



REPUBLIQUE DU BENIN

oooo \*\*\* oooo

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ooooo \*\*\*\*\* oooooo

UNIVERSITE D'ABOMEY CALAVI

oooooooooooo

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

\*\*\*\*\*oooooooo\*\*\*\*\*

LABORATOIRE DE GENETIQUE MOLECULAIRE ET D'ANALYSE DES  
GENOMES

CENTRE DE RECHERCHE POUR LA LUTTE CONTRE LES MALADIES  
INFECTIEUSES TROPICALES

## THESE DE DOCTORAT

Année académique : 2023 - 2024

Numéro d'enregistrement : 445

Présentée par : **Esdras Mahoutin ODJO**

pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université d'Abomey-Calavi

Spécialité : **ENTOMOLOGIE MEDICALE et RESSOURCES GENETIQUES**

GESTION DE LA RESISTANCE DE *ANOPHELES GAMBIAE* SENSU  
LATO VECTEUR DU *PLASMODIUM FALCIPARUM* EN REPUBLIQUE  
DU BENIN : ETUDE DE L'EFFET DES INSECTICIDES A BASE DE  
CLOTHIANIDINE EN PULVERISATION INTRADOMICILIAIRE

Soutenue publiquement devant le jury composé de :

**Président :** Casimir D. AKPOVI, Professeur Titulaire, Université d'Abomey-calavi, Bénin  
**Directeur de thèse :** Clément AGBANGLA, Professeur Titulaire, Université d'Abomey-calavi, Bénin  
**Co-Directeur de thèse :** Armel DJENONTIN, Professeur Titulaire, Université d'Abomey-calavi, Bénin  
**Rapporteurs :** Mahamadou SAWADO, Professeur Titulaire, Université Joseph KI-ZERBO, Burkina Faso  
Koffi David MONTCHO HAMBADA, Maître de Conférences, Université Nationale d'Agriculture, Bénin  
**Examineur :** Guillaume K. KETOH, Professeur Titulaire, Université de Lomé, Togo

Date de Soutenance : 05 Décembre 2024

Mention : Très honorable



U.S. President's Malaria Initiative

## RESUME

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande le développement de nouvelles molécules et la rotation d'insecticides présentant des modes d'actions différents pour une gestion efficace de la résistance des vecteurs aux insecticides. L'activité résiduelle du mélange clothianidine + deltaméthrine et de clothianidine seule en pulvérisation intradomiciliaire (PID) à grande échelle a couvert au-delà de la période de transmission du paludisme dans la Donga et l'Alibori. La présente étude vise à examiner l'impact des deux produits dans la gestion de la résistance des vecteurs du paludisme au Nord du Bénin. Des collectes de moustiques sur appât humain par des volontaires locaux et des collectes par pulvérisation de pyréthre ont été utilisées dans six (6) communes sous le suivi-évaluation de la PID de 2019 à 2021. Les paramètres entomologiques et les mécanismes de résistances de *An. gambiae* sensu lato (s.l.) ont été évalués dans les communes PID et les communes-témoins. Les tests ELISA/CSP et PCR ont été réalisés sur l'ADN des anophèles vecteurs du paludisme. Le complexe *An. gambiae* a été le vecteur majeur dans toute la zone d'étude avec une dominance absolue de 98,64% (18.683/18.940) sur les autres anophèles. Une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du taux de piqûres a été constatée après la PID dans les départements, sauf dans la Donga en 2021 avec la clothianidine 50 WG seule. L'impact des insecticides sur la réduction du taux d'inoculation entomologique (TIE) a été plus remarqué respectivement avec le pirimiphos-méthyl 300 CS, suivi du mélange clothianidine + deltaméthrine et enfin de la clothianidine 50 WG. Les taux d'alimentation de sang de *An. gambiae* s.l. et la parturité étaient élevés et semblables ( $p > 0,05$ ) dans les chambres traitées et dans les chambres témoins. Une forte fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* et une très faible fréquence allélique de la mutation *ace-1 G280S* aux insecticides ont été observées. Aucune différence significative n'a été observée entre les fréquences alléliques des communes PID et des communes-témoins pour les deux mutations ( $p = 0,14$  pour *kdr-L995F* et  $p = 0,58$  pour *ace-1 G280S*). La différenciation génétique est élevée pour le gène *ace-1*. Pour le gène *vgsc*, la différenciation génétique varie, suggérant des flux génétiques variables entre les sous-populations. Les insecticides à base de clothianidine ont induit un faible taux de réduction des indicateurs entomologiques de transmission du paludisme comparativement au pirimiphos-méthyl. Le mélange clothianidine + deltaméthrine pourrait avoir un impact réducteur sur la fréquence de la mutation *kdr-L995F* du gène *vgsc*.

**Mots clés:** Pulvérisation Intradomiciliaire; Bénin; Paludisme; clothianidine; deltaméthrine; paramètres entomologiques, résistance, *kdr-L995F*, *ace-1 G280S*

## ABSTRACT

The World Health Organization (WHO) recommends the development of new molecules and the rotation of insecticides with different modes of action for effective management of insecticide resistance in vectors. The residual activity of the clothianidin + deltamethrin mixture and clothianidin alone in large-scale indoor residual spraying (IRS) covered more than the period of malaria transmission in Donga and Alibori. The present study aims to examine the impact of the two products in managing malaria vector resistance in northern Benin. Mosquito collections on human bait by local volunteers and collections by pyrethrum spraying were used in six (6) communes under the monitoring-evaluation of the IRS from 2019 to 2021. Entomological parameters and resistance mechanisms of *An. gambiae* sensu lato (s.l.) were assessed in IRS and control communes. ELISA/CSP and PCR tests were carried out on the DNA of *Anopheles* vectors of malaria. The *An. gambiae* complex was the major vector throughout the study area, with an absolute dominance of 98.64% (18,683/18,940) over the other *Anopheles*. A significant decrease ( $p < 0.001$ ) in the biting rate was observed after IRS in all departments, except Donga in 2021 with clothianidin 50 WG alone. The impact of insecticides on reducing the entomological inoculation rate (EIR) was most noticeable with pirimiphos-methyl 300 CS, followed by the clothianidin + deltamethrin mixture and finally clothianidin 50 WG. Blood-feeding rates of *An. gambiae* s.l. and parturition were high and similar ( $p > 0.05$ ) in treated and control rooms. A high allelic frequency of the *kdr-L995F* mutation and a very low allelic frequency of the *ace-1 G280S* mutation to insecticides were observed. No significant difference was observed between the allelic frequencies of IRS and control-communes for the two mutations ( $p = 0.14$  for *kdr-L995F* and  $p = 0.58$  for *ace-1 G280S*). Genetic differentiation is high for the *ace-1* gene. For the *vgsc* gene, genetic differentiation varies, suggesting variable gene flow between subpopulations. Clothianidin insecticides induced a low rate of reduction in entomological indicators of malaria transmission compared with pirimiphos-methyl. The clothianidin + deltamethrin mixture could have a reducing impact on the frequency of the *kdr-L995F* mutation in the *vgsc* gene.

**Keywords:** Indoor residual spraying; Benin; malaria; clothianidin; deltamethrin; entomological parameters, resistance, *kdr-L995F*, *ace-1 G280S*

## **DEDICACE**

A mon Feu Père Théophile ODJO,  
à ma Mère Elisabeth NOUTAI

*Le précepte est une lampe, et l'enseignement une lumière,  
Et les avertissements de la correction sont le chemin de la vie.*

## REMERCIEMENTS

Je te loue Seigneur de ce que je suis une créature si merveilleuse. Tes œuvres sont admirables, Et mon âme le reconnaît bien. Psaumes 139 : 14 ; Merci Seigneur.

Réaliser une thèse de doctorat constitue une vaste aventure, alliant des dimensions scientifiques et humaines. Elle est riche en découvertes et moments heureux, mais également parsemée de défis complexes et d'obstacles. Ce cheminement du chercheur ne se fait pas en solitaire, mais plutôt grâce aux efforts concertés de diverses personnes dont les actions, soutiens et conseils ont rendu cette thèse possible. Il m'est difficile de les mentionner intégralement dans ces quelques lignes.

Cette aventure a d'abord été rendue possible grâce aux expériences et expertises de mes mentors scientifiques. Leur ouverture d'esprit et leur volonté de partage ainsi que leur profonde connaissance des domaines de l'entomologie médicale et de la génétique ont été des atouts précieux pour avancer dans mon travail. Chers mentors, votre rigueur, votre persévérance et votre optimisme m'ont apporté un soutien précieux dans l'appréhension de la complexité de la recherche. Je tiens à adresser mes plus sincères et chaleureux remerciements à :

- Professeur Clément AGBANGLA, pour avoir accepté de diriger et d'encadrer un travail si laborieux sur la gestion de la résistance des moustiques vecteurs du paludisme aux insecticides utilisés en santé publique. Je lui suis particulièrement reconnaissant pour m'avoir prodigué des conseils, des orientations et veillé à la réalisation des objectifs fixés ;
- Professeur Martin C. AKOGBETO, pour l'intérêt et l'implication multiforme dans l'orientation et l'aboutissement de ce travail, particulièrement pour avoir cru en notre aptitude à apporter cette modeste contribution. Je lui reconnais l'initiation à la recherche depuis mon cycle de master en Entomologie Appliquée option médicale et vétérinaire ;
- Professeur Armel DJENONTIN, Chef Adjoint du département de Zoologie à la faculté des Sciences et Techniques de l'Université d'Abomey-Calavi et co-directeur de cette thèse. A travers sa rigueur scientifique, il a fait preuve à mon égard d'une grande disponibilité, malgré ses lourdes responsabilités et m'a donné de précieux conseils d'une grande utilité dans l'aboutissement de cette thèse ;
- Professeur Casimir D. AKPOVI, je vous remercie chaleureusement pour l'honneur que vous me faites en acceptant de présider le jury chargé d'évaluer cette thèse.

- Professeurs Guillaume K. KETOH, Mahamadou SAWADOGO, et Dr (MC) Koffi David MONTCHO HAMBADA, recevez ici l'expression de ma sincère gratitude pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail.

- Mes remerciements vont également à l'endroit du Professeur Germain Gil PADONOU, pour mon accueil au Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) et pour les nombreux conseils.

Mes remerciements vont également aux :

- Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Analyse des Génomes, Centre de Recherche pour la Lutte Contre les Maladies Infectieuses Tropicales, President Malaria Initiative (PMI) à travers l'Agence des États-Unis pour le développement international (USAID), Centre de Contrôle et de Prévention des Maladies (CDC) et Programme National de Lutte contre le Paludisme dont la collaboration et le partenariat dynamiques ont rendu possible cette thèse à travers différents appuis techniques et financiers. Daignez trouver ici, le témoignage de ma profonde gratitude.

- Comité de thèse pour leurs conseils et recommandations ; Professeur BANKOLE Honoré, Dr (MC) MISSIHOUN Antoine Abel, Dr (MC) OSSE Razaki. Puisse le Seigneur accorder à votre famille et à vous-même la joie de vivre.

- Docteurs Filémon Tokponon, Rock Aïkpon, Albert Salako, Arsene Fassinou, Come Koukpo, André Sominahouin, Ludovic N'Tcha, Casmir Kpanou, Hermann Sagbohan, Idelphonse Ahogni, Renaud Govoétchan, Roseric Azondekon, Rodrigue Agossa, Arthur Sovi, Bio-Bangana Sahabi, Rodrigue Anagonou, Kefilath Badirou ; vos conseils et recommandations ont été très utiles pour la réalisation de ce travail. Recevez à travers ce document, mes sincères remerciements.

- Je tiens aussi à remercier mesdames et messieurs Herbert Noukpo, Alia Roland, Martial Gbègbo, Richard Houssou, Faizil Kifouly, Guy Agbangla, Sébastien Koudénoukpo, Aboubakar Sidick, Bruno Adjottin, Oscar Odjo, Zoul Affolabi, Eloi Honvoh, Alphonse Kokon, David Zoungbédji, Koffi Koumoudji, Juniace Ahoga, souliath Ohouko, Linda Towakinou, steve Hougbé, Juvénale Ahouandjinou, Safiou Idrissou, Moustapha Idrissou Souler, Emmanuel Oloke, Marcelle Gandonou, Jennifer Dossou-Yovo, Axelle Hounsou, Ikililou Kongo, Kiffayath Djara, Pierre Ananou, pour leur esprit de collaboration et de fraternité.

- Nous ne saurions omettre les autorités politico-administratives et sanitaires des communes de Kandi, Gogounou, Bembèrèkè, Djougou, Copargo et Bassila, les captureurs et les populations

locales pour la confiance et l'amitié dont ils ont fait preuve à notre égard. Cela a facilité notre étude sur le terrain.

Une vie de doctorant sans d'autres amis doctorants pour la partager serait quoi ? Je désire remercier : Boulais Yovogan, Constantin J. Adoha, Serge C. Akpodji, ainsi que les mastorants que j'ai eu la chance de rencontrer au cours de ma thèse. Je veux nommer Mathilde Tognidro, Diane Vodounnon, Elodie Adjakotan et Yoan Akplogan.

Je remercie tous mes amis qui m'ont soutenu et accompagné durant ces quatre années de doctorat. Je sais que je n'ai pas été toujours disponible pour vous ces dernières années, mais je compte bien y remédier dès que je le pourrais. Parmi eux, je remercie en particulier : Timothée Zanklan, Mathieu Kiki, Edgard Zanklan, Germain Tossou, Patrice Hounsamenou, Théophile Vihotogbé Hounwanou, Ignace Adjai, Laurent Ahongbonon, Claude Savoeda, Patrice Alovokpinhou, Abel Sezan, qui ont toujours été là pour moi au quotidien et en qui je suis très reconnaissant.

La réalisation de la présente œuvre ne saurait être effective sans un soutien et une bonne ambiance familiale. C'est pourquoi, je tiens à remercier :

- Ma mère Elisabeth Noutai et mon feu père Théophile Odjo ; les mots me manquent pour vous exprimer ma profonde reconnaissance pour toutes les peines que vous vous êtes données pour mon éducation. Puisse Dieu vous récompenser. Veuillez trouver dans la présente thèse le fruit de tous les sacrifices que vous avez consentis ;

- Mon beau père Séraphin O. Bogninou et ma belle-mère Justine Houéténon pour les conseils, l'accompagnement et la prière quotidienne. Veuillez trouver ici le fruit de vos sacrifices ;

- Mes frères et sœurs, Rodrigue Gandonou Babatoundé, Thierry, Wilfrid, Ruth, Eunice, Maryline, Odile, Estelle, Claudia, Mathilde, Pacôme, Enock, Gaïus ; je ne pourrai jamais exprimer avec exactitude tout l'amour que je ressens pour vous. Vous restez précieux pour moi. Je voudrais que le présent travail soit un bon exemple pour vous, en ce qui concerne la ténacité, le courage et la persévérance dans la poursuite de vos objectifs dans la vie.

- Pour finir, j'ai une pensée pour celle qui partage ma vie, supporte mon stress, mes angoisses, mais aussi partage mes joies et réussites. Florentine M. Bogninou, merci d'être à mes côtés et de m'avoir autant soutenu jusqu'à la fin de cette thèse.

A mes chers enfants, je dis merci d'avoir accepté sacrifier vos moments de distraction et de fraternité. En dépit de mes nombreuses absences, conséquence de mes études, vous avez été compréhensifs. Merci pour votre confiance et votre amour.

## TABLE DES MATIERES

|                                                                   |       |
|-------------------------------------------------------------------|-------|
| RESUME .....                                                      | ii    |
| ABSTRACT .....                                                    | iii   |
| DEDICACE .....                                                    | iv    |
| REMERCIEMENTS .....                                               | v     |
| ABREVIATIONS.....                                                 | xiv   |
| LISTE DES FIGURES .....                                           | xv    |
| LISTE DES TABLEAUX .....                                          | xviii |
| INTRODUCTION GENERALE .....                                       | 1     |
| CHAPITRE 1.....                                                   | 7     |
| Généralités .....                                                 | 7     |
| 1.1. Paludisme.....                                               | 8     |
| 1.2. <i>Plasmodium</i> humains, parasites du paludisme .....      | 8     |
| 1.2.1. Biologie des <i>Plasmodium</i> .....                       | 9     |
| 1.2.2. Ecologie des <i>Plasmodium</i> .....                       | 10    |
| 1.3. Anophèles vecteurs du paludisme .....                        | 11    |
| 1.3.1. Classification taxonomique des anophèles .....             | 11    |
| 1.3.2. Cycle de vie des anophèles .....                           | 12    |
| 1.3.2.1. La phase aquatique : .....                               | 13    |
| 1.3.2.2. La phase aérienne : .....                                | 13    |
| 1.3.3. Comportement trophique des anophèles femelles .....        | 14    |
| 1.3.4. Répartition géographique des anophèles en Afrique .....    | 15    |
| 1.3.4.1. Le complexe <i>An. gambiae</i> .....                     | 15    |
| 1.3.4.2. Le groupe <i>An. funestus</i> .....                      | 16    |
| 1.4. Lutte antipaludique .....                                    | 17    |
| 1.4.1. Lutte contre les parasites responsables du paludisme ..... | 17    |



|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.4.1.1. Chimiothérapie .....                                              | 17 |
| 1.4.1.2. Vaccin contre le paludisme.....                                   | 18 |
| 1.4.2. Lutte contre les vecteurs du paludisme.....                         | 19 |
| 1.4.2.1. Pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide (PID).....          | 19 |
| 1.4.2.2. Moustiquaires imprégnées d'insecticide .....                      | 20 |
| 1.4.2.3. Autres méthodes de contrôle des vecteurs .....                    | 21 |
| 1.4.2.3.1. La lutte anti-larvaire .....                                    | 21 |
| 1.4.2.3.2. Rideaux imprégnés d'insecticide.....                            | 22 |
| 1.4.2.3.3. Répulsifs .....                                                 | 22 |
| 1.4.2.3.4. Bombes aérosols .....                                           | 22 |
| 1.4.2.3.5. Serpentins fumigènes.....                                       | 23 |
| 1.4.2.3.6. Technique des mâles stériles .....                              | 23 |
| 1.5. Résistance des vecteurs aux insecticides .....                        | 24 |
| 1.5.2. La résistance comportementale.....                                  | 25 |
| 1.5.3. La résistance physiologique .....                                   | 25 |
| 1.5.4. La résistance biochimique.....                                      | 26 |
| 1.5.4.1. Augmentation de l'activité des systèmes de détoxication.....      | 26 |
| 1.5.4.2. Modification des cibles .....                                     | 27 |
| 1.5.4.2.1. Récepteur canal de l'acide $\gamma$ -aminobutyrique (GABA)..... | 27 |
| 1.5.4.2.2. Récepteur canal sodium voltage-dépendant. ....                  | 28 |
| 1.5.4.2.3. Acétylcholinestérase (AChE) .....                               | 30 |
| 1.5.4.2.4. Récepteur nicotinique à l'acétylcholine.....                    | 31 |
| CHAPITRE 2.....                                                            | 34 |
| Matériel et Méthodes .....                                                 | 34 |
| 2.1. Zone d'étude .....                                                    | 35 |
| 2.1.1. Département de l'Alibori .....                                      | 36 |
| 2.1.2. Département de la Donga.....                                        | 37 |

|                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2. Diagramme des activités.....                                                                                                                                                                                                                             | 38 |
| 2.3. Efficacité et activité résiduelle des insecticides à base de clothianidine sur <i>Anopheles gambiae</i> s.l. résistant au pyréthrianoïde et au carbamate en PID à grande échelle.....                                                                    | 40 |
| 2.3.1. Population à protéger par les PID et traitement des structures.....                                                                                                                                                                                    | 40 |
| 2.3.1.1. Structures à pulvériser et populations à protéger par les PID.....                                                                                                                                                                                   | 40 |
| 2.3.1.2. Traitement des structures.....                                                                                                                                                                                                                       | 40 |
| 2.3.1.2.1. Formulations d'insecticides évalués.....                                                                                                                                                                                                           | 40 |
| 2.3.1.2.1.1. Pirimiphos-méthyl 300 CS en 2019.....                                                                                                                                                                                                            | 40 |
| 2.3.1.2.1.2. Clothianidine 500 g/kg + Deltaméthrine 62,5 g/kg (56.25 WP) en 2020.....                                                                                                                                                                         | 41 |
| 2.3.1.2.1.3. Clothianidine 50 WG.....                                                                                                                                                                                                                         | 42 |
| 2.3.1.2.2. Pulvérisation des murs intérieurs des structures éligibles.....                                                                                                                                                                                    | 43 |
| 2.3.2. Test de sensibilité aux insecticides.....                                                                                                                                                                                                              | 44 |
| 2.3.3. Evaluation de l'activité résiduelle des trois insecticides.....                                                                                                                                                                                        | 44 |
| 2.3.3.1. Sélection des maisons et préparation du matériel biologique.....                                                                                                                                                                                     | 44 |
| 2.3.3.2. Test en cône.....                                                                                                                                                                                                                                    | 45 |
| 2.3.3.3. Paramètres mesurés.....                                                                                                                                                                                                                              | 46 |
| 2.3.3.4. Analyse statistique.....                                                                                                                                                                                                                             | 46 |
| 2.4. Impact de l'effet du mélange clothianidine + deltaméthrine et de clothianidine seule sur les indicateurs entomologiques de transmission du paludisme comparé à celui du pirimiphos-méthyl dans les zones sous couverture de la PID à grande échelle..... | 47 |
| 2.4.1. Collecte de moustiques adultes.....                                                                                                                                                                                                                    | 47 |
| 2.4.2. Identification morphologique des espèces vectrices.....                                                                                                                                                                                                | 48 |
| 2.4.3. Parturité et infection au <i>Plasmodium falciparum</i> .....                                                                                                                                                                                           | 49 |
| 2.4.4. Paramètres entomologiques de transmission.....                                                                                                                                                                                                         | 50 |
| 2.4.5. Analyse des données.....                                                                                                                                                                                                                               | 50 |
| 2.5. Redistribution des fréquences des allèles de résistance au sein des populations de <i>Anopheles gambiae</i> s.l. après usage des insecticides à base de clothianidine en pulvérisation intradomiciliaire à grande échelle.....                           | 51 |

|                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.5.1. Caractérisation moléculaire de <i>Anopheles gambiae</i> s.l. ....                                                                                                                                                                      | 51 |
| 2.5.1.1. Extraction de l'ADN du moustique.....                                                                                                                                                                                                | 51 |
| 2.5.1.2. Identification moléculaire des espèces vectrices .....                                                                                                                                                                               | 51 |
| 2.5.1.3. Détection de la mutation <i>kdr-L995F</i> du gène canal sodium voltage dépendant ( <i>Vgsc</i> ) chez <i>An. gambiae</i> s.l. ....                                                                                                   | 52 |
| 2.5.1.4. Détection de la mutation <i>G280S</i> du gène acétylcholinestérase ( <i>ace-1</i> ) chez <i>An. gambiae</i> s.l.....                                                                                                                 | 53 |
| 2.5.2. Analyse statistique .....                                                                                                                                                                                                              | 53 |
| 2.5.2.1. Indice de fixation $F_{IS}$ .....                                                                                                                                                                                                    | 54 |
| 2.5.2.2. Différenciation génétique de la population $F_{ST}$ .....                                                                                                                                                                            | 54 |
| CHAPITRE 3.....                                                                                                                                                                                                                               | 55 |
| Résultats et Discussions.....                                                                                                                                                                                                                 | 55 |
| 3.1. Efficacité et activité résiduelle des insecticides à base de clothianidine sur la population d' <i>Anopheles gambiae</i> s.l. résistante au pyréthrinoloïde et au carbamate en PID à grande échelle. ....                                | 56 |
| 3.1.1. Statut de résistance de <i>An. gambiae</i> s.l. aux insecticides dans les communes sous la PID. ....                                                                                                                                   | 56 |
| 3.1.2. Efficacité des trois formulations d'insecticides avec la souche sensible de <i>Anopheles gambiae</i> « Kisumu ».....                                                                                                                   | 57 |
| 3.1.3. Activité résiduelle des formulations insecticides .....                                                                                                                                                                                | 59 |
| 3.1.4. Discussion.....                                                                                                                                                                                                                        | 62 |
| Conclusion .....                                                                                                                                                                                                                              | 64 |
| 3.2. Impact de l'effet du mélange clothianidine + deltaméthrine et de clothianidine seule sur les indicateurs entomologiques de transmission du paludisme comparé à celui du pirimiphos-méthyl dans les zones sous couverture de la PID ..... | 65 |
| 3.2.1. Efficacité comparée des trois formulations insecticides sur les indicateurs entomologique de transmission du paludisme.....                                                                                                            | 65 |
| 3.2.1.1. Composition de moustiques collectés.....                                                                                                                                                                                             | 66 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.1.2. Taux de piqûres de <i>An. gambiae</i> s.l. à l'intérieur et à l'extérieur dans les communes...                                                                                                                                                           | 67 |
| 3.2.1.3. Taux horaire de piqûre du complexe <i>An. gambiae</i> sur homme .....                                                                                                                                                                                    | 70 |
| 3.2.1.4. Indice sporozoïtique (IS) .....                                                                                                                                                                                                                          | 72 |
| 3.2.1.5. Taux d'inoculation entomologique (TIE) de <i>An. gambiae</i> s.l. après les PID de 2019, 2020 et 2021. ....                                                                                                                                              | 73 |
| 3.2.1.6. Incidence du paludisme .....                                                                                                                                                                                                                             | 78 |
| 3.2.1.7. Densité au repos et taux d'alimentation sanguine .....                                                                                                                                                                                                   | 79 |
| 3.2.1.8. Origine du repas sanguin alimenté par <i>Anopheles gambiae</i> s.l. dans les communes traitées .....                                                                                                                                                     | 81 |
| 3.2.1.9. Parturité chez <i>An. gambiae</i> s.l. après la PID .....                                                                                                                                                                                                | 81 |
| 3.2.1.10. Discussion.....                                                                                                                                                                                                                                         | 83 |
| Conclusion .....                                                                                                                                                                                                                                                  | 86 |
| 3.2.2. Potentiel de transmission du <i>Plasmodium falciparum</i> par <i>An. gambiae</i> s.l. porteurs des mutations <i>kdr-L995F</i> et <i>ace-1 G280S</i> dans les zones de pulvérisation intradomiciliaire à effet rémanent avec de la clothianidine 50 WG..... | 87 |
| 3.2.2.1. Fréquence des mutations <i>kdr-L995F</i> et <i>ace-1 G280S</i> chez <i>Anopheles gambiae</i> s.l. ....                                                                                                                                                   | 87 |
| 3.2.2.2. Infectivité au <i>Plasmodium falciparum</i> des vecteurs de paludisme collectés.....                                                                                                                                                                     | 89 |
| 3.2.2.3. Transmission de <i>Plasmodium falciparum</i> par <i>An. gambiae</i> s.l. porteurs des mutations <i>kdr-L995F</i> et <i>ace-1 G280S</i> .....                                                                                                             | 90 |
| 3.2.2.4. Discussion.....                                                                                                                                                                                                                                          | 93 |
| Conclusion .....                                                                                                                                                                                                                                                  | 95 |
| 3.3. Mutations <i>kdr-L995F</i> et <i>ace-1 G 280S</i> au sein des populations de <i>Anopheles gambiae</i> s.s. après usage des insecticides à base de clothianidine en pulvérisation intradomiciliaire.....                                                      | 96 |
| 3.3.1. Fréquences alléliques de la mutation <i>kdr-L995F</i> .....                                                                                                                                                                                                | 96 |
| 3.3.1.1. Pour <i>Anopheles gambiae</i> .....                                                                                                                                                                                                                      | 96 |
| 3.3.1.2. Pour <i>Anopheles coluzzii</i> .....                                                                                                                                                                                                                     | 97 |
| 3.3.2. Fréquences alléliques de la mutation <i>ace-1 G280S</i> .....                                                                                                                                                                                              | 97 |
| 3.3.2.1. Pour <i>Anopheles gambiae</i> .....                                                                                                                                                                                                                      | 98 |

|                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.3.2.2. Pour <i>Anopheles coluzzii</i> .....                           | 98  |
| 3.3.3. Indice de fixation $F_{IS}$ .....                                | 98  |
| 3.3.4. Différenciation génétique $F_{ST}$ .....                         | 102 |
| 3.3.5. Discussion.....                                                  | 105 |
| Conclusion .....                                                        | 107 |
| Discussion générale, Conclusion générale, Limites et Perspectives ..... | 108 |
| Discussion générale .....                                               | 109 |
| Conclusion générale .....                                               | 118 |
| Limites de cette étude .....                                            | 118 |
| Perspectives .....                                                      | 119 |
| Références .....                                                        | 120 |
| Annexe.....                                                             | 141 |

## ABREVIATIONS

|                     |                                                                        |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------|
| <b><i>Ace-1</i></b> | : Acetylcholinesterase                                                 |
| <b>BMI</b>          | : Bâches Murales Imprégnées                                            |
| <b>CAH</b>          | : Capture sur Appât Humain                                             |
| <b>CDC</b>          | : U.S. Centers for Disease Control and Prevention                      |
| <b>CREC</b>         | : Centre de Recherche Entomologique de Cotonou                         |
| <b>CS</b>           | : Suspensions Concentrées                                              |
| <b>CSP</b>          | : Circumsporozoite protein                                             |
| <b>DDT</b>          | : dichlorodiphényltrichloroéthane                                      |
| <b>E&amp;S</b>      | : Evaluation et Surveillance                                           |
| <b>EC</b>           | : Concentrés Emulsionnables                                            |
| <b>ELISA</b>        | : Enzyme-linked Immunosorbent Assay                                    |
| <b>FaST</b>         | : Faculté des Sciences et Techniques                                   |
| <b>IS</b>           | : Indice Sporozoïtique                                                 |
| <b><i>Kdr</i></b>   | : Knock-down resistance                                                |
| <b>MII</b>          | : Moustiquaire Impregnée d’Insecticide                                 |
| <b>MILDA</b>        | : Moustiquaire Imprégnée à Longue Durée d’Action                       |
| <b>ODD</b>          | : Objectifs du Millénaire pour le Développement                        |
| <b>OMS</b>          | : Organisation Mondiale de la Santé                                    |
| <b>P.</b>           | : Plasmodium                                                           |
| <b>PCR</b>          | : Polymerase Chain Reaction                                            |
| <b>PCR-RFLP</b>     | : Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism |
| <b>PHN</b>          | : Piqûres sur Homme par Nuit                                           |
| <b>PID</b>          | : Pulvérisation Intradomiciliaire                                      |
| <b>PMI</b>          | : U.S. President’s Malaria Initiative                                  |
| <b>PNLP</b>         | : Programme National de Lutte contre le Paludisme                      |
| <b>PSC</b>          | : Pyrethrum Spray Catch                                                |
| <b>s.l.</b>         | : sens large                                                           |
| <b>s.s.</b>         | : sens strict                                                          |
| <b>TIE</b>          | : Taux d’Inoculation Entomologique                                     |
| <b>UAC</b>          | : Université d’Abomey-Calavi                                           |
| <b>WG</b>           | : Water dispersible granules / Granules dispersibles dans l’eau        |
| <b>ZS</b>           | : Zones Sanitaires                                                     |

## LISTE DES FIGURES

|                                                                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1:</b> Cycle biologique des Plasmodium, adapté de Bousema and Drakeley (2011).....                                                                                                                   | 10 |
| <b>Figure 2 :</b> Cycle biologique des anophèles (Mouchet et al., 2004) .....                                                                                                                                  | 12 |
| <b>Figure 3 :</b> Répartition mondiale des vecteurs dominants ou potentiellement importants du paludisme.....                                                                                                  | 17 |
| <b>Figure 4 :</b> Sites d'action des insecticides.....                                                                                                                                                         | 25 |
| <b>Figure 5 :</b> Schéma de la structure d'une sous-unité d'un récepteur canal au GABA.....                                                                                                                    | 27 |
| <b>Figure 6 :</b> Le récepteur GABA (acide gamma aminobutyrique) cible des avermectines.....                                                                                                                   | 28 |
| <b>Figure 7:</b> Récepteur canal sodium voltage-dépendant.....                                                                                                                                                 | 29 |
| <b>Figure 8 :</b> Schéma de la structure du canal sodium voltage-dépendant.....                                                                                                                                | 29 |
| <b>Figure 9 :</b> Récepteur de l'acétylcholine estérase .....                                                                                                                                                  | 30 |
| <b>Figure 10 :</b> Réaction enzymatique de l'acétylcholinestérase.....                                                                                                                                         | 31 |
| <b>Figure 11 :</b> Récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine .....                                                                                                                                            | 32 |
| <b>Figure 12 :</b> Structure du récepteur nicotinique à l'acétylcholine.....                                                                                                                                   | 32 |
| <b>Figure 13 :</b> Carte montrant les zones d'évaluation de la PID.....                                                                                                                                        | 36 |
| <b>Figure 14 :</b> Données climatiques mensuelles du département de l'Alibori.....                                                                                                                             | 37 |
| <b>Figure 15 :</b> Données climatiques mensuelles du département de la Donga .....                                                                                                                             | 38 |
| <b>Figure 16 :</b> Diagramme détaillé des activités dans la zone d'étude.....                                                                                                                                  | 39 |
| <b>Figure 17 :</b> Structure moléculaire du pirimiphos-méthyl .....                                                                                                                                            | 41 |
| <b>Figure 18 :</b> Sachet de 100g et structure moléculaire du mélange clothianidine et deltaméthrine .....                                                                                                     | 42 |
| <b>Figure 19 :</b> Sachet de 150 g et structure moléculaire de la clothianidine .....                                                                                                                          | 43 |
| <b>Figure 20 :</b> Préparation de la solution insecticide et pulvérisation des structures .....                                                                                                                | 43 |
| <b>Figure 21:</b> Exposition des moustiques <i>An. gambiae</i> pendant 30 minutes à des murs en ciment et en banco traités: lecture de la mortalité après 24 heures, 48 heures et 72 heures d'observation..... | 46 |
| <b>Figure 22 :</b> Collecte des moustiques adultes sur appât humain par les volontaires locaux .....                                                                                                           | 47 |
| <b>Figure 23 :</b> Collecte matinale des moustiques adultes par pulvérisation de pyréthre (PSC).....                                                                                                           | 48 |
| <b>Figure 24 :</b> Identification morphologique et enregistrement des moustiques collectés par localités, par emplacement et par tranche horaire .....                                                         | 49 |
| <b>Figure 25 :</b> Dissection des ovaires des anophèles vecteurs et observation des trachéoles .....                                                                                                           | 50 |
| <b>Figure 26 :</b> Mortalités observées 24 heures après l'exposition des moustiques à la deltaméthrine 0,05%, au bendiocarb 0,1% et pirimiphos-méthyl 0,25% .....                                              | 57 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 27</b> : Mortalité comparée des formulations insecticides en fonction des temps d'observation .....                                                                                                                                                                                                                                    | 58 |
| <b>Figure 28</b> : Efficacité résiduelle de pirimiphos-méthyl 300CS, de clothianidine 50WG et du mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg (56.25 WP) représentée par le taux de mortalité de la souche sensible ‘‘Kisumu’’ de <i>Anopheles gambiae</i> en fonction du temps après 30 minutes d'exposition aux murs traités. .... | 60 |
| <b>Figure 29</b> : Efficacité résiduelle de clothianidine 50WG sur les murs en banco et en ciment représentée par le taux de mortalité de la souche sensible ‘‘Kisumu’’ de <i>Anopheles gambiae</i> en fonction du temps d'observation après 30 minutes d'exposition aux murs traités.....                                                       | 61 |
| <b>Figure 30</b> : Efficacité résiduelle du mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5g/kg sur les murs en banco et en ciment représentée par le taux de mortalité de la souche sensible ‘‘Kisumu’’ en fonction du temps d'observation après 30 minutes d'exposition aux murs traités. ....                                              | 61 |
| <b>Figure 31</b> : Efficacité résiduelle de pirimiphos-méthyl 300CS sur les murs en banco et en ciment représentée par le taux de mortalité de la souche sensible ‘‘Kisumu’’ de <i>Anopheles gambiae</i> en fonction du temps d'observation après 30 minutes d'exposition aux murs traités.....                                                  | 62 |
| <b>Figure 32</b> : Composition des espèces sœurs de <i>An. gambiae</i> s.l. dans les communes sous la PID et dans les communes témoins de 2019 à 2021 .....                                                                                                                                                                                      | 67 |
| <b>Figure 33</b> : Taux horaire de PHN de <i>An. gambiae</i> s.l. dans toutes les communes traitées et témoins avant-PID, saison sèche .....                                                                                                                                                                                                     | 70 |
| <b>Figure 34</b> : Taux horaire de PHN de <i>An. gambiae</i> s.l. dans toutes les communes traitées et dans témoin après la PID, saison des pluies .....                                                                                                                                                                                         | 71 |
| <b>Figure 35</b> : Taux horaire moyen de PHN de <i>An. gambiae</i> s.l. dans toutes les communes traitées avant les PID.....                                                                                                                                                                                                                     | 71 |
| <b>Figure 36</b> : Taux horaire moyen de PHN de <i>An. gambiae</i> s.l. dans toutes les communes traitées après les PID.....                                                                                                                                                                                                                     | 72 |
| <b>Figure 37</b> : Evolution des indicateurs entomologiques de transmission clés de <i>An. gambiae</i> s.l. à l'intérieur (A) et à l'extérieur (B) des habitations dans la zone témoin et dans la zone traitée avant la PID de 2019 à 2021 .....                                                                                                 | 76 |
| <b>Figure 38</b> : Evolution des indicateurs entomologiques de transmission clés de <i>An. gambiae</i> s.l. à l'intérieur (A) et à l'extérieur (B) des habitations dans la zone témoin et dans la zone traitée après la PID de 2019 à 2021 .....                                                                                                 | 77 |



|                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 39</b> : Evolution du TIE et de l'incidence palustre des communes sous le suivi et évaluation (S et E) de la PID. ....                                                                                                                    | 79 |
| <b>Figure 40</b> : Origine du repas de sang de <i>Anopheles gambiae</i> s.l. dans les communes traitées .                                                                                                                                           | 81 |
| <b>Figure 41</b> : Evolution de l'indice sporozoïtique de <i>Anopheles gambiae</i> s.l. dans les communes PID et les communes-témoins. ....                                                                                                         | 90 |
| <b>Figure 42</b> : Diagramme à barres montrant la fréquence de l'allèle kdr chez <i>An. gambiae</i> (A) et <i>An. coluzzii</i> (B) dans les communes des départements de l'Alibori et de la Donga au Bénin par espèce et par période de PID. ....   | 97 |
| <b>Figure 43</b> : Diagramme à barres montrant la fréquence de l'allèle ace-1 chez <i>An. gambiae</i> (A) et <i>An. coluzzii</i> (B) dans les communes des départements de l'Alibori et de la Donga au Bénin par espèce et par période de PID. .... | 98 |

## LISTE DES TABLEAUX

|                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau I.</b> Sites d'échantillonnage des moustiques et leurs coordonnées géographiques. ....                                                                                                                                                       | 35 |
| <b>Tableau II .</b> Effet comparé de la mortalité par insecticide en fonction du temps d'observation .....                                                                                                                                              | 58 |
| <b>Tableau III.</b> Composition des espèces de moustiques collectés en 2019, 2020 et 2021.....                                                                                                                                                          | 66 |
| <b>Tableau IV.</b> Nombre et proportion de <i>An. gambiae</i> s.l. capturés à l'intérieur et à l'extérieur dans les communes traitées (Kandi, Gogounou, Djougou, Copargo) et dans les communes témoins (Bembèrèkè, Bassila) en 2019, 2020 et 2021. .... | 69 |
| <b>Tableau V.</b> Indice sporozoïtique (IS) de <i>An. gambiae</i> s.l. dans les communes traitées et dans les communes témoins des départements de l'Alibori et de la Donga en 2019, 2020 et 2021.....                                                  | 73 |
| <b>Tableau VI.</b> Taux d'inoculation entomologique (TIE) de <i>An. gambiae</i> s.l. dans la zone traitée et dans la zone témoin avant et après la PID .....                                                                                            | 75 |
| <b>Tableau VII.</b> Incidence palustre des communes sous le suivi et évaluation de la PID par département et par insecticide. ....                                                                                                                      | 78 |
| <b>Tableau VIII.</b> Densité au repos à l'intérieur et taux d'alimentation sanguine de <i>An. gambiae</i> s.l. collectés par PSC après les PID de 2019, 2020 et 2021 dans les communes-contrôle et les communes sous PID. ....                          | 80 |
| <b>Tableau IX.</b> Densité au repos à l'intérieur et taux d'alimentation sanguine de <i>An. gambiae</i> s.l. collectés par PSC après les PID de 2019, 2020 et 2021 dans les communes sous PID. ....                                                     | 80 |
| <b>Tableau X.</b> Taux de parturité de <i>An. gambiae</i> s.l. dans les communes PID et dans les communes témoins après les PID de 2019, 2020 et 2021.....                                                                                              | 82 |
| <b>Tableau XI.</b> Taux de parturité de <i>An. gambiae</i> s.l. dans les communes PID après les campagnes de 2019, 2020 et 2021.....                                                                                                                    | 83 |
| <b>Tableau XII.</b> Fréquences de la mutation <i>kdr-L995F</i> du gène <i>Vgsc</i> chez <i>An. gambiae</i> s.l. dans les communes d'étude .....                                                                                                         | 88 |
| <b>Tableau XIII.</b> Fréquences de la mutation <i>G280S</i> du gène <i>ace-1</i> chez <i>An. gambiae</i> s.l. dans les communes d'étude .....                                                                                                           | 89 |
| <b>Tableau XIV.</b> Evaluation de l'indice sporozoïtique de <i>Anopheles gambiae</i> s.l. dans les communes PID et les communes-témoins.....                                                                                                            | 89 |
| <b>Tableau XV :</b> Aptitude à la transmission de <i>P. falciparum</i> chez les différents génotypes pour la mutation <i>kdr-L995F</i> dans les communes d'étude.....                                                                                   | 92 |
| <b>Tableau XVI.</b> Aptitude à la transmission de <i>P. falciparum</i> chez les différents génotypes pour la mutation <i>ace-1 G280S</i> dans les communes d'étude .....                                                                                | 92 |

|                                                                                                                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau XVII.</b> Hétérozygotie observée ( $H_O$ ), Hétérozygotie attendue ( $H_E$ ), indice de fixation ( $F_{IS}$ ) et nombre d'individus échantillonnés de <i>An. gambiae</i> par population et par insecticides. ....       | 100 |
| <b>Tableau XVIII.</b> Hétérozygotie observée ( $H_O$ ), Hétérozygotie attendue ( $H_E$ ), indice de consanguinité ( $F_{IS}$ ) et nombre d'individus échantillonnés de <i>An. coluzzii</i> par population et par insecticides..... | 101 |
| <b>Tableau XIX.</b> Différenciation génétique entre populations de <i>An. gambiae</i> et de <i>An. coluzzii</i> des communes PID et de la commune-témoin pour les mutations <i>kdr-L995F</i> et <i>ace-1 G280S</i> .....           | 103 |
| <b>Tableau XX.</b> Différenciation génétique des populations de <i>An. coluzzii</i> et de <i>An. gambiae</i> de la même commune d'une année PID à l'autre pour les mutations <i>kdr-L995F</i> et <i>ace-1 G280S</i> ...            | 104 |

# **INTRODUCTION GENERALE**

## Introduction générale

Selon le rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2021), le nombre de cas de paludisme au niveau mondial, est estimé à 241 millions en 2020 dans quatre-vingt-cinq (85) pays d'endémie palustre (y compris le territoire de la Guyane française), soit une hausse par rapport aux 227 millions en 2000. La plupart des cas supplémentaires sont estimés dans la région Afrique de l'OMS. Elle représente à elle seule environ 95 % (228 millions) des cas estimés en 2020 avec une incidence palustre de deux cent trente-deux (232) cas pour 1000 (WHO, 2021). Près de 96 % des cas de décès dus au paludisme dans le monde ont été enregistrés dans vingt-neuf (29) pays. Six (6) pays ont concentré un peu plus de la moitié des décès dus au paludisme dans le monde en 2020 : le Nigéria, pays frontalier du Bénin occupe la première place avec 27 % des décès dus au paludisme, ensuite la République démocratique du Congo (12 %), l'Ouganda (5 %), le Mozambique (4 %), l'Angola (3 %) et le Burkina Faso (3 %) (WHO, 2021). Au Bénin, sur les 2516465 cas palustres dus au *Plasmodium falciparum* enregistrés en 2020, 2336 ont été à l'origine des cas de décès (WHO, 2021).

Le paludisme est une maladie à transmission vectorielle caractérisée par une prévalence morbide très élevée dans les populations les plus vulnérables (Galactionova *et al.*, 2017) Were *et al.*, 2018). C'est une affection dont les répercussions sur la mortalité infantile (Smith *et al.*, 2001) et l'économie (Sachs & Malaney, 2002) sont les plus graves (WHO, 2021). Il est dû à un protozoaire parasite appartenant au genre *Plasmodium* transmis à l'homme par la piqure infectante d'une femelle de moustique (*Diptera: Culicidae*) du genre *Anopheles* (Bruce-Chwatt, 1987). *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium vivax* sont les quatre espèces Plasmodiales qui infectent l'homme selon des écosystèmes. *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus dangereuse et la plus répandue en Afrique sub-saharienne (Burkot *et al.*, 1987). Le paludisme se manifeste par de fortes fièvres survenant à intervalles de temps réguliers, dues à l'infection des globules rouges par le parasite.

Les moustiques constituent les vecteurs plus menaçants parmi les Arthropodes, tant par leur abondance que par les maladies qu'ils transmettent. Ils sont non seulement vecteurs des plasmodies, mais aussi des arbovirus responsables des fièvres hémorragiques (fièvre jaune, dengue) et des filaires responsables de la filariose lymphatique (Coosemans & Van Gompel, 1998). Les principaux vecteurs de l'agent pathogène responsable du paludisme en Afrique sont : *Anopheles* (*An.*) *gambiae* sensu stricto (s.s), *An. arabiensis*, *An. funestus*, *An. nili*, *An. pharoensis* et *An. moucheti*. Au Bénin, *An. gambiae* s.s., *An. arabiensis* appartenant au

complexe *An. gambiae* sensu lato (s.l) et le groupe *An. funestus* sont les principaux vecteurs du paludisme (Akogbéto *et al.*,1995).

La lutte contre le paludisme repose sur plusieurs piliers dont la lutte antivectorielle. Elle a réellement débuté en 1945 à la fin de la deuxième guerre mondiale avec la découverte des insecticides de synthèse, notamment, le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), identifié comme insecticide par Muller en 1939. Avec cette découverte, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), très optimiste, lança son projet ambitieux : « l'éradication totale du paludisme » en 1955. Les années suivantes ont connu une période de succès dans plusieurs pays d'Europe, d'Afrique, d'Amérique et d'Asie où le paludisme était contrôlé et avait parfois même disparu (Najera et Zaim, 2004). Plus tard, au cours des années 70, le monde s'est rendu compte que « l'éradication du paludisme » n'était pas possible et les campagnes « d'éradication » ont alors fait place au « contrôle ». Le succès de la PID est lié à des critères parmi lesquels, la dynamique de la population des vecteurs, les différentes espèces d'anophèles qui assurent la transmission du paludisme dans les différentes zones, leur niveau de sensibilité aux insecticides, leur degré d'endophilie et d'endophagie et leur degré d'infectivité au *Plasmodium falciparum*. Les paramètres directement liés à la capacité vectorielle, en particulier, l'âge physiologique et le taux d'inoculation entomologique (TIE) constituent les indicateurs de base sur lesquels repose la mesure de l'impact de l'intervention. La stratégie qui a été adoptée par la conférence internationale sur le paludisme organisée par l'OMS en 1992 à Amsterdam a permis de « relancer l'offensive contre le paludisme ». Après cette conférence, les investissements dans la prévention et le traitement du paludisme se sont multipliés et des avancées impressionnantes et décisives ont été notées dans la lutte contre le paludisme. Plus de la moitié (57) des 106 pays où la maladie sévissait en 2000 ont réussi en 2015 à réduire d'au moins 75 % les nouveaux cas de paludisme. Dans le même laps de temps, 18 pays ont obtenu une diminution de 50 % à 75 % du nombre des cas de paludisme (WHO, 2015). Ces importants progrès enregistrés dans la réduction du paludisme sont principalement dus à la mise en œuvre de l'initiative "Roll Back Malaria" (RBM) qui s'est fixé, en 2005, l'objectif de réduire d'au moins 50% le nombre de décès imputables au paludisme en 2010 et de 75% à l'horizon 2015 (WHO, 2010). Malgré que certains pays endémiques aient enregistré une diminution du nombre de cas de paludisme confirmés, d'importants défis restent à relever. Il faudra désormais aller encore plus loin, a martelé Dr Margaret Chan, Directeur Général de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2015). Dans ce contexte, le Programme National de Lutte contre le Paludisme du Bénin (PNLP-B), dans son plan stratégique de lutte contre le paludisme à l'instar de beaucoup d'autres pays

africains, a mis un accent particulier sur la lutte antivectorielle qui repose sur deux interventions primordiales et complémentaires: la couverture universelle des personnes exposées au risque de paludisme en leur facilitant l'accès aux Moustiquaires Imprégnées d'Insecticide à Longue Durée d'action (MIILD) et la Pulvérisation Intra - Domiciliaire (PID) d'insecticide à effet rémanent. C'est dans cette optique que l'Initiative Présidentielle contre le Paludisme (PMI) appuie le PNLP-B depuis 2008. En effet, le Bénin a conduit pendant douze (12) années treize (13) campagnes de pulvérisation intradomiciliaire dans les départements de l'Ouémé, de l'Atacora, de la Donga et de l'Alibori (4 campagnes dans l'Ouémé de 2008 à 2010 ; 6 campagnes dans l'Atacora de 2011 à 2016 et 3 campagnes dans la Donga et l'Alibori de 2017 à 2019) avec trois différents insecticides (Bendiocarb 800g/kg de 2008 à 2013, ensuite le pirimiphos-méthyl 50EC de 2013 à 2016, et par la suite le pirimiphos-méthyl 300CS de 2017 à 2019). Ces interventions ont entraîné la réduction des indicateurs entomologiques de transmission du paludisme dans les départements concernés (Akogbeto *et al.*, 2011 et 2015 ; Ossè *et al.*, 2012 ; Aïkpon *et al.*, 2014 ; Salako *et al.*, 2018).

Malgré ces succès, de nouveaux challenges de la PID restent à relever : la disponibilité d'insecticides à forte rémanence d'au moins six mois, la mise en place d'un suivi-évaluation de façon constante et la gestion de la résistance des vecteurs aux insecticides. La résistance des anophèles vecteurs du paludisme aux insecticides se répand, s'amplifie (Rubert *et al.*, 2016) et constitue une entrave à la stratégie de lutte antivectorielle. A titre d'illustration, pour la période 2010-2020, 89% des pays ayant fourni des données dans le monde ont rapporté la résistance à au moins un insecticide ; 33% ont détecté la résistance aux pyréthrinoïdes, carbamates, organophosphorés et organochlorés et 22% ont signalé la résistance à ces quatre (4) classes d'insecticides (OMS, 2021). La résistance des vecteurs aux insecticides compromet dangereusement l'efficacité des outils de lutte antivectorielle. Elle est une adaptation génétique des populations de vecteurs aux modifications de l'environnement notamment la surexposition aux insecticides qui conduit à la sélection des individus qui ont la plus grande probabilité de survivre et de se reproduire en présence d'insecticides. Deux principaux types de mécanismes permettent aux insectes de résister à l'action des insecticides : il s'agit des mécanismes métaboliques qui reposent sur la surproduction d'enzymes pour la détoxification naturelle des xénobiotiques et les mécanismes liés à la modification des cibles des insecticides.

Pour une gestion efficace de la résistance des vecteurs aux insecticides, l'OMS recommande le développement de nouvelles molécules et la rotation d'insecticides présentant des modes d'actions différents (WHO, 2012). Le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5

g/kg et la clothianidine 50 WG, deux nouveaux insecticides en santé publique à base de clothianidine appartenant à la classe des néonicotinoïdes ont été considérés comme molécules porteuses d'espoir. La clothianidine présente un mode d'action différent de celui des insecticides déjà utilisés en santé publique. Elle agit comme un agoniste des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) (Jeschke *et al.*, 2013). Elles ont été ajoutées à la liste de pré-qualification de l'OMS pour utilisation en PID (WHO, 2017). L'évaluation de ces molécules au laboratoire, en milieu semi-naturel (Fongnikin *et al.*, 2020) ; (Ngufor *et al.*, 2017) et en communauté à petite échelle (Agossa *et al.*, 2018 ; Uragayala *et al.*, 2018)) contre des populations de vecteurs a globalement montré un effet résiduel long. Cependant, aucune étude en communauté à grande échelle n'a encore approuvé cette activité résiduelle de la clothianidine. De même, l'impact des insecticides à base de la clothianidine dans la réduction des indicateurs entomologiques de transmission du paludisme reste encore à éclairer. L'efficacité résiduelle prolongée des produits à base de clothianidine a-t-elle entraîné une réduction plus importante des populations de vecteurs résistant aux pyréthrianoïdes et la transmission ultérieure du paludisme par rapport à l'efficacité résiduelle plus courte du pirimiphos-méthyl ?

Ces faits et interrogations nous amènent à conduire l'étude de cette thèse intitulée « Gestion de la résistance de *Anopheles gambiae* s.l. vecteurs du *Plasmodium falciparum* en République du Bénin : Etude de l'effet des insecticides à base de clothianidine en pulvérisation intradomiciliaire ».

L'objectif global de cette thèse est de contribuer à la gestion de la résistance d'*Anopheles gambiae* vecteur du *Plasmodium falciparum*, en République du Bénin. Pour ce faire, elle vise à comprendre l'efficacité des insecticides à base de clothianidine sur le suivi et l'évaluation des indicateurs entomologiques de transmission du paludisme, ainsi que sur l'évolution de la résistance dans les zones d'extension de la PID, au sein des communautés à grande échelle.

De façon spécifique, il s'agit de :

- i) évaluer la sensibilité de *Anopheles gambiae* s.l. aux insecticides, ainsi que l'effet résiduel des molécules à base de clothianidine appliquées sur les surfaces murales en PID à grande échelle;
- ii) comparer l'efficacité des deux formulations à base de clothianidine contre *Anopheles gambiae* s.l. en PID à grande échelle par rapport à celle du pirimiphos-méthyl 300 CS, précédemment utilisé dans les mêmes départements en 2019 ;



iii) examiner l'impact des insecticides à base de clothianidine en pulvérisation intradomiciliaire à grande échelle sur la prévalence et la dispersion des mutations *kdr-L995F* du canal sodium voltage-dépendant (*vgsc*) et *G280S* de l'acétylcholinestérase (*ace-1*) chez *Anopheles gambiae* s.l. dans les départements de l'Alibori et de la Donga.

Trois hypothèses portent ce travail :

- i) les insecticides à base de la clothianidine sont efficaces sur *Anopheles gambiae* s.l. résistant au pyréthrianoïde, au carbamate et ont un effet résiduel d'au moins six mois en PID à grande échelle ;
- ii) La clothianidine 50WG et le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg sont plus efficaces contre *Anopheles gambiae* s.l. en PID à grande échelle que le pirimiphos-méthyl 300 CS, et permettent une réduction significative des indicateurs entomologiques clés de la transmission du paludisme;
- iii) les insecticides à base de la clothianidine en PID à grande échelle assurent la redistribution des fréquences des allèles de résistance *kdr-L995F*, *G280S* au sein des populations de *Anopheles gambiae* s.l..

Le document est structuré principalement en trois chapitres, outre l'introduction générale, la discussion générale, la conclusion générale, les limites de l'étude et les perspectives.

Le premier chapitre traite des généralités sur le paludisme, les hôtes impliqués, la résistance de *Anopheles gambiae* et les méthodes de lutte utilisées.

Le deuxième chapitre détaille le matériel et les méthodes expérimentales utilisées pour atteindre les objectifs spécifiques.

Enfin, le troisième chapitre présente les résultats obtenus pour chaque objectif spécifique, suivi d'une discussion approfondie et d'une conclusion synthétisant les implications des résultats obtenus.

# CHAPITRE 1

## Généralités

### 1.1. Paludisme

Le paludisme est une maladie infectieuse potentiellement mortelle causée par des parasites du genre *Plasmodium* et transmise entre humains par la piqûre d'un moustique infectieux (*Anopheles sp.*). Dans les zones où la transmission est modérée ou élevée, l'incidence des infections est la plus élevée chez les enfants en bas âge, une immunité partielle se développant avec l'exposition et l'âge. Le paludisme a des conséquences pendant la grossesse : anémie maternelle, naissances prématurées et insuffisance pondérale à la naissance, autant de facteurs de risque de mortalité néonatale et infantile (Rogerson *et al.*, 2018). Le paludisme a toujours été une maladie de la pauvreté, associée à un faible niveau socio-économique, à l'insécurité alimentaire, à de mauvaises conditions de logement et à l'absence de soins de santé (Tusting *et al.*, 2016). C'est également une maladie de l'environnement, associée aux zones tropicales où le taux de survie des moustiques est élevé, les sites de reproduction abondants et les températures propices au développement des moustiques et des parasites.

Le paludisme a joué un rôle important dans l'histoire de l'humanité, contribuant à la chute de Rome et modifiant le cours de plusieurs guerres. Le génome humain lui-même a été directement influencé par le paludisme à travers la sélection de certains caractères qui confèrent aux porteurs de meilleures chances de survie ; la prévalence et la distribution de plusieurs hémoglobinopathies, dont la drépanocytose, sont presque entièrement dues à la pression de sélection exercée par le paludisme (Taylor *et al.*, 2013).

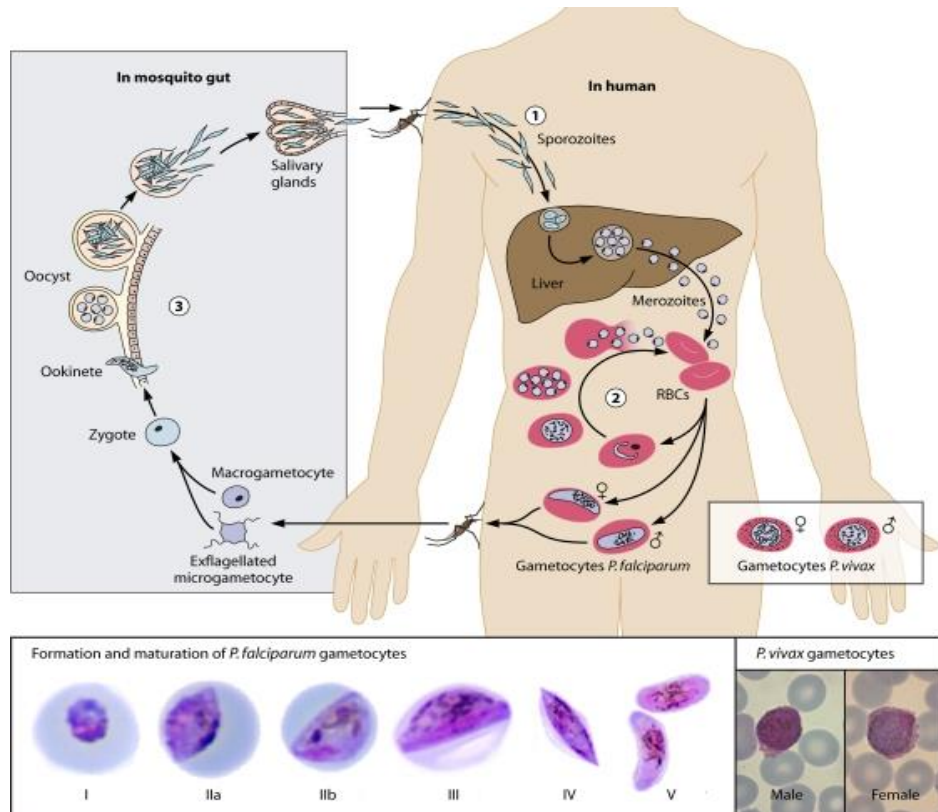
### 1.2. *Plasmodium* humains, parasites du paludisme

Les *Plasmodium* sont des protozoaires de l'embranchement des Apicomplexa (protozoaires à appareil apical complexe) et de la famille des Plasmodidae. Il existe plus 140 espèces de *Plasmodium*, pouvant infecter divers animaux mais cinq (5) d'entre elles sont retrouvées en pathologie humaine (Antinori *et al.*, 2012). Il s'agit de *Plasmodium falciparum* (Welch, 1886), *P. vivax* (Grassi et Feletti, 1890), *P. ovale* (Stephens, 1922), *P. malariae* (Laveran, 1880) et *P. knowlesi* (Sinton et Mulligan, 1932). Ces cinq espèces diffèrent par des critères biologiques et cliniques. En effet *P. falciparum* est la seule espèce à appartenir au sous-genre *Laverania* et les quatre autres appartenant au sous-genre *Plasmodium*. De plus, c'est elle qui est la plus largement répandue à travers le monde, qui développe des résistances aux antipaludiques et qui est responsable des formes cliniques potentiellement mortelles. *P. vivax* dispose aussi d'une large aire de répartition et développe des résistances aux antipaludiques (Chehuan *et al.*, 2013), mais est cependant moins létale que *P. falciparum*. Les trois autres espèces (*P. ovale*, *P.*

*malariae* et *P. knowlesi*) sont moins répandues et ne sont pas responsables d'accès palustres graves (WHO, 2011). A l'exception de *P. knowlesi*, toutes les autres espèces sont présentes sur le continent africain. Aussi, faut-il remarquer que *P. falciparum* et *P. ovale* sont spécifiques à l'Homme alors que *P. malariae*, *P. vivax* et *P. knowlesi* sont communes à l'Homme et aux Grands singes (Prugnolle *et al.*, 2013).

#### 1.2.1. **Biologie des *Plasmodium***

Les *Plasmodium* sont des parasites haploïdes qui, au cours de leur cycle de vie, adoptent trois stratégies pour se multiplier. Premièrement par la croissance et réplique intensive, ensuite par la dispersion et l'invasion des cellules hôtes et enfin par la reproduction sexuée. La première stratégie est réalisée grâce à trois stades : le stade oocyste qui se produit chez le moustique au cours de la sporogonie, le stade schizonte exo-érythrocytaire et le stade schizonte érythrocytaire qui se produisent tous deux chez l'hôte intermédiaire respectivement au cours des schizogonies exo-érythrocytaire et érythrocytaire. La seconde stratégie est réalisée grâce aux stades mérozoïte, sporozoïte et ookinète. La troisième stratégie inclut la formation de gamétocytes chez l'hôte intermédiaire, complétée par la formation de l'ookinète chez le moustique après un repas sanguin. Ces trois stratégies sont résumées dans la figure 1.



**Figure 1:** Cycle biologique des *Plasmodium*, adapté de Bousema and Drakeley (2011)

### 1.2.2. Ecologie des *Plasmodium*

La phase de reproduction sexuée des *Plasmodium* débute lors de la prise de sang de l'anophèle sur un humain infecté porteur de gamétocytes, formes sexuées du parasite (Figure 1). Dans l'intestin moyen du moustique, les gamétocytes mâles et femelles s'échappent de leur enveloppe érythrocytaire et se transforment en microgamètes (après exflagellation pour les mâles) ou macrogamètes (pour les femelles) (Frischknecht *et al.*, 2004). La fécondation aboutit à la formation d'un zygote mobile nommé ookinète qui va migrer dans la paroi stomacale, la traverser et s'y enkyster sous la forme d'un oocyste. Cette brève phase diploïde s'achève par une division méiotique suivie par plusieurs milliers de mitoses qui conduisent au développement d'éléments mobiles et haploïdes nommés sporozoïtes (Robert *et al.*, 1994). La rupture de l'oocyste libérera dans l'hémolymphes les sporozoïtes qui migrent préférentiellement vers les glandes salivaires du moustique où ils se fixent. C'est à partir de ce moment que le moustique est infectieux pour l'homme. En effet, tout nouveau repas sanguin de l'anophèle sera accompagné d'une libération de sporozoïtes chez l'hôte humain due aux sécrétions salivaires qui y sont associées. L'ensemble de ce cycle également appelé sporogonie se déroule en 10 à 40 jours suivant la température extérieure et les espèces plasmodiales en cause (Danis *et al.*, 1991) ; la durée du cycle diminue avec l'accroissement de la température. L'infection naturelle

de l'homme se fait par l'inoculation des sporozoïtes au niveau de la peau pendant la piqure de l'anophèle. Les sporozoïtes atteignent rapidement le foie, pénètrent les hépatocytes, s'y multiplient et produisent des schizontes hépatiques. C'est la phase exo-érythrocytaire ou intra-hépatique. Une fois matures, les schizontes éclatent et libèrent dans la circulation sanguine des milliers de mérozoïtes qui ne pourront pas envahir de nouveaux hépatocytes. Cependant, un stade dormant des schizontes hépatiques nommés hypnozoïtes peut persister dans le foie, chez *P. vivax* et *P. ovale* (Frevert *et al.*, 2005), et libérer des mérozoïtes dans le sang après plusieurs mois, voire plusieurs années (3 à 4 ans). La durée de la schizogonie exo-érythrocytaire est caractéristique de l'espèce, avec une durée minimale de maturation de cinq (5) jours et demi chez *P. falciparum*. Celle-ci est complètement asymptomatique et dure un (1) à trois (3) semaines. Les mérozoïtes libérés dans la circulation sanguine colonisent les hématies (érythrocytes ou globules rouges) et deviennent alors des trophozoïtes intra-érythrocytaires qui, à leur tour, subissent une schizogonie. A maturité, les schizontes intra-érythrocytaires, en lysant leur cellule-hôte, se rompent, libérant dans le sang des mérozoïtes érythrocytaires qui vont à leur tour coloniser des érythrocytes sains et entamer un nouveau cycle érythrocytaire. Après plusieurs cycles érythrocytaires, une fraction des mérozoïtes pénètre dans les hématies et se différencient en gamétocytes mâles et femelles : c'est la gamétocyto-genèse. Ces formes non pathogènes pour l'homme circuleront dans le sang et pourront être ingérés par un anophèle lors d'un repas sanguin, assurant ainsi la survie de l'espèce, donc la propagation de la maladie. L'infectiosité des gamétocytes pour les anophèles se réduirait après une dizaine de jours dans la circulation périphérique (Lensen *et al.*, 1999).

### **1.3. Anophèles vecteurs du paludisme**

Les vecteurs des *Plasmodium* sont tous des insectes diptères appartenant à la famille des Culicidae et à la sous-famille des Anophelinae. Il existe 484 espèces d'anophèles sur la planète, mais seulement une soixantaine assure, avec plus ou moins d'efficacité, la transmission des *Plasmodium* humains (Harbach, 2004). En Afrique sub-saharienne, on dénombre environ 150 espèces d'anophèles dont une douzaine est vectrice de *Plasmodium* (Fontenille *et al.*, 2005).

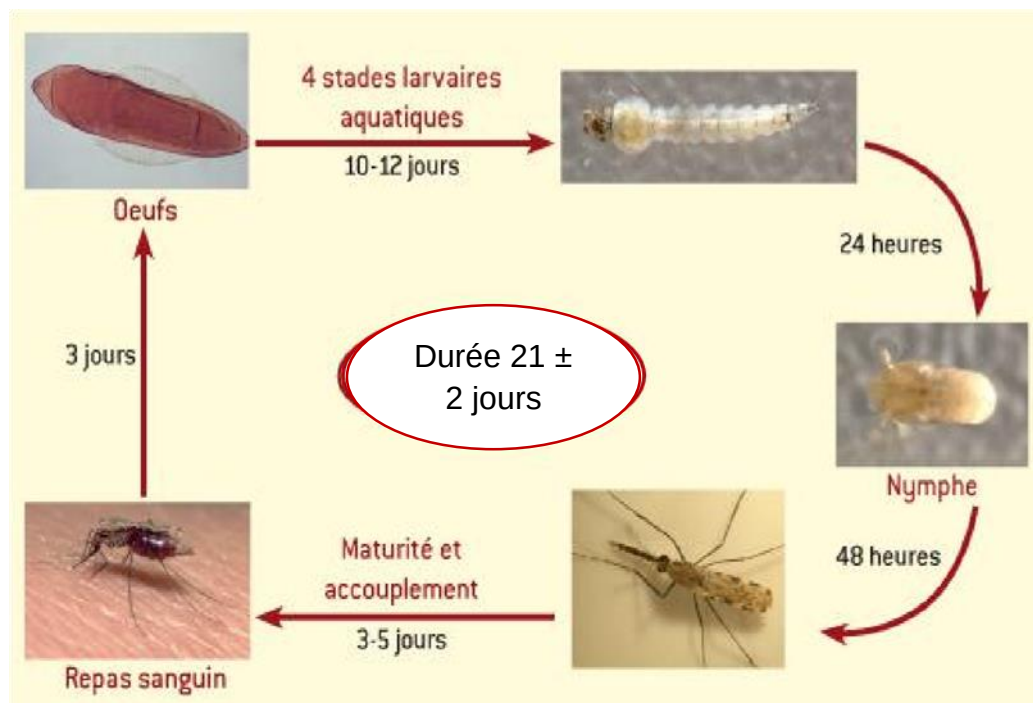
#### **1.3.1. Classification taxonomique des anophèles**

Elle est basée sur des critères essentiellement morphologiques, ensuite complétée par des observations étho-écologiques et biogéographiques et, plus récemment, par des données génétiques. Les anophèles s'organisent en des complexes et des groupes d'espèces. Les espèces appartenant à un même groupe sont très proches morphologiquement et présentent des

différences, au moins à un stade de leur développement, tandis que les espèces appartenant à un même complexe sont morphologiquement identiques à tous les stades de leur développement. En Afrique subsaharienne, les principales espèces vectrices se répartissent en groupes ou complexes.

### 1.3.2. Cycle de vie des anophèles

Les anophèles sont des insectes holométaboles, c'est à dire à métamorphoses complètes. Leur développement est caractérisé par la succession de deux phases (Figure 2) : une phase aquatique pour les stades pré-imaginaux ou immatures, œufs, larves (avec 4 stades larvaires entrecoupés chacun d'une mue) et nymphe, et une phase aérienne pour le stade adulte ou imaginal, avec des mâles et des femelles. Le repas de sang est nécessaire à la maturation des follicules ovariens qui pourront être fécondés au moment de la ponte par les spermatozoïdes stockés. La fécondation a lieu dans le tractus génital de la femelle suite au passage des ovarioles (follicules) mûres dans l'oviducte. Après la ponte, la femelle cherche à prendre un nouveau repas sanguin afin d'effectuer une nouvelle oviposition : c'est le cycle gonotrophique ou trophogonique (Beklemishev, 1940). En région tropicale, la durée de vie d'un anophèle adulte se situe autour de 7 à 10 jours pour les mâles et entre 2 à 8 semaines pour les femelles.



**Figure 2 :** Cycle biologique des anophèles (Mouchet *et al.*, 2004)

#### **1.3.2.1. La phase aquatique :**

Entre 40 à 100 œufs fécondés sont pondus un par un sur la surface de l'eau. Ces œufs sont munis de flotteurs et restent en surface durant l'embryogenèse. Après 24 à 48 heures (selon la température), chaque œuf éclot et libère une larve d'environ 1 mm qui se tient juste en dessous de l'eau et dans une position horizontale caractéristique. La larve est détritiphage et au terme de sa croissance, la larve de quatrième stade effectue une mue particulière, la nymphose. Cette dernière libère une nymphe aquatique mobile qui ne s'alimente pas. Après la métamorphose, l'adulte ailé (imago) émerge et gagne le milieu aérien. En zone tropicale, la phase aquatique des anophèles peut durer de 1 à 3 semaines en fonction de l'espèce et des conditions écologiques, notamment la température.

#### **1.3.2.2. La phase aérienne :**

La biologie de l'adulte est caractérisée par deux comportements principaux : l'alimentation et la reproduction qui, chez la femelle, s'accompagnent de la dispersion à la recherche successive d'un repas sanguin, d'un site de repos et d'un site de ponte. L'ensemble de ces comportements s'inscrit dans le « cycle gonotrophique » qui ne concerne évidemment que la femelle puisque le mâle se nourrit exclusivement de jus sucrés et n'est pas hématophage. L'adulte qui vient d'émerger se repose durant 24 à 48 heures, le temps que sa cuticule sèche, que ses ailes se déploient et que son appareil reproducteur devienne fonctionnel. L'alimentation sucrée procure les substances énergétiques (hydrates de carbone) nécessaires pour le vol. Elle peut aussi stimuler le début du développement des ovarioles. L'alimentation sucrée est prise par la femelle tout au long de sa vie et à n'importe quel moment de son cycle biologique selon ses besoins. L'insémination de la femelle s'effectue peu après l'éclosion imaginale (2<sup>e</sup> ou 3<sup>e</sup> jour), le plus souvent dans un essaim de mâles réunis au crépuscule (ou à l'aube). La femelle ne copule en principe qu'une seule fois dans sa vie et stocke les spermatozoïdes dans une spermathèque. Le contenu protéique des repas sanguins est nécessaire à la maturation des follicules ovariens qui pourront alors être fécondés, au moment de la ponte, par les spermatozoïdes stockés. Après la ponte, la femelle cherche à prendre un nouveau repas sanguin afin d'effectuer une nouvelle oviposition : ce cycle est appelé cycle gonotrophique ou trophogonique, pour certains auteurs (Beklemishev, 1940) (Figure 2). Ce cycle a une durée qui varie de 48 heures à plus d'une semaine, suivant les espèces et les conditions environnementales. La connaissance de ce cycle est essentielle en épidémiologie du paludisme car permet d'évaluer l'âge de la femelle



d'anophèles par son nombre de ponte ainsi que sa probabilité d'être infectante ; ceci permet d'évaluer la capacité vectorielle de l'anophèle.

### 1.3.3. Comportement trophique des anophèles femelles

L'étude du comportement trophique des anophèles vecteurs est indispensable pour définir ou appliquer une stratégie de lutte adaptée. Ainsi, il faut distinguer trois types de comportement chez l'anophèle : il pique (choix de l'hôte), se nourrit (lieu d'alimentation) et se repose (lieu de repos). Les préférences trophiques des anophèles varient suivant l'environnement et la disponibilité des hôtes (hommes ou animaux). En effet, certains anophèles se nourrissent du sang de l'homme (ils sont dits anthropophiles), d'autres du sang des animaux (ils sont dits zoophiles) et enfin certains anophèles se nourrissent à la fois du sang de l'homme et de celui des animaux (ils sont dits anthropo-zoophiles). La préférence trophique d'une espèce d'anophèle capable de transmettre le paludisme définira son statut de vecteur, une espèce exclusivement zoophile ne présentant aucun risque pour l'homme en termes de transmission. Par exemple, *An. gambiae* s.s. est très anthropophile. *An. arabiensis* est considéré moins anthropophile que *An. gambiae* s.s., La majorité des espèces du groupe *An. funestus* sont zoophiles, seule l'espèce *An. funestus* s.s. est anthropophile et impliquée dans la transmission des *Plasmodium* grâce à une capacité vectorielle élevée. Les vecteurs du paludisme piquent essentiellement la nuit et plus précisément entre le coucher et le lever du soleil (de 19 heures à 6 heures) (Hamon, 1963). Notons qu'au Nord du Bénin, la capture diurne des *Aedes* sur appât humain a permis de collecter une grande quantité de *An. gambiae* s.s. entre 09 heures et 12 heures. La distribution de l'agressivité varie suivant l'espèce (Elliott, 1972), l'âge physiologique (Bockarie *et al.*, 1996), le lieu et la saison (Snow, 1982). Par ailleurs, certains de ces anophèles se nourrissent du sang de leurs « victimes » à l'intérieur (endophagie) ou à l'extérieur (exophagie) des maisons ou des étables en fonction de leurs préférences trophiques, variables selon les espèces anophéliennes, et selon la disponibilité/accessibilité des hôtes (Quinones, 1997). Après s'être nourris de sang humain ou animal, certains anophèles préfèrent se reposer à l'intérieur des maisons ou cases (endophiles) ou à l'extérieur (exophiles). Le comportement d'endophilie/exophilie est variable selon la saison, selon les préférences trophiques, les types d'habitat, etc. La connaissance des lieux de repos des anophèles est importante pour planifier et évaluer des actions de lutte basées sur des adulticides répandus dans les maisons ou à l'extérieur. Il est évident que les aspersions intra-domiciliaires pariétales ne sont que de peu d'utilité, voire d'aucune utilité contre les populations anophéliennes exophiles. En revanche, les espèces particulièrement endophiles

sont bien contrôlées par des traitements intradomiciliaires. Il est important de noter que les anophèles infectés par *Plasmodium* font des repas sanguins tout au long de la nuit, tandis que les non infectés piquent rarement plus d'une fois par nuit (Mathews et *al.*, 1996). Le parasite semble influencer le comportement du vecteur (Cator et *al.*, 2012 ; Choumet et *al.*, 2012) et, par ce biais, le temps du repas, celui de la salivation et le nombre de piqûres qui sont augmentés chez un vecteur infecté, ce qui faciliterait la dissémination du pathogène à travers plusieurs hôtes (Rossignol et *al.*, 1984 ; Wekesa et *al.*, 1992).

#### 1.3.4. Répartition géographique des anophèles en Afrique

La distribution géographique des anophèles vecteurs présente de grandes similitudes avec la répartition de la pluviométrie annuelle à travers l'Afrique (Coetzee et *al.*, 2000). Chaque espèce vectrice occupe une aire géographique particulière et colonise certains types de gîtes larvaires (diverses collections d'eau, de l'eau courante rapide ou lente des rizières, etc.) qui fonctionnent pendant une période donnée sous l'influence de données environnementales et climatiques spécifiques. Cependant, aucune espèce d'anophèles n'a été retrouvée à une altitude supérieure à 2000 m. En Afrique continentale, la faune anophélienne des vecteurs de *Plasmodium* humains est dominée par le complexe *An. gambiae* et le groupe *An. funestus* qui interviennent pour 90 % de la transmission. Ces vecteurs majeurs couvrent quasiment toute l'Afrique sub-saharienne, et maintiennent cette région sous une forte emprise du paludisme. Actuellement, on y recense plus de 85 % des cas de paludisme et plus de 90 % des porteurs de parasites dans le monde. La cause première de cette situation est essentiellement entomologique : les vecteurs africains sont les plus efficaces au monde (Carnevale et *al.*, 2009) (Figure 3).

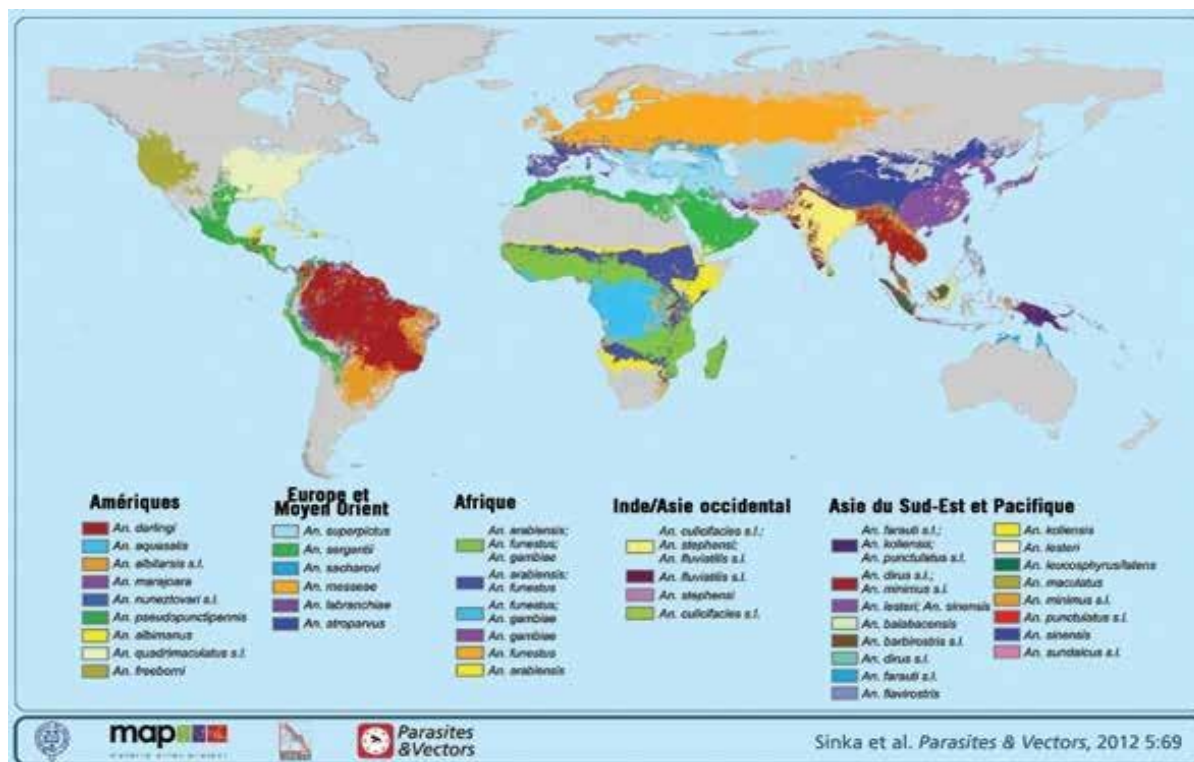
##### 1.3.4.1. Le complexe *An. gambiae*

Le complexe *An. gambiae* ou *An. gambiae* s.l. regroupe 7 espèces: *An. gambiae* s.s. (Giles, 1902), *An. arabiensis* (Patton, 1905), *An. bwambae* (White, 1985), *An. quadriannulatus* A (Theobald, 1911), *An. quadriannulatus* B (Hunt, 1998), *An. melas* (Theobald, 1903) et *An. merus* (Donitz, 1902). Les cinq (5) premières sont des espèces d'eau douce alors que les deux (2) dernières sont des espèces d'eau saumâtre (Mouchet et *al.*, 2004). Il y aurait une huitième espèce découverte récemment au Burkina Faso baptisée *Anopheles goundry*, du nom du village où elle a été retrouvée (Riehle et *al.*, 2011). *An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis* sont les vecteurs majeurs du paludisme en Afrique en termes de répartition géographique et de capacité vectorielle. Ces deux espèces présentent des limites de distributions qui semblent être déterminées par les conditions climatiques (Mouchet et *al.*, 2004). *An. arabiensis* est présente

dans toute la zone afro-tropicale, exceptées les zones de forêts. Elle est parfaitement adaptée au climat sec du Sahel et est réputée plus zoophile (indice sporozoïtique, Is, souvent 5%). *An. gambiae* s.s. est généralement présente dans toute la zone afro-tropicale, exceptées la corne de l'Afrique et les zones les plus sèches.

#### 1.3.4.2. Le groupe *An. funestus*

En Afrique, le groupe *An. funestus* comporte 10 espèces vectrices ou potentiellement vectrices réparties en 3 sous-groupes : *Funestus*, *Rivulorum* et *Minimus*. Parmi l'ensemble des espèces de ce groupe, seule l'espèce *An. funestus* (ou *An. funestus* s.s.) est anthropophile et possède une grande capacité vectorielle. Les autres membres du groupe sont le plus souvent zoophiles et donc de moindre importance médicale (Coetzee and Fontenille, 2004). Des Is analogues à ceux de *An. gambiae* ont souvent été relevés chez *An. funestus*, parfois même pouvant dépasser 5% (Cohuet et al., 2004). Cette espèce est présente dans presque toute la zone intertropicale d'Afrique (Figure 3) et pullule au niveau des marais à végétation dressée et au niveau des rizières. Elle est aussi abondante en fin de saison des pluies et en début de saison sèche où il peut alors prendre le relais de *An. gambiae*. La raréfaction de *An. funestus* dans le Sahel a été notée à la suite de la sécheresse de 1973 (Faye et al., 1995 ; Mouchet et al., 1996) puis son « retour » dans les années 1990, accompagné d'une hausse des densités, vraisemblablement dû à des modifications anthropiques de l'environnement (barrages, irrigations) (Konaté et al., 2001). Un important polymorphisme génétique a été observé chez *An. funestus* au Sénégal et au Burkina Faso où deux formes chromosomiques ont été identifiées : Folonzo et Kiribina (Costantini et al., 1999 ; Dia et al., 2000). La forme Folonzo semble être favorisée dans les zones présentant des réservoirs d'eau (canaux d'irrigation) avec une végétation aquatique naturelle, tandis que la forme Kiribina est plus souvent capturée dans les zones rizicoles. Tout comme pour le complexe *An. gambiae*, trois types moléculaires majeurs appelés M (populations d'Afrique de l'Est et de Madagascar), W (populations d'Afrique de l'Ouest et du Centre) et MW (populations d'Afrique du Sud) ont été identifiés chez *An. funestus*. Ces lignages auraient évolué séparément pendant un (1) million d'années (Garros et al., 2004 ; Michel et al., 2005 ; Koekemoer et al., 2006).



**Figure 3 :** Répartition mondiale des vecteurs dominants ou potentiellement importants du paludisme.

#### 1.4. Lutte antipaludique

La lutte antipaludique combine des actions contre le parasite, avec la chimiothérapie et le vaccin RTS,S/AS01 pour prévenir et traiter l'infection, et des mesures de lutte contre le vecteur, principalement la distribution de moustiquaires imprégnées d'insecticide et la pulvérisation d'insecticides dans les zones à risque. Au Bénin, ces interventions sont ciblées selon la transmission saisonnière et visent les groupes vulnérables comme les femmes enceintes et les enfants de moins de cinq ans.

##### 1.4.1. Lutte contre les parasites responsables du paludisme

La prévention et le contrôle des parasites *Plasmodium*, responsables du paludisme, reposent principalement sur la chimiothérapie et la vaccination (OMS, 2022).

##### 1.4.1.1. Chimiothérapie

La chimiothérapie antipaludique consiste à administrer des médicaments aux populations vulnérables pour prévenir l'infection et traiter les cas de paludisme. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) recommande plusieurs stratégies de chimioprévention adaptées aux contextes locaux (OMS, 2022) :

- **Traitement préventif intermittent pendant la grossesse (TPIg) :** Ce traitement est destiné aux femmes enceintes dans les zones de transmission modérée à élevée pour réduire le risque de paludisme chez la mère et le nouveau-né.
- **Chimioprévention saisonnière du paludisme (CPS) :** Recommandée pour les enfants de moins de cinq ans dans les zones où la transmission est saisonnière, notamment pendant la saison des pluies, elle consiste en une administration mensuelle de sulfadoxine-pyriméthamine et d'amodiaquine pendant la période de transmission.
- **Chimioprévention pérenne du paludisme (PMC) :** S'adresse aux nourrissons et jeunes enfants exposés à un risque élevé dans les zones de transmission modérée à forte en Afrique subsaharienne.
- On pouvait distinguer aussi, la chimioprévention post-hospitalisation, le traitement préventif intermittent chez les écoliers et l'administration massive de médicaments

Au Bénin, la CPS est déjà mise en œuvre dans des départements comme l'Atacora et l'Alibori, et sera étendue au Borgou, aux Collines, et à la Donga en juin 2024. Les cas de paludisme sont pris en charge selon le principe des 3 T (Test, Treat, Track) : dépister la fièvre, traiter le malade et suivre les résultats. Le diagnostic repose sur les tests rapides ou la microscopie, et le traitement du paludisme simple utilise une thérapie combinée à base d'artémisinine. Le paludisme grave est traité par voie parentérale avec de l'artésunate ou d'autres médicaments.

#### 1.4.1.2. Vaccin contre le paludisme

Le RTS,S/AS01 est le premier vaccin contre le paludisme recommandé par l'OMS. Des essais pilotes au Ghana, au Kenya et au Malawi ont montré une réduction notable des cas graves et des hospitalisations (OMS, 2022). Il est destiné aux enfants dans les zones de transmission modérée à forte, à partir de l'âge de cinq (5) mois, avec un schéma vaccinal de quatre (4) doses : trois (3) doses primaires et une quatrième dose douze (12) à dix-huit (18) mois après pour prolonger la protection. L'OMS permet de moduler le calendrier pour faciliter l'administration, notamment en alignant la quatrième dose sur d'autres vaccins de la deuxième année de vie.

Au Bénin, le vaccin RTS,S/AS01 a été introduit dans le Programme élargi de vaccination (PEV) en avril 2024 pour protéger les enfants de moins de deux ans. Cette initiative s'appuie sur la réception de 215 900 doses du vaccin en janvier 2024.

Ces stratégies combinant chimioprévention et vaccination représentent des progrès significatifs dans la lutte contre le paludisme en Afrique et particulièrement au Bénin, contribuant à réduire la morbidité et la mortalité associées à cette maladie.

#### **1.4.2. Lutte contre les vecteurs du paludisme**

La prévention des piqûres de moustiques et leur élimination font partie des stratégies clés de lutte contre le paludisme. Dans la plupart des situations, les principales mesures de lutte antivectorielle sont les moustiquaires imprégnées d'insecticide et les pulvérisations intradomiciliaires d'insecticide à effet rémanent (Enayati and Hemingway, 2010). Selon les cas, les traitements larvicides, les poissons larvivores, les pulvérisations spatiales, les produits répulsifs et la pose de grillages moustiquaires sur les maisons peuvent également être utiles.

##### **1.4.2.1. Pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide (PID)**

La pulvérisation intradomiciliaire d'insecticides rémanents à l'intérieur des maisons (plafonds, murs, rideaux, portes et fenêtres) permet de tuer les moustiques femelles adultes. Grâce à son impact direct, la PID reste le moyen de lutte le plus puissant pour réduire et interrompre la transmission du paludisme (WHO, 2006). Cette technique permet ainsi de lutter contre les vecteurs du paludisme endophiles et anthropophiles comme *An. gambiae* et *An. funestus*. L'avantage essentiel de la PID est qu'elle réduit non seulement l'abondance des moustiques, mais plus important encore, leur durée de vie. Cette réduction de la longévité, même si elle est marginale, va produire une réduction spectaculaire de la transmission (Macdonald, 1957). La rémanence des composés actuels utilisés dans la PID en dehors des néonicotinoïdes est de deux (2) à six (6) mois. Il s'agit entre autres de la deltaméthrine, de la bifenthrine, du benbiocard, du malathion, du DDT, du piromiphos-méthyl etc. Bien que ces composés soient améliorés, à l'exception du DDT qui lui-même est intrinsèquement stable, la plupart des composés utilisés lors de la PID ont une rémanence de moins de 4 mois (Enayati and Hemingway, 2010). Les PID nécessitent alors d'être régulièrement renouvelées. Pour être efficace, la PID doit être utilisée à un maximum de couverture possible afin de produire un taux de mortalité des moustiques vecteurs d'environ 45% (WHO, 2006). Ainsi, avec le soutien des Etats Unis d'Amérique (via la « President Malaria Initiative ») aux PNLP, les activités de la PID ont permis de protéger près de 25 millions de personnes pour la seule année 2008 dans les pays concernés (RBM, 2010). Les traitements intra-domiciliaires présentent cependant l'inconvénient de ne pas tuer les vecteurs les plus exophages et/ou exophiles. De plus, ils exigent une logistique très lourde et deviennent inefficaces à la moindre erreur de traitement.

#### 1.4.2.2. Moustiquaires imprégnées d'insecticide

Bien que les moustiquaires non traitées soient utilisées depuis longtemps pour se prémunir des piqûres de moustiques (Snow, 1987) et autres arthropodes hématophages nuisibles (Hougard *et al.*, 2002a), leur association avec des insecticides a significativement augmenté leur efficacité (Carnevale *et al.*, 1991 ; Robert *et al.*, 1991). L'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII) est même devenue la forme la plus répandue de lutte anti-vectorielle, non pas parce qu'elles sont plus puissantes que les PID en termes de réduction de la transmission, mais parce qu'elles sont généralement moins exigeantes logistiquement et la couverture est plus facile à maintenir (Enayati and Hemingway, 2010). Placées à l'intérieur des maisons, les MII peuvent avoir 4 effets principaux : i) un effet dissuasif à grande distance qui réduit le taux d'entrée des moustiques dans les maisons, ii) un effet excito-répulsif/irritant à courte distance qui augmente le taux de sortie des moustiques, iii) un effet "knock-down" (kd) qui assomme les moustiques entrés en contact avec la MII et iv) un effet létal sur les moustiques, dans les 24h suivant leur contact avec la MII. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) approuve depuis le début des années 80 l'utilisation de pyréthrianoïde pour l'imprégnation des moustiquaires. Les MII constituent à la fois une barrière mécanique et chimique visant à réduire la transmission des *Plasmodium* et la population d'anophèles (Carnevale *et al.*, 1992 ; De La Cruz *et al.*, 2006). Leur utilisation au niveau individuel protège l'utilisateur contre les piqûres de moustiques. Au niveau de la communauté tout entière, elles tuent suffisamment de moustiques pour diminuer le nombre de piqûres chez les personnes non protégées (Hawley *et al.*, 2003 ; Hill *et al.*, 2007). Cet effet des MII sur les populations de moustiques vecteurs ne peut toutefois se manifester que si la majorité (80% au moins) des personnes de la communauté ciblée les utilise (Carnevale *et al.*, 1988). L'effet létal de l'insecticide se traduit par un rajeunissement de la population de moustiques vecteurs et, en conséquence, par une diminution drastique de la transmission du parasite (car moins un moustique vit longtemps, moins il aura de chances de transmettre le parasite). Dans les régions à forte densité anophélienne, cette méthode est plus limitée et nécessite une association avec d'autres moyens de protection (PID, par exemple). Depuis une dizaine d'années, une nouvelle génération de MII est mise sur le marché : les moustiquaires imprégnées à longue durée d'action (MILDA). Ces MILDA présentent l'avantage de ne nécessiter aucun retraitement durant leur durée de vie estimée entre quatre (4) et cinq (5) ans (Guillet *et al.*, 2001). Les campagnes de distribution massive de MII de même que celles de MILDA récemment réalisées dans plusieurs pays africains ont permis d'obtenir en peu de temps une couverture élevée et une répartition équitable des moustiquaires. Les résultats en termes de

réduction du paludisme ont même dépassé les espérances avec des réductions importantes de l'incidence des fièvres palustres (de l'ordre de 50%) et de la mortalité générale infantile (environ 20%) (RBM, 2010). Mais, le développement de phénomènes de résistance des anophèles aux insecticides d'imprégnation (Chandre *et al.*, 1999 ; Aïkpon *et al.*, 2013) et l'effet négatif des MII sur l'immunité anti-palustre de l'homme (Muller *et al.*, 2006) ont remis en discussion leur efficacité comme stratégie unique de lutte contre le paludisme. Pour une meilleure gestion des phénomènes de résistances, de nouvelles méthodes d'imprégnation ont été mises en place. Il s'agit notamment de la bi-imprégnation (Pennetier *et al.*, 2008 ; Corbel *et al.*, 2002) et de l'utilisation d'autres insecticides tels que la bifenthrine (Chouaibou *et al.*, 2006; Hougard *et al.*, 2002b). Consciente de tous les éléments encourageants en faveur de l'utilisation des MII/MILDA, la communauté internationale est aujourd'hui mobilisée. Elle s'apprête à renforcer considérablement ses efforts afin d'étendre les campagnes de distribution et de promotion à davantage de pays notamment africains. La MII n'éliminera sans doute pas le fléau du paludisme, mais elle contribuera à le contenir et à le réduire (Hougard, 2008).

#### **1.4.2.3. Autres méthodes de contrôle des vecteurs**

##### **1.4.2.3.1. La lutte anti-larvaire**

Théoriquement, les mesures de contrôle des larves pourraient contribuer à l'élimination du paludisme, mais une couverture élevée de sites de reproduction est nécessaire pour avoir un impact significatif, ce qui constitue un défi majeur opérationnel et logistique dans de nombreux contextes écologiques. Elle peut prendre plusieurs formes (Djogbénou, 2009) :

- Eliminer les lieux de ponte (e.g. drainage et assèchement des zones marécageuses) ;
- Modifier les lieux de ponte pour que les larves ne puissent plus s'y développer (e.g. curage des canaux pour que l'eau n'y soit pas stagnante) ;
- Rendre les lieux de ponte inaccessibles aux moustiques adultes (e.g. protection ou couverture étanche des réserves d'eau domestiques) ;
- Introduire dans les lieux de ponte des poissons larvivores ou d'autres prédateurs ;
- Epancre des larvicide (insecticide, préparations bactérienne) et des inhibiteurs de croissance des insectes (IGR, Insect growth regulators). L'application de ces techniques sur des surfaces étendue a donné des résultats encourageants notamment dans l'éradication de *An. gambiae* s.l. au Brésil (Killeen *et al.*, 2002). Cependant, comme le contrôle des larves n'affecte que la densité de la population de vecteurs, son impact sur la capacité vectorielle et le taux de paludisme est limité. Ainsi, pour être efficace, la lutte anti-larvaire exige un suivi sur plusieurs



années et une bonne implication des populations locales concernées (WHO, 2006). Elle n'est recommandée que dans des cas bien particuliers tels que le paludisme urbain, les oasis de déserts... Le contrôle larvaire est surtout faisable quand les gîtes sont limités en nombre, facilement identifiables et faciles d'accès (Walker *et al.*, 2007), ce qui est difficilement le cas avec les vecteurs du paludisme.

#### **1.4.2.3.2. Rideaux imprégnés d'insecticide**

Ils peuvent être utilisés comme une méthode complémentaire aux MII. Il existe des bâches murales imprégnées d'insecticide (BMI) qui peuvent aussi contribuer à la réduction du contact homme-vecteur (Djenontin *et al.*, 2009 ; 2010). Développées à l'origine pour protéger des populations de déplacés dans les camps de réfugiés (Graham *et al.*, 2002), ces bâches imprégnées ont ensuite été adaptées pour un usage domestique (Chandre *et al.*, 2010 ; Diabaté *et al.*, 2006). Les classes d'insecticides potentiellement utilisables pour les BMI sont les mêmes que celles utilisées pour les PID.

#### **1.4.2.3.3. Répulsifs**

Un répulsif est composé d'une substance active (synthétique ou naturelle) et de différents excipients formant une formulation pouvant se présenter sous forme de spray, de lotion, de crème ou de lingette. Il existe de nombreuses molécules anti-moustiques assez efficaces et disponibles dans le commerce. Mais, il faut savoir que ces molécules anti-moustiques ne sont pas neutres et que parfois, elles sont même déconseillées aux femmes enceintes et aux enfants de moins de 30 mois. L'efficacité de la protection individuelle induite par ces répulsifs n'est plus à démontrer (Rowland *et al.*, 2004, Debboun *et al.*, 2005, 2013) et leur utilisation a permis une réduction de l'incidence palustre dans un village en Afrique du Sud (Durrheim and Govere, 2002). Toutefois, les répulsifs sont peu utilisés par les populations locales et sont le plus souvent utilisés par les voyageurs. Actuellement, les produits chimiques anti-moustiques sont à base de citriodiol (extrait d'huile essentielle d'eucalyptus), d'icaridine, d'IR 3535 et de Diethyl Toluamide (DEET). La durée de protection varie entre 6 et 12 heures selon la substance active, la formulation et la température extérieure.

#### **1.4.2.3.4. Bombes aérosols**

Elles sont très utilisées dans les pays en développement et se composent, pour l'essentiel, d'insecticides pyréthrinoïdes à action rapide et à fort effet Knock-Down (mortalité ou inactivité de l'insecte au contact avec l'insecticide). Sur les étiquettes, au paragraphe « composition »,

ces substances se repèrent à leur nom qui se termine par « thrine » (transfluthrine, tétraméthrine, resméthrine, esbiothrine etc.). Elles n'ont aucun effet rémanent.

#### 1.4.2.3.5. **Serpentins fumigènes**

Du fait de leur accessibilité et de leur moindre coût, les serpentins fumigènes sont largement utilisés dans les pays en développement aussi bien le jour à l'extérieur que la nuit à l'intérieur des maisons (Desfontaine *et al.*, 1989 ; 1990 ; Liu *et al.*, 2003). Une fois allumé, le serpentins se consume lentement, diffusant l'insecticide à un taux constant pendant 6 à 8 heures, ce qui suffit pour tuer ou tenir les moustiques à distance par un effet dissuasif ou excito-répulsif (Lawrance and Croft, 2004). Toutefois, la présence de vent active la vitesse de combustion. De grandes différences sont observées entre les différents produits. A l'origine, ils étaient imprégnés de pyréthrine ou pyréthre ; actuellement ils sont à base d'alléthrine et/ou de transalléthrine. Plus récemment, sont apparues des plaquettes thermo-diffuseurs composées également de pyréthrinoïdes à action rapide qui procurent un confort certain contre les moustiques.

#### 1.4.2.3.6. **Technique des mâles stériles**

La technique des mâles stériles (TMS) est une méthode de lutte biologique innovante utilisée pour réduire les populations de moustiques vecteurs de maladies comme le paludisme, la dengue, la fièvre jaune ou le virus Zika (AIEA, 2016). Cette approche repose sur l'introduction contrôlée de moustiques mâles stériles dans une population naturelle pour perturber leur reproduction. Le principe de la technique est basé sur quatre points :

- **Production massive** : Les moustiques mâles sont élevés en grand nombre dans des installations spécifiques.
- **Stérilisation** : Les mâles sont rendus stériles, généralement à l'aide de rayonnements ionisants (rayons X ou gamma), sans affecter leur capacité à s'accoupler.
- **Libération dans la nature** : Ces mâles stériles sont relâchés dans les zones ciblées où ils s'accouplent avec des femelles sauvages.
- **Réduction de la population** : Les femelles accouplées aux mâles stériles pondent des œufs non viables, ce qui réduit progressivement la population de moustiques.

Cette technique n'implique pas l'utilisation d'insecticides, préservant ainsi les écosystèmes et réduisant l'impact sur les autres espèces. Elle cible spécifiquement les espèces de moustiques

vecteurs sans affecter les autres insectes. En combinaison avec d'autres méthodes de contrôle, elle peut avoir des effets à long terme sur les populations de moustiques.

Cependant, quelques défis tels que le coût élevé de la production de mâles stériles, la complexité de la logistique pour la libération efficace sur de grandes zones, la compatibilité avec d'autres méthodes de lutte ainsi que la migration des moustiques pourraient limiter l'efficacité de la technique des mâles stériles.

Il est à noter que la technique de mâles stériles est en expérimentation au Brésil, au Sénégal, à l'Île Maurice et au Mexique pour contrôler les populations d'*Aedes aegypti* responsables de la dengue, en Tanzanie pour éradiquer les vecteurs du paludisme du Zanzibar (Zhang *et al.*, 2024). Le Burkina Faso a entrepris des initiatives notables en utilisant la Technique de l'Insecte Stérile (TIS) pour lutter contre les insectes vecteurs de maladies, notamment les mouches tsé-tsé et les moustiques responsables du paludisme.

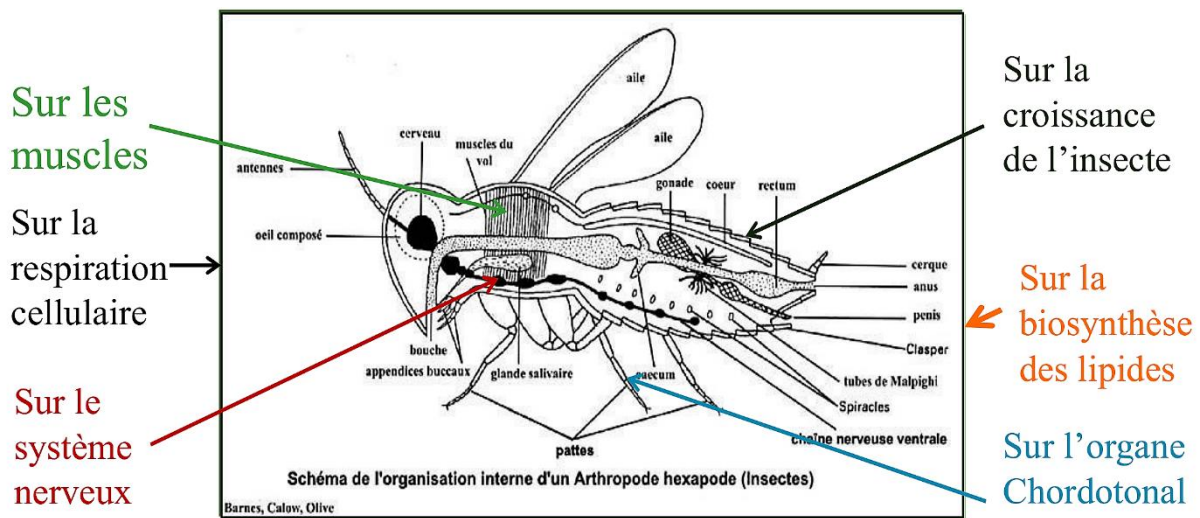
En février 2017, le Burkina Faso a inauguré l'Insectarium de Bobo-Dioulasso, la plus grande installation d'élevage d'insectes d'Afrique de l'Ouest, avec l'appui de l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA) et de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). Cet insectarium vise à produire jusqu'à 300 000 mouches tsé-tsé mâles stériles par semaine pour réduire les populations de ces insectes, vecteurs de la trypanosomose, une maladie affectant gravement le bétail et, dans certaines régions, les humains.

Également, le Burkina Faso est engagé dans des projets visant à contrôler les populations de moustiques *Anopheles gambiae*, principaux vecteurs du paludisme. En juillet 2019, environ 6 400 moustiques mâles génétiquement modifiés et rendus stériles ont été lâchés dans le village de Bana, situé dans le sud-ouest du pays. Cette opération, une première en Afrique, avait pour objectif de réduire la population de moustiques et, par conséquent, la transmission du paludisme (Dofini, 2021).

### 1.5. Résistance des vecteurs aux insecticides

La résistance des insectes vecteurs aux insecticides est un phénomène qui s'étend de façon inquiétante. Elle a été définie par l'OMS comme « la faculté chez une souche d'un organisme donné à tolérer les doses d'un produit toxique qui tue la majorité des individus d'une population normale de la même espèce ». L'action létale de l'insecticide peut s'observer au niveau des muscles de vol de l'insecte, sur la respiration cellulaire, sur la croissance de l'insecte, sur la biosynthèse des lipides, sur l'organe chordotonal et principalement sur le système nerveux (Figure 4). De 2010 à 2022, quelque quatre-vingt-huit (88) pays ont transmis à l'OMS des

données de surveillance sur la résistance aux insecticides, y compris sur l'intensité de la résistance aux pyréthrinoïdes (38 pays), ainsi que sur la capacité du butoxyde de pipéronyle (PBO) à restaurer la sensibilité aux pyréthrinoïdes (32 pays).



**Figure 4 :** Sites d'action des insecticides

On distingue trois types de mécanisme de résistance qui se traduisent par des modifications comportementales, physiologiques et biochimiques :

### 1.5.2. La résistance comportementale

Elle s'observe au niveau de l'insecte qui présente un comportement différent, évitant le contact avec l'insecticide ou limitant la durée de leur contact. Par ce fait, l'insecte empêche le produit toxique d'agir. D'autres insectes peuvent même retarder la ponte des œufs jusqu'à ce que l'effet des insecticides diminue.

### 1.5.3. La résistance physiologique

Elle s'exprime chez les insectes au niveau des tissus et organes. Elle fait référence à la capacité à tolérer ou à surmonter les effets des insecticides ou d'autres substances toxiques grâce à des adaptations au niveau physiologique. Cette forme de résistance est souvent le résultat de modifications génétiques qui affectent les processus biologiques des insectes et leur permettent de survivre malgré l'exposition à des agents chimiques nocifs. Elle est caractérisée par le métabolisme des toxines (décomposition et excrétion des insecticides), la réduction de la pénétration de l'insecticide, l'altération des cibles des insecticides et l'accumulation de réserves métaboliques permettant à l'insecte de tolérer temporairement les effets des insecticides.

#### **1.5.4. La résistance biochimique**

Elle se situe au niveau cellulaire et consiste d'une part, en une augmentation de l'activité enzymatique des systèmes de détoxification et d'autre part, en une diminution de l'affinité des sites d'action vis-à-vis des insecticides.

Au cours de la résistance biochimique, l'insecte entre en contact avec l'insecticide, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint, plus ou moins rapidement, au niveau cellulaire, les protéines et les enzymes-cibles dont il entrave le fonctionnement normal. On distingue à cet égard deux types de modifications : (a) une activité accrue des systèmes de dégradation des xénobiotiques (et donc des insecticides), et (b) une modification de la cible de l'insecticide devenant capable de fonctionner correctement malgré la présence d'insecticide.

##### **1.5.4.1. Augmentation de l'activité des systèmes de détoxification**

De nombreuses toxines possèdent un caractère lipophile et peuvent devenir plus hydrosolubles par biotransformation dans l'insecte, et de ce fait plus facilement excrétables. Les possibilités que possèdent les insectes de dégrader les insecticides sont associées aux systèmes enzymatiques de détoxification. Chez les invertébrés, les voies métaboliques concernées sont très voisines de celles décrites chez les mammifères. On y retrouve deux types de réactions classiques :

- les réactions de la phase I (hydrolyse et oxydation), appelées réactions de fonctionnalisation, incluent l'activation et/ou la conversion des molécules exogènes en un composé plus polaire. L'introduction de groupes fonctionnels augmente la solubilité dans l'eau et permet, soit leur stockage loin des tissus sensibles, soit leur excrétion. Ces métabolites issus des xénobiotiques peuvent être pris en charge par les enzymes impliquées dans la phase II ;
- les réactions de la phase II, ou réactions de conjugaisons, qui permettent la combinaison des groupements fonctionnels ainsi introduits ou des groupements préexistants, avec des métabolites endogènes fortement hydrophiles (glycosides, glutathion ou acides aminés), ce qui en favorise l'excrétion. Dans le cas des insecticides, cette métabolisation se traduit souvent par une perte d'activité des produits avec développement de phénomènes de résistance. Trois types d'enzymes participent à ce processus :
  - les cytochromes P-450 qui introduisent un atome d'oxygène dans leurs substrats ;
  - les glutathion S-transférases qui catalysent la conjugaison de molécules ayant un centre électrophile avec le groupement thiol du glutathion ;

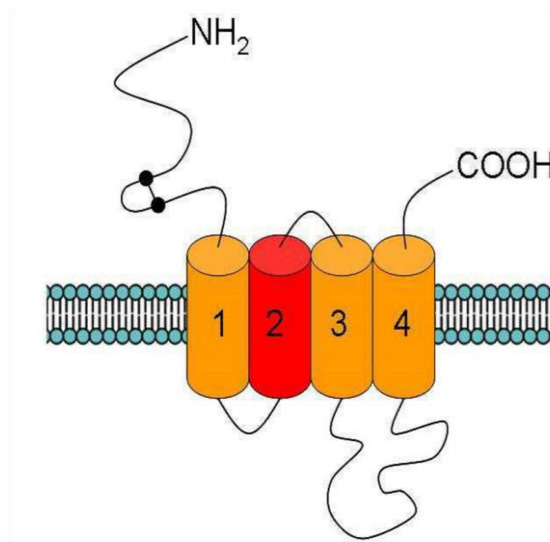
- et enfin, les hydrolases qui clivent les esters et les amides, augmentant ainsi la polarité des métabolites.

#### 1.5.4.2. Modification des cibles

Les insectes ont la capacité de générer des mutations génétiques qui altèrent les enzymes visées par les insecticides. Ces mutations au niveau des récepteurs nerveux ciblés par les insecticides peuvent entraver leur capacité à se lier efficacement, réduisant ainsi leur effet toxique.

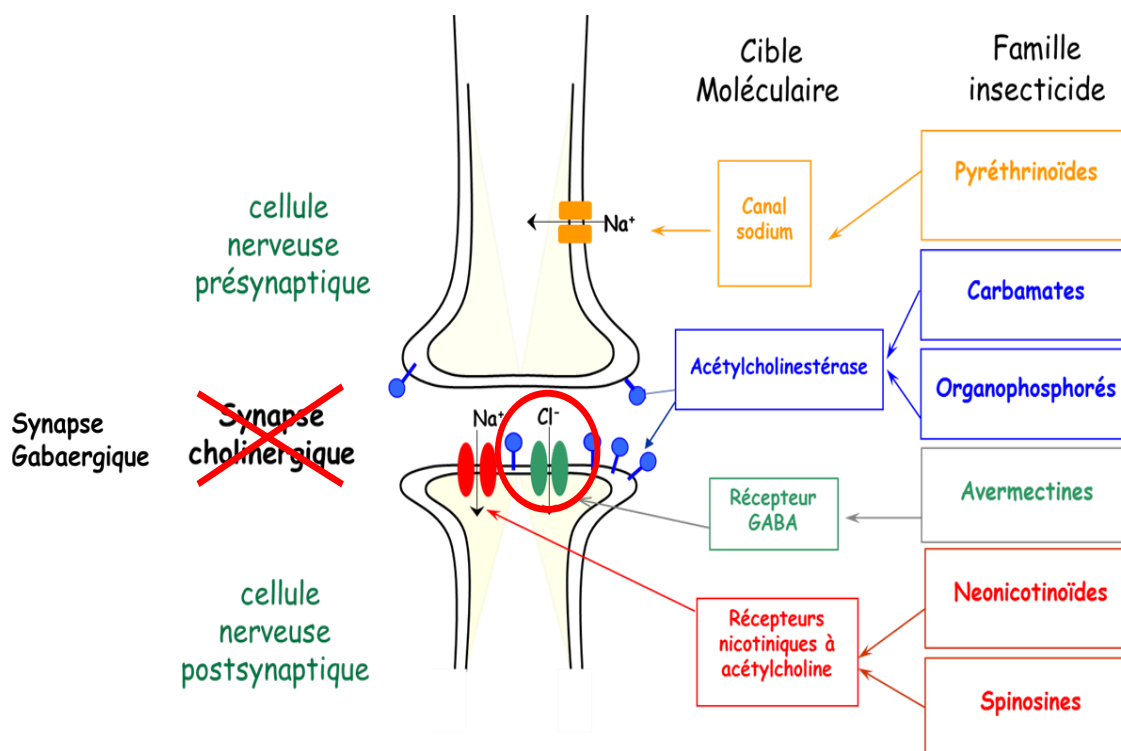
##### 1.5.4.2.1. Récepteur canal de l'acide $\gamma$ -aminobutyrique (GABA).

Le récepteur canal du GABA est la cible des phénylpyrazoles et de certains organochlorés (cyclodiènes). Le GABA est le principal neurotransmetteur inhibiteur et il joue un rôle critique dans la régulation de l'activité neuronale (hyperpolarisation membranaire) chez les vertébrés et les invertébrés. Son récepteur, le récepteur canal gabaergique (Figure 6) est un récepteur pentamérique faisant partie de la superfamille des récepteurs ``Cys-loop`` comme les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine (nAChRs) ou encore les récepteurs de type 3 de la sérotonine (5-HT<sub>3</sub>). Chaque sous-unité du récepteur possède un domaine extracellulaire N-terminal contenant les sites de liaison au neurotransmetteur suivi de quatre domaines transmembranaires (M1-M4) (Figure 5). Le domaine M2 contient les résidus responsables de la formation du canal qui permet le passage des ions chlorure (Buckingham *et al.*, 2005).



**Figure 5 :** Schéma de la structure d'une sous-unité d'un récepteur canal au GABA.

Une sous-unité possède 4 domaines transmembranaires et 2 résidus cystéines dans le domaine extracellulaire N-terminal (ronds noirs).

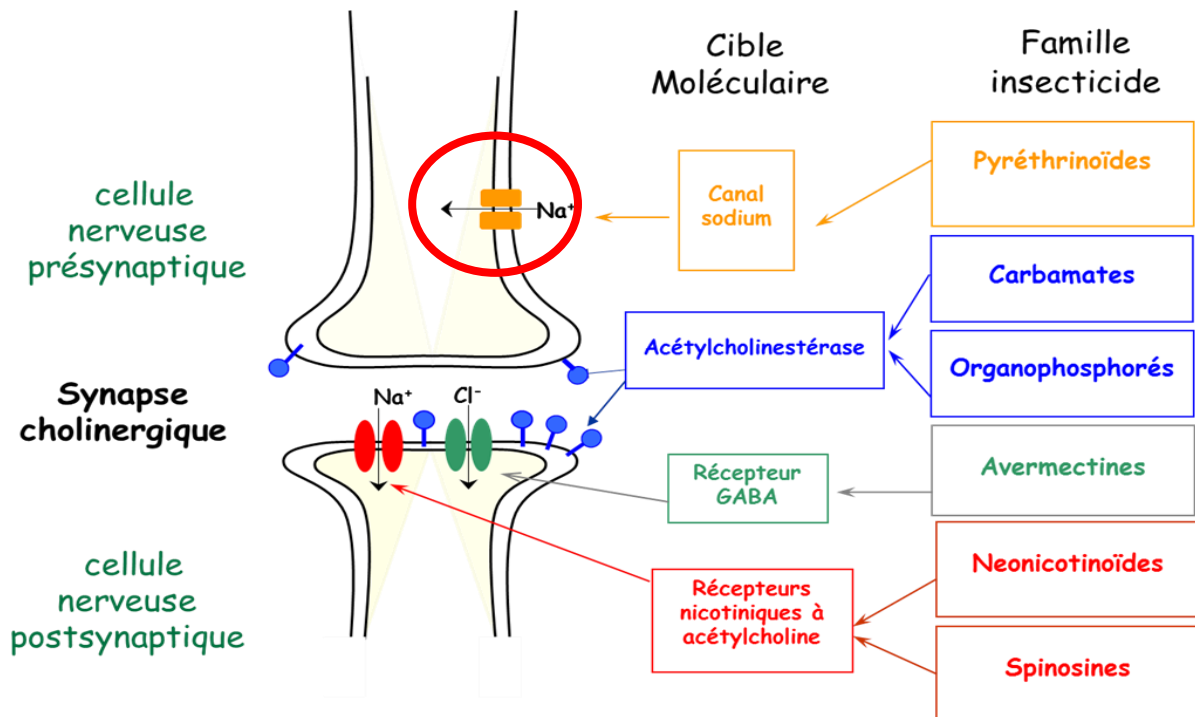


**Figure 6 :** Le récepteur GABA (acide gamma aminobutyrique) cible des avermectines.

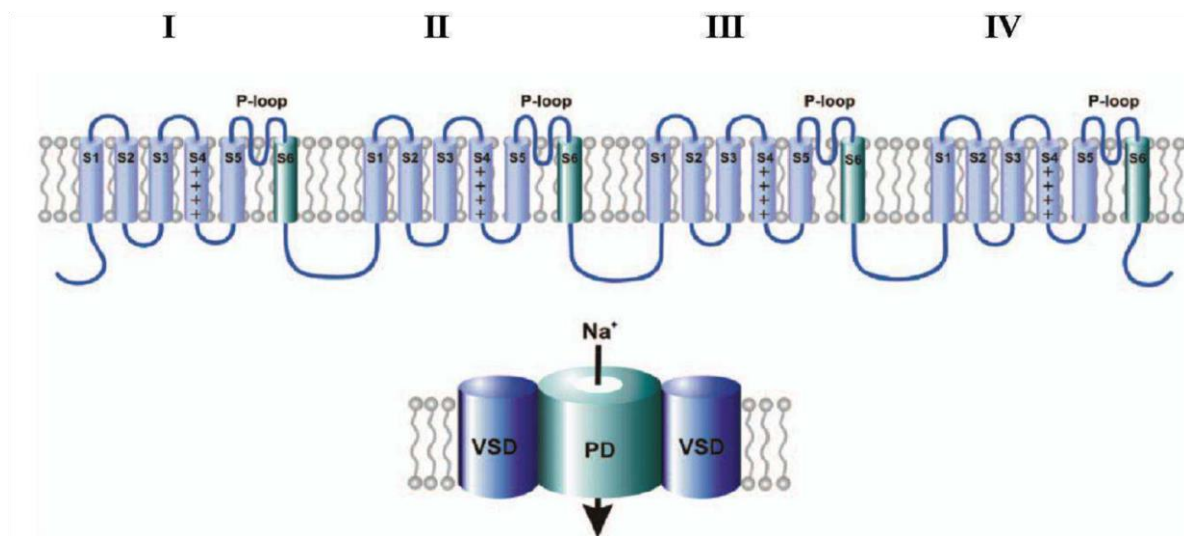
Actuellement les organochlorés qui ciblent les récepteurs GABA des insectes sont interdits car ils présentent une forte persistance dans l'environnement, une bioaccumulation dans la chaîne alimentaire ainsi qu'une faible sélectivité insectes/mammifères.

#### 1.5.4.2.2. Récepteur canal sodium voltage-dépendant.

Le canal sodium voltage-dépendant est la cible des pyréthrinoides et de certains organochlorés en particulier le DDT (Figure 7). Ce canal joue un rôle important dans la propagation des potentiels d'action dans les cellules neuronales chez les vertébrés comme les invertébrés. Chez les mammifères, ce canal est formé par une seule sous-unité  $\alpha$  (Figure 8). Il correspond à un polypeptide composé de quatre domaines homologues (I-IV) comprenant chacun six hélices transmembranaires (S1-S6). Les hélices S5 et S6 permettent la formation du canal alors que les hélices S1 à S4 sont responsables de la sensibilité au potentiel de membrane (Figure 8). Après une dépolarisation de la membrane, les hélices S4 (des domaines I et II), chargées positivement, se déplacent, induisant un changement conformationnel du récepteur ce qui permet le passage sélectif des ions  $\text{Na}^+$  (Catterall, 2000). Par la suite, la perméabilité aux ions  $\text{Na}^+$  diminue et le récepteur devient inactif (état intermédiaire) ne permettant plus le passage des ions. La repolarisation de la membrane induit une désactivation du récepteur (Davies *et al.*, 2007).



**Figure 7:** Récepteur canal sodium voltage-dépendant



**Figure 8 :** Schéma de la structure du canal sodium voltage-dépendant.

La sous-unité  $\alpha$  est formée par un polypeptide unique avec quatre (4) domaines homologues (I-IV) composés eux-mêmes de six (6) hélices transmembranaires (S1-S6). Les quatre (4) domaines homologues s'assemblent au niveau des hélices S5, S6 et des boucles S5-S6 (P-loops) pour former un pore (PD) permettant le passage d'ions  $\text{Na}^+$ . Les autres hélices (S1 à S4) sont



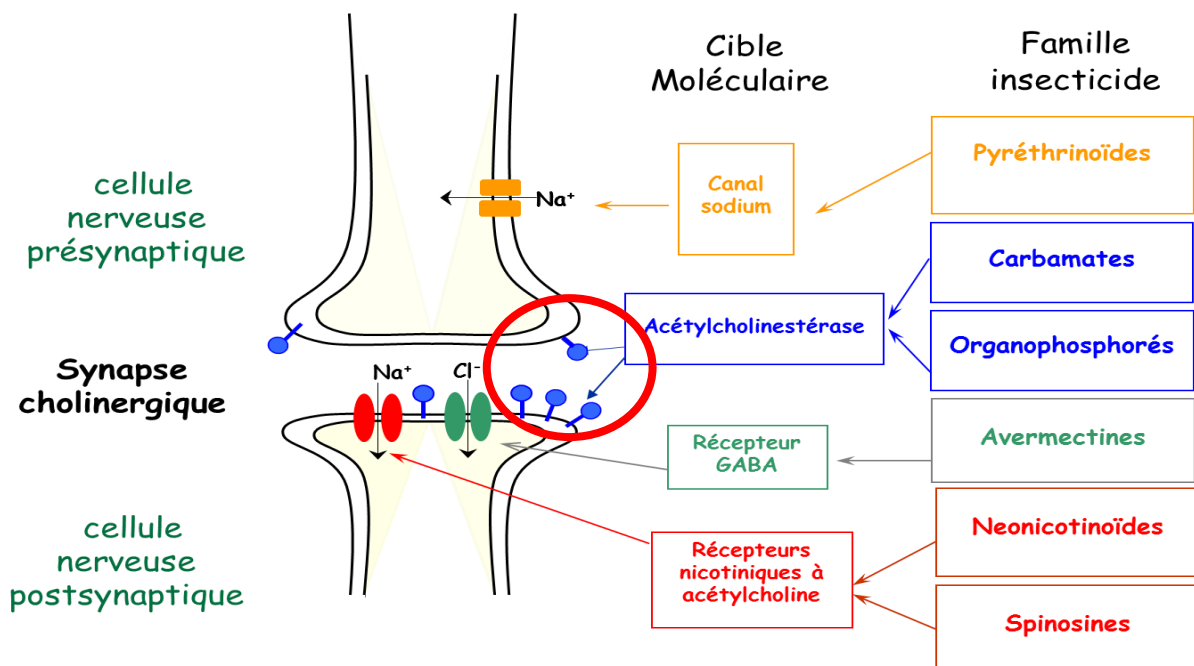
responsables de la sensibilité au potentiel de membrane du récepteur en formant quatre (4) domaines senseurs (VSD). (d'après Davies *et al.*, 2007).

Chez les insectes, le DDT et les pyréthriinoïdes provoquent des mouvements convulsifs, la paralysie puis la mort. Au niveau moléculaire, ces insecticides se fixent préférentiellement sur le canal sodium ouvert. Cette liaison ralentit la fermeture du canal conservant ainsi le passage d'ions  $\text{Na}^+$  à travers la membrane. (Davies *et al.*, 2007). Cette étape engendre la mise en place d'un état stable hyperexcité de la cellule qui produit un effet paralysant chez l'insecte appelé ``knock down``.

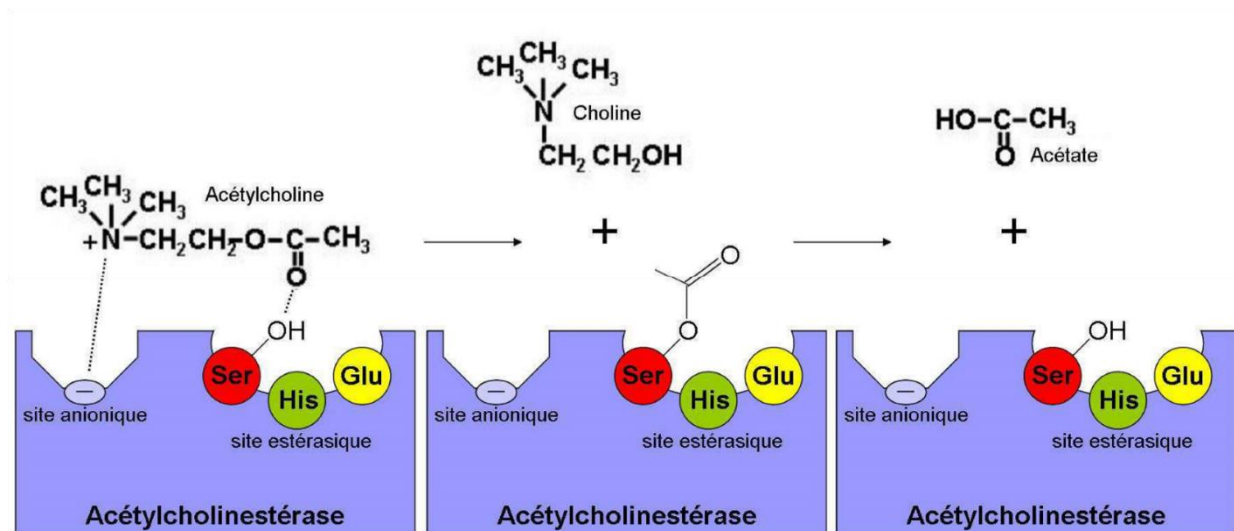
#### 1.5.4.2.3. Acétylcholinestérase (AChE)

La protéine la mieux connue en tant que cible des organophosphorés et des carbamates est l'acétylcholinestérase (Figure 9). Cette enzyme hydrolyse l'acétylcholine pour stopper la transmission synaptique et réguler la concentration de ce neurotransmetteur dans la synapse cholinergique.

L'acétylcholine réagit avec les sites actifs de l'acétylcholinestérase (site anionique et la triade catalytique: Ser-His-Glu) et subit une hydrolyse. La choline est ainsi libérée et un intermédiaire ``acétyl-enzyme`` est formé (Soreq and Seidman, 2001). Une deuxième étape d'hydrolyse permet la libération d'acétate et régénère l'acétylcholinestérase (Figure 10).



**Figure 9 :** Récepteur de l'acétylcholine estérase



**Figure 10 :** Réaction enzymatique de l'acétylcholinestérase

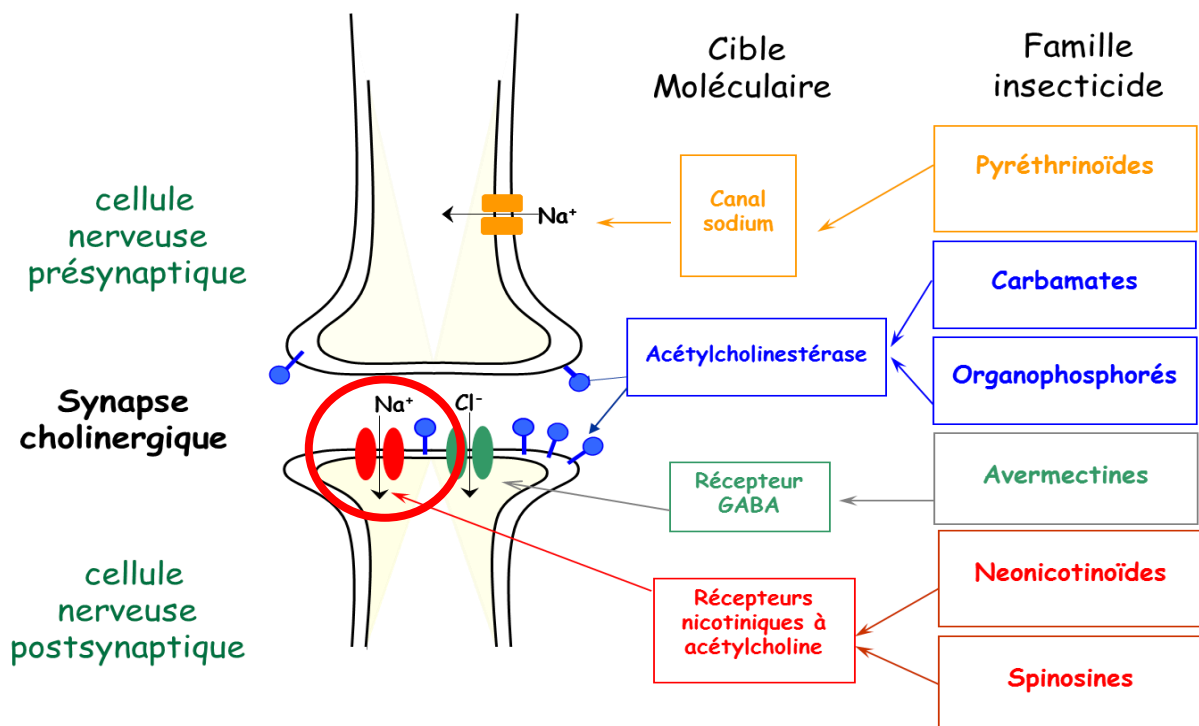
*Réaction de l'acétylcholine avec les sites actifs (site anionique et site estérasique) de l'acétylcholinestérase. L'hydrolyse de l'acétylcholine permet ensuite la libération de la choline et la formation de l'acétyl-enzyme. Une deuxième hydrolyse permet la libération de l'acétate et régénère l'acétylcholinestérase.*

#### 1.5.4.2.4. Récepteur nicotinique à l'acétylcholine

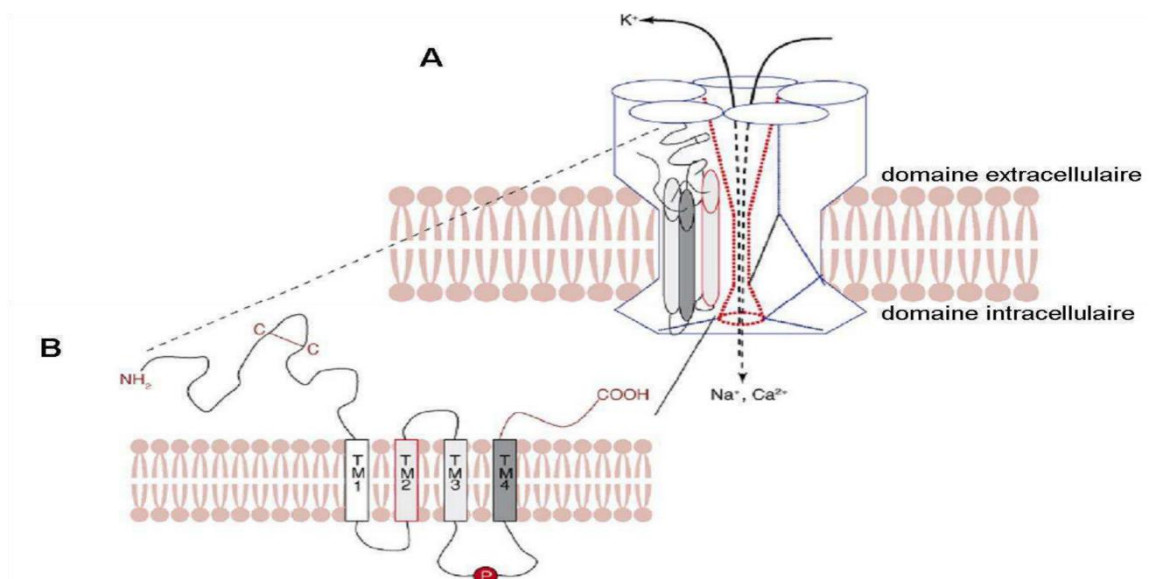
Le récepteur nicotinique à l'acétylcholine (nAChR) est la cible des néonicotinoïdes et des spynosynes (Figure 11). L'acétylcholine est le principal neurotransmetteur excitateur du système nerveux central des insectes permettant une neurotransmission rapide. Les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine font partie de la superfamille des récepteurs "Cys loop" comme les récepteurs GABA. Les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine (nAChRs) sont des récepteurs pentamériques. Les sous-unités du récepteur sont formées d'un domaine N-terminal extracellulaire qui contient six régions distinctes (boucles A à F impliquées dans le site de liaison à l'acétylcholine) puis de quatre domaines transmembranaires et d'un domaine C-terminal extracellulaire (Figure 12).

Une fois libérée dans la fente synaptique, l'acétylcholine va se fixer sur le nAChR au niveau du site de liaison. Cette fixation va induire un changement conformationnel du récepteur permettant l'ouverture du canal et le passage sélectif d'ions (un courant entrant d'ions Na<sup>+</sup> et Ca<sup>2+</sup> et un courant sortant K<sup>+</sup>). Ces courants vont perturber l'équilibre du potentiel de membrane et induire une dépolarisation membranaire permettant la neurotransmission.

La fixation des néonicotinoïdes sur le nAChR entraîne l'ouverture du canal qui permet l'entrée d'ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$  et la sortie d'ions  $\text{K}^+$ . Ces courants ioniques perturbent le potentiel de membrane qui conduit au phénomène de dépolarisation. Ces insecticides ne peuvent être dégradés par l'acétylcholinestérase dans la fente synaptique ; leurs actions se prolongent donc au niveau du nAChR et conduit à une dépolarisation permanente de la membrane, ce qui provoque chez l'insecte la paralysie puis la mort.



**Figure 11** : Récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine



**Figure 12** : Structure du récepteur nicotinique à l'acétylcholine

*(A) récepteur pentamérique formant un pore sélectif aux ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  à travers la membrane plasmique. (B) chaque sous-unité est composée de 4 domaines transmembranaires (TM1-TM4). La boucle intracellulaire entre le domaine TM3 et TM4 présente un site potentiel de phosphorylation. (d'après Thany et al., 2007).*

## CHAPITRE 2

# Matériel et Méthodes

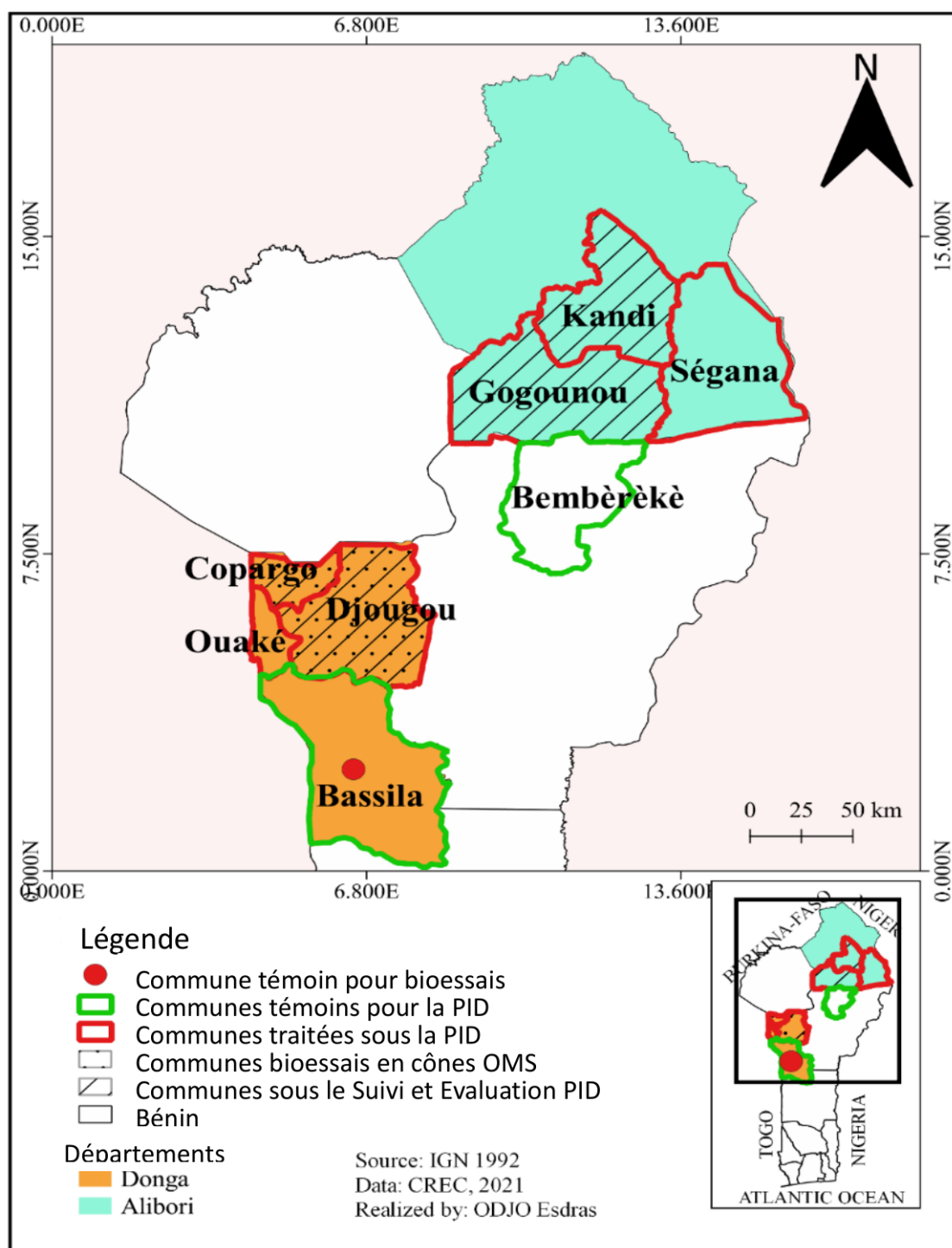
## 2.1. Zone d'étude

La zone sanitaire (ZS) Djougou, Ouaké, Copargo (DOC) dans le département de la Donga et Kandi, Gogounou, Ségbana (DGS) dans le département de l'Alibori ont été protégées par la PID pendant la période d'étude (Figure 13). Au total, 6 communes dont 4 (Djougou, Copargo, Kandi et Gogounou) sous la couverture de la PID et deux 2 autres non traitées à l'insecticide (Bassila pour le département de la Donga et Bembèrèkè pour le département de l'Alibori) ont servi de témoins pour le suivi et évaluation entomologique (S&E) de la PID. Les communes témoins ont été choisies en tenant compte de leur proximité et de leur condition climatique similaire aux communes pulvérisées sous le suivi et évaluation.

Chacune des communes est caractérisée par deux saisons : une saison pluvieuse correspondant à la période après la PID où la transmission du paludisme augmente et une saison sèche. Les campagnes de pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide à effet rémanent ont été déroulées à la fin de la saison sèche. Le tableau I montre les différents sites de collecte par commune.

**Tableau I.** Sites d'échantillonnage des moustiques et leurs coordonnées géographiques.

| Commune          | Village      | Zone     | Site traité et non traité | Latitude    | Longitude  |
|------------------|--------------|----------|---------------------------|-------------|------------|
| <b>Bassila</b>   | Bassila1     | Témoin   | Non traité                | 9.00918462  | 1.66927964 |
|                  | Penessoulou  | Témoin   | Non traité                | 9.2409439   | 1.5488116  |
| <b>Bembèrèkè</b> | Kossou       | Témoin   | Non traité                | 10.2274045  | 2.6713803  |
|                  | Gamia        | Témoin   | Non traité                | 10.3908488  | 2.73215939 |
| <b>Copargo</b>   | Kparakouna 2 | Zone PID | Traité                    | 9.83107856  | 1.54847018 |
|                  | Tchaklerou   | Zone PID | Traité                    | 9.80252273  | 1.56619555 |
| <b>Djougou</b>   | Anoum        | Zone PID | Traité                    | 9.7016932   | 1.4946851  |
|                  | Nangatchori  | Zone PID | Traité                    | 9.64954298  | 1.73727218 |
| <b>Gogounou</b>  | Borodarou    | Zone PID | Traité                    | 10.83481895 | 2.83115711 |
|                  | Sounon-gar   | Zone PID | Traité                    | 10.95228149 | 2.86367415 |
| <b>Kandi</b>     | Donwari      | Zone PID | Traité                    | 11.13401064 | 2.93826671 |
|                  | Padé         | Zone PID | Traité                    | 11.04346829 | 2.8871131  |

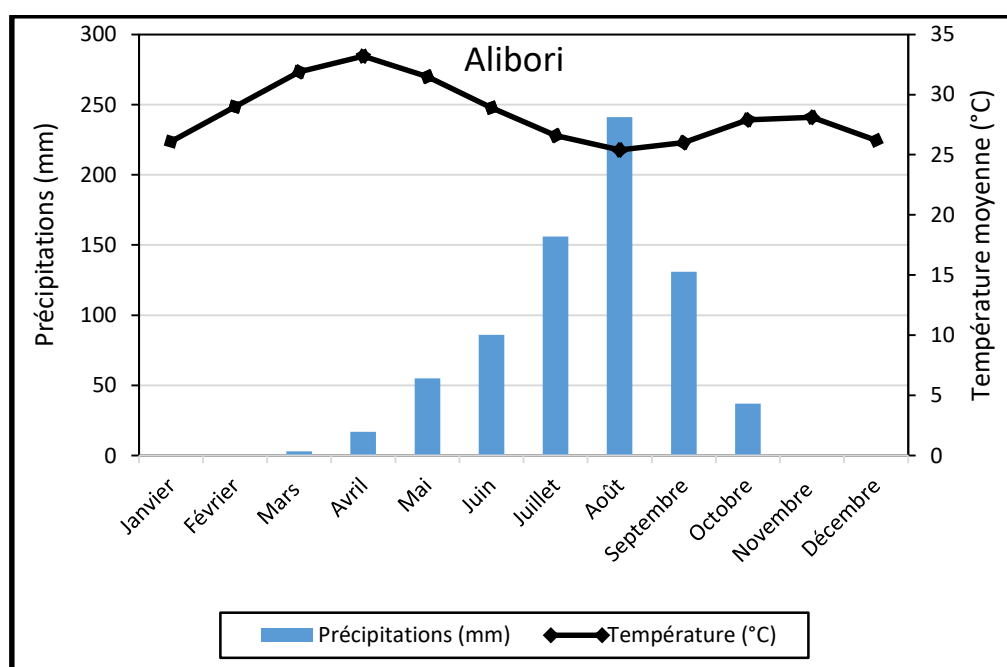


**Figure 13 :** Carte montrant les zones d'évaluation de la PID

### 2.1.1. Département de l'Alibori

Situé entre 11°19' de latitude Nord et 2°55' de longitude Est, l'Alibori est un département du Nord-Est Bénin. D'une superficie de 26 242 km<sup>2</sup> (23% du territoire national), l'Alibori est subdivisé en six (6) communes que sont Malanville, Karimama, Sègbana, Gogounou, Banikoara et Kandi, composant quarante-et-un (41) arrondissements et 229 villages et quartiers

de villes. Le climat est du type soudanien dans sa partie Sud vers le type soudanosahélien dans sa partie Nord (communes de Karimama et de Malanville). Elle ne connaît qu'une seule saison de pluie qui dure entre cinq (5) à six (6) mois avec une pluviosité annuelle oscillante entre 700 mm et 1 200 mm (Figure 14). Le relief est dans son ensemble formé de plateaux parfois modelés dans une série sédimentaire du crétacé ou de plateaux couronnés de buttes cuirassées qui descendent vers le fleuve Niger et de collines de grès ferrugineux. Les cours d'eau qu'on y trouve sont principalement les affluents du côté Béninois du fleuve Niger : l'Alibori, le Mékrou et la Sota. La population du département de l'Alibori dénombrée au RGPH4 de mai 2013 est de 867 463 habitants. Gogounou (117 523) et Kandi (179 290) sont respectivement la 4<sup>ème</sup> et la 2<sup>ème</sup> communes les plus peuplées du département.



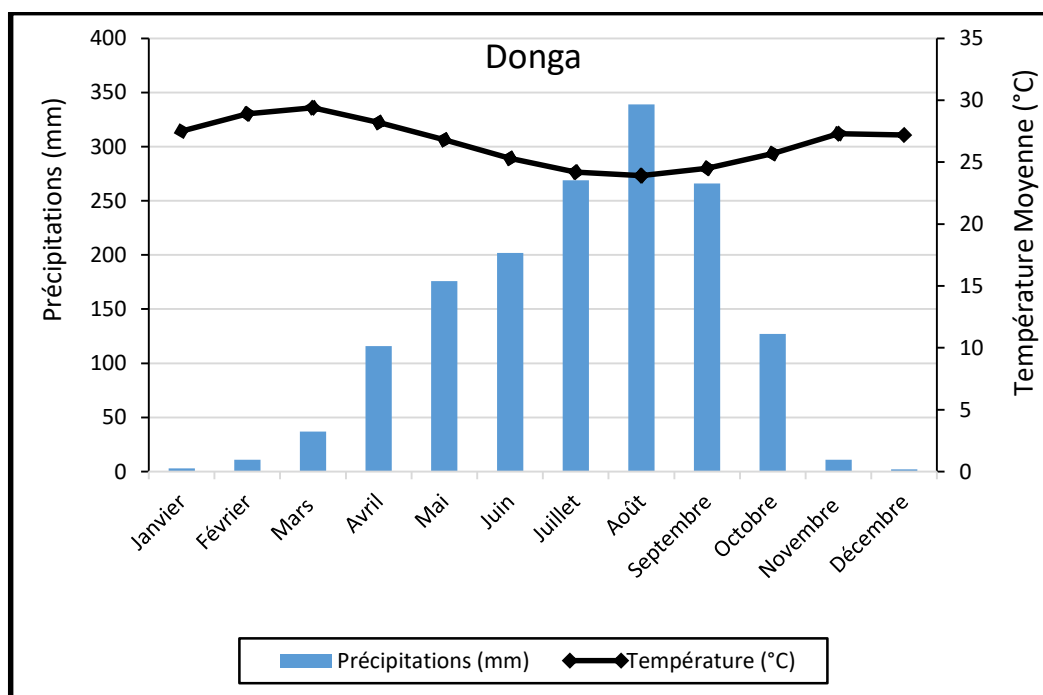
**Figure 14 :** Données climatiques mensuelles du département de l'Alibori

### 2.1.2. Département de la Donga

Le département de la Donga est issu de l'ancien département de l'Atacora dont il occupait la zone sud. Il s'étend sur une superficie de 11 126 km<sup>2</sup>. Il est subdivisé en quatre (4) communes à savoir : Djougou (Chef-lieu du département), Bassila, Copargo et Ouaké. Ces communes sont subdivisées en vingt-six (26) arrondissements et cent soixante-dix-sept (177) villages et quartiers de ville. Le relief du département de la Donga est constitué des chaînons des Tanékas (654 m) et surtout de plaines mollement ondulées de 150 m à 200 m d'altitude. Le climat est du type soudano-guinéen, caractérisé par une saison sèche qui couvre la période de mi-Octobre à mi-Avril et une saison pluvieuse entre mi-Avril et mi-Octobre. La normale des précipitations



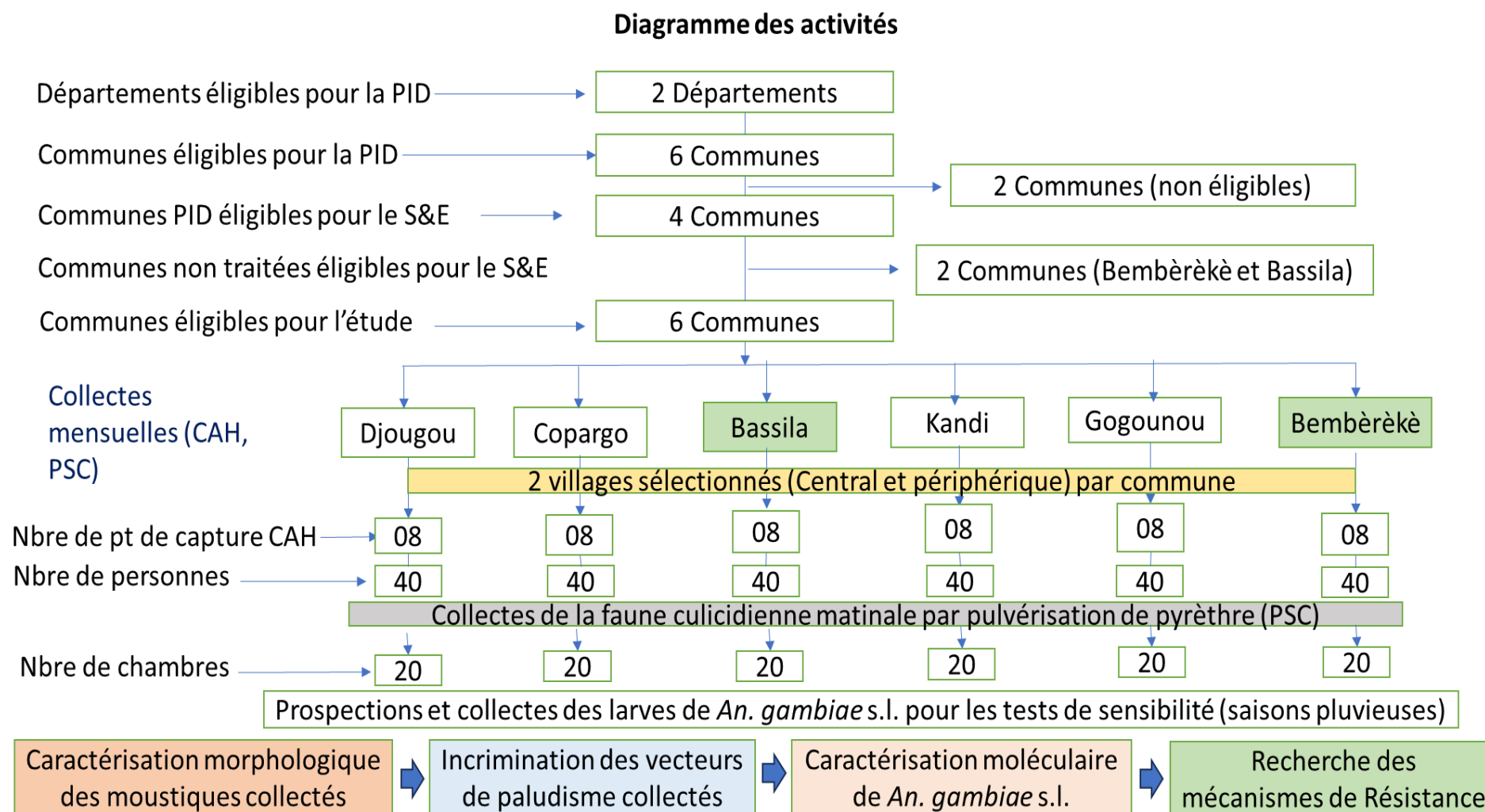
annuelles se situe entre 1200 mm et 1300 mm avec le mois d'Août comme le mois le plus pluvieux (Figure 15). C'est dans ce département que le fleuve Ouémé prend sa source (Tanéka-Koko) et se jette dans l'Océan Atlantique. En saison pluvieuse, les cours d'eau entraînent des submersions favorables à la pratique de la riziculture dans les bas-fonds. La végétation est dense le long des cours d'eau et constitue ainsi des forêts galeries. Les forêts classées occupent plus de la moitié de la superficie de la commune de Bassila et une partie de la commune de Djougou où l'on rencontre la savane arborée ou arbustive. La population du département de la Donga s'élève à 543 130 habitants selon le quatrième Recensement Général de la Population et de l'Habitation (RGPH4). Deux communes du département ont un effectif de plus de 100 000 habitants : Djougou (267 812 habitants) et Bassila (130 091 habitants). La densité de population de ce département est de 49 habitants au km<sup>2</sup>.



**Figure 15 :** Données climatiques mensuelles du département de la Donga

## 2.2. Diagramme des activités

Le diagramme ci-dessous représente la procédure des activités de la présente étude sous forme de graphique.



**Figure 16** : Diagramme détaillé des activités dans la zone d'étude

## **2.3. Efficacité et activité résiduelle des insecticides à base de clothianidine sur *Anopheles gambiae* s.l. résistant au pyréthrinoloïde et au carbamate en PID à grande échelle**

### **2.3.1. Population à protéger par les PID et traitement des structures**

#### **2.3.1.1. Structures à pulvériser et populations à protéger par les PID**

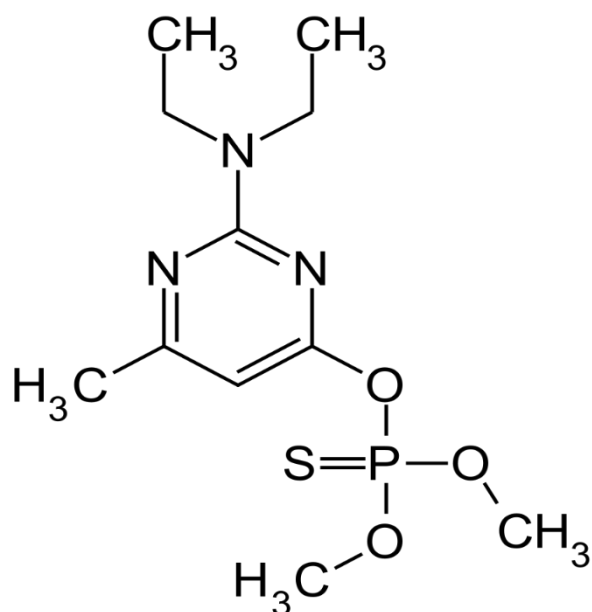
En 2019, dans les départements d'Alibori et de Donga, l'utilisation du pirimiphos-méthyl 300 CS a permis de cibler 335 978 structures, visant ainsi à protéger 1 112 610 individus. En 2020, c'est le mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5g/kg qui a été utilisé dans le même objectif. Sur un total de 387 711 structures identifiées par les équipes de pulvérisation, 335 207 ont été traitées, ce qui représente une couverture de 86,5%. Ces opérations ont eu lieu dans les communes de Djougou, Copargo, Ouaké (dans le département de la Donga) et Kandi, Gogounou, Segbana (dans le département de l'Alibori). Cette opération a permis de protéger 1.077.411 personnes (551.157 dans la Donga et 526.254 dans l'Alibori) dont 243.648 (22,6%) enfants de moins de cinq ans (123.424 dans la Donga et 120.224 dans la l'Alibori) et 51.872 (4,8%) des femmes enceintes (28.703 dans la Donga et 23.169 dans l'Alibori). En 2021, 280.237 structures ont été pulvérisées dans les deux départements avec la clothianidine 50 WG pour protéger 927.007 personnes. Par rapport à 2019 et 2020, une diminution du taux de couverture de 16,40% a été observée exposant plus de 150.404 personnes aux piqûres des moustiques.

#### **2.3.1.2. Traitement des structures**

##### **2.3.1.2.1. Formulations d'insecticides évalués**

###### **2.3.1.2.1.1. Pirimiphos-méthyl 300 CS en 2019**

Le pirimiphos-méthyl (PM) en suspension de capsule est un insecticide pré-qualifié par l'OMS et approprié pour la pulvérisation intradomiciliaire (PID). Appartenant à la famille des organophosphorés, le pirimiphos-méthyl 300 CS aurait une activité résiduelle relativement prolongée comparativement à d'autres insecticides (pyréthrinoloïde et carbamate) utilisés dans la PID. La pulvérisation a été effectuée pour atteindre la dose recommandée pour la lutte contre le paludisme, à savoir 1,0 g d'ingrédient actif/m<sup>2</sup>. Les organophosphorés sont tirés de l'acide phosphorique. La fixation des molécules actives du PM (Figure 17) après oxydation sur l'acétylcholinestérase entraîne l'accumulation d'acétylcholine dans la jonction synaptique. Les récepteurs de l'acétylcholine se bloquent en position ouverte au moment où la concentration du PM devient trop forte entraînant la paralysie puis la mort du moustique.



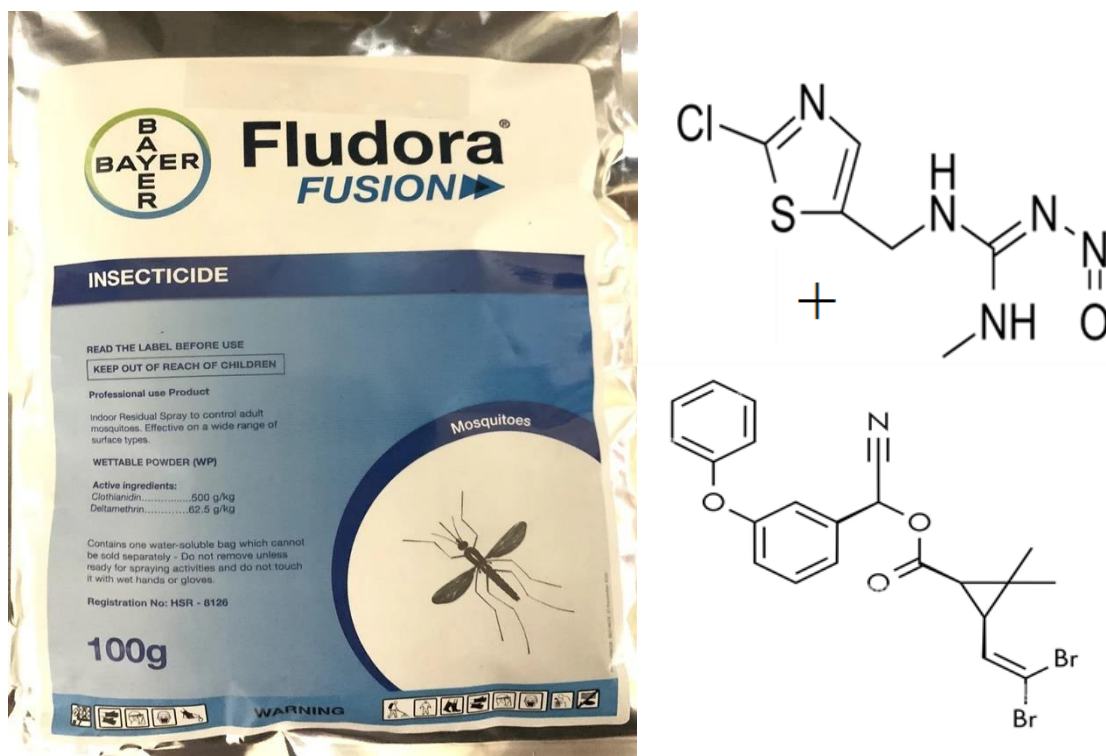
**Figure 17** : Structure moléculaire du pirimiphos-méthyl

#### 2.3.1.2.1.2. Clothianidine 500 g/kg + Deltaméthrine 62,5 g/kg (56.25 WP) en 2020

La formulation de poudre mouillable (WP) contenant la clothianidine (500g/kg) et la deltaméthrine (62,5 g/kg) est conditionnée en sachets de 100g pour la pulvérisation intradomiciliaire contre les insectes vecteurs (Figure 18). Autorisée par (WHOPES, 2018), le taux d'application recommandé est de 0,4 g de produit/m<sup>2</sup>, ce qui correspond à 200 mg/m<sup>2</sup> de clothianidine et 25 mg de deltaméthrine/m<sup>2</sup>. Deux familles d'insecticides sont impliquées dans la formulation : les pyréthriinoïdes et les néonicotinoïdes. Les pyréthriinoïdes sont des dérivés synthétiques des pyréthrines extraits des fleurs du chrysanthème. Ils exercent sur les moustiques un effet rapide parfois réversible appelé effet « Knock-Down » (effet KD). Les pyréthriinoïdes agissent sur le système nerveux central et périphérique en modifiant les caractéristiques électrophysiologiques des protéines des canaux sodium voltage-dépendant CnaVdp. Ces canaux une fois activés (c'est-à-dire en position ouverte), entraînent un flux d'ion sodium du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire générant un potentiel d'action. Cette dépolarisation de la membrane cellulaire provoque l'activation du CnaVdp situé à proximité et de proche en proche engendrant une vague de dépolarisation assurant la propagation de l'influx nerveux (Chapman, 1969).

La quantité d'eau utilisée dépend des types de surface, 40ml/m<sup>2</sup> et 20ml/m<sup>2</sup> respectivement pour les surfaces poreuses et non poreuses. Les risques des agents pulvérisateurs et des résidents exposés au mélange clothianidine + deltaméthrine WP 56,25 ont été analysés selon les

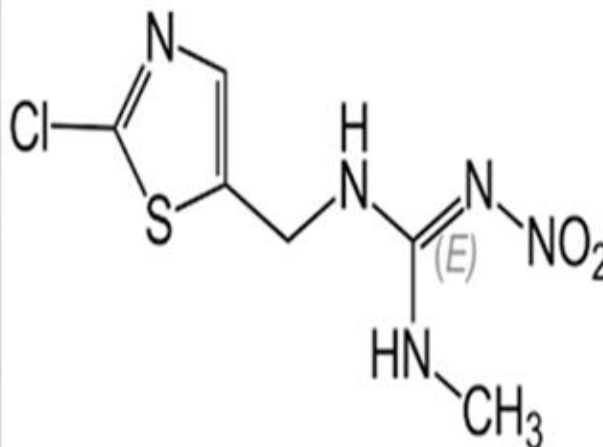
directives de l'ONG (Generic risk assessment model for Indoor Residual Spraying of insecticides ; First Revision, February, 2011)



**Figure 18** : Sachet de 100g et structure moléculaire du mélange clothianidine et deltaméthrine

### 2.3.1.2.1.3. Clothianidine 50 WG

La clothianidine, une classe des néonicotinoïdes est un insecticide de synthèse à usage de santé publique. La clothianidine en tant que principe actif a été préqualifiée par le système d'évaluation des pesticides de l'Organisation Mondiale de la Santé (WHOPES, 2017) en 2017. Le mode d'action de la clothianidine est particulier et assez lent. L'insecticide tue les insectes en se liant au récepteur nicotinique de l'acétylcholine, interrompant la transmission de l'impulsion. Il a été appliqué à 300 mg ai/m<sup>2</sup> contre la population d'anophèles résistants aux pyréthrinoïdes (Figure 19).



**Figure 19** : Sachet de 150 g et structure moléculaire de la clothianidine

### 2.3.1.2.2. Pulvérisation des murs intérieurs des structures éligibles

Initialement, une série d'activités visant à informer, éduquer et communiquer sur l'importance sanitaire de la campagne de pulvérisation, ainsi que sur les changements de comportement nécessaires pour assurer la protection de la population cible avant, pendant et après l'opération de traitement des structures, a été entreprise. Par la suite, le traitement des murs intérieurs des habitations par les agents pulvérisateurs, supervisés par les coordinateurs, impliquait l'application d'insecticides sur les surfaces murales à l'intérieur des maisons.

Les produits ont été appliqués au moyen des pulvérisateurs équipés d'une buse n° 8002E étalonnée répondant aux spécifications de l'OMS (Figure 20) et de régulateur de débit rouge. L'embout de pulvérisateur a été maintenu à 45 cm de la surface à traiter pour assurer un balayage de pulvérisation de 70 cm. Une superficie de 19 m<sup>2</sup> a été traitée en une minute par un agent pulvérisateur.



**Figure 20** : Préparation de la solution insecticide et pulvérisation des structures

### **2.3.2. Test de sensibilité aux insecticides**

Les tests en tube OMS ont été effectués chaque année (2019, 2020 et 2021) pour mesurer la sensibilité des populations de *Anopheles gambiae* s.l. de différentes communes sous intervention PID. Les larves ont été collectées dans des sites de reproduction naturels pendant les saisons des pluies dans les communes sous PID (Djougou, Copargo, Kandi et Gogounou). Les larves de moustiques collectées ont été transportées à l'insectarium du CREC où elles ont été maintenues à  $27 \pm 2^\circ \text{C}$  et  $72 \pm 5\%$  d'humidité relative. Les adultes émergés ont reçu une solution sucrée à 10% dans du coton. Des adultes de *Anopheles gambiae* s.l. âgés de 2 à 5 jours, non alimentés du sang ont été utilisés pour les tests de sensibilité de l'OMS. Trois classes d'insecticides (pyréthrinaïde, carbamate et organochloré) couramment utilisés pour le contrôle des vecteurs au Bénin ont été examinées. Le statut de susceptibilité de la population a été classé selon le protocole de l'OMS (WHO, 2006).

- Si le taux de mortalité est compris entre 98 et 100 %, la population de moustiques est considérée comme sensible à l'insecticide testé.
- Quand les tests biologiques révélaient un taux de mortalité compris entre 90 et 97%, la population de moustiques était suspectée d'être résistante à l'insecticide testé.
- Lorsque les essais biologiques donnent un taux de mortalité inférieur à 90 %, la population de moustiques est considérée comme résistante à l'insecticide testé.

### **2.3.3. Evaluation de l'activité résiduelle des trois insecticides**

Les études de la rémanence ont été effectuées uniquement dans le département de la Donga (Communes de Djougou et Copargo). Ce choix s'explique par le niveau élevé de la température dans l'Alibori qui pourrait influencer la mortalité des moustiques et par conséquent biaiser les résultats.

Les tests en cône sur les murs traités et non traités (témoins) ont été réalisés avec la souche sensible de référence "Kisumu" de *Anopheles gambiae* en production à l'insectarium du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC).

#### **2.3.3.1. Sélection des maisons et préparation du matériel biologique**

Dans chacune des communes de Djougou et de Copargo, deux villages ont été sélectionnés, l'un présentant un caractère urbain et l'autre un caractère rural, afin d'évaluer l'efficacité et l'activité résiduelle de chaque insecticide utilisé. Durant la pulvérisation, dix maisons en ciment, dix en banco et quatre non traitées servant de stockage alimentaire ont été sélectionnées dans

chaque village. Les quatre (4) dernières non pulvérisées dont deux (2) en ciment et deux (2) en banco ont été identifiées pour servir de témoins. Au total, 96 maisons échantillonnées dans les communes de Djougou et Copargo ont servi à évaluer la qualité de la PID et l'activité résiduelle des produits insecticides utilisés.

Le contrôle de qualité a été réalisé une semaine après la pulvérisation en exposant des moustiques sensibles (Kisumu) de *An. gambiae* aux murs traités. Les maisons présentant un taux de mortalité inférieur à 98%, 72 heures après l'exposition, ont été remplacées par d'autres pour une évaluation plus précise de l'effet résiduel de l'insecticide. Le suivi de cette activité résiduelle pour chaque insecticide a été effectué chaque mois dans les communes traitées sous surveillance entomologique. Les moustiques sensibles, élevés au laboratoire du CREC dans des conditions contrôlées, ont été transportés dans les communes à la veille des bioessais, puis conservés dans des conditions similaires sur le terrain. Après les tests, ils ont été placés dans des chambres climatisées respectant les mêmes conditions environnementales jusqu'à la fin des mesures de mortalité. Des précautions ont été prises pour protéger les moustiques des prédateurs, notamment en trempant les pieds des tables dans des bacs d'eau.

#### **2.3.3.2. Test en cône**

Le test en cône a été conduit en 2019, 2020 et 2021 suivant le protocole de l'OMS (WHO, 2006). Quatre cônes ont été placés sur les diverses faces du mur intérieur (0.5m, 1m, 1.5m et 2m) de chaque structure (Ciment et Banco) à tester. Au niveau de chaque cône, dix jeunes femelles (2-5 jours) de *Anopheles gambiae* 'Kisumu' ont été introduites et laissées en contact des murs pendant 30 minutes puis retirées des cônes et transférées dans des gobelets stériles voilés sur lesquels ont été posés des tampons de coton imbibés de jus sucré (solution de sucre à 10%) qui servent à nourrir les moustiques (Figure 21). Les taux de mortalité ont été enregistrés au niveau de chaque lot de moustiques par type de structure après 24 h, 48h et 72h de mise en observation à  $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et  $80\% \pm 10\%$  d'humidité relative. Lorsque la mortalité des témoins était comprise entre 5 et 20 %, la mortalité corrigée a été calculée à l'aide de la formule d'Abott's. Si la mortalité des témoins était  $>20\%$ , le test était annulé et repris. Si la mortalité était  $<5\%$ , le test était valide et aucune correction n'était nécessaire. Le seuil d'efficacité pour chaque insecticide a été de 80%.





**Figure 21:** Exposition des moustiques *An. gambiae* pendant 30 minutes à des murs en ciment et en banco traités: lecture de la mortalité après 24 heures, 48 heures et 72 heures d'observation.

#### 2.3.3.3. Paramètres mesurés

Quatre paramètres ont été évalués : le niveau de sensibilité des populations locales de *An. gambiae* s.l. aux insecticides, l'effet knock-down ou mortalité immédiate après 30 minutes d'exposition au mur traité à l'insecticide, la mortalité différée et l'efficacité résiduelle de chaque insecticide.

#### 2.3.3.4. Analyse statistique

Les données ont été analysées simultanément avec Excel 2013, Graph Pad Prism 5 et le logiciel statistique R, version 4.1.3. Les graphes ont été réalisés par Excel et Graph Pad Prism 5. Le test de Chi-carré de comparaison des proportions a été utilisé pour déterminer les pourcentages de significativité ainsi que les intervalles de confiance.

## **2.4. Impact de l'effet du mélange clothianidine + deltaméthrine et de clothianidine seule sur les indicateurs entomologiques de transmission du paludisme comparé à celui du pirimiphos-méthyl dans les zones sous couverture de la PID à grande échelle**

### **2.4.1. Collecte de moustiques adultes**

La capture sur appât humain (CAH) et la collecte de la faune culicidiène matinale par asperpersion d'insecticide non rémanent à l'intérieur des habitations (PSC) ont permis d'échantillonner des moustiques dans les six (6) communes sélectionnées pour le suivi et évaluation de la PID en 2019, 2020 et 2021. Pour chaque méthode d'échantillonnage, les moustiques ont été collectés dans deux villages par commune dont un village situé au centre de la commune, et un village à la périphérie. A l'intérieur de chaque village, les moustiques ont été collectés par CAH dans quatre (4) maisons par huit (8) collecteurs de moustiques (4 à l'intérieur et 4 à l'extérieur) de 19 heures à 07 heures. Deux équipes de huit captureurs de moustiques ont été constituées par village. La première équipe a travaillé à l'intérieur et à l'extérieur des habitations sélectionnées de 19h00 à 01h00 et la deuxième équipe de 01h00 à 07h00. Afin d'éviter les biais liés à la capacité de piégeage des captureurs ou à leur attrait individuel, ils ont été placés à tour de rôle dans de différentes chambres. La collecte a été faite avec les tubes à hémolyse et du coton. Les moustiques capturés ont été rangés par lieu de capture, emplacement de capture et par tranche d'heure (Figure 22).



**Figure 22** : Collecte des moustiques adultes sur appât humain par les volontaires locaux

À la veille de chaque CAH, dix (10) habitations ont été sélectionnées dans chaque village pour servir à la collecte par PSC. Cette méthode de collecte vise à estimer la densité moyenne de repos des moustiques à l'intérieur des habitations. Au petit matin, après avoir évacué les membres du ménage, les habitations ont été pulvérisées avec du pyrèthre et maintenues fermées pendant 10 à 15 minutes. Une toile blanche a été disposée au sol pour récupérer les moustiques tombés (voir Figure 23). À la fin du laps de temps spécifié, tous les moustiques tombés au sol ont été collectés et placés dans des boîtes de Pétri. Le nombre de moustiques par chambre ainsi que leur stade d'alimentation sanguine (gorgé, semi-gravide, gravide et à jeun) ont été évalués.



**Figure 23 :** Collecte matinale des moustiques adultes par pulvérisation de pyrèthre (PSC)

#### **2.4.2. Identification morphologique des espèces vectrices**

Les moustiques qui ont été collectés par CAH et par PSC, ont été identifiés morphologiquement à l'aide de la clé taxonomique de Gillies & Meillon (Gillies & Meillon, 1968) et enregistrés par village, lieu, emplacement de capture et par tranche d'heures (Figure 24). Les spécimens de vecteurs du paludisme ont été conservés individuellement dans des tubes eppendorfs étiquetés contenant du silicagel et du coton et gardés dans des cryoboîtes.

L'ADN de l'abdomen, les pattes et les ailes de *An. gambiae* (s.l.) capturés par CAH ont été analysés par PCR selon le protocole de Santolamazza et al. (2008) pour la caractérisation moléculaire des espèces du complexe.



**Figure 24** : Identification morphologique et enregistrement des moustiques collectés par localités, par emplacement et par tranche horaire

#### **2.4.3. Parturité et infection au *Plasmodium falciparum***

Un échantillonnage de *An. gambiae* s.l. capturés sur appâts humains a été disséqué et un examen des trachéoles (étirées ou en pelotes) a été fait pour déterminer l'âge physiologique des vecteurs du paludisme des différents départements (Detinova TS, Gillies MT, 1964).

Les têtes et thorax de *An. gambiae* s.l. ont été séparés du moustique entier et analysés par la méthode ELISA pour rechercher l'antigène circumsporozoïtique (CSP) déterminant la présence du *Plasmodium falciparum* selon le protocole de Wirtz *et al.*, 1984. L'ADN du reste du moustique (abdomens, ailes et pattes) a été utilisé pour la recherche des mécanismes de résistance *kdr-L995F* et *ace-1 G280S* par la PCR respectivement suivant les protocoles de Martinez *et al.*, 1998 et de Weill *et al.*, 2004.





**Figure 25** : Dissection des ovaires des anophèles vecteurs et observation des trachéoles

#### **2.4.4. Paramètres entomologiques de transmission**

Les paramètres entomologiques ont été comparés pour les données collectées des campagnes de pulvérisation avec pirimiphos-méthyl 300 CS (2019) et les insecticides à base de clothianidine (2020 et 2021).

Le taux de piqure par homme et par nuit (PHN), indice sporozoïtique (IS), le taux d'inoculation entomologique (TIE), la densité au repos des vecteurs, la parturité, le taux d'alimentation sanguin ont été calculés pour *An. gambiae* s.l. suivant le guide de l'OMS (2014).

#### **2.4.5. Analyse des données**

Les données ont été saisies dans Excel 2013 analysées avec le logiciel statistique R, version 4.1.3. Le test de Chi-carré de comparaison des proportions a été utilisé pour définir les relations entre les zones sous la couverture de la PID par année et les indicateurs suivants : proportion de *An. gambiae* s.l. à l'intérieur et à l'extérieur, taux de gorgement sanguin, taux de parturité de *An. gambiae* (s.l.), indice sporozoïtique. Le test de Poisson a été utilisé pour estimer le rapport de risque (RR) et comparer les intervalles de confiance de la densité vectorielle à l'intérieur et le TIE de *An. gambiae* (s.l.) entre les départements traités par année et les témoins.

## **2.5. Redistribution des fréquences des allèles de résistance au sein des populations de *Anopheles gambiae* s.l. après usage des insecticides à base de clothianidine en pulvérisation intradomiciliaire à grande échelle**

Les moustiques adultes capturés avant la mise en œuvre des PID par CAH et PSC n'ont pas été utilisés. Seuls ceux collectés après la mise en œuvre des PID dans les communes soumises à un suivi et à une évaluation ont été examinés. Ces moustiques ont été collectés pendant les deux saisons (pluvieuse et sèche) qui définissent les communes étudiées.

### **2.5.1. Caractérisation moléculaire de *Anopheles gambiae* s.l.**

#### **2.5.1.1. Extraction de l'ADN du moustique**

Les abdomens, les ailes et les pattes ont été broyés dans 200 µL de 2% de bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB). Après 5 minutes de bain-marie à 65 °C, 200 µL de chloroforme ont été ajoutés au mélange et centrifugés à 12 000 tours/minute pendant 5 minutes. La partie supérieure a été délicatement recueillie dans un autre tube et complétée avec 200 µL d'isopropanol, homogénéisée et centrifugée à nouveau à 12 000 rpm pendant 15 minutes. Le liquide dans le tube a été soigneusement inversé afin de ne pas perdre le culot au fond. 200 µL d'éthanol à 70% ont été ajoutés au culot pour la précipitation. Après 5 min de centrifugation, le contenu du tube a été à nouveau inversé. Le culot a ensuite été égoutté pendant au moins trois (3) heures sur la paillasse. L'ADN extrait a été reconstitué avec 20 µL d'eau stérile et laissé en suspension sur la paillasse pendant une nuit (Myriam et Cécile, 2003).

#### **2.5.1.2. Identification moléculaire des espèces vectrices**

L'ADN génomique extrait a été utilisé pour l'identification moléculaire des espèces du complexe *Anopheles gambiae*. Les ADN de tous les moustiques échantillonnés ont été soumis à la PCR selon le protocole de Scott *et al* (1993), afin d'identifier les différentes espèces du complexe *Anopheles gambiae*. Les amorces utilisées ci-dessous ont permis d'identifier les espèces suivantes : *Anopheles gambiae* s.s. (AG), *Anopheles arabiensis* (AA), *Anopheles melas* (ME), *Anopheles merus* (ME), *Anopheles quadriannulatus* A et B (QD).

UN : 5'-GTGTGCCGCTTCCTCGATGT-3' ;

AG : 5'-CTGGTTTGGTCGGCACGTTT-3' ;

AA : 5'-AAGTGTCCTTCTCCATCCTA-3' ;

ME: 5'-TGACCAACCCACTCCCTTGA-3' ;

QD : 5'-CAGACCAAGATGGTTAGTAT-3'.

La PCR a été réalisée selon un programme de 30 cycles. Dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes, hybridation à 50 °C pendant 30 secondes et élongation à 72 °C pendant 30 secondes. Les copies d'ADN amplifiées ont été conservées à une température finale de 4 °C avant leur migration sur un gel d'agarose à 2,5 % avec du bromure d'éthidium utilisé comme agent intercalant.

La technique de Santolamazza *et al* (2008) a été utilisée pour distinguer les espèces jumelles *Anopheles gambiae* et *Anopheles coluzzii*. Le programme PCR comprend une dénaturation initiale à 94°C pendant 5 minutes, suivie de 35 cycles. Chaque cycle comprend une dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes, une hybridation à 54 °C pendant 30 secondes et une élongation à 72 °C pendant 30 secondes. Une dernière élongation à 72 °C pendant 10 minutes est effectuée pour permettre une amplification complète des séquences. Les amorces suivantes ont été utilisées :

200X6.1F 5'-TCGCCTTAGACCTTGCGTTA-3' et  
200X6.1R 5'-CGCTTCAAGAATTCGAGATAC-3'.

Les produits PCR sont conservés à une température finale de 4°C avant d'être migrés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5% avec du bromure d'éthidium comme agent intercalant.

#### **2.5.1.3. Détection de la mutation *kdr-L995F* du gène canal sodium voltage dépendant (*Vgsc*) chez *An. gambiae* s.l.**

Des études sur des espèces d'insectes ont révélé diverses substitutions du gène *Vgsc* induisant un phénotype de résistance (Williamson *et al.*, 1996 ; Weill *et al.*, 2003). La présence de l'allèle de résistance (*L995F*) du gène *Vgsc* dans les échantillons de *Anopheles gambiae* s.l. collectés sur chaque site d'étude a été détectée par PCR selon le protocole décrit par Martinez-Torres *et al* (1998). Les amorces suivantes ont été utilisées.

Agd1: 5'-ATAGATTCCCCGACCATG-3';

Agd2: 5'-AGACAAGGATGATGAACC-3';

Agd3: 5'-AATTTGCATTACTTACGACA-3';

Agd4: 5'-CTGTAGTGATAGGAAATTTA-3'.

Le programme d'amplification est composé de 40 cycles. Chaque cycle comprend : une dénaturation initiale à 94°C pendant 1 minute, une hybridation à 48°C pendant 2 minutes, et

une élongation à 72°C pendant 2 min. Enfin, cette PCR se termine par une élongation finale à 72°C pendant dix (10) minutes.

#### 2.5.1.4. Détection de la mutation *G280S* du gène acétylcholinestérase (*ace-1*) chez *An. gambiae* s.l.

La mutation *G280S* a été détectée chez les moustiques selon le protocole de Weill *et al.* (2004). Pour cette PCR, les amorces suivantes ont été utilisées :

Moustdir1 5'-CCGGGNGCSACYATGTGGAA-3' et

Moustrev1 5'-ACGATMACGTTCTCCGA-3'.

Le programme d'amplification était composé de trente cycles et chaque cycle comprenait une dénaturation à 94°C pendant 30 s, une hybridation à 52°C pendant 30 s et une élongation à 72°C pendant 1 min. Les produits PCR ont été digérés avec l'enzyme de restriction *AluI* selon les instructions du fabricant avant migration sur un gel d'agarose à 2%.

#### 2.5.2. Analyse statistique

Pour calculer les fréquences alléliques des gènes *kdr-L995F* et *ace-1 G280S* dans chaque commune et par espèce, des tableaux de contingence stratifiés 3×3×3 et 2×3×3 ont été réalisés dans IBM-SPSS Statistics Subscription® (Build 1.0.01406). Le test du chi-carré de Pearson ( $\chi^2$ ) a été utilisé pour la comparaison des proportions. Les fréquences des allèles de *kdr-L995F* et *ace-1R G280S* ont été calculées à l'aide de la formule suivante :

$$F(R) = \frac{2nRR + nRS}{2(nRR + nRS + nSS)}$$

F® est la fréquence de la résistance, n est le nombre de moustiques d'un génotype donné, RR est le génotype résistant homozygote, RS est le génotype résistant hétérozygote et SS est le génotype sensible (Salako *et al.*, 2018).

L'équilibre de Hardy-Weinberg a été vérifié pour chaque population avec le logiciel Genepop version 4.7.5. L'indice de fixation de Weir et Cockerham. (1984) ainsi que la différenciation génétique ont été calculés à l'aide du logiciel Genepop intégré dans le logiciel R version 4.1. 0.



### 2.5.2.1. Indice de fixation $F_{IS}$

Ce paramètre mesure la différence entre la population d'individus trouvés à l'état hétérozygote  $H_O$  et le taux d'hétérozygotes  $H_E$  attendu. Il est également appelé écart de panmixie et est calculé par la formule suivante :  $F_{IS} = 1 - (H_O / H_E)$  au locus donné, dans une population d'individus diploïdes. L'indice de fixation est l'écart par rapport à la structure de Hardy-Weinberg. Il varie de -1 à +1 et donne une indication du déficit en hétérozygotes par population, par locus et pour tous les locus. Le  $F_{IS}$  est positif lorsque la population présente un déficit d'hétérozygotes par rapport à l'équilibre panmictique et négatif dans le cas contraire. Si les hypothèses du modèle de Hardy-Weinberg sont respectées,  $H_O$  sera égal à  $H_E$ . Si l'hétérozygotie observée est inférieure à l'hétérozygotie attendue ( $H_O < H_E$ ), cela signifie qu'il y a plus d'homozygotes que prévu dans les populations étudiées. Cet excès d'homozygotes peut alors être assimilé à un risque de consanguinité, de dérive, de sélection et de différenciation au sein des populations.

### 2.5.2.2. Différenciation génétique de la population $F_{ST}$

Elle fait référence aux variations dans les compositions génétiques entre les individus ou les populations de *Anopheles gambiae* s.l. Ces différences peuvent résulter de divers processus tels que la dérive génétique, la sélection naturelle, la migration et la mutation. Si la différenciation génétique ( $F_{ST}$ ) est égale ou très proche de 0, cela signifie qu'il y a beaucoup d'échanges génétiques entre les populations (peu de différenciation génétique, population panmictique). À l'inverse, si la  $F_{ST}$  est proche de 1, il existe une forte différenciation génétique entre les populations, ce qui suggère un flux de gènes faible ou nul entre les populations. Selon Wright, une  $F_{ST}$  comprise entre 0 et 0,05 indique une faible différenciation ; une  $F_{ST}$  comprise entre 0,05 et 0,15 indique une différenciation modérée ; une  $F_{ST}$  comprise entre 0,15 et 0,25 suggère une différenciation importante et au-delà de 0,25, la  $F_{ST}$  illustre une différenciation très importante (Wright, 1984).

Les différentes communes concernées ont été considérées comme des sous-populations et la différenciation génétique de la population ( $F_{ST}$ ) a été évaluée entre la commune témoin et chaque commune PID par année, mais aussi par commune selon les années de la campagne PID. Les indices de différenciation génétique au sein des populations ( $F_{ST}$ ) ont été calculés à l'aide du logiciel Genepop version 4.7.5.

## CHAPITRE 3

# Résultats et Discussions

### 3.1. Efficacité et activité résiduelle des insecticides à base de clothianidine sur la population d'*Anopheles gambiae* s.l. résistante au pyréthrinoloïde et au carbamate en PID à grande échelle.

Les résultats de cette section ont été publiés dans *Malaria Journal* (**Article 1**)

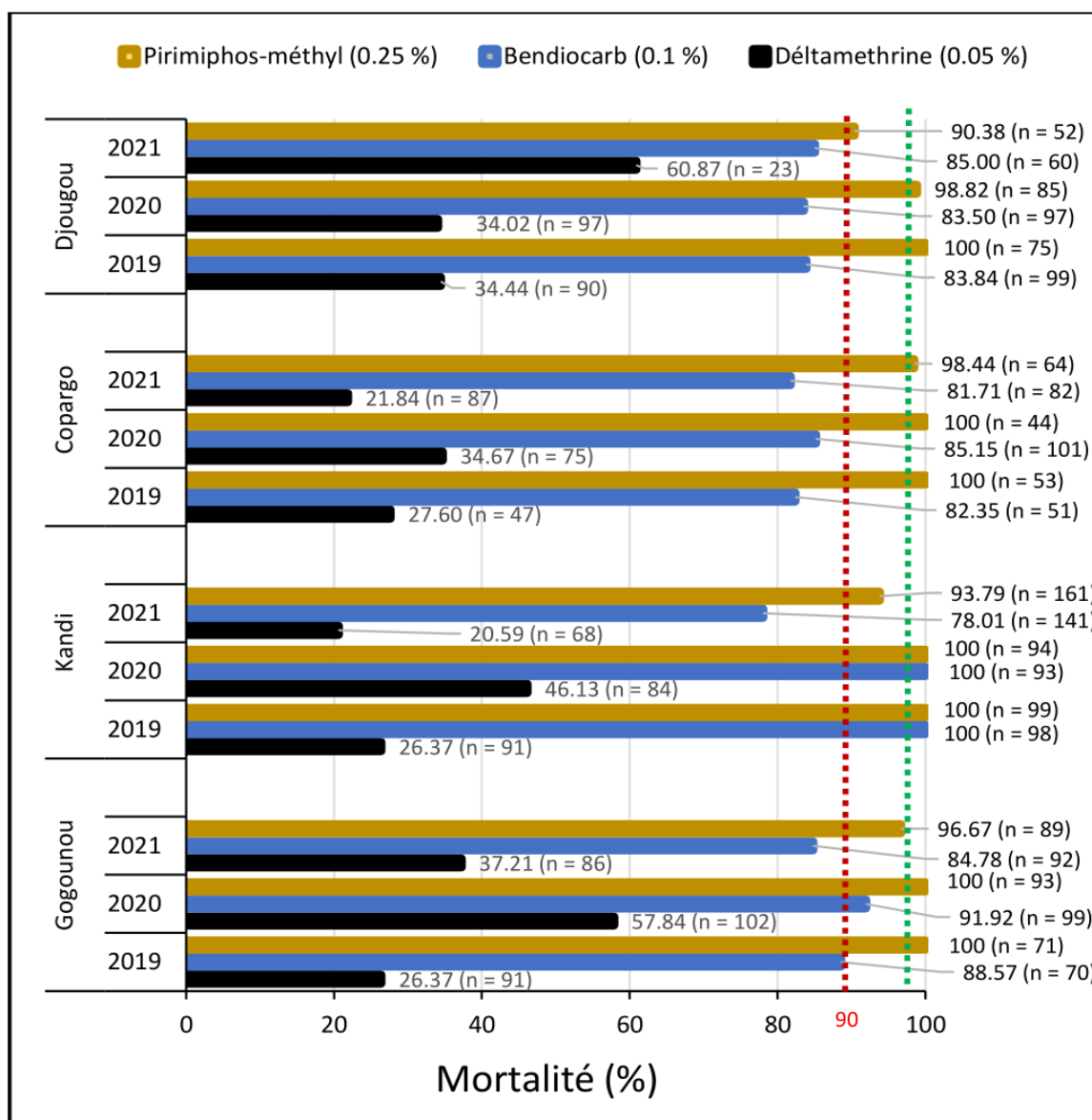
**Esdras Mahoutin Odjo**, A.S. Salako, G.G. Padonou, B. Yovogan, C. J. Adoha, B. Adjottin<sup>1</sup>, A.A. Sominahouin, A. Sovi, R. Osse, C.D. Kpanou, H.W. Sagbohan, Armel Djènontin, Clement Agbangla and M.C. Akogbeto (2023).

What can be learned from the residual efficacy of three formulations of insecticides (pirimiphos-methyl, clothianidin and deltamethrin mixture, and clothianidin alone) in large-scale in community trial in North Benin, West Africa?

*Que peut-on apprendre de l'efficacité résiduelle de trois formulations d'insecticides (pirimiphos-méthyl, mélange de clothianidine et de deltaméthrine, et clothianidine seule) lors d'un essai communautaire à grande échelle dans le nord du Bénin, en Afrique de l'Ouest ?*

#### 3.1.1. Statut de résistance de *An. gambiae* s.l. aux insecticides dans les communes sous la PID.

La figure ci-dessous résume le niveau de sensibilité de *An. gambiae* s.l. (vecteur principal du paludisme dans la zone d'étude) aux insecticides (deltaméthrine 0.05%, bendiocarb 0.1% et pirimiphos méthyl 0.25%) au cours des trois années d'étude. Les populations de moustiques testées ont été résistantes à la deltaméthrine 0.05% dans toutes les communes et pendant les trois années (mortalité < 90%). Pour le bendiocarb 0.1%, les mêmes résultats ont été obtenus ; toutefois, nous avons noté une sensibilité des vecteurs à Kandi en 2019 et 2020 et une suspicion de résistance à Gogounou en 2020. Globalement, les populations de vecteurs ont été sensibles au pirimiphos méthyl 0.25% (mortalité > 98%). Cependant, en 2021 à Djougou, Kandi et Gogounou, les populations locales de vecteurs ont montré une suspicion de résistance au pirimiphos méthyl (mortalité < 90) (Figure 26).



La zone située avant la ligne rouge en tiret (0-90%) indique une résistance aux insecticides ; la zone située entre la ligne rouge en tiret et verte en tiret (90-98%) indique une suspicion de résistance ; la zone située après la ligne verte en tiret indique une sensibilité aux insecticides)

**Figure 26 :** Mortalités observées 24 heures après l'exposition des moustiques à la deltaméthrine 0,05%, au bendiocarb 0,1% et pirimiphos-méthyl 0,25%

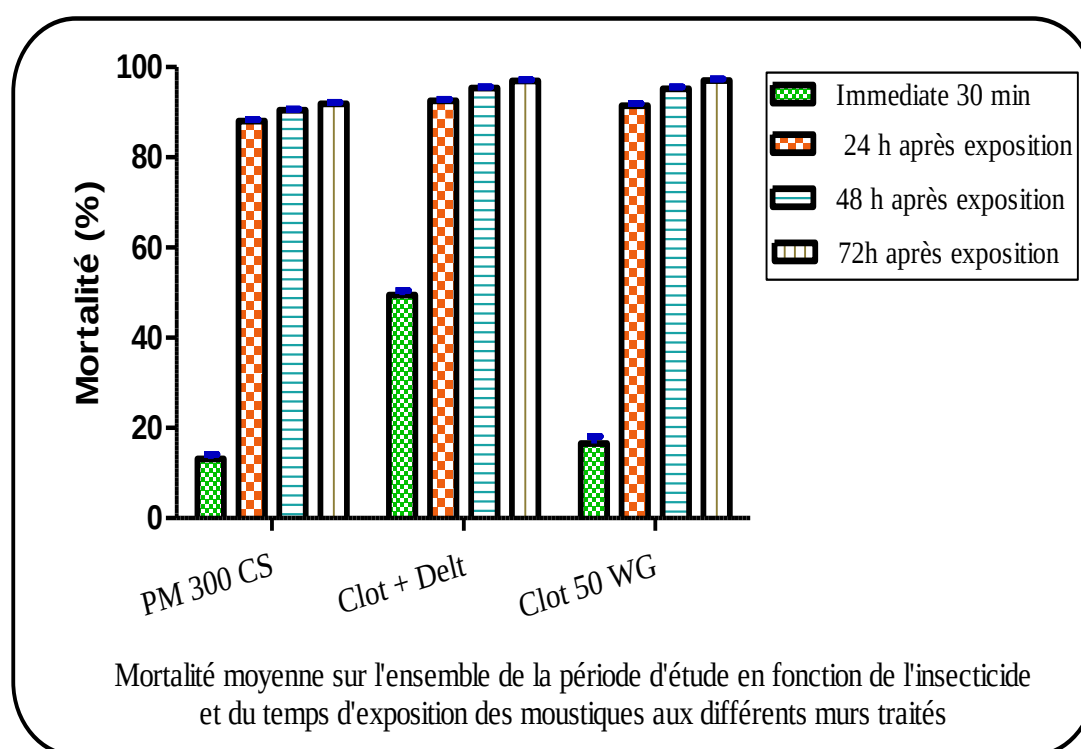
### 3.1.2. Efficacité des trois formulations d'insecticides avec la souche sensible de *Anopheles gambiae* « Kisumu »

Plus de 71 800 moustiques femelles de *An. gambiae* «Kisumu» âgés de 2 à 5 jours ont été mis en contact des différents types de murs traités. La mortalité dans le temps et la durée de l'efficacité de chaque formulation d'insecticide sur les différents types de supports muraux ont été analysées.

Les insecticides à base de clothianidine ont montré une performance significativement meilleure ( $p < 0.05$ ) pendant toutes les périodes de lecture de la mortalité par rapport au pirimiphos-méthyl 300CS (Tableau II). Cependant, le mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5g/kg a affiché un taux de mortalité moyen immédiat trois (3) fois supérieur à celui de clothianidine 50WG, 30 minutes après exposition aux murs traités. Aucune différence du taux moyen de mortalité n'a été observée 48 heures et 72 heures après exposition des moustiques aux murs intérieurs traités par les deux formulations à base de clothianidine (Tableau II, Figure 27).

**Tableau II.** Effet comparé de la mortalité par insecticide en fonction du temps d'observation

| Insecticides                           | %Mortalité<br>30 min | %Mortalité<br>24 h | %Mortalité<br>48 h | %Mortalité<br>72 h |
|----------------------------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Pirimiphos-méthyl 300 CS               | 13,16 <sup>a</sup>   | 88,03 <sup>a</sup> | 90,42 <sup>a</sup> | 91,91 <sup>a</sup> |
| Mélange clothianidine + déltamethrine  | 49,47 (b, c)         | 92,51 (b, c)       | 95,34 (b, c)       | 96,96 (b, c)       |
| Clothianidine 300 mg ai/m <sup>2</sup> | 16,54 (b, d)         | 91,43 (b, d)       | 95,24 (b, c)       | 97,07 (b, c)       |



Pirimiphos-méthyl 300 CS; (Clot + Delt) = mélange Clothianidine 500g/kg et Deltaméthrine 62.5g/kg; Clot 50 WG = Clothianidine 300 mg ai/m<sup>2</sup>; h = heure; % = pourcentage

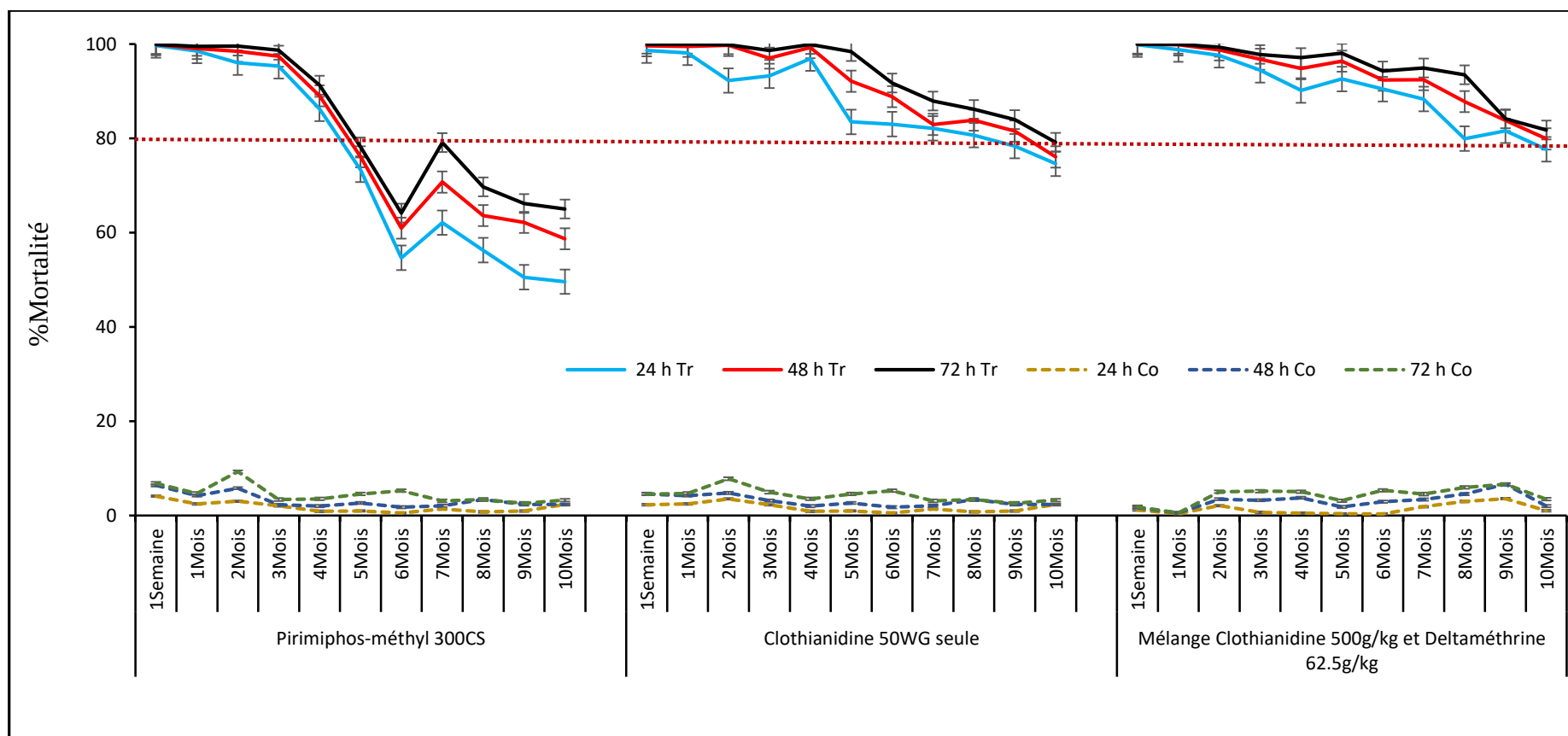
**Figure 27 :** Mortalité comparée des formulations insecticides en fonction des temps d'observation

### 3.1.3. Activité résiduelle des formulations insecticides

La rémanence des insecticides à base de clothianidine et du pirimiphos-méthyl sur les murs en ciment et en banco traités a été surveillée pendant dix (10) mois après les campagnes de PID. A  $T_0$  c'est-à-dire 07 jours après le traitement des murs, il y a eu 100% de mortalité de *An. gambiae* s.s. Kisumu exposée aux murs traités pour les trois insecticides, indépendamment du type de mur (ciment ou banco) et de sa hauteur (Figure 28). Ceci suggère une bonne qualité du traitement et la disponibilité de la dose létale de l'insecticide sur les murs.

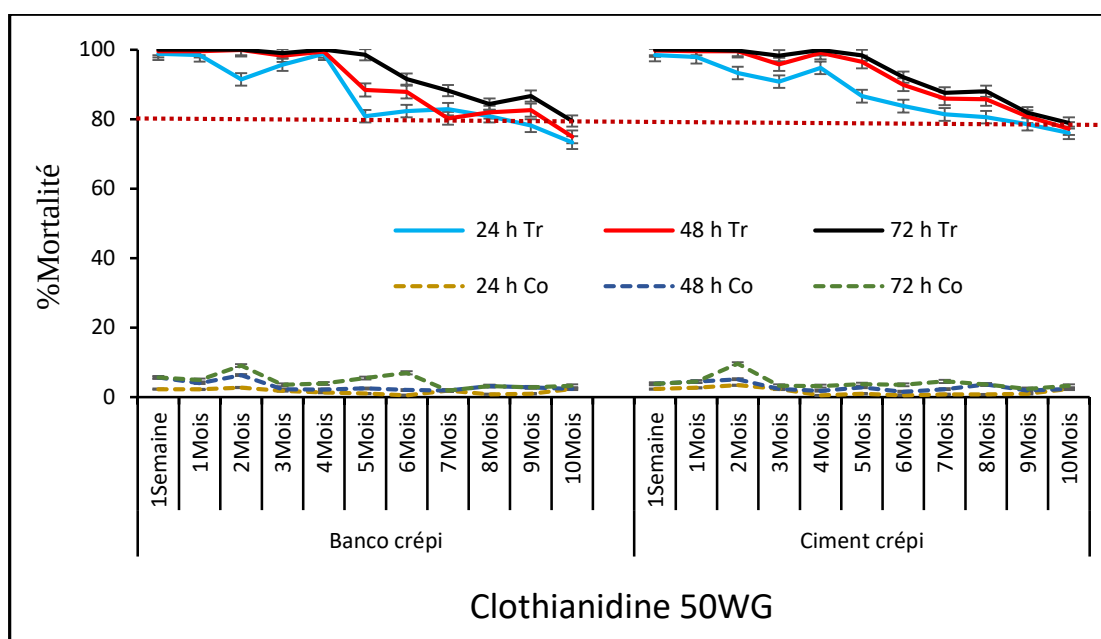
La mortalité différée de la clothianidine 50 WG a été comparée à celle du mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg et du pirimiphos-méthyl 300 CS.

Les taux de mortalité enregistrés ont été comparés au seuil d'efficacité qui est de 80% (OMS, 2006). Les résultats du suivi-évaluation de l'efficacité des formulations d'insecticides testées sont résumés sur les figures 29, 30 et 31. L'analyse de ces figures a montré que les taux de mortalité induits ont été supérieurs ou égaux à 80% du début de l'évaluation jusqu'à quatre mois pour le pirimiphos-méthyl 300CS et dix mois pour le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg et clothianidine 50WG seule. Les trois formulations d'insecticides testées sont relativement plus efficaces sur les murs en ciment que sur les murs en banco. L'efficacité a été de quatre (4) mois en banco et de cinq (5) mois en ciment pour le pirimiphos methyl 300CS (Figure 31) et respectivement de huit (8) et dix (10) mois pour les murs en banco et ciment pour le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg (Figure 30), de neuf (9) mois pour les murs en banco et 10 mois pour les murs en ciment pour le clothianidine 50WG (Figure 29). Bien que les taux de mortalité aient évolué d'un temps d'observation à un autre, cette évolution dans le temps n'est pas significative (Figures 29, 30 et 31).



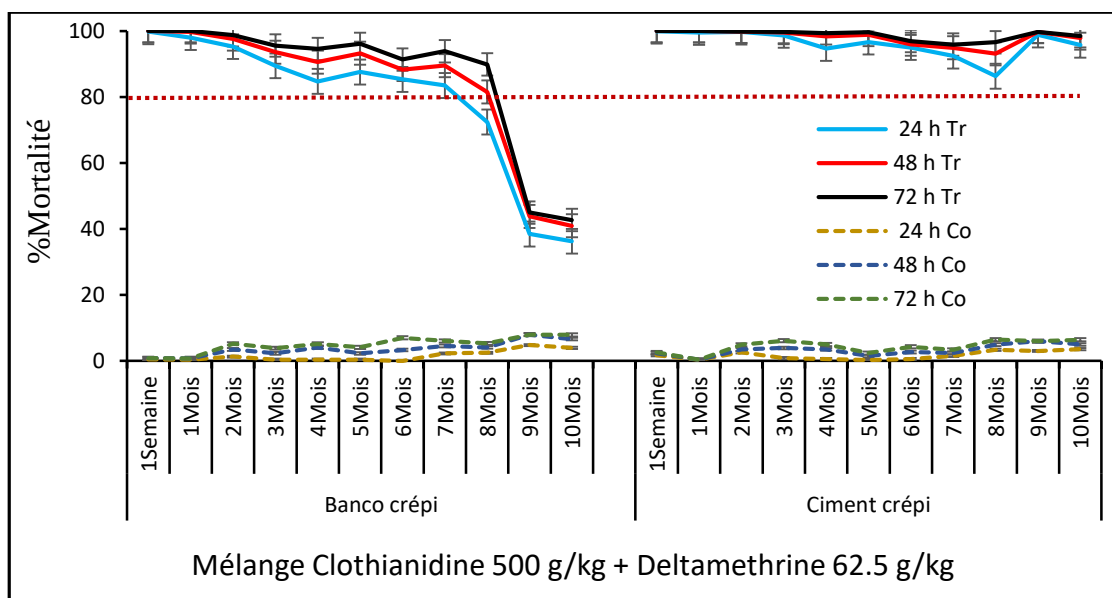
h = heure; Tr = chambres traitées avec insecticides; Co = chambres témoins non traitées avec insecticides; % = pourcentage; ..... Seuil d'efficacité (mortalité supérieure à 80%) d'un insecticide selon l'OMS

**Figure 28** : Efficacité résiduelle de pirimiphos-méthyl 300CS, de clothianidine 50WG et du mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg (56.25 WP) représentée par le taux de mortalité de la souche sensible "Kisumu" de *Anopheles gambiae* en fonction du temps après 30 minutes d'exposition aux murs traités.



h = heure; Tr = chambres traitées avec insecticides; Co = chambres témoins non traitées avec insecticides; % = pourcentage; ..... Seuil d'efficacité (mortalité supérieure à 80%) d'un insecticide selon l'OMS

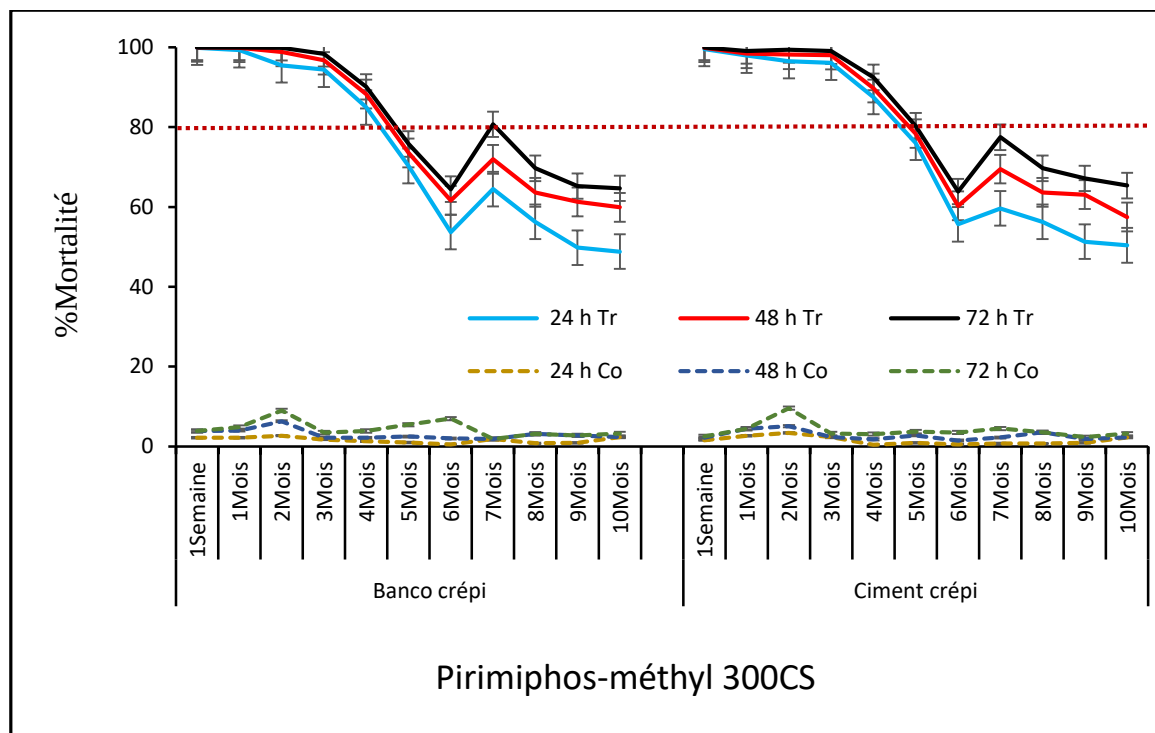
**Figure 29** : Efficacité résiduelle de clothianidine 50WG sur les murs en banco et en ciment représentée par le taux de mortalité de la souche sensible ‘Kisumu’ de *Anopheles gambiae* en fonction du temps d’observation après 30 minutes d’exposition aux murs traités.



h = heure; Tr = chambres traitées avec insecticides; Co = chambres témoins non traitées avec insecticides; % = pourcentage; ..... Seuil d'efficacité (mortalité supérieure à 80%) d'un insecticide selon l'OMS

**Figure 30** : Efficacité résiduelle du mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5g/kg sur les murs en banco et en ciment représentée par le taux de mortalité de la souche sensible ‘Kisumu’ en fonction du temps d’observation après 30 minutes d’exposition aux murs traités.





h = heure; Tr = chambres traitées avec insecticides; Co = chambres témoins non traitées avec insecticides; % = pourcentage; ..... Seuil d'efficacité (mortalité supérieure à 80%) d'un insecticide selon l'OMS.

**Figure 31 :** Efficacité résiduelle de pirimiphos-méthyl 300CS sur les murs en banco et en ciment représentée par le taux de mortalité de la souche sensible "Kisumu" de *Anopheles gambiae* en fonction du temps d'observation après 30 minutes d'exposition aux murs traités.

### 3.1.4. Discussion

Nous avons évalué en communauté à grande échelle l'efficacité de trois formulations insecticides utilisées en pulvérisation intradomiciliaire au Bénin. Il s'agit d'un organophosphoré (pirimiphos méthyl 300CS), d'un néonicotinoïde (clothianidine 50WG) et d'un mélange de néonicotinoïde et de pyréthrianoïde (clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg). Les insecticides à base de clothianidine sont considérés comme des molécules alternatives potentielles aux carbamates et aux organophosphorés.

Les tests de sensibilité en tube OMS réalisés sur les populations locales de *An. gambiae* s.l. dans les quatre communes sous la surveillance PID ont montré une résistance généralisée aux doses diagnostiques de la deltaméthrine (mortalité <90%). Le même résultat a été obtenu par Salako *et al.* (2018) et Kpanou *et al.* (2022) dans les mêmes régions. Tokponnon *et al.* (2018) rapprochent cette résistance de la distribution et de l'utilisation massive des moustiquaires imprégnées de pyréthrianoïdes, de l'utilisation abusive des pyréthrianoïdes dans l'agriculture et de l'usage domestique des insecticides de synthèse généralement constitués de pyréthrianoïde.

La perte totale de la sensibilité des vecteurs locaux au bendiocarb (0.1%) en 2021 et la suspicion de résistance du pirimiphos-méthyl à la dose diagnostique dans quelques localités sous surveillance entomologique de la PID ont été signalées par d'autres études (Djenontin *et al.*, 2010 ; Aikpon *et al.*, 2013 ; Gnanguenon *et al.*, 2015, Salako *et al.*, 2018). Ces résultats justifient le remplacement du bendiocarb 800 g/kg et du pirimiphos-méthyl 300CS par les insecticides à base de la clothianidine au Bénin. En effet, ce remplacement cible d'autres récepteurs afin d'optimiser l'impact de la PID sur les vecteurs locaux du paludisme.

Les bioessais en cônes ont révélé durant toute la période d'étude un fort taux de mortalité induit par la clothianidine 50WG et le mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5g/kg par rapport à celui du pirimiphos-méthyl 300CS. De même, la mortalité immédiate 30 min enregistrée pour le mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5g/kg est supérieure à celle de la clothianidine 50WG puis du pirimiphos-méthyl 300CS. Les mortalités différées induites par les trois formulations insecticides sur les anophèles ont augmenté d'un temps d'observation à l'autre sans aucune différence significative. Cependant, 24 heures après l'exposition des vecteurs aux murs traités, la mortalité moyenne induite par le mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5g/kg diffère significativement de celle de clothianidine 50WG. On note une légère performance du mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5g/kg contre les anophèles sensibles 30 minutes et 24 heures après exposition, ce qui pourrait s'expliquer par un effet de synergie entre la deltaméthrine et la clothianidine.

Les deux formulations à base de clothianidine ont montré un effet résiduel de dix (10) mois avec *An. gambiae* s.s. 'Kisimu'. Ce résultat confirme la performance précédemment démontrée au laboratoire et en milieu semi-naturel (Fongnikin *et al.*, 2020 ; Ngufor *et al.*, 2017), puis en communauté à petite échelle (Agossa *et al.*, 2018 ; Uragayala *et al.*, 2018) du mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5g/kg contre des populations de vecteurs qui ont développé une résistance aux insecticides utilisés jusque-là en santé publique. L'effet résiduel de la clothianidine observé dans cette étude est supérieur à celui des insecticides recommandés jusqu'à présent par l'OMS pour la PID (OMS, 2006). Les trois insecticides ont induit des performances (rémanence, effet létal) qui ont varié en fonction du type de support mural. Cette variation peut s'expliquer par la différence de porosité entre les supports traités (Mosqueira *et al.*, 2010). En effet, les supports muraux n'absorbent pas la solution insecticide de la même façon et la biodisponibilité du produit sur les supports ne serait donc pas la même dans le temps requis (Padonou *et al.*, 2012). La faible efficacité de toutes les formulations insecticides sur les supports en banco par rapport aux supports en ciment pourrait se justifier par la forte porosité

des murs en banco qui sont faits à base de terre battue. En effet, de nombreuses études menées au Bénin dans les cases expérimentales et en communauté (PID dans l'Ouémé et dans l'Atacora) ont montré que l'activité résiduelle a été souvent très faible sur les supports muraux à forte porosité (Akogbeto *et al.*, 2011, Aïkpon *et al.*, 2014). En Inde Prakash *et al.* (2012) ont montré que l'activité résiduelle de la deltaméthrine est plus importante sur les murs en ciment que sur ceux en banco.

## **Conclusion**

Globalement les insecticides à base de clothianidine ont prouvé une bonne efficacité et un effet résiduel meilleur en santé publique par rapport aux premiers insecticides pré-qualifiés par l'OMS pour la PID. Le mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5g/kg et la clothianidine 50 WG ont montré des avantages par rapport aux pirimiphos-méthyl 300CS. Cependant, certains avantages par rapport au mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5g/kg ont été notés. Des taux d'élimination sont relativement élevés avec le mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62.5g/kg par rapport à la clothianidine 50WG pendant les premières 24 heures après exposition des vecteurs aux deux insecticides. La présence de la deltaméthrine dans le mélange a contribué à l'augmentation de l'efficacité de la clothianidine. Par ailleurs, l'analyse des résultats en cours sur l'impact des deux produits à base de clothianidine sur les indicateurs de transmission du paludisme permettra de mieux apprécier leur efficacité en PID.

### 3.2. Impact de l'effet du mélange clothianidine + deltaméthrine et de clothianidine seule sur les indicateurs entomologiques de transmission du paludisme comparé à celui du pirimiphos-méthyl dans les zones sous couverture de la PID

#### 3.2.1. Efficacité comparée des trois formulations insecticides sur les indicateurs entomologique de transmission du paludisme

Les résultats de cette section ont été publiés dans *Malaria Journal* (**Article 2**)

**Esdras Mahoutin Odjo**, Christian S. T. Akpodji, Armel Djenontin, Albert Sourou Salako, Gil Germain Padonou, Constantin Jésuskèdè Adoha, Boulais Yovogan, Bruno Adjottin, Filémon T. Tokponnon, Razaki Osse, Clement Agbangla, Martin C. Akogbeto

Did the prolonged residual efficacy of clothianidin products lead to a greater reduction in vector populations and subsequent malaria transmission compared to the shorter residual efficacy of pirimiphos-methyl?

*L'efficacité résiduelle prolongée des produits à base de clothianidine a-t-elle entraîné une réduction plus importante des populations de vecteurs et de la transmission ultérieure du paludisme par rapport à l'efficacité résiduelle plus courte de pirimiphos-méthyl ?*

Au Bénin, les insecticides à base de clothianidine ont un effet résiduel long de huit (8) à dix (10) mois en communauté à grande échelle sur les murs en banco et en ciment contrairement au pirimiphos-méthyl 300 CS qui a un effet résiduel de quatre (4) à cinq (5) mois (Odjo *et al.*, 2023).

Cette section vise à évaluer si cette longue efficacité résiduelle des produits à base de clothianidine se traduit par une diminution plus significative des populations de vecteurs et, par conséquent, une réduction plus marquée de la transmission du paludisme, comparativement à l'efficacité résiduelle plus courte du pirimiphos-méthyl. Les résultats de cette évaluation seront essentiels pour les décideurs, les aidant à choisir judicieusement l'insecticide à utiliser pour la pulvérisation intradomiciliaire. Ce choix devra prendre en considération non seulement le rapport coût-efficacité de l'insecticide présentant une activité résiduelle supérieure, mais aussi son impact sur la réduction des indicateurs entomologique de transmission élevés (IET) du paludisme.

### 3.2.1.1. Composition de moustiques collectés

Globalement, 50 645 moustiques de quatre (4) genres et dix-neuf (19) espèces ont été collectés dans quatre (4) communes PID et deux (2) communes-témoins sous le suivi-évaluation de la PID de 2019 à 2021. *Culex (Cx.) quinquefasciatus* était l'espèce majoritairement capturée (58,5 %), suivi de *Anopheles (An.) gambiae* s.l. (38,8 %) et *Mansonia africana* (0,9 %). L'ensemble des anophèles capturés représentait 39,3 % des moustiques obtenus par CAH. Le complexe *An. gambiae* et le groupe *An. funestus* correspondent respectueusement à 98,7 % et 1 % des anophèles capturés. Les autres anophèles à savoir : *An. broheri* ; *An. coustani* ; *An. nili* ; *An. paludis* ; *An. pharoensis* et *An. ziemanni* faisaient 0,4 %. (Tableau III)

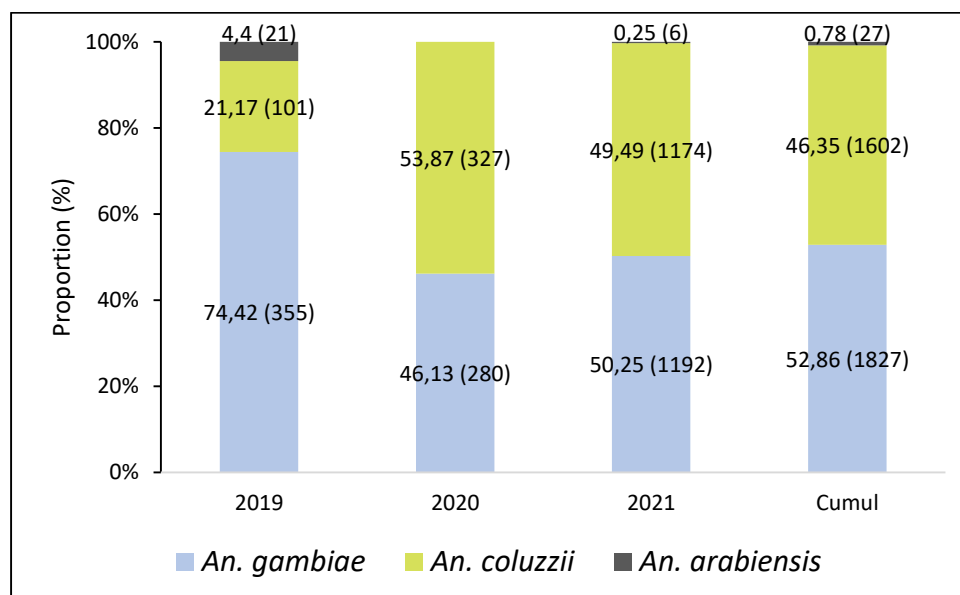
Pendant les trois années, un total de 3456 *An. gambiae* s.l. ont été analysés par PCR pour l'identification des espèces moléculaires : 1602 (46,4 %) étaient *An. coluzzii*, 1827 (52,9 %) étaient *An. gambiae* et 27 *An. arabiensis* (0,8 %) (Figure 32). *An. gambiae* et *An. coluzzii* ont été détectées tout au long des trois années d'étude à des proportions similaires en 2020 et 2021 contrairement en 2019 où *An. gambiae* a prédominé (74,4 %). Durant toute la période d'évaluation, 27 spécimens de *An. arabiensis* ont été trouvés (Figure 32).

**Tableau III.** Composition des espèces de moustiques collectés en 2019, 2020 et 2021.

| Espèces                     | 2019  | 2020  | 2021 | Total | Proportion (%) |
|-----------------------------|-------|-------|------|-------|----------------|
| <i>An. gambiae</i>          | 4572  | 5372  | 9716 | 19660 | 38,8           |
| <i>An. funestus</i>         | 29    | 84    | 77   | 190   | 0,4            |
| <i>An. broheri</i>          | 0     | 0     | 9    | 9     | 0,0            |
| <i>An. coustani</i>         | 0     | 3     | 1    | 4     | 0,0            |
| <i>An. nili</i>             | 0     | 4     | 1    | 5     | 0,0            |
| <i>An. paludis</i>          | 2     | 0     | 0    | 2     | 0,0            |
| <i>An. pharoensis</i>       | 10    | 15    | 7    | 32    | 0,1            |
| <i>An. ziemanni</i>         | 3     | 2     | 10   | 15    | 0,0            |
| <i>Cx. quinquefasciatus</i> | 11272 | 12246 | 6106 | 29624 | 58,5           |
| <i>Cx. tigripes</i>         | 9     | 4     | 4    | 17    | 0,0            |
| <i>Cx. descens</i>          | 25    | 6     | 10   | 41    | 0,1            |
| <i>Cx. nebulosus</i>        | 45    | 81    | 158  | 284   | 0,6            |
| <i>Aedes aegypti</i>        | 89    | 105   | 60   | 254   | 0,5            |
| <i>Aedes albopictus</i>     | 0     | 0     | 1    | 1     | 0,0            |
| <i>Aedes longipalpis</i>    | 0     | 0     | 7    | 7     | 0,0            |
| <i>Aedes luteocephalus</i>  | 5     | 3     | 7    | 15    | 0,0            |
| <i>Aedes vittatus</i>       | 23    | 1     | 20   | 44    | 0,1            |

|                           |       |       |       |       |     |
|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-----|
| <i>Mansonia africana</i>  | 114   | 218   | 101   | 433   | 0,9 |
| <i>Mansonia uniformis</i> | 1     | 2     | 5     | 8     | 0,0 |
| Total                     | 16199 | 18146 | 16300 | 50645 | 100 |

% : pourcentage ; Cx. : *Culex* ; An. : *Anopheles*



**Figure 32** : Composition des espèces sœurs de *An. gambiae* s.l. dans les communes sous la PID et dans les communes-témoins de 2019 à 2021

### 3.2.1.2. Taux de piqûres de *An. gambiae* s.l. à l'intérieur et à l'extérieur dans les communes.

#### Alibori :

La proportion de *An. gambiae* s.l. collectée était plus faible à l'intérieur des maisons traitées qu'à l'extérieur après la PID ( $p < 0,001$ ), sauf en 2020 avec le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg ( $p = 0,009$  ; rate ratio (RR) = 1,18) (Tableau IV). Dans les maisons non traitées d'insecticides (Témoins), les taux de piqûres étaient plus élevés à l'intérieur avant et après les PID. Cependant, en 2021 après la PID avec clothianidine 50 WG, les taux de piqûres enregistrés étaient similaires à l'intérieur et à l'extérieur des maisons non traitées ( $p = 0,18$  et RR = 0,94) (Tableau IV).

Globalement, une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du taux de piqûre a été constatée après la PID à l'intérieur et à l'extérieur entre les communes traitées et la commune non traitée (Tableau IV). Cette réduction est plus importante en 2019 avec (RR = 6,01 à l'intérieur et 3,05

à l'extérieur). Pour les insecticides à base de clothianidine, le taux de réduction de la clothianidine 50 WG est légèrement meilleur à celui du mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg. Les taux de réduction sont de 86,06 % ; 72,77 % ; 82,84 % à l'intérieur et 87,07 % ; 71,70 % ; 83,11 % à l'extérieur respectivement pour le pirimiphos-méthyl 300 CS, le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg et la clothianidine 50 WG.

#### **Donga :**

La proportion de *An. gambiae* s.l. collectée était plus faible à l'intérieur des maisons traitées qu'à l'extérieur après la PID ( $p < 0,001$ ). Aussi, une réduction du taux de piquêre était-elle observée à l'intérieur des maisons traitées avec le pirimiphos-méthyl 300 CS (20,61 %) et le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg (25,78 %). Le rapport  $[(C1 \times T2) / (C2 \times T1)] > 1$  (Mulla *et al.*, 1971) pour la clothianidine 50 WG à l'intérieur et à l'extérieur suggère qu'aucune réduction n'a eu lieu dans la population en raison du traitement. Le même constat a été fait avec le pirimiphos-méthyl 300 CS et le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg à l'extérieur des maisons traitées (Tableau IV).

Pour le ratio  $[(C1 \times T2) / (C2 \times T1)]$  :

C1 = Avant PID pour la commune-témoin ;

T1 = Avant PID pour les communes traitées ;

C2 = Après PID pour la commune-témoin ;

T2 = Après PID pour les communes traitées

**Tableau IV.** Nombre et proportion de *An. gambiae* s.l. capturés à l'intérieur et à l'extérieur dans les communes traitées (Kandi, Gogounou, Djougou, Copargo) et dans les communes-témoins (Bembèrèkè, Bassila) en 2019, 2020 et 2021.

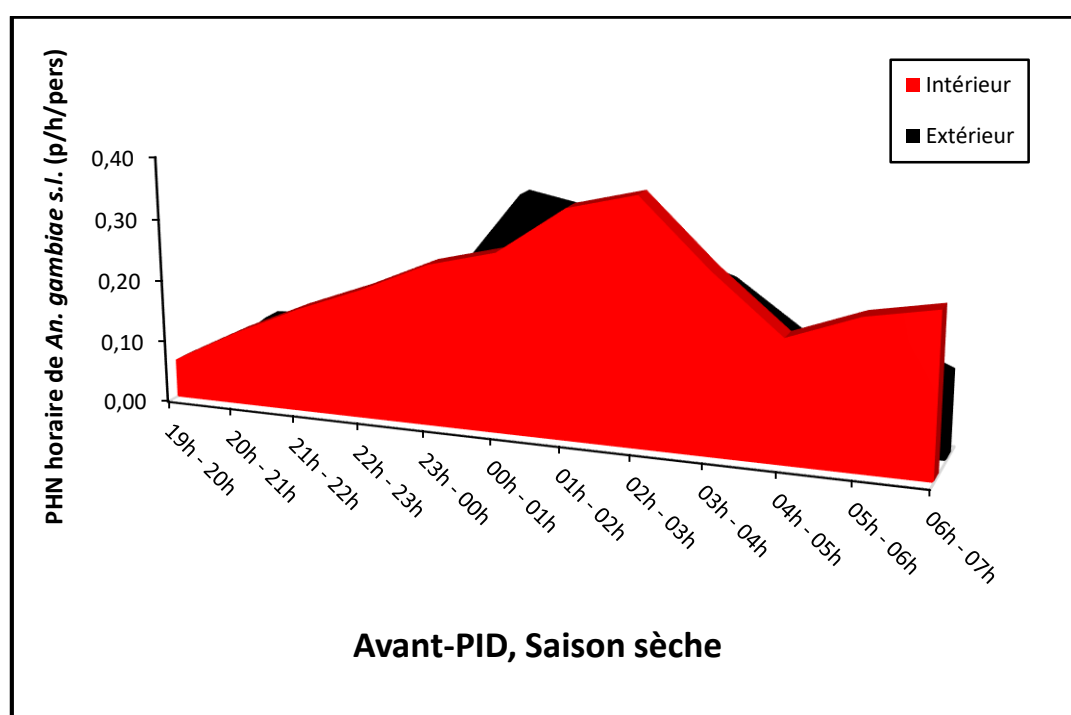
| Emplacement | Insecticide<br>(Année) | Période   | Département de l'Alibori      |                 |                                         |                 |                  | Département de la Donga     |                 |                                          |                 |                  |
|-------------|------------------------|-----------|-------------------------------|-----------------|-----------------------------------------|-----------------|------------------|-----------------------------|-----------------|------------------------------------------|-----------------|------------------|
|             |                        |           | Commune témoin<br>(Bembèrèkè) |                 | Communes sous PID<br>(Kandi + Gogounou) |                 | p-value (RR)     | Commune témoin<br>(Bassila) |                 | Communes sous PID<br>(Djougou + Copargo) |                 | p-value (RR)     |
|             |                        |           | PHN/nuit<br>(Eff/NbC)         | p-value<br>(RR) | PHN/nuit<br>(Eff/NbC)                   | p-value<br>(RR) |                  | PHN/nuit<br>(Eff/NbC)       | p-value<br>(RR) | PHN/nuit<br>(Eff/NbC)                    | p-value<br>(RR) |                  |
| Intérieur   | PM 300 CS<br>(2019)    | Avant PID | 1,59 (51/32)                  | < 0,0001        | 1,88 (120/64)                           | < 0,0001        | 0,372 (0,850)    | 1,09 (35/32)                | < 0,0001        | 0,70 (45/64)                             | < 0,0001        | 0,0572 (1,556)   |
|             |                        | Après PID | 31,31 (1002/32)               | (0,051)         | 5,16 (330/64)                           | (0,364)         | < 0,0001 (6,073) | 10,69 (342/32)              | (0,102)         | 5,45 (349/64)                            | (0,129)         | < 0,0001 (1,960) |
|             | Clo + Del<br>(2020)    | Avant PID | 1,00 (16/16)                  | < 0,0001        | 2,02 (97/48)                            | < 0,0001        | 0,0064 (0,495)   | 0,81 (13/16)                | < 0,0001        | 0,92 (44/48)                             | < 0,0001        | 0,7622 (0,886)   |
|             |                        | Après PID | 26,05 (521/20)                | (0,038)         | 14,33 (573/40)                          | (0,141)         | < 0,0001 (1,818) | 24,65 (493/20)              | (0,033)         | 20,78 (831/40)                           | (0,044)         | 0,0029 (1,187)   |
|             | Clo 50 WG<br>(2021)    | Avant PID | 1,63 (39/24)                  | < 0,0001        | 5,46 (262/48)                           | < 0,0001        | < 0,0001 (0,298) | 1,54 (37/24)                | < 0,0001        | 1,42 (68/48)                             | < 0,0001        | 0,6797 (1,088)   |
|             |                        | Après PID | 31,28 (1001/32)               | (0,052)         | 17,98 (1151/64)                         | (0,304)         | < 0,0001 (1,739) | 18,09 (579/32)              | (0,085)         | 21,94 (1404/64)                          | (0,065)         | < 0,0001 (0,825) |
| Extérieur   | PM 300 CS<br>(2019)    | Avant PID | 0,84 (27/32)                  | < 0,0001        | 2,13 (136/64)                           | < 0,0001        | < 0,0001 (0,397) | 0,59 (19/32)                | < 0,0001        | 0,53 (34/64)                             | < 0,0001        | 0,7709 (1,118)   |
|             |                        | Après PID | 25,66 (821/32)                | (0,033)         | 8,41 (538/64)                           | (0,253)         | < 0,0001 (3,052) | 7,78 (249/32)               | (0,076)         | 7,41 (474/64)                            | (0,072)         | 0,5281 (1,051)   |
|             | Clo + Del<br>(2020)    | Avant PID | 0,81 (13/16)                  | < 0,0001        | 2,10 (101/48)                           | < 0,0001        | 0,0005 (0,386)   | 1,50 (24/16)                | < 0,0001        | 0,77 (37/48)                             | < 0,0001        | 0,0169 (1,946)   |
|             |                        | Après PID | 16,60 (332/20)                | (0,049)         | 12,18 (487/40)                          | (0,173)         | < 0,0001 (1,363) | 37,40 (748/20)              | (0,040)         | 26,05 (1042/40)                          | (0,030)         | < 0,0001 (1,436) |
|             | Clo 50 WG<br>(2021)    | Avant PID | 1,25 (30/24)                  | < 0,0001        | 4,50 (216/48)                           | < 0,0001        | < 0,0001 (0,278) | 1,75 (42/24)                | < 0,0001        | 1,08 (52/48)                             | < 0,0001        | 0,0217 (1,615)   |
|             |                        | Après PID | 33,22 (1063/32)               | (0,038)         | 20,20 (1293/64)                         | (0,222)         | < 0,0001 (1,644) | 22,06 (706/32)              | (0,079)         | 27,70 (1773/64)                          | (0,039)         | < 0,0001 (0,796) |

Eff: Effectif de *Anopheles gambiae* s.l. collecté par capture sur appât humain ; NbC : Nombre de captureur ; RR : rate ratio poisson.test R 4.1.3 ; PM : pirimiphos-méthyl ; CS : capsule suspensions ; WG : Water dispersible granules ; Clot + Del : mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrin 62.5 g/kg ; Clo 50 WG : clothianidine 50 WG

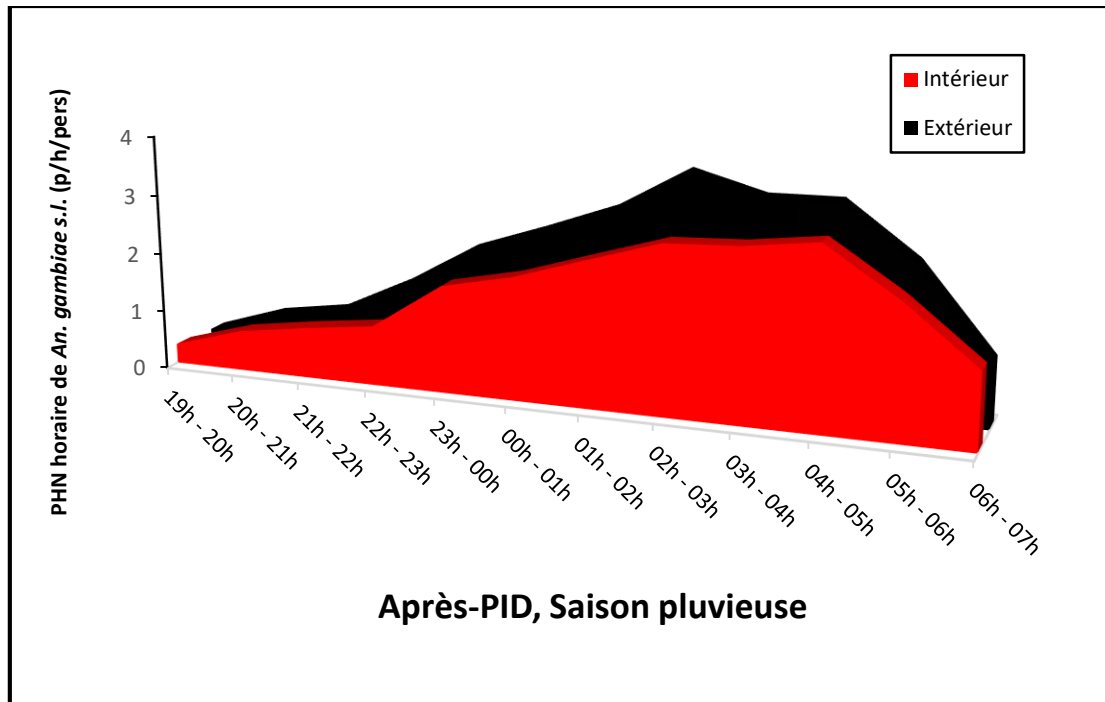


### 3.2.1.3. Taux horaire de piqûre du complexe *An. gambiae* sur homme

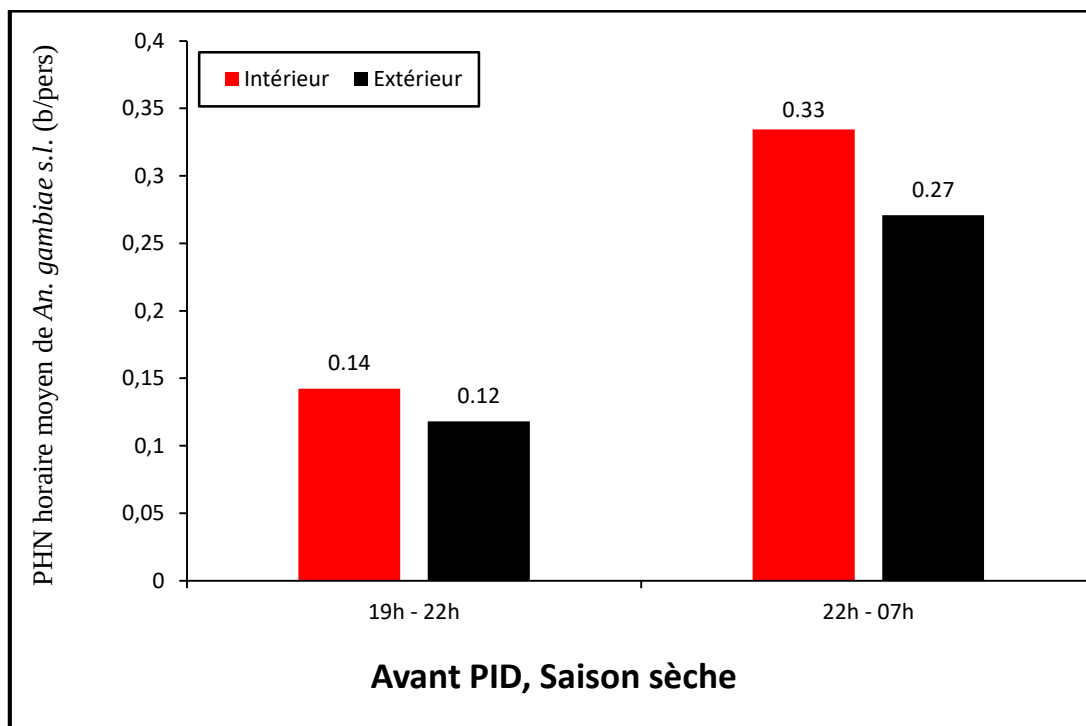
Le cycle de piqûre de *An. gambiae* s.l. a été observé la nuit de 19 heures à 07 heures du matin. Les résultats ont été similaires à ceux mentionnés dans des documents scientifiques: une augmentation constante de la piqûre à partir de 19h00 jusqu'à un premier pic entre 00h00 et 03h00 du matin et un second pic entre 04h00 et 05h00 du matin suivi d'une diminution progressive jusqu'au petit matin (Fig. 33 & 34). *An. gambiae* s.l. semble être collecté davantage à l'extérieur de la maison la nuit après la PID (Fig. 34). La forte agressivité de *An. gambiae* s.l. a été observée dans la seconde moitié de la nuit entre 23h et 7h (Fig. 35 & 36).



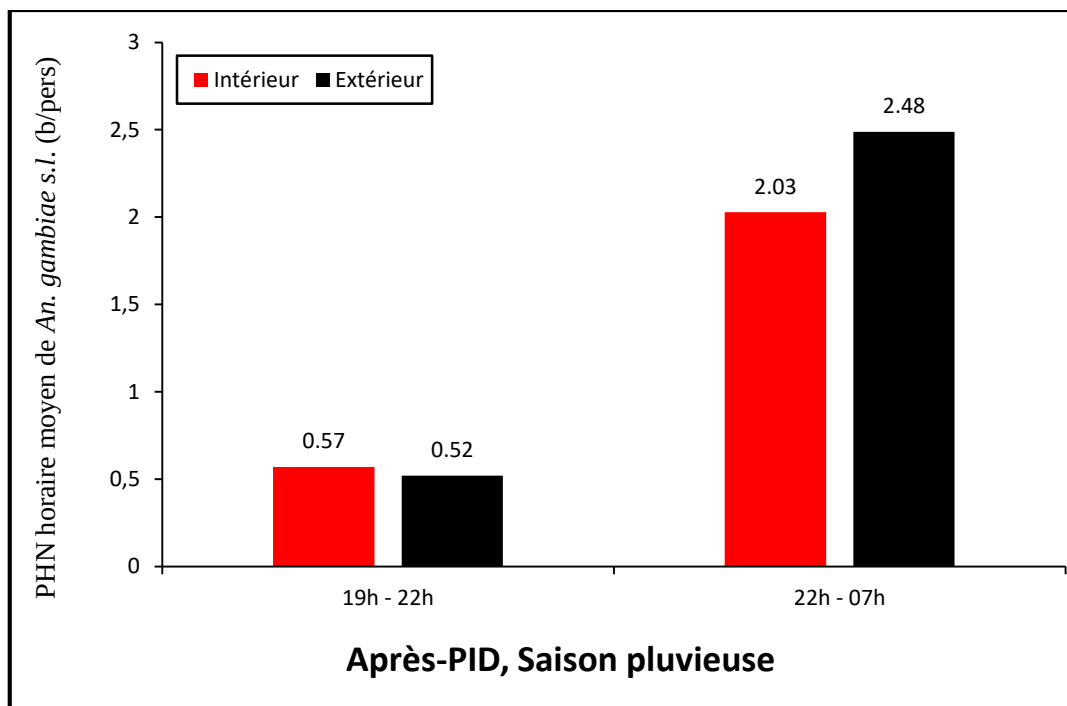
**Figure 33 :** Taux horaire de PHN de *An. gambiae* s.l. dans toutes les communes traitées et témoins avant-PID, saison sèche



**Figure 34 :** Taux horaire de PHN de *An. gambiae* s.l. dans toutes les communes traitées et dans témoin après la PID, saison des pluies



**Figure 35 :** Taux horaire moyen de PHN de *An. gambiae* s.l. dans toutes les communes traitées avant les PID



**Figure 36 :** Taux horaire moyen de PHN de *An. gambiae* s.l. dans toutes les communes traitées après les PID

#### 3.2.1.4. Indice sporozoïtique (IS)

Le tableau V résume l'indice sporozoïtique (IS) enregistrés avant et après la PID (2019, 2020 et 2021) dans les communes traitées et non traitées.

Un total de 19308 têtes-thorax de *An. gambiae* s.l. collectés par CAH et PSC a été analysé à ELISA-CSP. 10251 têtes-thorax de *An. gambiae* s.l. (4879 dans la commune témoin et 5372 dans les communes traitées) ont été analysés dans le département de l'Alibori et 9057 (3140 dans la commune témoin et 5917 dans les communes traitées) dans le département de la Donga. Globalement, il y a réduction de l'indice sporozoïtique après la PID dans les communes traitées comparativement aux communes témoins. Elle a été significativement enregistrée ( $p < 0,05$ ) après la PID à l'intérieur des habitations traitées dans l'Alibori ( $p = 0,03$ ) et dans la Donga ( $p < 0,0001$ ) en 2019 avec le pirimiphos-méthyl 300 CS. De même, dans le département de la Donga en 2020, la différence a été significative à l'intérieur ( $p = 0,01$ ) avec le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg (Tableau V).

A l'extérieur des maisons traitées d'insecticide, l'indice sporozoïtique a été significativement réduit par le pirimiphos-méthyl 300 CS dans le département de la Donga. Aucune autre différence n'a été observée avec d'autres insecticides à l'extérieur des maisons traitées d'insecticides rémanents (Tableau V).

**Tableau V.** Indice sporozoïtique (IS) de *An. gambiae* s.l. dans les communes traitées et dans les communes-témoins des départements de l’Alibori et de la Donga en 2019, 2020 et 2021.

| Emplacement | Insecticide (Années) | Période   | Département de l’Alibori  |                                      |         | Département de la Donga |                                       |          |
|-------------|----------------------|-----------|---------------------------|--------------------------------------|---------|-------------------------|---------------------------------------|----------|
|             |                      |           | Commune Témoin(Bembèrèkè) | Communes sous PID (Kandi + Gogounou) | p-value | Commune Témoin(Bassila) | Communes sous PID (Djougou + Copargo) | p-value  |
|             |                      |           | IS % (A/B)                | IS % (A/B)                           |         | IS % (A/B)              | IS % (A/B)                            |          |
| Intérieur   | PM 300 CS (2019)     | Avant PID | 5,88 (3/51)               | 0,00 (0/120)                         | 0,041   | 14,29 (5/35)            | 2,22 (1/45)                           | 0,109    |
|             |                      | Après PID | 1,70 (17/1002)            | 0,00 (0/330)                         | 0,036   | 7,02 (24/342)           | 0,57 (2/349)                          | < 0,0001 |
|             | Clo + Del (2020)     | Avant PID | 0,00 (0/16)               | 0,00 (0/97)                          | NA      | 0,00 (0/13)             | 2,27 (1/44)                           | 1        |
|             |                      | Après PID | 1,15 (6/521)              | 0,35 (2/573)                         | 0,230   | 3,04 (15/493)           | 0,96 (8/831)                          | 0,010    |
|             | Clo 50 WG (2021)     | Avant PID | 0,00 (0/39)               | 0,63 (2/318)                         | 1       | 2,13 (1/47)             | 1,00 (1/100)                          | 1        |
|             |                      | Après PID | 1,72 (17/989)             | 1,53 (18/1177)                       | 0,860   | 4,98 (27/542)           | 4,47 (61/1365)                        | 0,7186   |
| Extérieur   | PM 300 CS (2019)     | Avant PID | 7,41 (2/27)               | 0,74 (1/136)                         | 0,116   | 5,26 (1/19)             | 5,88 (2/34)                           | 1        |
|             |                      | Après PID | 0,85 (7/821)              | 0,93 (5/538)                         | 1       | 6,43 (16/249)           | 0,42 (2/474)                          | < 0,0001 |
|             | Clo + Del (2020)     | Avant PID | 0,00 (0/13)               | 0,00 (0/101)                         | NA      | 0,00 (0/24)             | 2,70 (1/37)                           | 1        |
|             |                      | Après PID | 1,51 (5/332)              | 0,62 (3/487)                         | 0,363   | 0,80 (6/748)            | 0,58 (6/1042)                         | 0,776    |
|             | Clo 50 WG (2021)     | Avant PID | 0,00 (0/30)               | 0,47 (1/215)                         | 1       | 4,76 (2/42)             | 3,85 (2/52)                           | 1        |
|             |                      | Après PID | 1,06 (11/1038)            | 1,02 (13/1280)                       | 1       | 4,95 (29/586)           | 4,40 (68/1544)                        | 0,673    |

IS : indice sporozoïtique ; % : pourcentage ; A : nombre de tête/thorax testé positif ; B : nombre total de tête/thorax testé ; PM : pirimiphos-méthyl ; CS : capsule suspensions ; WG : Water dispersible granules ; Clot + Del : mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg ; Clo 50 WG : clothianidine 50 WG

### 3.2.1.5. Taux d'inoculation entomologique (TIE) de *An. gambiae* s.l. après les PID de 2019, 2020 et 2021.

Le Tableau VI présente les taux d'inoculation entomologique (TIE) de *An. gambiae* s.l. dans la zone traitée et dans la zone témoin avant et après la PID. Une variation du TIE en fonction des insecticides a été observée dans les zones traitées avant et après la PID. Dans les zones non traitées (témoins), une augmentation du TIE a été constatée après la PID malgré le changement d’insecticide. Cette augmentation a été observée à l’intérieur et à l’extérieur des habitations (Tableau VI) dans les deux départements.

Dans l’Alibori, une diminution significative du TIE a été enregistrée à l’intérieur comme à l’extérieur des habitations traitées après les PID pour les trois formulations. Cependant, l’impact des insecticides sur la réduction du TIE a été plus remarqué respectivement avec le pirimiphos-méthyl 300 CS, suivi du mélange clothianidine + deltaméthrine et enfin de la

clothianidine 50 WG. Aussi, la réduction du TIE a été meilleure à l'intérieur des habitations traitées qu'à l'extérieur des habitations (Tableau VI).

Dans la Donga, le constat a été similaire mais de faible amplitude. De plus, clothianidine 50 WG n'a induit aucune réduction du taux d'inoculation entomologique ni à l'intérieur des habitations traitées ni à l'extérieur des habitations. A l'intérieur des habitations traitées, chaque personne pouvait recevoir 29 piqûres infectieuses par mois contre vingt-sept (27) piqûres infectieuses par mois dans les témoins. Trente-sept (37) piqûres infectieuses par mois et par personne étaient enregistrées à l'extérieur des habitations traitées après la PID contre 33 piqûres infectieuses par mois et par personne au niveau des témoins (Tableau VI).

Les graphes des figures 37 et 38 illustrent l'évolution du TIE en relation avec le PHN et l'IS respectivement à l'intérieur et à l'extérieur dans les zones traitées et les zones témoins.

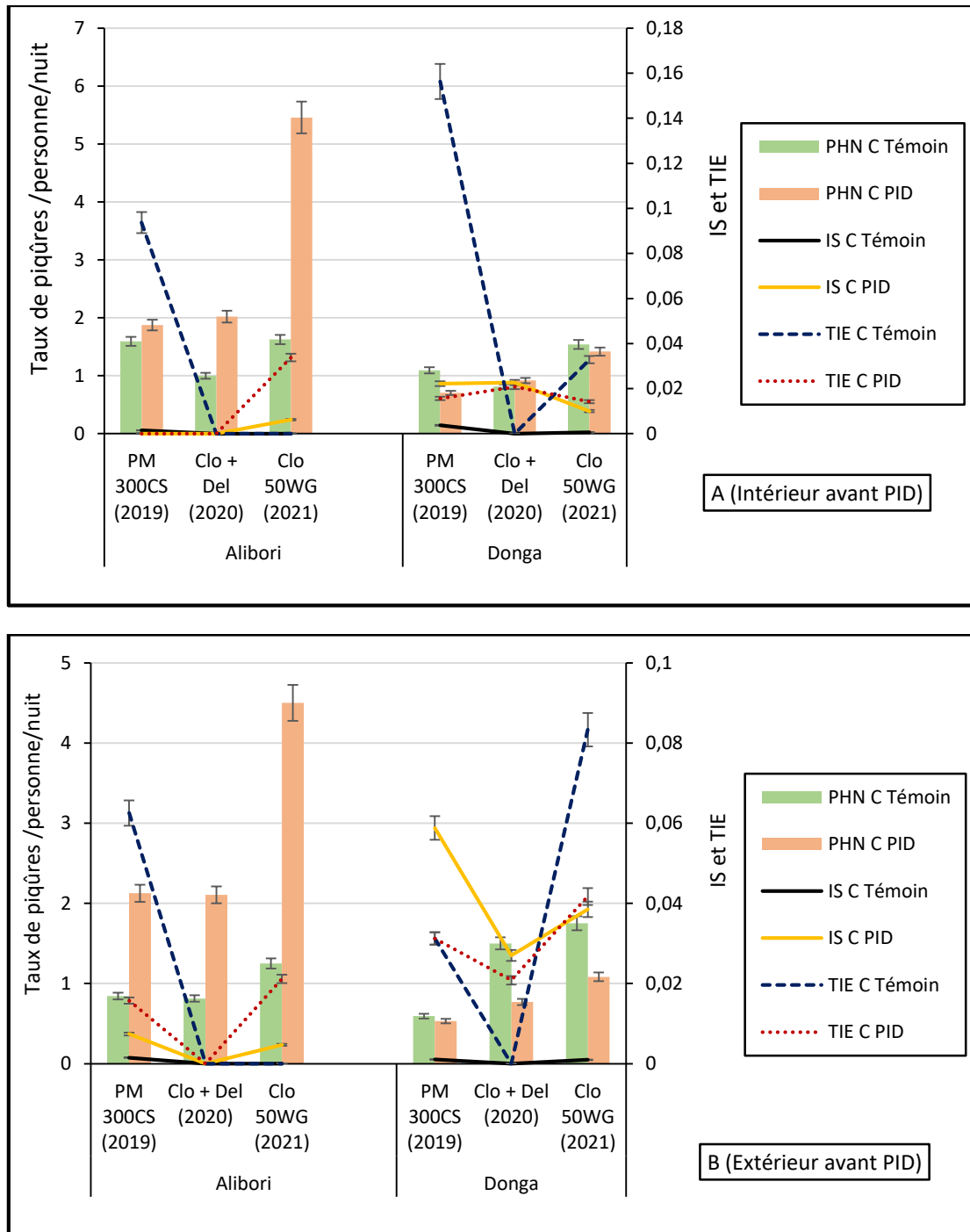
On peut constater après la PID une diminution des trois indicateurs entomologiques à l'intérieur des maisons sous la couverture de la PID (Figure 38) contrairement à la période avant la PID (Figure 37).

La figure 38B comparée à la figure 37B a montré la capacité de la PID lorsqu'elle est efficace à réduire la transmission palustre à l'extérieur des habitations pulvérisées. Ce fut le cas pour le pirimiphos-méthyl 300 CS et le mélange clothianidine + deltaméthrine dans les deux départements. Cependant, avec la clothianidine 50 WG, un effet contraire a été observé dans le département de la Donga.

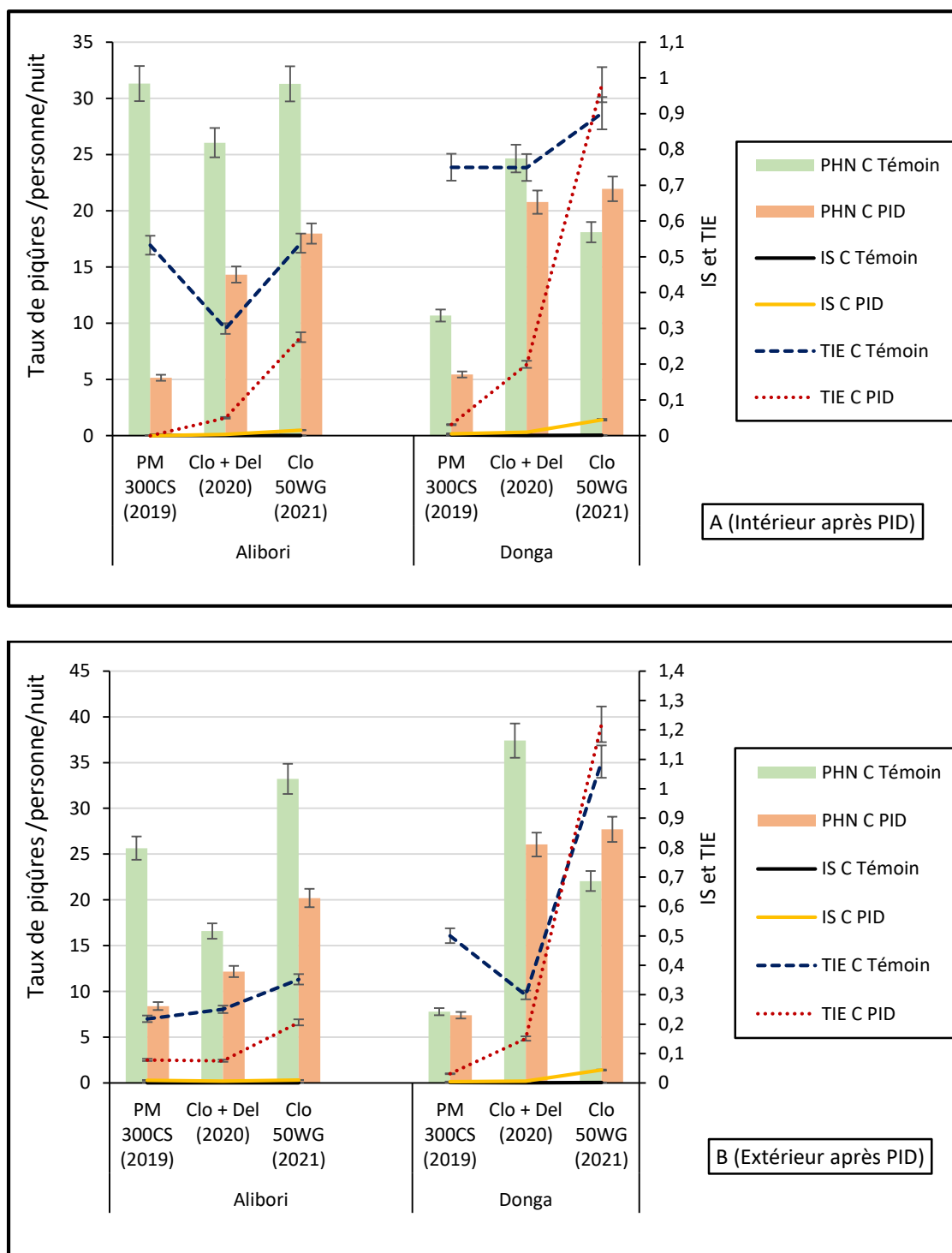
**Tableau VI.** Taux d'inoculation entomologique (TIE) de *An. gambiae* s.l. dans la zone traitée et dans la zone témoin avant et après la PID

| Emplacement | Insecticide (Années) | Période   | Département de l'Alibori   |                 |                                      |                 |                | Département de la Donga  |                 |                                       |                 |               |
|-------------|----------------------|-----------|----------------------------|-----------------|--------------------------------------|-----------------|----------------|--------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|---------------|
|             |                      |           | Commune Témoin (Bembèrèkè) |                 | Communes sous PID (Kandi + Gogounou) |                 | p-value (RR)   | Commune Témoin (Bassila) |                 | Communes sous PID (Djougou + Copargo) |                 | p-value (RR)  |
|             |                      |           | TIE/nuît                   | CI - 95%        | TIE/nuît                             | CI - 95%        |                | TIE/nuît                 | CI - 95%        | TIE/nuît                              | CI - 95%        |               |
| Intérieur   | PM 300 CS (2019)     | Avant PID | 0,094                      | [0,079 – 0,110] | 0,000                                | [0,000 – 0,000] | < 0,0001 (Inf) | 0,156                    | [0,134 – 0,181] | 0,016                                 | [0,011 – 0,021] | < 0,0001 (10) |
|             |                      | Après PID | 0,531                      | [0,523 – 0,539] | 0,000                                | [0,000 – 0,000] | < 0,0001 (Inf) | 0,750                    | [0,734 – 0,766] | 0,031                                 | [0,029 – 0,034] | < 0,0001 (24) |
|             | Clo + Del (2020)     | Avant PID | 0,000                      | [0,000 – 0,014] | 0,000                                | [0,000 – 0,001] | 1 (NaN)        | 0,000                    | [0,000 – 0,018] | 0,021                                 | [0,015 – 0,028] | 0,031 (0)     |
|             |                      | Après PID | 0,300                      | [0,290 – 0,311] | 0,050                                | [0,047 – 0,053] | < 0,0001 (6)   | 0,750                    | [0,733 – 0,767] | 0,200                                 | [0,195 – 0,205] | < 0,0001 (4)  |
|             | Clo 50 WG (2021)     | Avant PID | 0,000                      | [0,000 – 0,004] | 0,034                                | [0,031 – 0,037] | < 0,0001 (0)   | 0,033                    | [0,023 – 0,045] | 0,014                                 | [0,011 – 0,018] | < 0,0001 (2)  |
|             |                      | Après PID | 0,538                      | [0,530 – 0,546] | 0,275                                | [0,271 – 0,279] | < 0,0001 (2)   | 0,901                    | [0,887 – 0,916] | 0,980                                 | [0,974 – 0,987] | < 0,0001 (1)  |
| Extérieur   | PM 300 CS (2019)     | Avant PID | 0,063                      | [0,047 – 0,082] | 0,016                                | [0,013 – 0,018] | < 0,0001 (4)   | 0,031                    | [0,019 – 0,049] | 0,031                                 | [0,024 – 0,040] | 1 (1)         |
|             |                      | Après PID | 0,219                      | [0,213 – 0,224] | 0,078                                | [0,075 – 0,081] | < 0,0001 (3)   | 0,500                    | [0,485 – 0,516] | 0,031                                 | [0,029 – 0,033] | < 0,0001 (16) |
|             | Clo + Del (2020)     | Avant PID | 0,000                      | [0,000 – 0,018] | 0,000                                | [0,000 – 0,001] | 1 (NaN)        | 0,000                    | [0,000 – 0,010] | 0,021                                 | [0,015 – 0,029] | 0,002 (0)     |
|             |                      | Après PID | 0,250                      | [0,238 – 0,262] | 0,075                                | [0,071 – 0,079] | < 0,0001 (3)   | 0,300                    | [0,291 – 0,309] | 0,150                                 | [0,146 – 0,154] | < 0,0001 (2)  |
|             | Clo 50 WG (2021)     | Avant PID | 0,000                      | [0,000 – 0,005] | 0,021                                | [0,018 – 0,024] | < 0,0001 (0)   | 0,083                    | [0,066 – 0,103] | 0,042                                 | [0,034 – 0,050] | < 0,0001 (2)  |
|             |                      | Après PID | 0,352                      | [0,346 – 0,358] | 0,205                                | [0,202 – 0,208] | < 0,0001 (2)   | 1,092                    | [1,077 – 1,107] | 1,220                                 | [1,213 – 1,227] | < 0,0001 (1)  |

TIE : taux d'inoculation entomologique ; % : pourcentage ; PM : pirimiphos-méthyl ; CS : capsule suspensions ; WG : Water dispersible granules ; Clot + Del : mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg ; Clo 50 WG : clothianidine 50 WG



**Figure 37 :** Evolution des indicateurs entomologiques de transmission clés de *An. gambiae* s.l. à l'intérieur (A) et à l'extérieur (B) des habitations dans la zone témoin et dans la zone traitée avant la PID de 2019 à 2021



**Figure 38** : Evolution des indicateurs entomologiques de transmission clés de *An. gambiae* s.l. à l'intérieur (A) et à l'extérieur (B) des habitations dans la zone témoin et dans la zone traitée après la PID de 2019 à 2021

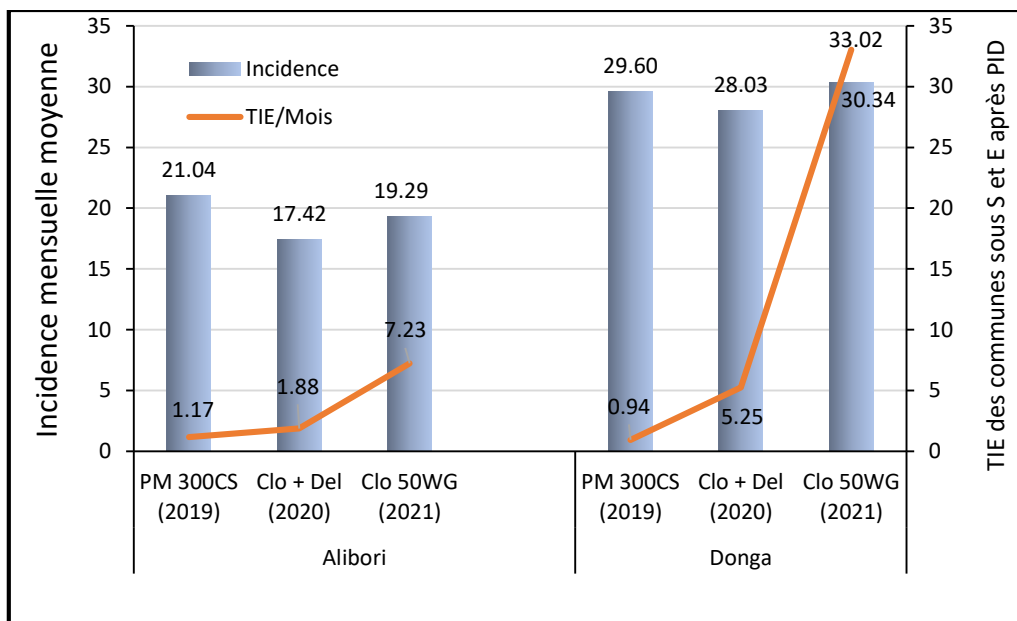


### 3.2.1.6. Incidence du paludisme

L'incidence du paludisme dans le département de l'Alibori a été estimé à 17/1000 personnes par mois en 2020 avec le mélange de clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg et à 19/1000 personnes par mois en 2021 avec clothianidine 50 WG contre 21/1000 personnes par mois en 2019 avec le pirimiphos-méthyl 300 CS. Une réduction de l'incidence palustre a été notée respectivement en 2020 et 2021 dans les zones PID avec les produits insecticides à base de clothianidine. Le même constat a été fait dans la Donga avec le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg où l'incidence du *Plasmodium* a été évaluée à 28/1000 personnes par mois contre 30/1000 personnes par mois pour le pirimiphos-méthyl 300 CS (Tableau VII). Dans le même département, l'augmentation du TIE en 2021 avec le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg a été associée à l'accroissement de l'incidence palustre (Figure 39). La valeur calculée a été de 30/1000 personnes par mois similaire ( $p=0,056$ ) à celle du pirimiphos-méthyl 300 CS (30/1000 personnes par mois) en 2019 (Tableau VII).

**Tableau VII.** Incidence palustre des communes sous le suivi et évaluation de la PID par département et par insecticide.

| Départements | Communes PID sous le Suivi et Evaluation | Insecticide utilisé par année                                            | Moyenne mensuelle des nouveaux cas | Populations | Incidence |
|--------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------|-----------|
| Alibori      | Kandi                                    | Pirimiphos-méthyl 300 CS ( <b>2019</b> )                                 | 6926                               | 329209      | 21,03831  |
|              | Gogounou                                 | Mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg ( <b>2020</b> ) | 5939                               | 340798      | 17,42675  |
|              |                                          | Clothianidine 50 WG ( <b>2021</b> )                                      | 6806                               | 352794      | 19,29171  |
| Donga        | Djougou                                  | Pirimiphos-méthyl 300 CS ( <b>2019</b> )                                 | 11122                              | 375724      | 29,60152  |
|              | Copargo                                  | Mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg ( <b>2020</b> ) | 10902                              | 388949      | 28,02938  |
|              |                                          | Clothianidine 50 WG ( <b>2021</b> )                                      | 12217                              | 402640      | 30,34224  |



**Figure 39** : Evolution du TIE et de l'incidence palustre des communes sous le suivi et évaluation (S et E) de la PID.

### 3.2.1.7. Densité au repos et taux d'alimentation sanguine

Globalement, les campagnes de PID de 2019 avec le pirimiphos-méthyl 300 CS et de 2020 avec le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg ont permis une réduction significative ( $p < 0,0001$ ) de *An. gambiae* s.l. collectés par PSC dans les chambres traitées par rapport aux chambres non traitées (Tableau VIII). Toutefois, pour la PID de 2021 avec la clothianidine 50 WG, la densité au repos de *An. gambiae* s.l. a été similaire ( $p = 0,1503$ ) dans les chambres traitées (1,07) et les chambres non traitées (0,86) (témoins) dans le département de l'Alibori (Tableau VIII). Dans le département de la Donga, la densité au repos de *An. gambiae* s.l. avec la clothianidine 50 WG a été significativement élevée ( $p = 0,0033$ ) dans les chambres traitées (1,46) comparativement aux témoins (1,00) (Tableau VIII). Les résultats du tableau IX ont témoigné la meilleure performance du pirimiphos-méthyl 300 CS à réduire la densité au repos des moustiques à l'intérieur des chambres traitées que le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg et la clothianidine 50 WG.

Dans l'ensemble, les taux d'alimentation de sang de *An. gambiae* s.l. étaient élevés et semblables ( $p > 0,05$ ) dans les chambres traitées (65,25% - 91,45%) et dans les chambres témoins (60,87% - 88,75%). En comparaison au pirimiphos-méthyl 300 CS, aucune différence significative n'a été observée avec le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg et la clothianidine 50 WG dans le département de l'Alibori (Tableau IX). Cependant, comparé

à la clothianidine 50 WG, le pirimiphos-méthyl 300 CS a réduit significativement le taux d'alimentation de sang des moustiques à l'intérieur des chambres traitées dans le département de la Donga.

**Tableau VIII.** Densité au repos à l'intérieur et taux d'alimentation sanguine de *An. gambiae* s.l. collectés par PSC après les PID de 2019, 2020 et 2021 dans les communes-contrôle et les communes sous PID.

| Période<br>(Insecticide)            | Communes           | Nb de<br>chambre | Nb de<br><i>An.<br/>gambiae</i><br>s.l.<br>collecté | Nb de<br>gorgé | Densité au repos par chambre |                      |                   | Taux d'alimentation<br>de sang |         |
|-------------------------------------|--------------------|------------------|-----------------------------------------------------|----------------|------------------------------|----------------------|-------------------|--------------------------------|---------|
|                                     |                    |                  |                                                     |                | Valeur                       | RR [95% CI]          | P-value<br>(Wald) | Proportion (%)                 | P-value |
| Après PID<br>2019<br>(PM 300<br>CS) | Bembèrèkè (témoin) | 60               | 94                                                  | 75             | 1,57                         | 1                    | < 0,0001          | 79,79                          | 1,00    |
|                                     | Kandi + Gogounou   | 120              | 25                                                  | 20             | 0,21                         | 7,52 [4,80 – 12,20]  |                   | 80,00                          |         |
|                                     | Bassila (témoin)   | 30               | 139                                                 | 112            | 4,63                         | 1                    | < 0,0001          | 80,58                          | 0,23    |
|                                     | Djougou + Copargo  | 120              | 48                                                  | 34             | 0,40                         | 11,58 [8,29 – 16,44] |                   | 70,83                          |         |
| Après PID<br>2020<br>(Clo + Del)    | Bembèrèkè (témoin) | 60               | 189                                                 | 130            | 3,15                         | 1                    | < 0,0001          | 68,78                          | 0,48    |
|                                     | Kandi + Gogounou   | 120              | 102                                                 | 75             | 0,85                         | 3,71 [2,90 – 4,76]   |                   | 73,53                          |         |
|                                     | Bassila (témoin)   | 60               | 201                                                 | 140            | 3,35                         | 1                    | < 0,0001          | 69,65                          | 0,49    |
|                                     | Djougou + Copargo  | 120              | 118                                                 | 77             | 0,98                         | 3,41 [2,70 – 4,31]   |                   | 65,25                          |         |
| Après PID<br>2021<br>(Clo 50<br>WG) | Bembèrèkè (témoin) | 80               | 69                                                  | 42             | 0,86                         | 1                    | 0,1503            | 60,87                          | 0,09    |
|                                     | Kandi + Gogounou   | 160              | 171                                                 | 125            | 1,07                         | 0,81 [0,60 – 1,07]   |                   | 73,10                          |         |
|                                     | Bassila (témoin)   | 80               | 80                                                  | 71             | 1,00                         | 1                    | 0,0033            | 88,75                          | 0,62    |
|                                     | Djougou + Copargo  | 160              | 234                                                 | 214            | 1,46                         | 0,68 [0,52 – 0,88]   |                   | 91,45                          |         |

RR: rate ratio; p (wald): p-value du Wald test; [95% CI]: 95% intervalle de confiance; %: pourcentage; PM: pirimiphos-méthyl; CS: capsule suspensions; WG: Water dispersible granules; Clot + Del: mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg; Clo 50WG: clothianidine 50 WG

**Tableau IX.** Densité au repos à l'intérieur et taux d'alimentation sanguine de *An. gambiae* s.l. collectés par PSC après les PID de 2019, 2020 et 2021 dans les communes sous PID.

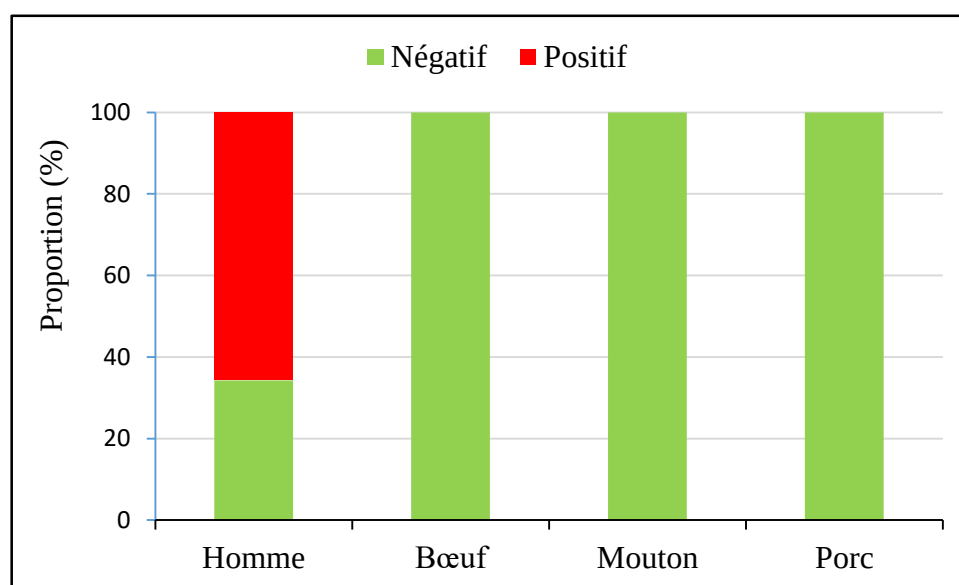
| Communes                                        | Période          | Nb de<br>chambre | Nb de<br><i>An.<br/>gambiae</i><br>s.l.<br>collecté | Nb de<br>gorgé | Densité au repos par chambre |                    |                   | Taux d'alimentation<br>de sang |         |
|-------------------------------------------------|------------------|------------------|-----------------------------------------------------|----------------|------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------------------|---------|
|                                                 |                  |                  |                                                     |                | Valeur                       | RR [95% CI]        | P-value<br>(Wald) | Proportion (%)                 | P-value |
| Kandi +<br>Gogounou<br>(sous PID<br>in Alibori) | 2019 (PM 300CS)  | 120              | 25                                                  | 20             | 0,21                         | 1                  | -                 | 80,00                          | -       |
|                                                 | 2020 (Clo + Del) | 120              | 102                                                 | 75             | 0,85                         | 0,25 [0,15 – 0,38] | < 0,0001          | 73,53                          | 0,68    |
|                                                 | 2021 (Clo 50WG)  | 160              | 171                                                 | 125            | 1,07                         | 0,15 [0,09 – 0,22] | < 0,0001          | 73,10                          | 0,62    |
|                                                 | 2019 (PM 300CS)  | 120              | 48                                                  | 34             | 0,40                         | 1                  | -                 | 70,83                          | -       |

|                                       |                  |     |     |     |      |                    |          |       |        |
|---------------------------------------|------------------|-----|-----|-----|------|--------------------|----------|-------|--------|
| Djougou + Copargo (sous PID in Donga) | 2020 (Clo + Del) | 120 | 118 | 77  | 0,98 | 0.41 [0,28 – 0,57] | < 0,0001 | 65,25 | 0,61   |
|                                       | 2021 (Clo 50WG)  | 160 | 234 | 214 | 1,46 | 0.27 [0,20 – 0,37] | < 0,0001 | 91,45 | 0,0002 |

RR: rate ratio; p (wald): p-value de Wald test; [95% CI]: 95% intervalle de confidence; %: pourcentage; PM: pirimiphos-méthyl; CS: capsule suspensions; WG: Water dispersible granules; Clot + Del: mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg; Clo 50WG: clothianidine 50 WG

### 3.2.1.8. Origine du repas sanguin alimenté par *Anopheles gambiae* s.l. dans les communes traitées

Le repas sanguin chez *Anopheles gambiae* est essentiel pour le développement des œufs chez la femelle. L'analyse des abdomens pleins de sang des moustiques *Anopheles gambiae* s.l. collectés à l'aide de la méthode de pulvérisation de pyrèthre dans les communes (PID), est illustrée dans la figure 40. En général, aucun *Anopheles gambiae* s.l. n'a été observé se nourrissant de sang de bœuf, de mouton ou de porc. Environ 70% des *Anopheles gambiae* s.l. gorgés de sang se sont nourris sur des humains, tandis que les autres ont été observés se nourrissant d'autres animaux non encore identifiés.



**Figure 40** : Origine du repas de sang de *Anopheles gambiae* s.l. dans les communes traitées

### 3.2.1.9. Parturité chez *An. gambiae* s.l. après la PID

Les tableaux X et XI montrent l'impact de la PID sur la longévité de *An. gambiae* s.l. avec le pirimiphos-méthyl 300 CS, le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg et la clothianidine 50 WG. Après la mise en œuvre de la PID, le taux de parturité de *An. gambiae* s.l. a été réduit significativement ( $p < 0,001$ ) dans les maisons traitées (40,98% à 41,70%) avec

le pirimiphos-méthyl 300 CS par rapport aux maisons non traitées (65,70% à 65,92%) (Tableau X). Pour les insecticides contenant de la clothianidine, seul le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg a su réduire de façon significative ( $p < 0,001$ ) le taux de parturité au niveau des maisons traitées (44,73% contre 62,57% dans les maisons non traitées) dans l'Alibori. La légère réduction du taux de parturité constatée avec la clothianidine 50 WG n'a pas été accompagnée de différence significative entre les maisons traitées et les maisons non traitées (Alibori :  $p = 0,49$  ; Donga :  $p = 0,17$ ) (Tableau X). L'étude comparative des taux de parturité entre les insecticides (Tableau XI), a montré la belle performance du pirimiphos-méthyl 300 CS à réduire la longévité des moustiques vecteurs du paludisme. Il est suivi du mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg et de la clothianidine 50WG.

**Tableau X.** Taux de parturité de *An. gambiae* s.l. dans les communes PID et dans les communes témoins après les PID de 2019, 2020 et 2021

| Période<br>(Insecticides)         | Département | Communes           | Nb de <i>An.<br/>gambiae</i> s.l.<br>disséqué | Nb de<br>pares | Taux de<br>parturité<br>(%) | p-value  |
|-----------------------------------|-------------|--------------------|-----------------------------------------------|----------------|-----------------------------|----------|
| 2019, Après<br>PID (P M<br>300CS) | Alibori     | Bembèrèkè (témoin) | 551                                           | 362            | 65,70                       | < 0,0001 |
|                                   |             | Kandi + Gogounou   | 427                                           | 175            | 40,98                       |          |
|                                   | Donga       | Bassila (témoin)   | 314                                           | 207            | 65,92                       | < 0,0001 |
|                                   |             | Djougou + Copargo  | 470                                           | 196            | 41,70                       |          |
| 2020, Après<br>PID (clo + del)    | Alibori     | Bembèrèkè (témoin) | 179                                           | 112            | 62,57                       | 0,0004   |
|                                   |             | Kandi + Gogounou   | 237                                           | 106            | 44,73                       |          |
|                                   | Donga       | Bassila (témoin)   | 247                                           | 144            | 58,30                       | < 0,0001 |
|                                   |             | Djougou + Copargo  | 343                                           | 276            | 80,47                       |          |
| 2021, Après<br>PID (clo<br>50WG)  | Alibori     | Bembèrèkè (témoin) | 117                                           | 94             | 80,34                       | 0,49     |
|                                   |             | Kandi + Gogounou   | 317                                           | 243            | 76,66                       |          |
|                                   | Donga       | Bassila (témoin)   | 77                                            | 69             | 89,61                       | 0,17     |
|                                   |             | Djougou + Copargo  | 212                                           | 174            | 82,08                       |          |

p-value: comparaison du taux de parturité de *An. gambiae* s.l. entre les communes traitées et les communes témoins (Test utilisé: Chi-square test); Nb: Nombre; PM: pirimiphos-méthyl; CS: capsule suspensions; WG: Water dispersible granules; Clot + Del: mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg; Clo 50WG: clothianidine 50 WG.

**Tableau XI.** Taux de parturité de *An. gambiae* s.l. dans les communes PID après les campagnes de 2019, 2020 et 2021

| Communes              | Période<br>(Insecticides) | Nb de <i>An.<br/>gambiae</i> s.l.<br>disséqué | Nb de pares | Taux de<br>parturité (%) | p-value  |
|-----------------------|---------------------------|-----------------------------------------------|-------------|--------------------------|----------|
| Kandi +               | 2019 (PM 300CS)           | 427                                           | 175         | 40,98                    | -        |
| Gogounou<br>(sous PID | 2020 (Clo + Del)          | 237                                           | 106         | 44,73                    | 0,39     |
| dans Alibori)         | 2021 (Clo 50WG)           | 317                                           | 243         | 76,66                    | < 0,0001 |
| Djougou +             | 2019 (PM 300CS)           | 470                                           | 196         | 41,70                    | -        |
| Copargo (sous         | 2020 (Clo + Del)          | 343                                           | 276         | 80,47                    | < 0,0001 |
| PID dans              | 2021 (Clo 50WG)           | 212                                           | 174         | 82,08                    | < 0,0001 |
| Donga)                |                           |                                               |             |                          |          |

p-value: comparaison du taux de parturité de *An. gambiae* s.l. entre les communes traitées et les communes témoins (Test utilisé: Chi-square test); Nb: Nombre; PM: pirimiphos-méthyl; CS: capsule suspensions; WG: Water dispersible granules; Clot + Del: mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg; Clo 50WG: clothianidine 50 WG.

### 3.2.1.10. Discussion

Cette étude a été conduite pour connaître la différence dans les indicateurs de transmission du paludisme (taux de piqûres humaines, indice de sporozoïtes, taux d'inoculation entomologique, incidence du paludisme, densité de repos à l'intérieur, taux d'alimentation sanguine et parturité) après la pulvérisation de produits à base de pirimiphos-méthyl et de clothianidine. Des fluctuations ont été observées dans l'abondance de moustiques collectés selon les genres et les espèces par année d'étude. *Culex (Cx.) quinquefasciatus* (59,64%) a été relativement dominant suivi de *Anopheles (An.) gambiae* s.l. (37,62%). Au cours des 3 années d'étude, *Cx. quinquefasciatus* était plus collectés dans les zones centrales alors que *An. gambiae* s.l. était généralement dominant dans les zones périphériques. L'abondance du *Cx. quinquefasciatus* serait liée à ces aptitudes à pondre des œufs et à se développer dans une variété de gîtes naturels et artificiels (Gil *et al.*, 2021). Parmi les huit (8) espèces d'anophèles collectées, *An. gambiae* s.l., *An. funestus* et *An. nili* ont été identifiées vecteurs du paludisme. Le complexe *An. gambiae* a été omniprésent dans toute la zone d'étude avec une dominance absolue de 98,64% (18.683/18.940) sur les autres anophèles. Le groupe *An. funestus* vient en deuxième position [ 1% (190/18.940) ] et ensuite les quelques spécimens de *An. nili* [ 0,03% (5/18.940) ]. Cette prédominance de *An. gambiae* s.l. a été antérieurement signalée au nord Bénin par Gnanguenon *et al.* (2014), Aikpon *et al.* (2013) et Salako *et al.* (2019) respectivement à Kandi, dans l'Atacora

et dans l'Alibori-Donga. La caractérisation moléculaire de *An. gambiae* s.l. a montré que *An. gambiae* (52,86%), *An. coluzzii* (46,35%) et *An. arabiensis* (0,78%) sont les espèces sœurs qui peuplent les deux départements d'étude. Ces résultats sont similaires à celui de *Salako et al.* (2019).

La réduction du taux de piquêr à l'intérieur des maisons traitées par rapport aux maisons témoins suggère la prévention complémentaire que représente la PID pour la lutte contre le paludisme à côté de moustiquaires imprégnées. En effet, *Akogbéto et al.* (2018), ont montré des taux élevés de piquêr de *An. gambiae* s.l. sur l'homme à l'intérieur des maisons sous la couverture des MIILD.

Les résultats de notre étude indiquent un meilleur taux de réduction du contact homme vecteur, de l'indice sporozoïtique (IS), du taux d'inoculation entomologique (TIE) de *An. gambiae* s.l. à l'intérieur mais aussi à l'extérieur des habitations pulvérisées avec le pirimiphos-méthyl 300 CS dans les départements de l'Alibori et de la Donga. Aussi, on note une réduction modérée des trois indicateurs à l'intérieur des habitations traitées avec le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg. En ce qui concerne la clothianidine 50 WG seule, les taux de piquêr à l'intérieur et à l'extérieur des habitations et des infections à sporozoïtes sont élevés éliminant la possibilité de réduire le TIE à l'intérieur des habitations traitées avec l'insecticide. Ces résultats confirment l'efficacité du pirimiphos-méthyl 300 CS utilisé en pulvérisation intradomiciliaire (PID) pour l'élimination et le contrôle des vecteurs du paludisme résistant aux pyréthrinoïdes. Au nord du Bénin et au Kenya, les conclusions des travaux de *Akogbéto et al.* (2018), *Salako et al.* (2019) et *Abong'o et al.* (2020) ont évoqué l'impact positif du pirimiphos-méthyl 300 CS en PID dans la réduction des indicateurs entomologiques de transmission de paludisme. L'efficacité résiduelle de dix (10) mois du pirimiphos-méthyl 300 CS au Kenya en 2020 (*Abong'o et al.*, 2020), a permis non seulement la réduction drastique de la densité *An. funestus*, vecteur principal du paludisme, mais aussi la réduction du nombre de cas palustres enregistrés au niveau des structures sanitaires. L'effet positif de la PID avec le pirimiphos-méthyl 300 CS sur la longévité des vecteurs du paludisme au repos et à l'extérieur des habitations traitées dans les départements de l'Alibori et de la Donga résulte de la rapidité d'action (*Mhadhbi et al.*, 2012) de l'insecticide sur les récepteurs ciblés de l'insecte vecteur. La réduction de la transmission du paludisme avec la clothianidine 50 WG seule et le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg en PID contre les moustiques résistant aux pyréthrinoïdes a été respectivement sans différence significative et relativement meilleure à l'intérieur des habitations. Les insecticides à base de clothianidine en PID ont un effet létal lent

sur les moustiques contrairement aux autres insecticides préqualifiés en santé publique. Lorsque la souche du terrain des anophèles entre en contact avec la clothianidine, elle peut survivre pendant 120 heures (Odjo *et al.*, 2023 ; Kweka *et al.*, 2018 ; Oxborough *et al.*, 2019). Si nous admettons que la femelle sauvage de *An. gambiae* s.l. s'alimente du sang toutes les 48 heures (Carnevale *et al.*, 1979), alors elle peut piquer 3 fois au moins pour prendre son repas sanguin à l'intérieur des habitations traitées avant sa mort, ce qui pourrait augmenter le taux de piquê des anophèles et la transmission du paludisme au niveau des habitations pulvérisées avec des insecticides à base de clothianidine. La conclusion des activités de recherche de Hoppé *et al.* (2016) notifiant la faible activité insecticide de la clothianidine contre *Aedes aegypti* pourrait permettre de comprendre nos résultats. Cette faible activité de la clothianidine conduisant à son rejet (Hoppé *et al.*, 2016) a été approuvée par Lees *et al.* (2019) lorsqu'ils ont constaté l'efficacité insuffisante de la clothianidine contre les moustiques lors des essais de contact des tarsi des anophèles appliqués sur des bouteilles sensibilisées avec la clothianidine.

Malgré l'augmentation croissante du TIE en 2020 et 2021 avec l'utilisation respective du mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg et de clothianidine 50 WG seule en PID, l'incidence du paludisme a été significativement réduite dans l'Alibori au cours des deux années et seulement en 2020 dans la Donga. Cette réduction de l'incidence à travers la régression du nombre de nouveaux cas palustres enregistrés s'explique probablement par la distribution nationale et l'utilisation des MIILD. En effet, en 2020, 12.703.091 MIILD envisagées pour couvrir la totalité des ménages dénombrés sur l'étendue du territoire ont été entièrement distribuées (WHO, 2021).

La densité au repos de *An. gambiae* s.l. à l'intérieur des chambres pulvérisées est significativement faible à celle des chambres non pulvérisées en 2019 avec l'usage du pirimiphos-méthyl 300 CS en PID et en 2020 avec le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62.5 g/kg dans toute la zone d'étude. Cependant, en 2021, la situation contraire a été observée avec plus de *An. gambiae* s.l. au repos dans les chambres pulvérisées avec la clothianidine 50 WG seule. Ce résultat est similaire à celui de Agossa *et al.* (2018) à Covè dans les cases expérimentales où l'exophilie induite par la clothianidine 50 WG seule était relativement faible. Cela serait dû à l'absence de propriété excito-répulsive et irritante de la clothianidine.

Les taux de gorgement élevés observés dans les habitations traitées peuvent s'expliquer par le comportement anthropophile de *An. gambiae* s.l. qui cherche à prendre d'abord son repas de sang avant de se reposer. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Akogbéto *et al.* (2018),



Agossa *et al.* (2014), Ototo *et al.* (2015), Padonou *et al.* (2012), Gnanguenon *et al.* (2014) et Aïkpon *et al.* (2014). On peut supposer qu'au cours des 2 premières heures après le coucher du soleil, les femelles de *An. gambiae* s.l. réussissent à s'alimenter du sang (Carnevale *et al.*, 1979 ; Brun, 1973) au moment où les ménagères s'occupent des activités domestiques ou sont en train de suivre la télévision ou la radio. Aussi, *An. gambiae* s.l. arrive à prendre son repas de sang au crépuscule (Carnevale *et al.*, 1979) lorsque les membres du ménage quittent leur MIILD pour la prière et autres activités domestiques comme la cuisine. A la fin de la prise du repas de sang, les femelles de *An. gambiae* s.l. vont se reposer sur les différents supports accrochés aux murs pulvérisés d'insecticide évitant le contact avec l'insecticide.

Le faible taux de parturité observé dans les habitations pulvérisées de pirimiphos-méthyl confirme la capacité de l'insecticide à limiter le séjour des moustiques endophiles. Ces résultats confirment ceux de Salako *et al.* (2019). Cependant, aucune différence significative n'a été observée du côté de clothianidine 50 WG seule. Ceci peut être dû à sa faible toxicité (Hoppé *et al.*, 2016) qui favorise un long séjour des anophèles vecteur du paludisme à l'intérieur des habitations.

Toutefois, il est à noter que la faible performance de la clothianidine à réduire les indicateurs entomologiques de transmission du paludisme pourrait être liée à d'autres facteurs tels que le climat, la couverture de l'intervention (Odjo *et al.*, 2023).

## **Conclusion**

La PID avec des produits à base de clothianidine n'a pas pu entraîner une réduction plus importante des populations de vecteurs et des indicateurs de transmission du paludisme que la PID avec le pirimiphos-méthyl malgré l'efficacité résiduelle prolongée des produits à base de clothianidine par rapport à l'efficacité résiduelle plus courte du pirimiphos-méthyl.

### 3.2.2. Potentiel de transmission du *Plasmodium falciparum* par *An. gambiae* s.l. porteurs des mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S* dans les zones de pulvérisation intradomiciliaire à effet rémanent avec de la clothianidine 50 WG

Les résultats de cette section ont été publiés dans *Tropical Medicine and Health* (**Article 3**)

**Esdras Mahoutin Odjo**, M Tognidro, R Govoetchan, A A Missihoun, G G Padonou, J M Ahouandjinou, B Akinro, Z C Koukpo, F T Tokponnon, Armel Djenontin, Clément Agbangla et M C Akogbeto

Malaria transmission potential of *Anopheles gambiae* s.l. in indoor residual spraying areas with clothianidin 50 WG in northern Benin

*Potentiel de transmission du paludisme par Anopheles gambiae s.l. dans les zones de pulvérisation intradomiciliaire à effet rémanent avec de la clothianidine 50 WG dans le nord du Bénin*

La nécessité d'évaluer la capacité de transmission du *Plasmodium falciparum* par *Anopheles gambiae* s.l. de génotypes résistants s'est manifestée dans les zones où la clothianidine 50 WG a été utilisée pour la PID. Cela fait suite à l'observation de l'efficacité relativement faible des insecticides à base de clothianidine dans la réduction des indicateurs entomologiques de transmission du paludisme par rapport au pirimiphos-méthyl, malgré leur nouveau mode d'action sur les vecteurs du paludisme.

#### 3.2.2.1. Fréquence des mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S* chez *Anopheles gambiae* s.l.

Les tableaux XII et XIII présentent les variations des fréquences génomiques et alléliques des mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S* chez les moustiques du complexe *Anopheles gambiae* dans les communes d'étude.

Globalement, la fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* (Tableau XII) était élevée dans toutes les communes d'étude surtout dans la Donga. Elle a été significativement plus basse à Bassila (80,16%), commune témoin, que dans les deux communes sous PID dans la Donga à savoir : Copargo (85,39%) (p-value = 0,01) et Djougou (88,38%) (p-value < 0,001). Dans l'Alibori, la fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* était élevée dans la commune témoin comparativement aux communes PID. Elle est sans aucune différence significative dans Gogounou (p-value = 0,67) et significativement élevée comparativement à Kandi (p-value =

0,03). Dans toutes les communes d'étude, les anophèles homozygotes résistants (RR) étaient les plus nombreux dans la Donga (70,07% - 83,30%) et dans l'Alibori (53,70% - 59,23%) pour la mutation *kdr-L995F* (Tableau XII). Inversement, les homozygotes sensibles (SS) étaient les moins représentés.

La fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* dans les communes PID (79%) est relativement supérieure sans aucune différence significative ( $p = 0.14$ ) à celle des communes-témoins (77%)

La fréquence allélique de la mutation *ace-1 G280S* (Tableau XIII) du complexe *An. gambiae* dans la zone d'étude était pratiquement basse (2,20% - 3,15%) dans toutes les communes et sans différence significative entre les communes témoins et les communes sous PID ( $p$ -value  $> 0,05$ ). Les anophèles homozygotes sensibles pour la mutation *ace-1 G280S* étaient les plus dominants (93,70% - 95,59%). Aucun spécimen d'homozygote résistant (RR) n'a été retrouvé dans les communes-témoins et les communes PID.

**Tableau XII.** Fréquences de la mutation *kdr-L995F* du gène *Vgsc* chez *An. gambiae* s.l. dans les communes d'étude

| Département |          | Communes  | Fréquence génotypique % (n) |             |            | <i>F (Kdr-L995F)</i> | p-value |
|-------------|----------|-----------|-----------------------------|-------------|------------|----------------------|---------|
|             |          |           | RR                          | RS          | SS         |                      |         |
| Donga       | Témoin   | Bassila   | 70,07 (309)                 | 20,18 (89)  | 9,75 (43)  | 80,16                | -       |
|             | Sous PID | Copargo   | 78,57 (242)                 | 13,64 (42)  | 7,79 (24)  | 85,39                | 0,01    |
|             |          | Djougou   | 83,30 (459)                 | 10,16 (56)  | 6,53 (36)  | 88,38                | < 0,001 |
| Alibori     | Témoin   | Bembèrèkè | 59,23 (199)                 | 28,57 (96)  | 12,20 (41) | 73,51                | -       |
|             | Sous PID | Gogounou  | 58,93 (254)                 | 26,91 (116) | 14,15 (61) | 72,39                | 0,67    |
|             |          | Kandi     | 53,70 (196)                 | 29,04 (106) | 17,26 (63) | 68,22                | 0,03    |

SS = homozygote sensible ; RS = hétérozygote (hybride résistant et sensible) ; RR = homozygote résistant ; % = pourcentage ; (n) = nombre de vecteur analysé

**Tableau XIII.** Fréquences de la mutation *G280S* du gène *ace-1* chez *An. gambiae* s.l. dans les communes d'étude

| Département |          | Communes  | Fréquence génotypique % (n) |             | <i>F</i> ( <i>G280S</i> ) | p-value |
|-------------|----------|-----------|-----------------------------|-------------|---------------------------|---------|
|             |          |           | RS                          | SS          |                           |         |
| Donga       | Témoin   | Bassila   | 4,54 (20)                   | 95,46 (421) | 2,27                      | -       |
|             | Sous PID | Copargo   | 5,52 (17)                   | 94,48 (291) | 2,76                      | 0,66    |
|             |          | Djougou   | 5,08 (28)                   | 94,92 (523) | 2,54                      | 0,81    |
| Alibori     | Témoin   | Bembèrèkè | 4,76 (16)                   | 95,24 (320) | 2,38                      | -       |
|             | Sous PID | Gogounou  | 4,41 (19)                   | 95,59 (412) | 2,20                      | 0,95    |
|             |          | Kandi     | 6,30 (23)                   | 93,70 (342) | 3,15                      | 0,48    |

SS = homozygote sensible ; RS = hétérozygote (hybride résistant et sensible) ; % = pourcentage ; (n) = nombre de vecteur analysé

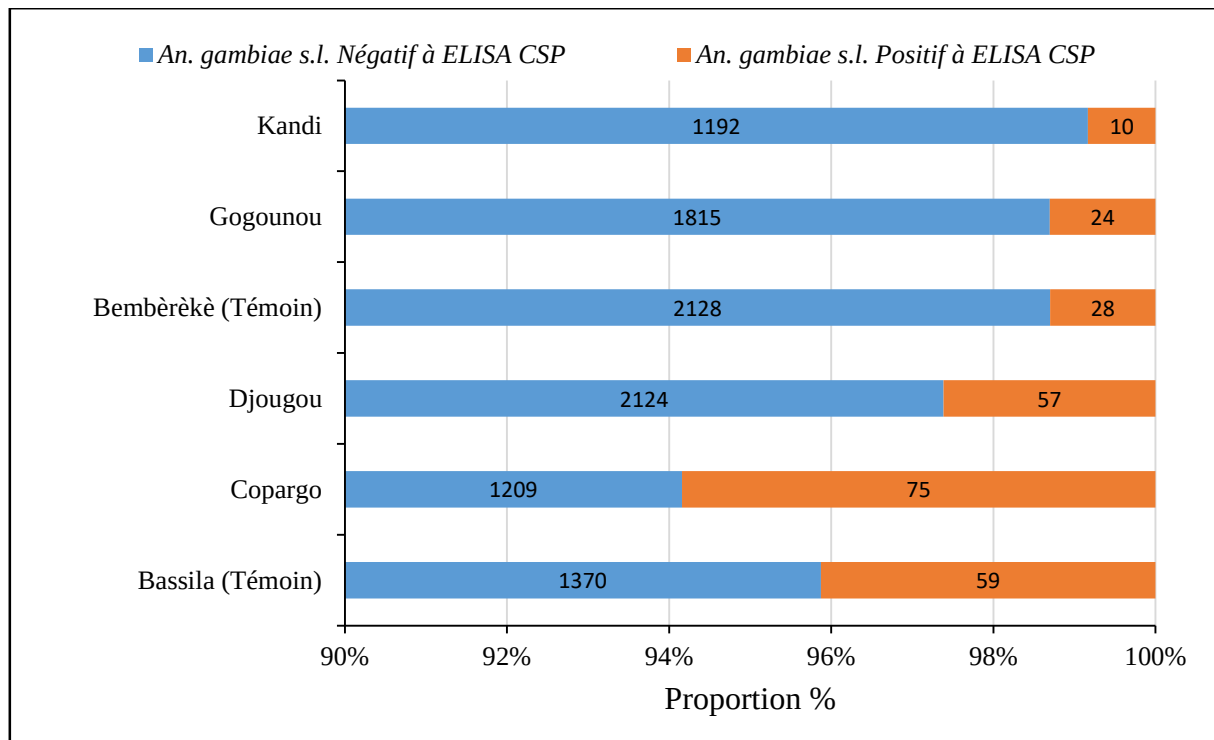
### 3.2.2.2. Infectivité au *Plasmodium falciparum* des vecteurs de paludisme collectés

La recherche de l'infectivité au *Plasmodium falciparum* a été faite par la méthode immuno-enzymatique dite ELISA ciblant la protéine circomsporozoïte (CSP) sur 10.091 moustiques *An. gambiae* s.l. collectés. L'indice sporozoïtique (IS) a été variable entre les communes traitées et les communes-témoins (Tableau XIV, Figure 41) avec une différence significative dans le département de la Donga. IS est faible à Djougou (2,61) avec p-value = 0,015 comparativement à Bassila (4,13) commune-témoin (Tableau XIV). Contrairement à Djougou, La commune de Copargo a enregistré un IS supérieur à celui de Bassila. L'IS dans l'Alibori a été similaire entre les communes traitées et non traitées. Dans l'ensemble, les communes PID présentent une légère augmentation non significative de l'indice sporozoïtique comparativement aux témoins (p = 0,751)

**Tableau XIV.** Evaluation de l'indice sporozoïtique de *Anopheles gambiae* s.l. dans les communes PID et les communes-témoins.

| Département |        | Commune   | Total <i>An. gambiae</i> s.l. testé | Total <i>An. gambiae</i> s.l. positif au <i>P. falciparum</i> | Indice Sporozoïtique (%) | P-value |
|-------------|--------|-----------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------|---------|
| Donga       | Témoin | Bassila   | 1.429                               | 59                                                            | 4,13                     | -       |
|             | Sous   | Copargo   | 1.284                               | 75                                                            | 5,84                     | 0,049   |
|             | PID    | Djougou   | 2.181                               | 57                                                            | 2,61                     | 0,015   |
| Alibori     | Témoin | Bembèrèkè | 2.156                               | 28                                                            | 1,3                      | -       |
|             | Sous   | Gogounou  | 1.839                               | 24                                                            | 1,31                     | 1       |
|             | PID    | Kandi     | 1.202                               | 10                                                            | 0,83                     | 0,291   |

*P.* = *Plasmodium* ; % = pourcentage



An. = *Anopheles*; s.l. = sensu lato

**Figure 41** : Evolution de l'indice sporozoïtique de *Anopheles gambiae* s.l. dans les communes PID et les communes-témoins.

### 3.2.2.3. Transmission de *Plasmodium falciparum* par *An. gambiae* s.l. porteurs des mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S*

Les Tableaux XV et XVI présentent les données de la régression logistique effectuée à partir des résultats de l'infectivité au *P. falciparum* chez les différents génotypes des moustiques pour les mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S* dans les communes pulvérisées et témoins.

Pour la mutation *kdr-L995F* (Tableau XV) la probabilité d'infection au *P. falciparum* des populations de *An. gambiae* s.l. de génotype homozygote résistant (RR) est similaire à celle de génotype hétérozygote (RS) dans la commune-témoin et dans les communes PID du département de la Donga [Bassila (Témoin) : (OR : 1,26 ; IC-95% [OR] : 0,56-2,64 ; p = 0.52) ; Copargo (PID) : (OR : 1,37 ; IC-95% [OR] : 0,55-3,11 ; p = 0.41) ; Djougou (PID) : (OR : 1,9 ; IC-95% [OR] : 0,72-4,46 ; p = 0.13)]. Les homozygotes sensibles de *An. gambiae* s.l. (SS) du département de la Donga sont significativement plus aptes à transmettre le *P. falciparum* que les moustiques de génotype homozygote résistant [Bassila (Témoin) : (OR : 3,49 ; IC-95% [OR] : 1,51-7,71 ; p < 0,001) ; Copargo (PID) : (OR : 21,53 ; IC-95% [OR] : 6,77-90,75 ; p < 0,0001) ; Djougou (PID) : (OR : 5,67 ; IC-95% [OR] : 2,38-12,95 ; p < 0,0001)]. Le même

constat a été fait pour l'ensemble des communes PID dans la Donga et dans l'Alibori comparé aux communes-témoins. Nos résultats révèlent pour la même mutation *kdr-L995F*, qu'aucune différence significative n'a été notée dans l'ensemble en ce qui concerne la probabilité à l'infection au *P. falciparum* chez les différents *An. gambiae* s.l. de génotypes homozygotes résistants (RR), hétérozygotes (RS) et homozygotes sensibles (SS) ( $p > 0,05$ ) entre la commune de Bembèrèkè (témoin), de Gogounou (PID) et de Kandi (PID) du département de l'Alibori (Tableau XV).

Le Tableau XVI présente les données de la régression logistique effectuée à partir des résultats de l'infectivité au *P. falciparum* chez les différents génotypes de *An. gambiae* s.l. pour la mutation *ace-1 G280S* dans les communes-témoins et les communes PID sillonnées dans les départements de l'Alibori et de la Donga au cours de notre étude. Aucun individu de génotype homozygote résistant (RR) n'a été obtenu pour la mutation *ace-1 G280S* parmi les échantillons analysés. Les données ont montré que la probabilité d'infection au *P. falciparum* de *An. gambiae* s.l. de génotype hétérozygote (RS) est similaire à ceux de génotype homozygote sensible (SS) dans l'Alibori ; Gogounou (OR : 0,48 ; IC-95% [OR] : 0,10-4,55 ;  $p = 0,27$ ) et Djougou (OR : 0,59 ; IC-95% [OR] : 0,07-27,23 ;  $p = 0,48$ ). A Copargo et à Djougou dans la Donga, la probabilité d'infection au *P. falciparum* de *An. gambiae* s.l. de génotypes homozygotes sensibles (SS) est significativement meilleure à celle de *An. gambiae* s.l. de génotypes hétérozygotes (RS). N'ayant pas obtenu de spécimen positif au *P. falciparum* parmi les *An. gambiae* s.l. de génotypes RS collectés dans les autres communes (Bassila, Copargo et Bembèrèkè), la régression logistique n'a pas pris en compte ces sous-échantillons.

**Tableau XV :** Aptitude à la transmission de *P. falciparum* chez les différents génotypes pour la mutation *kdr-L995F* dans les communes d'étude

| Département | Commune            | Génotypes | Infection à <i>P. falciparum</i> |          | OR    | IC-95% [OR]  | p-value  |
|-------------|--------------------|-----------|----------------------------------|----------|-------|--------------|----------|
|             |                    |           | Négative                         | Positive |       |              |          |
| Donga       | Bassila (Témoin)   | RR        | 275                              | 34       | 1     | -            | -        |
|             |                    | RS        | 77                               | 12       | 1,26  | 0,56 - 2,64  | 0,5191   |
|             |                    | SS        | 30                               | 13       | 3,49  | 1,51 - 7,71  | 0,0005   |
|             | Copargo (PID)      | RR        | 197                              | 45       | 1     | -            | -        |
|             |                    | RS        | 32                               | 10       | 1,37  | 0,55 - 3,11  | 0,4055   |
|             |                    | SS        | 4                                | 20       | 21,53 | 6,77 - 90,75 | < 0,0001 |
|             | Djougou (PID)      | RR        | 422                              | 37       | 1     | -            | -        |
|             |                    | RS        | 48                               | 8        | 1,9   | 0,72 - 4,46  | 0,1312   |
|             |                    | SS        | 24                               | 12       | 5,67  | 2,38 - 12,95 | 0,00005  |
| Alibori     | Bembèrèkè (Témoin) | RR        | 185                              | 14       | 1     | -            | -        |
|             |                    | RS        | 87                               | 9        | 1,37  | 0,50 - 3,54  | 0,4929   |
|             |                    | SS        | 36                               | 5        | 1,83  | 0,48 - 5,82  | 0,3354   |
|             | Gogounou (PID)     | RR        | 238                              | 16       | 1     | -            | -        |
|             |                    | RS        | 115                              | 1        | 0,13  | 0,003 - 0,86 | 0,0284   |
|             |                    | SS        | 54                               | 7        | 1,92  | 0,63 - 5,24  | 0,1732   |
|             | Kandi (PID)        | RR        | 190                              | 6        | 1     | -            | -        |
|             |                    | RS        | 102                              | 4        | 1,24  | 0,25 - 5,37  | 0,7449   |
|             |                    | SS        | 63                               | 0        | 0     | 0 - 2,64     | 0,3408   |

SS = homozygote sensible ; RS = hétérozygote (hybride résistant et sensible) ; RR = homozygote résistant ; % = pourcentage ; *P.* = *Plasmodium* ; OR = Odds ratio

**Tableau XVI.** Aptitude à la transmission de *P. falciparum* chez les différents génotypes pour la mutation *ace-1 G280S* dans les communes d'étude

| Département | Commune            | Génotypes | Infection à <i>P. falciparum</i> |          | OR   | IC-95% [OR]  | p-value  |
|-------------|--------------------|-----------|----------------------------------|----------|------|--------------|----------|
|             |                    |           | Négative                         | Positive |      |              |          |
| Donga       | Bassila (Témoin)   | RS        | 20                               | 0        | 1    | -            | -        |
|             |                    | SS        | 362                              | 59       | Inf  | 0,77 - Inf   | 0,0909   |
|             | Copargo (PID)      | RS        | 17                               | 0        | 1    | -            | -        |
|             |                    | SS        | 216                              | 75       | Inf  | 1,38 - Inf   | 0,0159   |
|             | Djougou (PID)      | RS        | 15                               | 13       | 1    | -            | -        |
|             |                    | SS        | 479                              | 44       | 0,12 | 0,05 - 0,30  | < 0,0001 |
| Alibori     | Bembèrèkè (Témoin) | RS        | 16                               | 0        | 1    | -            | -        |
|             |                    | SS        | 292                              | 28       | Inf  | 0,34 - Inf   | 0,3794   |
|             | Gogounou (PID)     | RS        | 17                               | 2        | 1    | -            | -        |
|             |                    | SS        | 390                              | 22       | 0,48 | 0,10 - 4,55  | 0,2861   |
|             | Kandi (PID)        | RS        | 22                               | 1        | 1    | -            | -        |
|             |                    | SS        | 333                              | 9        | 0,59 | 0,07 - 27,23 | 0,4828   |

SS = homozygote sensible ; RS = hétérozygote (hybride résistant et sensible) ; % = pourcentage ; *P.* = *Plasmodium* ; OR = Odds ratio

#### 3.2.2.4. Discussion

La présente étude dont l'objectif est de rechercher la fréquence des mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S* et l'aptitude de *Anopheles gambiae* s.l. à transmettre *P. falciparum* a eu lieu dans 6 communes du nord Bénin dont quatre sont sous la PID et les deux autres communes servant de témoins. Les résultats de cette étude ont montré une fréquence allélique relativement élevée pour la mutation *kdr-L995F* dans l'ensemble des communes d'étude. Ces données montrent le niveau de résistance des *Anopheles gambiae* s.l. vecteurs du paludisme aux insecticides des classes des pyréthrinoïdes et des organochlorés notamment le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) dans la zone d'étude. Les résultats des études récentes qui ont montré de fortes fréquences alléliques de la mutation *kdr-L995F* dans plusieurs localités au Bénin (Sagbohan *et al.*, 2022 ; Yahouedo *et al.*, 2016 ; Ngufor *et al.*, 2015), et à travers différents pays endémiques d'Afrique (Casimiro *et al.*, 2014 ; Ochomo *et al.*, 2013 ; Mwane *et al.*, 2009 ; Awolola *et al.*, 2009) confirment ces résultats. Cette situation de forte distribution de la résistance aux pyréthrinoïdes est en réalité le résultat de l'intensification de la couverture en moustiquaire imprégnée de pyréthrinoïdes observée ces dernières années. Le déploiement de ces outils de contrôle dont l'efficacité est incontestable sur les moustiques exerce une pression de sélection (Williams *et al.*, 2022) qui accentue progressivement la résistance. Par ailleurs, la situation de la résistance observée dans les sites prospectés est aussi liée à l'utilisation massive de pyréthrinoïdes en agriculture, pour la protection des cultures, comme l'a rapporté Yadouléton *et al.* (2010 et 2009). La fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* du gène *Vgsc* a été significativement plus élevée dans les communes sous la couverture PID (Copargo et Djougou) comparativement à la commune-témoin (Bassila) dans le département de la Donga contrairement à celle des communes de l'Alibori. Cela pourrait s'expliquer par une forte utilisation des pyréthrinoïdes en agriculture dans la commune de Bembèrèkè et par l'intervention de la PID à Copargo et à Djougou. En effet, bien que les néonicotinoïdes agissent principalement sur le système nerveux des insectes en ciblant les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, il existe des preuves que l'exposition à des néonicotinoïdes tels que la clothianidine peut être associée à des mutations génétiques, y compris la mutation *kdr-L995F* chez les moustiques *Anopheles gambiae* s.l. (Zoh *et al.*, 2021 ; Tchouakui *et al.*, 2022). Les travaux de Zoh et collaborateurs ont montré que la clothianidine seule peut rapidement sélectionner des allèles de résistance métabolique chez *An. gambiae* (Zoh *et al.*, 2021).



Concernant la fréquence de la mutation *G280S* du gène *ace-1*, elle a été très faible dans toutes les communes et ne dépasse pas 4%. Cependant, il est à noter que la fréquence allélique a été légèrement plus faible à Bassila, (commune-témoin) qu'à Copargo et Djougou (communes pulvérisées). Globalement, les fréquences alléliques des communes PID (3%) et des communes témoins (2%) ont été similaires ( $p = 0,58$ ) confirmant le moindre ciblage du gène *ace-1* dans les interventions de lutte antivectorielle au Bénin.

L'infectivité au *Plasmodium falciparum* des moustiques du complexe *Anopheles gambiae* collectés a été très variable d'une commune à une autre et d'un département à l'autre indépendamment du niveau d'évolution des fréquences des mutations *kdr-L995F* du gène *Vgsc* et *G280S* du gène *ace-1*. Il a été constaté que la commune de Copargo a un indice sporozoïtique relativement significatif ( $p = 0,049$ ) par rapport aux autres communes (Bassila et Djougou). Le niveau élevé de transmission du paludisme observé à Copargo (zone traitée) par rapport à la commune-témoin (Bassila) pourrait être dû au fait que la transmission du paludisme est ordinairement beaucoup plus intense dans cette zone comme constaté par Yadouleton *et al.* (2018). En effet, Copargo est une commune frontalière du département de l'Atacora où l'incidence du paludisme est l'une des plus élevées sur le plan national (U.S PMI, 2022 ; MS/DPP/Annuaire des statistiques sanitaires, 2019).

L'aptitude à transmettre le *Plasmodium* chez *An. gambiae* s.l. porteur des mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S* a été recherchée dans l'ensemble des communes d'étude. Nos données ont montré que la présence de *P. falciparum* chez *An. gambiae* s.l. n'est pas liée au génotype des moustiques pour la mutation *kdr-L995F*. Ainsi, selon que le moustique est de génotype homozygote résistant (RR) ou homozygote sensible (SS) ou même de hétérozygote (RS), cela n'impacte en rien son aptitude à porter le *P. falciparum* et donc à assurer la transmission du paludisme. Le même constat a été effectué en ce qui concerne la mutation *G280S* du gène *ace-1* où les résultats montrent une aptitude similaire à porter le *P. falciparum* quoi qu'il soit le génotype du moustique, même si les homozygotes sensibles sont plus aptes par endroits. Ces données sont approuvées par celles de Ossè *et al.* (2020), qui ont démontré qu'il n'y avait aucune différence significative entre les fréquences alléliques des moustiques *An. gambiae* s.l. femelles infectées et non infectées au *P. falciparum* selon leur génotype respectif pour la mutation *kdr-L995F* du gène *Vgsc* et la mutation *G280S* du gène *ace-1*. Pour Mitri *et al.* (2015), la variation génétique influençant l'infection par *Plasmodium* chez les anophèles sauvages est liée à un haplotype naturel de 3-mégabase sur le chromosome 2L qui porte l'allèle *kdr* du gène qui n'influence pas directement la susceptibilité au parasite.

## Conclusion

Cette étude sur la résistance aux insecticides et la transmission du paludisme chez les moustiques *Anopheles gambiae* s.l. offre un aperçu crucial des interactions entre ces facteurs. Bien que la prévalence de la mutation *kdr-L995F* témoigne d'une résistance répandue aux insecticides, les résultats suggèrent que cette résistance ne semble pas avoir un impact direct majeur sur l'aptitude des moustiques à transmettre le *Plasmodium falciparum*. Cette constatation souligne l'importance d'adopter une approche intégrée pour la lutte contre le paludisme, en combinant diverses stratégies de contrôle pour cibler efficacement les vecteurs. Une collaboration continue entre la recherche, les décideurs politiques et les praticiens sur le terrain reste essentielle pour surmonter les défis complexes liés à cette maladie dévastatrice, et faire progresser la lutte contre le paludisme afin d'améliorer la santé des communautés vulnérables.

### 3.3. Mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G 280S* au sein des populations de *Anopheles gambiae* s.s. après usage des insecticides à base de clothianidine en pulvérisation intradomiciliaire

Les résultats de cette section ont été publiés dans *Journal of Community Medicine and Public Health Reports* (**Article 4**)

**Esdras Mahoutin Odjo**, Armel Djenontin, A Sidick, AJYH. Fassinou, AS Salako, BA Fanou, CJ Adoha, B Yovogan, CST Akpodji, ZC Koukpo, AA Missihoun, A Sovi, CD Kpanou, L Towakinou, R Osse, R Azondékon, GG Padonou, MC. Akogbeto and Clement Agbangla,

Genetic structure of *Anopheles coluzzii* and *Anopheles gambiae* populations in northern Benin (West Africa) in the context of indoor residual spraying

*Structure génétique des populations de Anopheles coluzzii et de Anopheles gambiae dans le nord du Bénin (Afrique de l'Ouest) dans le contexte des pulvérisations intradomiciliaires d'insecticide à effet rémanent*

#### 3.3.1. Fréquences alléliques de la mutation *kdr-L995F*

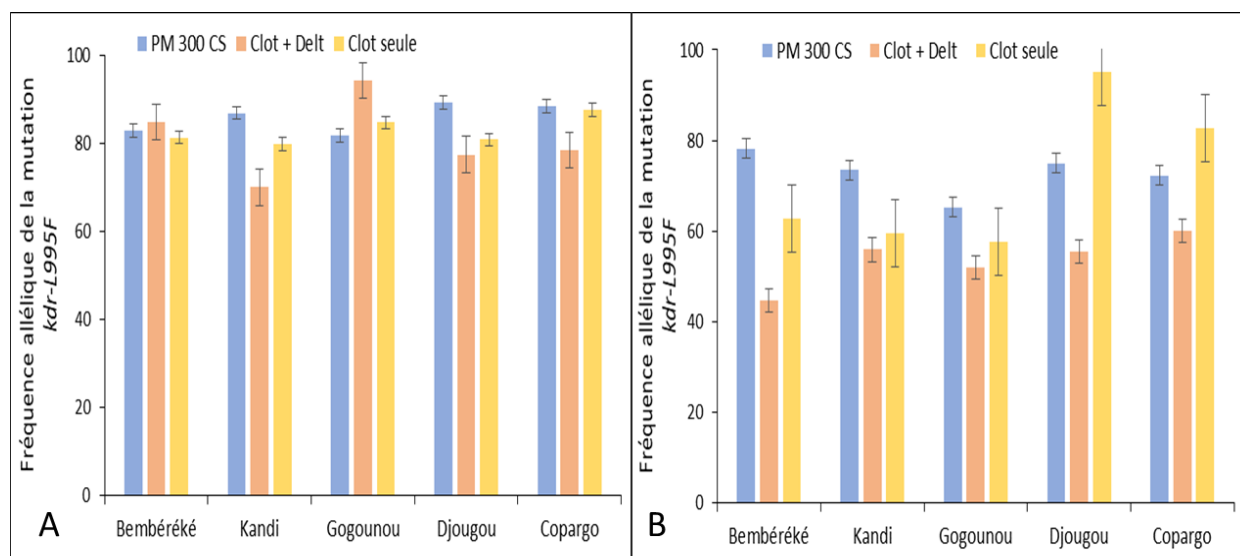
Globalement, l'analyse de ces données révèle que la fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* est relativement élevée dans toute la population et varie en fonction des populations anophéliennes et de l'insecticide utilisé. Bien que les insecticides utilisés pour les pulvérisations ne soient pas directement à l'origine de la mutation *kdr-L995F*, il a été observé, une augmentation de la fréquence de cette mutation dans certaines populations. (Fig. 42).

##### 3.3.1.1. Pour *Anopheles gambiae*

La fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* était comprise entre 82% et 89% avec le pirimiphos-méthyl 300 CS utilisé en 2019, entre 70% et 94% pour le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg (2020) et entre 80% et 88% pour la clothianidine 50 WG seule (2021) (Fig. 42A). Pour chaque insecticide, aucune différence remarquable n'a été constatée entre les fréquences de la mutation *kdr* des communes traitées et celles de la commune-témoin. *Anopheles gambiae* a présenté une fréquence de mutation *kdr-L995F* de 89% avec pirimiphos-méthyl 300 CS à Djougou, contre 77% avec le mélange clothianidine + deltaméthrine. En dehors de Gogounou, le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg semble avoir réduit la fréquence de la mutation *kdr* au niveau des communes traitées.

### 3.3.1.2. Pour *Anopheles coluzzii*

La fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* était de 65% à 78% avec le pirimiphos-méthyl 300 CS, de 45% à 60% pour le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg et de 58% à 95% pour la clothianidine 50 WG seule (Fig. 42B). *Anopheles coluzzii* a présenté une fréquence de la mutation *kdr-L995F* relativement faible par rapport à *Anopheles gambiae* dans la plupart des communes (Fig. 42).



PM: pirimiphos-méthyl; CS: capsule suspensions; Clot + Del: mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg; Clo: clothianidine 50 WG; WG: Water dispersible granules

**Figure 42 :** Diagramme à barres montrant la fréquence de l'allèle *kdr* chez *An. gambiae* (A) et *An. coluzzii* (B) dans les communes des départements de l'Alibori et de la Donga au Bénin par espèce et par période de PID.

### 3.3.2. Fréquences alléliques de la mutation *ace-1 G280S*

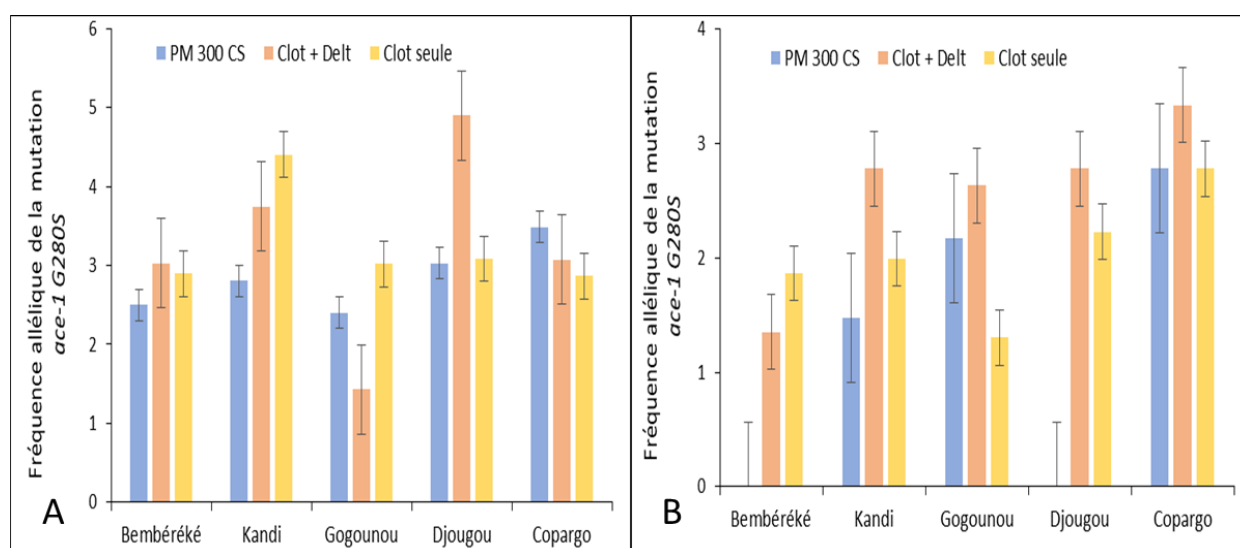
Les données de la figure 43 présentent les fréquences alléliques de la mutation *G280S* du gène *ace-1* chez *Anopheles gambiae* et *Anopheles coluzzii* dans la commune-témoin (Bembéréké) et dans les communes PID (Kandi, Gogounou, Djougou et Copargo) exposées à divers insecticides. La fréquence de la mutation est faible dans toutes les communes d'étude avec une valeur maximale de 5%.

### 3.3.2.1. Pour *Anopheles gambiae*

On observe une variation des fréquences d'une commune à l'autre. La fréquence allélique était de 2% à 3% avec le pirimiphos-méthyl 300 CS, de 1% à 5% avec le mélange clothianidine + deltaméthrine et 3% à 4% avec la clothianidine seule. Aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a été observée entre la fréquence allélique moyenne des communes PID et celle de la commune-témoin (Fig. 43A).

### 3.3.2.2. Pour *Anopheles coluzzii*

La fréquence de la mutation était de 0% à 3% avec le pirimiphos-méthyl 300 CS, de 1% à 3% pour le mélange clothianidine + deltaméthrine et pour la clothianidine 50 WG seule.



PM: pirimiphos-méthyl; CS: capsule suspensions; Clot + Del: mixture clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg; Clo: clothianidine 50 WG; WG: Water dispersible granules

**Figure 43:** Diagramme à barres montrant la fréquence de l'allèle *ace-1* chez *An. gambiae* (A) et *An. coluzzii* (B) dans les communes des départements de l'Alibori et de la Donga au Bénin par espèce et par période de PID.

### 3.3.3. Indice de fixation $F_{IS}$

L'évaluation de l'écart à la panmixie au sein des différentes populations a été effectuée (Tableaux XVII et XVIII). Pour la mutation *kdr-L995F* du gène *Vgsc*, les populations de *Anopheles gambiae* et *Anopheles coluzzii* ont présenté des indices de fixation ( $F_{IS}$ ) positifs ( $F_{IS} > 0$ ). L'hétérozygotie attendue ( $H_E$ ) est supérieure à celle observée ( $H_O$ ). Les valeurs des indices de fixation ont varié au sein des populations entre les campagnes PID de 2019 à 2021 avec de différents insecticides. Les valeurs minimale et maximale de  $F_{IS}$  ont été retrouvées à Kandi

(0,35 et 0,65) pour *Anopheles gambiae*, à Kandi (0,11) et Djougou (0,57) pour *Anopheles coluzzii*. Ces indices de fixation positifs ont traduit un déficit d'hétérozygotie existant au sein des populations (Tableaux XVII et XVIII).

Pour la mutation G280S du gène *ace-1*, l'indice de fixation ( $F_{IS}$ ) a été globalement négatif dans les populations de *Anopheles gambiae* et *Anopheles coluzzii*. En 2020, les populations de *Anopheles gambiae* de Gogounou et de Copargo ont tendance à retrouver l'équilibre sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg ( $F_{IS} \approx 0$ ). Il en est de même pour les différentes populations de *Anopheles coluzzii* de 2019 à 2020. Les valeurs de  $F_{IS}$  ont été faibles montrant un début d'excès des hétérozygotes dans les populations. (Tableaux XVII et XVIII)

**Tableau XVII.** Hétérozygotie observée ( $H_O$ ), Hétérozygotie attendue ( $H_E$ ), indice de fixation ( $F_{IS}$ ) et nombre d'individus échantillonnés de *An. gambiae* par population et par insecticides.

| Population | Période (insecticide) | N   | Mutations        |               |          |                    |               |          |
|------------|-----------------------|-----|------------------|---------------|----------|--------------------|---------------|----------|
|            |                       |     | <i>kdr-L995F</i> |               |          | <i>ace-1 G280S</i> |               |          |
|            |                       |     | $H_E$            | $H_O$         | $F_{IS}$ | $H_E$              | $H_O$         | $F_{IS}$ |
| Bembèrèkè  | 2019 (Témoin)         | 120 | 0,284 ± 0,081    | 0,125 ± 0,059 | 0,5616   | 0,049 ± 0,039      | 0,050 ± 0,039 | -0,0215  |
|            | 2020 (Témoin)         | 33  | 0,261 ± 0,150    | 0,182 ± 0,132 | 0,3069   | 0,059 ± 0,081      | 0,061 ± 0,081 | -0,0159  |
|            | 2021 (Témoin)         | 190 | 0,305 ± 0,065    | 0,226 ± 0,060 | 0,2577   | 0,056 ± 0,033      | 0,058 ± 0,033 | -0,0272  |
| Kandi      | 2019 (PM 300 CS)      | 107 | 0,229 ± 0,080    | 0,150 ± 0,068 | 0,3467   | 0,055 ± 0,043      | 0,056 ± 0,044 | -0,0242  |
|            | 2020 (clot + delt)    | 80  | 0,423 ± 0,108    | 0,150 ± 0,078 | 0,6465   | 0,073 ± 0,057      | 0,075 ± 0,058 | -0,0327  |
|            | 2021 (clot alone)     | 159 | 0,319 ± 0,072    | 0,182 ± 0,060 | 0,4285   | 0,084 ± 0,043      | 0,088 ± 0,044 | -0,0429  |
| Gogounou   | 2019 (PM 300 CS)      | 104 | 0,300 ± 0,088    | 0,135 ± 0,066 | 0,5526   | 0,047 ± 0,041      | 0,048 ± 0,041 | -0,0198  |
|            | 2020 (clot + delt)    | 35  | 0,109 ± 0,103    | 0,057 ± 0,077 | 0,4809   | 0,029 ± 0,055      | 0,029 ± 0,055 | 0,0000   |
|            | 2021 (clot alone)     | 232 | 0,260 ± 0,056    | 0,159 ± 0,047 | 0,3866   | 0,059 ± 0,030      | 0,060 ± 0,031 | -0,0290  |
| Djougou    | 2019 (PM 300 CS)      | 66  | 0,191 ± 0,095    | 0,121 ± 0,079 | 0,3674   | 0,059 ± 0,057      | 0,061 ± 0,058 | -0,0236  |
|            | 2020 (clot + delt)    | 51  | 0,353 ± 0,131    | 0,176 ± 0,105 | 0,5022   | 0,094 ± 0,080      | 0,098 ± 0,082 | -0,0421  |
|            | 2021 (clot alone)     | 243 | 0,310 ± 0,058    | 0,144 ± 0,044 | 0,5361   | 0,060 ± 0,030      | 0,062 ± 0,030 | -0,0298  |
| Copargo    | 2019 (PM 300 CS)      | 129 | 0,206 ± 0,070    | 0,124 ± 0,057 | 0,3998   | 0,068 ± 0,043      | 0,070 ± 0,044 | -0,0323  |
|            | 2020 (clot + delt)    | 65  | 0,340 ± 0,115    | 0,185 ± 0,094 | 0,4599   | 0,060 ± 0,058      | 0,062 ± 0,058 | 0,0240   |
|            | 2021 (clot alone)     | 157 | 0,218 ± 0,065    | 0,134 ± 0,053 | 0,3879   | 0,056 ± 0,036      | 0,057 ± 0,036 | -0,0263  |

N: nombre d'individus échantillonnés;  $H_O$ : hétérozygotie observée;  $H_E$ : hétérozygotie attendue;  $F_{IS}$ : PM: pirimiphos-méthyl; CS: capsule suspensions; Clot + Del: mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg; Clo: clothianidine 50 WG; WG: Water dispersible granules.

**Tableau XVIII.** Hétérozygotie observée ( $H_O$ ), Hétérozygotie attendue ( $H_E$ ), indice de consanguinité ( $F_{IS}$ ) et nombre d'individus échantillonnés de *An. coluzzii* par population et par insecticides

| N: | Population | Période (insecticide) | N   | Mutations        |               |          |                    |               |          |
|----|------------|-----------------------|-----|------------------|---------------|----------|--------------------|---------------|----------|
|    |            |                       |     | <i>kdr-L995F</i> |               |          | <i>ace-1 G280S</i> |               |          |
|    |            |                       |     | $H_E$            | $H_O$         | $F_{IS}$ | $H_E$              | $H_O$         | $F_{IS}$ |
|    | Bembèrèkè  |                       |     |                  |               |          |                    |               |          |
|    |            | 2019 (Témoin)         | 23  | 0,348 ± 0,195    | 0,174 ± 0,155 | 0,5056   | 0,000 ± 0,000      | 0,000 ± 0,000 | -        |
|    |            | 2020 (Témoin)         | 37  | 0,501 ± 0,161    | 0,243 ± 0,138 | 0,5179   | 0,027 ± 0,052      | 0,027 ± 0,052 | 0,0000   |
|    |            | 2021 (Témoin)         | 134 | 0,470 ± 0,085    | 0,358 ± 0,081 | 0,2378   | 0,037 ± 0,032      | 0,037 ± 0,032 | -0,0153  |
|    | Kandi      |                       |     |                  |               |          |                    |               |          |
|    |            | 2019 (PM 300 CS)      | 34  | 0,395 ± 0,164    | 0,353 ± 0,161 | 0,1081   | 0,029 ± 0,057      | 0,029 ± 0,057 | 0,0000   |
|    |            | 2020 (clot + delt)    | 144 | 0,495 ± 0,082    | 0,215 ± 0,067 | 0,5657   | 0,054 ± 0,037      | 0,056 ± 0,037 | -0,0251  |
|    |            | 2021 (clot seule)     | 201 | 0,483 ± 0,069    | 0,363 ± 0,066 | 0,2490   | 0,039 ± 0,027      | 0,040 ± 0,027 | -0,0178  |
|    | Gogounou   |                       |     |                  |               |          |                    |               |          |
|    |            | 2019 (PM 300 CS)      | 23  | 0,463 ± 0,204    | 0,348 ± 0,195 | 0,2542   | 0,043 ± 0,083      | 0,043 ± 0,083 | 0,0000   |
|    |            | 2020 (clot + delt)    | 76  | 0,503 ± 0,112    | 0,250 ± 0,097 | 0,5042   | 0,052 ± 0,050      | 0,053 ± 0,050 | 0,0204   |
|    |            | 2021 (clot seule)     | 192 | 0,490 ± 0,071    | 0,401 ± 0,069 | 0,1817   | 0,026 ± 0,022      | 0,026 ± 0,023 | -0,0106  |
|    | Djougou    |                       |     |                  |               |          |                    |               |          |
|    |            | 2019 (PM 300 CS)      | 12  | 0,391 ± 0,276    | 0,333 ± 0,267 | 0,1538   | 0,000 ± 0,000      | 0,000 ± 0,000 | -        |
|    |            | 2020 (clot + delt)    | 18  | 0,508 ± 0,231    | 0,222 ± 0,192 | 0,5696   | 0,056 ± 0,106      | 0,056 ± 0,106 | 0,0000   |
|    |            | 2021 (clot seule)     | 292 | 0,095 ± 0,034    | 0,065 ± 0,028 | 0,3121   | 0,044 ± 0,023      | 0,045 ± 0,024 | -0,0211  |
|    | Copargo    |                       |     |                  |               |          |                    |               |          |
|    |            | 2019 (PM 300 CS)      | 18  | 0,412 ± 0,227    | 0,222 ± 0,192 | 0,4688   | 0,056 ± 0,106      | 0,056 ± 0,106 | 0,0000   |
|    |            | 2020 (clot + delt)    | 15  | 0,496 ± 0,253    | 0,267 ± 0,224 | 0,4717   | 0,067 ± 0,126      | 0,067 ± 0,126 | 0,0000   |
|    |            | 2021 (clot seule)     | 144 | 0,288 ± 0,074    | 0,139 ± 0,056 | 0,5185   | 0,054 ± 0,037      | 0,056 ± 0,037 | -0,0251  |

nombre d'individus échantillonnés;  $H_O$ : hétérozygotie observée;  $H_E$ : hétérozygotie attendue;  $F_{IS}$ : PM: pirimiphos-méthyl; CS: capsule suspensions; Clot + Del: mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg; Clo: clothianidine 50 WG; WG: Water dispersible granules.



### 3.3.4. Différenciation génétique $F_{ST}$

Les  $F_{ST}$  par paire ont été calculés pour les deux loci (*kdr-L995F* et *ace-1 G280S*), et les résultats ont été comparés entre la commune-témoin et chaque commune PID pour chaque insecticide (Tableau XIX), et pour chaque commune en fonction des insecticides (Tableau XX).

Les valeurs de  $F_{ST}$  dans les tableaux XIX et XX indiquent le degré de différenciation génétique entre les paires de populations pour deux loci différents (*kdr-L995F* et *ace-1 G280S*) sur trois années différentes (2019, 2020, 2021).

*Anopheles gambiae* a présenté pour le locus *kdr-L995F* (Tableaux XIX et XX) une différenciation génétique importante en 2019 et 2021 ( $F_{ST} = 0,24$  et  $0,70$ ) puis une différenciation génétique faible en 2020 ( $F_{ST} = 0,02$ ) entre Bembèrèkè (population témoin) et Kandi (population sous PID). Entre Bembèrèkè et Gogounou, la différenciation génétique a été très importante en 2019 ( $F_{ST} = 0,80$ ) et ensuite modérée en 2020 et 2021 ( $F_{ST} = 0,09$  et  $0,20$ ). Bembèrèkè avec Djougou et Copargo, offrent une différenciation génétique modérée en 2019 ( $F_{ST} = 0,10$  et  $0,10$ ), importante en 2020 ( $F_{ST} = 0,32$  et  $0,35$ ) puis très importante en 2021 pour Djougou ( $F_{ST} = 0,93$ ) et faible pour Copargo ( $F_{ST} = 0,03$ ) (Tableau 3).

Les valeurs  $F_{ST}$  de *Anopheles gambiae* pour le locus *ace-1 G280S* entre Bembèrèkè et chaque commune PID ont été globalement comprises entre ( $F_{ST} = 0,6$  et  $1,0$ ) indiquant une différenciation génétique très importante entre la commune témoin et chaque commune PID. Globalement pour *Anopheles gambiae*, les différenciations génétiques sont plus importantes pour le locus *ace-1 G280S* que pour le locus *kdr-L995F*.

*Anopheles coluzzii* pour le locus *kdr-L995F* (Tableaux XIX et XX), montre des variations des coefficients de différenciation génétique d'une année à l'autre et entre les paires de populations. Globalement, les coefficients de différenciation ont été décroissants de 2019 à 2021 entraînant une différenciation génétique très importante ( $F_{ST} > 0,31$ ) à une différenciation génétique importante entre Bembèrèkè et Gogounou avec le pirimiphos-méthyl et la clothianidine seule ( $F_{ST} = 0,24$ ,  $F_{ST} = 0,19$ ) d'une part, et entre Bembèrèkè et Copargo ( $F_{ST} = 0,19$ ) avec le mélange clothianidine + deltaméthrine d'autre part. La différenciation génétique modérée ( $F_{ST} = 0,09$ ) a été observée entre Kandi et Bembèrèkè avec le mélange de clothianidine + deltaméthrine. La différenciation génétique faible ( $F_{ST} < 0,0001$ ) a été constatée avec la clothianidine seule en 2021 entre Bembèrèkè et Djougou et enfin Bembèrèkè et Copargo.

Pour le locus *ace-1 G280S*, les données de différenciation génétique entre différentes paires de populations présentent une différenciation généralement importante entre les populations et entre les traitements.

**Tableau XIX.** Différenciation génétique entre populations de *An. gambiae* et de *An. coluzzii* des communes PID et de la commune-témoin pour les mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S*

| Espèce              | Populations comparées | <i>kdr-L995F</i> |                    |                   | <i>ace-1 G280S</i> |                    |                   |
|---------------------|-----------------------|------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
|                     |                       | P-méthy (2019)   | Clot + Delt (2020) | Clot seule (2021) | P-méthy (2019)     | Clot + Delt (2020) | Clot seule (2021) |
| <i>An. gambiae</i>  | Kan & Bem             | 0,2403           | <b>0,0194</b>      | 0,6983            | 1,0000             | 1,0000             | 0,3100            |
|                     | Gog & Bem             | 0,8054           | 0,0921             | 0,1992            | 1,0000             | 0,6119             | 1,0000            |
|                     | Djo & Bem             | 0,0985           | 0,3223             | 0,9311            | 1,0000             | 0,7059             | 1,0000            |
|                     | Cop & Bem             | 0,0958           | 0,3418             | <b>0,0265</b>     | 0,6054             | 1,0000             | 1,0000            |
| <i>An. coluzzii</i> | Kan & Bem             | 0,6601           | 0,0921             | 0,4131            | 1,0000             | 0,6916             | 1,0000            |
|                     | Gog & Bem             | 0,2478           | 0,3224             | 0,1983            | 1,0000             | 0,6703             | 0,7470            |
|                     | Djo & Bem             | 0,7707           | 0,3142             | <b>&lt;0,0001</b> | NP                 | 1,0000             | 0,8036            |
|                     | Cop & Bem             | 0,6094           | 0,1969             | <b>&lt;0,0001</b> | 0,4384             | 1,0000             | 0,5819            |

Bem : Bembèrèkè ; Kan : Kandi ; Gog : Gogounou ; Djo : Djougou ; Cop : Copargo

**Tableau XX.** Différenciation génétique des populations de *An. coluzzii* et de *An. gambiae* de la même commune d’une année PID à l’autre pour les mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S*

| Mutations          | Espèces             | Insecticides (Années) comparés         | Alibori (Sous PID) |               | Donga (Sous PID)  |               | Témoin        |
|--------------------|---------------------|----------------------------------------|--------------------|---------------|-------------------|---------------|---------------|
|                    |                     |                                        | Kandi              | Gogounou      | Djougou           | Copargo       | Bembèrèkè     |
| <i>Kdr-L995F</i>   | <i>An. gambiae</i>  | P-methy (2019) & Clot + Delt (2020)    | <b>0,0001</b>      | <b>0,0081</b> | <b>0,0180</b>     | <b>0,0145</b> | 0,7189        |
|                    |                     | P-methy (2019) & Clot seule (2021)     | <b>0,0337</b>      | 0,3701        | <b>0,0185</b>     | 0,7989        | 0,6682        |
|                    |                     | Clot + Delt (2020) & Clot seule (2021) | <b>0,0226</b>      | <b>0,0279</b> | 0,4945            | <b>0,0186</b> | 0,4977        |
|                    | <i>An. coluzzii</i> | P-methy (2019) & Clot + Delt (2020)    | <b>0,0082</b>      | 0,1259        | 0,1752            | 0,4321        | <b>0,0003</b> |
|                    |                     | P-methy (2019) & Clot seule (2021)     | <b>0,0320</b>      | 0,3468        | 0,0016            | 0,1693        | <b>0,0467</b> |
|                    |                     | Clot + Delt (2020) & Clot seule (2021) | 0,3868             | 0,2523        | <b>&lt;0,0001</b> | <b>0,0155</b> | <b>0,0071</b> |
| <i>Ace-1 G280S</i> | <i>An. gambiae</i>  | P-methy (2019) & Clot + Delt (2020)    | 0,7686             | 0,6994        | 0,5111            | 1,0000        | 1,0000        |
|                    |                     | P-methy (2019) & Clot seule (2021)     | 0,3664             | 0,8049        | 1,0000            | 0,8103        | 0,8080        |
|                    |                     | Clot + Delt (2020) & Clot seule (2021) | 0,8147             | 0,5151        | 0,5527            | 1,0000        | 1,0000        |
|                    | <i>An. coluzzii</i> | P-methy (2019) & Clot + Delt (2020)    | 0,6980             | 1,0000        | 1,0000            | 1,0000        | 1,0000        |
|                    |                     | P-methy (2019) & Clot seule (2021)     | 1,0000             | 1,0000        | 0,6791            | 1,0000        | 0,6070        |
|                    |                     | Clot + Delt (2020) & Clot seule (2021) | 0,6098             | 0,4571        | 1,0000            | 1,0000        | 1,0000        |

Bem : Bembèrèkè ; Kan : Kandi ; Gog : Gogounou ; Djo : Djougou ; Cop : Copargo

### 3.3.5. Discussion

Les fréquences de la mutation *kdr-L995F* calculées dans toutes les populations de *Anopheles gambiae* et de *Anopheles coluzzii* ont montré qu'il n'y a aucune différence remarquable entre les communes traitées et la commune-témoin. Cette observation serait due à une utilisation des insecticides de la classe des pyréthrinoïdes et des organochlorés (DDT) en agriculture dans ces zones d'études (Yadouleton *et al.*, 2009; L. S. Djogbénou *et al.*, 2016; Yadouleton *et al.*, 2010). En effet, ces classes d'insecticides ciblent le gène du canal sodium voltage dépendant (*Vgsc*) où se trouve la mutation *kdr-L995F* (Kouadio *et al.*, 2023; Moss *et al.*, 2024). Cette forte utilisation des insecticides serait à l'origine de la sélection des individus résistants augmentant ainsi la fréquence de la mutation dans les différentes populations (Grigoraki *et al.*, 2021; Syahrani *et al.*, 2024). Plusieurs travaux ont montré des résultats similaires au Bénin et dans plusieurs autres pays d'Afrique et d'ailleurs (Aïzoun *et al.*, 2014; Boussougou-Sambe *et al.*, 2023; Clarkson *et al.*, 2021; Moss *et al.*, 2024; Sovi *et al.*, 2020; Syahrani *et al.*, 2024). Par ailleurs, les fréquences de cette mutation observée au niveau des populations de *Anopheles coluzzii* sont relativement inférieures à celles de *Anopheles gambiae* au fil des années. Ce constat serait lié au gîte permanent que préfère *Anopheles coluzzii* qui est dominant pendant la saison sèche (Etang *et al.*, 2016; Gimonneau *et al.*, 2012). Au cours de cette saison, la pression insecticide est faible en absence d'activités agricoles. Par contre la fréquence allélique élevée dans les populations de *Anopheles gambiae* est liée à l'utilisation des insecticides notamment les pyréthrinoïdes (Fassinou *et al.*, 2019; Yadouleton *et al.*, 2011) qui assurent la protection des cultures et en retour favorise la sélection de la résistance dans ces populations d'*Anopheles gambiae* (Clarkson *et al.*, 2021; Djègbè *et al.*, 2011; Djogbénou *et al.*, 2016). Concernant le gène *ace-1*, la fréquence de la mutation *G280S* est faible dans toutes les populations de *Anopheles coluzzii* et de *Anopheles gambiae* pendant les trois années de l'étude. Ces faibles fréquences alléliques obtenues dans ces populations seraient liées à une utilisation momentanée de ces insecticides, uniquement pendant la PID, ce qui ne favorise pas une sélection des individus résistants. Aussi cette faible fréquence observée de l'allèle résistant pourrait être liée au coût d'adaptation élevé de la mutation *ace-1* (Assogba *et al.*, 2016; Claret *et al.*, 2024; Djogbénou *et al.*, 2008; Grau-Bové *et al.*, 2021). Les travaux antérieurs ont montré aussi cette faible fréquence de cette mutation au Bénin (Kpanou *et al.*, 2021; Salako *et al.*, 2018). Plusieurs facteurs pourraient expliquer les écarts observés par rapport à la panmixie. Pour le gène *Vgsc -L995F*, toutes les populations de *Anopheles gambiae* et *Anopheles coluzzii* ont présenté des valeurs positives de  $F_{IS}$  montrant ainsi un déficit d'hétérozygotie ( $F_{IS} > 0$ ), d'une

part, la sélection en faveur des individus homozygotes résistants et d'autre part la consanguinité due à un accouplement préférentiel entre les individus de même génotype. En effet, les individus hétérozygotes ont une moindre probabilité de survie ou de reproduction par rapport aux individus homozygotes suite à la pression des insecticides. Ces observations ont été confirmées par la diminution de la fréquence des hétérozygotes observée dans la population (South & Hastings, 2018). Concernant le gène *Ace-1-G280S*, l'indice de fixation a été globalement négatif ( $F_{IS} < 0$ ) dans les populations de *Anopheles gambiae* et pour la plupart dans celles de *Anopheles coluzzii* indiquant un excès d'hétérozygotie. Cet excès d'hétérozygotie pourrait s'expliquer par le coût génétique élevé entraînant la baisse de la fréquence de l'allèle résistant. D'une part, cela serait dû à une sélection naturelle défavorable aux individus porteurs de la mutation, ce qui entraîne une diminution de la transmission de l'allèle résistant aux générations futures. D'autre part, on pourra associer aussi la faible fréquence de cette mutation dans les populations à ce phénomène malgré les nombreuses années d'utilisations du pirimiphos-méthyl en PID. D'autres facteurs environnementaux et la dynamique de la sélection ne sont pas à exclure (Gillespie & Turelli, 1989; Llaurens *et al.*, 2017; Szulkin *et al.*, 2010). Dans certaines populations de *Anopheles coluzzii*, l'indice de fixation a été sensiblement égal à zéro indiquant une population à l'Equilibre de Hardy-Weimberg pour le locus *Ace-1* malgré l'utilisation du pirimiphos-méthyl. Ce résultat serait dû au coût génétique élevé plus accentué dans les populations de *Anopheles coluzzii* par rapport aux populations de *Anopheles gambiae*. On pourrait aussi associer ces résultats à un risque d'erreur de deuxième espèce.

La différenciation génétique est très forte dans toutes les populations de *Anopheles gambiae* et de *Anopheles coluzzii* pour le gène *Ace-1*. Ce résultat s'explique par le coût génétique élevé de ce gène qui limite les flux génétiques entre les différentes populations. Cette forte différenciation pourrait s'expliquer aussi par la distance qui sépare les différentes sous-populations. D'autres facteurs écologiques ou comportementaux non encore élucidés pourraient expliquer aussi ces résultats. Concernant la différenciation génétique au niveau du gène *vgsc*, on note une différenciation faible, modérée et forte en fonction des paires de sous-populations considérées. La faible différenciation génétique observée en 2020 entre Kandi et Bembèrèkè ( $F_{ST} = 0,019$ ) et en 2021, entre Copargo et Bembèrèkè (0,026) pour *Anopheles gambiae*, suggère un flux génétique élevé entre les sous-populations. Elle résulterait aussi de l'absence de barrière génétique qui aurait pour conséquence un mélange des allèles de façon aléatoire. Les mêmes constats ont été observés en 2021 pour les sous-populations de *Anopheles coluzzii* de Djougou-Bembèrèkè et Copargo-Bembèrèkè ( $F_{ST} < 0,001$ ). Après les campagnes PID avec le mélange

clothianidine + deltaméthrine, il y a globalement une diminution de la fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* pour les populations d'*Anopheles coluzzi* et d'*Anopheles gambiae*. Cette diminution de la fréquence *kdr-L995F* est accompagnée d'une faible différenciation génétique au niveau des populations de *Anopheles gambiae* et de *Anopheles coluzzii*. On pourrait croire que l'utilisation du mélange clothianidine + deltaméthrine en PID limiterait la propagation de l'allèle résistant du gène *vgsc* chez *Anopheles gambiae* et *Anopheles coluzzii*. D'autres études permettront de mieux comprendre l'implication du mélange clothianidine + deltaméthrine dans l'évolution de la mutation *kdr-L995F* chez les sous-espèces du complexe *Anopheles gambiae*.

## Conclusion

La diminution de la fréquence de la mutation *kdr-L995F* chez *Anopheles coluzzii*, par rapport à *Anopheles gambiae*, est attribuée à la préférence de *Anopheles coluzzii* pour des gîtes permanents, dominants pendant la saison sèche, caractérisés par une faible pression insecticide en l'absence d'activités agricoles. En revanche, la fréquence élevée chez *Anopheles gambiae* est associée à l'utilisation intensive de pyréthrinoïdes et DDT, assurant la protection des cultures et favorisant la sélection de la résistance. La faible fréquence de la mutation *G280S* chez les populations de *Anopheles coluzzii* et de *Anopheles gambiae* est expliquée par une utilisation momentanée des carbamates et des organophosphorés et par le coût d'adaptation élevé de la mutation *G280S*. Ce coût génétique élevé pourrait être à l'origine de l'excès d'hétérozygotie observé dans certaines populations entraînant une diminution de la transmission de l'allèle résistant aux générations futures. Les indices de fixation ( $F_{IS}$ ) révèlent un déficit d'hétérozygotie pour le gène *vgsc-L995F*, suggérant une sélection en faveur des individus homozygotes résistants et la consanguinité. La différenciation génétique élevée pour le gène *ace-1* indique des flux génétiques limités entre les populations, probablement en raison du coût génétique élevé de ce gène. Le mélange clothianidine + deltaméthrine pourrait avoir un impact réducteur (à élucider) sur la fréquence de la mutation *kdr-L995F* pour les populations de *Anopheles coluzzii* et de *Anopheles gambiae*.

**Discussion générale,  
Conclusion générale,  
Limites et Perspectives**

## Discussion générale

Nous avons évalué en communauté à grande échelle l'efficacité de trois formulations insecticides utilisées en pulvérisation intradomiciliaire au Bénin. Il s'agit d'un organophosphoré (pirimiphos méthyl 300CS), d'un néonicotinoïde (clothianidine 50WG) et d'un mélange de néonicotinoïde et de pyréthrianoïde (clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg). Les insecticides à base de clothianidine sont considérés comme des molécules alternatives potentielles aux carbamates et aux organophosphorés.

Les tests de sensibilité en tube OMS réalisés sur les populations locales de *An. gambiae* s.l. dans les quatre communes sous la surveillance PID ont montré une résistance généralisée aux doses diagnostiques de la deltaméthrine (mortalité <90%). Le même résultat a été obtenu par Salako *et al.* (2018) et Kpanou *et al.* (2022) dans les mêmes régions. Tokponnon *et al.* (2018) rapprochent cette résistance de la distribution et de l'utilisation massive des moustiquaires imprégnées de pyréthrianoïdes, de l'utilisation abusive des pyréthrianoïdes dans l'agriculture et de l'usage domestique des insecticides de synthèse généralement constitués de pyréthrianoïde. La perte totale de la sensibilité des vecteurs locaux au bendiocarb (0,1%) en 2021 et la suspicion de résistance du pirimiphos-méthyl à la dose diagnostique dans quelques localités sous surveillance entomologique de la PID ont été signalées par d'autres études (Djenontin *et al.*, 2010 ; Aikpon *et al.*, 2013 ; Gnanguenon *et al.*, 2015, Salako *et al.*, 2018). Ces résultats justifient le remplacement du bendiocarb 800 g/kg et du pirimiphos-méthyl 300CS par les insecticides à base de la clothianidine au Bénin. En effet, ce remplacement cible d'autres récepteurs afin d'optimiser l'impact de la PID sur les vecteurs locaux du paludisme.

Les bioessais en cônes ont révélé durant toute la période d'étude un fort taux de mortalité induit par la clothianidine 50WG et le mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5g/kg par rapport à celui du pirimiphos-méthyl 300CS. De même la mortalité immédiate 30 min enregistrée pour le mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5g/kg est supérieure à celle de la clothianidine 50WG puis du pirimiphos-méthyl 300CS. Les mortalités différées induites par les trois formulations insecticides sur les anophèles ont augmenté d'un temps d'observation à l'autre sans aucune différence significative. Cependant, vingt-quatre (24) heures après l'exposition des vecteurs aux murs traités, la mortalité moyenne induite par le mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5g/kg diffère significativement de celle de clothianidine 50WG. On note une légère performance du mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5g/kg contre les anophèles sensibles 30 minutes et vingt-quatre (24) heures



après exposition, ce qui pourrait s'expliquer par un effet de synergie entre la deltaméthrine et la clothianidine.

Les deux formulations à base de clothianidine ont montré un effet résiduel de dix (10) mois avec *An. gambiae* s.s. ‘‘Kisimu’’. Ce résultat confirme la performance précédemment démontrée au laboratoire et en milieu semi-naturel (Fongnikin *et al.*, 2020 ; Ngufor *et al.*, 2017), puis en communauté à petite échelle (Agossa *et al.*, 2018 ; Uragayala *et al.*, 2018) du mélange clothianidine 500g/kg + deltaméthrine 62,5g/kg contre des populations de vecteurs qui ont développé une résistance aux insecticides utilisés jusque-là en santé publique. L'effet résiduel de la clothianidine observé dans cette étude est supérieur à celui des insecticides recommandés jusqu'à présent par l'OMS pour la PID (OMS, 2006). Les trois insecticides ont induit des performances (rémanence, effet létal) qui ont varié en fonction du type de support mural. Cette variation peut s'expliquer par la différence de porosité entre les supports traités (Mosqueira *et al.*, 2010). En effet, les supports muraux n'absorbent pas la solution insecticide de la même façon et la biodisponibilité du produit sur les supports ne serait donc pas la même au cours du temps (Padonou *et al.*, 2012). La faible efficacité de toutes les formulations insecticides sur les supports en banco par rapport aux supports en ciment pourrait se justifier par la forte porosité des murs en banco qui sont faits à base de terre battue. En effet, de nombreuses études menées au Bénin dans les cases expérimentales et en communauté (PID dans l'Ouémé et dans l'Atacora) ont montré que l'activité résiduelle a été souvent très faible sur les supports muraux à forte porosité (Akogbeto *et al.*, 2011, Aïkpon *et al.*, 2014). En Inde, Prakash *et al.* (2012) ont montré que l'activité résiduelle de la deltaméthrine est plus importante sur les murs en ciment que sur ceux en banco.

Cependant, existe-t-il de différence dans les indicateurs de transmission du paludisme (taux de piqûres humaines, indice de sporozoïtes, taux d'inoculation entomologique, incidence du paludisme, densité de repos à l'intérieur, taux d'alimentation sanguine et parturité) après la pulvérisation de produits à base de pirimiphos-méthyl et de clothianidine ? Des fluctuations ont été observées dans l'abondance de moustiques collectés selon les genres et les espèces par année d'étude. *Culex (Cx.) quinquefasciatus* (59,64%) a été relativement dominant suivi de *Anopheles (An.) gambiae* s.l. (37,62%). Au cours des trois (3) années d'étude, *Cx. quinquefasciatus* était plus collecté dans les zones centrales alors que *An. gambiae* s.l. était généralement dominant dans les zones périphériques. L'abondance du *Cx. quinquefasciatus* serait liée à ses aptitudes à pondre des œufs et à se développer dans une variété de gîtes naturels et artificiels (Gil *et al.*, 2021). Parmi les 8 espèces d'anophèles collectées, *An. gambiae* s.l., *An. funestus* et *An. nili* ont

été identifiées vecteurs du paludisme. Le complexe *An. gambiae* a été omniprésent dans toute la zone d'étude avec une dominance absolue de 98,64% (18.683/18.940) sur les autres anophèles. Le groupe *An. funestus* vient en deuxième position [1% (190/18.940)] et ensuite les quelques spécimens de *An. nili* [0,03% (5/18.940)]. Cette prédominance de *An. gambiae* s.l. a été antérieurement signalée au nord du Bénin par Gnanguènon *et al.* (2014), Aïkpon *et al.* (2013) et Salako *et al.* (2019) respectivement à Kandi, dans l'Atacora, dans la Donga et dans l'Alibori. La caractérisation moléculaire de *An. gambiae* s.l. a montré que *An. gambiae* (52,86%), *An. coluzzii* (46,35%) et *An. arabiensis* (0,78%) sont les espèces sœurs qui peuplent les deux départements d'étude. Ces résultats sont similaires à celui de Salako *et al.* (2019).

La réduction du taux de piqûre à l'intérieur des maisons traitées par rapport aux maisons témoins suggère la prévention complémentaire que représente la PID pour la lutte contre le paludisme à côté des moustiquaires imprégnées. En effet, Akogbéto *et al.* (2018), ont montré des taux élevés de piqûres de *An. gambiae* s.l. sur l'homme à l'intérieur des maisons sous la couverture des MIILD.

Les résultats de notre étude indiquent un meilleur taux de réduction du contact homme vecteur, de l'indice sporozoïtique (IS), du taux d'inoculation entomologique (TIE) de *An. gambiae* s.l. à l'intérieur mais aussi à l'extérieur des habitations pulvérisées avec le pirimiphos-méthyl 300 CS dans les départements de l'Alibori et de la Donga. Aussi, note-t-on une réduction modérée des trois indicateurs à l'intérieur des habitations traitées avec le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg. En ce qui concerne la clothianidine 50 WG seule, les taux de piqûres à l'intérieur et à l'extérieur des habitations et les infections à sporozoïtes sont élevés éliminant la possibilité de réduire le TIE à l'intérieur des habitations traitées avec l'insecticide. Ces résultats confirment l'efficacité du pirimiphos-méthyl 300 CS utilisé en pulvérisation intradomiciliaire (PID) pour l'élimination et le contrôle des vecteurs du paludisme résistants aux pyréthrinoïdes. Au nord du Bénin et au Kenya, les conclusions des travaux de Akogbéto *et al.* (2018), Salako *et al.* (2019) et Abong'o *et al.* (2020) ont évoqué l'impact positif du pirimiphos-méthyl 300 CS en PID dans la réduction des indicateurs entomologiques de transmission du paludisme. L'efficacité résiduelle de dix (10) mois du pirimiphos-méthyl 300 CS au Kenya en 2020 (Abong'o *et al.*, 2020), a permis non seulement la réduction drastique de la densité *An. funestus*, vecteur principal du paludisme, mais aussi la réduction du nombre de cas palustres enregistré au niveau des structures sanitaires. L'effet positif de la PID avec le pirimiphos-méthyl 300 CS sur la longévité des vecteurs du paludisme au repos et à l'extérieur des habitations traitées dans les départements de l'Alibori et de la Donga résulte de la rapidité

d'action (Mhadhbi *et al.*, 2012) de l'insecticide sur les récepteurs ciblés de l'insecte vecteur. La réduction de la transmission du paludisme avec la clothianidine 50 WG seule et le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg en PID contre les moustiques résistants aux pyréthrinoides ont été respectivement sans différence significative et relativement meilleure à l'intérieur des habitations. Les insecticides à base de clothianidine en PID ont un effet létal lent sur les moustiques contrairement aux autres insecticides préqualifiés en santé publique. Lorsque la souche du terrain des anophèles entre en contact avec la clothianidine, elle peut survivre pendant cent vingt (120) heures (Odjo *et al.*, 2023 ; Kweka *et al.*, 2018 ; Oxborough *et al.*, 2019). Si nous admettons que la femelle sauvage de *An. gambiae* s.l. s'alimente du sang toutes les 48 heures (Carnevale *et al.*, 1979), alors elle peut piquer 3 fois au moins pour prendre son repas sanguin à l'intérieur des habitations traitées avant sa mort, ce qui pourrait augmenter le taux de piqure des anophèles et la transmission du paludisme au niveau des habitations pulvérisées avec des insecticides à base de clothianidine. La conclusion des activités de recherche de Hoppé *et al.* (2016) notifiant la faible activité insecticide de la clothianidine contre *Aedes aegypti* pourrait permettre de comprendre nos résultats. Cette faible activité de la clothianidine conduisant à son rejet (Hoppé *et al.*, 2016) a été approuvée par Lees *et al.* (2019) lorsqu'ils ont constaté l'efficacité insuffisante de la clothianidine contre les moustiques lors des essais de contact des tarses des anophèles appliqués sur des bouteilles sensibilisées avec la clothianidine.

Malgré l'augmentation croissante du TIE en 2020 et 2021 avec l'utilisation respective du mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg et de clothianidine 50 WG seule en PID, l'incidence du paludisme a été relativement réduite dans l'Alibori au cours des deux années et seulement en 2020 dans la Donga. Cette réduction de l'incidence à travers la régression du nombre de nouveaux cas palustres enregistrés s'explique probablement par la distribution nationale et l'utilisation des MIILD. En effet, en 2020, 12.703.091 MIILD envisagées pour couvrir la totalité des ménages dénombrés sur l'étendue du territoire ont été entièrement distribuées (WHO, 2021). Aussi, la gestion de la COVID 19 par des mesures de confinement et la peur d'être hospitalisé pour COVID 19 ont provoqué un comportement de fuite des services sanitaires au sein de la population. Ce fait pourrait expliquer la réduction du nombre de nouveaux cas palustres enregistrés au niveau des services sanitaires des départements de l'Alibori et de la Donga.

La densité au repos de *An. gambiae* s.l. à l'intérieur des chambres pulvérisées est significativement faible à celle des chambres non pulvérisées en 2019 avec l'usage du

pirimiphos-méthyl 300 CS en PID et en 2020 avec le mélange clothianidine 500 g/kg + deltaméthrine 62,5 g/kg dans toute la zone d'étude. Cependant, en 2021, la situation contraire a été observée avec plus de *An. gambiae* s.l. au repos dans les chambres pulvérisées avec la clothianidine 50 WG seule. Ce résultat est similaire à celui de Agossa *et al.* (2018) à Covè dans les cases expérimentales où l'exophilie induite par la clothianidine 50 WG seule était relativement faible. Cela serait dû à l'absence de propriété excito-répulsive et irritante de la clothianidine.

Les taux de gorgement élevés observés dans les habitations traitées peuvent s'expliquer par le comportement anthropophile de *An. gambiae* s.l. qui cherche à prendre d'abord son repas de sang avant de se reposer. Ces résultats sont similaires à celui obtenu par Akogbéto *et al.* (2018) ; Agossa *et al.* (2014) ; Ototo *et al.* (2015) ; Padonou *et al.* (2012) ; Gnanguenon *et al.* (2014) ; Aïkpon *et al.* (2014). On peut supposer qu'au cours des deux (2) premières heures après le coucher du soleil, les femelles de *An. gambiae* s.l. réussissent à s'alimenter du sang (Carnevale *et al.*, 1979 ; Brun, 1973) au moment où les ménagères s'occupent des activités domestiques ou en train de suivre la télévision ou la radio. Aussi, *An. gambiae* s.l. arrive à prendre son repas de sang au crépuscule (Carnevale *et al.*, 1979) lorsque les membres du ménage quittent leur MIILD pour la prière et autres activités domestiques comme la cuisine. A la fin de la prise du repas de sang, les femelles de *An. gambiae* s.l. vont se reposer sur les différents supports accrochés aux murs pulvérisés d'insecticide évitant le contact avec l'insecticide.

Le faible taux de parturité observé dans les habitations pulvérisées de pirimiphos-méthyl confirme la capacité de l'insecticide à limiter le séjour des moustiques endophiles. Ces résultats confirment ceux de Salako *et al.* (2019). Cependant, aucune différence significative n'a été observé du côté de clothianidine 50 WG seule. Ceci peut être dû à sa faible toxicité (Hoppé *et al.*, 2016) qui favorise un long séjour des anophèles vecteur du paludisme à l'intérieur des habitations.

Toutefois, il est à noter que la faible performance de la clothianidine à réduire les indicateurs entomologiques de transmission du paludisme pourrait être liée à d'autres facteurs tels que le climat, la couverture de l'intervention (Odjo *et al.*, 2023).

La fréquence des mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S* et l'aptitude de *Anopheles gambiae* s.l. à transmettre le *Plasmodium falciparum* ont été évaluées suite à l'impact des insecticides à base de clothianidine sur la réduction des indicateurs entomologiques. Les résultats de cette étude ont montré une fréquence allélique relativement élevée pour la mutation *kdr-L995F* dans l'ensemble des communes d'étude. Ces données montrent le niveau de résistance des *Anopheles*

*gambiae* s.l. vecteurs du paludisme aux insecticides des classes des pyréthrinoïdes et des organochlorés notamment le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) dans la zone d'étude. Les études récentes ont montré de fortes fréquences alléliques de la mutation *kdr-L995F* dans plusieurs localités au Bénin (Sagbohan *et al.*, 2022 ; Yahouedo *et al.*, 2016 ; Ngufor *et al.*, 2015, Djogbénou *et al.*, 2016; Yadouleton *et al.*, 2010), et à travers différents pays endémiques d'Afrique (Casimiro *et al.*, 2014 ; Ochomo *et al.*, 2013 ; Mwane *et al.*, 2009 ; Awolola *et al.*, 2009) confirment ces résultats. En effet, ces classes d'insecticides ciblent le gène du canal sodium voltage dépendant (*Vgsc*) où se trouve la mutation *kdr-L995F* (Kouadio *et al.*, 2023; Moss *et al.*, 2024). Cette situation de forte distribution de la résistance aux pyréthrinoïdes est en réalité le résultat de l'intensification de la couverture en moustiquaires imprégnées de pyréthrinoïdes observée ces dernières années. Le déploiement de ces outils de contrôle dont l'efficacité est incontestable sur les moustiques exerce une pression de sélection (Williams *et al.*, 2022 ; Grigoraki *et al.*, 2021; Syahrani *et al.*, 2024) qui accentue progressivement la résistance. Par ailleurs, la situation de la résistance observée dans les sites prospectés est aussi liée à l'utilisation massive de pyréthrinoïdes en agriculture, pour la protection des cultures, comme l'a rapporté Yadouleton *et al.* (2010 ; 2009). La fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* du gène *Vgsc* a été significativement plus élevée dans les communes sous la couverture PID (Copargo et Djougou) comparativement à la commune-témoin (Bassila) dans le département de la Donga contrairement à celle des communes de l'Alibori. Cela pourrait s'expliquer par une forte utilisation des pyréthrinoïdes en agriculture dans la commune de Bembèrèkè et par l'intervention de la PID à Copargo et à Djougou. En effet, bien que les néonicotinoïdes agissent principalement sur le système nerveux des insectes en ciblant les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, il existe des preuves que l'exposition à des néonicotinoïdes tels que la clothianidine peut être associée à des mutations génétiques, y compris la mutation *kdr-L995F* chez les moustiques *Anopheles gambiae* s.l. (Zoh *et al.*, 2021 ; Tchouakui *et al.*, 2022). Les travaux de Zoh et collaborateurs ont montré que la clothianidine seule peut rapidement sélectionner des allèles de résistance métabolique chez *An. gambiae* (Zoh *et al.*, 2021).

Concernant la fréquence de la mutation *G280S* du gène *ace-1*, elle a été très faible dans toutes les communes et ne dépasse pas 4%. Cependant, il est à noter que la fréquence allélique a été légèrement plus faible à Bassila, (commune-témoin) qu'à Copargo et à Djougou (communes pulvérisées). Globalement, les fréquences alléliques des communes PID (3%) et des

communes-témoins (2%) ont été similaires ( $p = 0,58$ ) confirmant le moindre ciblage du gène *ace-1* dans les interventions de lutte antivectorielle au Bénin.

L'infectivité au *Plasmodium falciparum* des moustiques du complexe *Anopheles gambiae* collectés a été très variable d'une commune à une autre et d'un département à l'autre indépendamment du niveau d'évolution des fréquences des mutations *kdr-L995F* du gène *Vgsc* et *G280S* du gène *ace-1*. Il a été constaté que la commune de Copargo a un indice sporozoïtique relativement significatif ( $p = 0,049$ ) par rapport aux autres communes (Bassila et Djougou). Le niveau élevé de transmission du paludisme observé à Copargo (zone traitée) par rapport à la commune-témoin (Bassila) pourrait être dû au fait que la transmission du paludisme est ordinairement beaucoup plus intense dans cette zone comme constaté par Yadouleton *et al.*, 2018. En effet, Copargo est une commune frontalière du département de l'Atacora où l'incidence du paludisme est l'une des plus élevées sur le plan national (U.S PMI, 2022 ; MS/DPP/Annuaire des statistiques sanitaires, 2019).

L'aptitude à transmettre le *Plasmodium* chez *An. gambiae* s.l. porteur des mutations *kdr-L995F* et *ace-1 G280S* a été recherchée dans l'ensemble des communes d'étude. Nos données ont montré que la présence de *P. falciparum* chez *An. gambiae* s.l. n'est pas liée au génotype des moustiques pour la mutation *kdr-L995F*. Ainsi, selon que le moustique est de génotype homozygote résistant (RR) ou homozygote sensible (SS) ou même hétérozygote (RS), cela n'impacte en rien son aptitude à porter le *P. falciparum* et donc à assurer la transmission du paludisme. Le même constat a été effectué en ce qui concerne la mutation *G280S* du gène *ace-1* où les résultats montrent une aptitude similaire à porter le *P. falciparum* quoi qu'il soit le génotype du moustique, même si les homozygotes sensibles sont plus aptes par endroit. Ces données sont approuvées par celles de Ossè *et al.* (2020), qui ont démontré qu'il n'y avait aucune différence significative entre les fréquences alléliques des moustiques *An. gambiae* s.l. femelles infectées et non infectées au *P. falciparum* selon leur génotype respectif pour la mutation *kdr-L995F* du gène *Vgsc* et la mutation *G280S* du gène *ace-1*. Pour Mitri *et al.* (2015), la variation génétique influençant l'infection par *Plasmodium* chez les anophèles sauvages est liée à un haplotype naturel de 3-mégabase sur le chromosome 2L qui porte l'allèle *kdr* du gène n'influence pas directement la susceptibilité au parasite.

Les fréquences de la mutation *kdr-L995F* calculées dans toutes les populations de *Anopheles gambiae* et de *Anopheles coluzzii* ont montré qu'il n'y a aucune différence remarquable entre les communes traitées et la commune-témoin. Par ailleurs, les fréquences de cette mutation observée au niveau des populations de *Anopheles coluzzii* sont relativement inférieures à celles

de *Anopheles gambiae* au fil des années. Ce constat serait lié au gîte permanent que préfère *Anopheles coluzzii* qui est dominant pendant la saison sèche (Etang *et al.*, 2016; Gimonneau *et al.*, 2012). Au cours de cette saison, la pression insecticide est faible en absence d'activités agricoles. Par contre la fréquence allélique élevée dans les populations de *Anopheles gambiae* est liée à l'utilisation des insecticides notamment les pyréthrinoïdes (Fassinou *et al.*, 2019; Yadouleton *et al.*, 2011) qui assurent la protection des cultures et en retour favorisent la sélection de la résistance dans ces populations d'*Anopheles gambiae* (Clarkson *et al.*, 2021; Djègbè *et al.*, 2011; Djogbénou *et al.*, 2016). Concernant le gène *ace-1*, la fréquence de la mutation G280S est faible dans toutes les populations de *Anopheles coluzzii* et de *Anopheles gambiae* pendant les trois années de l'étude. Ces faibles fréquences alléliques obtenues dans ces populations seraient liées à une utilisation momentanée de ces insecticides, uniquement pendant la PID, ce qui ne favorise pas une sélection des individus résistants. Aussi cette faible fréquence observée de l'allèle résistant pourrait être liée au coût d'adaptation élevé de la mutation *ace-1* (Assogba *et al.*, 2016; Claret *et al.*, 2024; Djogbénou *et al.*, 2008; Grau-Bové *et al.*, 2021). Les travaux antérieurs ont montré cette faible fréquence de cette mutation au Bénin (Kpanou *et al.*, 2021; Salako *et al.*, 2018).

Plusieurs facteurs pourraient expliquer les écarts observés par rapport à la panmixie. Pour le gène *Vgsc* -L995F, toutes les populations de *Anopheles gambiae* et *Anopheles coluzzii* ont présenté des valeurs positives de  $F_{IS}$  montrant ainsi un déficit d'hétérozygotie ( $F_{IS}>0$ ), d'une part, la sélection en faveur des individus homozygotes résistants et d'autre part la consanguinité due à un accouplement préférentiel entre les individus de même génotype. En effet, les individus hétérozygotes ont une moindre probabilité de survie ou de reproduction par rapport aux individus homozygotes suite à la pression des insecticides. Ces observations ont été confirmées par la diminution de la fréquence des hétérozygotes observée dans la population (South & Hastings, 2018). Concernant le gène *Ace-1-G280S*, l'indice de fixation a été globalement négatif ( $F_{IS}<0$ ) dans les populations de *Anopheles gambiae* et pour la plupart dans celles de *Anopheles coluzzii* indiquant un excès d'hétérozygotie. Cet excès d'hétérozygotie pourrait s'expliquer par le coût génétique élevé entraînant la baisse de la fréquence de l'allèle résistant. D'une part, cela serait dû à une sélection naturelle défavorable aux individus porteurs de la mutation, ce qui entraîne une diminution de la transmission de l'allèle résistant aux générations futures. D'autre part, on pourra associer aussi la faible fréquence de cette mutation dans les populations à ce phénomène malgré les nombreuses années d'utilisations du pirimiphos-méthyl en PID. D'autres facteurs environnementaux et la dynamique de la sélection

ne sont pas à exclure (Gillespie & Turelli, 1989; Llaurens *et al.*, 2017; Szulkin *et al.*, 2010). Dans certaines populations de *Anopheles coluzzii*, l'indice de fixation a été sensiblement égal à zéro indiquant une population à l'Equilibre de Hardy-Weimberg pour le locus *ace-1* malgré l'utilisation du pirimiphos-méthyl. Ce résultat serait dû au coût génétique élevé plus accentué dans les populations de *Anopheles coluzzii* par rapport aux populations de *Anopheles gambiae*. On pourrait aussi associer ces résultats à un risque d'erreur de deuxième espèce.

La différenciation génétique est très forte dans toutes les populations de *Anopheles gambiae* et de *Anopheles coluzzii* pour le gène *ace-1*. Ce résultat s'explique par le coût génétique élevé de ce gène qui limite les flux génétiques entre les différentes populations. Cette forte différenciation pourrait s'expliquer aussi par la distance qui sépare les différentes sous-populations. D'autres facteurs écologiques ou comportementaux non encore élucidés pourraient expliquer aussi ces résultats. Concernant la différenciation génétique au niveau du gène *Vgsc*, on note une différenciation faible, modérée et forte en fonction des paires de sous-populations considérées. La faible différenciation génétique observée en 2020 entre Kandi et Bembèrèkè ( $F_{ST}= 0,019$ ) et en 2021, entre Copargo et Bembèrèkè (0,026) pour *Anopheles gambiae* suggère un flux génétique élevé entre les sous-populations. Elle résulterait aussi de l'absence de barrière génétique qui aurait pour conséquence un mélange des allèles de façon aléatoire. Les mêmes constats ont été observés en 2021 pour les sous-populations de *Anopheles coluzzii* de Djougou-Bembèrèkè et Copargo-Bembèrèkè ( $F_{ST}<0,001$ ). Après les campagnes PID avec le mélange clothianidine + deltaméthrine, il y a globalement une diminution de la fréquence allélique de la mutation *kdr-L995F* pour les populations d'*Anopheles coluzzii* et d'*Anopheles gambiae*. Cette diminution de la fréquence *kdr-L995F* est accompagnée d'une faible différenciation génétique au niveau des populations de *Anopheles gambiae* et de *Anopheles coluzzii*. On pourrait croire que l'utilisation du mélange clothianidine + deltaméthrine en PID limiterait la propagation de l'allèle résistant du gène *Vgsc* chez *Anopheles gambiae* et *Anopheles coluzzii*. D'autres études permettront de mieux comprendre l'implication du mélange clothianidine + deltaméthrine dans l'évolution de la mutation *kdr-L995F* chez les sous espèces du complexe *Anopheles gambiae*.



## Conclusion générale

L'émergence de résistances généralisées aux insecticides conventionnels tels que la deltaméthrine et le bendiocarb justifie le besoin de trouver des alternatives efficaces. Les insecticides à base de clothianidine, en particulier le mélange clothianidine-deltaméthrine, ont montré une performance significative dans le contrôle des populations de vecteurs résistants. Leur efficacité supérieure à la période de transmission palustre dans la zone d'étude, a été observée en fonction du type de support mural, réduite sur les murs en banco par rapport aux murs en ciment. Cependant, les résultats montrent des réductions significatives des indicateurs entomologiques de transmission du paludisme dans les zones traitées avec le pirimiphos-méthyl, tandis que l'efficacité des formulations à base de clothianidine varie en fonction des conditions locales et ne permettent pas de conclure. La fréquence élevée de mutations associées à la résistance aux pyréthrinoides (*kdr-L995F*) souligne la nécessité d'une surveillance continue de la résistance aux insecticides et de l'utilisation judicieuse des interventions pour éviter une sélection accrue de la résistance. Il est à noter que la fréquence des mutations associées à la résistance aux insecticides alternatifs reste faible indiquant la possibilité de réduire l'accroissement de la population mutante.

En résumé, bien que les insecticides à base de clothianidine offrent des perspectives encourageantes dans le contrôle des vecteurs du paludisme, ils détiennent une faible efficacité sur les indicateurs entomologiques de transmission du paludisme. Une approche intégrée et adaptative reste essentielle pour surmonter les défis posés par la résistance des moustiques aux insecticides afin de maintenir l'efficacité des interventions de lutte antivectorielle.

## Limites de cette étude

L'une des limites de cette étude réside dans le fait que la comparaison des insecticides à base de clothianidine avec le pirimiphos-méthyl 300 CS repose sur des données de 2019, qui pourraient ne pas tenir compte de certains paramètres contextuels importants. L'idéal aurait été de disposer de l'ensemble des données pour les différents insecticides sur une même période. Une autre limite provient du caractère non exhaustif des analyses des mutations génétiques, qui se concentrent uniquement sur les deux cibles principales (*vgsc* et *ace-1*), sans explorer d'autres mécanismes de résistance potentiels pouvant également contribuer à la résistance des vecteurs.

## Perspectives

Quelques perspectives émergentes pour renforcer la lutte contre le paludisme au Bénin et dans d'autres régions confrontées à des défis similaires :

1. Recherche continue sur de nouvelles formulations d'insecticides : Les résultats suggèrent qu'il est nécessaire de développer de nouvelles formulations d'insecticides ou des mélanges d'insecticides pour contrer la résistance émergente chez les vecteurs du paludisme. La recherche et le développement de produits efficaces et durables sont essentiels pour maintenir l'efficacité des interventions de lutte antivectorielle ;
2. Approches intégrées de lutte antivectorielle, principalement axées sur la gestion environnementale et la sensibilisation communautaire, complétées à la pulvérisation intradomiciliaire et l'utilisation de moustiquaires imprégnées ;
3. Adaptation aux conditions locales : Les interventions de lutte antivectorielle doivent être adaptées aux conditions locales, y compris les pratiques domestiques, les habitudes de sommeil et les caractéristiques géographiques. Une approche unique ne convient pas à toutes les régions, donc une personnalisation des stratégies est nécessaire ;
4. Exploration d'autres mécanismes de résistance : Étendre les analyses moléculaires à des mutations génétiques moins étudiées ou à des mécanismes métaboliques qui pourraient influencer la résistance des vecteurs ;
5. Modélisation prédictive : Développer des modèles mathématiques pour prévoir l'évolution des résistances et l'efficacité des insecticides dans divers scénarios d'utilisation ;
6. Renforcement des savoirs locaux : Documenter et intégrer les pratiques traditionnelles de lutte contre les moustiques, en collaboration avec les communautés, pour les adapter et les optimiser en complément des stratégies modernes ;
7. Caractérisation biochimique : Analyser les composés actifs des plantes locales pour évaluer leur efficacité insecticide ou leur potentiel répulsif contre *Anopheles gambiae* ;
8. Développement de partenariats locaux : Travailler avec les acteurs locaux, tels que les agriculteurs, herboristes, et artisans, pour produire et diffuser ces outils endogènes.

Ensemble, ces perspectives offrent un cadre pour améliorer la lutte contre le paludisme et progresser vers l'élimination de cette maladie dévastatrice dans les régions affectées

## Références

1. Abbott WSA. Method of computing of insecticide effectiveness. J Econ Entomol. 1925;18:265–7.
2. Abong'o B, Gimnig JE, Torr SJ, Longman B, Omoke D, Muchoki M, et al. Impact of indoor residual spraying with pirimiphos-methyl (Actellic 300CS) on entomological indicators of transmission and malaria case burden in Migori Country, western Kenya. Sci Rep. 2020;10:4518
3. Adam K.S., Boko M. Le Bénin-Nouvelle édition mise à jour. Cotonou : Editions du Flamboyant, Paris : *EDICEF*, 1993, 95pp.
4. Agossa FR, Aïkpon R, Azondékon R, Govoetchan R, Padonnou GG, Oussou O, et al. Efficacy of various insecticides recommended for indoor residual spraying: pirimiphos methyl, potential alternative to bendiocarb for pyrethroid resistance management in Benin, West Africa. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2014;108:84-91.
5. Agossa FR, Padonou GG, Fassinou AJ, Odjo EM, Osei K. Akuoko OK, Salako A, et al. Small-scale field evaluation of the efficacy and residual effect of Fludora® Fusion (mixture of clothianidin and deltamethrin) against susceptible and resistant *Anopheles gambiae* populations from Benin, West Africa. Malar J. 2018a;17:484.
6. Agossa FR, Padonou GG, Koukpo CZ, Zola-Sahossi J, Azondekon R, Akuoko OK, et al. Efficacy of a novel mode of action of an indoor residual spraying product, SumiShield(R) 50WG against susceptible and resistant populations of *Anopheles gambiae* (s.l.) in Benin, West Africa. Parasit Vectors. 2018b;11:293.
7. AIEA. Les moustiques vecteurs du virus Zika, l'utilité de la technique de l'insecte stérile. Bureau de l'information et de la communication de l'AIEA. 2016 ;1-4  
zika-virus-mosquitos-how-can-sterile-insect-technique-help-updated\_fr.pdf
8. Aïkpon R, Afoukou C, Hounpkatin B, Eclou DD, Cyaka Y, Egwu E, et al. Digitalized mass distribution campaign of insecticide-treated nets (ITNs) in the particular context of Covid-19 pandemic in Benin: challenges and lessons learned. Malar J. 2020;19:431.
9. Aïkpon R, Agossa F, Ossè R, Oussou O, Aïzoun N, Oké-Agbo F, Akogbéto M. Bendiocarb resistance in *Anopheles gambiae* s.l. populations from Atacora department in Benin, West Africa: a threat for malaria vector control. Parasites & Vectors. 2013a;6:192.

10. Aïkpon R, Agossa F, Ossè R, Oussou O, Aïzoun N, Oké-Agbo F, et al. Bendiocarb resistance in *Anopheles gambiae* s.l. populations from Atacora department in Benin, West Africa: a threat for malaria vector control. *Parasit Vectors*. 2013;6:192.
11. Aïkpon R, Ossè R, Govoetchan R, Sovi A, Oké-Agbo F, Akogbéto MC. Entomological baseline data on malaria transmission and susceptibility of *Anopheles gambiae* to insecticides in preparation for indoor residual spraying (IRS) in Atacora, (Benin). *J Parasitol Vector Biol*. 2013;5:102–11.
12. Aïkpon R, Sèzonlin M, Tokponon F, Okè M, Oussou O, Oké-Agbo F, Beach R and Akogbéto M. Good performances but short lasting efficacy of Actellic 50 EC Indoor Residual Spraying (IRS) on malaria transmission in Benin, West Africa. *Parasites & Vectors*. 2014;7:256.
13. Aïkpon RY. Utilisation des carbamates et des organophosphorés en pulvérisation intradomiciliaire: impact sur la transmission du paludisme et dynamique de la résistance aux insecticides chez *Anopheles gambiae* (Culicidea, Diptera) au Bénin, Afrique de l'Ouest. Thèse de doctorat de l'Université d'Abomey-Calavi. 2014;p.276.
14. Aïzoun N, Aïkpon R, Akogbéto M. Evidence of increasing *L1014F kdr* mutation frequency in *Anopheles gambiae* s.l. pyrethroid resistant following a nationwide distribution of LLINs by the Beninese National Malaria Control Programme. *Asian Pac. J. Trop. Biomed*. 2014;4(3):239–243.
15. Akogbeton 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.
16. Akogbeton 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. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2011; 85:586–593.
17. Akogbeton M. Entomological study on the malaria transmission in coastal and lagoon areas: the case of a village built on a brackish lake. *Ann SocBelg Med Trop*. 1995;75 (3):219-27.
18. Akogbeton MC, Aikpon R, Azondekon R, Padonou G, Osse R, Agossa FR, Beach R, And Sezonlin M. Six years of experience in entomological surveillance of indoor residual spraying against malaria transmission in Benin: lessons learned, challenges and

outlooks : From 2008 to 2013, a prevention intervention against malaria based on indoor residual spraying (IRS) was implemented in Benin. From 2008 to 2012, Ficam M®, a bendiocarb-containing product was used for house sp. Malar J. 2015;14:242.

19. Akogbéto MC, Aïkpon RY, Azondékon R, Padonou GG, Ossè RA, Agossa FR, et al. Six years of experience in entomological surveillance of indoor residual spraying against malaria transmission in Benin: lessons learned, challenges and outlooks. Malar J. 2015;14:242.
20. Akogbéto MC, Dagnon F, Aïkpon R, Ossé R, Salako AS, Ahogni I, et al. Lessons learned, challenges and outlooks for decision-making after a decade of experience monitoring the impact of indoor residual spraying in Benin, West Africa. Malar J. 2020;19:45.
21. Akogbeto MC, Padonou GG, Gbénou D, Irish S, Yadouleton A. Bendiocarb, a potential alternative against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* in Benin, West Africa. Malar J. 2010;9:204.
22. Akogbéto MC, Salako AS, Dagnon F, Aïkpon R, Kouletio M, Sovi A, et al. Blood feeding behaviour comparison and contribution of *Anopheles coluzzii* and *Anopheles gambiae*, two sibling species living in sympatry, to malaria transmission in Alibori and Donga region, northern Benin, West Africa. Malar J. 2018;17:307.
23. Antinori S, Galimberti L, Milazzo L, and Corbellino M. Biology of human malaria plasmodia including Plasmodium knowlesi. Mediterr J Hematol Infect Dise. 2012;4(1):013.
24. Assogba BS, Milesi P, Djogbénou LS, Berthomieu A, Makoundou P, Baba-Moussa LS et al. The *ace-1* Locus Is Amplified in All Resistant *Anopheles gambiae* Mosquitoes: Fitness Consequences of Homogeneous and Heterogeneous Duplications. PLOS Biol. 2016;14(12):e2000618.
25. Awolola TS, Oduola OA, Strode C, Koekemoer LL, Brooke B, Ranson H. Evidence of multiple pyrethroid resistance mechanisms in the malaria vector *Anopheles gambiae* sensu stricto from Nigeria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2009;103:1139–45.
26. Bayoh MN, Thomas CJ, Lindsay SW. Mapping distributions of chromosomal forms of *Anopheles gambiae* in West Africa using climate data. Med Vet Entomol. 2001;15:267–74.
27. Beklemishev WN. Le cycle trophogonique, principe de base de la biologie d'*Anopheles*. Vop. Fiziol. Ekol. Malar. Komara. 1940;1:3.

28. Bhatt S, Weiss DJ, Cameron E, Bisanzio D, Mappin B, Dalrymple U, et al. The effect of malaria control on *Plasmodium falciparum* in Africa between 2000 and 2015. *Nature*. 2015;526(7572):207–11.
29. Bockarie MJ, Alexander N, Bockarie F, Ibam E, Barnish G and Alpers M. The late biting habit of parous *Anopheles* mosquitoes and pre-bedtime exposure of humans to infective female mosquitoes. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1996; 90(1): 23-25.
30. Boussougou-Sambe ST, Ngossanga B, Doumba-Ndalembouly AG, et al. *Anopheles gambiae* s.s. resistance to pyrethroids and DDT in semi-urban and rural areas of the Moyen-Ogooué Province, Gabon. *Malar. J.* 2023;22(1):382.
31. Bruce-Chwatt LJ. Malaria and its control: present situation and future prospects. *Annu Rev Public Health*. 1987;8 :75-110.
32. Brun LO. Contribution à l'étude biologique et écologique des vecteurs majeurs de paludisme en Afrique de l'Ouest. Thèse Doctorat, Université de Rennes, 1973.
33. Burkot TR, Graves PM, Cattan JA, Wirtz RA, and Gibson FD. The efficiency of sporozoite transmission in the human malarias, *Plasmodium falciparum* and *P. vivax*. Bull World Health Organ. 1987; 65(3): 375–380.
34. Carnevale P, Bosseno MF, Molinier M, Lancien J, Le Pont F, Zoulani A. Étude du cycle gonotrophique d'*Anopheles gambiae* (Diptera, Culicidae) (Giles, 1902) en zone de forêt dégradée d'Afrique Centrale. *Cahiers ORSTOM, sér Ent Méd Parasitol*. 1979;17:55-75.
35. Carnevale P, Robert V, Manguin S, Corbel V, Fontenille D, Garros C and Rogier C. Les anophèles : biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. Didactiques. Marseille, IRD. 2009;391.
36. Casimiro S, Coleman M, Hemingway J, Sharp B. Insecticide Resistance in *Anopheles arabiensis* and *Anopheles gambiae* from Mozambique. *J Med Entomol*. 2006;43:276–82.
37. Cator LJ, Lynch PA, Read AF. and Thomas MB. Do malaria parasites manipulate mosquitoes? *Trends Parasitol*. 2012;28(11): 466-470.
38. Chandre F, Darriet F, Manguin S, Brengues C, Carnevale P, Guillet P. Pyrethroid cross resistance spectrum among populations of *Anopheles gambiae* s.s. from Côte d'Ivoire. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 1999;15:53-59.
39. Chehuan YF, Costa MR, Costa JS, Alecrim MG, Nogueira F, Silveira H, Brasil LW, Melo GC, Monteiro WM and Lacerda MV. In vitro chloroquine resistance for *Plasmodium vivax* isolates from the Western Brazilian Amazon. *Malar J*. 2013;12: 226.

40. Choumet V, Attout T, Chartier L, Khun H, Sautereau J, Robbe-Vincent A, Brey P, Huerre M and Bain O. Visualizing non infectious and infectious *Anopheles gambiae* blood feedings in naive and saliva-immunized mice. PLoS One. 2012;7(12): e50464.
41. Cibulskis RE, Alonso P, Aponte J, Aregawi M, Barrette A, Bergeron L, et al. Global progress 2000-2015 and future challenges. Infect Dis Poverty. 2016;5:61
42. Claret J-L, Di-Liegro M, Namias A, Assogba B, Makoundou P, Koffi A et al. Despite structural identity, *ace-1* heterogenous duplication resistance alleles are quite diverse in *Anopheles mosquitoes*. Heredity. 2024; 132(4):179-191.
43. Clarkson CS, Miles A, Harding NJ, O'Reilly AO, Weetman D, Kwiatkowski D, et al. The genetic architecture of target-site resistance to pyrethroid insecticides in the African malaria vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles coluzzii*. Mol Ecol. 2021;30:5303–17.
44. Coetzee M, Craig M and le Sueur D. Distribution of African malaria mosquitoes belonging to the *Anopheles gambiae* complex. Parasitol Today. 2000;16(2): 74-77.
45. Coetzee M, Hunt RH, Wilkerson R, Della Torre A, Coulibaly MB, Besansky NJ. *Anopheles coluzzii* and *Anopheles amharicus*, new members of the *Anopheles gambiae* complex. Zootaxa. 2013;3619: 246–274.
46. Coleman S, Dadzie SK, Seyoum A, Yihdego Y, Mumba P, Dengela D, et al. A reduction in malaria transmission intensity in Northern Ghana after 7 years of indoor residual spraying. Malar J. 2017;16:324.
47. Coosemans M, Van Gompel A. The principal arthropod vectors of disease. What are the risks of travellers' to be bitten? To be infected? Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique (1990), 01 Jan 1998, 91(5 Pt 1-2):467-473
48. Corbel V, Akogbeto M, Damien GB, Djenontin A, Chandre F, Rogier C, et al. Combination of malaria vector control interventions in pyrethroid resistance area in Benin: a cluster randomised controlled trial. Lancet Infect Dis. 2012; 12:617–26.
49. Costas-Ferreira C, Faro LRF. Neurotoxic Effects of Neonicotinoids on Mammals: What Is There beyond the Activation of Nicotinic Acetylcholine Receptors? A Systematic Review. Int J Mol Sci. 2021;22:8413.
50. Crutcher JM, Hoffman SL. Malaria. Baron S, editor. Med Microbiol. 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8584/>

51. Dabiré KR, Diabaté A, Djogbenou L, Ouari A, N'Guessan R, Ouédraogo JB, Hougard JM, Chandre F and Baldet T. Dynamics of multiple insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae* in a rice growing area in South-Western Burkina Faso. *Malar J.* 2008;7:188
52. Danis, M. and Mouchet, J. Paludisme. Ellipses. Paris. 1991;240p
53. Davies TGE, Field LM, Usherwood PNR, Williamson MS. A comparative study of voltage-gated sodium channels in the Insecta: implications for pyrethroid resistance in Anopheline and other Neopteran species. *Insect Mol Biol.* 2007;16:361–75.
54. Della Torre A, Tu Z, Petrarca V. On the distribution and genetic differentiation of *Anopheles gambiae* s.s. molecular forms. *Insect Biochemistry and Molecular Biology.* 2005;35: 755–769.
55. Detinova TS, Gillies MT. Observations determination of the age composition and epidemiological importance of populations of *Anopheles gambiae* Giles and *Anopheles funestus* Giles in Tanganyika. *Bulletin of World Health Organization.* 1964;30:23-28.
56. Djègbè 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(1):261.
57. Djènontin A, Bio-Bangana S, Moiroux N, Henry M-C, Bousari O, Chabi J, 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. *Parasit Vectors.* 2010; 3:83.
58. Djènontin A, Chandre F, Dabiré KR, Chabi J, N'guessan R, Baldet T, 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.
59. Djogbénou L, Chandre F, Berthomieu A, et al. Evidence of Introgression of the *ace-1R* Mutation and of the *ace-1* Duplication in West African *Anopheles gambiae* s. s. *PLOS ONE.* 2008;3(5):e2172.
60. Djogbénou L, Pasteur N, Akogbéto M, Weill M, Chandre F. Insecticide resistance in the *Anopheles gambiae* complex in Benin: a nationwide survey. *Med Vet Entomol.* 2011;25:256–67.



61. Djogbénou LS, Benoit A, Laurette D, et al. Indirect evidence that agricultural pesticides select for insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae*. J. Vector Ecol. J. Soc. Vector Ecol. 2016;41(1):34–40.
62. Dofini Romuald. Lâcher de moustiques génétiquement modifiés à Bana : Deux ans après, le projet note des résultats satisfaisants, selon les initiateurs. Lefaso.net. 2021
63. Dong K, Du Y, Rinkevich F, Nomura Y, Xu P, Wang L, et al. Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance. Insect Biochem Mol Biol. 2014;50:1–17.
64. Elamathi N, Barik TK, Verma V, Velamuri PS, Bhatt RM, Sharma SK, et al. Standardization of a bottle assay—an indigenous method for laboratory and field monitoring of insecticide resistance and comparison with WHO adult susceptibility test. Parasitol Res. 2014;113:3859–66.
65. Elliott, R. The influence of vector behavior on malaria transmission. Am J Trop Med Hyg. 1972;21(5): 755-763.
66. Etang J, Mandeng SE, Nwane P, Awono-Ambene HP, Bigoga JD, Ekoko WE, et al. Patterns of kdr-L995F allele emergence alongside detoxifying enzymes associated with deltamethrin resistance in *Anopheles gambiae* s.l. from North Cameroon. Pathog Basel Switz. 2022;11:253.
67. Etang J, Mbida A, Ntonga P, et al. *Anopheles coluzzii* larval habitat and insecticide resistance in the island area of Manoka, Cameroon. BMC Infect. Dis. 2016 ;16.
68. Fassinou AJYH, Koukpo CZ, Ossè RA, Agossa FR, Azondékon R, Sominahouin A, et al. Pesticides and the evolution of the genetic structure of *Anopheles coluzzii* populations in some localities in Benin (West Africa). Malar J. 2019;18:407.
69. 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 Molecular Biology. 1997;6:377-383.
70. Feyereisen R, Dermauw W, Van Leeuwen T. Genotype to phenotype, the molecular and physiological dimensions of resistance in arthropods. Pestic Biochem Physiol. 2015;121:61–77.
71. Fongnikin A, Houeto N, Agbevo A, Odjo A, Syme T, N’Guessan R, Ngufor C. Efficacy of Fludora Fusion (a mixture of deltamethrin and clothianidine) for indoor residual spraying against pyrethroid (resistant malaria vector: laboratory and experimental hut evaluation). Parasites Vector. 2020; 13:466

72. Fontenille D, Cohuet A, Awono-Ambene P, Kengne P, Antonio-Nkondjio C, Wondji C and Simard F. Malaria vectors: from the field to genetics. Research in Africa. Rev Epidemiol Sante Publique. 2005;53(3): 283-290.
73. Frevert U, Engelmann S, Zougbede S, Stange J, Ng B, Matuschewski K, Liebes L and Yee H. Intravital observation of Plasmodium berghei sporozoite infection of the liver. PLoS Biol. 2005;3(6): e192.
74. Frischknecht F, Baldacci P, Martin B, Zimmer C, Thiberge S, Olivo-Marin JC, Shorte SL and Menard R. Imaging movement of malaria parasites during transmission by Anopheles mosquitoes. Cell Microbiol. 2004;6(7): 687-694.
75. Fullman N, Burstein R, Lim SS, Medlin C, Gakidou E. Nets, spray or both? The effectiveness of insecticide-treated nets and indoor residual spraying in reducing malaria morbidity and child mortality in sub-Saharan Africa. Malar J. 2013;12:62.
76. Galactionova K, Smith TA, de Savigny D, & Penny MA. State of inequality in malaria intervention coverage in sub-Saharan African countries. BMC Medicine. 2017;15(1): 185.
77. Gil MF, Fassolari M, Battaglia ME, Beron CM. Culex quinquefasciatus larvae development arrested when fed on Neochloris aquatica. PLoS Negl Trop Dis. 2021;15: e0009988.
78. Gillespie JH, Turelli M. Genotype-environment interactions and the maintenance of polygenic variation. Genetics. 1989;121(1):129–138.
79. Gillies M, Coetzee M. A supplement to the anophelinae of Africa south of the Sahara. Publ South Afri Inst Med Res. 1987;55: 143.
80. Gillies MT, De Meillon B. The Anophelinae of Africa south of the Sahara. S Afr Inst Med Res. 1968;54:1–343.
81. Gimonneau G, Pombi M, Choisy M, et al. Larval habitat segregation between the molecular forms of the mosquito Anopheles gambiae in a rice field area of Burkina Faso, West Africa. Med. Vet. Entomol. 2012;26(1):9–17.
82. Gnanguenon V, Agossa FR, Badirou K, Govoetchan R, Anagonou R, Oke-Agbo F, et al. Malaria vectors resistance to insecticides in Benin: current trends and mechanisms involved. Parasit Vectors. 2015; 8:223.
83. Gnanguenon V, Govoetchan R, Agossa FR, Osse R, Oke-Agbo F, Azondekon R, et al. Transmission patterns of Plasmodium falciparum by Anopheles gambiae in Benin. Malar J. 2014;13:444.

84. Govere JM, Durrheim DM, Kunene S. Malaria trends in South Africa and Swaziland and the introduction of synthetic pyrethroids to replace DDT for malaria control. *S Afr J Sci.* 2002; 98(1- 2):19-21.
85. Grau-Bové X, Lucas E, Pipini D, Rippon E, Hof AE van 't, Constant E, et al. Resistance to pirimiphos-methyl in West African *Anopheles* is spreading via duplication and introgression of the *Ace1* locus. *PLOS Genet.* 2021;17:e1009253.
86. Greenblatt HM, Guillou C, Guénard D, Argaman A, Botti S, Badet B, et al. The complex of a bivalent derivative of galanthamine with torpedo acetylcholinesterase displays drastic deformation of the active-site gorge: implications for structure-based drug design. *J Am Chem Soc.* 2004;126:15405–11.
87. Grigoraki L, Cowlshaw R, Nolan T, et al. CRISPR/Cas9 modified *An. gambiae* carrying kdr mutation L1014F functionally validate its contribution in insecticide resistance and combined effect with metabolic enzymes. *PLoS Genet.* 2021 ;17(7):e1009556.
88. Hamon, J. Les moustiques anthropophiles de la région de Bobo-Dioulasso (République de Haute-Volta) : cycles d'agressivité et variations saisonnières. *Ann Soc Ent France.* 1963 ;132: 85-144.
89. Harbach RE. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull Entomol Res.* 2004;94(6): 537-553.
90. Hemingway J, Ranson H, Magill A, Kolaczinski J, Fornadel C, Gimnig J, et al. Averting a malaria disaster: will insecticide resistance derail malaria control? *Lancet.* 2016;387:1785-8.
91. Hoppé M, Hueter OF, Bywater A, Wege P, Maienfisch P. Evaluation of commercial agrochemicals as new tools for malaria vector control. *Chimia (Aarau).* 2016;70:721–9.
92. Hounnakan AC, Ayadji APV, Vodungbo V, Hounkpe E, Gbegan P, Wadochedohoun R, et al. *Annuaire des statistiques sanitaires.* 2019.
93. INSAE, RGPH4 2013. Cahiers des villages et quartiers de ville du département de l'Alibori ; 2016a.
94. INSAE, RGPH4 2013. Cahiers des villages et quartiers de ville du département de la Donga ; 2016b.
95. INSAE. Résultats provisoires du rgph4, *Cotonou*, 2005.

96. Jeffrey Sachs & Pia Malaney. The economic and social burden of malaria. Published: 07 February 2002
97. Jeschke P, Nauen R, Beck ME. Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonists: A Milestone for Modern Crop Protection. *Angewandte Chemie International Edition*. 2013;52(36):9464–9485.
98. Jewell NP. *Statistics for Epidemiology*. CRC Press, Danvers, 2003.
99. Kamya MR, Kakuru A, Muhindo M, Arinaitwe E, Nankabirwa JI, Rek J, et al. The impact of control interventions on malaria burden in young children in a historically high-transmission district of Uganda: a pooled analysis of cohort studies from 2007 to 2018. *Am J Trop Med Hyg*. 2020;103:785-92.
100. Katya Galactionova, Thomas A. Smith, Don de Savigny and Melissa A. Penny. State of inequality in malaria intervention coverage in sub-Saharan African countries. *BMC Medicine*. 2017;15:185
101. Kerah-Hinzoumbé C, Péka M, Nwane P, Donan-Gouni I, Etang J, Samè-Ekobo A and Simard F. Insecticide resistance in *Anopheles gambiae* from south-western Chad, Central Africa. *Malar J*. 2008;7:192.
102. Kleinschmidt I, Bradley I, Knox TB, Mnzava AP, Kafy HT, Mbogo C, et al. Implications of insecticide resistance for malaria vector control with longlasting insecticidal nets: a WHO coordinated, prospective, international, observational cohort study; 2018. *Lancet Infect Dis*. 2018; 18:640–9.
103. Kleinschmidt I, Mnzava AP, Kafy HT, Mbogo C, Bashir AI, Bigoga J, et al. Design of a study to determine the impact of insecticide resistance on malaria vector control: a multi-country investigation. *Malar J*. 2015; 14:282.
104. Kouadio F-PA, Wipf NC, Nygble AS, et al. Relationship between insecticide resistance profiles in *Anopheles gambiae* sensu lato and agricultural practices in Côte d'Ivoire. *Parasit. Vectors*. 2023;16(1):270.
105. Kpanou CD, Sagbohan HW, Dagnon F, et al. Characterization of resistance profile (intensity and mechanisms) of *Anopheles gambiae* in three communes of northern Benin, West Africa. *Malar. J*. 2021;20(1):328.
106. Kpanou CD, Sagbohan HW, Sovi A, Osse R, Padonou GG, Salako A, Tokponnon F et al. Assessing Insecticide Susceptibility and Resistance Intensity of *Anopheles gambiae* s.l. populations from some districts of Benin Republic, West Africa. *Journal of Medical Entomology*. 2022;949–956

107. Krueger R. Focus Groups. A practical guide for applied research. *Thousand Oaks:Sage*, 1994, 255pp.
108. Kweka E, Mahande A, Ouma J, Karanja W, Msangi S, Temba V, et al. Novel indoor residual spray insecticide with extended mortality effect: a case of SumiShield 50WG against wild resistant populations of *Anopheles arabiensis* in Northern Tanzania. *Glob Health Sci Pract*. 2018;6:758–65.
109. Lambert D. Zero-Inflated Poisson Regression, with an Application to Defects in Manufacturing. *Technometrics*. 1992;34: 1–14.
110. Lees R, Praulins G, Davies R, Brown F, Parsons G, White A, et al. A testing cascade to identify repurposed insecticides for next-generation vector control tools: screening a panel of chemistries with novel modes of action against a malaria vector. *Gates Open Res*. 2019;3:1464
111. Lensen A, Bril A, van de Vegte M, van Gemert G J, Eling W and Sauerwein R. *Plasmodium falciparum*: infectivity of cultured, synchronized gametocytes to mosquitoes. *Exp Parasitol*. 1999;91(1): 101-103.
112. Llaurens V, Whibley A, Joron M. Genetic architecture and balancing selection: the life and death of differentiated variants. *Mol. Ecol*. 2017;26(9):2430–2448.
113. Lu W, Liu Z, Fan X, Zhang X, Qiao X, Huang J. Nicotinic acetylcholine receptor modulator insecticides act on diverse receptor subtypes with distinct subunit compositions. *PLoS Genet*. 2022;18:e1009920.
114. Martinez Torres D, Chandre F, Williamson M, Darriet F, Berge J, Devonshire A, Guillet P, Pasteur N, Pauron D. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*Kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *Insect MolecularBiology*. 1998;7:179-184
115. Mathews GV, Sidjanski S and Vanderberg JP. Inhibition of mosquito salivary gland apyrase activity by antibodies produced in mice immunized by bites of *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg*.1996;55(4): 417-423.
116. Mhadhbi L, Beiras R. Acute toxicity of seven selected pesticides (Alachlor, Atrazine, Dieldrin, Diuron, Pirimiphos-Methyl, Chlorpyrifos, Diazinon) to the marine fish (Turbot, *Psetta maxima*). *Water Air Soil Pollut*. 2012;223:5917–30.
117. Ministère de la Santé de la République du Bénin. Annuaire des statistiques sanitaires *SNIGS/DPP/MS*, 2013, 93pp.

118. Mitri C, Markianos K, Guelbeogo WM, Bischoff E, Gneme A, Eiglmeier K, et al. The *kdr*-bearing haplotype and susceptibility to *Plasmodium falciparum* in *Anopheles gambiae*: genetic correlation and functional testing. *Malar J.* 2015;14:391.
119. Mosqueira B, Chabi J, Chandre F, Akogbeto M, Hougard JM, Carnevale P, Mas-Coma S. Efficacy of an insecticide paint against malaria vectors and nuisance in West Africa - Part 2: Field evaluation. *Malar J.* 2010;9:341
120. Moss S, Pretorius E, Ceesay S, et al. Genomic surveillance of *Anopheles* mosquitoes on the Bijagós Archipelago using custom targeted amplicon sequencing identifies mutations associated with insecticide resistance. *Parasit. Vectors.* 2024;17:10.
121. Mulla MS, Norland RL, Fanara DM, Darwezeh HA, McKean DW. Control of chironomid midges in recreational lakes. *J Econ Entomol.* 1971;64:300–7.
122. Myriam et Cécile. Protocoles de biologie moléculaire en usage au lin. Institut de recherche pour le développement IRD. 2003
123. Najera JA, Zaim M. Lutte contre les vecteurs du paludisme : Critères et procédures de prise de décision pour une utilisation raisonnée des insecticides. *OMS Genève.* 2004;119.
124. NASA. Power data Access Viewer: <https://power.larc.nasa.gov/data-access-viewer/>
125. Ngufor C, Fongnikin A, Rowland M, N’Guessan R. Indoor residual spraying with a mixture of clothianidin (a neonicotinoid insecticide) and deltamethrin provides improved control and long residual activity against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* s.l. in Southern Benin. *PLoS One.* 2017;12:e0189575.
126. Ngufor C, N’Guessan R, Fagbohoun J, Subramaniam K, Odjo A, Fongnikin A, et al. Insecticide resistance profile of *Anopheles gambiae* from a phase II field station in Cové, southern Benin: implications for the evaluation of novel vector control products. *Malar J.* 2015;14:464.
127. Nkya TE, Poupardin R, Laporte F, Akhouayri I, Mosha F, Magesa S, et al. Impact of agriculture on the selection of insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae*: a multigenerational study in controlled conditions. *Parasit Vectors.* 2014;7:480.
128. Nwane P, Etang J, Chouaibou M, Toto JC, Kera-Hinzoumbé C, Mimpfoundi R, et al. Trends in DDT and pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* s.s. populations from urban and agro-industrial settings in southern Cameroon. *BMC Infect Dis.* 2009;9:163.

129. Ochomo E, Bayoh MN, Brogdon WG, Gimnig JE, Ouma C, Vulule JM, et al. Pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* s.s. and *Anopheles arabiensis* in western Kenya: phenotypic, metabolic and target site characterizations of three populations. *Med Vet Entomol.* 2013;27:156–64.
130. Ochomo EO, Bayoh NM, Walker ED, Abongo BO, Ombok MO, Ouma C, et al. The efficacy of long-lasting nets with declining physical integrity may be compromised in areas with high levels of pyrethroid resistance. *Malar J.* 2013;12:368.
131. Odjo EM, Salako AS, Padonou GG, Yovogan B, Adoha CJ, Adjottin B, et al. What can be learned from the residual efficacy of three formulations of insecticides (pirimiphos-methyl, clothianidin and deltamethrin mixture, and clothianidin alone) in large-scale in community trial in North Benin, West Africa? *Malar J* 2023;22:150.
132. OMD, Objectifs du Millénaire pour le Développement. Rapport 2015. New York: Nations Unies; 2015
133. OMS. Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle, Guide du participant. Genève, Organisation mondiale de la Santé. 2014.
134. OMS. Lignes directrices pour la lutte contre les vecteurs du paludisme. 2019
135. OMS. Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme, seconde édition. Genève : Organisation mondiale de la Santé ; 2017. Licence : CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
136. OMS. Stratégie technique mondiale de lutte contre le paludisme 2016-2030. Genève, Organisation mondiale de la Santé. 2015.
137. Oppenoorth FJ. Biochemistry and genetics of insecticide resistance. *Compr Insect Physiol Biochem Pharmacol Control.* 1985;12:731–73.
138. Ossè R, Aikpon R, Padonou G.G, Oussou O, Yadouléton A, Akogbéto M. Evaluation of the efficacy of bendiocarb in indoor residual spraying against pyrethroid resistant malaria vectors in Benin: results of the third campaign. *Parasites & Vectors.* 2012;5: 163.
139. Ossè R, Aikpon R, Padonou GG, Oussou O, Yadouléton A, Akogbéto M. Evaluation of the efficacy of bendiocarb in indoor residual spraying against pyrethroid resistant malaria vectors in Benin: results of the third campaign. *Parasit Vectors.* 2012; 5:163.
140. Ossè R, Gnanguenon V, Sèzonlin M, Aikpon R, Padonou G, Yadouléton A, et al. Relationship between the presence of *kdr* and *ace-1* mutations and the infection with

- Plasmodium falciparum* in *Anopheles gambiae* s.s. in Benin. Parasitol Vector Biol. 2012;4(3):31–9.
141. Ossè RA, Aikpon R, Gbédjissi GL, Gnanguenon V, Sèzonlin M, Govoétchan R, Sovi A. A shift from Indoor Residual Spraying (IRS) with bendiocarb to Long-Lasting Insecticidal (mosquito) Nets (LLINs) associated with changes in malaria transmission indicators in pyrethroid resistance areas in Benin. Parasites & Vectors. 2013;6:73.
  142. Ossè RA. Evolution des indicateurs entomologiques de la transmission du paludisme après l'arrêt de la pulvérisation intradomiciliaire dans le département de l'Ouémé, au Bénin. Thèse de doctorat de l'Université d'Abomey-Calavi. 2013; p. 271.
  143. Ototo EN, Mbigi JP, Wanjala CL, Zhou G, Githeko AK, Yan G. Surveillance of malaria vector population density and biting behavior in Western Kenya. Malar J. 2015;14:244.
  144. Oxborough RM, Seyoum A, Yihdego Y, Dabire R, Gnanguenon V, Wat'senga F, Agossa FR et al. Susceptibility testing of *Anopheles malaria* vectors with the neonicotinoid insecticide clothianidin; results from 16 African countries, in preparation for indoor residual spraying with new insecticide formulations. Malar J. 2019;18:264.
  145. Padonou GG, Gbedjissi G, Yadouleton A, Azondekon R, Ossé R, Oussou O, et al. Decreased proportions of indoor feeding and endophily in *Anopheles gambiae* s.l. populations following the indoor residual spraying and insecticide-treated net interventions in Benin (West Africa). Parasit Vectors. 2012; 5:262.
  146. Pluess B, Tanser FC, Lengeler C, Sharp BL. Indoor residual spraying for preventing malaria. Cochrane Database Syst Rev. 2010;(4): CD006657.
  147. PMI VectorLink Project. PMI VectorLink Benin 2021 End of Spray Report: April 26 – May 20, 2021. Rockville, MD. The PMI VectorLink Project, Abt Associates Inc. Approved on: July 19, 2021.
  148. PMI, Vectorlink Benin. The PMI Vectorlink Benin 2021 End of Spray Report (EOSR). 2021
  149. PMI. U.S. President's Malaria Initiative Benin Malaria Operational Plan FY 2022. 2022
  150. PNLP. Rapport annuel d'activités au Bénin, 2014, *publié en Mars* 2015.
  151. Prequalification Vector Control. <https://www.who.int/pq-vector-control/prequalified-lists/en/>. Accessed Jan 2019



152. Protopopoff N, Wright A, West PA, Tigererwa R, Mosha PW, Kisinza, et al. Combination of insecticide treated nets and indoor residual spraying in northern Tanzania provides additional reduction in vector population density and malaria transmission rates compared to insecticide treated nets alone: a randomised control trial. PLoS ONE. 2015;10:e0142671.
153. Prugnolle F, Rougeron V, Becquart P, Berry A, Makanga B, Rahola N, Arnathau C, Ngoubangoye B, Menard S, Willaume E, et al. Diversity, host switching and evolution of *Plasmodium vivax* infecting African great apes. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(20): 8123-8128.
154. Quinones ML, Lines JD, Thomson MC, Jawara M, Morris J and Greenwood BM. *Anopheles gambiae* gonotrophic cycle duration, biting and exiting behaviour unaffected by permethrin-impregnated bednets in The Gambia. Med Vet Entomol. 1997;11(1): 71-78.
155. Ranson H, Jensen B, Vulule JM, Wang X, Hemingway J, Collins FH. 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. 2000;9:491–7.
156. 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(2):91- 98.
157. Reimer L, Fondjo E, Patchoké S, Diallo B, Lee Y, Ng A, et al. Relationship between *kdr* mutation and resistance to pyrethroid and DDT insecticides in natural populations of *Anopheles gambiae*. J Med Entomol. 2008;45:260–6.
158. RGPH-4. Cahier des villages et quartiers de ville du département de la Donga. Institut National de la Statistique et de l’Analyse Economique (INSAE). 2013;p. 24.
159. RGPH-4. Cahier des villages et quartiers de ville du département du Borgou. Institut National de la Statistique et de l’Analyse Economique (INSAE). 2013 ;p. 31.
160. RGPH-4. Cahier des villages et quartiers de ville du département de l’Alibori. Institut National de la Statistique et de l’Analyse Economique (INSAE). 2013;p. 26.
161. Robert V, Le Goff G, Toto JC, Essong J and Verhave JP. Early sporogonic development in local vectors of *Plasmodium falciparum* in rural Cameroon. Mem Inst Oswaldo Cruz 89 Suppl. 1994;2: 23-26.

162. Rodhain F, Perez C. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. *Paris, France*, 1985, 458p.
163. Rogerson SJ, Desai M, Mayor A, Sicuri E, Taylor SM, van Eijk AM. Burden, pathology, and costs of malaria in pregnancy: new developments for an old problem. *Lancet Infect Dis*. 2018;18:e107-e18.
164. Rossignol PA, Ribeiro JM and Spielman A. Increased intradermal probing time in sporozoite-infected mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg*. 1984;33(1): 17-20.
165. Rothman KJ. Epidemiology: An Introduction. *Oxford University Press*, 2012
166. Rubert A, Guillon-Grammatico L, Chandenier J, Dimier-Poisson I, Desoubeaux G. Résistance aux insecticides chez le moustique anophèle : des obstacles en plus dans la lutte antipaludique. *Medecine et Sante Tropicales*. 2016;26 : 423-431
167. Sachs J, & Malaney P. The economic and social burden of malaria. *Nature*. 2002; 415(6872): 680–685.
168. Sagbohan HW, Kpanou CD, Sovi A, Osse R, Sidick A, Adoha C, et al. Pyrethroid Resistance Intensity in *Anopheles gambiae* s.l. from Different Agricultural Production Zones in Benin, West Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis* Larchmt N. 2022;22:39–47.
169. Salako AS, Ahogni I, Aïkpon R, Sidick A , Dagnon F , Sovi A , Sominahouin AA, Agossa F, Iyikirenga L and Akogbeto MC. Insecticide resistance status, frequency of *L1014F* Kdr and *G119S* Ace-1 mutations, and expression of detoxification enzymes in *Anopheles gambiae* (s.l.) in two regions of northern Benin in preparation for indoor residual spraying. *Parasites & Vectors*. 2018; 11:618
170. Salako AS, Dagnon F, Sovi A, Padonou GG, Aïkpon R, Ahogni I, et al. Efficacy of Actellic 300 CS-based indoor residual spraying on key entomological indicators of malaria transmission in Alibori and Donga, two regions of northern Benin. *Parasit Vectors*. 2019;12:612.
171. Santolamazza F, Mancini E, Simard F, Qi Y, Tu Z, della Torre A. Insertion polymorphisms of SINE200 retrotransposons within speciation islands of *Anopheles gambiae* molecular forms. *Malar J*. 2008;7:163.
172. 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;49:520–9.

173. 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.
174. Simpson EH. Measurement of Diversity. *Nature.* 1949;163: 688–688.
175. Smith TA, Leuenberger R, Lengeler C. Child mortality and malaria transmission intensity in Africa. *Trends Parasitol.* 2001;17(3):145-9.
176. Snow RW, Guerra CA, Noor AM, Myint HY, Hay SI. The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature.* 2005;434 (7030), 214-7.
177. Snow WF. Further observations on the vertical distribution of flying mosquitoes (Diptera: Culicidae) in West African savanna. *Bull Ent Res.* 1982;75(4): 695-708.
178. Soderlund DM, Bloomquist JR. Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance. *Pestic Resist Arthropods.* Boston, MA: Springer US. 1990;58–96.
179. South A, Hastings IM. Insecticide resistance evolution with mixtures and sequences: a model-based explanation. *Malar. J.* 2018;17(1):80.
180. Sovi A, Govoétchan R, Ossé R, et al. Resistance status of *Anopheles gambiae* s.l. to insecticides following the 2011 mass distribution campaign of long-lasting insecticidal nets (LLINs) in the Plateau Department, south-eastern Benin. *Malar. J.* 2020;19:26.
181. Syahrani L, Asih PBS, Bowolaksono A, et al. Impact of a spatial repellent intervention on *Anopheles kdr* insecticide resistance allele in Sumba, Indonesia. *Malar. J.* 2024;23(1):31.
182. Szulkin M, Bierne N, David P. Heterozygosity-fitness correlations: A time for reappraisal. *Evolution.* 2010;64(5):1202–1217.
183. Taylor SM, Cerami C, Fairhurst RM. Hemoglobinopathies: slicing the Gordian knot of *Plasmodium falciparum* malaria pathogenesis. *PLoS Pathog.* 2013;9:e1003327.
184. Tchouakui M, Assatse T, Mugenzi LMJ, Menze BD, Nguiffo-Nguete D, Tchapga W, et al. Comparative study of the effect of solvents on the efficacy of neonicotinoid insecticides against malaria vector populations across Africa. *Infect Dis Poverty.* 2022;11:35.
185. Tomizawa M, Casida JE. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005;45:247–68.
186. Tusting LS, Rek J, Arinaitwe E, Staedke SG, Kamya MR, Cano J et al. Why is malaria associated with poverty? Findings from a cohort study in rural Uganda. *Infect Dis Poverty.* 2016;5:78.

187. Ullah F, Gul H, Tariq K, Desneux N, Gao X, Song D. Fitness costs in clothianidin-resistant population of the melon aphid, *Aphis gossypii*. PloS One. 2020;15:e0238707.
188. Uragayala S , Kamaraju R , Tiwari SN , Sreedharan S , Ghosh SK and Valecha N. Village-scale (Phase III) evaluation of the efficacy and residual activity of SumiShield 50 WG (Clothianidin 50%, w/w) for indoor spraying for the control of pyrethroid-resistant *Anopheles culicifacies* Giles in Karnataka state, India. Tropical Medicine and International Health. 2018;605–615
189. Uragayala S, Kamaraju R, Tiwari SN, Sreedharan S, Ghosh SK, Valecha N. Village-scale (Phase III) evaluation of the efficacy and residual activity of SumiShield® 50 WG (Clothianidin 50%, w/w) for indoor spraying for the control of pyrethroid-resistant *Anopheles culicifacies* Giles in Karnataka state, India. Trop Med Int Health. 2018;23(6):605-615.
190. Vector-borne diseases. 2020.
191. WASH. Groupe Régional WASH, Afrique de l'Ouest et Centrale. Version du 7 Avril 2017 <https://www.humanitarianresponse.info/en/operations/west-and-central-africa/water-sanitation-hygiene>
192. Weill M, Lutfalla G, Mogensen K, Chandre F, Berthomieu A, Berticat C, et al. Comparative genomics: Insecticide resistance in mosquito vectors. Nature. 2003;423:136–7.
193. 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 Molecular Biology*, 2004;13: 1-7.
194. Weir BS, Cockerham CC. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*. 1984;38(6):1358–1370.
195. Wekesa JW, Copeland RS and Mwangi RW. Effect of *Plasmodium falciparum* on blood feeding behavior of naturally infected *Anopheles mosquitoes* in western Kenya. *Am J Trop Med Hyg*. 1992;47(4): 484-488.
196. Were V, Buf AM, Desai M, Kariuki S, Samuels A, Kuile FO, Phillips-Howard PA, Kachur SP and Niessen L. Socioeconomic health inequality in malaria indicators in rural western Kenya: evidence from a household malaria survey on burden and care-seeking behaviour. *Malar J*. 2018;17:166

197. WHO. Evaluation de la santé. Rapport sur la Santé dans le monde. La vie au 21<sup>ème</sup> siècle, une perspective pour tous, World Health Organisation (ed), *Genève Suisse*, 1998, 43-65.
198. WHO. Global Insecticide Use for Vector-Borne Disease Control. 5th ed. Geneva: Word Health Organization; 2011.
199. WHO. Global Malaria Programme. Indoor residual spraying: use of indoor residual spraying for scaling up global malaria control and elimination. Geneva: World Health Organization, 2006.
200. WHO. Global messaging briefing kit, World malaria report 2022. World Health Organization. 2022
201. WHO. Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors (GPIRM). 2012.
202. WHO. Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets. World Health Organization. 2006
203. WHO. List of WHO Prequalified Vector Control Products. Geneva, World Health Organization, 2023. <https://extranet.who.int/pqweb/vector-control-products/prequalified-product-list>.
204. WHO. Meeting report of the WHO Evidence Review Group on Assessing Comparative Effectiveness of New Vector Control Tools. Geneva, Switzerland. 2017; 12–14.
205. WHO. Report of the twelfth WHOPES Working group meeting. *WHO/HTM/NTD/WHOPES*. 2009; 1.
206. WHO. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectormosquitoes. World Health Organization, Geneva. 2013b.
207. WHO. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2016
208. WHO. The evaluation process for vector control products. Geneva, World Health Organization. 2018.
209. WHO. World Health Organization 2015. Indoor residual spraying: an operational manual for indoor residual spraying (IRS) for malaria transmission control and elimination – 2nd edn. Geneva: World Health Organization. 2015.
210. WHO. World Malaria Report 2009. World Health Organization, Geneva, 2010
211. WHO. World malaria report 2012. Geneva: World Health Organization; 2012.

212. WHO. World Malaria Report 2014. World Health Organization, Geneva, 2015, 19-20.
213. WHO. World malaria report 2017. Geneva: World Health Organization; 2017 (<http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2017/>).
214. WHO. World malaria report 2020: 20 years of global progress and challenges. Geneva: World Health Organization; 2020.
215. WHO. World malaria report 2021. Geneva: World Health Organization; 2021.
216. WHO. World Malaria Report, 2013, Disponible sur: [http://www.who.int/malaria/publications/world\\_malaria\\_report,2013a/](http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report,2013a/)
217. WHO. World Malaria Report. 2011
218. WHO. World malaria report. 2021. Global Malaria Programme World Health Organization 20, avenue Appia CH-1211 Geneva 27. 2021 [www.who.int/teams/global-malaria-programme](http://www.who.int/teams/global-malaria-programme) Email: [infogmp@who.int](mailto:infogmp@who.int)
219. WHO. World Malaria Report. Med. Malar. Venture. 2022. Available from: <https://www.mmv.org/newsroom/news-resources-search/world-malaria-report-2022>
220. WHOPES. Report of the sixteenth working group meeting. WHO/HQ, Geneva. 2013;22-30.
221. Williams J, Ingham VA, Morris M, Toé KH, Hien AS, Morgan JC, et al. Sympatric populations of the *Anopheles gambiae* complex in southwest Burkina Faso evolve multiple diverse resistance mechanisms in response to intense selection pressure with pyrethroids. *Insects*. 2022;13:247.
222. Williamson MS, Martinez-Torres D, Hick CA, Devonshire AL. Identification of mutations in the housefly para-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides. *Mol Gen Genet MGG*. 1996;252:51–60.
223. Wirtz R, Zavala F, Charoenvit Y, Campbell G, Burkot T, Schneider I, Esser K, Beaudoin R, Andre R. Comparative testing of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* sporozoites for ELISA development. *Bulletin of World Health Organization*. 1987; 65: 39-45.
224. Wirtz RA, Burkot TR, Andre RG, Rosenberg R, Collins WE, Roberts DR. Identification of *Plasmodium vivax* sporozoites in mosquitoes using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg*. 1985;34:1048–54.
225. Wright S. Evolution and the Genetics of Populations, Volume 4: Variability Within and Among Natural Populations. Chicago, IL: University of Chicago Press. 1984;590

226. Yadouleton A, Aikpon R, Houndeton G, Aboubacar S, Ursins F, Tchibçozo C, et al. Données entomologiques préliminaires pour la mise en place d'une pulvérisation intra-domiciliaire à grande échelle dans la commune de Corpargo au Nord-Est du Bénin. *Int J Biol Chem Sci.* 2018;12:1993–2003.
227. Yadouleton A, Martin T, Padonou G, et al. Cotton pest management practices and the selection of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* population in northern Benin. *Parasit. Vectors.* 2011; 4:60.
228. Yadouleton AW, Padonou G, Asidi A, Moiroux N, Bio-Banganna S, Corbel V, et al. Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin. *Malar J.* 2010;9:83.
229. Yadouleton AWM, 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.* 2009;8:103.
230. Yahouédo GA, Cornelie S, Djègbè I, Ahlonsou J, Aboubakar S, Soares C, et al. Dynamics of pyrethroid resistance in malaria vectors in southern Benin following a large scale implementation of vector control interventions. *Parasit Vectors.* 2016;9:385.
231. Zhang D, Maiga H, Li Y, Bakhoun MT, Wang G, Sun Y, et al. Mating harassment may boost the effectiveness of the sterile insect technique for *Aedes* mosquitoes. *Nat Commun.* 2024;15: 1980. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46268-x>
232. Zoh MG, Bonneville J-M, Tutagana J, Laporte F, Fodjo BK, Mouhamadou CS, et al. Neonicotinoid and pyrethroid combination: A tool to manage insecticide resistance in malaria vectors? Insights from experimental evolution. *bioRxiv*; 2021. p. 2021.06.09.447494.

# Annexe



RESEARCH

Open Access



# What can be learned from the residual efficacy of three formulations of insecticides (pirimiphos-methyl, clothianidin and deltamethrin mixture, and clothianidin alone) in large-scale in community trial in North Benin, West Africa?

Esdras Mahoutin Odjo<sup>1,2\*</sup>, Albert Sourou Salako<sup>1</sup>, Germain Gil Padonou<sup>1,2</sup>, Boulais Yovogan<sup>1,2</sup>, Constantin Jékukèdè Adoha<sup>1,2</sup>, Bruno Adjottin<sup>1,2</sup>, André Aimé Sominahouin<sup>1</sup>, Arthur Sovi<sup>1,3,4</sup>, Razaki Osse<sup>1,5</sup>, Casimir D. Kpanou<sup>1,2</sup>, Hermann W. Sagbohan<sup>1,2</sup>, Armel Djenontin<sup>1,2</sup>, Clement Agbangla<sup>1,6</sup> and Martin C. Akogbeto<sup>1</sup>

## Abstract

**Background** In Alibori and Donga, two departments of high malaria incidence of Northern Benin, pirimiphos-methyl, mixture deltamethrin + clothianidin, as well as clothianidin were used at large scale for IRS. The present study aimed to assess the residual efficacy of these products.

**Methods** Immatures of *Anopheles gambiae* sensu lato (*s.l.*) collected in the communes of Kandi and Gogounou (Department of Alibori), Djougou and Copargo (Department of Donga) were reared until adulthood. Females aged 2–5 days were used for susceptibility tube tests following the WHO protocol. The tests were conducted with deltamethrin (0.05%), bendiocarb (0.1%), pirimiphos-methyl (0.25%) and clothianidin (2% weight per volume). For cone tests performed on cement and mud walls, the *An. gambiae* Kisumu susceptible strain was used. After the quality control of the IRS performed 1-week post-campaign, the evaluation of the residual activity of the different tested insecticides/mixture of insecticides was conducted on a monthly basis.

**Results** Over the three study years, deltamethrin resistance was observed in all the communes. With bendiocarb, resistance or possible resistance was observed. In 2019 and 2020, full susceptibility to pirimiphos-methyl was observed, while possible resistance to the same product was detected in 2021 in Djougou, Gogounou and Kandi. With clothianidin, full susceptibility was observed 4–6 days post-exposure. The residual activity lasted 4–5 months for pirimiphos-methyl, and 8–10 months for clothianidin and the mixture deltamethrin + clothianidin. A slightly better efficacy of the different tested products was observed on cement walls compared to the mud walls.

\*Correspondence:

Esdras Mahoutin Odjo  
esdrasmahoutino@gmail.com

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



© The Author(s) 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

RESEARCH

Open Access



# Did the prolonged residual efficacy of clothianidin products lead to a greater reduction in vector populations and subsequent malaria transmission compared to the shorter residual efficacy of pirimiphos-methyl?

Esdras Mahoutin Odjo<sup>1,2\*</sup>, Christian S. T. Akpodji<sup>1,2</sup>, Armel Djènontin<sup>1,2</sup>, Albert Sourou Salako<sup>1</sup>, Gil Germain Padonou<sup>1,2</sup>, Constantin Jésuskèdè Adoha<sup>1,2</sup>, Boulais Yovogan<sup>1,2</sup>, Bruno Adjottin<sup>1,2</sup>, Filémon T. Tokponnon<sup>1,2</sup>, Razaki Osse<sup>1,3</sup>, Clement Agbangla<sup>1,4</sup> and Martin C. Akogbeto<sup>1</sup>

## Abstract

**Background** The residual activity of a clothianidin + deltamethrin mixture and clothianidin alone in IRS covered more than the period of malaria transmission in northern Benin. The aim of this study was to show whether the prolonged residual efficacy of clothianidin-based products resulted in a greater reduction in vector populations and subsequent malaria transmission compared with the shorter residual efficacy of pirimiphos-methyl.

**Methods** Human bait mosquito collections by local volunteers and pyrethrum spray collections were used in 6 communes under IRS monitoring and evaluation from 2019 to 2021. ELISA/CSP and species PCR tests were performed on *Anopheles gambiae* sensu lato (*s.l.*) to determine the infectivity rate and subspecies by commune and year. The decrease in biting rate, entomological inoculation rate, incidence, inhibition of blood feeding, resting density of *An. gambiae s.l.* were studied and compared between insecticides per commune.

**Results** The *An. gambiae* complex was the major vector throughout the study area, accounting for 98.71% (19,660/19,917) of all *Anopheles* mosquitoes collected. *Anopheles gambiae s.l.* collected was lower inside treated houses (45.19%: 4,630/10,245) than outside (54.73%: 5,607/10,245) after IRS ( $p < 0.001$ ). A significant decrease ( $p < 0.001$ ) in the biting rate was observed after IRS in all departments except Donga in 2021 after IRS with clothianidin 50 WG. The impact of insecticides on EIR reduction was most noticeable with pirimiphos-methyl 300 CS, followed by the clothianidin + deltamethrin mixture and finally clothianidin 50 WG. A reduction in new cases of malaria was observed in 2020, the year of mass distribution of LLINs and IRS, as well as individual and collective protection measures linked to COVID-19. *Anopheles gambiae s.l.* blood-feeding rates and parous were high and similar for all insecticides in treated houses.

\*Correspondence:

Esdras Mahoutin Odjo  
esdrasmahoutino@gmail.com

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



© The Author(s) 2024. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

RESEARCH

Open Access



# Malaria transmission potential of *Anopheles gambiae* s.l. in indoor residual spraying areas with clothianidin 50 WG in northern Benin

Esdras Mahoutin Odjo<sup>1,2\*</sup> , Mathilde Tognidro<sup>2</sup>, Renaud Govoetchan<sup>1,3</sup>, Antoine Abel Missihoun<sup>2</sup>, Gil Germain Padonou<sup>1,2</sup>, Juvenal Minassou Ahouandjinou<sup>1,2</sup>, Bruno Akinro<sup>1</sup>, Zinsou Come Koukpo<sup>1</sup>, Filémon T. Tokponnon<sup>1,4</sup>, Armel Djenontin<sup>1,2</sup>, Clement Agbangla<sup>1,5</sup> and Martin C. Akogbeto<sup>1</sup>

## Abstract

The study objective was to assess the frequency of the *kdr-L995F* and *ace-1 G280S* genetic mutations in *Anopheles gambiae* s.l. mosquitoes and examine their ability to transmit *Plasmodium falciparum* in areas where indoor residual spraying (IRS) was implemented with Clothianidin 50 WG. The study was conducted in six communes in the Alibori and Donga departments of which four were IRS-treated and two were untreated and served as control. Post-IRS monthly samples of adult mosquitoes were collected in study communes using human landing catches (HLC). *An. gambiae* s.l. specimens were processed to detect *kdr-L995F* and *ace-1 G280S* mutations via PCR as well as *Plasmodium falciparum* infectivity through CSP ELISA. Our data revealed a high and similar allelic frequency for the *kdr-L995F* mutation in both treated and control communes (79% vs. 77%,  $p=0.14$ ) whilst allelic frequency of the *ace-1 G280S* mutation was lower across the study area (2–3%,  $p=0.58$ ). The sporozoite rate was 2.6% and 2.4% respectively in treated and untreated communes ( $p=0.751$ ). No association was found between *Plasmodium falciparum* infection in *Anopheles gambiae* s.l. vectors and carriage of *kdr-L995F* and *ace-1 G280S* mutations regardless of genotypes. The study findings underline the need for an integrated approach to malaria control, combining different control methods to effectively target transmission. Regular monitoring of insecticide resistance and genetic mutations is essential to guide control strategies.

**Keywords** *P. falciparum* infection, *Kdr-L995F*, *Ace-1 G280S*, Malaria, IRS, Benin

## Background

Malaria is a vector-borne disease transmitted by mosquitoes of the *Anopheles* genus [1]. In 2021, 95% of malaria cases (234 million/247 million) and 96% of deaths (593,000/619,000) were reported in the WHO African Region. Approximately 80% of all malaria-related deaths in the region involve children under 5-year old. This rate due to malaria deaths in children under 5-year old has remained constant in the region since 2015 [2]. The causative agent is a protozoan of the *Plasmodium* genus transmitted to humans through the bite of female mosquitoes [3]. In Benin, *Plasmodium falciparum* alone was responsible for 2,876,368 malaria cases recorded in 2021

\*Correspondence:

Esdras Mahoutin Odjo  
esdrasmahoutino@gmail.com

<sup>1</sup> Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, Cotonou, Benin

<sup>2</sup> Faculté des Sciences et Techniques de l'Université d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Benin

<sup>3</sup> Université de Parakou, Parakou, Benin

<sup>4</sup> Ecole polytechnique d'Abomey Calavi, Université d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Benin

<sup>5</sup> Direction Générale de la Recherche Scientifique, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, Cotonou, Benin



© The Author(s) 2024. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

## Genetic Structure Of *Anopheles coluzzii* and *Anopheles gambiae* Populations In Northern Benin (West Africa) In The Context Of Indoor Residual Spraying

Esdras Mahoutin Odjo<sup>1,2\*</sup>, Armel Djènontin<sup>1,2</sup>, Aoubacar Sidick<sup>1</sup>, Arsène Jacques Fassinou<sup>1</sup>, Albert S. Salako<sup>1</sup>, Brice A. Fanou<sup>4</sup>, Constantin J. Adoha<sup>1,2</sup>, Boulais Yovogan<sup>1,2</sup>, Christian S. T. Akpodji<sup>1,2</sup>, Zinsou C. Koukpo<sup>1</sup>, Antoine Abel Missihoun<sup>2</sup>, Arthur Sovi<sup>1,5,6</sup>, Casimir D. Kpanou<sup>1</sup>, Linda Towakinou<sup>1</sup>, Razaki Osse<sup>1,7</sup>, Roseric Azondékon<sup>1</sup>, Gil Germain Padonou<sup>1,2</sup>, Martin Akogbéto<sup>1†</sup>, Clement Agbangla<sup>1,3†</sup>

<sup>1</sup>Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, Cotonou, Bénin.

<sup>2</sup>Faculté des Sciences et Techniques - Université d'Abomey-Calavi, Abomey-calavi, Bénin.

<sup>3</sup>Direction Générale de la Recherche Scientifique, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, Cotonou, Bénin

<sup>4</sup>Ecole Polytechnique d'Abomey Calavi, Université d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Bénin

<sup>5</sup>Faculty of Infectious and Tropical Diseases, Department of Disease Control, The London School of Hygiene and Tropical Medicine, London WC1E 7HT, UK.

<sup>6</sup>Faculté d'Agronomie- Université de Parakou, Parakou, Bénin.

<sup>7</sup>Université Nationale d'Agriculture de Porto-Novo, Porto-Novo, Bénin

\*Corresponding Author: Esdras Mahoutin Odjo, Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, Cotonou, Bénin.

†Last authors contributed equally: Martin Akogbéto and Clement Agbangla

Received date: 18 May 2024; Accepted date: 08 July 2024; Published date: 16 July 2024

Citation: Odjo EM, Djènontin A, Sidick A, Fassinou AJ, Salako AS, et al. (2024) Genetic Structure of *Anopheles coluzzii* and *Anopheles gambiae* Populations In Northern Benin (West Africa) In The Context Of Indoor Residual Spraying. J Comm Med and Pub Health Rep 5(10): <https://doi.org/10.38207/JCMPHR/2024/JUL05100490>

Copyright: © 2024 Esdras Mahoutin Odjo. 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.

### Abstract

From 2019 to 2021, pirimiphos-methyl, clothianidin + deltamethrin, and clothianidin alone were successively used to protect communities in the Donga and Alibori departments against mosquito bites. This study aims to analyze the genetic structure of *Anopheles coluzzii* and *Anopheles gambiae* over three years of intervention.

The vector population studied comes from adult mosquitoes collected monthly from 2019 to 2021 in the study communes. Mosquitoes were collected on the night of each visit in four houses per village and two villages per commune. Molecular analysis of populations was carried out on 3,134 sampled anopheles.

The frequencies of *kdr-L995F* mutation were similar between the treated communes and the control commune, suggesting constant pressure from the pyrethroids and DDT used in agriculture. *Anopheles coluzzii* showed relatively lower frequencies than *Anopheles gambiae* for *kdr-L995F* mutation, linked to its preference for permanent breeding sites, which are less exposed to insecticides during the dry season. The *ace-1-G280S* mutation shows low frequencies in both species' populations. Genetic differentiation is high for the *ace-1* gene. Genetic differentiation varies for the voltage-gated sodium channel (*vgsc*) gene, suggesting variable gene flow between sub-populations.

The clothianidin + deltamethrin mixture could reduce the frequency of *kdr-L995F*. Genetic differentiation is very significant and similar between the *ace-1* (*G280S*) gene sub-populations.

**Keywords:** Genetic differentiation, *kdr-L995F*, *ace-1-G280S*, *Anopheles coluzzii*, *Anopheles gambiae*, IRS, clothianidin, Benin

### Introduction

#### Background

Efforts to combat malaria continue to face a convergence of challenges, mainly in Africa, which carries the heaviest burden of this devastating disease [1]. The COVID-19 pandemic, along with other humanitarian crises, pressures on health systems, budgetary constraints, rising biological threats, and the declining effectiveness of crucial malaria control strategies, are severely hampering progress towards global malaria control targets [1]. Malaria vectors are

becoming increasingly resistant to insecticides used in public health for net impregnation and indoor residual spraying (IRS) [2].

In Benin, the species *Anopheles gambiae* and *Anopheles coluzzii* are the main vectors that dominate malaria transmission [3]. To control them in the northern region, where malaria incidence is high, the national malaria control program (NMCP) has turned to indoor residual spraying (IRS) alongside the use of long-acting insecticidal nets (LLINs) [4]. IRS involves spraying the inside walls of homes with residual insecticides to eliminate mosquito vectors and reduce