.4-37.6) versus 7.8% (CI95% 5.2-10.5)). The prevalence of infection was higher during the dry season (24.7% (CI95% 21.6-27.8) than during the rainy season (18.6% (CI95% 15.7-21.5)). The prevalence of infection was higher in Satré, Wanho, Kindjitopka and Hèkandji than in Dokanmè, Aidjèdo and Guézohoué.

The mean parasite density in positive asymptomatic children was 586 *P. falciparum* asexual forms per μ L of blood (95%CI 504-680). According to multivariate random-effects linear regression model, increased parasite density was

Table 3 Multivariate analysis of the prevalence rates of Plasmodium falciparum asymptomatic infection determined by cross-sectional surveys

Variable	Prevalence rate of <i>P. falciparum</i> asymptomatic infection				
	N positive/N total (%)	95%CI	OR	95%CI	p-values
Age (years)					
<1	67/857(7.8)	5.1-10.6	1		
1-2	205/932(22.0)	16.7-27.3	3.62	2.52-5.19	<0.001
3-5	346/1049(33.0)	27.9-38.0	5.15	3.67-7.23	<0.001
Village					
Aidjèdo	59/427(13.8)	8.8-18.8	1		
Dokanmè	77/414(18.6)	12.8-24.4	1.55	0.89-2.72	0.103
Kindjitopka	99/405(24.4)	20.8-28.1	2.12	1.34-3.36	0.007
Guézohoué	27/410(6.6)	4.2-8.9	0.48	0.28-0.84	0.019
Hékandji	82/392(20.9)	15.8-26.0	1.68	1.00-2.81	0.049
Satré	129/364(35.4)	30.7-40.2	3.42	2.16-5.43	0.001
Wanho	145/426(34.0)	21.1-39.0	3.33	2.09-5.31	0.001
Season					
Dry	366/1481(24.7)	20.1-29.4	1		
Rainy	252/1357(18.6)	14.6-22.5	0.74	0.62-0.87	0.004
Correct use of LLIN's					
No	349/1305(26.7)	21.9-31.6	1		
Yes	269/1533(17.5)	13.8-21.3	0.74	0.62-0.87	0.005

associated with some villages (Dokanmè and Satré) but not with age of children, season, ownership and use of LLINs (Table 4). *Plasmodium falciparum* gametocyte annual prevalence rate was 3.0% (95%CI 2.2-5.6) and differed significantly between the dry (3.8% (95% CI 2.9-4.8)) and the rainy season (2.2% (95%CI 1.4-3.0)), $p = 0.008$.

Clinical malaria observed by ACD

During the study 236 pathological episodes were detected. A total of 110 pathological episodes were parasite positive: 102 children with *P. falciparum* alone, three individuals with *P. malariae* alone, two individuals with *P. ovale* alone and three individuals with mixed infection. The *P. malariae* single infections showed densities of 480, 2,360 and 200 parasites/ μ L and *P. ovale* single infections showed densities of 4,800 and 9,800 parasites/ μ L. Three mixed infections with *P. falciparum* and *P. ovale* showed combined densities of 3,760 *Pf* + 720 *Po*, 960 *Pf* + 400 *Po* and 280 *Pf* + 120 *Po* (Table 2). In all age groups, the mean parasite density was lower in healthy children than sick children (Figure 2). Four parasite positive cases with *P. falciparum* referred to the health centre were diagnosed as severe malaria with anaemia. Among the 236 pathological episodes, there were 74 episodes attributable to *P. falciparum* malaria (Table 5). The optimal pyrogenic parasite cut-off of 2,000 *P. falciparum* asexual blood forms per μ L was determined as corresponding to levels of sensitivity and specificity of 94.0% and 94.5% respectively (Table 6). The mean annual clinical incidence rate was 1.5 per child per year (95%CI 1.2-1.9). Age and sex of children, season, village, the ownership, use and correct use of LLINs were not associated with the clinical malaria attacks in the Poisson regression model (Figure 3B, Table 7).

Entomological indexes

Overall 13,602 mosquitoes including 115 *An. gambiae sensu lato* (s.l.) (65 and 50 indoor and outdoor, respectively) and 67 *An. funestus* (40 and 27 indoor and outdoor, respectively) were caught in the seven villages. The number of CSP positive *An. gambiae s.l.* and *An. funestus* were nine and four respectively. The aggressiveness of culicidae and malaria vectors (*An. gambiae s.l.* and *An. funestus*) were 5,541 (95%CI 2,008-15,288) and 74 (95%CI 17-318) bites per human per year. The annual EIR was 5.3 (95%CI 1.1-25.9) infected bites per human per year. The 1014F *kdr* allele was present in both molecular M and S forms. The frequency of this mutation was respectively 0.47 (95%CI 0.37-0.57) and 0.61 (95%CI 0.43-0.80) in the M and S forms.

Ownership and use of LLINs

The LLINs ownership rate reached 91.8% (2,769/3017; 95%IC 90.8-92.8) and remained high through the year.

Table 4 Multivariate analysis of parasite density among positive asymptomatic children observed by cross-sectional surveys

Variable	Number	Parasite density		
		Geometric average (95%CI)	Adjusted multiplicative factor (95%CI)	p-values
Age (year)				
<1	67	686(424-1109)	1	
1-2	205	734(541-994)	1.02(0.68-1.55)	0.900
3-5	346	497(422-587)	0.78(0.52-1.16)	0.175
Sex				
F	297	508(419-617)	1	
M	252	668(535-835)	1.29(1.01-1.63)	0.041
Village				
Aïdjèdo	59	398(272-581)	1	
Dokanmè	77	807(544-1197)	1.80 (1.10-2.95)	0.026
Kindjitokpa	99	509(388-668)	1.20(0.81-1.77)	0.302
Guézohoué	27	758(298-1928)	1.52(0.75-3.06)	0.195
Hékandji	82	489(344-695)	1.13(0.72-1.79)	0.528
Satré	129	732(538-995)	1.77(1.19-2.63)	0.013
Wanho	145	552(375-813)	1.37(0.88-2.14)	0.129
Season				
Dry	366	551(464-656)	1	
Rainy	252	640(510-803)	1.04(0.85-1.28)	0.657
Correct use of LLIN's				
No	256	684(552-848)	1	
Yes	362	525(435-633)	1.22(0.99-1.51)	0.057

Use was significantly higher during the rainy season than the dry season 73% (1,062/1,451; 95%CI 70-75) and 67% (1,047/1,566; 95%CI 64-69) respectively, $p = 0.0001$. It significantly decreased to 31% (118/385; 95%CI 26-31) in the middle of dry season. Correct use was also the highest during the rainy season (68% (990/1,566; 95%CI 65-70)) compared to the dry season (42% (665/1,171; 95%CI 40-45)), $p < 0.0001$, (Figure 3C).

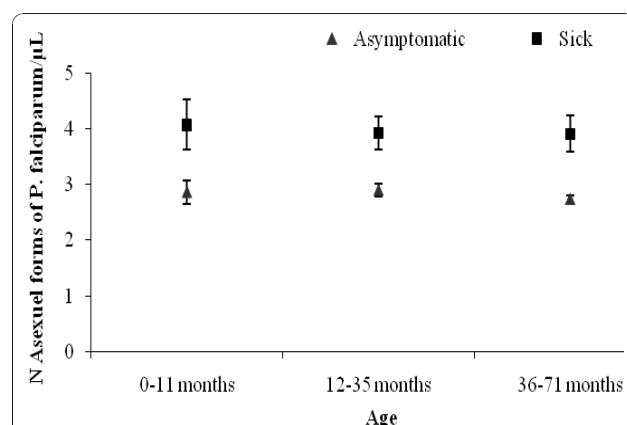


Figure 2 Annual geometric mean density (95%CI) in parasite-positive asymptomatic (observed during CSS) and sick (found by ACD) children according to age.

Discussion

This prospective longitudinal study allowed the epidemiology of malaria in the health district of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito after the nation-wide distribution of LLINs to children in October 2007 to be characterized. Previous studies have described the epidemiology of malaria in Benin, by focusing mainly on malaria transmission [35] and on clinical and parasitological aspects as well in rural areas [36-38] as in the city of Cotonou [39]. Other authors [40] described the process indicators, results and impact of malaria control which were useful for the implementation of the monitoring and assessment system of "Roll Back Malaria" in Benin. The large scale and selective distribution of LLINs in Africa in the last decade were also the subject of several studies which concerned mainly the acceptability and/or the population perception without investigating their parasitological and clinical effects [41-47]. Pyrethroid resistance in malaria vectors has been observed in many African countries [7]. Nevertheless, no loss of effectiveness of LLINs has been reported at an operational level [48].

Epidemiological description

The entomological findings showed that the health district of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito is a mesoendemic area with a mean annual EIR of 5.3 infected bites (95%CI 1.1-25.9). This EIR was found in conjunction with the

Table 5 Attributable fraction estimates of pathological episodes to falciparum malaria

Trophozoites/ μ L	N asymptomatic children	N sick children	Logistic model	
			N clinical malaria cases	N other clinical cases (No malaria)
0	2220	131	0.0	131.0
1-99	112	5	0.3	4.7
100-249	84	7	0.9	6.1
250-499	87	5	0.9	4.1
500-999	94	5	1.4	3.6
1000-1499	62	1	0.3	0.7
1500-1999	28	4	1.7	2.3
2000-2999	44	3	1.5	1.5
3000-3499	12	3	1.7	1.3
3500-3999	8	3	1.8	1.2
4000-4999	18	2	1.3	0.7
5000-7499	23	5	3.5	1.5
7500-9999	16	3	2.4	0.6
10000-14999	13	5	4.3	0.7
≥ 15000	17	54	52.5	1.5
Total	2838	236	74.4	161.6

annual prevalence rate of 21.8% (95%CI 19.1-24.4) observed in young asymptomatic children [29,49,50]. It confirms Velema's parasitological observations in the same area twenty years ago [36]. As regards the resistance of *An. gambiae* to pyrethroids, the L1014F *kdr* allele reached 50%, in accordance with previous studies carried out in southern Benin [8,18]. The annual infection rate increased with age in accordance with what is usually observed in mesoendemic area [50]. The high infection rate in the dry season could be influenced by the peak observed at the end of the rainy season (33%) just one month after the national distribution of LLINs (Figure 3A, Table 3). The parasite density of positive

children did not vary with age group or season (Figure 2). These results may be attributed to the protection conferred by LLINs. In mesoendemic areas, the acquisition of immunity against malaria would develop gradually and bring about a decrease in parasitaemia with increasing age [51]. Here, where the level of parasite exposure was reduced by treated nets, immunity may be acquired more slowly [52,53]. The different rates of infection found in the villages can be explained by variety in their natural characteristics. The prevalence rate was the highest in Satré, Wanho, Kindjitopka and Hèkandji close to fresh water (Toho Lake), open water cisterns or swamps where breeding sites of anopheles are mostly found (Tables 1 and 3).

Table 6 Pyrogenic cut-off, sensitivity and specificity estimates by using attributable fraction (sensibility = number of malaria episodes $\geq$ cut-off/total of malaria episodes; specificity = number of no malaria episodes $<$ cut-off/total of no malaria episodes)

Cut-off (trophozoites of <i>P. falciparum</i> / μ L)	N malaria episodes $\geq$ pyrogenic cut-off	N no malaria episodes $<$ pyrogenic cut-off	Sensibility (%)	Specificity (%)
1	74.4	131.0	100.0	81.1
100	74.2	135.7	99.6	84.0
250	73.3	141.8	98.5	87.8
500	72.4	145.9	97.2	90.3
1000	71.0	149.6	95.4	92.6
1500	70.7	150.2	94.9	93.0
2000	68.9	152.5	92.6	94.4
3000	67.5	154.0	90.6	95.3
3500	65.8	155.3	88.4	96.2
4000	64.0	156.5	86.0	96.9
5000	62.7	157.2	84.2	97.3
7500	59.2	158.8	79.5	98.3
10000	56.8	159.4	76.3	98.6
≥ 15000	52.5	160.1	70.5	99.1

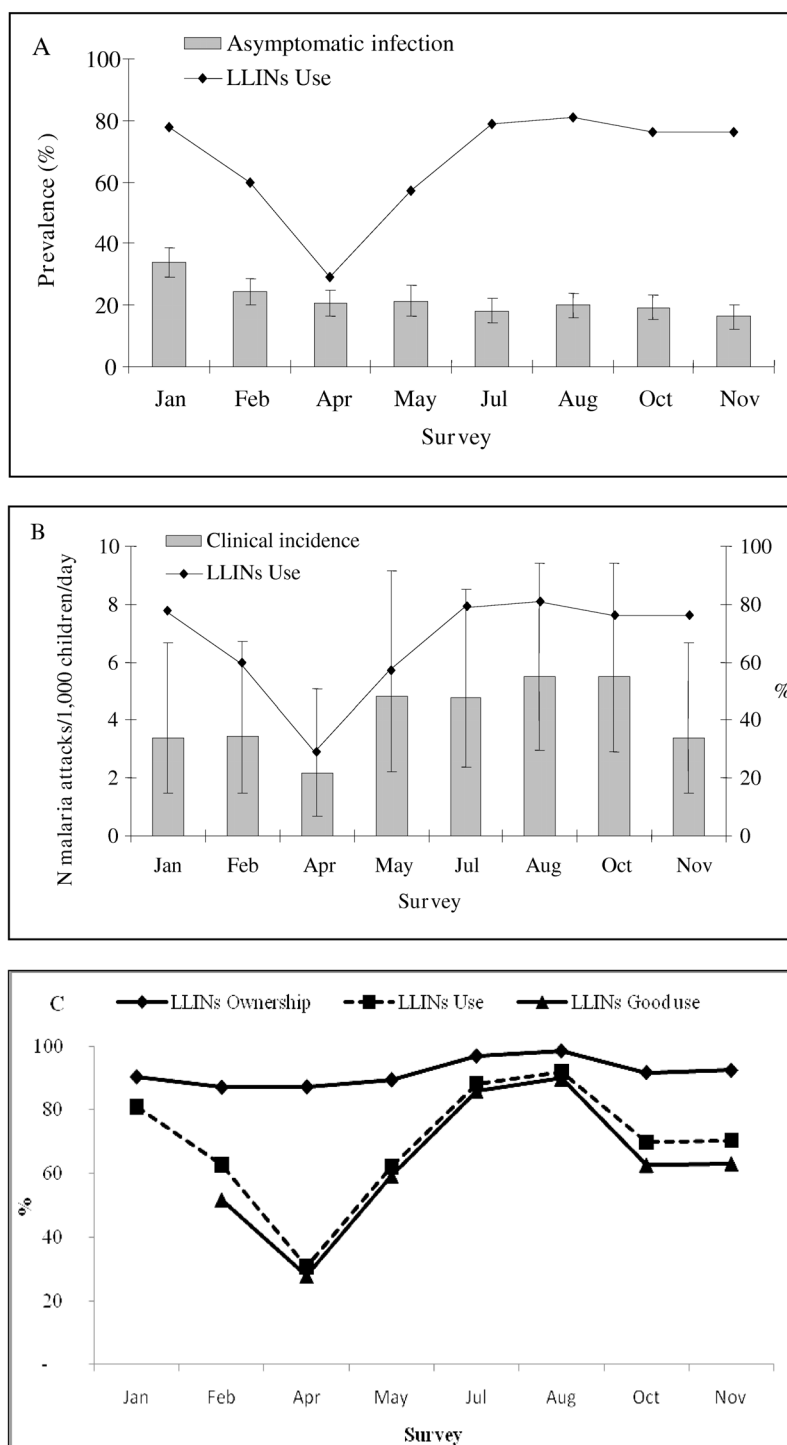


Figure 3 Longitudinal study of malaria in seven villages of the health district of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito after the national distribution of LLINs in children aged 0-5 years. **(A)** Asymptomatic infection: parasite prevalence rate with 95% confidence intervals and use of LLINs according to surveys. **(B)** Malaria disease: incidence rate of malaria attacks with 95% confidence intervals and use of treated nets according to surveys. **(C)** Ownership, Use and Correct use of LLINs according to surveys.

Table 7 Multivariate regression analysis of malaria incidence taken into account the cumulative number of monitoring days

Variable	Person-day	N evocative malaria cases	N malaria cases*	Malaria episodes		p-values
				Incidence per child per year (95%CI)	Adjusted Relative Risk (95%CI)	
Age (year)						
<1	5542	77	18	1.19(0.77-1.83)	1	-
1-2	6034	84	30	1.81(1.28-2.58)	1.53(0.88-2.85)	0.104
3-5	6686	75	30	1.64(1.21-2.23)	1.38(0.94-2.45)	0.075
Sex						
F	9094	116	34	1.36(1.00-1.86)	1	-
M	9168	120	44	1.75(1.33-2.30)	1.27(0.86-1.88)	0.182
Village						
Aïdjèdo	2746	36	10	1.33(0.80-2.22)	1	-
Dokanmè	2745	48	20	2.66(1.80-3.94)	1.89(0.98-3.65)	0.055
Kindjitokpa	2522	21	10	1.45(1.04-2.02)	1.04(0.56-1.94)	0.876
Guézohoué	2595	24	6	0.84(0.50-1.43)	0.60(0.29-1.25)	0.140
Hékandji	2536	38	7	1.01(0.55-1.84)	0.70(0.32-1.56)	0.320
Satré	2368	34	11	1.70(1.23-2.33)	1.21(0.66-2.23)	0.472
Wanho	2750	35	14	1.86(1.31-2.64)	1.34(0.70-2.57)	0.308
Season						
Dry	9355	92	36	1.40(1.00-1.97)	1	-
Rainy	8907	144	42	1.72(1.35-2.19)	1.22(0.78-1.91)	0.372
Correct use of LLIN's						
No	8280	92	28	1.23(0.87-1.75)	1	-
Yes	9982	144	50	1.83(1.44-2.32)	1.36(0.83-2.25)	0.181

*Parasite density ≥ 2000 asexual forms of *Plasmodium falciparum* per μL .

The calculated AF of pathological episodes to malaria helped to determine the optimum parasite pyrogenic cut-off at 2,000 *P. falciparum* asexual blood forms per μL . The use of AF to define the pyrogenic parasite cut-off allows the best trade-off between sensitivity and specificity level [54]. In stable malaria areas, *P. falciparum* parasitaemia is dependent on the season and age, which affects the malaria-AF of pathological episodes and thus the malaria case definition according to pyrogenic parasite density cut-off [33,55]. In the present study, the parasite density did not vary with season or age. Therefore, the AF could be considered the same whatever the season and the age group. The cut-off of 2,000 *falciparum* asexual blood forms per μL was close to the value of 1,000 found in mesoendemic area on children under 3 years [36] and to the 3,000 to 6,000 found in hyperendemic area among children aged 0 to 12 years in south of Benin respectively [37].

In the health district of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito, one pathological episode out of three was attributed to malaria. To avoid a maximum of missed cases the malaria case definition took into account signs evoking malaria or history of fever during the 48 hours preceding the first day of ACD as advised McGuinness [33]. Mean annual incidence rate of *falciparum* clinical malaria was 1.5 per child per year. In *P. falciparum* high-endemic area, the pyrogenic

cut-off of parasitaemia in persons of a given age is similar for all *Plasmodium* species [56]. Given the high parasite density, *P. malariae* could have been responsible for one malaria clinical case with 2,360 parasites/ μL and *P. ovale* for two cases with a parasitaemia of (4,800 and 9,800 parasites/ μL) respectively.

Use of LLINs

In 2001 before the national distribution of LLINs, in south of Benin, 4.3% of household owned a treated net (ITN) and 2.4% of children under five years old slept under ITNs [40]. In 2006, ITNs possession was estimated to 25.6% and its utilization by the children less than 5 years was 21% in Ouidah [15]. After the national distribution of LLINs, ownership rose to over of 90% and was continuous over of the year (Figure 3C). Throughout the 12 months of the study, two children out of three were found sleeping under LLINs during unannounced and nocturnal inspections. Some studies have already concluded that free distribution of nets via a national campaign is effective in rapidly increasing their possession and use [42,57,58]. This high percentage of use may have been the result of adapted sensitization to the beliefs and behaviours of the communities and to the presence of medical staff assisted by a local village helper. Indeed, the success of sensitization

depended strongly on the partnership between the study team and the local leaders as described by Paré Toé [47]. The 31% reduction of LLINs use during the dry season in Benin is comparable to that observed in most of the West African countries (Figure 3C) [24,41,43]. When populations were not bothered by the mosquitoes, they did not use the treated nets [47,59]. In the present longitudinal study, neither asymptomatic infection nor malaria attack was affected by the use of LLINs. The impact of LLINs was lower than expected since the correct use gave a 26% of individual protective effect only against infection without influencing malaria morbidity. Moreover, both curves of use and correct use of LLINs varied in the same way through the surveys (Figure 3C).

Conclusion

In conclusion, the health district of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito is a mesoendemic area characterized by a moderate level of pyrethroid resistance of vectors and a high heterogeneity of malaria infection between villages. Malaria infection and disease did not vary through the year. The used LLINs rate was high and only the correct use of LLINs was found to reduce malaria infection without influencing malaria morbidity.

Acknowledgements

This research was realized in the context of the Project FSP/REFS N° 2006-22 supported by the Ministère Français des Affaires Étrangères et Européennes. A financial contribution was also given by the President Malaria Initiative of the US Government. We thank the nurses, the microscopists and the entomological technicians who collected the data. We thank also the administration of the health district of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito for their strong collaboration. We are grateful for all the inhabitants of the health district of Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito who took part in the surveys and participated actively in the data collection. We thank Pr Robin Bailey from London School of Hygiene & Tropical Medicine, Department of Infectious and Tropical Diseases (London, England) for his linguistic correction.

Author details

¹Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC), 06 BP 2604 Cotonou, Bénin. ²Institut de Recherche pour le Développement (IRD/UR016), 01 BP 4414 Cotonou, Bénin. ³Unité de recherche en biologie et épidémiologie parasitaires, Equipe « Maladies émergentes et moustiques »/Unité de recherche sur les maladies infectieuses et tropicales émergentes, URMITE-UMR6236, Institut de recherche biomédicale des armées, Allée du médecin colonel Jamot, Parc du Pharo, BP60109 Marseille cedex 07, France. ⁴Laboratoire de lutte contre les Insectes Nuisibles (LIN/IRD), 911 Ave Agropolis BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5 France. ⁵Faculté des Sciences de la Santé/Université d'Abomey-Calavi (FSS/UAC), 01 BP 188 Cotonou, Bénin. ⁶Service de Coopération, Ambassade de France, Cotonou, Bénin.

Authors' contributions

The design of the study was conceived by FC and M-CH. Data were collected in the communities by GBD, AD and A-SBB. M-CH, AD and VC carried out laboratory analysis. CR, M-CH, GBD, AD and VC participated in the data analysis. The results were discussed by GBD, M-CH, AD, VC, CR, FC, MA, DK-G and AM. GBD and M-CH draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 11 July 2010 Accepted: 31 December 2010
Published: 31 December 2010

References

1. Feachem R, Philipps AA: **Malaria: 2 years in the fast lane.** *Lancet* 2009, **373**:1409-1411.
2. WHO: **World Malaria Report.** Geneva; 2008.
3. Ministère de la Santé de la République du Bénin: *Annuaire des statistiques sanitaires* 2007, 248, SNIGS/DPP/MS.
4. WHO: **The world malaria report.** Geneva; 2005 [http://rbm.who.int/wmr2005/].
5. USAID: **The President's Malaria Initiative. Progress through partnerships; saving lives in Africa.** [http://www.fightingmalaria.gov/resources/reports/pmi_annual_report08.pdf].
6. Lengeler C: **Insecticide-treated nets for malaria control: real gains.** *Bull World Health Organ* 2004, **82**:84.
7. Santolamazza F, Calzetta M, Etang J, Barrese E, Dia I, Caccone A, Donnelly MJ, Petrarca V, Simard F, Pinto J, Torre AD: **Distribution of knock-down resistance mutations in *Anopheles gambiae* molecular forms in west and west-central Africa.** *Malar J* 2008, **7**:74.
8. Corbel V, N'Guessan R, Brengues C, Chandre F, Djogbenou L, Martin T, Akogbeto M, Hougard JM, Rowland M: **Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa.** *Acta Trop* 2007, **101**:207-216.
9. Djouaka RF, Bakare AA, Coulibaly ON, Akogbeto MC, Ranson H, Hemingway J, Strode C: **Expression of the cytochrome P450s, CYP6P3 and CYP6M2 are significantly elevated in multiple pyrethroid resistant populations of *Anopheles gambiae* s.s. from Southern Benin and Nigeria.** *BMC Genomics* 2008, **9**:538.
10. Djogbenou L, Dabire R, Diabate A, Kengne P, Akogbeto M, Hougard JM, Chandre F: **Identification and geographic distribution of the ACE-1R mutation in the malaria vector *Anopheles gambiae* in south-western Burkina Faso, West Africa.** *Am J Trop Med Hyg* 2008, **78**:298-302.
11. Corbel V, Duchon S, Zaim M, Hougard JM: **Dinotefuran: a potential neonicotinoid insecticide against resistant mosquitoes.** *J Med Entomol* 2004, **41**:712-717.
12. N'Guessan R, Corbel V, Akogbeto M, Rowland M: **Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin.** *Emerg Infect Dis* 2007, **13**:199-206.
13. Djénontin A, Chabi J, Baldet T, Irish S, Penetier C, Hougard JM, Corbel V, Akogbeto M, Chandre F: **Managing insecticide resistance in malaria vectors by combining carbamate-treated plastic wall sheeting and pyrethroid-treated bed nets.** *Malar J* 2009, **8**:233.
14. Djénontin A, Chandre F, Dabiré KR, Chabi J, N'Guessan R, Baldet T, Akogbeto M, Corbel V: **The Indoor use of plastic sheeting impregnated with carbamate in combination with long lasting insecticidal mosquito nets for the control of pyrethroid-resistant malaria.** *Am J Trop Med Hyg* 2010, **83**:266-270.
15. Aplogan A, Ahanhanzo C: **Population behaviour and expectations concerning malaria control in Ouidah, Benin.** *Bull Soc Pathol Exot* 2006, **100**:216-217.
16. Whitty CJ, Chandler C, Ansah EL, Staedke SG: **Deployment of ACT antimalarials for treatment of malaria: challenges and opportunities.** *Malar J* 2008, **7**(Suppl 1), S7.
17. ACTwatch: **Evidence for malaria medicines policy.** *Rapport de l'enquête Ménage de Base, République du Bénin* 04/09-05/09 137.
18. Akogbeto M, Yakoubou S: **Résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des pyréthroides utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires au Bénin, Afrique de l'Ouest.** *Bull Soc Pathol Exot* 1999, **92**:123-130.
19. Programme National de Lutte contre le Paludisme au Bénin: **Politique nationale de lutte contre le paludisme et cadre stratégique de mise en œuvre.** *MSP Cotonou Bénin* 2005, 50.
20. WHO: **The role of laboratory diagnosis to support malaria disease management.** Report of a WHO consultation; 2004.
21. WHO: **Manual on practical entomology in malaria. Part II.** Geneva; 1975, 45, WHO/CDS/CPC/MAL/9812.
22. Gillies M, DeMeillon B: **The Anophelinae of Africa south of the Sahara.** *Pub. South Afr. Inst. Med. Res.* 1968, **54**:343.
23. Gillies M, Coetzee M: **A supplement to the Anophelinae of Africa south of the Sahara (Afrotropical region).** *Pub. South Afr. Inst. Med. Res* 1987, **55**:143.

24. Frey C, Traoré C, De Allegri M, Kouyaté B, Müller O: **Compliance of young children with ITN protection in rural Burkina Faso.** *Malar J* 2006, **5**:70.
25. Scott JA, Brogdon WG, Collins FH: **Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction.** *Am J Trop Med Hyg* 1993, **49**:520-529.
26. Favia G, Lanfrancotti A, Spanos L, Siden Kiamos I, Louis C: **Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s.** *Insect Mol Biol* 2001, **10**:19-23.
27. Wirtz RA, Zavala F, Charoenvit Y, Campbell GH, Burkot TR, Schneider I, Esser KM, Beaudoin RL, Andre RG: **Comparative testing of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* sporozoites for ELISA development.** *Bull World Health Organ* 1987, **65**:39-45.
28. Martinez Torres D, Chandre F, Williamson MS, Darriet F, Berge JB, Devonshire AL, Guillet P, Pasteur N, Pauron D: **Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*knr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s.** *Insect Mol Biol* 1998, **7**:179-184.
29. Smith T, Genton B, Baea K, Gibson N, Taime J, Narara A, Al-Yaman F, Beck HP, Hii J, Alpers M: **Relationships between *Plasmodium falciparum* infection and morbidity in a highly endemic area.** *Parasitology* 1994, **109**:539-549.
30. Schellenberg JR, Smith T, Alonso PL, Hayes RJ: **What is clinical malaria? Finding case definitions for field research in highly endemic areas.** *Parasitol Today* 1994, **10**:439-442.
31. Rogier C, Henry MC, Spiegel A: **Diagnostic des accès palustres en zone d'endémie: bases théoriques et implications pratiques.** *Med Trop* 2001, **61**:27-46.
32. Smith T, Hurt N, Teuscher T, Tanner M: **Is fever a good sign for clinical malaria in surveys of endemic communities?** *Am J Trop Med Hyg* 1995, **52**:306-310.
33. McGuinness D, Koram K, Bennett S, Wagner G, Nkrumah F, Riley E: **Clinical case definitions for malaria: clinical malaria associated with very low parasite densities in African infants.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998, **92**(5):527-531.
34. Smith T, Schellenberg JA, Hayes R: **Attributable fraction estimates and case definitions for malaria in endemic areas.** *Stat Med* 1994, **13**:2345-2358.
35. Akogbeto M, Chippaux JP, Coluzzi M: **Coastal urban malaria in Cotonou (Republic of Benin). Entomological study.** *Rev Epidemiol Sante Publique* 1992, **40**:233-239.
36. Velema JP, Alihonou EM, Chippaux JP, van Boxel Y, Gbedji E, Adegbinri R: **Malaria morbidity and mortality in children under three years of age on the coast of Benin, West Africa.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991, **85**:430-435.
37. Chippaux JP, Akogbeto M, Massougbedji A, Adjagba J: **Mesure de la parasitémie palustre et évaluation du seuil pathogène en région de forte transmission permanente.** In *Le paludisme en Afrique de l'ouest, études entomologiques et épidémiologiques en zone rizicole et en milieu urbain*. Edited by: Robert V, Chippaux J-P, Diomandé L. ORSTOM édition, Paris; 1991:55-65.
38. Rashed S, Johnson H, Dongier P, Moreau R, Lee C, Lambert J, Schaefer C: **Economic impact of febrile morbidity and use of permethrin-impregnated bed-nets in a malarious area I. Study of demographics, morbidity, and household expenditures associated with febrile morbidity in the Republic of Benin.** *Am J Trop Med Hyg* 2000, **62**:173-180.
39. Wang SJ, Lengeler C, Smith TA, Vounatsou P, Akogbeto M, Tanner M: **Rapid Urban Malaria Appraisal (RUMA) IV: epidemiology of urban malaria in Cotonou (Benin).** *Malar J* 2006, **5**:45.
40. Kindé-Gazard D, Gbénou D, Tohon C, Da Silva C, Nahum A, Massougbedji A: **Indicateurs de suivi et d'évaluation en 2001 de l'initiative « Faire reculer le paludisme » au Bénin.** *Bull Soc Path Exot* 2004, **97**:349-352.
41. Korenromp EL, Miller J, Cibulskis RE, Kabir Cham M, Alnwick D, Dye C: **Monitoring mosquito net coverage for malaria control in Africa: possession vs. use by children under 5 years.** *Trop Med Int Health* 2003, **8**:693-703.
42. Thwing J, Hochberg N, Vanden Eng J, Issifi S, Eliades M, Minkoulou E, Wolkon A, Gado H, Ibrahim O, Newman RD, Lama M: **Insecticide-treated net ownership and usage in Niger after a nationwide integrated campaign.** *Trop Med Int Health* 2008, **13**:827-834.
43. Oresanya OB, Hoshen M, Sofola OT: **Utilization of insecticide-treated nets by under-five children in Nigeria: assessing progress towards the Abuja targets.** *Malar J* 2008, **7**:145.
44. Baume CA, Marin MC: **Gains in awareness, ownership and use of insecticide-treated nets in Nigeria, Senegal, Uganda and Zambia.** *Malar J* 2008, **7**:153.
45. Afolabi BM, Sofola OT, Fatunmbi BS, Komakech W, Okoh F, Saliu O, Otsemobor P, Oresanya OB, Amajoh CN, Fasiku D, Jalingo I: **Household possession, use and non-use of treated or untreated mosquito nets in two ecologically diverse regions of Nigeria-Niger Delta and Sahel Savannah.** *Malar J* 2009, **8**:30.
46. Hanson K, Marchant T, Nathan R, Mponda H, Jones C, Bruce J, Mshinda H, Schellenberg JA: **Household ownership and use of insecticide treated nets among target groups after implementation of a national voucher programme in the United Republic of Tanzania: plausibility study using three annual cross sectional household surveys.** *BMJ* 2009, **338**:b2434.
47. Paré Toé L, Skovmand O, Dabiré KR, Diabaté A, Diallo Y, Guiguemdé TRJM, Doannio C, Akogbeto M, Baldet T, Grunéais ME: **Decreased motivation in the use of insecticide-treated nets in a malaria endemic area in Burkina Faso.** *Malar J* 2009, **8**:175.
48. Henry MC, Assi SB, Rogier C, Dossou-Yovo J, Chandre F, Guillet P, Carnevale P: **Protective efficacy of lambda-cyhalothrin treated nets in *Anopheles gambiae* pyrethroid resistance areas of Cote d'Ivoire.** *Am J Trop Med Hyg* 2005, **73**:859-864.
49. Beier J, Perkins P, Wirtz R, Koros J, Diggs D, Gargan T, Koech DK: **Bloodmeal identification by direct enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya.** *J Med Ent* 1986, **25**:9-16.
50. Smith DL, McKenzie FE, Snow RW, Hay SI: **Revisiting the basic reproductive number for malaria and its implications for malaria control.** *PLoS Biol* 2007, **5**:e42.
51. Zwetyenga J, Rogier C, Spiegel A, Fontenille D, Trape JF, Mercereau-Puijalon O: **A cohort study of *Plasmodium falciparum* diversity during the dry season in Ndiop, a Senegalese village with seasonal, mesoendemic malaria.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999, **93**:375-380.
52. Lusingu JP, Vestergaard LS, Mmbando BP, Drakeley CJ, Jones C, Akida J, Savali ZX, Kitua AY, Lemnge MM, Theander TG: **Malaria morbidity and immunity among residents of villages with different *Plasmodium falciparum* transmission intensity in North-Eastern Tanzania.** *Malar J* 2004, **3**:26.
53. Mmbando BP, Lusingu JP, Vestergaard LS, Lemnge MM, Theander TG, Scheike TH: **Parasite threshold associated with clinical malaria in areas of different transmission intensities in north eastern Tanzania.** *BMC Med Res Methodol* 2009, **9**:75.
54. Rogier C, Henry MC, Trape JF: **Évaluation épidémiologique du paludisme en zone d'endémie.** *Med Trop* 2009, **69**:123-142.
55. Dicko A, Mantel C, Kouriba B, Sagara I, Thera MA, Doumbia S, Diallo M, Poudiougou B, Diakite M, Doumbo OK: **Season, fever prevalence and pyrogenic threshold for malaria disease definition in an endemic area of Mali.** *Trop Med Int Health* 2005, **10**:550-556.
56. Trape JF, Rogier C, Konate L, Diagne N, Bouganki H, Canque B, Legros F, Badji A, Ndiaye G, Ndiaye P, Brahimi K, Faye O, Druilhe P, Pereira Da Silva L: **The Diemo project: a longitudinal study of natural malaria infection and the mechanisms of protective immunity in a community living in a holoendemic area of Senegal.** *Am J Trop Med Hyg* 1994, **51**:123-137.
57. Skarbinski J, Massaga JJ, Rowe AK, Kachur SP: **Distribution of free untreated bednets bundled with insecticide via an integrated child health campaign in Lindi Region, Tanzania: lessons for future campaigns.** *Am J Trop Med Hyg* 2007, **76**:1100-1106.
58. Matovu F, Goodman C, Wiseman V, Mwenge W: **How equitable is bed net ownership and utilisation in Tanzania? A practical application of the principles of horizontal and vertical equity.** *Malar J* 2009, **8**:109.
59. Ahorlu CK, Dunyo SK, Afari EA, Koram KA, Nkrumah FK: **Malaria-related beliefs and behaviour in southern Ghana: implications for treatment, prevention and control.** *Trop Med Int Health* 1997, **2**:488-499.

doi:10.1186/1475-2875-9-380

Cite this article as: Damien et al.: Malaria infection and disease in an area with pyrethroid-resistant vectors in southern Benin. *Malaria Journal* 2010 **9**:380.

Characterization of Health and Environmental Risks of Pesticide Use in Market-Gardening in the Rural City of Tori-Bossito in Benin, West Africa

Claude Ahouangninou^{1*}, Thibaud Martin², Patrick Edorh³, Sahabi Bio-Bangana³, Onil Samuel⁴, Louis St-Laurent⁴, Sylvain Dion⁵, Benjamin Fayomi¹

¹Institut des Sciences Biomédicales Appliquées, Université d'Abomey Calavi, Cotonou, Bénin; ²Cirad, UPR Hortsys, Montpellier, France; ³Centre Interfacultaire de Formation et de Recherche en Environnement pour le Développement Durable, Université d'Abomey Calavi, Cotonou, Bénin; ⁴Direction de la santé environnementale et de la toxicologie, Institut national de Santé Publique du Québec, Québec, Canada; ⁵Direction du secteur agricole et des pesticides, Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs, Québec, Canada.
Email: cahoun83@yahoo.fr

Received January 1st, 2012; revised January 31st, 2012; accepted February 29th, 2012

ABSTRACT

A study on the use of pesticides in market-gardening production was carried out on 108 market-gardeners in the rural city of Tori-Bossito in Southern Benin. The objective of the study was to characterize the potential risks of pesticides usage by farmers and the impacts on their health and on the environment. Two risk indexes were calculated for each pesticide: an environmental risk index (ERI) and a health risk index (HRI). First stage larva of the mosquito *Aedes aegypti* were used as bio-indicator for detecting insecticide residue in vegetable before their harvesting on the farms. The highest ERI were obtained for carbofuran, chlorpyrifos ethyl and endosulfan. Pesticide residues were found in 42% of the samples of leaves of eggplant, cucumber, amaranth and solanum. Vegetables growers used pesticides that may be highly hazardous and which were not registered in most cases. These situations could have unexpected consequences including the exposure of consumers to health hazards.

Keywords: Vegetable; Pesticide Residues; Bio-Indicator; Risk Index; Environment; Health

1. Introduction

Pesticides are increasingly used by farmers in Sub-Saharan Africa to protect their crops. Pesticides are used to destroy, neutralize insects, vermin, all kinds of human disease carriers, and other harmful or awkward plants or animal species. They help during the production, transformation, storage, transportation or distribution of food-stuffs, agricultural products, wood, and derived products. [1]. The use of these products requires some rules and procedures in order to avoid endangering human beings and the environment. Human health issues related to pesticide's use in agriculture have been noted in all regions of the world [2,3]. The environmental consequences related to the use of pesticides relate to things such as air quality, soil, water and biodiversity [4]. In West Africa, a pesticide contamination of the ground water was observed in farming area of Niayes in Senegal [5]. A contamination of ground water by the organophosphate and organochlorine pesticides was reported in several areas in Ivory Coast [6]. After the spreading of pesticide on plants,

the farmer generally needs to withdraw for some time (depending on the strength of the product) before harvesting in order to prevent the contamination of the crops. We noted however that this requirement is frequently bypassed. For instance, residues amounts exceeding 0.5 µg/g for the organochlorine (DDT, Endrin, Heptachlore) were detected in vegetables in Southern-Benin [7]. Like the majority of Sub-Saharan Africa farmers, those in the rural city of Tori-Bossito know little about the real toxicity of the pesticides and their sedentary use modes [8].

The aim of this study was to characterize by toxicological, ecotoxicological and biological indicators, the potential hazards for human health and the environment of the pesticides used by the small rural farmers of Tori-Bossito.

2. Materials and Methods

The study was carried out in the rural city of Tori-Bossito, located 30 km away from the city of Cotonou, in Southern Benin. It covers 328 km² of land and has a huge area of mangroves which are very important for the

*Corresponding author.

farming and gardening activities in the region. We chose Tori-Bossito for this study because gardening is one of the primary income sources of the populations.

2.1. Survey and Computation of the Risk Indexes

A descriptive and analytical study was carried out to characterize the environmental and health risks related to the use of the agricultural pesticides in the rural city of Tori-Bossito. Hundred and eight gardeners were surveyed to obtain the information relative to pesticide usage in 2008. The information on the bottles and packaging of the pesticides were collected. Based on the information collected using the questionnaires and datas indexed in databases on the pesticides' toxicological and eco-toxicological properties, the health hazards and environmental risk indexes were calculated using the pesticides risk indicator of Quebec-IRPeQ developed by the Quebec National Institute of public health (INSPQ), the Quebec ministry for Sustainable development, the Environment and the Parks (MDDEP) and the Quebec Ministry for Agriculture, Fisheries and Food (MAPAQ) [9]. The toxicological data used to compute the indexes was obtained in "The Manual E-Pesticide" (Wise & Loveys Information Ltd Services, 2001) [10], in the European database on the properties of the pesticides "Footprint PPDB" [11] and in the database of "SAGe pesticides" developed by the INSPQ, the MDDEP and the MAPAQ [12]. The choice of the indicator of risks of the pesticides (IRPeQ) was made by considering the availability of the tool, its ease of use depending on data accessibility for the most active ingredients. IRPeQ calculates a human health risk index (HRI) and an environment risk index (ERI). The computation of the HRI considers all the toxicological properties of the active ingredients (acute toxicity, chronic toxicity modulated by a factor related with persistence and bio-accumulation) and certain properties of the commercial products (maximum amount recommended per hectare, and type of formulation). ERI incorporates the ecotoxicological impact of the active ingredients (a.i) on the terrestrial invertebrates, the birds, the aquatic creatures, and certain physio-chemical parameters (bio-accumulation, persistence in the ground and mobility).

$$HRI_{\text{active ingredient}} = \frac{TRI * Lf * FCP}{10}$$

$$ERI_{\text{active ingredient}} = [1.75 * (T + O) + A + M + P + B + 1]^2$$

$$HRI_{\text{pesticide}} = \sum HRI_{\text{active ingredient}}$$

$$ERI_{\text{pesticide}} = \sum ERI_{\text{active ingredient}}$$

2.2. Residual Amounts of Pesticides

Samples of vegetable sheets and soils were taken to evaluate the presence of pesticide residues using a biological indicator of toxicity [13]. This method does not aim to identify the molecules present in samples, but at comparing the toxic effect of the extracts of sheets or soils on the first larvae stages of *Aedes aegypti* to the effect of a reference molecule, the deltamethrin, a crop protection agent recommended for commercial gardening in Benin. The deltamethrin was used as sentinel molecule because of its strong toxicity (LD₅₀ of 0.4 µg/L) on the larvae of *Aedes aegypti* strain S-Be from north of Benin, but also because it belongs to the family of the pyrethroids. Indeed these insecticides are frequently used in Benin, either alone or combined with organophosphates, for crop protection [8].

In the market-gardening perimeters of Tori-Bossito, 24 samples of plant were taken in 17 parcels before harvest. Overall, 11 different plants were sampled. To evaluate the evolution over time of the amount of insecticide residue in the cabbage sheets and the surface layer of the ground after a treatment, samples of cabbage sheets and soils were taken one hour before and after treatment with DECIS 12.5EC to 35 g a.i/ha (active ingredient per hectare). Other daily samplings were conducted on the tenth day after treatment. For each sample, 200 mg of vegetable or 60 mg of soil were each put in a tube in which respectively 10 ml and 40 ml of ethanol were added to extract the residues from pesticides in 24 hours. A volume of 0.1 ml of extract was added to the contents of a polystyrene goblet containing 9.9 ml of water with 20 larvae of first stage of *Aedes aegypti* (with three repetitions for each sample). The counting of mortality was made 24 hours after application. The test was taken again with two dilutions 1/10 and 1/100 in the event of total mortality. Natural mortality was taken into account by tests with distilled water containing ethanol 1%. A commercial formulation of Decis 12.5 EC made of deltamethrin with 12.5 g/L was used to establish the calibration line on the larvae of *Aedes aegypti*. A dilution to the 1/200,000 in distilled water was carried out before making a series of ten successive dilutions giving a mortality ranging between 1% and 99% (**Figure 1**). The residual amount of pesticides in the vegetable sheets was evaluated and recorded in microgram per gram of equivalent-deltamethrin starting from the calibration curve.

3. Results

3.1. Human Health and Environmental Risks of the Pesticides

Health Risks Indexes (HRI)

In the results of our analysis, some active ingredients

such as endosulfan, chlorpyrifos-ethyl and maneb presented simultaneously high acute and chronic risks (**Table 1**).

Others like lambdacyhalothrin, acetamiprid, metalaxyl and copper oxyd presented a high acute risk, but a weak chronic risk. Active ingredients such as mancozeb, carbendazim, thiophanate-methyl presented a high chronic risk and a weak acute risk. The maneb and the acetamiprid gave the weakest factor related to persistence in the environment and the bio-accumulation on human. The highest toxicological risk indexes (TRI) and the highest health risk indexes (HRI) were obtained for endosulfan, chlorpyrifos-ethyl and mancozeb (**Table 2**). As far as the commercial preparations are concerned, there are the formulations of endosulfan (COTOFAN 350.EC and THIONEX 350.EC), of chlorpyrifos-ethyl (DURSBAN) and the mancozeb (FOKO) which presented the highest risks for the human health with respectively indexes of 2290, 3499 and 3538 (**Table 3**). Formulations of DECIS 12.EC, TOPSIN M and the COTALM P 218.EC had a slightly lower risk level. The formulation of COTALM P 218.EC was the most used by the producers of Tori-Bossito (84.2% of the vegetable growers). The fungicide CALLOMIL 72WP (metalaxyl and copper oxyd) presented the lowest risk of health impact.

3.2. Potential Presence of Residues of Pesticide in the Samples Analysis

The impact of the deltamethrin on the first stage larvae of *Aedes aegypti* is illustrated by **Figure 1**. The mortality of the larvae was observable starting from 0.1 µg/L of deltamethrin. Mortality was total from 1 µg/L of deltamethrin. The results of the vegetables samples taken on plants before harvest showed the potential presence of residues of pesticides in 41.7% of the collected samples (**Table 4**).

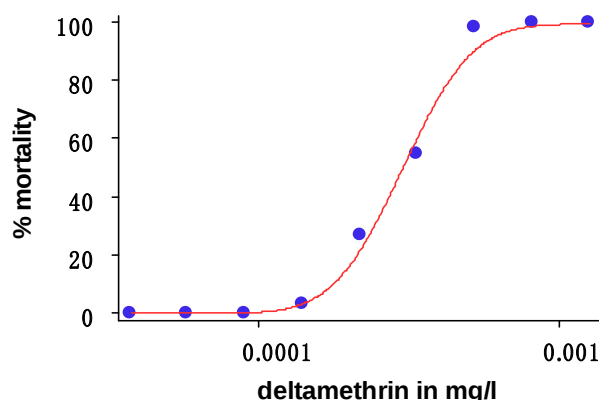


Figure 1. Toxicity of deltamethrin (DECIS 12.5 EC) on *Aedes aegypti* L1 larva (S-Be strain).

Table 1. Values of the parameters entering in calculation of health risk index.

Actives ingredients	Acute risks	Chronic risks	Fper	LFf	FCP	TRI	HRI
Endosulfan	20	29	3	2	1	11449	2290
Lambdacyhalothrin	40	2	3	2	0,5	2116	212
Cyperméthrin	16	25	3	2	0,5	8281	828
Acetamiprid	24	4	1	2	0,5	784	78
Chlorpyrifos-ethyl	22	37	3	2	1	17689	3538
Profenophos	18	18	3	2	1	5184	1037
Deltamethrin	14	37	3	2	1	15625	1562
Cyfluthrin	15	26	2.5	2	0.5	6400	640
Mancozeb	8	50	2	2	1.5	11664	3499
Carbofuran	18	25	2	1	2	4624	925
Carbendazim	4	41	2	2	1	7396	1479
Metalaxyl	21	1	2.5	2	1	552	110
Cooper oxyd	24	3	3	2	1	1089	218
Thiophanate-methyl	7	38	2	2	1	6889	1378
Maneb	20	53	1	2	1.5	5329	1599

Fper: Factor taking into account the persistence and the potential of bio-accumulation in human; LFf: Loading factor related to the type of formulation; FCP: Factor of compensation taking into account the concentration of the active ingredient in the formulation as well as the dose recommended per hectare; TRI: Toxicological Risk Index; HRI: Health Risk Index.

Table 2. Values of the parameters entering in calculation of environment risk index.

Actives ingredients	T	O	A	M	P	B	IRE
Endosulfan	4	2	4	0	2	2	380
Lambdacyhalothrin	0	0	3	0	0	2	36
Cyperméthrin	4	0	4	0	1.5	2	240
Acetamiprid	2	2	0	0	0	0	12
Chlorpyrifos-ethyl	4	3	4	0	1	2	410
Profenophos	4	2	3	0	0	0	210
Deltamethrin	4	0	3	0	0	2	169
Cyfluthrin	4	0	4	0	0.5	2	210
Mancozeb	0	0	4	0	0.5	0	30
Carbofuran	4	4	4	4	1	0	576
Carbendazim	4	0	3	1.5	0	0	156
Metalaxyl	0	0	0	1.5	1	0	12
Cooper oxyd	0	0	2	0	4	0	49
Thiophanate-methyl	2	0	1	0	0	0	30
Maneb	0	0	3	0	0	0	16

T: Impact on the terrestrial invertebrates; O: Impact on birds; A: Impact on the watering organisms; M: Mobility of the active ingredient; P: Persistence in the soil; B: Bio-accumulation; ERI: Environmental Risk Index.

Table 3. Environment and Health risks indexes of pesticides.

Pesticides	Actives ingredients	Farmer's use level (%)	HRI	ERI
DIAFURAN	Carbofuran	2.8	925	576
CYFLUTHRALM P318EC	Cyfluthrin	0.9	1677	420
	Profenofos			
DURSBAN	Chlorpyrifos-ethyl	0.9	3538	410
COTOFAN 350EC	Endosulfan	3.7	2290	380
THIONEX 350EC	Endosulfan	0.9	2290	380
CAPT 88EC	Cypermethrin	1.9	906	252
	Acetamiprid			
COTALM P218EC	Lambdacyhalothrin	84.2	1249	246
	Profenofos			
CYPERCAL 50EC	Cypermethrin	3.7	828	240
CYDIM C50	Cypermethrin	0.9	828	240
CYPER D	Cypermethrin	0.9	828	240
DECIS 15EC	Deltamethrin	4.6	1562	169
BENDAZIM 50WP	Carbendazim	1.9	1479	156
CALLOMILL 72WP	Metalaxyl	1.9	328	61
	Cooper oxyd			
TOPSIN M	Thiophanate-methyl	29.6	1378	30
FOKO	Mancozeb	33.3	3499	30
TRIMANGOL 80	Maneb	0.9	1599	16
IVORY	Maneb	1.9	1599	16

Table 4. Estimation of pesticide residues (in mg of equivalent deltamethrin per kg of leave) in 24 samples of leaves from 11 plants before harvest in 4 market-gardening in Tori-Bossito.

Samples	Market-gardening perimeters of Tori-Bossito			
	Hla	Dohinoko	Ananvié	Houédaga
Cabbage	0.03	-	-	-
Solanum	Nd	-	-	4.75
Eggplant	Nd	-	1.17	0.04
Cucumber	0.07 - 0.11	-	-	-
Bean	Nd	-	-	-
Zucchini	Nd	-	-	-
Celosia	-	0.09	-	-
Amaranth	-	0.04 - 0.07	-	-
Vernonique	-	Nd	-	-
Squeaky fiddle	-	Nd	-	-
Tomato	-	-	0.04	-

*Nd: Not detected, residual insecticide content expressed mg of deltaméthrine/kg equivalent of leaves.

The most important residual amounts were found in sheets of eggplant and solanum (respectively 1.17 and 4.75 ppm of equivalent-deltamethrin). In the other positive samples coming from both traditional vegetables (amaranthe, celosy, solanum) and “exotic” vegetables (cabbage, tomato, eggplant, cucumber), the amounts were lower than 0.1 ppm of equivalent-deltamethrin.

One hour before the spreading of the DECIS 12.5 EC, no residue of pesticide was detected in the samples of sheets of cabbages and soils (**Figure 2**). One hour after treatment, the residual amount of deltamethrin detected in the cabbage sheets was about 500 ppb (ng/g of sheets) and of 90 ppb (ng/g of soils) in the soils. This residual amount of deltamethrin decreased regularly with time to reach 8 ppb at the end of 10 days. In the samples of soils, the amount of deltamethrin remained stable until the second day after treatment. Beyond two days after treatment, no insecticide residue was detected in the soils.

4. Discussions

4.1. Evaluation of the Environmental and Health Risks of the Pesticides

The indicator of risk for the environment showed the carbofuran as being the most dangerous product for the environment among all the listed active ingredients. Moreover, a high quantity of the active ingredient must be used (5 kg ma/ha) for an effective stabilization of soils against nematodes, according to the inscriptions present on packaging. According to the surveyed vegetable growers, Carbofuran is the only nematicide product available

in Benin. ERI confirmed that Carbofuran actually belongs to the Ib category (highly dangerous) of the World Health Organization (WHO) pesticides classification [14].

ERI also classified chlorpyrifos-ethyl and Endosulfan as dangerous for the environment after Carbofuran. Endosulfan was recently prohibited in Benin like in most Sub-Saharan African countries, especially the members of the Inter-State Committee for the Fight against Dryness in the Sahel (CILSS) [15]. It is very neurotoxic and was classified in the Ib category (very highly dangerous) by the US EPA [16] and in category II (moderately dangerous) by WHO [14]. Cases of intoxication and deaths were blamed on Endosulfan in Benin [17]. Acetamiprid is classified as the least dangerous for the environment. Nevertheless, its use is risky for birds and terrestrial invertebrates such as the bees [10,11].

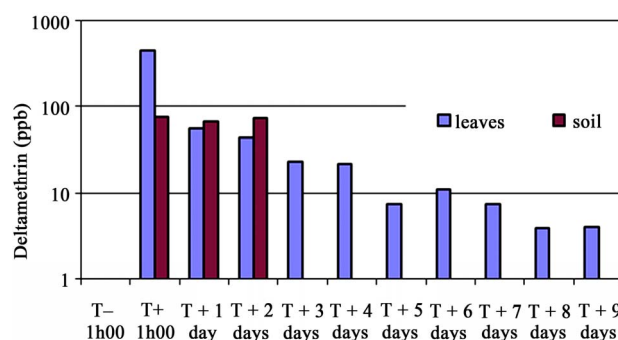


Figure 2. Residual quantity of deltamethrin in cabbage plots and soils after a spray (T) with Decis 12.5 EC at 35 g a.i./ha.

The HRI classified Mancozeb, Chlorpyrifos-ethyl and Endosulfan as very risky for producers and consumers' health. These active ingredients have both a high chronic toxicity risks and a high potential of bio-accumulation on human. Mancozeb was used by one third of the producers as a fungicide. Regular exposure to this active ingredient could induce occupational diseases in the long run. Indeed Mancozeb has a strong environmental persistence and a high potential of bio-accumulation. It is genotoxic and could have an impact on human reproduction [18]. It could be replaced by biological fungicides such as *Bacillus subtilis* which would equally fight diseases induced by mushrooms [19].

COTALM P218EC (mixture of lambda-cyhalothrin and profenofos) presents a health and environmental hazard relatively lower in comparison with formulations of endosulfan and chlorpyrifos-ethyl which have a higher risk of acute toxicity (high eye piece and cutaneous irritation). It is riskier for birds, terrestrial and aquatic living things. It is used by producers because of its low cost but also for its broad spectrum of activity. Lambda-cyhalothrin like any pyrethrinoid has also a toxic and repulsive effect on useful insects (parasitoids): this increases the risk of vermin's overpopulation. It would be preferable to replace it with Spinosad (Laser), a bio-insecticide frequently used on tomato in Benin.

IRPeQ enabled us to calculate the environmental and health risk in relation to the amounts applied per hectare. For the calculation of ERI, the ecotoxicological properties were taken into account to estimate the impact of the active ingredients on aquatic creatures, invertebrates and birds. It also considers several physico-chemical parameters such as mobility, persistence in the ground, bio-accumulation and other characteristics related to the commercial preparation. For the calculation of the HRI, the acute and chronic toxicological characteristics, environmental persistence and the potential of bio-accumulation of the products are considered. Next, the types of formulation and equipment come to modulate the health hazard. This indicator allows us to compare various pesticides, and make decisions based on environmental and public health criteria [9]. This indicator can be modified according to whether it is used for provincial assessments or on the farm. In the first case, the risks indexes are calculated on the basis of the reference amount applied per hectare whereas in the case of application to the farm, the module IRPeQ-express let the farmers integrate the actual quantity used in their calculation [20]. This module is distinct but complementary to the "SAgEpesticides" which wants to be especially a tool facilitating the choice of low-risks pesticides. IRPeQ also accounts for the drift and the height of vegetation in the ERI computation. IRPeQ considers that the good practices are respected by

the workers so for instance, it won't assess whether or not, growers are wearing protective gears. This variable can easily be integrated into an exercise of risks analysis referring to various scenarios of exposure without being a decision-making tool. The model can however be updated to adapt to techniques used in tropical Africa where some producers ignore the measurements and safety rules, and simply use branches of plants to sprinkle the insecticidal pulp and thus to make possible to quantify the risk for a producer [8]. One limitation of the risk indicators is that the underlying data is not available for all the active ingredients. This was also mentioned by [21]. Due to the lack of clearly defined benchmarks for the risk indicators, the results obtained by score aggregation will lack traceability and make it hard to statute on whether or not a product is safe for use [22]. They however let you compare active ingredients and commercial preparations to choose the least risky for human health and environment. The same active ingredient in two different commercial preparations can have different environmental and health risks indexes because guidelines and reference amounts vary for each commercial preparation. Sometimes, entry variables are highly weighted [22,23]. IRPeQ however doesn't overweight certain variables compared to others. It is a complex indicator which aggregates the scores of several parameters to accurately depict reality.

4.2. Biological Method of Detection of Pesticides Residues

The strongest residual amounts of pesticides were found in samples of eggplant and solanum (respectively 1.17 and 4.75 ppm of equivalent-deltamethrin). To draw a comparison with food poisoning risk, these doses exceed the maximum limit of residue in vegetables accepted in the European Union for deltamethrin (approximately 0.5 ppm) [24]. One explanation may be that these plants were treated with other active ingredients a few days before the samples were taken. The biological indicator used found traces of residual contents (5 to 10 ppb of deltamethrin) up to 10 days after a treatment in spite of the water-spraying carried out twice everyday (morning and evening). These make it a sensitive indicator in addition to being inexpensive. A little less than half of the vegetable samples contained less than 0.5 ppm of deltamethrin equivalent. This represents an intoxication threat. The amounts can be underestimated if the growers use pesticides less toxic than deltamethrin on *Aedes aegypti* larvae. Generally the producers sell these vegetables to wholesalers or retailers who made them directly available to consumers. It's therefore very important to educate buyers about the importance of washing thoroughly the vegetables before consumption. The longer the lifespan of the pesticide, the higher are its risks. The

residues of pesticides are not detected in the samples of soils beyond two days after spreading of the DECIS 12.5EC. This could be explained by the sandy nature of the soil and frequent irrigation. But the absence of residues in the soils doesn't mean that these molecules were destroyed. By infiltration they could have infiltrated the groundwater and thereby jeopardize water quality. This biological pesticides residues detection method is used only as indicator of pollution because it doesn't reveal the active ingredients contained in the samples [13]. It could be coupled to more expensive but more precise methods of analysis such as chromatography coupled with mass spectrometry [7,25,26]. The method only detects residues having a lethal effect on the larvae of *Aedes aegypti*. Considering the fact that pyrethrinoid are used by almost 85% of producers in Tori-Bossito and that the larva of *Aedes aegypti* is very sensitive to these products, we could infer that these plant health products contribute to the toxicity observed in the larvae. It becomes therefore critical from a public health stand-point to educate the vegetable growers on the risks of the plant health products.

5. Conclusion

Our investigation enabled us to identify the formulations of pesticides used in commercial gardening and to target those with a high potential impact on human health and on the environment. The pesticides having the highest risks were also the least frequently used. The biological method of detection indicates the potential presence of residues of pesticides in certain samples of vegetables. Frequent analysis of residues of pesticides with methods of analytical chemistry will enhance the specificity of the observed results. For the safety of the producers, distributors and consumers, it appears necessary that public authorities pay a closer attention to the marketing and use of plant health products and develop alternatives methods like the physical fight [27,28].

6. Acknowledgements

We sincerely thank the Entomological Research center and the Research institute for Development-Unit 016 in Cotonou, the authorities of the Agricultural Sector and Pesticides Division of the Ministry of Sustainable Development, Environment and the Parks of Quebec, the Management of the Environmental Health and Toxicology of the National Institute of Public Health of Quebec for their support and their contribution to this work.

REFERENCES

- [1] FAO, "International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides," FAO, Rome, 1986.
- [2] M. Sanborn, D. Cole, K. Kerr, C. Akil, L. H. Sanin and K. Bassil, "Pesticides Literature Review," Ontario College of Family Physicians, Toronto, 2004.
- [3] J. A. Tomenson and G. A. Matthews, "Causes and Types of Health Effects during the Use of Crop Protection Chemicals: Data from a Survey of over 6300 Smallholder Applicators in 24 Different Countries," *International Archives of Occupational Environmental Health*, Vol. 82, No. 8, 2009, pp. 935-949.
[doi:10.1007/s00420-009-0399-4](https://doi.org/10.1007/s00420-009-0399-4)
- [4] D. Pimentel, H. Acquay, M. Biltonem, P. Rice, M. Silva, J. Nelson, S. Lipner, S. Giordan, A. Horowitz and M. D'Amore, "Assessment of Environmental and Economic Impacts of Pesticide Use," In: D. Pimentel and H. Lehman, Eds., *The Pesticides Question, Environment, Economics and Ethics*, Routledge, Chapman and Hall, New York, 1993.
- [5] I. Cissé, A. A. Tandia, S. T. Fall and E. H. S. Diop, "Usage Incontrôlé des Pesticides en Agriculture Périurbaine: Cas de la Zone de Niayes au Sénégal," *Cahiers Agricultures*, Vol. 12, No. 3, 2003, pp. 181-186.
- [6] S. K. Traoré, K. Mamadou, A. Dembele, P. Lafrance, P. Mazellier and P. Houenou, "Contamination de l'Eau Souterraine par les Pesticides en Régions Agricoles en Côte-d'Ivoire (Centre, Sud et Sud Ouest)," *Journal Africain des Sciences de l'Environnement*, Vol. 1, 2006, pp. 1-9.
- [7] F. Assogba-Komlan, P. Anihouvi, E. Achigan, R. Sikirou, A. Boko, C. Adje, V. Ahle, R. Vodouhe and A. Assa, "Pratiques Culturelles et Teneur en Eléments Antinutritionnels (Nitrates et pesticides) du *Solanum macrocarpon* au Sud du Bénin," *Africain Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, Vol. 7, 2007, pp. 1-21.
- [8] C. Ahouangninou, B. E. Fayomi and T. Martin, "Evaluation des Risques Sanitaires et Environnementaux des Pratiques Phytosanitaires des Producteurs Maraichers dans la Commune Rurale de Tori-Bossito (Sud-Bénin)," *Cahiers Agricultures*, Vol. 20, No. 3, 2011, pp. 216-222.
[doi:10.1684/agr.2011.0485](https://doi.org/10.1684/agr.2011.0485)
- [9] O. Samuel, S. Dion, L. St Laurent and M. H. April, "Indicateur de Risque des Pesticides du Québec-IRPeQ Santé et Environnement Québec," Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation/ Ministère de Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs/Institut National de Santé Publique du Québec, Québec, 2007.
- [10] Wise & Loveys Information Services Ltd., "The e-Pesticide Manual 2000-2001 (Twelve Edition)," Version 2.0 Editor: CDS Tomlin; British Crop Protection Council.
- [11] University of Hertfordshire, "Base de Données FOOTPRINT PPDB sur les Propriétés des Pesticides," FOOTPRINT: Des Outils Innovant Pour l'Evaluation et la Réduction du Risque Pesticides, 2008, <http://www.eu-footprint.org/fr/ppdb.html>
- [12] Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, "Base de données SAgE Pesticides," 2009. <http://www.sagepesticides.qc.ca/>
- [13] T. Martin, F. Chandre, J. Chabi, P. F. Guillet, M. Akog-

- beto and J. M. Hougard, "A Biological Test to Quantify Pyrethrinoid in Impregnated Nets," *Tropical Medicine and International Health*, Vol. 12, No. 2, 2007, pp. 1-6.
- [14] WHO, "The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification," 2005. http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_rev_3.pdf
- [15] PAN and IPEN, "Interdiction de l'Endosulfan dans les Pays du Sahel en Afrique de l'Ouest," Octobre 2008.
- [16] US EPA, "Reregistration Eligibility Decision for Endosulfan," November 2002.
- [17] P. Ton, S. Tovigan and S. D. Vodouhe, "Intoxications et Morts au Bénin par l'Endosulfan," In: *Pesticides & Alternatives. Bulletin de Pesticide Action Network Africa*, N. 10-Avril, 2000.
- [18] N. Bonnard, D. Jargot, M. Falcy, A. Fastier, S. Oudar and M. O. Rambourg, "Mancozèbe. Fiche Toxicologique," INRS/AFSSA, France, 2010, 8 Pages.
- [19] K. Hibar, M. Daami-Remadi and M. El Mahjoud, "Effets de Certains Fongicides de Synthèse et Biologiques sur la Croissance Mycélienne et l'Agressivité de *Fusarium oxysporium f. sp. radicis-lycopersici*," *Tropicultura*, Vol. 25, 2007, pp. 146-152.
- [20] K. Boutin, J. Champagne and K. Grenier, "Indice de Risque et Registre des Pesticides SECTEUR AGRICOLE (IRPeQ-Express)," 2009. <http://www.irpeqexpress.qc.ca/>
- [21] H. M. G. Van der Werf, "Assessing the Impact of Pesticides on the Environment," *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Vol. 60, No. 2, 1996, pp. 81-96.
- [22] J. Devillers, R. Farret, P. Girardin, J. L. Rivière and G. Soulas, "Indicateurs Pour Evaluer les Risques Liés à l'Utilisation des Pesticides," Editions Tec&Doc Lavoisier, Paris, 2007.
- [23] F. Giuseppe, E. Rahn and C. R. Binder, "Testing Environmental and Health Pesticide Use Risk Indicators, the Case of Potato Production in Boyacá, Colombia," *Conference on International Research on Food Security, Natural Resources Management and Rural Development*, Zurich, September 2010, Tropentag 2010, pp. 14-16. <http://www.tropentag.de/2010/abstracts/full/266.pdf>
- [24] UE, "Journal Officiel de l'Union Européenne," Législation du 28 mai 2011. http://publications.europa.eu/others/agents/index_fr.htm
- [25] E. Y. A. Pazou, M. Boko, C. A. M. Van Gestel, H. Ahissou, P. Laleye, S. Akpona, B. Van Hattum, K. Swart and N. M. Van Straalen, "Organochlorine and Organophosphorous Pesticide Residues in the Ouémé River Catchment in the Republic of Benin," *Environment International*, Vol. 32, No. 5, 2006, pp. 616-623.
- [26] E. Y. A. Pazou, P. Laleye, M. Boko, C. A. M. Van Gestel, H. Ahissou, S. Akpona, B. Van Hattum, K. Swart and N. M. Van Straalen, "Contamination of Fish by Organochlorine Pesticide Residues in the Ouémé River Catchment in the Republic of Bénin," *Environment International*, Vol. 32, 2006, pp. 594-599.
- [27] T. Martin, F. Assogba-Komlan, T. Houndete, J. M. Hougard and F. Chandre, "Efficacy of Mosquito Netting for Sustainable Small Holders' Cabbage Production in Africa," *Journal of Economic Entomology*, Vol. 99, No. 2, 2006, pp. 450-454. [doi:10.1603/0022-0493-99.2.450](https://doi.org/10.1603/0022-0493-99.2.450)
- [28] S. Licciardi, F. Assogba-Komlan, I. Sidick, F. Chandre, J. M. Hougard and T. Martin, "A Temporary Tunnel Screen as an Eco-Friendly Method for Small-Scale Growers to Protect Cabbage Crop in Benin," *International Journal of Tropical Insect Science*, Vol. 27, No. 3-4, 2007, pp. 152-158.

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <http://www.researchgate.net/publication/234606468>

Biology of *Anopheles gambiae* and insecticide resistance: Entomological study for a large scale of indoor residual spraying in south east Benin

ARTICLE · NOVEMBER 2011

DOI: 10.5897/JPVB11.018

CITATIONS

8

READS

23

11 AUTHORS, INCLUDING:



Gil Germain Padonou

Centre de Recherche Entomologique de Coto...

33 PUBLICATIONS 339 CITATIONS

SEE PROFILE



Irene Ayi

Noguchi Memorial Institute for Medical Rese...

28 PUBLICATIONS 149 CITATIONS

SEE PROFILE



Roseric Azondekon

University of Wisconsin - Milwaukee

31 PUBLICATIONS 85 CITATIONS

SEE PROFILE



Daniel Boakye

Noguchi Memorial Institute for Medical Rese...

161 PUBLICATIONS 3,539 CITATIONS

SEE PROFILE

Full Length Research Paper

Biology of *Anopheles gambiae* and insecticide resistance: Entomological study for a large scale of indoor residual spraying in South East Benin

G. G. Padonou^{1,2*}, M. Sezonlin¹, G. L. Gbedjissi¹, I. Ayi³, R. Azondekon², A. Djenontin^{1,2}, S. Bio-Bangana², O. Oussou², A. Yadouleton², D. Boakye³ and M. Akogbeto^{1,2}

¹Faculte des Sciences et Techniques de l'Universite d'Abomey Calavi, Benin.

²Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC), Cotonou, Benin.

³Parasitology Department, Noguchi Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana, Legon, Accra, Ghana.

Accepted 8 November, 2011

Indoor residual spraying (IRS) has been proposed by the National Malaria Control Programme of Benin in the districts of Adjohoun, Dangbo, Misserete and Seme. Up to date entomological data are unavailable in these districts. To be effective, this measure must be based on the knowledge of biology of the malaria vectors. To achieve this aim, vector collections were made in the study area. A total of 49,059 Culicidae were captured. *Anopheles gambiae* s.s accounted for 20.91% while *Anopheles funestus* accounted for only 0.007%. *An. gambiae* s.s were molecular form M, resistant to DDT and permethrin, but susceptible to deltamethrin (mortality 100%) and bendiocarb (mortality 100%). Endophilic, blood feeding and endophagic rates were respectively estimated to be 65.74%, 53.23 and 70.18%. There was no seasonal variation of longevity, but the entomological inoculation rate ranged from 0 to 0.73 infective bites/ person / night according to localities and seasons. This study confirms a high spatial heterogeneity in mosquito distribution and shows that *An. gambiae* s.s is highly endophagic and endophilic (feed and rest indoor) in south east Benin. While the vector remains susceptible to deltamethrin, high levels of *kdr* suggest that the use of pyrethrinoid for IRS may be at risk.

Key words: *Anopheles gambiae*, endophily, blood feeding, parturity, entomological inoculation rate, resistance, IRS, Benin.

INTRODUCTION

The number of deaths attributed to malaria in 2008 was estimated to 863,000 of which 89% were in the African regions (WHO, 2009). Efforts, over several years, to control malaria, have given disappointing results. A major reason for failure is the resistance of the parasite, *Plasmodium falciparum*, to drugs and of the vector, *Anopheles gambiae* to pyrethroids used on insecticide-treated (mosquito) nets (ITNs). Since Ivory Coast (Elissa et al., 1993), vector resistance to pyrethroids has been

reported in Kenya, East Africa (Vulule et al., 1994), Burkina (Chandre et al., 1999), South Africa (Hargreaves et al., 2000) and Mali (Fanello et al., 2003). Others studies conducted in Benin (Akogbeto and Yacoubou, 1999; Corbel et al., 2007; Yadouleton et al., 2010) also indicated that *Anopheles gambiae* is highly resistant to pyrethroids and DDT.

The roll back malaria (RBM) partnership was established in 1998 to encourage African countries to take further measures against malaria. In response, Benin adopted a national strategy favoring large-scale, integrated control measures, including ITNs for the protection of vulnerable populations (children under 5 years and pregnant women) and indoor residual spraying

*Corresponding author. E-mail: pagergil@yahoo.fr. Tel: (229) 97289615/ (229) 64848595. Fax: (229) 21308860.

(IRS) with bendiocarb. In support of this decision, the Ministry of Health (MOH) and the president's malaria initiative (PMI) of the USA Government agreed to spread IRS on a regional basis. Initially, four districts (Adjohoun, Dangbo, Misserete and Seme) in the department of Oueme, southern Benin, were selected for IRS. This vector control strategy must be implemented on the basis of valid entomological research. No entomological data from study area was available. Recent data from the neighboring district (Cotonou) in relation with the biology of Culicidae fauna and *An. gambiae* go all the way back to 1950 (Huttel, 1950; Hamon, 1954) and 1992 (Akogbeto, 1992). Thus entomological data were collected, as reference for the monitoring and evaluation of the IRS effectiveness on the dynamic of *Anopheles* populations and their behaviour, on malaria transmission and the insecticide resistance required for a good implementation of the IRS. To achieve this aim field activities and laboratories research were carried out from January 2008 to July 2008. This article reports the results of this entomological study.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The study area is located in Republic of Benin (West Africa) and includes four districts of the Oueme region: Adjohoun, Dangbo, Misserete and Seme (Figure 1). The four districts cover an area of 977 km² and an estimated 64,799 households. There are 62,890 children aged <5 years in 174 villages (INSAE, 2004). From 2002 to 2006, Oueme was the region with the highest rates of malaria-associated mortality (MS, 2007). The region is characterized by a sub-equatorial type climate. There are two ecological zones: a plateau zone and a swampy zone. In the present study, the plateau zone is referred to as the "plateau area", and the swampy zone is called "peripheral area" (Figure1). In the plateau area, mosquito breeding sites are created particularly during the rainy seasons. But the peripheral area is made up of marshy land converted to vegetable gardens. Land management in this vegetable growing area creates perfect breeding site for *An gambiae*, the main vector of malaria which is highly resistant to pyrethroids (Padonou, 2008). The practice of growing vegetable crops in all districts has resulted in consumption of fertilizers and insecticides. The insecticides used were DDT and pyrethroids until 1970 (Alphacypermethrin, Cypermethrin and Deltamethrin) after the ban of DDT. Because of a high density of mosquitoes in Oueme region, the use of individual and collective measures (aerosol cans, plates for electric diffusers and mosquito coils containing pyrethroids) to protect against mosquito bites is widespread (Akogbeto and Yacoubou, 1999). Houses in both areas are generally built in similar shape. These houses are made of either mud or cement with large eave gaps facilitating entry and exit of mosquitoes.

Field mosquito collection

The sampling was done in 4 villages (2 in the plateau area and 2 in the peripheral area) per district by window traps (WT), indoor and outdoor human landing catches (HLC), indoor pyrethrum spray catches (PSC), and by collection of larvae and pupae.

To estimate endophagy and entomological inoculating rate of *An.*

gambiae, mosquitoes collection by HLC were carried out during 14 surveys from January 2008 to July 2008 (6 in the dry season and 8 in the rainy season) every month for two consecutive nights per survey (8 person-night per district per survey). Teams of collectors were rotated among the collection points on different collection nights to minimize sampling bias. Ethical clearance was granted by the Ministry of Health of Benin and by Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC). Informed consent from all volunteers was obtained before their participation in the study. Malaria prevention and curative treatments were provided to all sleepers according to World Health Organization (WHO) recommended regimen on the basis of fever and detectable *P. falciparum* parasitemia.

The exophilic behaviour of mosquito population in the 4 districts was monitored by setting a total of 32 WT with 2 traps per house. Two mosquito catching sessions in each WT were organized each month from 1800 to 0630 h. After collecting exophilic mosquitoes from the WT, pyrethrum spray catches were done to collect indoor resting mosquitoes.

Larvae and pupae were collected from breeding sites of Adjohoun, Dangbo, Misserete and Seme within the peripheral area and the plateau, using standard dipping method. Larvae and pupae were reared to adults stage at Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) insectary and subsequently used for bioassays.

Testing insecticide susceptibility

Females *An. gambiae* aged 2 to 5 days old were exposed to WHO diagnostic dosage of various insecticides according to the standard WHO testing protocol (WHO, 1998). The following insecticides were tested: deltamethrin (0.05%), permethrin (0.75%), DDT (4%) and bendiocarb (0.1%). Mosquitoes were exposed for one hour to insecticide-treated papers and monitored at different time intervals (10, 15, 20, 30, 45 and 60 min) to record the "knock-down". Mortalities were recorded after 24 h and the susceptibility status of the population was graded according to the WHO recommended protocol (WHO, 1998). All susceptibility tests were conducted in the CREC laboratory at 26 to 29°C and 74 to 82% relative humidity.

Dead and surviving mosquitoes were separately stored in individual tubes with silicagel and preserved at -20°C in the laboratory, for further molecular characterization.

Plasmodium falciparum detection and molecular analysis of mosquito samples

Anophelines were sorted and identified to species based on morphological characters using standard identification keys (Gillies, 1968). The physiological age of adult female *An. gambiae* was determined through dissection (Detinova, 1963). The head-thoraces of females from HLCs were tested for the presence of circumsporozoite protein (CSP) of *P. falciparum* using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Wirtz et al., 1987). In each locality, a sub-sample of 25 to 35 *An. gambiae* of the permethrin- tested specimens were processed by PCR concomitantly for identification of species and molecular forms of *An. gambiae* (Favia et al., 2001). Detection of Leu-Phe *kdr* and Ace-1R mutations in the same samples were performed by PCR from genomic DNA (Martinez-Torres et al., 1998; Weill et al., 2004).

Estimation of entomological parameters

The following entomological parameters were estimated; (1) Human biting rate (HBR): the number of *An. gambiae* biting a person during

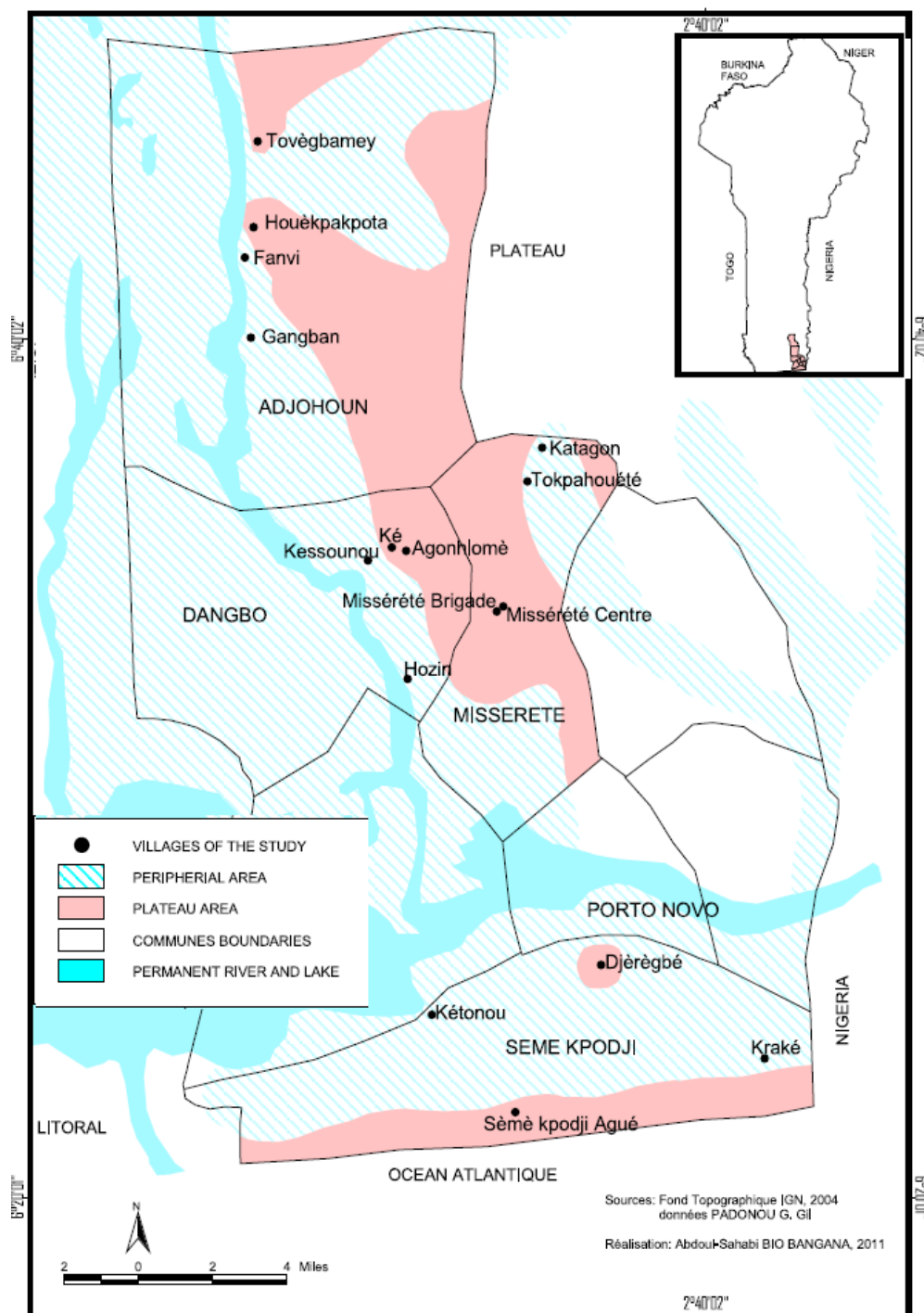


Figure 1. Map of study area.

a given time period (bites/p/t) (time being night, month or year). (2) Endophily rate: the number of *An.gambiae* at rest divided by the total number collected by PSC and the window trap converted to a percentage. (3) Blood-feeding rate: the percentage of blood fed mosquitoes collected divided by the total number collected by indoor PSC and the window trap. (4) Parous rate: the percentage of the number of *An.gambiae* having laid eggs at least once,

divided by the total of *An.gambiae* females dissected. (5) The sensitivity of *An. gambiae* insecticide was defined according to WHO protocol (WHO, 1998). (6) Sporozoite rate: a ratio of the total number of mosquitoes infected divided by the total number of *An.gambiae* dissected. (7) Entomological inoculation rate (EIR): the number of infective bites per person per night is calculated, by multiplying the number of *An.gambiae* bites per person per night by

Table 1. Diversity of mosquitoes species collected at Adjohoun, Dangbo, Misserete and Seme, during the dry (January to March 2008) and rainy (April to July 2008) seasons (2 catch session per month).

Species	Adjohoun		Dangbo		Misserete		Seme		Total
	Nb Ds	Nb Rs	Nb Ds	Nb Rs	Nb Ds	Nb Rs	Nb Ds	Nb Rs	
<i>Anopheles gambiae</i>	124	1219	432	1966	198	1414	388	4518	10259
<i>Anopheles funestus</i>	0	1	0	1	0	1	0	0	3
<i>Anopheles pharoensis</i>	73	124	337	119	6	7	14	39	719
<i>Anopheles ziemanni</i>	0	0	9	4	0	0	0	5	18
<i>Anopheles coustani</i>	0	1	3	0	0	0	5	0	9
<i>Culex quinquefasciatus</i>	238	370	781	836	14	396	342	205	3182
<i>Culex decens</i>	30	150	187	1804	13	219	874	1640	4917
<i>Culex nebulosus</i>	197	706	100	1417	0	1306	1178	537	5441
<i>Culex thalassius</i>	0	88	41	13	0	0	0	0	142
<i>Culex fatigans</i>	0	0	0	0	0	7	0	0	7
<i>Aedes aegypti</i>	18	15	20	44	25	36	4	7	169
<i>Aedes palpalis</i>	1	15	0	16	3	108	0	0	143
<i>Mansonia africana</i>	7353	2404	7603	2815	1065	452	1793	542	24027
<i>Mansonia uniformis</i>	5	2	3	2	1	2	3	5	23
Total	8039	5095	9516	9037	1325	3948	4601	7498	49059

Nb Ds : Number in dry season ; Nb Rs: Number in rainy season.

the sporozoite rate.

Statistical analysis

Normality was tested by a Shapiro-Wilk test and we used a rank sum test, Kruskal-Wallis to compare the variables of density, endophagy and aggressivity between localities, between ecological zones and between seasons. ANOVA was used for the analysis of the means of endophily, gravidity and parturity. Comparison of the *kdr* frequency among localities was performed using Fisher's exact test with Genepop software. The significance level was set at 5%.

RESULTS

Species diversity

Four mosquito genera, comprising 14 species, were collected and identified taxonomically: 4 *Anopheles*, 5 *Culex*, 3 *Aedes* and 2 *Mansonia* (Table 1). The Culicidae fauna was present during the dry and rainy seasons and at all localities. However, its composition and size vary. Total culicidae captured was 49,059 of which 38,051 (77.56%) are *Mansonia africana*, *Culex nebulosus*, *C. quinquefasciatus* and *C. decens*. The Anophelinae included *An. gambiae* s.l, representing 20.91% of all Culicidae, *An. funestus*, representing only 0.007%, and *An. pharoensis*, *An. coustani* and *An. ziemani*, at very low percentages.

Endophilic and blood feeding rate

Endophily ranged from 60.9% at peripheral of Adjohoun

to 73.3% at Misserete. The overall comparison of different rates showed no significant difference (Table 2). Endophily was comparable from one locality to another as well as between ecological zones. More than half (53.2%) of the *An. gambiae* caught were blood fed and 38.8% were gravid. Significant variation (Table 2) in blood feeding rate was observed between localities and according to ecological zones (Table 2). In the plateau area blood feeding rate was significantly lower at Misserete (50.7%), Adjohoun (52.4%), Dangbo and Seme (54.3%) than all other localities (Table 2). However, it was higher at peripheral of Dangbo where 70.2% of mosquitoes blood fed. Blood fed females were more common than gravid females throughout the study area (Table 2).

Endophagy

A total of 896 HLC sessions yielded 9,068 *An. gambiae*. 6,364 *An. gambiae* were captured by indoor human landing catch versus 2,704 *An. gambiae* collected outdoors. Endophagy rate was estimated at 70.18% (Table 3), that is approximately 3/4 of the *An. gambiae* sampled preferred to take their meals inside the houses. This relatively high degree of endophagy ranged between 59.78% (Misserete peripheral) and 79.57% (Dangbo plateau) (Table 3) and characterized all localities. There was no significant difference between localities and between ecological zones (Table 3). This requires a prevention strategy against aggressive mosquitoes inside

Table 2. Endophily, blood feeding and gravid behaviour of *Anopheles gambiae* in Adjohoun, Dangbo, Misserete and Seme districts (May to July 2008).

Locality	Total	Npsc	N gravid	N blood fed	Parameter					
					Endophily rate (%)		Gravid rate (%)		Blood feeding rate (%)	
					Mean	[95 %CI]	Mean	[95 %CI]	Mean	[95 %CI]
Adjohoun pl	84	58	26	44	69.45 ^a	[59.07-79.82]	30.75 ^a	[24.09-37.40]	52.38 ^{ab}	[50.37-53.62]
Dangbo pl	84	53	31	46	63.86 ^a	[51.98-75.73]	36.59 ^{ab}	[33.91-39.27]	54.33 ^{ab}	[50.36-58.29]
Misserete pl	84	52	29	43	62.12 ^a	[53.33-70.91]	34.19 ^{ab}	[30.43-37.94]	50.66 ^a	[44.85-56.47]
Seme pl	388	250	142	151	64.38 ^a	[57.59-71.16]	36.60 ^{ab}	[29.66-43.54]	54.33 ^a	[43.74-64.92]
Adjohoun per	91	55	41	61	60.94 ^a	[52.48-69.40]	44.72 ^{cd}	[41.44-47.99]	66.66 ^{cd}	[61.89-71.43]
Dangbo per	82	50	38	57	61.87 ^a	[55.25-68.50]	46.93 ^d	[41.43-52.43]	70.16 ^d	[62.05-78.27]
Misserete per	288	210	120	180	73.30 ^a	[66.95-79.64]	41.83 ^{bcd}	[39.00-44.66]	62.16 ^{bcd}	[58.10-66.22]
Seme per	90	55	35	52	61.38 ^a	[52.19-70.57]	39.02 ^{cd}	[32.81-45.22]	58.33 ^{abc}	[49.19-67.47]
Total	1191	783	462	634	65.74	[62.12-67.20]	38.79	[36.86-40.79]	53.23	[55.99-61.17]

pl: plateau; per : peripheral; C I: 95% Confidence Interval; psc: pyrethrum spray catch; for a same parameter of the table values in column with different superscript were significantly different (p<0.05).

Table 3. Human biting rate (HBR) and endophagy of *An. gambiae* by locality and ecological zone.

Locality	Total number	Number of man night	Total number inside	Endophagy (%)
Adjohoun pl	272	112	200	73.52 ^a
Dangbo pl	328	112	261	79.57 ^a
Misserete pl	136	112	88	64.70 ^a
Seme pl	1692	112	1080	63.82 ^a
Adjohoun per	896	112	592	66.07 ^a
Dangbo per	1904	112	1375	72.21 ^a
Misserete per	1104	112	660	59.78 ^a
Seme per	2736	112	2108	77.04 ^a
Total	9068	896	6364	70.18
Ecological zone				
pl area	2428	448	1629	67.09 ^a
per area	6640	448	4735	71.31 ^a

pl: plateau; per : peripheral; for a same parameter of the table values in column with different superscript were significantly different (p<0.05).

houses.

Lifespan and infectivity

The parous rate for *An. gambiae* ranged from 68.18 to 80.06% (Table 4a, b). The average parous rate was 77.10% with variations from one locality to another. At Seme peripheral, the parous rate appeared higher (80.06%) but comparable with other localities (Table 4b). At Adjohoun peripheral the rate was lower (p <0.05). There was no seasonal variation in longevity. The entomological inoculation rate (EIR) ranged from 0 to 0.73 infective bites per person per night (Tables 4a, b). Projecting this rate throughout the study period, it appears that a man received theoretically between 14.7

and 21 infective bites in 7 months (January to July). However, EIR was higher in Seme (94.5 to 153.3 infective bites in 7 months) and Adjohoun peripheral (100.8 infective bites in 7 months). These infections were obtained between April and July during the main rainy season. Between January and March (main dry season) EIR was zero except Seme plateau and Dangbo plateau (Table 4a) where one person received respectively 3.6 and 1.8 infective bites in three months.

Sensitivity, kdr genotype, species and molecular forms of *Anopheles gambiae*

Bioassays using non-insecticidal papers showed the control mortality rate in wild populations from each locality to be less than 5%. Overall *An. gambiae* showed

Table 4a. Parous rate and entomological inoculation rate of *An. gambiae* s.l. collected by HLC in the plateau area of Adjohoun, Dangbo, Misserete and Seme (south of Benin).

Locality		Dry season		Rainy season	
		January to March 2008		April to July 2008	
Adjohoun plateau	N Total	65		207	272
	Parturity %	81.67 ^a		77.25 ^a	79.41 ^b
	HBR	1.35	[74.08-89.26]	3.23	2.43
	N (ELISA)	58		70	128
	S%	0		5.71	3.12
	EIR (b/m/n)	0		0.18	0.07
Dangbo plateau	N Total	48		280	328
	Parturity %	84.67 ^a		75.75 ^a	79.87 ^b
	HBR	1	[70.99-98.35]	4.375	2.93
	N (ELISA)	48		89	137
	S%	2.08		4.49	3.64
	EIR (b/m/n)	0.02		0.19	0.1
Misserete plateau	N Total	38		98	136
	Parturity %	76 ^a		66 ^a	70.58 ^{ab}
	HBR	0.79	[73.52-78.48]	1.53	1.21
	N (ELISA)	38		78	116
	S%	0		0	0
	EIR (b/m/n)	0		0	0
Seme plateau	N Total	100		1592	1692
	Parturity %	84.67 ^a		76.25 ^a	80 ^b
	HBR	2.08	[78.42-90.92]	24.88	15.11
	N (ELISA)	52		114	166
	S%	1.92		3.5	3.01
	EIR (b/m/n)	0.04		0.87	0.45

N Total: Total number; HBR: Human bite rate; N(ELISA): Number tested by ELISA CSP; S%: Sporozoite index; EIR (b/m/n): Entomological inoculating rate (infected bite/man/night); for a same parameter of the table, values in the dry season and in the rainy season which carry different letters in expositant were significantly different ($p < 0.05$). In the column of January to July 08 values which carry different letters in expositant were significantly different ($p < 0.05$) from one locality to other locality.

susceptibility to bendiocarb and deltamethrin was observed everywhere: 100% of *An. gambiae* tested were dead (Table 5). PCR has revealed 100% of mosquitoes tested were *Anopheles gambiae* s.s. M form. The frequency of the *kdr* alleles was 79.35% and frequency of *Ace-1* was 0% (Table 6). Furthermore, the survival rate obtained among the *An. gambiae* s.l. populations tested with permethrin was correlated with the frequency of the *kdr* allele (correlation coefficient $R^2 = 0.96$) as shown in Figure 2.

DISCUSSION

The present study provides entomological baseline data in the 4 districts before IRS in Benin. In this study, 14

species of Culicidae: 4 *Anopheles*, 5 *Culex*, 3 *Aedes* and 2 *Mansonia* were collected. In south east Benin (Cotonou and Porto Novo) Huttel (1950) and Hamon (1954) had identified the same species in varying proportions, but without reporting the presence of *Culex fatigans*, *Cx. quinquefasciatus* and *Aedes palpalis*. The factor that could explain the presence of these vectors is urbanization (Hamon et al., 1967). Another author, Akogbeto (1992), reported 8 species in Southern Benin with *Mansonia* sp., *An. gambiae* s.l., *Culex thalassius* and *Culex. gr. decens*. Moreover, Djenontin et al. (2010) revealed 28 different species of Culicidae with *M. africana*, *C. gr. decens*, *C. quinquefasciatus*, *C. nebulosus*, *Anopheles nili*, *An. funestus* s.s. and *Anopheles leesoni* in southwest Benin. The variability in ecological diversity noted by different authors is probably

Table 5. Percentage of dead *Anopheles gambiae* observed after 1 hour exposure to 0.75% permethrin, 0.01% bendiocarb, 4% DDT and 0.05% deltamethrin in the localities of Adjohoun, Dangbo, Misserete and Seme (south of Benin) from January to July 2008.

Locality	Permethrin				DDT				Deltamethrin			Bendiocarb		
	N	% Mort		St	N	% Mort		St	N	Mort (%)	St	N	Mort (%)	St
		Mean	[95% CI]			Mean	[95% CI]							
Adjohoun pl	100	60.00 ^b	[54.80- 65.20]	R	100	32.00 ^b	[26.80-37.20]	R	100	100	S	100	100	S
Dangbo pl	100	54.00 ^{ab}	[45.78- 62.22]	R	100	20.00 ^a	[14.80- 25.20]	R	100	100	S	100	100	S
Misserete pl	100	49.00 ^a	[42.91- 55.09]	R	100	22.00 ^{ab}	[13.78- 30.22]	R	100	100	S	100	100	S
Seme pl	100	47.00 ^a	[40.91- 53.09]	R	100	19.00 ^a	[12.91- 25.09]	R	100	100	S	100	100	S
Adjohoun per	100	75.00 ^c	[68.91- 81.09]	R	100	30.00 ^b	[21.78- 38.22]	R	100	100	S	100	100	S
Dangbo per	100	59.00 ^b	[52.91- 65.09]	R	100	23.00 ^{ab}	[13.45- 32.55]	R	100	100	S	100	100	S
Misserete per	100	58.00 ^b	[49.78- 66.22]	R	100	26.00 ^{ab}	[17.78- 34.22]	R	100	100	S	100	100	S
Seme per	100	54.00 ^{ab}	[45.78- 62.22]	R	100	25.00 ^{ab}	[18.91- 31.09]	R	100	100	S	100	100	S
Total	800	57	[54.12- 59.38]	R	800	24.62	[22.49- 26.76]	R	800	100	S	800	100	S

pl: plateau; per : peripheral; N: Number tested; C I : 95% confidence interval ; St: status; R: resistance; S: susceptible; mort : mortality ; For each insecticide, for a same parameter, values which carry different letters in exposant were significantly different ($p < 0.05$).

Table 6. Species identification, molecular forms (Mf) and frequency of the *kdr* and *Ace-1* genotypes (RR,RS,SS) in *Anopheles gambiae* s.l. females collected in the localities of Adjohoun, Dangbo, Misserete and Seme (south of Benin) from January to July 2008.

Locality	Species	Mf	Kdr mutation				Ace-1 mutation			
	<i>An. gambiae</i> s.s	M Form	RR	RS	SS	<i>F (Kdr)</i>	RR	RS	SS	<i>F (Ace-1)</i>
Adjohoun pl	24	24	15	5	4	72.91 ^a	0	0	24	0
Dangbo pl	28	28	20	5	3	80.35 ^a	0	0	28	0
Misserete pl	28	28	24	4	0	92.85 ^b	0	0	28	0
Seme pl	25	25	24	1	0	98 ^{bc}	0	0	25	0
Adjohoun per	26	26	07	15	4	55.78 ^a	0	0	26	0
Dangbo per	30	30	17	12	1	76.66 ^a	0	0	30	0
Misserete per	28	28	16	12	0	78.57 ^a	0	0	28	0
Seme per	29	29	25	0	4	86.20 ^{ab}	0	0	29	0
Total	218	218	148	54	16	80.16	0	0	218	0

pl: plateau; per : peripheral; for a same parameter of the table values which carry different letters in exposant were significantly different ($p < 0.05$).

based on sampling techniques used, periods of study, study area and population dynamics of mosquitoes under external pressure. The presence

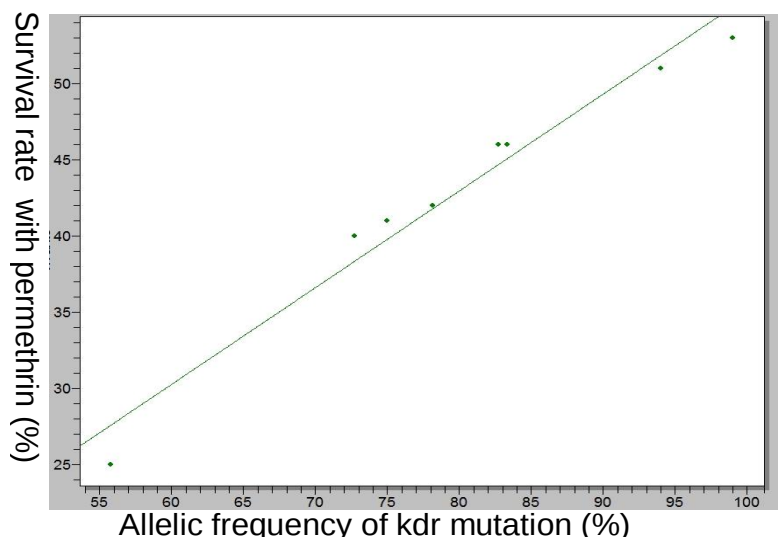


Figure 2. Correlation between *kdr* frequency and survival rates with permethrin.

of *An. gambiae* s.l in all localities during the rainy season and dry season could be explained by the permanent presence and the abundance of small collections of natural waters. In contrast, the low presence of *An. funestus* in Adjohoun, Dangbo and Misserete could be justified by the richness of the soil in organic matter and human activities that pollute larval breeding sites and makes them less favorable to its multiplication; while this absence in Seme was likely due to soil salinity because of the proximity of the sea. Unlike to studies conducted in Benin (Akogbeto, 1992) and Cameroun (Atangana et al., 2009), in dry season (January, February, March) more Culicidae were captured (Adjohoun: 61.20%; Dangbo: 51.29%) than in rainy season (April, May, June and July) (Adjohoun: 38.8%; Dangbo: 48.71%). This could be explained by the overflow of the Oueme River enlarged by rains from the northern region of Benin. When the waters recede, small pockets of water form, creating favorable breeding sites of *M. africana*, *Culex* sp and the *An. gambiae* in December, January and February. But, the strong tendency for the endophily of *An. gambiae* (Mouchet, 1957) noticed in all localities could be justified by factors including the scarcity of outdoor shelters and the proximity of many breeding sites in the residential area. The endophagy could be justified by the juxtaposition of habitat because of communal lifestyle and the average number of 2.9 persons per bedroom facilitating the taking of human blood meal.

During the study period, the EIR estimated by extrapolation to 164.5, 175.2 and 266.45 infective bites per man per year, respectively for Seme plateau, Dangbo peripheral and Seme peripheral is higher compared to those mentioned by Akogbeto et al. (1992) in southern Benin. In this study, the determination of the sporozoite

was not done by ELISA for the presence of the CS protein, but was based on the detection in salivary glands by microscopy which might account for the lowest levels of sporozoite. However these EIRs are similar to those described by Adja et al. (2006) in the savannah zone of Côte d'Ivoire (EIR = 410 infective bites per year) where *An. gambiae*, *An. funestus* and *An. nili* were involved in malaria transmission and in western of Cameroon, where EIRs were estimated at 100.8 infective bites / man / year (Atangana et al., 2009). The number of infective bites per man per year, estimated at 25.55 (Adjohoun plateau, Adjohoun peripheral and peripheral Misserete), 36.5 (Dangbo plateau) and 0 (Misserete plateau) are significantly lower than the values for similar areas in south Benin in 1990 (Akogbeto et al., 1992). These low levels of the EIR are may reflect the widespread use of mosquito coils and promotion of ITNs. Despite these low EIR, the IRS is needed. Because an EIR less than 20 infective bites per man per year is sufficient to maintain a transmission of malaria (Akogbeto, personal communication). The variability of EIR observed in the 4 localities according to the seasons, could be justify by the rarity of *An. gambiae* in dry season.

From the perspective of molecular tools, data analysis confirmed that *An. gambiae* M form is the principal vector of malaria in the study area. The absence of the S molecular form showed that it must have been the ecological characteristics of the department of Oueme that did not support its selection. The high frequency of *kdr* observed in *An. gambiae* population has confirmed previous studies in south of Benin (Akogbeto and Yacoubou, 1999; Corbel et al., 2007; Yadouleton et al., 2010). The correlation that we observed between the frequency of the *kdr* allele and the survival rate following

exposure to permethrin suggests that the substitution type Leu1014 Phe in *An. gambiae* may be a contributing mechanism underlying this resistance (Ranson et al., 2000). This mutation is justified by the fact that the study area is dominated by farming activities and subjected to selection pressure exerted by the pesticides used by farmers to protect their crops (Akogbeto et al., 2005). The promoting of the use of ITNs encouraged by WHO, might have also contributed to this selection pressure of pesticides. The difference between mortality rate to DDT (22.62%) and permethrin (57%) of the study area could be explained by the involvement of other mechanisms resistance such as metabolic resistance (Corbel et al., 2007). The absence of resistance to bendiocarb has confirmed the previous studies carried out by Akogbeto et al. (2010) and Yadouleton et al. (2010).

Conclusion

The present study provides useful information on the mosquito species composition in south east of Benin and supports the feasibility of IRS as an anti-vector malaria control intervention in Adjohoun, Dangbo, Misserete and Seme. *An. gambiae* is highly endophagic, endophilic (feed and rest indoor) and resistant to permethrin and DDT. The choice of pyrethrinoid treatment of houses is not desired. A possible alternative is the use of bendiocarb, to which we have observed a good sensitivity in the case of *An. gambiae*. In case this product is held there is hope that malaria transmission will be reduced drastically.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to the PMI (President Malaria Initiative) which supported financially this study through USAID and RTI. The authors would like to thank Dr N'Guessan Raphaël of London School of Hygiene and Tropical Medicine in Cotonou for his helpful suggestions and correction made to the manuscript. We also thank populations of Adjohoun, Dangbo, Seme, and Misserete for their collaboration.

REFERENCES

- Adja AM, N'Goran KE, Kengue P, Koudou GB, Touré M, Koffi AA, Tia E, Fontenille D, Chandre F (2006). Transmission vectorielle du paludisme en savane arborée à Gansé en Côte d'Ivoire. *Med. Trop.*, 66: 449-455.
- Akogbéto M (1992). Etude des aspects épidémiologiques du paludisme côtier lagunaire au Bénin. Thèse de doctorat, Université de Paris XI.
- Akogbéto M, Chippaux JP, Coluzzi M (1992). Le paludisme urbain côtier à Cotonou (République du Bénin). *Rev. Epidemiol. Sante. Publique.*, 40: 233-239.
- Akogbéto M, Djouaka R, Noukpo H (2005). Use of agricultural insecticides in Benin. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 98: 400-405.
- Akogbéto M, Yakoubou S (1999). Résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des pyrèthrinoides utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires au Bénin, Afrique de l'Ouest. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 92: 123-130.
- Akogbéto MC, Padonou GG, Gbénou D, Irish S, Yadouleton A (2010). Bendiocarb, a potential alternative against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* in Benin, West Africa. *Malar. J.*, 9: 204.
- Atangana J, Fondjo E, Fomena A, Tamesse LJ, Patchoké S, Ndjemai MN, Hamadou NMN, Prosper ABN (2009). Seasonal variation of malaria transmission in Western Cameroon highlands: Entomological and clinical investigations. *J. Cell. Anim. Biol.*, 3: 033-038.
- Chandre F, Darriet F, Manga L, Akogbeto M, Faye O, Mouchet J, Guillet P (1999). Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* sensu lato. *Bull. WHO.*, 77: 230-234.
- Corbel V, N'Guessan R, Brengues C, Chandre F, Djogbenou L, Martin T, Akogbeto M, Hougard JM, Rowland M (2007). Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. *Acta. Trop.*, 101: 207-216.
- Détinova TS (1963). Méthode à appliquer pour classer par groupe d'âge les diptères présentant une importance médicale. *Org. Mond. Santé. Sér. Mono.*, 47.
- Djénontin A, Bio-Bangana S, Moiroux N, Henry MC, Bousari O, Chabi J, Ossé R, Koudénoukpo S, Corbel V, Akogbéto M, Chandre F (2010). Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasit Vectors*, 3: 83.
- Elissa N, Mouchet J, Rivière F, Meunier JY, Yao K (1993). Resistance of *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroids in Côte d'Ivoire. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.*, 73: 291-294.
- Fanello C, Petrarca V, della Torre A, Santolamazza F, Dolo G, Coulibaly M, Allouche A, Curtis CF, Touré YT, Coluzzi M (2003). The pyrethroid knock-down resistance gene in the *Anopheles gambiae* complex in Mali and further indication of incipient speciation within *An. gambiae* s.s. *Insect. Mol. Biol.*, 12: 241-245.
- Favia G, Lanfrancotti A, Spanos L, Siden Kiamos I, Louis C (2001). Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. *Insect. Mol. Biol.*, 10: 19-23.
- Gillies MT, De Meillon B (1968). The Anophelinae of Africa south of the Sahara. *South. Afr. Inst. Med. Res. Johannesburg*, 54: 1-343.
- Hamon J, Burnett G, Adam J P, Rickenbach A, Grjebine A (1967). *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, *Wuchereria bancrofti* Cobbold, et le développement économique de Afrique tropicale. *Bull. Org. mond. Santé*, 37: 217-237.
- Hargreaves K, Koekemoer LL, Brooke BD, Hunt RH, Mthembu J, Coetzee M (2000). *Anopheles funestus* resistant to pyrethroid insecticides in South Africa. *Med. Vet. Entomol.*, 14: 181-189.
- Huttel J (1950). Note sur la répartition des moustiques dans le Bas-Dahomey. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 43: 563-566.
- INSAE (2004). Fichier village Ouémé. Porto-Novo. 29.
- Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson MS, Darriet F, Berge JB, Devonshire AL, Guillet P, Pasteur N, Pauron D (1998). Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *Insect. Mol. Biol.*, 7: 179-184.
- Ministère de la Santé (2007). Annuaire des statistiques sanitaires 2006.
- Mouchet J, Gariou J (1957). Exophilie et exophagie d'*Anopheles gambiae* Giles 1902, dans le sud Cameroun. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 3: 446-461.
- Padonou GG (2008). Evaluation en cas expérimentaux de l'efficacité de quelques insecticides pyrèthrinoides, organophosphorés et carbamate en pulvérisation intradomiciliaire. Mémoire de Master d'entomologie appliquée, Université d'Abomey Calavi.
- Ranson H, Jensen B, Vulule JM, Wang X, Hemingway J, Collins FH (2000). Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and pyrethroids. *Insect Mol Biol.*, 9: 491-497.
- Vulule JM, Beach RF, Atieli FK, Roberts JM, Mount DL, Mwangi RW (1994). Reduced susceptibility of *Anopheles gambiae* to permethrin associated with the use of permethrin-impregnated bednets and curtains in Kenya. *Med. Vet. Entomol.*, 8: 71-75.

- Weill M, Malcolm C, Chandre F, Mogensen K, Berthomieu A, Marquine M, Raymond M (2004). The unique mutation in *Ace-1* giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect. Mol. Biol.*, 13: 1-7.
- World Health Organization (WHO) (1998). Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces. Document WHO/CDS/CPC/MAL/98.12. World Health Organization, Geneva.
- World Health Organization (WHO) (2009). World Malaria Report. World Health Organization, Geneva.
- Wirtz RA, Zavala F, Charoenvit Y, Campbell GH, Burkot T, Schneider I, Esser KM, Beaudoin RL, Andre RG (1987). Comparative testing of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* sporozoites for ELISA development. *Bull. WHO.*, 65: 39-45.
- Yadouleton AW, Padonou G, Asidi A, Moiroux N, Banganna S, Corbel V, N'guessan R, Gbenou D, Yacoubou I, Gazard K, Akogbeto MC (2010). Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin. *Malar. J.*, 9: 83.

RESUME

Cette thèse a pour objectifs de décrire la répartition spatiale de *An. gambiae*, de *An. funestus*, de *Cx. quinquefasciatus* et de *Ae. aegypti* dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito ensuite d'identifier les paramètres du milieu qui déterminent cette répartition spatiale et enfin de modéliser la distribution spatiale de ces espèces.

Ils s'appuient sur les trois hypothèses suivantes : La répartition spatiale des vecteurs est non aléatoire; la contribution des déterminants environnementaux dans la répartition spatiale des vecteurs est différentielle et la connaissance de certains paramètres d'un milieu, permet de prédire les fréquences de population de moustiques vecteurs dans ce milieu.

Cette zone sanitaire est située au sud-ouest du Bénin, entre 1°56'30" et 2°16'20" de longitude est et entre 6°18'30" et 6°38'20" de latitude nord.

La démarche scientifique repose sur la collecte, l'évaluation et le traitement des données climatologiques (la température, les précipitations, le nombre de jours de pluie, l'humidité relative, les vents, la visibilité et la pression de vapeur), les données géographiques (réunissent l'hydrographie, le relief, les localités), les données biotiques (la présence humaine et la végétation), les données entomologiques (les captures nocturnes de moustiques sur appât humain et les prospections larvaires).

Il ressort de cette méthodologie une indépendance spatiale et le fait que l'espace (absolu) est insuffisant pour expliquer la distribution observée. Le nombre de jour de pluie, le NDVI, le relief, la distance des localités aux cours d'eau saumâtres sont les déterminants de la répartition spatiale de *Ae. aegypti*. Ceux de *An. gambiae*, de *An. funestus* et de *Cx. quinquefasciatus* sont : le vent, la visibilité, la pluviométrie, l'humidité relative, la pression, la température, le relief, la distance des localités aux cours d'eau et la fréquence de production d'alcool. De ces résultats, nous avons dégagé quatre modèles qui ont servi à l'élaboration des cartes de distribution des quatre espèces vectrices de maladies.

Enfin, cette thèse révèle le rôle de l'approche géographique dans la réflexion sur les questions de santé et cette approche pourrait être testée sur d'autres sites et pour d'autres vecteurs de maladies.

Mots Clés : Moustiques vecteurs, Modélisation par régression multiple, Analyse spatiale, SIG, Zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito.

ABSTRACT

This PhD thesis aimed at describing spatial distribution of *An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* and *Ae. aegypti* in the sanitary area of Ouidah-Kpomasse-Tori Bossito. This is to, identify features of the environment which determine this distribution and at last model the spatial distribution of these species. These objectives were based on three hypotheses which are: the spatial distribution of vector is not random; the contribution of environmental determinants in the spatial distribution of vectors is differential and the possibility, knowing some parameters of an area, anticipate on the frequencies of mosquitoes vectors in this area.

The area of Ouidah-Kpomasse-Tori Bossito is at the south west of Benin, between 1°56'30" and 2°16'20" east longitude and between 6°18'30" and 6°38'20" of north latitude.

The methodology consisted of the collection, the evaluation and treatment of climate data (temperature, rain fall, the number of days rain, the relative humidity, the wind speed, the visibility and the vapour pressure), geographical data (bring together the hydrography, relief, the localities), biotic data (human presence and the vegetation) and entomological data (night caught of mosquitoes on the human body and larval prospections).

It results from this methodology a spatial independence and the fact that the space (absolute) is insufficient to explain the distribution observed. The numbers of days of rain, the NDVI, topography, distance to towns to brackish rivers are the determinants of the spatial distribution of *Ae. aegypti*. Those of *An. gambiae*, *An. funestus* and of *Cx. quinquefasciatus* are: the wind, the visibility, the rainfall, the relative humidity, the pressure, the temperature, the topography, the distances of the localities to freshwater streams and the frequency for alcohol production. Of these results, we have set out four models which have served to the elaboration of map of *An. gambiae*, *An. funestus*, *Cx. quinquefasciatus* and *Ae. aegypti*.

Finally, this PhD thesis reveals the role of the geographical approach in the thought on the questions of health and this approach might be tested on other sites and other disease vectors of the sicknesses.

Key Words: Mosquitoes vectors, modeling multiple regression, spatial analyst, GIS, Sanitary district Ouidah-Kpomassè-Tori Bossito.