



US PRESIDENT'S MALARIA INITIATIVE ACTION TO REINFORCE MALARIA VECTOR CONTROL PROGRAM IN BENIN

Activité 5: Quantification de l'intensité de la résistance du vecteur insecticide

**Titre de l'étude. Etude quantitative de la résistance de
Anopheles gambiae, vecteur majeur du paludisme en Afrique
et mécanismes impliqués sur le transect sud-nord Bénin**

Rapport Annuel

Décembre 2019

Coordinateur: Professor Martin C. Akogbéto

Assistants: Casimir D. Kpanou, MSc, PhD student, CREC/UAC

Hermann W. Sagbohan, MSc., PhD student, CREC/UAC

Collaboration: National Malaria Control Program (NMCP)

Assistance technique: Dr Williams Brogdon, Dr Raymond Beach, CDC

Thème : Etude quantitative de la résistance de *Anopheles gambiae*, vecteur majeur du paludisme en Afrique et mécanismes impliqués sur le transect sud-nord Bénin

Contexte et Justification

Les efforts de lutte déployés contre le paludisme au niveau mondial ont entraîné une diminution considérable du nombre de cas de décès dus à cette infection parasitaire (WHO, 2018). En effet, ce nombre est passé de près de 607000 en 2010 à 451000 en 2016 et à 435000 en 2017 (WHO, 2018). 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 75% le nombre de décès imputables au paludisme à l'horizon 2015 (WHO, 2010). L'utilisation d'insecticides, que ce soit par la pulvérisation à l'intérieur des habitations d'insecticides à effet rémanent (PID) et/ou l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide de longue durée (MILD), est nécessairement l'une des composantes centrales de la lutte antivectorielle pour toutes les phases du programme mondial d'élimination du paludisme (WHO, 2015). Au Bénin, ces deux méthodes (MILD et PID) occupent une place prépondérante dans la lutte antivectorielle mise en place par le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP). Cette dernière décennie, le Bénin est confronté au problème récurrent de résistance des vecteurs aux insecticides. Tous les pyréthrinoides utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires sont concernés: perméthrine, deltaméthrine, alphacyperméthrine (Akogbeto & Yacoubou, 1999, Djègbè et al., 2011, Padonou, Ossé et al., 2012, Aïzoun et al., 2013, Gnanguenon et al., 2015, Aïkpon et al., 2014, Yadouleton et al., 2010). Les carbamates, notamment le bendiocarbe, utilisés pour la pulvérisation intradomiciliaire (PID) sont également concernés dans certaines régions, notamment dans l'Atacora, au nord du Bénin (Aïkpon et al., 2013 Akogbéto et al., 2011). Les organophosphorés ne sont pas exclus de cette liste car une diminution de la sensibilité d'*Anopheles gambiae* au fénitrothion et au propoxur a toujours été constatée (Badirou et al., 2016). Aucune résistance au pirimiphos méthyl utilisé pour la pulvérisation intradomiciliaire (PID) dans l'Atacora n'a été notée, mais, étant donné que la résistance est un phénomène dynamique, il n'est pas exclu que la résistance au pyrimiphos-méthyle apparaisse à l'avenir. Le Bénin n'est pas le seul pays d'Afrique de l'Ouest confronté à la résistance vectorielle. Tous les pays de la région sont concernés: Côte d'Ivoire (Coffi Alphonsine), Burkina Faso (Diabaté, Roch), Niger (Adiza), Togo (Accrombessy), Mali (Traoré), Guinée (Kalil). Ainsi, l'évolution de la situation doit être suivie chaque année et servir de guide aux Programmes Nationaux de Lutte contre le Paludisme. Donc les surveillances temporaires et locales ne sont pas suffisantes pour contrôler la situation. C'est pourquoi nous suggérons une surveillance nationale et régulière de la résistance des vecteurs dans toutes les zones écologiques du pays et à toutes les classes d'insecticides. L'émergence de la résistance des vecteurs aux insecticides ne devrait pas être immédiatement terrifiante. Seule son intensité pourrait effrayer le programme national de lutte contre le paludisme et les acteurs impliqués dans la lutte antivectorielle. Dans cette étude, nous allons quantifier l'intensité de la résistance des vecteurs aux insecticides pour clarifier les implications de la forte intensité de la résistance aux insecticides pour la lutte antivectorielle. D'autre part, la

réponse des moustiques résistants au contact de divers synergistes (PBO, DEF, EA) servira de base de données pour l'utilisation des insecticides et des matériaux traités de nouvelle génération au Bénin.

Objectifs :

- Déterminer la sensibilité de *An. gambiae* sur les 13 sites sentinelles suivant le transect sud-nord dans différentes zones épidémiologiques en prélude à l'extension de la PID au Bénin ;
- Evaluer la sensibilité de *An. gambiae* aux pyréthrinoïdes en relation avec la durabilité des MILDs utilisées au Bénin ;
- Etudier l'évolution des mécanismes de résistance aux insecticides chez *An. gambiae* dans les différentes zones écologiques ;
- Évaluer l'intensité de la résistance aux insecticides en terme de quantification de l'insecticide pour chaque classe d'insecticides ;
- Évaluer l'efficacité des tests en bouteilles CDC ou tests de sensibilité en tubes OMS en utilisant les « pyréthrinoïdes + PBO ou DEF » contre les moustiques résistants dans chaque zone écologique en relation avec les mécanismes de résistance aux insecticides présents dans la zone.

II. Matériel et méthode

Treize (13) sites représentatifs de toutes les zones éco-épidémiologiques du Bénin sont choisis. Sur chaque site, les larves d'*An. gambiae* sont collectées, élevées au laboratoire et les adultes sont testés aux insecticides puis

soumis à diverses analyses pour la recherche des mécanismes de résistance. Le présent rapport tient compte de treize (13) sites où des larves ont été déjà collectées et des tests de sensibilité effectués avec les analyses moléculaires.

1. Sites d'étude

La quantification de l'intensité de la résistance d'*Anopheles gambiae* s.l, vecteur majeur du paludisme en Afrique et mécanismes impliqués a été réalisée dans 13 communes sélectionnées sur le transect Nord-Sud du Bénin, de façon à prendre en compte tous les différents facies géo-climatiques, écologiques et épidémiologiques du pays. La sélection des sites est faite au hasard mais de façon à prendre en compte l'écosystème, le climat, l'environnement géographique et les données du paludisme rencontrés dans différentes zones du Bénin. Le présent rapport tient compte des treize (13) sites déjà explorés et renseigne sur toutes les zones éco-épidémiologiques du Bénin. Lesdits sites sont disposés sur la figure 1 (carte du Bénin montrant les zones et les communes d'étude):

-Zone de production cotonnière (Kandi, N'Dali et Parakou) : cette zone est caractérisée par une forte utilisation des pesticides contre les ravageurs de coton. Dans cette zone se pratique une culture intensive de coton associée à une utilisation de plusieurs familles d'insecticides.

-Zone rizicole (Malanville) : le périmètre de Malanville est un périmètre rizicole de 70 hectares. Deux cultures de riz y sont pratiquées par an dont une en contre saison. Il s'agit donc d'une culture de riz à contre saison.

-Zone urbaine maraichère : une zone qui n'a subi aucun traitement insecticide mais où les populations utilisent des moustiquaires imprégnées, des bombes aérosol et des serpentins fumigènes. Elle est définie par les villes de Cotonou et de Porto-Novo.

-Zone céréalière : les localités de Missérété, Bantè, Ouidah et Allada situées respectivement dans les départements de l'Ouémé, de Collines et de l'Atlantique.

- Zone forestière : Bohicon située dans le département du zou. C'est une zone où se pratique la culture du mil et du maïs.

- Zone de collines : Dassa et Savè

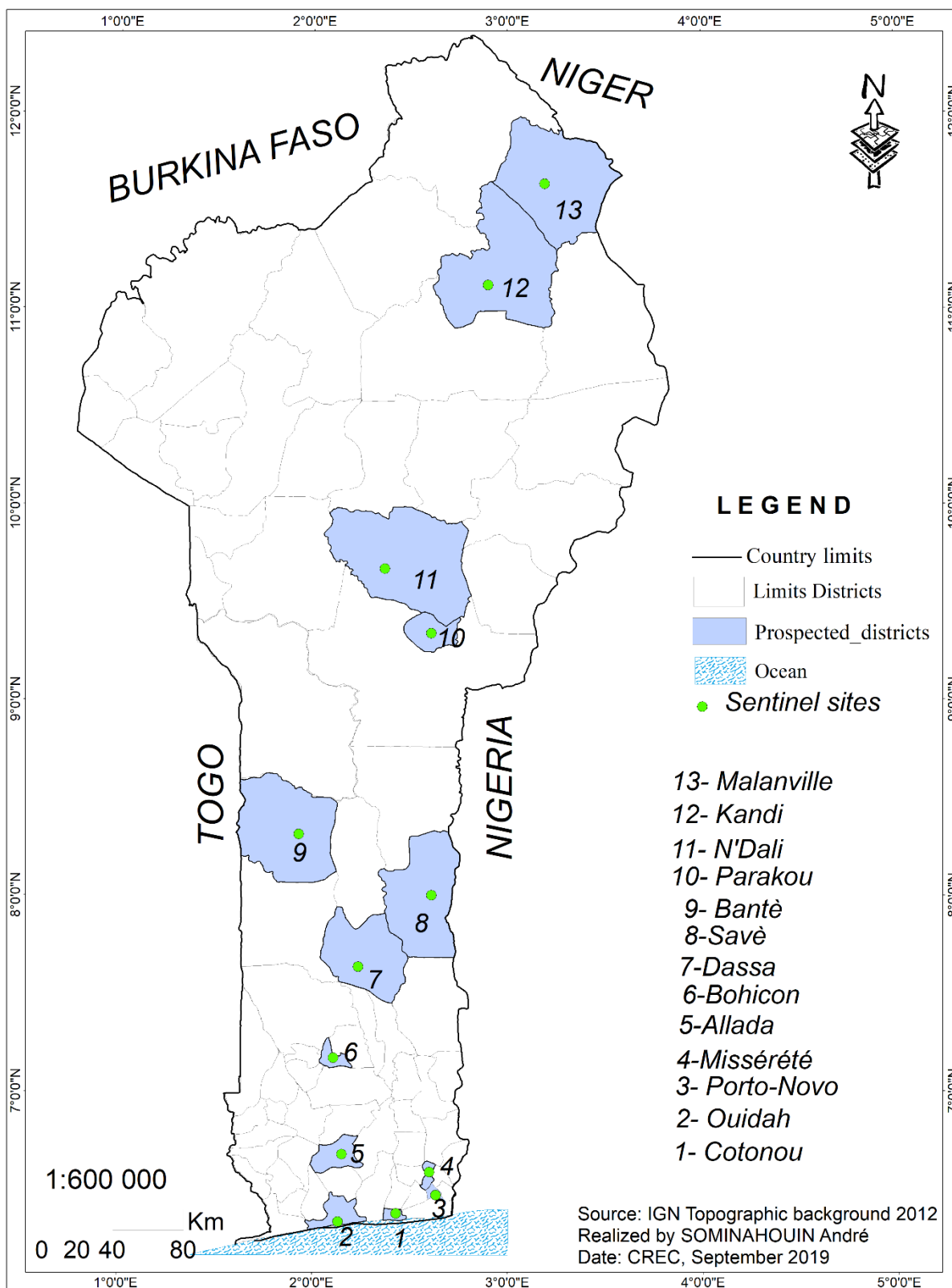


Figure 1: Carte du Bénin montrant les communes de Cotonou et Porto-Novo (Zone urbaine maraichère), Missérété Ouidah , Bantè et Allada (Zone céréalière), Bohicon (Zone forestière), Malanville (Zone rizicole), Kandi, N'Dali et Parakou (Zone cotonnière), Dassa et Savè (Zone des collines).















































































Résultats :




Les tests de sensibilités en tubes OMS et en bouteilles CDC ont été réalisés sur treize populations vectrices du paludisme (*An. gambiae s.l*) collectées dans les différents quartiers des treize communes. Il s'agit de Cotonou, Malanville, Parakou, Kandi, Porto-Novo, Bohicon, Allada, Adjohoun, Savè, Dassa, Missérété, Bantè et N'Dali. Les résultats obtenus et le statut de résistance de ces populations se résument dans les tableaux ci-dessous.

1. Statut de résistance de *An. gambiae s.l* à la dose diagnostique de deltaméthrine, perméthrine et bendiocarb selon les méthodes tests OMS et CDC

Les résultats des tests de sensibilité de *An. gambiae s.l* réalisés avec la méthode des test en tubes OMS à la dose diagnostique de perméthrine et de deltaméthrine, montre une résistance généralisée dans toutes les zones et communes où les prospections larvaires ont été effectuées (Tableau I et Figure 2). Pour le Bendiocarb, seul les Anopheles de la commune de Dassa se sont révélés résistants mais avec un taux de mortalité non loin de la suspicion de résistance. La plupart des autres communes testées sont suspectées de résistance à l'exception de deux (Allada et Missérété) où on note une sensibilité. Les mêmes tendances sont observées avec les tests en bouteilles CDC.

Tableau I : Statut de résistance à la doses diagnostique de deltaméthrine, perméthrine et Bendiocarb dans 13 communes du Benin selon les méthodes des tests en tubes OMS et en bouteilles CDC

Localités	WHO tests						CDC tests					
	Deltaméthrine		Perméthrine		Bendiocarb		Deltaméthrine		Perméthrine		Bendiocarb	
	Nbre testé	Statut de R	Nbre testé	Statut de R	Nbre testé	Statut de R	Nbre testé	Statut de R	Nbre testé	Statut de R	Nbre testé	Statut de R
Cotonou	85		96		90		90		81		85	
Porto-Novo	94		85		99		82		79		84	
Bohicon	94		102		86		63		88		99	
Allada	96		96		91		74		79		73	
Missérété	92		88		99		85		79		77	
Dassa	83		87		94		75		85		81	
Savè	92		88		99		74		82		74	
Parakou	90		84		87		89		60		79	
Kandi	89		96		87		77		74		86	
Malanville	91		93		98		65		73		67	
Bantè	96		98		94		65		73		67	
Ouidah	86		88		99		65		73		67	
N'Dali	89		87		93		65		73		67	

 = Population résistante;  = Population suspectée de résistance;  = Population sensible

2. Sensibilité de *An. gambiae s.l* aux doses croissantes selon la méthode du test en tubes OMS dans les différentes zones écologiques

La résistance est généralisée aux pyréthrinoïdes (deltaméthrine et perméthrine) et au DDT à la dose diagnostique (1X) dans toutes les zones et communes où les prospections larvaires ont été effectuées mais ces mêmes moustiques sont sensibles au pirimiphos méthyl dans toutes communes. Pour le bendiocarb, c'est une suspicion de résistance qui est notée dans la plupart des communes prospectées en dehors de Missérété (98.99%), de Ouidah (99.98%) et Allada (100%) où nous avons observé une sensibilité puis Dassa (83.49%) et N'Dali (87.09%) où l'on note une résistance. L'augmentation de la dose (2X, 5X et 10X) fait proportionnellement augmenter le taux de mortalité dans toutes les localités mais la totalité des moustiques exposés ne meurent pas ; parfois même à une dose 10 fois supérieure à la dose diagnostique (1X). L'ajout du synergiste PBO à la dose diagnostique (1X) de pyréthrinoïdes fait augmenter le taux de mortalité mais la totalité des moustiques exposés ne meurent pas après 24h (**Tableau II, Figure 2 à 14**).

Tableau II : Statut de résistance de *An. gambiae s.l* aux doses croissantes selon la méthode du test en tubes OMS

Insecticides			Delta (1X)	Delta (2X)	Delta (5X)	Delta (10X)	Per (1X)	Per (2X)	Per (5X)	Per (10X)	Bendio (1X)	Bendio (5X)	Bendio (10X)	P-Methyl	DDT
Zone urbaine et maraîchère	Cotonou	% Mortalité	16.47%	41.86%	40%	96.73%	43.75%	47.61%	52.04%	95.60%	96.66%	98.85%	100%	100%	14.60%
	Porto-Novo	% Mortalité	14.89%	50%	57.95%	96.47%	14.11%	47.91%	72.04%	95.55%	94.94%	95%	96.07%	100%	4.54%
Zone cotonnière	Kandi	% Mortalité	15.73%	91.11%	57.95%	100%	52.08%	93.18	92%	98.98%	94.25%	96%	97.93%	100%	3.45%
	N'Dali	% Mortalité	35.95%	40.42%	56.66%	94.25%	24.13%	43.95%	60.21%	89.13%	87.09%	98.94%	100%	100%	
	Parakou	% Mortalité	40%	57%	48.78%	72.91%	47.61%		83.90%	98.80%	97.70%	98.90%	98.92%	100%	
Zone rizicole	Malanville	% Mortalité	14.28%	67,04%	85.71%	95.69%	16.12%		90.62%	97.89%	94.89%	96.07%	99%	100%	1.01%
Zone céréalière	Missérété	% Mortalité	30.43%	33.67%	55%	86.96%	27.27%	50%	75.51%	84.95%	98.99%	98.02%	100%	100%	3.09%
	Allada	% Mortalité	43.75%	63.75%	85.71%	92.55%	17.70%	24.21%	46.46%	83.33%	100%	100%	100%	100%	1.07%
	Ouidah	% Mortalité	22.09%	52.22%	75.86%	96.66%	17.04%	62.65%	73.19%	96.80%	98.98%	100%	100%	100%	1.21%
	Bantè	% Mortalité	22.91%	31.18%	46.46%	85.14%	17.34%	34.40%	52.47%	86.86%	95.74%	98.82%	100%	100%	
Zone forestière	Bohicon	% Mortalité	11.70%	44.18%	69.89%	92.47%	21.57%	39.75%	73.20%	97.87%	96.51%	98.85%	100%	100%	4.12%
Zone des collines	Dassa	% Mortalité	45.78%	67.47%	72.94%	88.17%	51.72%	72.62%	88.89%	90.80%	83.49%	97.75%	100%	100%	0%
	Savè	% Mortalité	21.75%	32.26%	45.83%	66.32%	37.50%	65.88%	71.59%	77.27%	91.92%	98.99%	98.90%	100%	2.43%

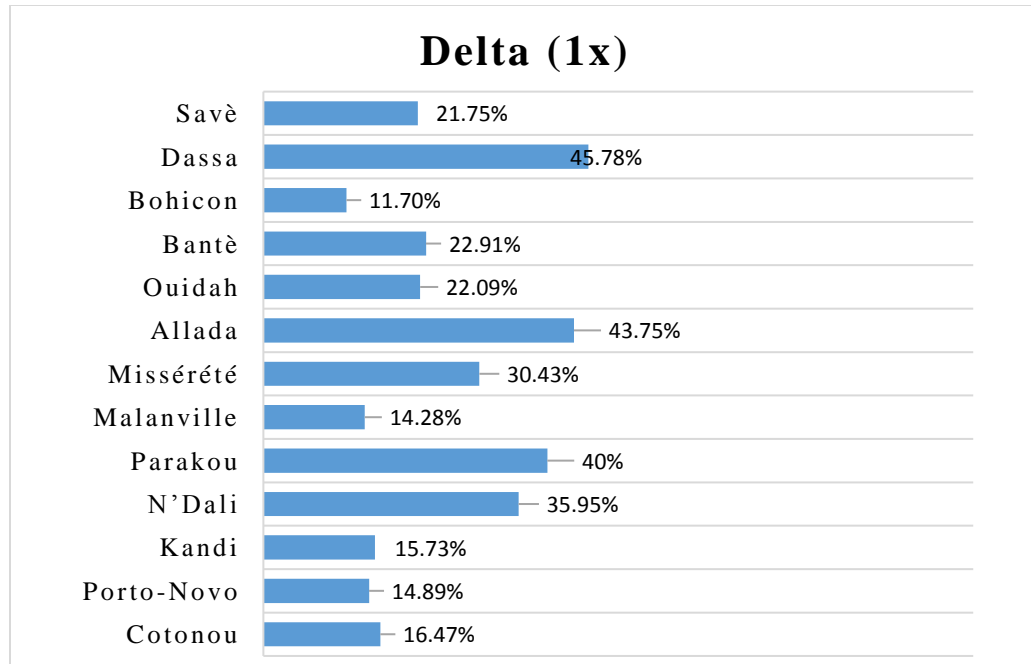


Figure 2: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 1x de Deltaméthrine en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

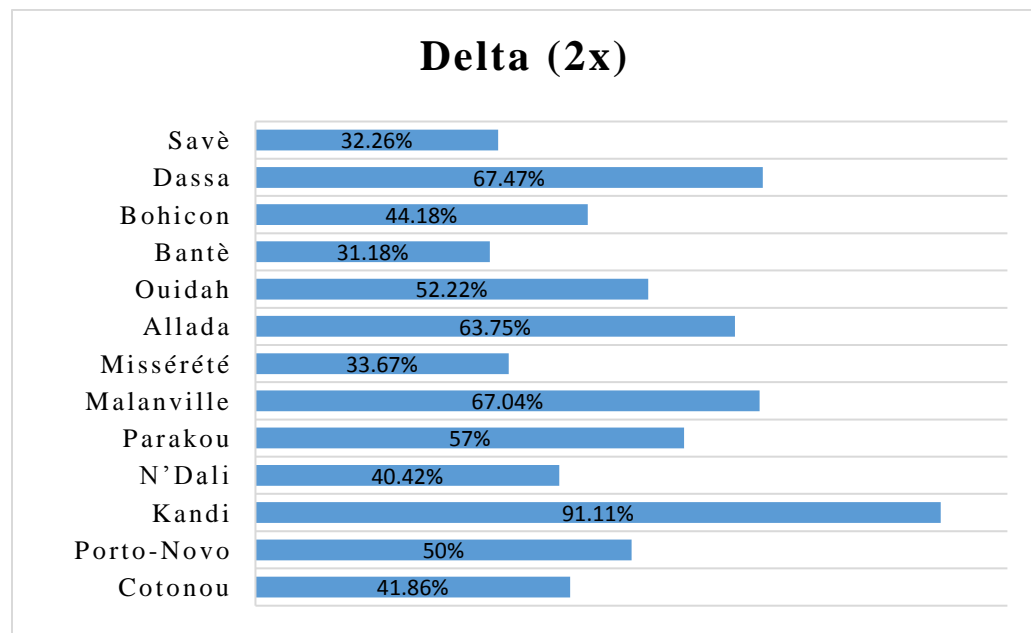


Figure 3: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 2x de Deltaméthrine en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

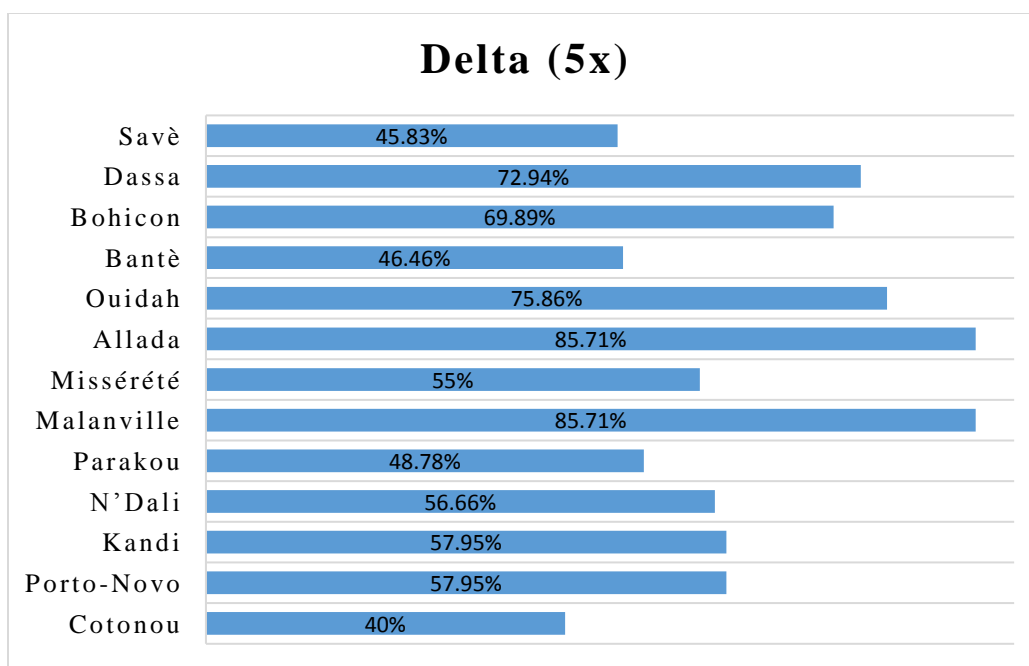


Figure 4: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 5x de Deltaméthrine en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

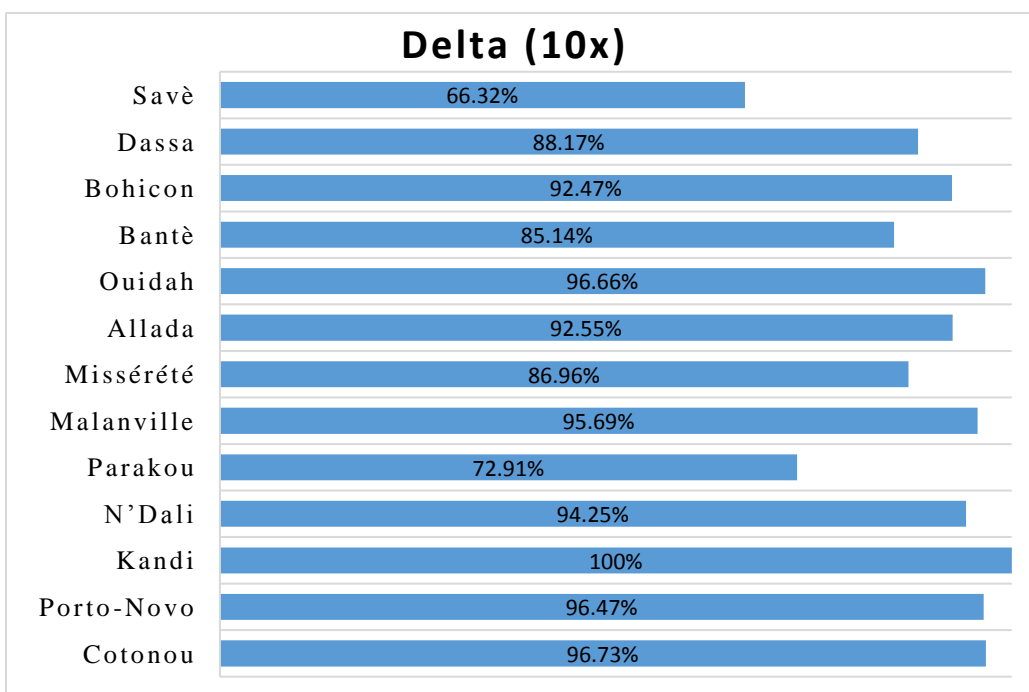


Figure 5: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 10x de Deltaméthrine en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

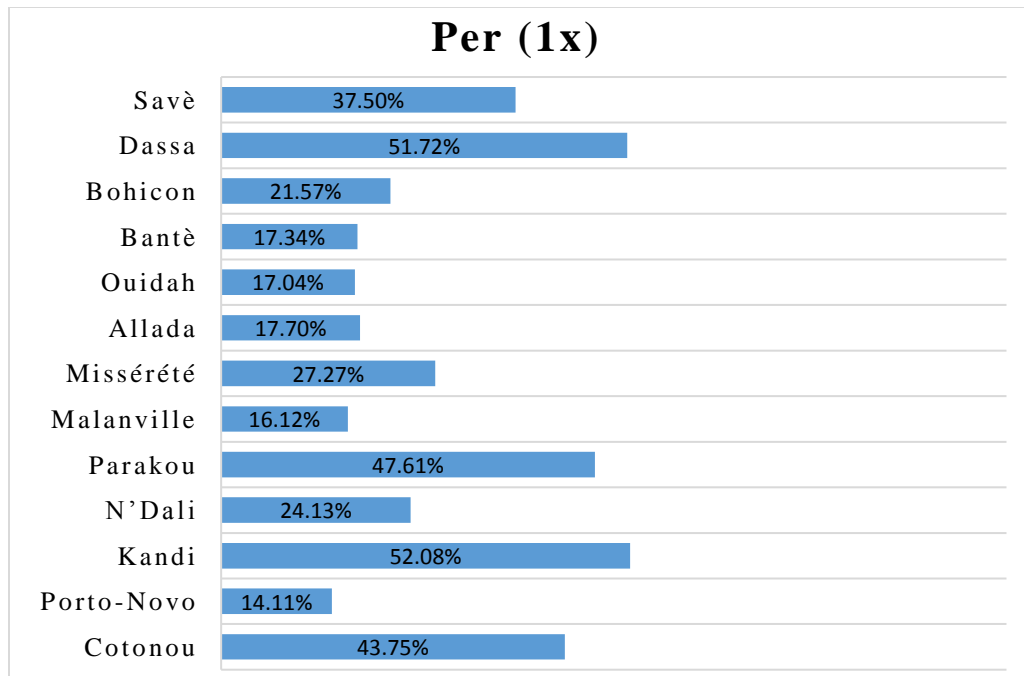


Figure 6: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 1x de Permétrine en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

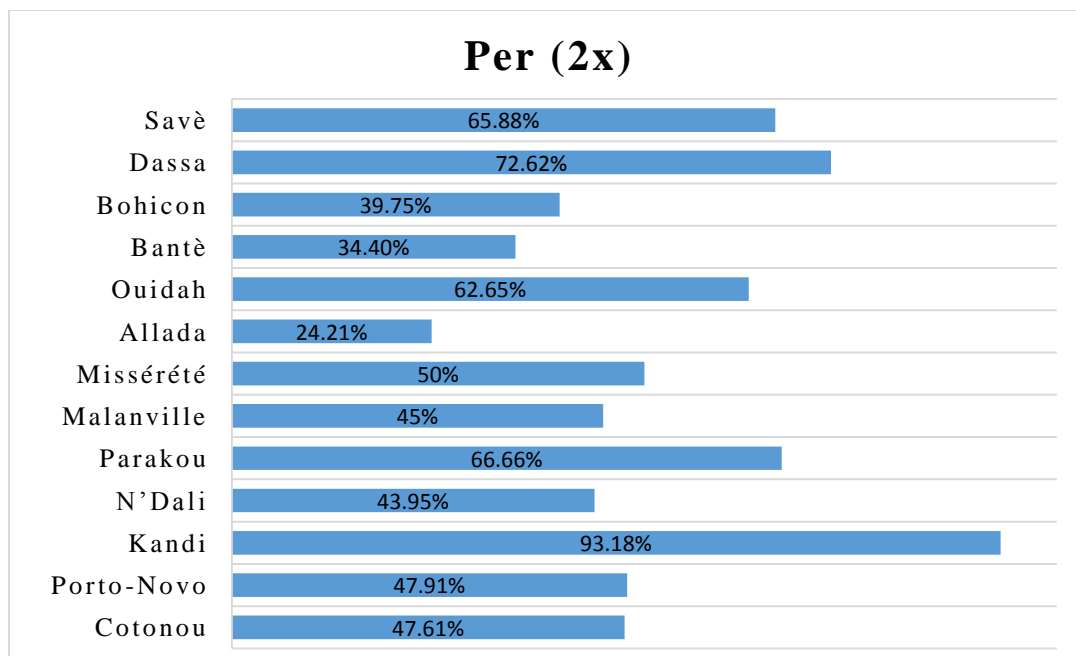


Figure 7: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 2x de Permétrine en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

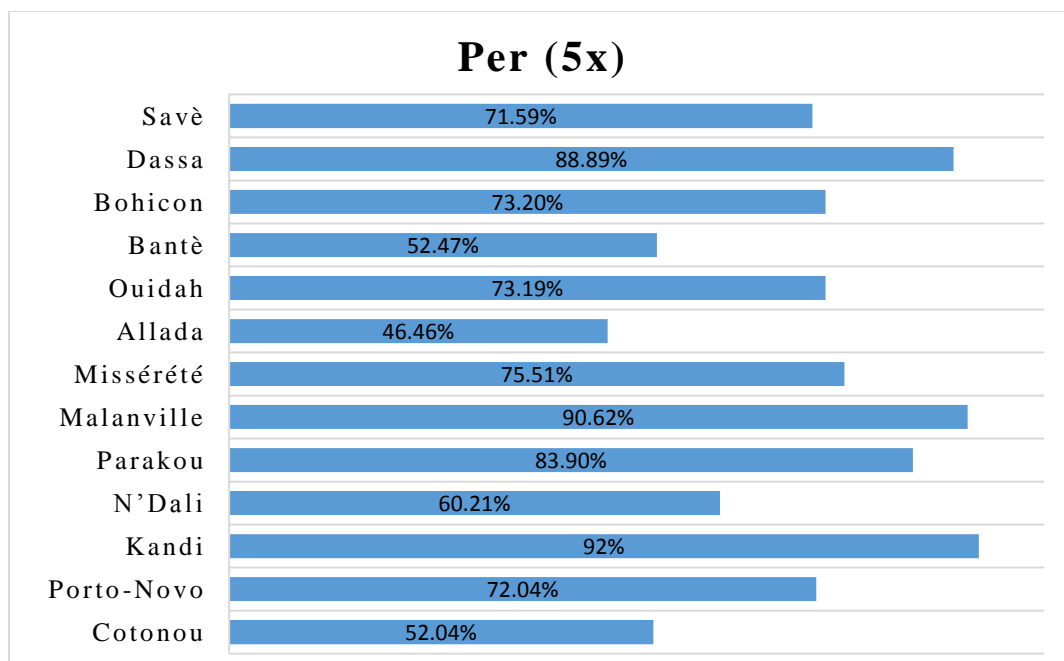


Figure 8: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 5x de Perméthrine en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

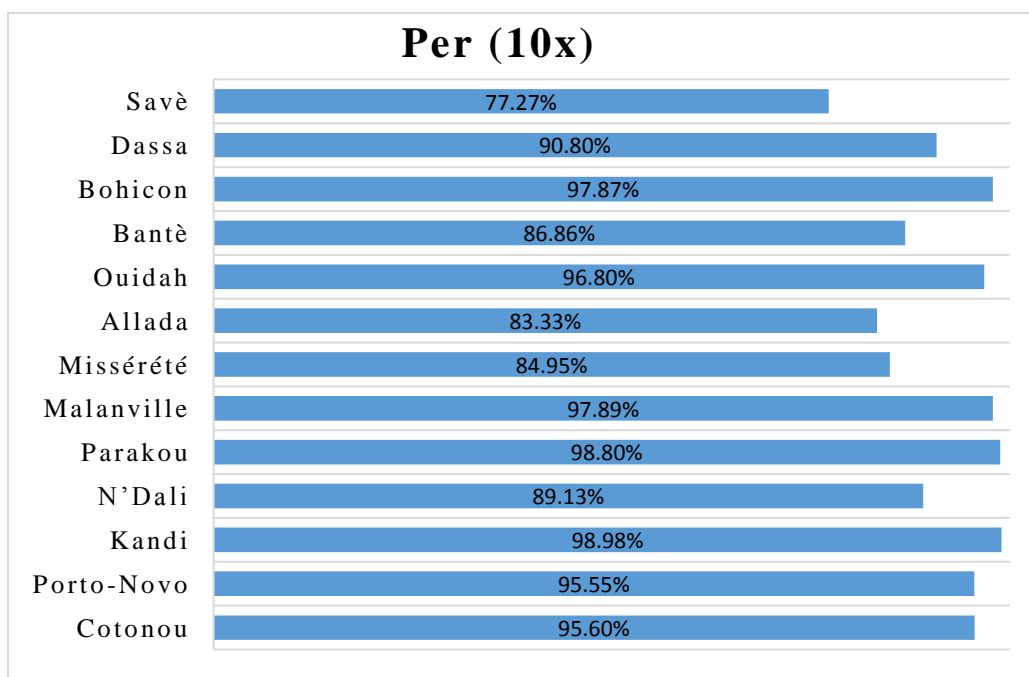


Figure 9: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 10x de Perméthrine en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

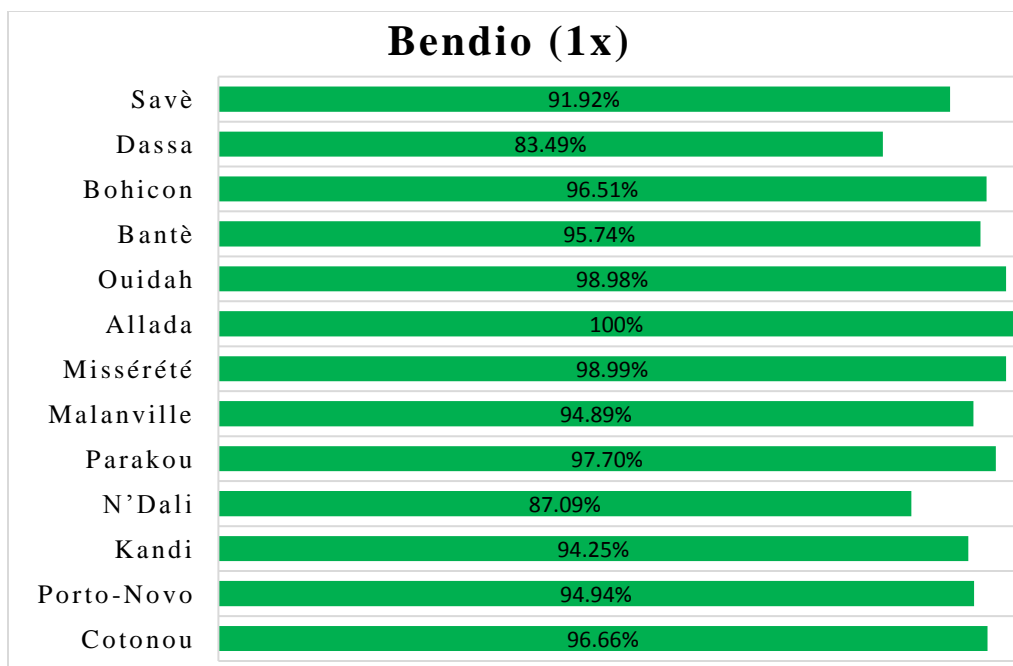


Figure 10: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 1x de Bendiocarb en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

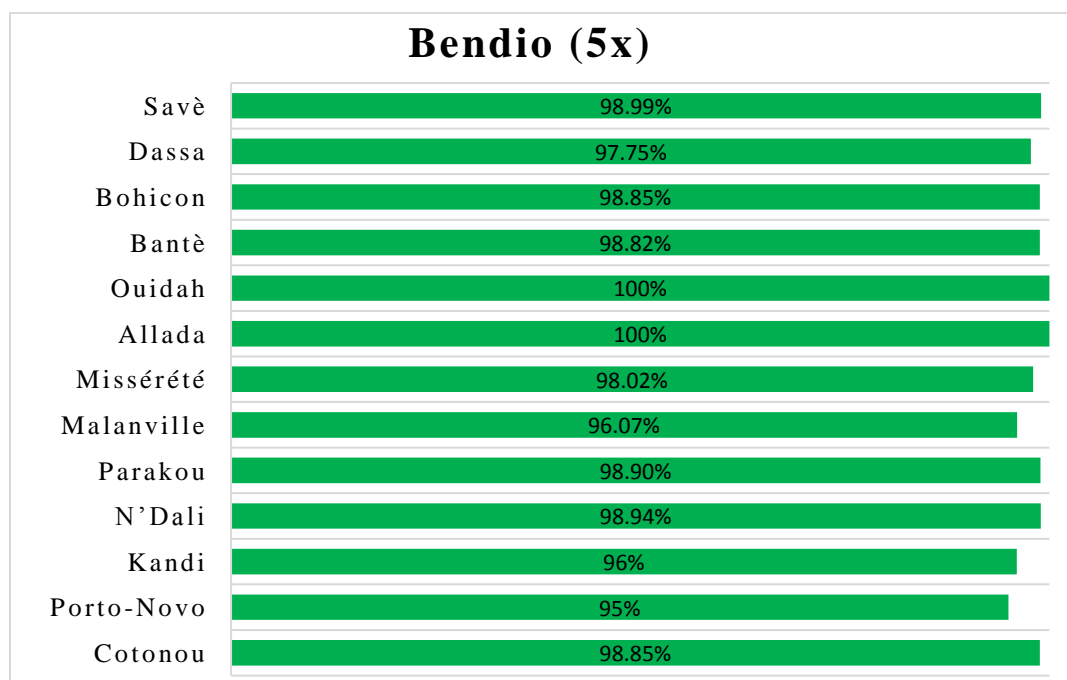


Figure 11: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 5x de Bendiocarb en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

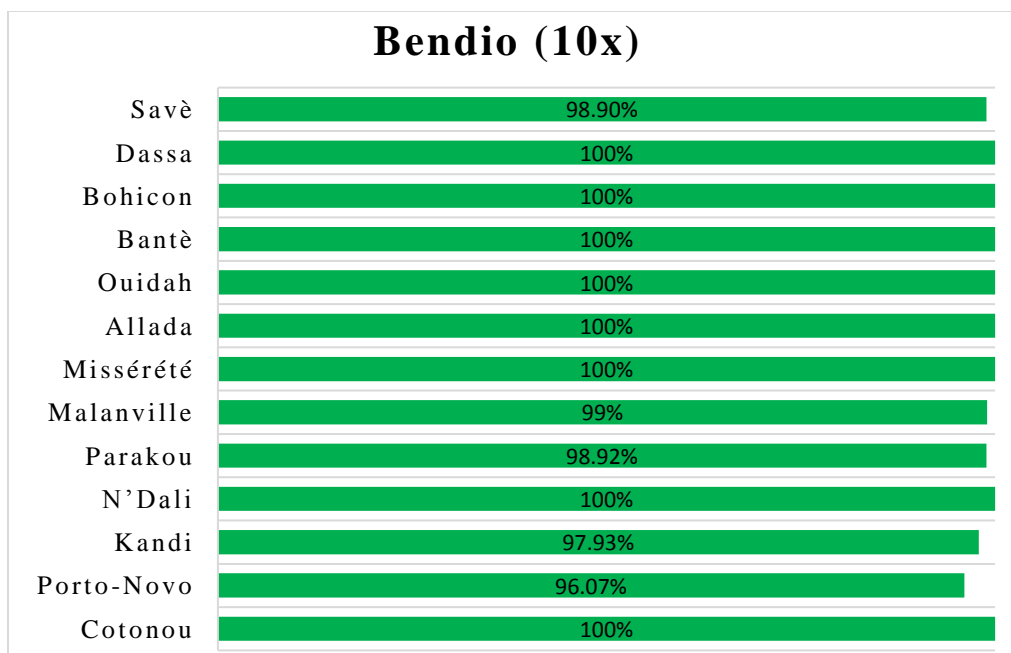


Figure 12: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 10x de Bendiocarb en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

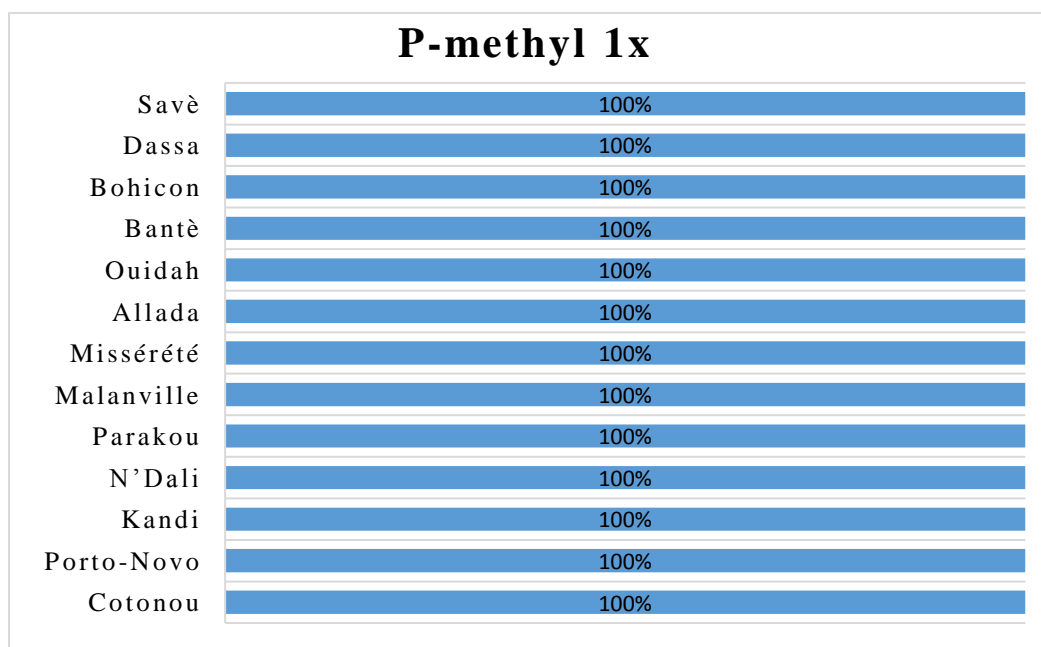


Figure 13: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 1x de Pirimiphos-méthyl en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des treize (13) communes.

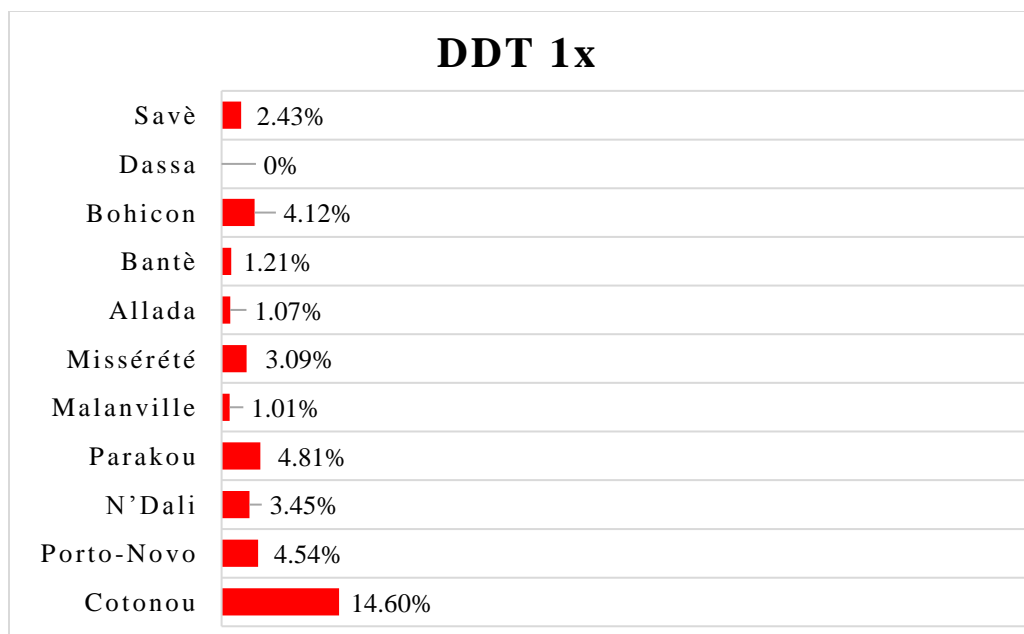


Figure 14: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose 1x de DDT en utilisant le test en tubes OMS sur la population vectrice des dix (10) communes.

3. Sensibilité de *An. gambiae* s.l aux doses croissantes selon la méthode du test en bouteilles CDC dans les différentes zones écologiques

Avec les tests en bouteilles CDC, le constat est presque le même avec une résistance généralisée aux pyréthrinoïdes (deltaméthrine et perméthrine) et une suspicion ou sensibilité au bendiocarb. Le passage de la dose diagnostique à une dose supérieure (2X, 5X et 10X) fait proportionnellement augmenter le taux de mortalité dans toutes les localités mais la totalité des moustiques exposés ne meurent pas. Ce contact a été fait, parfois même à une dose 10 fois supérieure à la dose diagnostique (**Tableau III, Figure 15 à 25**).

Tableau III: Statut de résistance de *An. gambiae* s.l aux doses croissantes selon la méthode du test en bouteilles CDC

Insecticides			Delta (1X)	Delta (2X)	Delta (5X)	Delta (10X)	Per (1X)	Per (2X)	Per (5X)	Per (10X)	Bendio (1X)	Bendio (5X)	Bendio (10X)
Zone urbaine et maraîchère	Cotonou	% Mortalité	88.88%	96.73%	100%	100%	83.95%	85.86%	100%	100%	97.64%	100%	100%
	Porto-Novo	% Mortalité	92.68%	98.83%	100%	100%	37.97%	77.27%	67.12%	94.66%	98.80%	100%	100%
Zone cotonnière	Kandi	% Mortalité	88.31%	96.47%	97.40%	98.78%	81.08%	95.78%	100%	100%	98.83%	100%	100%
	N'Dali	% Mortalité	73.41%	82.50%	92.30%	97.56%	64.19%	79.01%	92.30%	98.75%	88.46%	95.34%	97.43%
	Parakou	% Mortalité	94.38%	100%	100%	100%	43.33%	71.66%	100%	100%	100%	100%	100%
Zone rizicole	Malanville	% Mortalité	86.15%	96.05%	100%	100%	87.67%	91.86%	98.75%	100%	98.50%	100%	100%
Zone céréalière	Missérété	% Mortalité	90.58%	93.82%	91.66%	95.29%	44.30%	68.42%	91.66%	92.04%	95.40%	98.88%	100%
	Allada	% Mortalité	75.67%	88.73%	94.44%	98.70%	44.13%	76.81%	94.73%	97.53%	98.63%	100%	98.61%
	Ouidah	% Mortalité	60%	73.75%	91.13%	95%	48.75%	70%	77.50%	95.29%	88.46%	95.12%	96.47%
	Bantè	% Mortalité	61.72%	78.48%	90.24%	97.61%	68.96%	71.25%	90%	98.80%	90.69%	97.61%	98.83%
Zone forestière	Bohicon	% Mortalité	85.72%	92.19%	95.59%	98.42%	61.37%	94.45%	97.68%	100%	98.99%	98.94%	98.99%
Zone des collines	Dassa	% Mortalité	33.33%	75%	82.92%	96.20%	22.35%	74.69%	98.80%	100%	96.29%	100%	100%
	Savè	% Mortalité	32.43%	73.97%	89.61%	94.66%	19.51%	64.10%	86.41%	98.76%	96.10%	100%	100%

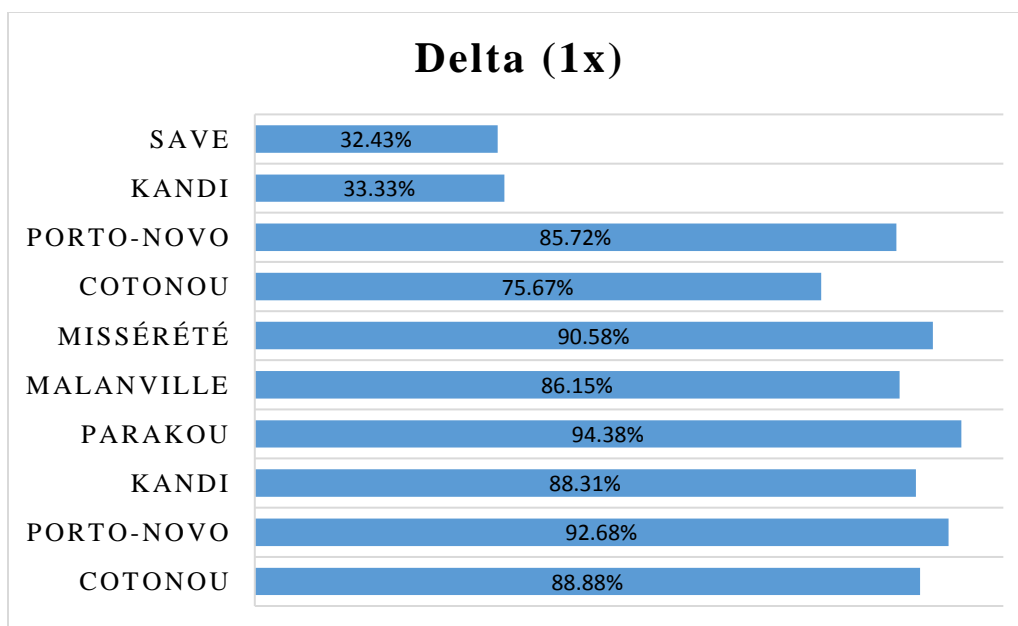


Figure 15: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 1x de Deltaméthrine en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

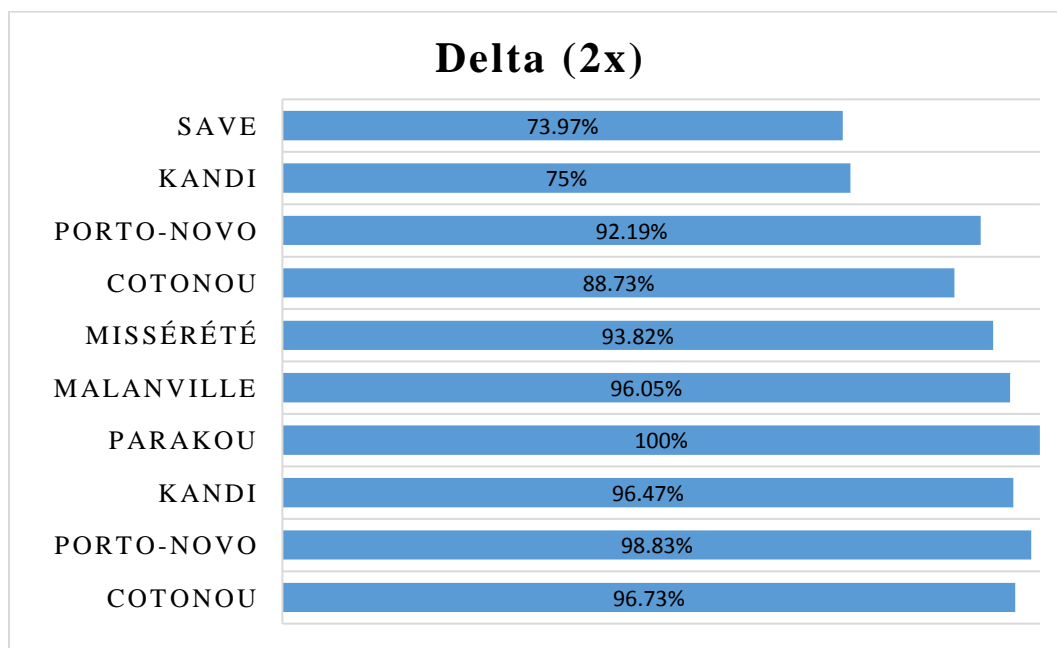


Figure 16: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 2x de Deltaméthrine en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

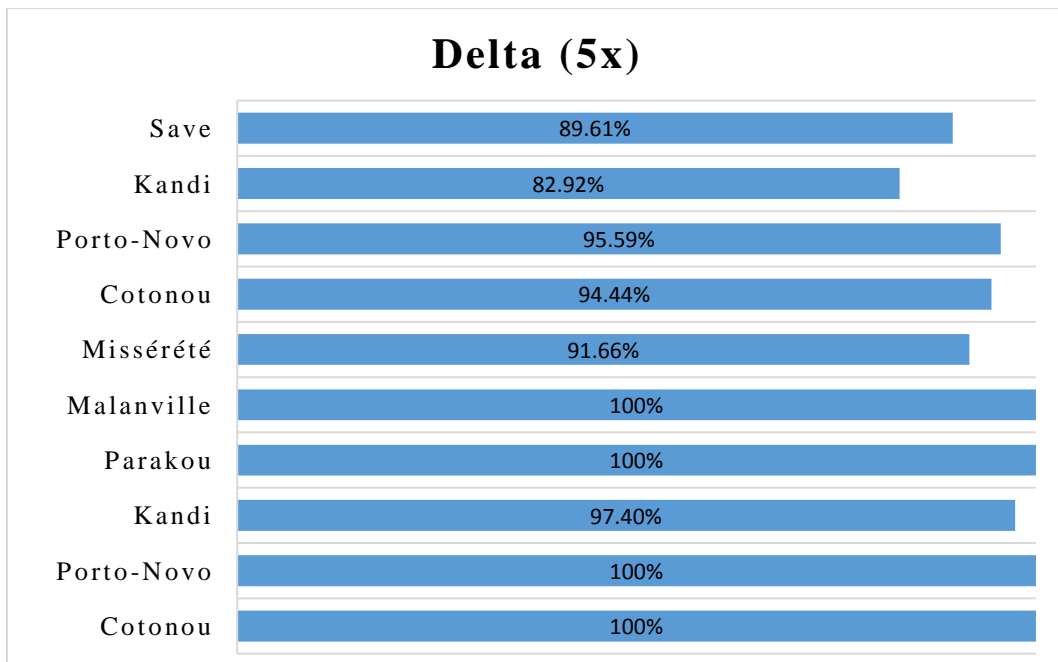


Figure 17: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 5x de Deltaméthrine en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

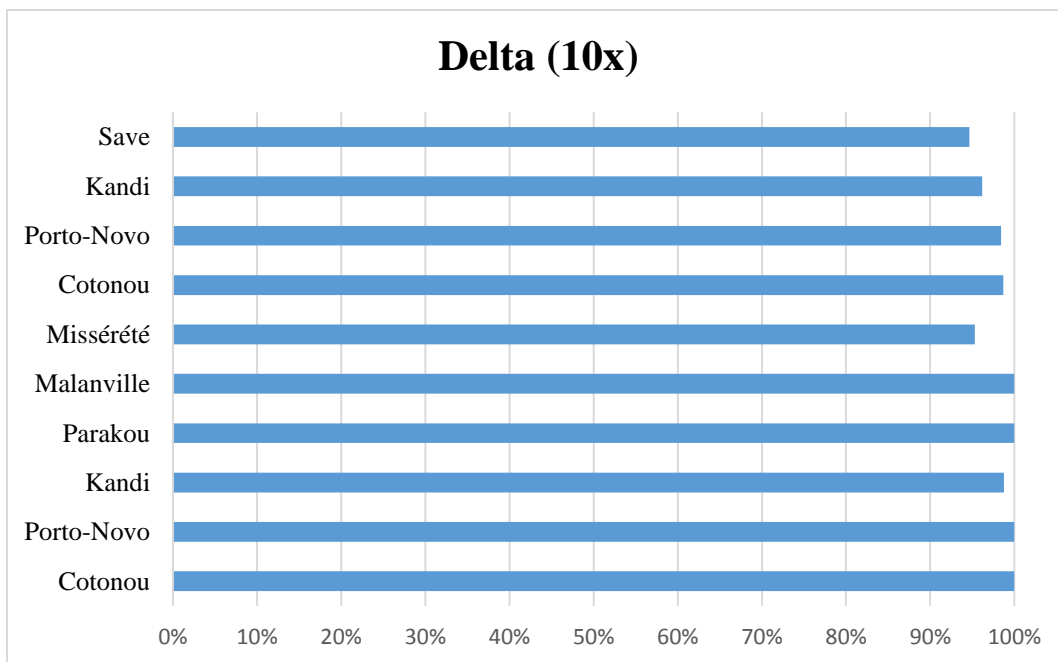


Figure 18: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 10x de Deltaméthrine en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

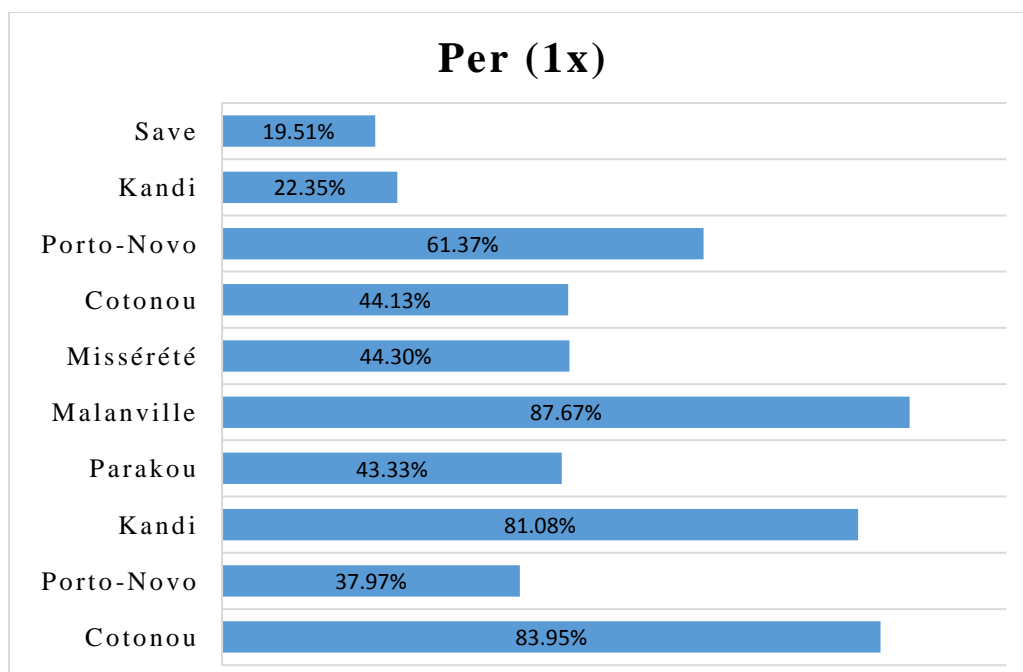


Figure 19: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 1x de Perméthrine en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

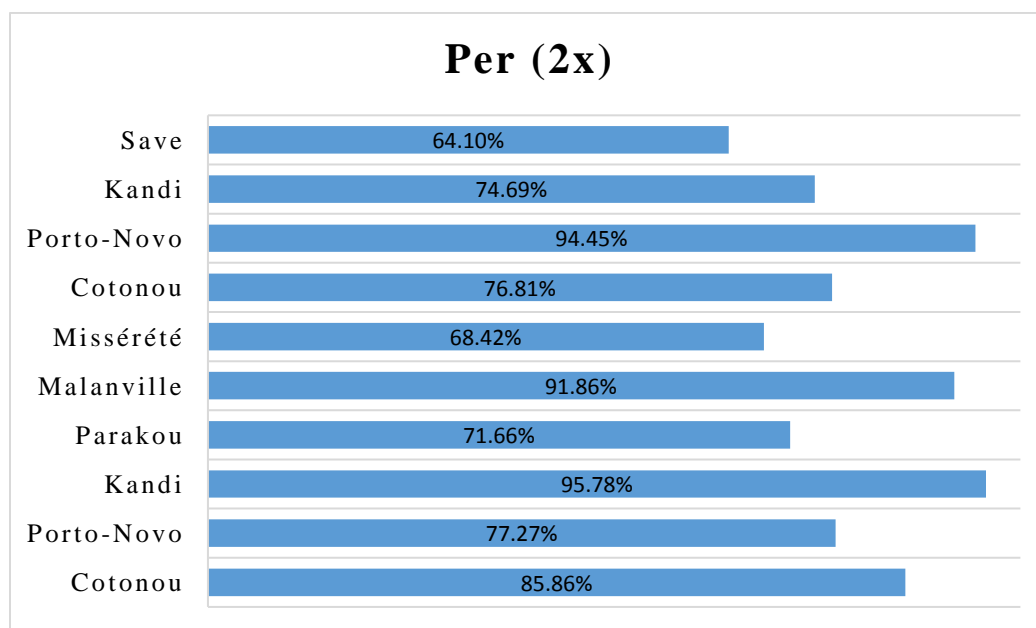


Figure 20: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 2x de Perméthrine en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

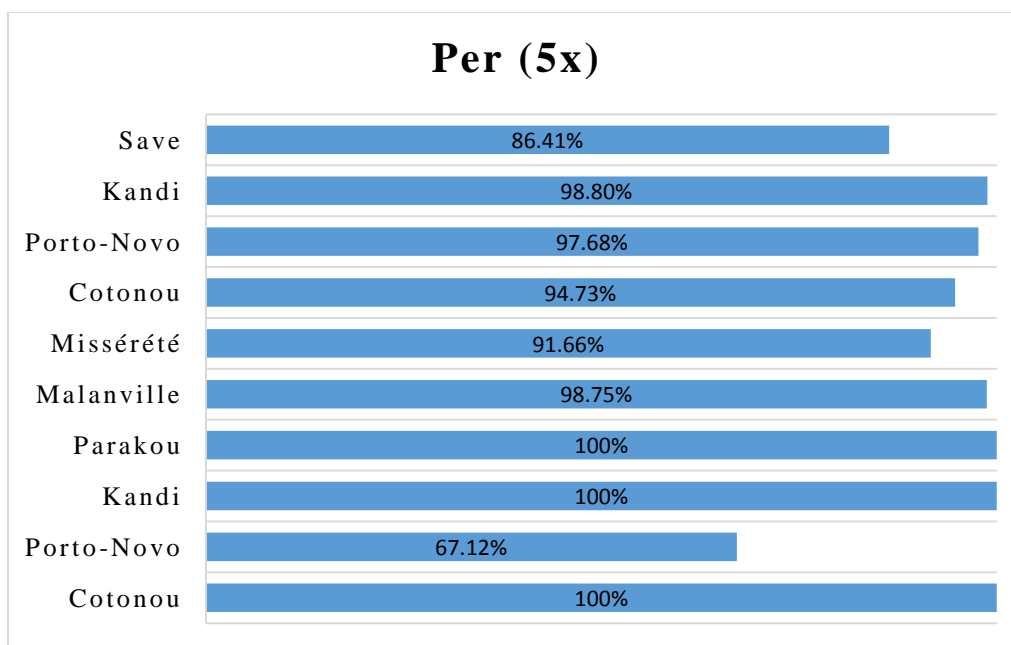


Figure 21: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 5x de Perméthrine en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

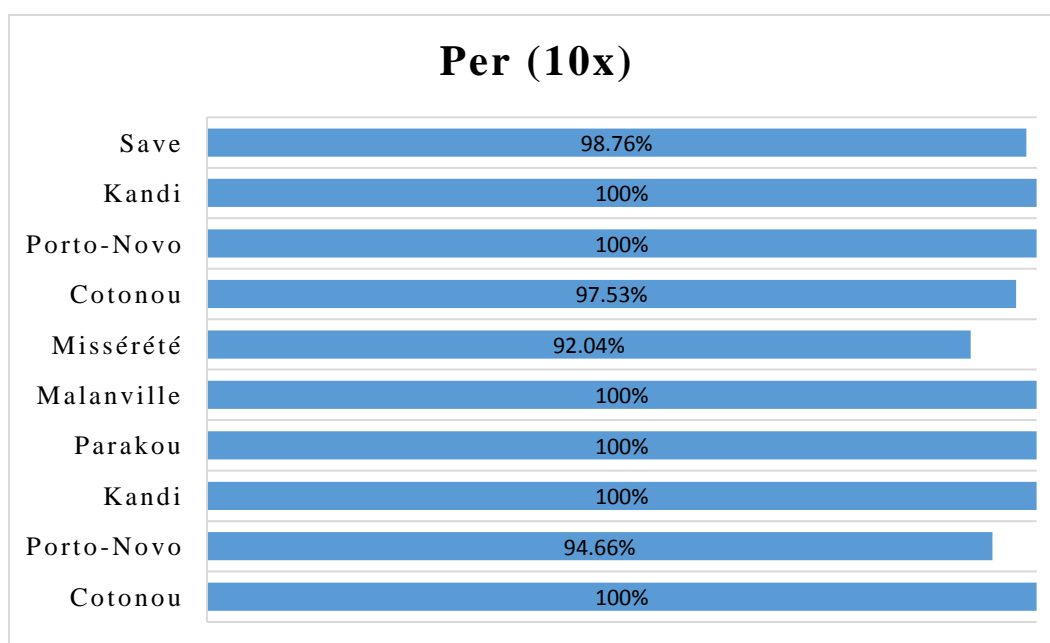


Figure 22: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 10x de Perméthrine en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

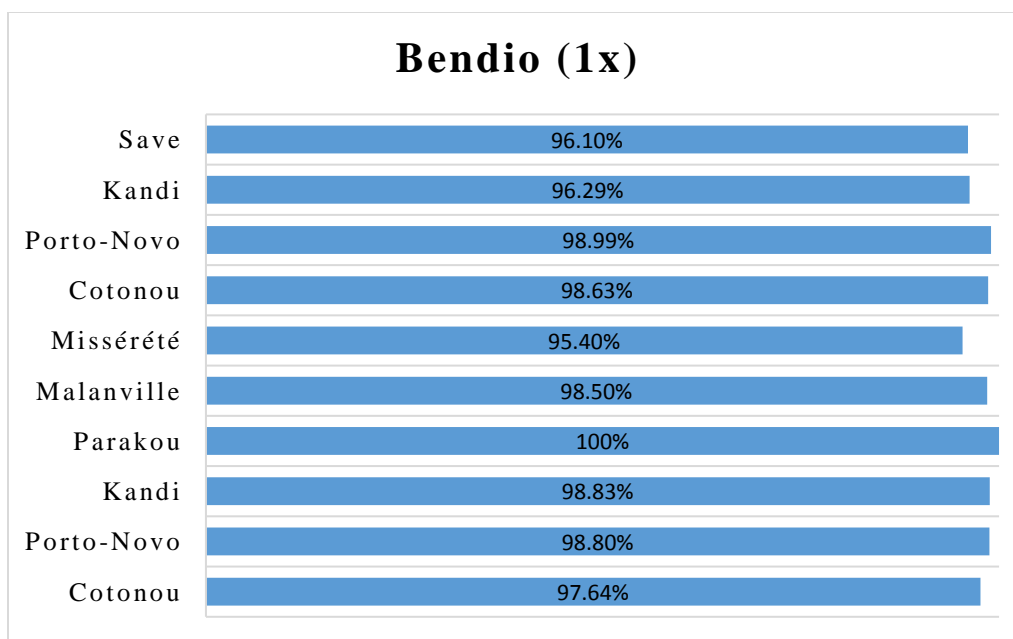


Figure 23: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 1x de Bendiocarb en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

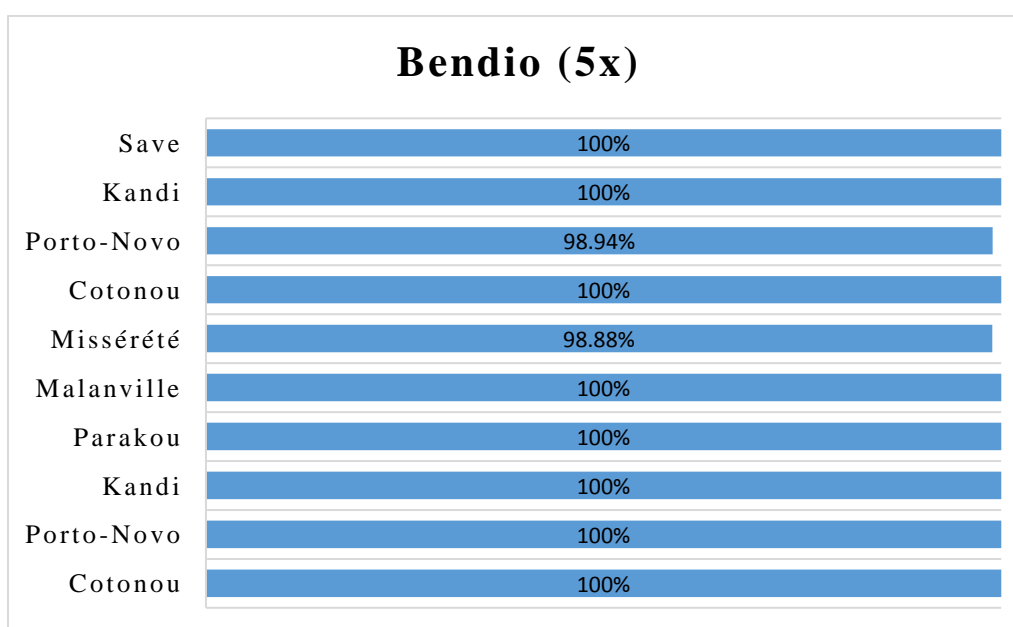


Figure 24: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 5x de Bendiocarb en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

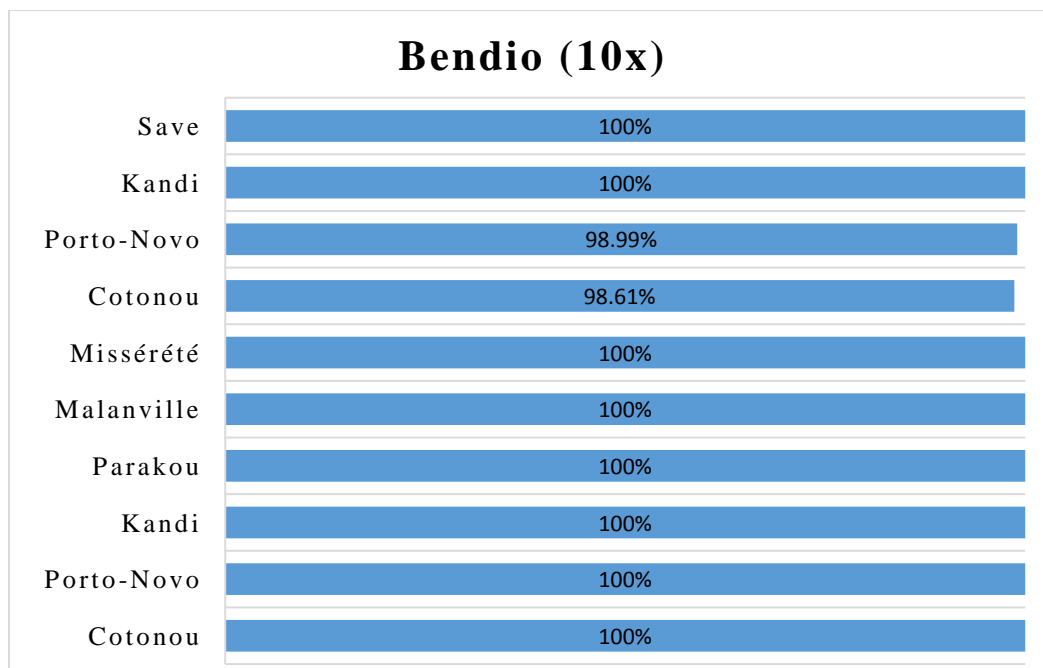


Figure 25: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae s.l* à la dose 10x de Bendiocarb en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population vectrice des treize (13) communes.

4. Effet du synergiste PBO associé aux pyréthrinoïdes sur les populations de *An. gambiae* s.l selon les méthodes des tests OMS et CDC

Pour les méthodes des tests en tubes OMS et tests en bouteille CDC, l'ajout du synergiste PBO aux pyréthrinoïdes entraine une nette augmentation du taux de mortalité de *An. gambiae* s.l dans toutes les localités où l'étude s'est déroulée. Cette augmentation du taux de mortalité grâce à l'ajout du PBO réduit la résistance mais n'abolit pas totalement la résistance (**Tableau IV et Figure 26 et 27**).

Tableau IV: Statut de résistance de *An. gambiae* s.l a la doses diagnostiques de Deltaméthrine et Permethrine associée au synergiste PBO

	Zone urbaine et maraîchère		Zone cotonnière			Zone rizicole	Zone céréalière				Zone forestière	Zone des collines	
	Cotonou	Porto- Novo	Kandi	Parakou	N'Dali	Malanville	Missérété	Cotonou	Bantè	Ouidah	Porto-Novo	Kandi	Parakou
Insecticides	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité	% Mortalité
Delta (1X)	16.47%	14.89%	15.73%	40%	35.95%	14.28%	30.43%	43.75%	22.91%	22.09%	11.70%	45.78%	21.75%
Delta (1X) + PBO	64.44%	87.87%	86.04%	83.33%	93.38%	62.36%	79.76%	98.87%	92.47%	86.66%	92.63%	98.78%	93.41%
Per (1X)	43.75%	14.11%	52.08%	47.61%	24.13%	16.12%	27.27%	17.70%	17.34%	17.04%	21.57%	51.72%	37.50%
Per (1X) + PBO	75%	50.49%	90.42%	78.88%	87.50%	78.02%	49.46%	52.74%	90.90%	90.58%	71.88%	94.51%	95.35%
Delta (1X)	88.88%	92.68%	88.31%	94.38%	73.41%	86.15%	90.58%	75.67%	61.72%	60%	85.72%	33.33%	32.43%
Delta (1X) + PBO	92.68%	94.68%			80.24%		95.45%	87.50%	92.59%		98.46		
Per (1X)	83.95%	37.97%	81.08%	43.33%	64.19%	87.67%	44.30%	44.13%	68.96%	48.75%	61.37%	22.35%	19.51%
Per (1X) + PBO	92.13%	45.70%			89.02%		86.75%	88.31	90.12%		51.47%		

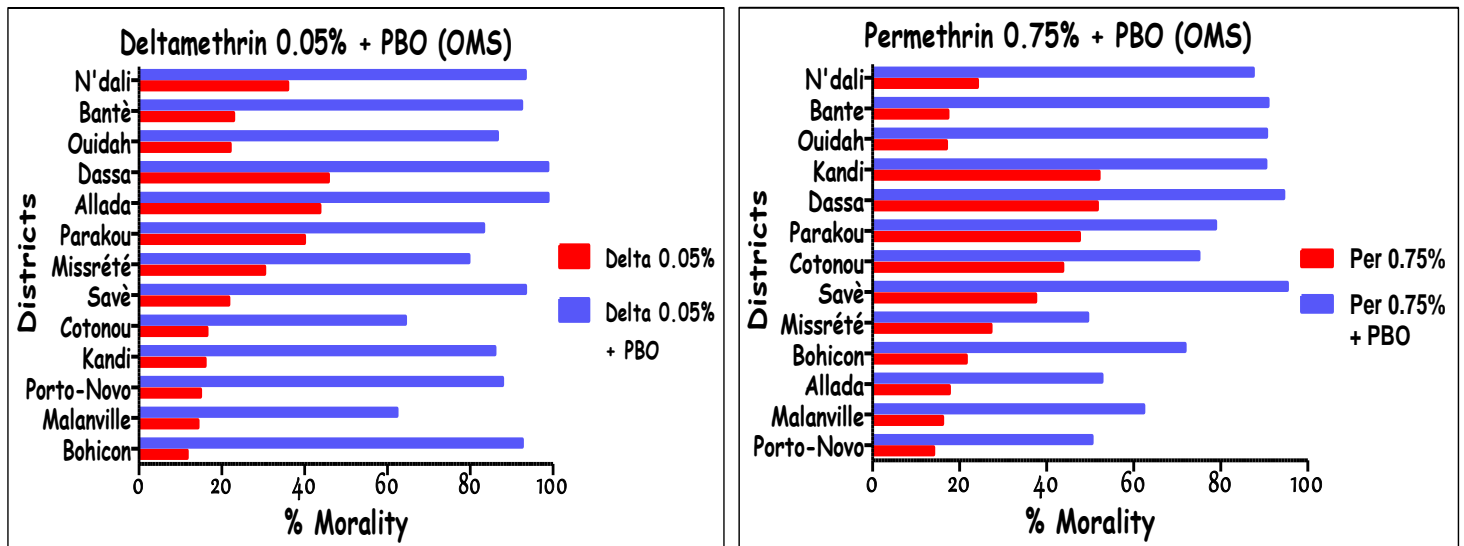


Figure 26: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose diagnostique de deltaméthrine et de perméthrine associée au PBO selon la méthode OMS dans treize (13) communes.

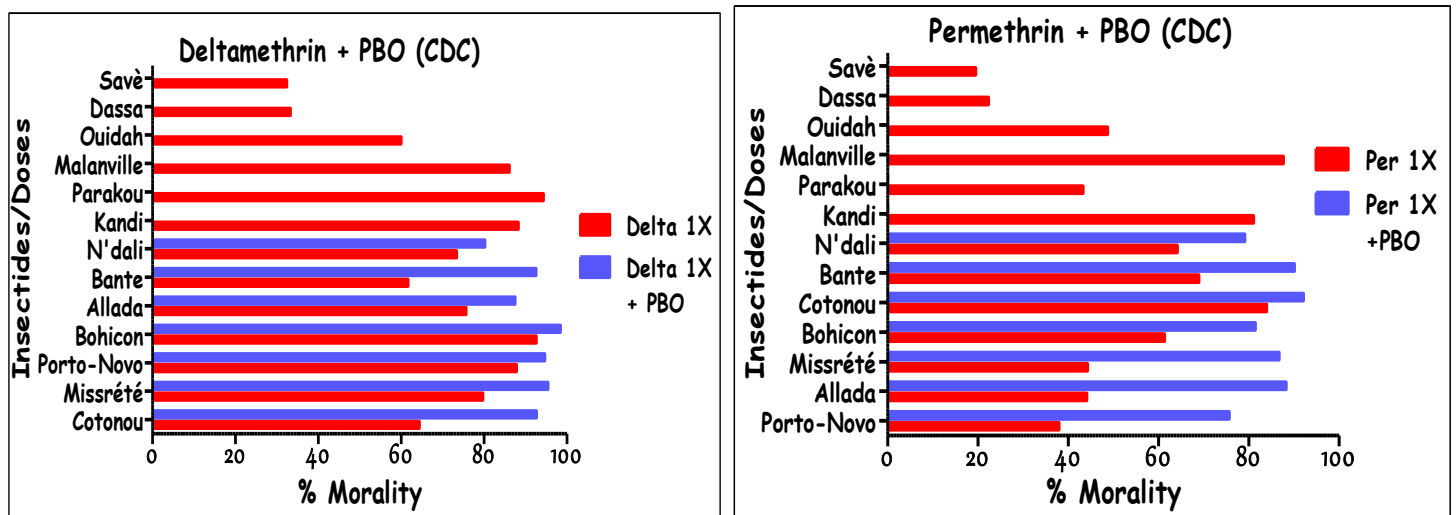


Figure 27: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à la dose diagnostique de deltaméthrine et de perméthrine associée au PBO selon la méthode CDC dans treize (13) communes.

8. Caractérisation des formes moléculaires et gènes de résistance (*Kdr* et *Ace-I*) dans les treize communes

La répartition de *An. gambiae* s.l montre la présence de trois principales espèces : *An. gambiae*, *An. Coluzzii* et *An. arabiensis* avec des proportions très élevée pour *An. gambiae* dans presque toutes les localités sauf à Malanville et Allada où la totalité des Anopheles analysés sont des Coluzzii. Quant à la répartition des gènes de résistance, la fréquence de l'allèle *L1014F* du gène *Kdr* est élevée dans toutes les localités. La plus faible fréquence du gène de résistance *Kdr* est observée à Malanville (0.636) et la plus forte à Cotonou (0.916). Contrairement au gène de résistance *Kdr*, la fréquence de l'allèle *G119S* du gène *Ace-IR*, elle est très faible dans toutes les localités prospectées (Tableau V, Figure 28 et 29).

Tableau V: Répartition de *An. gambiae*, *An. coluzzii* et *An. arabiensis* dans les communes de Cotonou, Porto-Novo, Bohicon, Allada, Missérété, Dassa, Save, Parakou, Kandi, Malanville, Bantè, Ouidah et N'Dali.

Locality	Molécularily form			Mutation <i>Kdr</i>				Mutation <i>Ace-1R</i>			
	<i>An. Arabiensis</i>	<i>An. Coluzzii</i>	<i>An. gambiae</i>	RR	RS	SS	F. <i>Kdr</i>	RR	RS	SS	F. <i>Ace-1</i>
Cotonou	00	02	278	240	33	07	0.916	00	16	264	0.028
Porto-Novo	00	79	21	67	27	06	0.805	00	01	99	0.005
Bohicon	00	56	44	74	18	08	0.830	00	04	96	0.020
Allada	00	100	00	66	20	14	0.760	00	02	98	0.010
Missérété	00	04	92	76	14	06	0.864	00	09	87	0.046
Dassa	00	01	81	66	5	11	0.835	00	03	79	0.018
Save	15	01	81	64	22	13	0.757	00	05	94	0.025
Parakou	03	03	94	64	28	08	0.780	00	5	95	0.020
Kandi	10	00	90	63	28	09	0.770	00	4	96	0.025
Malanville	00	285	00	127	109	49	0.636	00	19	266	0.033
Bantè	00	00	39	18	14	07	0.64	00	03	36	0.038
Ouidah	00	28	02	18	08	04	0.73	00	02	28	0.033
N'Dali	03	06	31	22	13	05	0.71	00	01	39	0.012

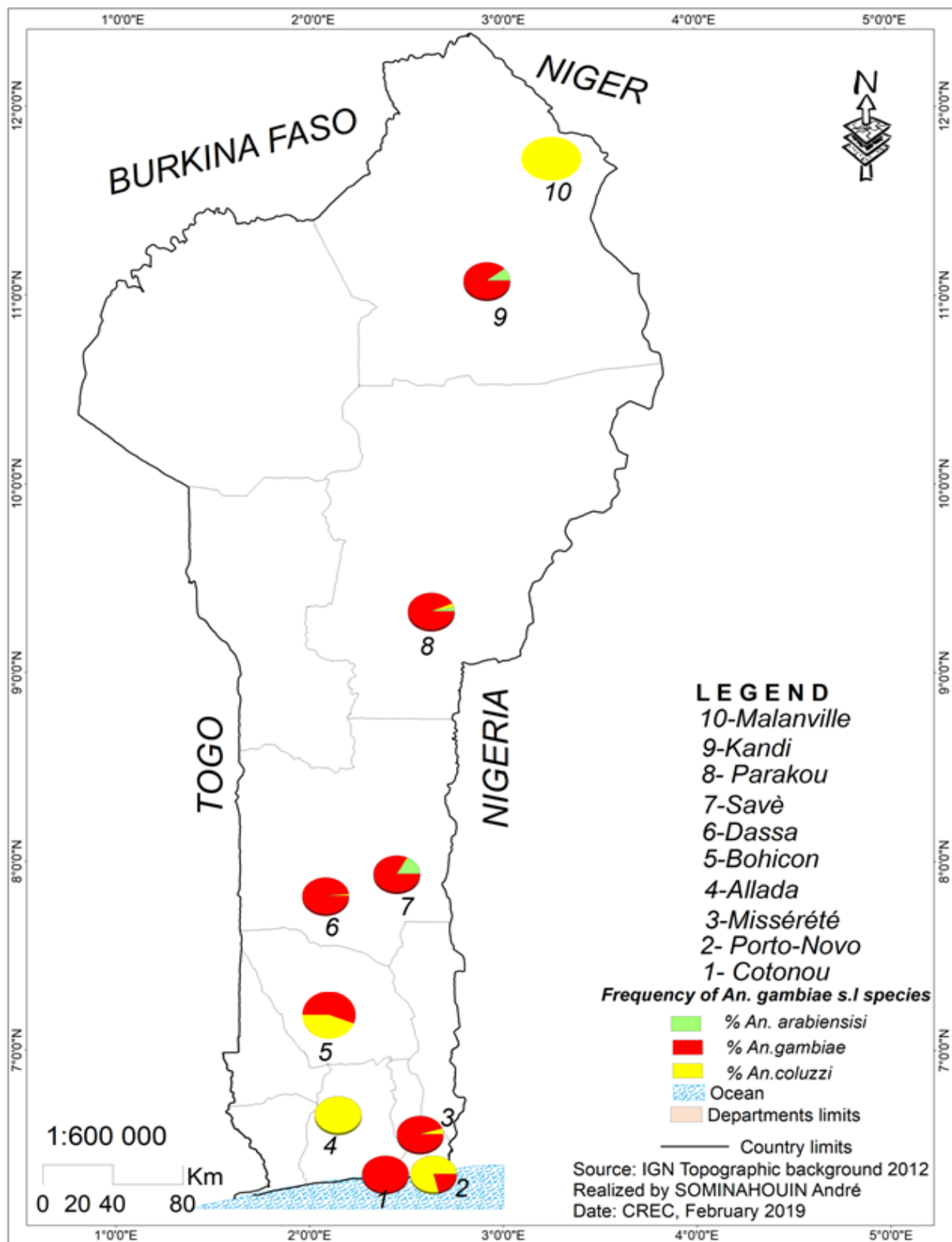


Figure 28: Carte montrant la répartition des différentes espèces de *An. gambiae* s.l dans 10 communes.

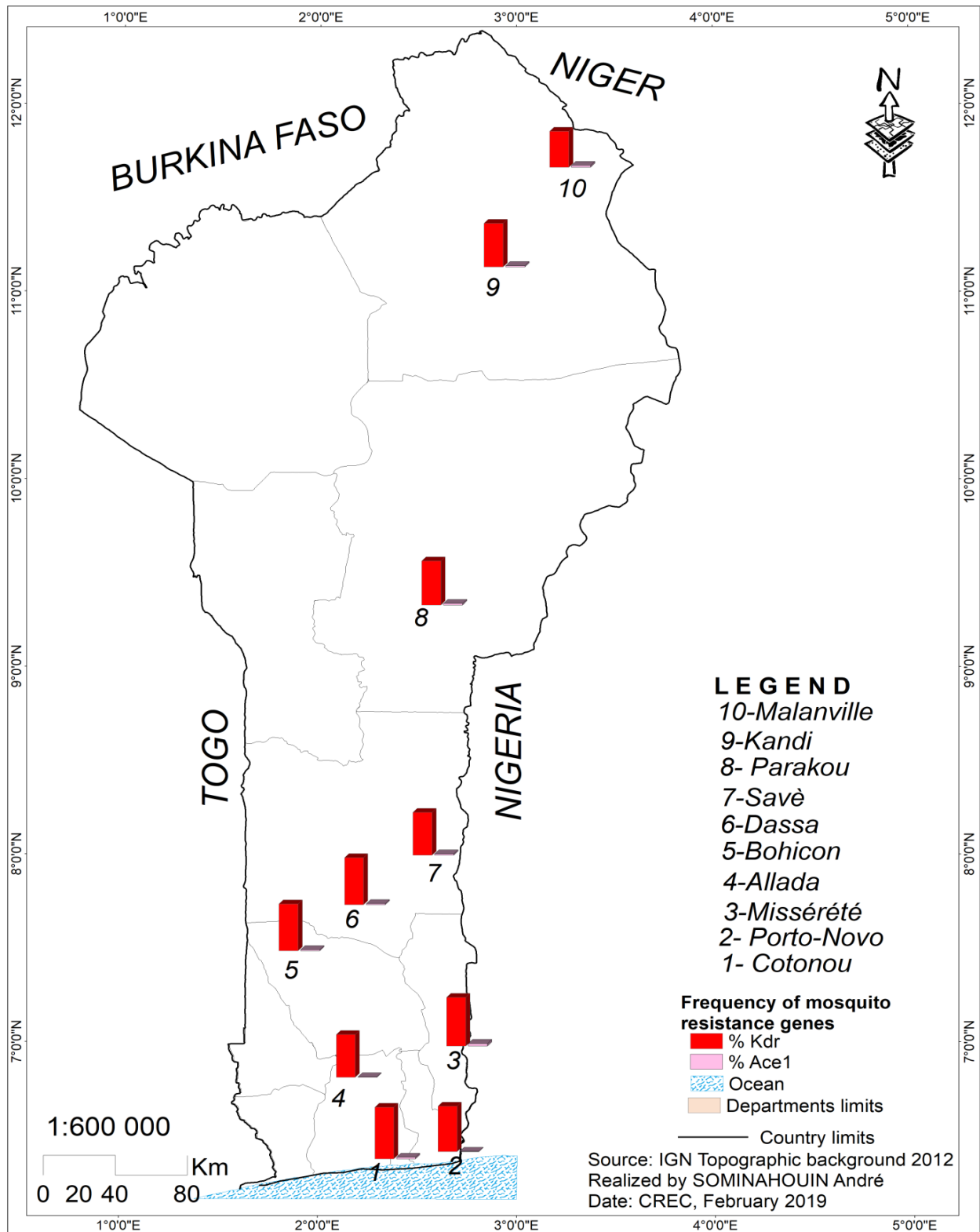


Figure 29: Carte montrant la proportion des Fréquences de l'allèle *L1014F* du gène *Kdr* et de l'allèle *G119S* du gène *Ace-1R* dans 10 communes.

9. Activités enzymatiques de *An. gambiae* s.l

L'analyse des activités enzymatiques de *An. gambiae* s.l au spectrophotomètre révèle une surexpression des oxydases dans certaines localités par rapport à la souche sensible de référence Kisumu. Les activités des estérases non spécifiques (α et β estérase) et des glutathion-S-transférases (GST) sont aussi très élevées par rapport à la souche sensible dans la plupart des localités de notre étude (**Tableau VI, Figures 30, 31 et 32**).

Tableau VI: Activités enzymatiques de *An. gambiae* s.l au sein des treize communes

Localités	Enzymes de Détoxification			
	Alpha Estérases	Beta Estérases	Oxydases a fonction Mixte	Glutathion-S-Transférase
Cotonou	(-)	(+++)	(-)	(+++)
Porto-Novo	(+++)	(+++)	(--)	(-)
Bohicon	(+++)	(+++)	(--)	(+++)
Allada	(-)	(-)	(-)	(+++)
Missérété	(+)	(-)	(+++)	(+++)
Dassa	(+)	(+++)	(++)	(++)
Savè	(-)	(+)	(+++)	(-)
Parakou	(+)	(+++)	(---)	(+)
Kandi	(++)	(+++)	(+++)	(+)
Malanville	(-)	(-)	(+++)	(--)
Bantè	(-)	(-)	(-)	(-)
Ouidah	(-)	(-)	(-)	(++)
N'Dali	(-)	(-)	(-)	(+++)

✓ **Activité des estérases non spécifiques (α et β estérases)**

Les activités des estérases non spécifiques (α et β estérases) sont plus élevées chez les populations : Kandi, Parakou, Porto-Novo, Dassa, Savè, Bohicon et Cotonou que chez la souche Kisumu ($p < 0.05$) (**Figure 21**).

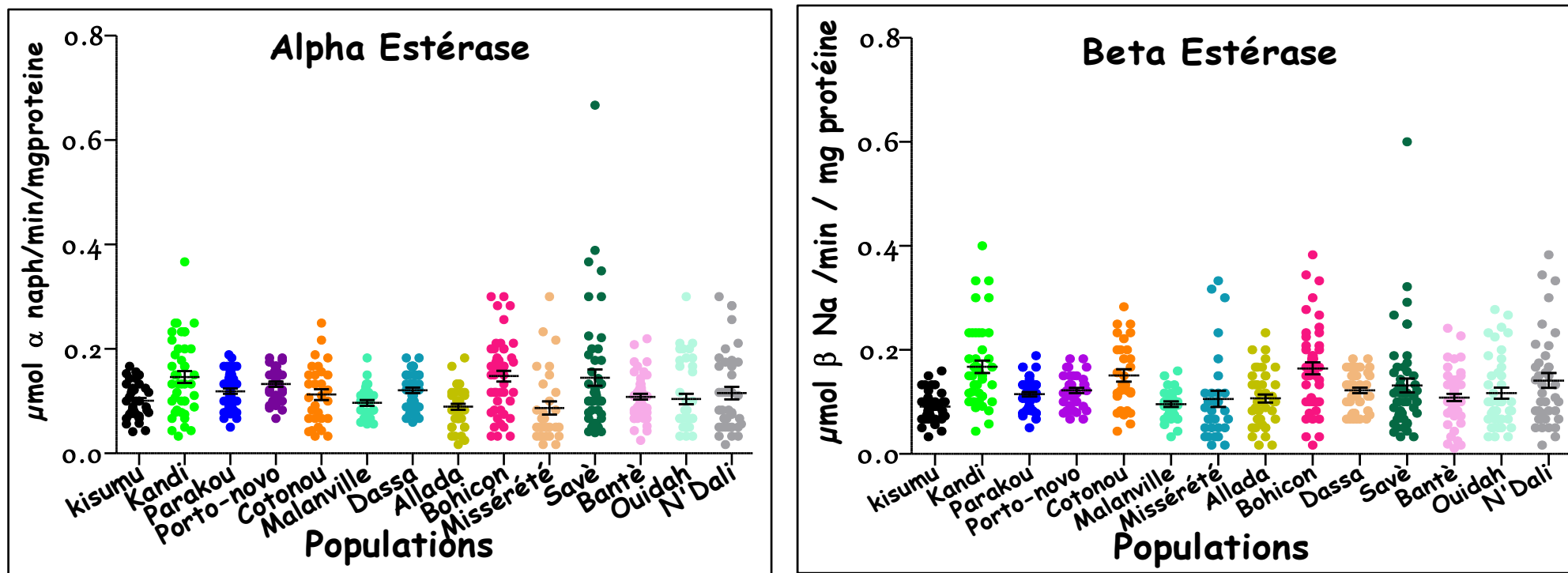


Figure 30: Activités des estérases non spécifiques (α et β estérases)

✓ Activité des oxydases

L'activité des oxydases à fonction mixte est plus élevée dans les populations de Kandi, Cotonou, Dassa et Savè que dans celles de Kisumu ($p < 0.05$) (Figure 22).

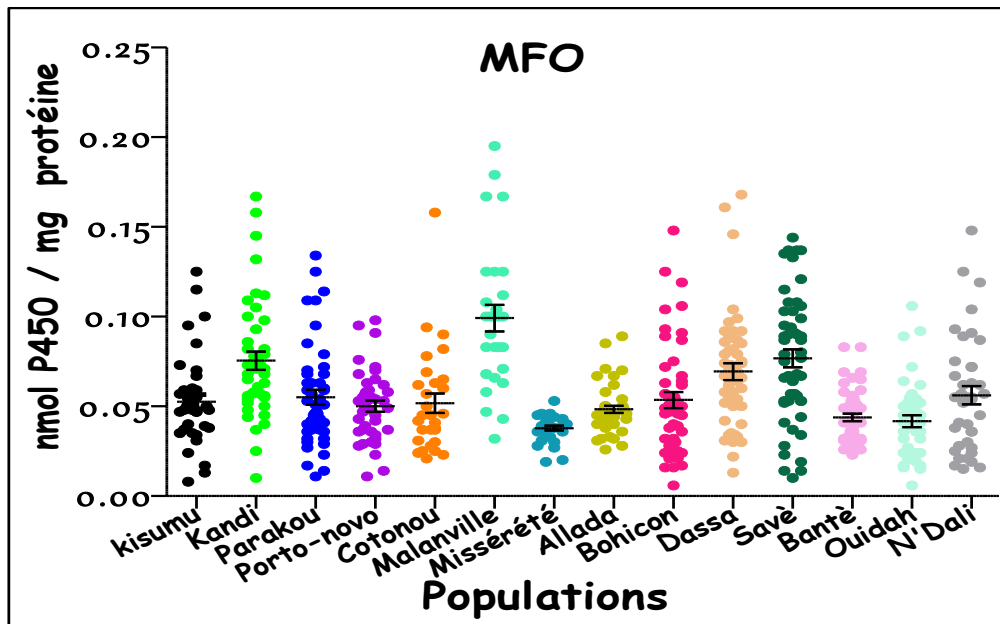


Figure 31: Activité des oxydases (MFO)

✓ Activité du glutathion S-transférase (GST)

La plus forte activité de glutathion S-transférase (GST) a été observée chez les populations de Kandi, Parakou, Allada, Bohicon, Missérété, Dassa et Cotonou par rapport à la souche Kisumu ($p < 0.05$) (Figure 23).

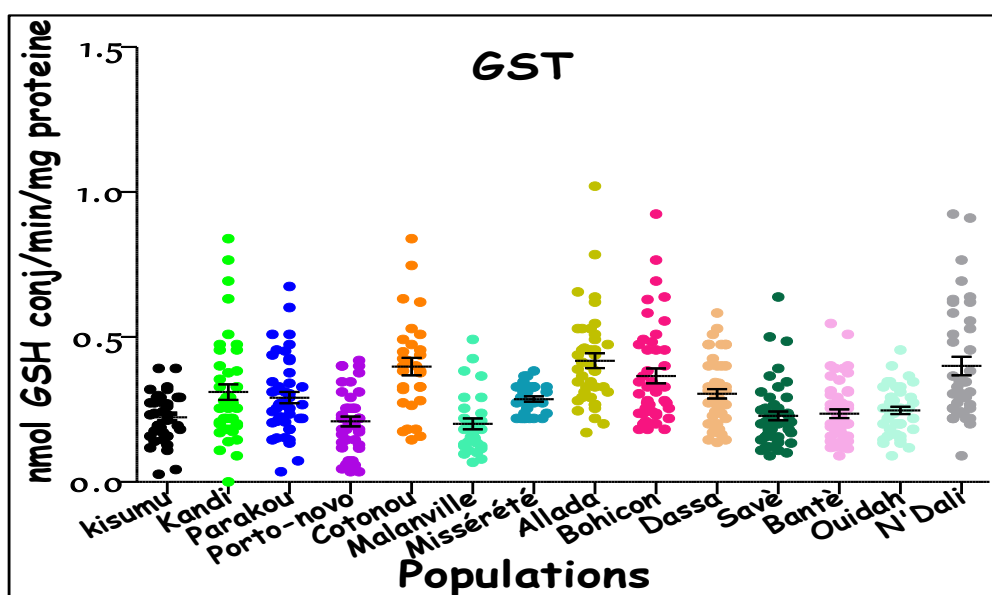


Figure 32: Activité du glutathion S-transférase (GST)

Conclusion

La sensibilité des moustiques aux insecticides suit la même tendance dans les différentes communes qui ont été prospectées (Missérété, Porto-Novo, Cotonou, Allada, Bohicon, Parakou, Kandi, Malanville, Savè, Dassa, N'Dali, Bantè et Ouidah). Les concentrations de perméthrine, de deltaméthrine et de bendiocarbe 2, 5 et même 10 fois plus élevées que la concentration diagnostique n'étaient pas toujours suffisantes pour tuer la totalité de *An. gambiae* s.l récoltés dans ces communes et exposés aux papiers imprégnés de l'OMS et aux bouteilles CDC. Ce constat est signe d'une forte résistance à ces insecticides provoquée par plusieurs mécanismes: L1014F *Kdr*, mutations G119S *Ace-1R*, surexpression des oxydases, des estérases et de la glutathion transférase. Ces résultats sont très utiles pour le PNLP dans les stratégies de lutte antivectorielle et la gestion de la résistance des vecteurs aux insecticides au Bénin et nous suggérons que ce travail continue dans les autres communes du pays afin de cartographiée l'intensité de la résistance au Bénin.

Difficultés :

- 1) L'étude nécessite une importante quantité de moustiques femelles âgés de 2 à 5 issus des larves récoltées dans la même zone pendant une même période.
- 2) Dans certaines zones choisies, la rareté des gîtes larvaires nous oblige à augmenter le nombre de jours prévus pour boucler les tests.
- 3) L'accessibilité de certains gîtes larvaires est très difficile surtout avec le véhicule

Annexes

✓ Allada

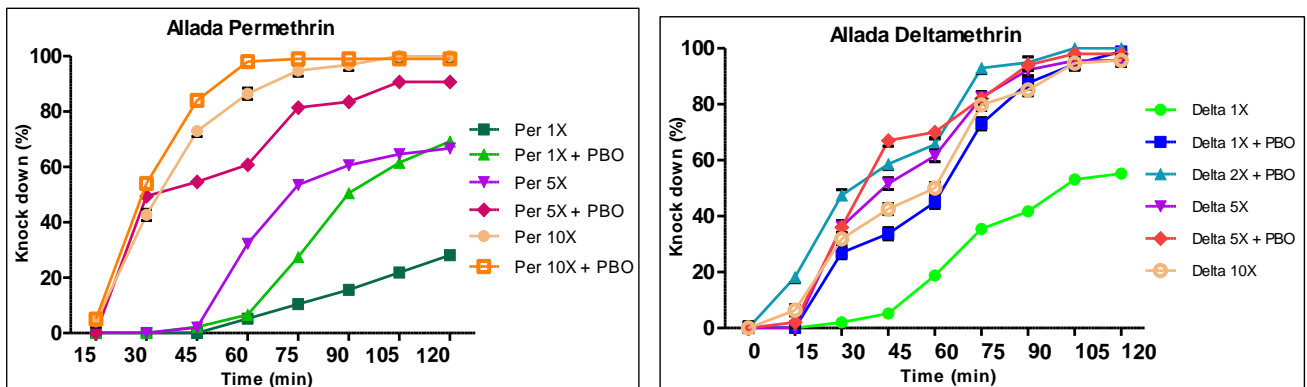


Figure 33: Pourcentage de *An. gambiae* s.l tombé sur le dos (knock-down) en fonction du temps pendant l'exposition aux multiples doses de Deltamethrin et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la populations de *Anopheles gambiae* s.l d'Allada

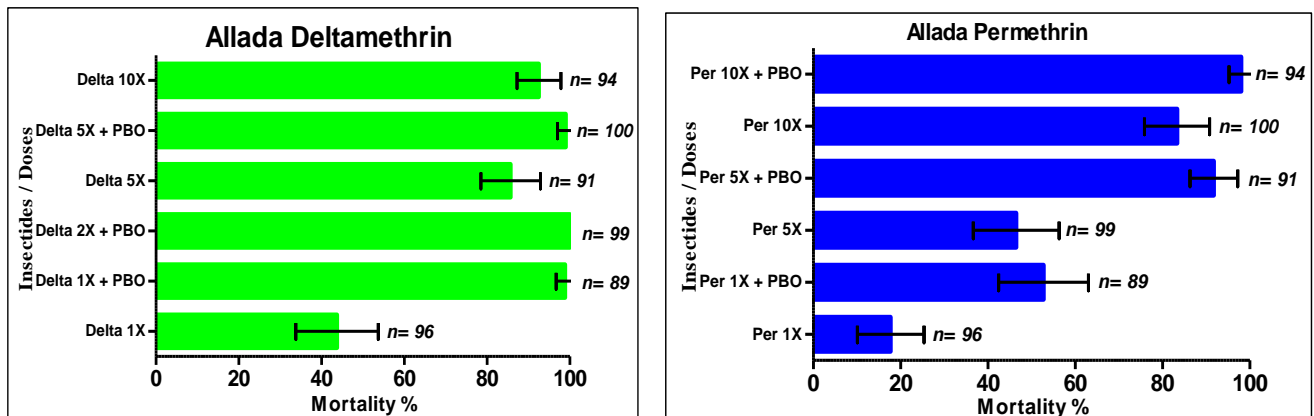


Figure 34: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à de multiples concentrations diagnostiques de deltaméthrine et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la population d'Allada

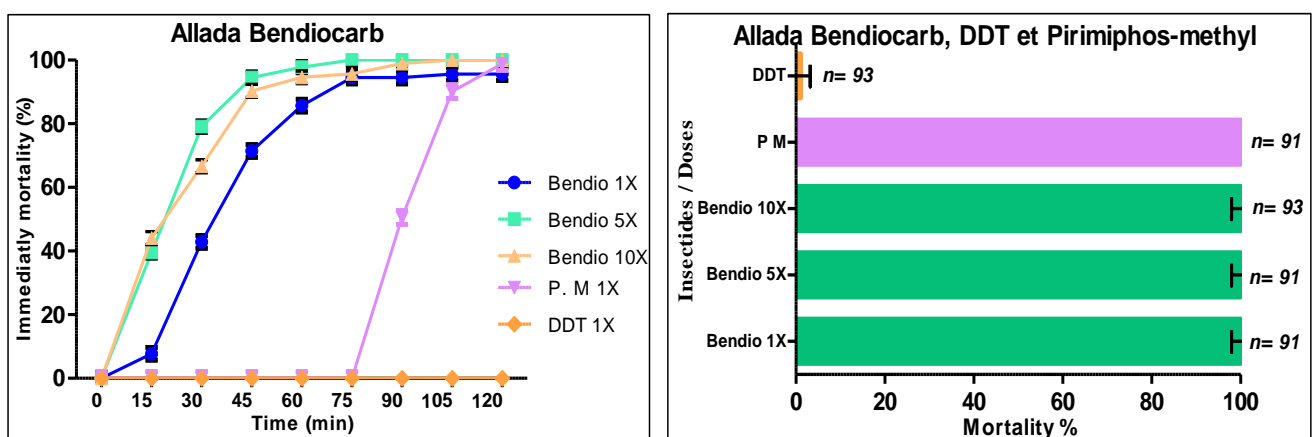


Figure 35: Taux de mortalité immédiat de *An. gambiae* s.l en fonction du temps passé après leur exposition à de multiples doses de Bendiocarbe, Pirimiphos-méthyle et DDT et le taux de mortalité après 24 h en utilisant le test en tubes OMS sur la population d'Allada

✓ Adjohoun

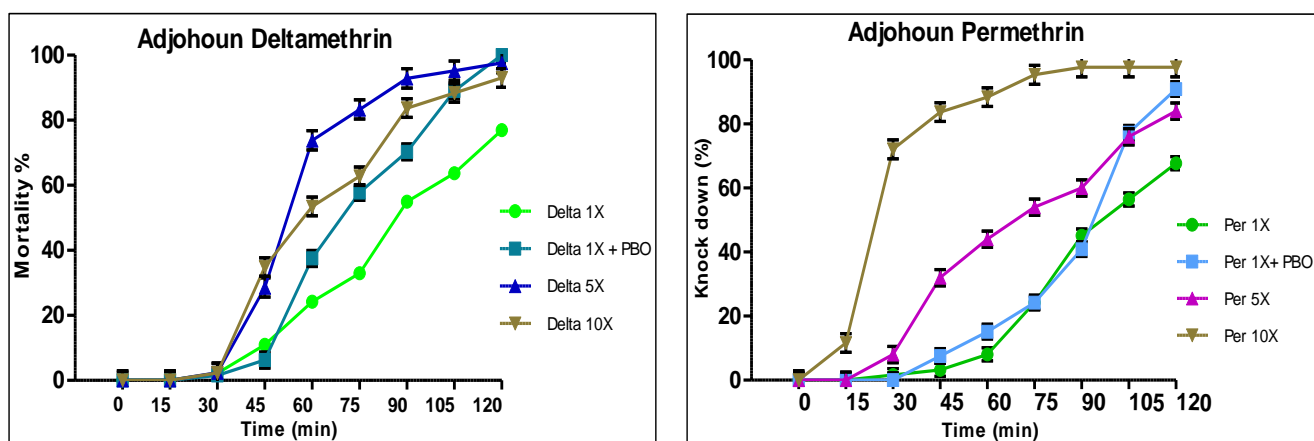


Figure 36: Pourcentage de *An. gambiae* s.l tombé sur le dos (knock-down) en fonction du temps pendant l'exposition aux multiples doses de Deltamethrin et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la populations de *Anopheles gambiae* s.l d'Adjohoun

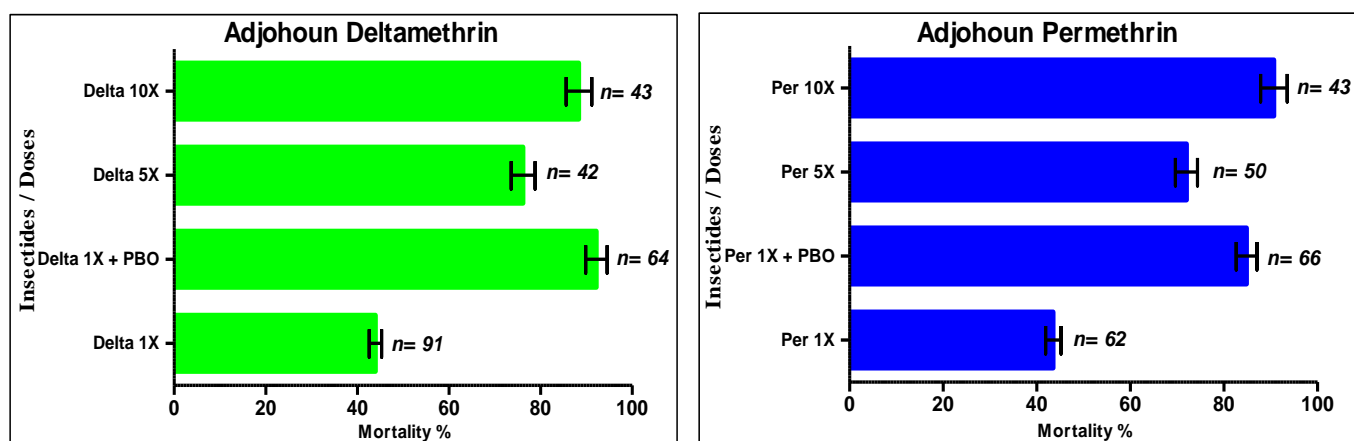


Figure 37: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à de multiples concentrations diagnostiques de deltaméthrine et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la population d'Adjohoun

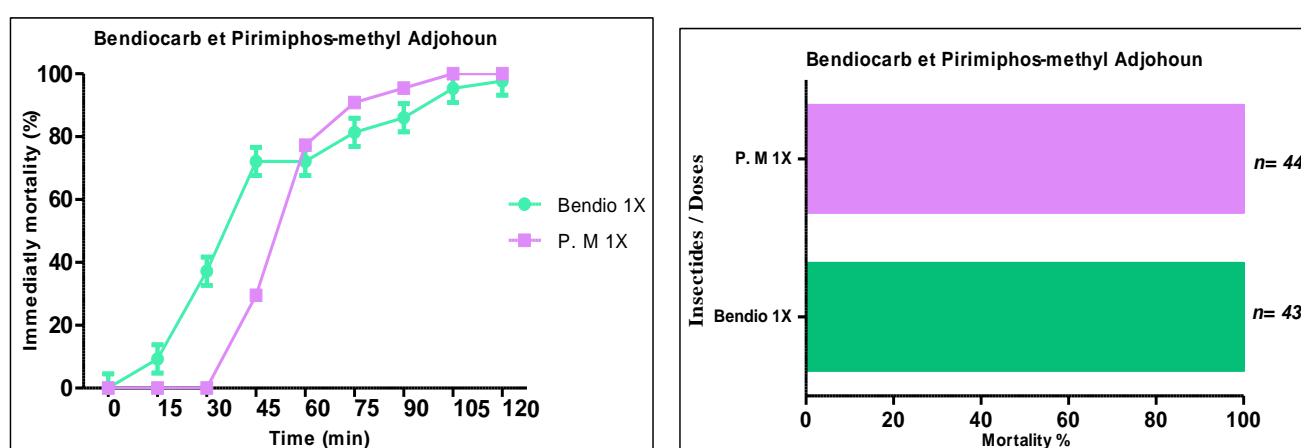


Figure 38: Taux de mortalité immédiat de *An. gambiae* s.l en fonction du temps passé après leur exposition à la dose diagnostique du Bendiocarbe et du Pirimiphos-méthyle et le taux de mortalité après 24 h en utilisant le test en tubes OMS sur la population d'Adjohoun

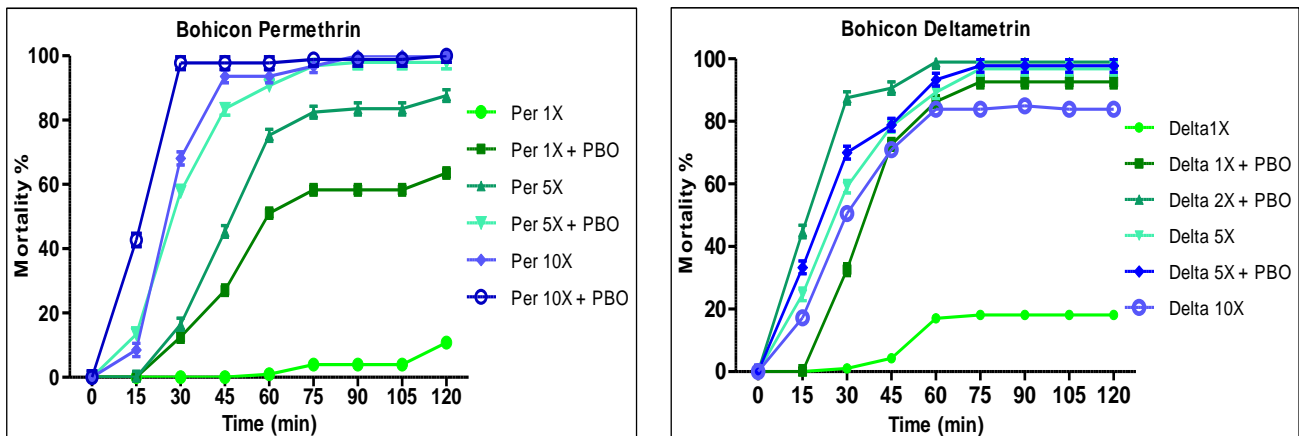


Figure 39: Pourcentage de *An. gambiae* s.l tombé sur le dos (knock-down) en fonction du temps pendant l'exposition aux multiples doses de Deltamethrin et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la populations de *Anopheles gambiae* s.l de Bohicon

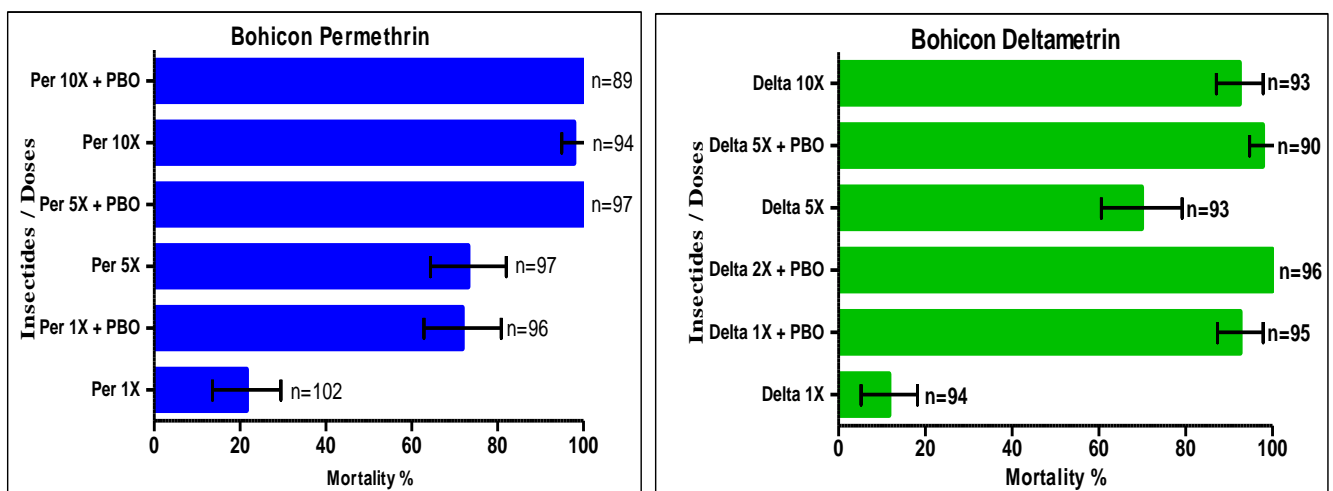


Figure 40: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à de multiples concentrations diagnostiques de deltaméthrine et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la population de Bohicon

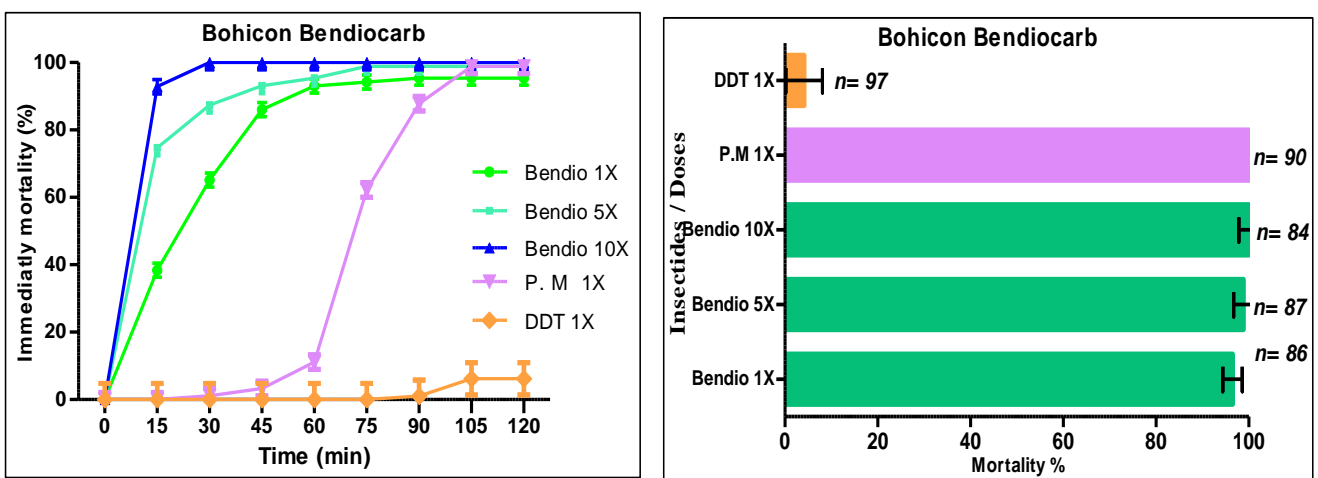


Figure 41: Taux de mortalité immédiat de *An. gambiae* s.l en fonction du temps passé après leur exposition à de multiples doses de Bendiocarbe, Pirimiphos-méthyle et DDT et le taux de mortalité après 24 h en utilisant le test en tubes OMS sur la population de Bohicon

✓ **Malanville**

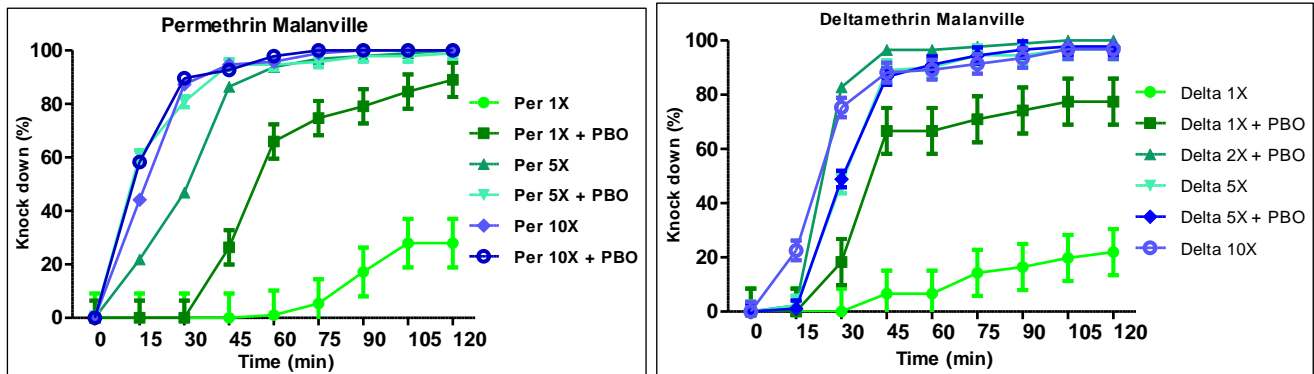


Figure 42: Pourcentage de *An. gambiae* s.l tombé sur le dos (knock-down) en fonction du temps pendant l'exposition aux multiples doses de Deltamethrin et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la populations de *Anopheles gambiae* s.l de Malanville

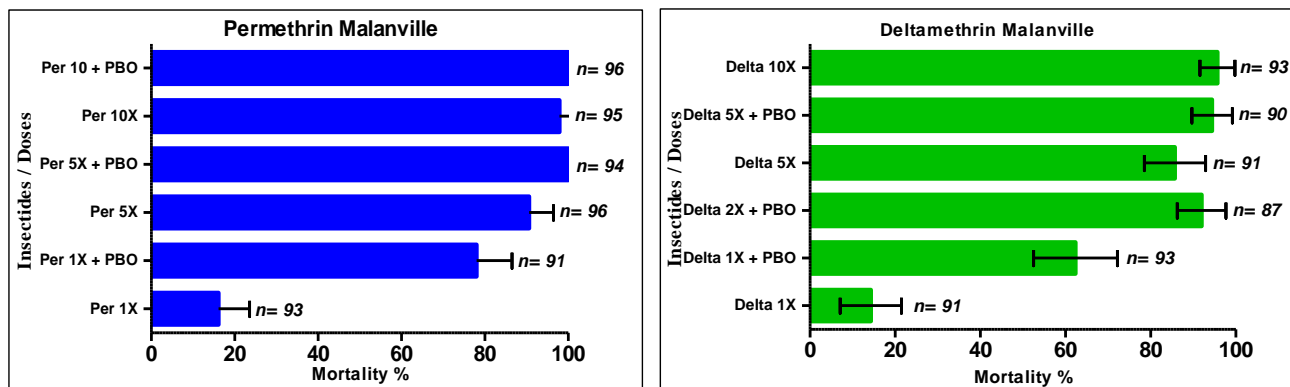


Figure 43: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à de multiples concentrations diagnostiques de deltaméthrine et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la population de Malanville

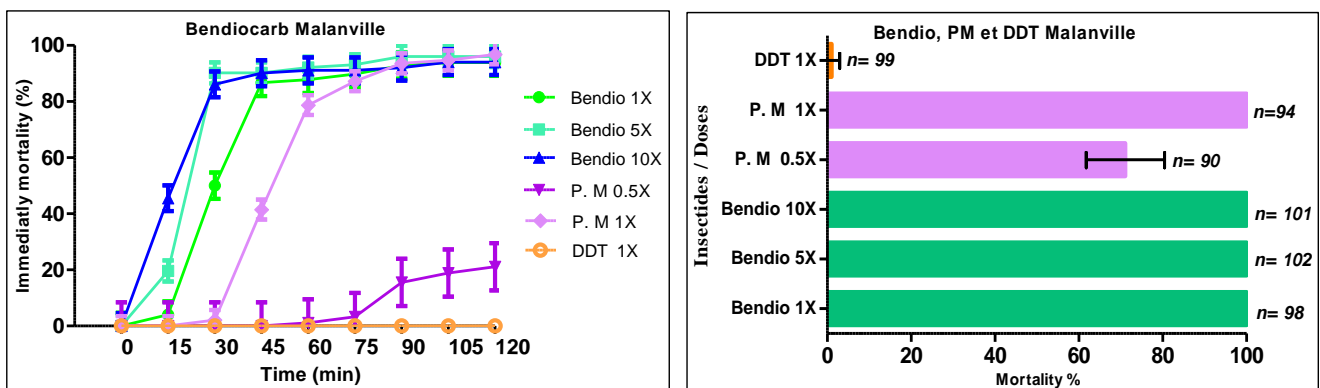


Figure 44: Taux de mortalité immédiat de *An. gambiae* s.l en fonction du temps passé après leur exposition à de multiples doses de Bendiocarbe, Pirimiphos-méthyle et DDT et le taux de mortalité après 24 h en utilisant le test en tubes OMS sur la population de Malanville.

✓ **Porto-Novo**

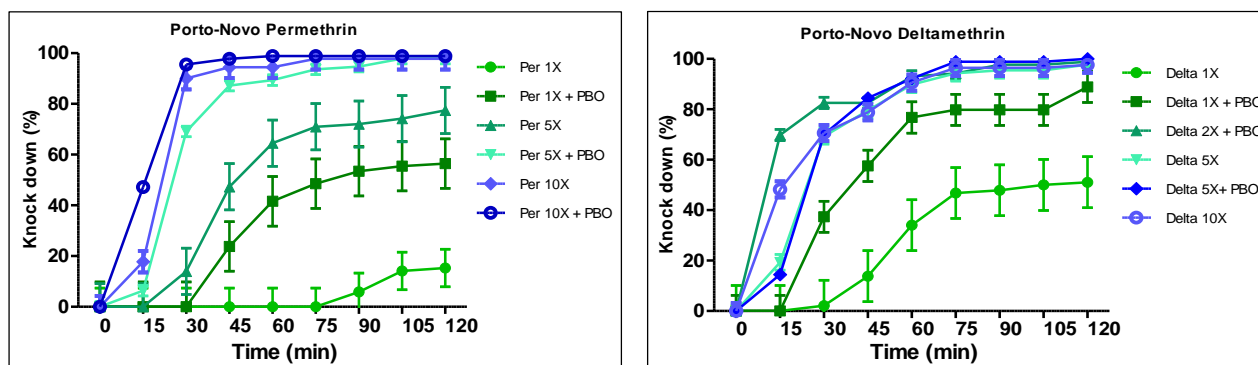


Figure 45: Pourcentage de *An. gambiae* s.l tombé sur le dos (knock-down) en fonction du temps pendant l'exposition aux multiples doses de Deltamethrin et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la populations de *Anopheles gambiae* s.l de Porto-Novo

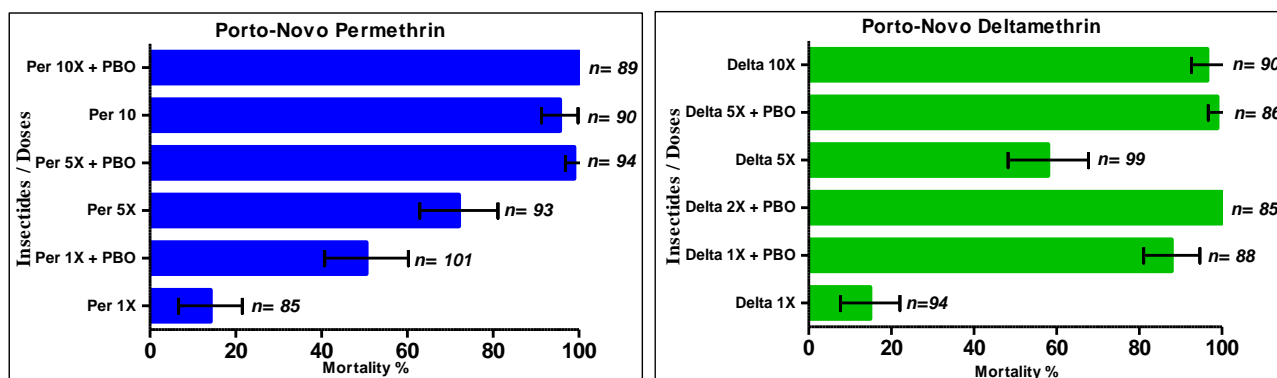


Figure 46: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à de multiples concentrations diagnostiques de deltaméthrine et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la population de Porto-Novo

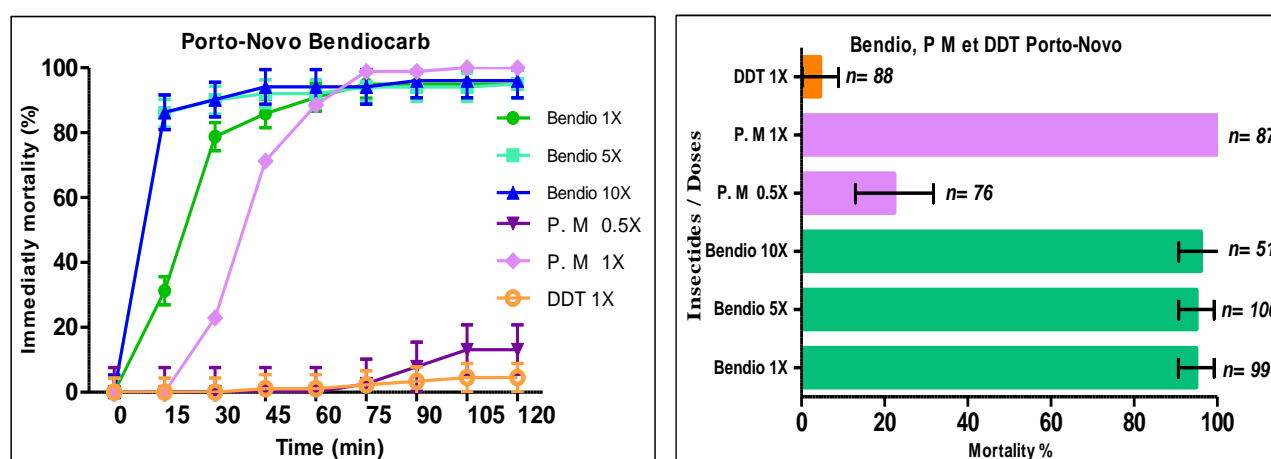


Figure 47: Taux de mortalité immédiat de *An. gambiae* s.l en fonction du temps passé après leur exposition à de multiples doses de Bendiocarbe, Pirimiphos-méthyle et DDT et le taux de mortalité après 24 h en utilisant le test en tubes OMS sur la population de Porto-Novo

✓ **Kandi**

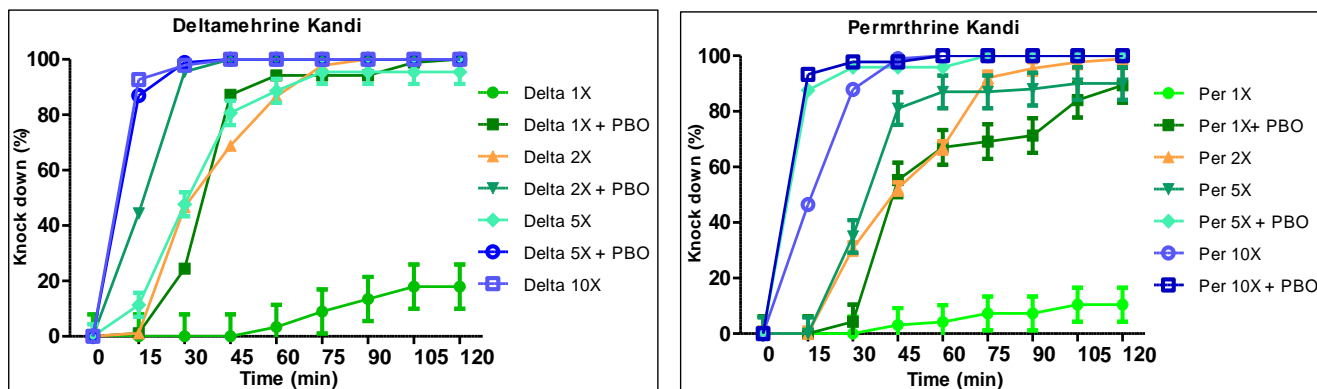


Figure 48: Pourcentage de *An. gambiae* s.l tombé sur le dos (knock-down) en fonction du temps pendant l'exposition aux multiples doses de Deltaméthrim et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la populations de *Anopheles gambiae* s.l de Kandi

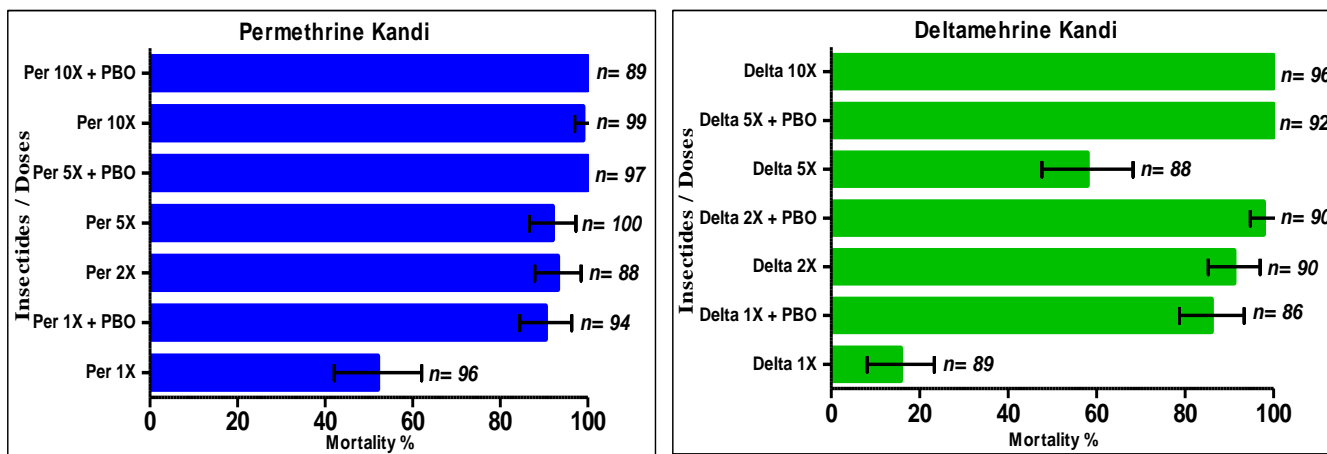


Figure 49: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à de multiples concentrations diagnostiques de deltaméthrine et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la population de Kandi

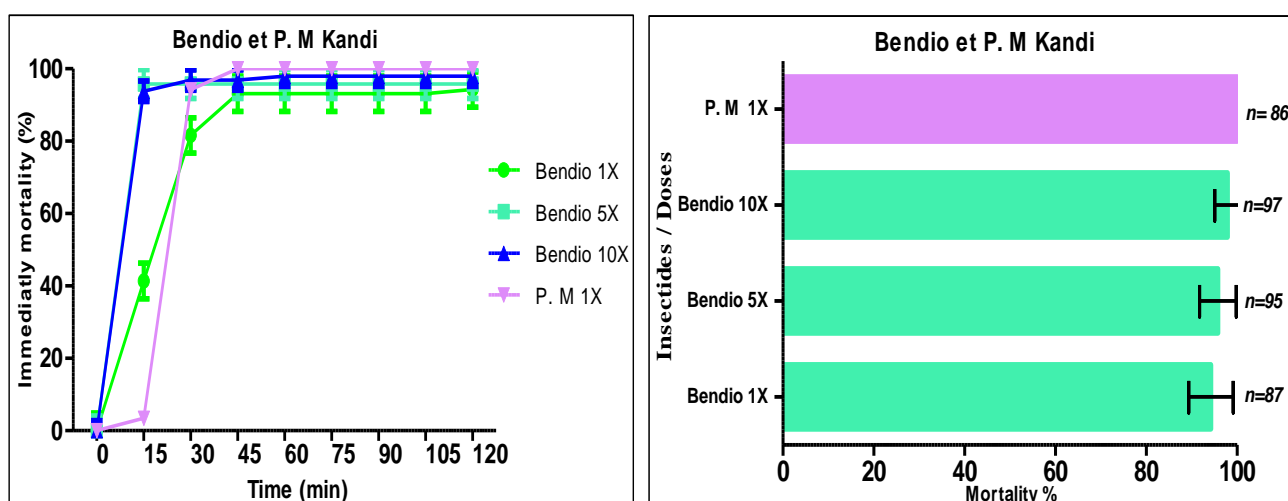


Figure 50: Taux de mortalité immédiat de *An. gambiae* s.l en fonction du temps passé après leur exposition à de multiples doses de Bendiocarbe et Pirimiphos-méthyle et le taux de mortalité après 24 h en utilisant le test en tubes OMS sur la population de Kandi

✓ Parakou

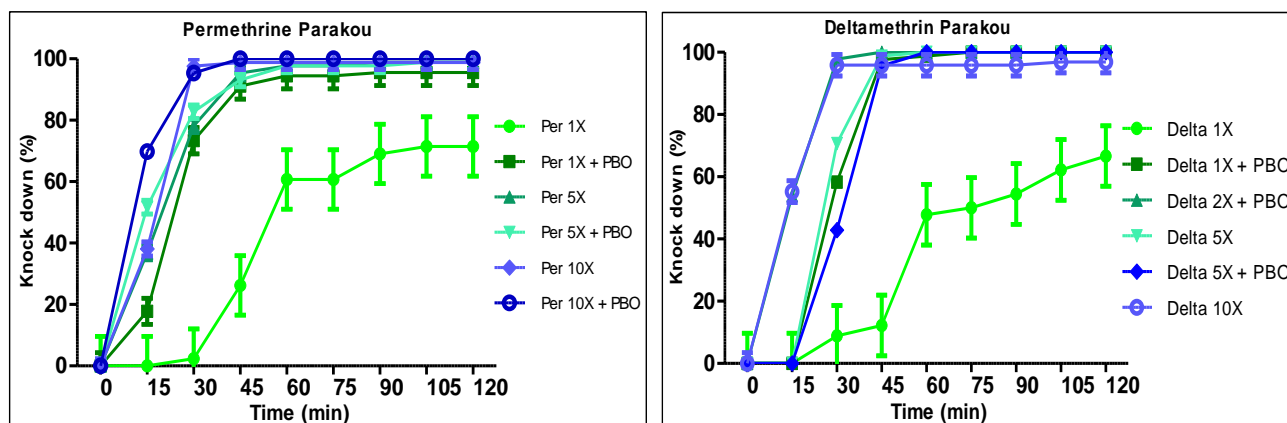


Figure 51: Pourcentage de *An. gambiae* s.l tombé sur le dos (knock-down) en fonction du temps pendant l'exposition aux multiples doses de Deltamethrin et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la populations de *Anopheles gambiae* s.l de Parakou

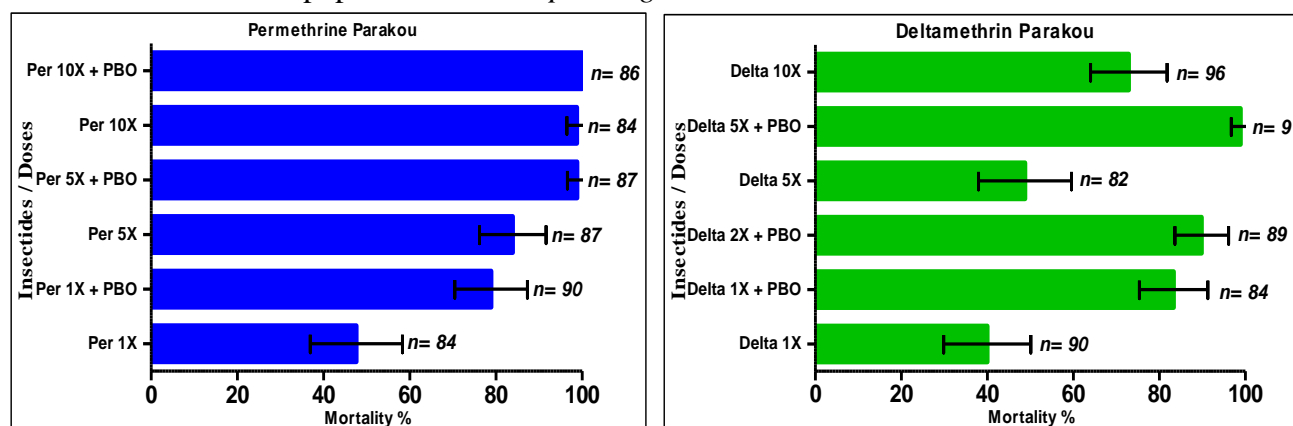


Figure 52: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à de multiples concentrations diagnostiques de deltaméthrine et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la population de Parakou

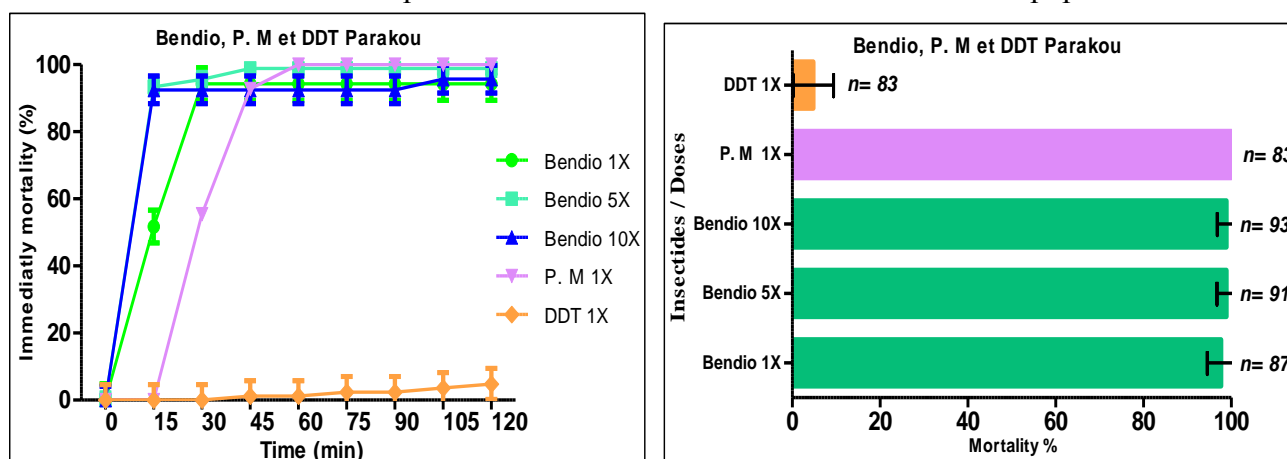


Figure 53: Taux de mortalité immédiat de *An. gambiae* s.l en fonction du temps passé après leur exposition à de multiples doses de Bendiocarbe, Pirimiphos-méthyle et DDT et le taux de mortalité après 24 h en utilisant le test en tubes OMS sur la population de Parakou

✓ Cotonou

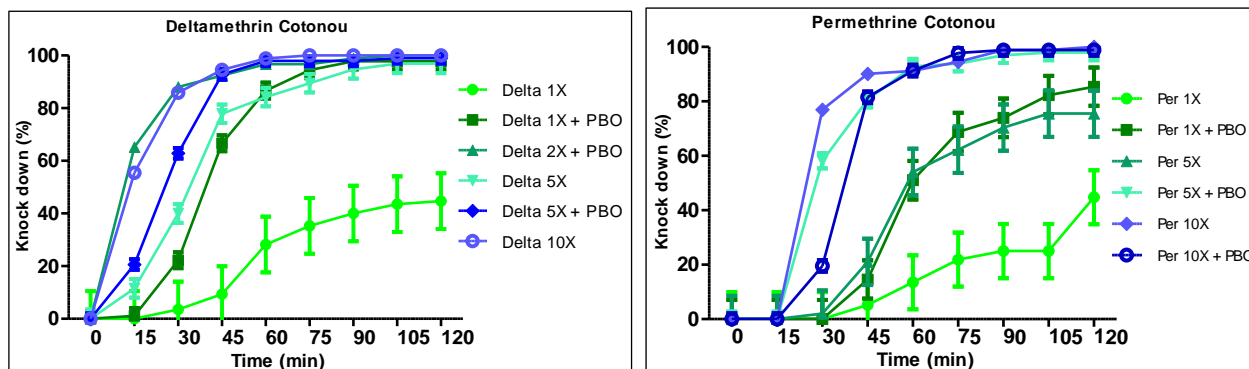


Figure 54: Pourcentage de *An. gambiae* s.l tombé sur le dos (knock-down) en fonction du temps pendant l'exposition aux multiples doses de Deltamethrin et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la populations de *Anopheles gambiae* s.l de Cotonou

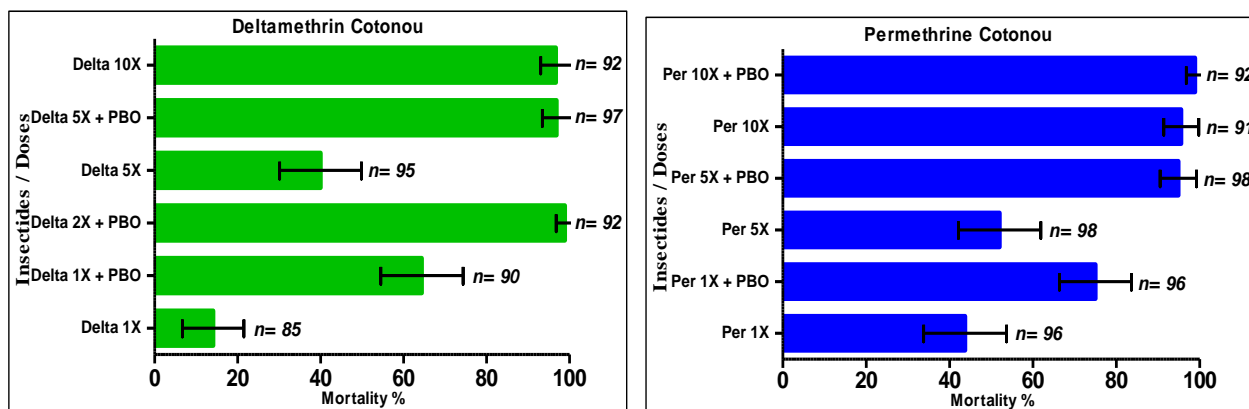


Figure 55: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à de multiples concentrations diagnostiques de deltaméthrine et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la population de Cotonou

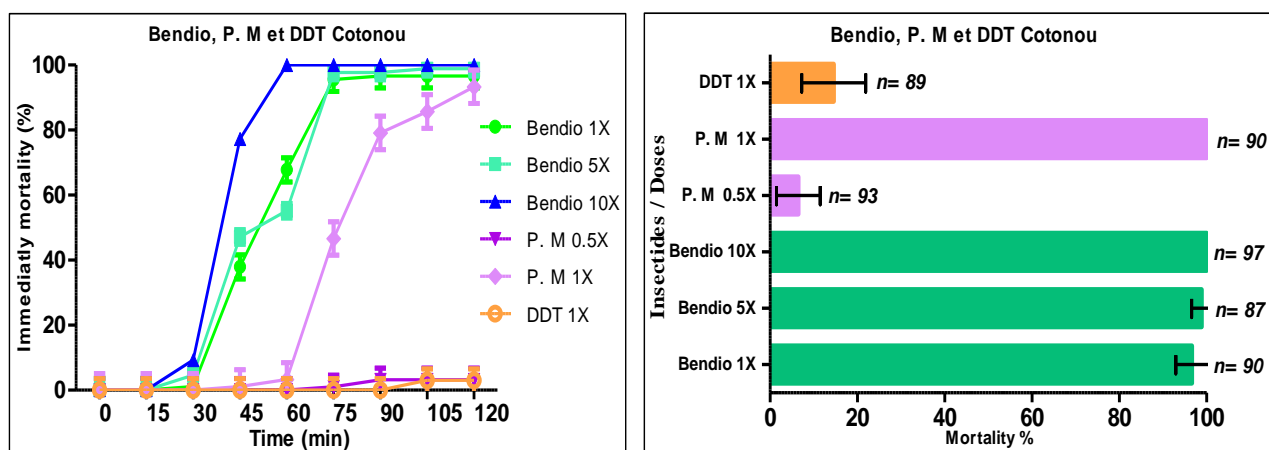


Figure 56: Taux de mortalité immédiat de *An. gambiae* s.l en fonction du temps passé après leur exposition à de multiples doses de Bendiocarb, Pirimiphos-méthyle et DDT et le taux de mortalité après 24 h en utilisant le test en tubes OMS sur la population de Cotonou

✓ Save

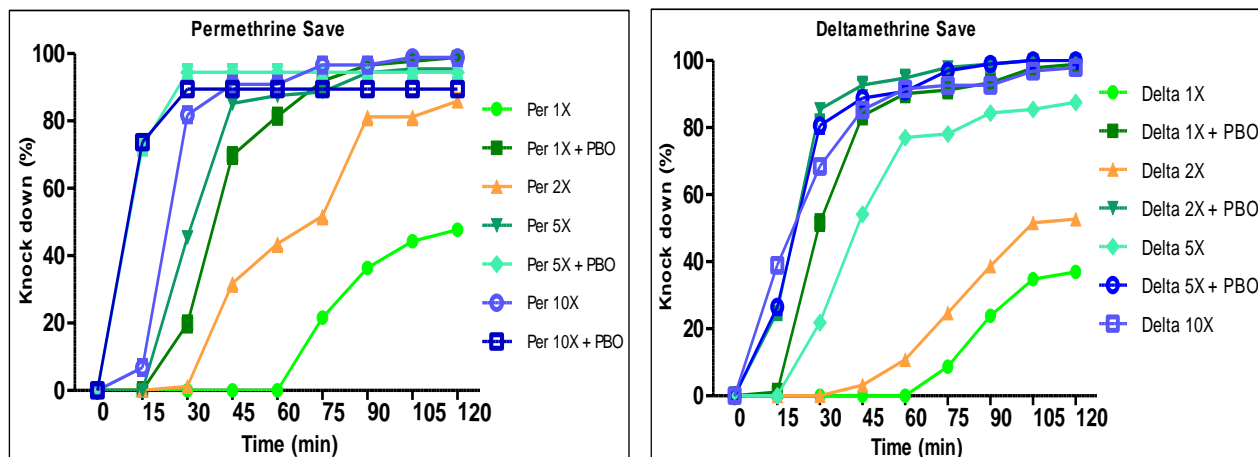


Figure 57: Pourcentage de *An. gambiae* s.l tombé sur le dos (knock-down) en fonction du temps pendant l'exposition aux multiples doses de Deltaméthrim et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la populations de *Anopheles gambiae* s.l de Save

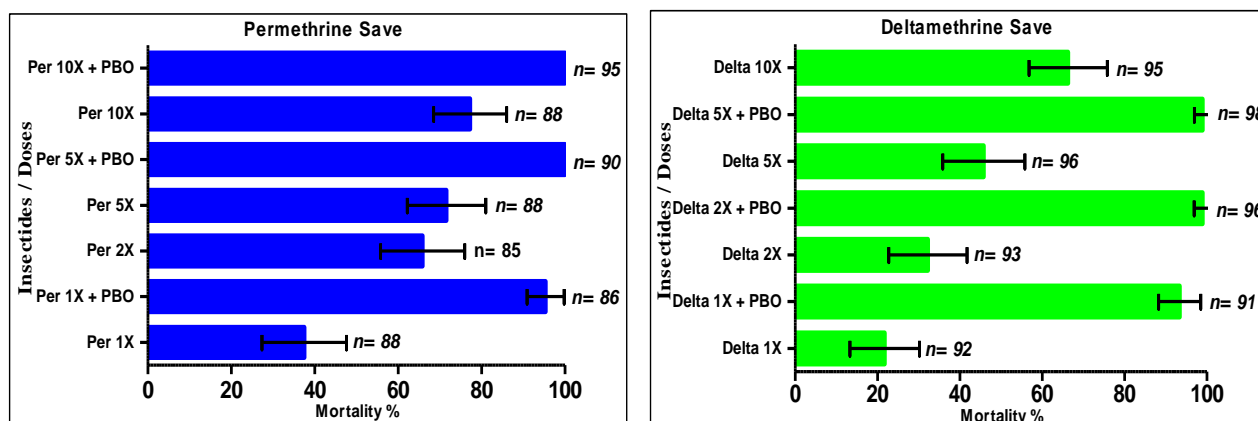


Figure 58: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à de multiples concentrations diagnostiques de deltaméthrine et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la population de Save

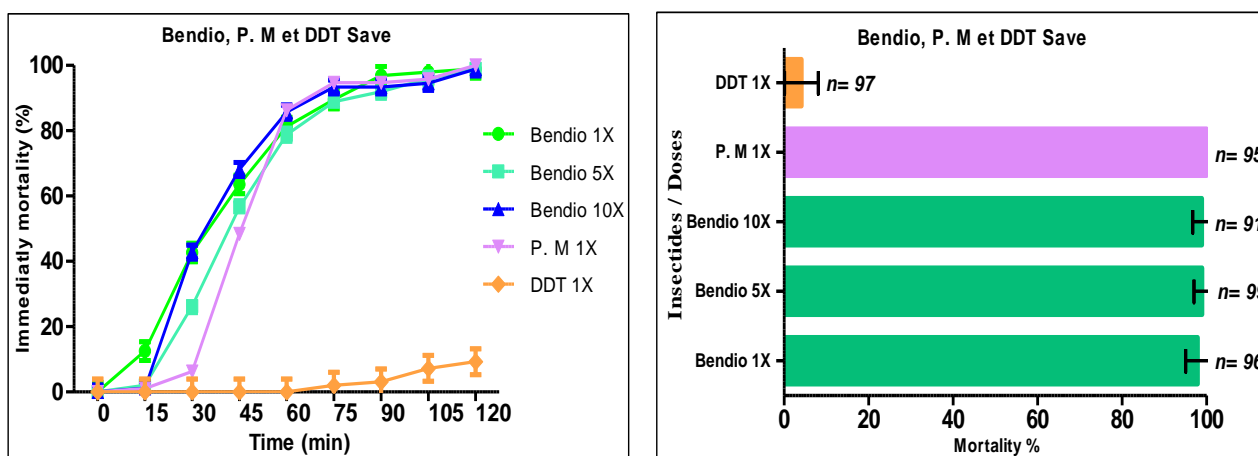


Figure 59: Taux de mortalité immédiat de *An. gambiae* s.l en fonction du temps passé après leur exposition à de multiples doses de Bendiocarbe, Pirimiphos-méthyle et DDT et le taux de mortalité après 24 h en utilisant le test en tubes OMS sur la population de Save.

✓ Dassa

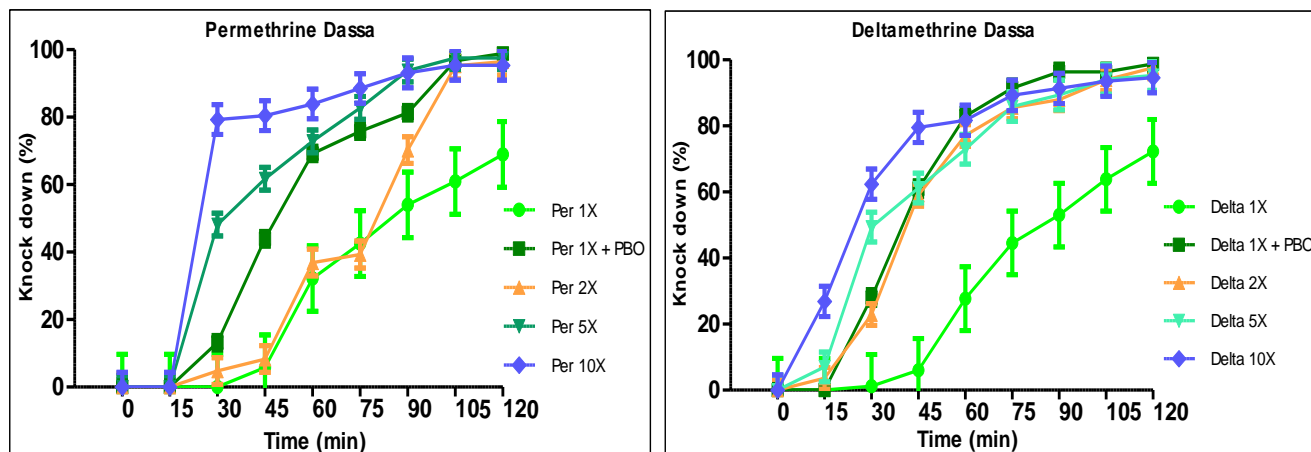


Figure 60: Pourcentage de *An. gambiae* s.l tombé sur le dos (knock-down) en fonction du temps pendant l'exposition aux multiples doses de Deltamethrim et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la populations de *Anopheles gambiae* s.l de Dassa

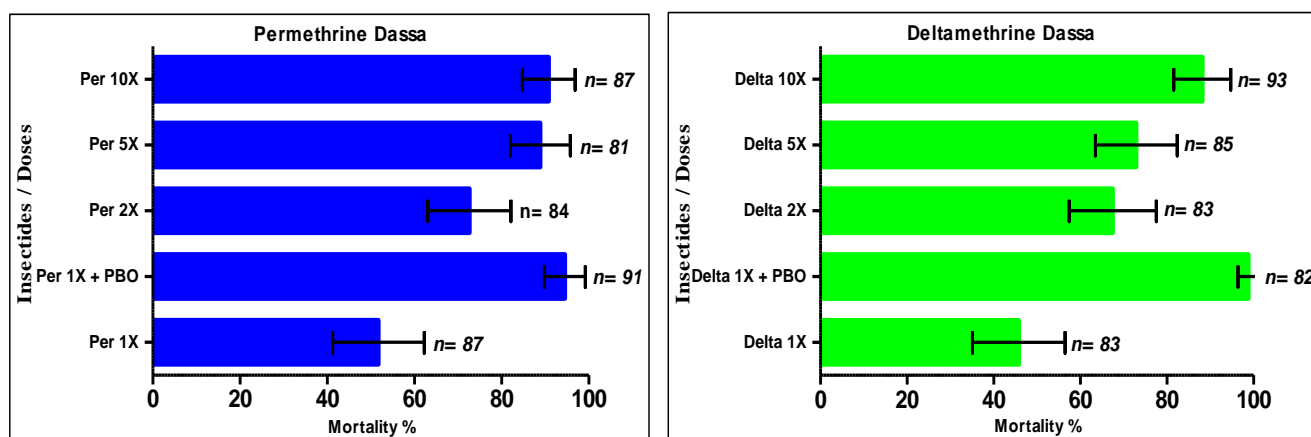


Figure 61: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à de multiples concentrations diagnostiques de deltaméthrine et de perméthrine à l'aide du test en tubes OMS sur la population de Dassa

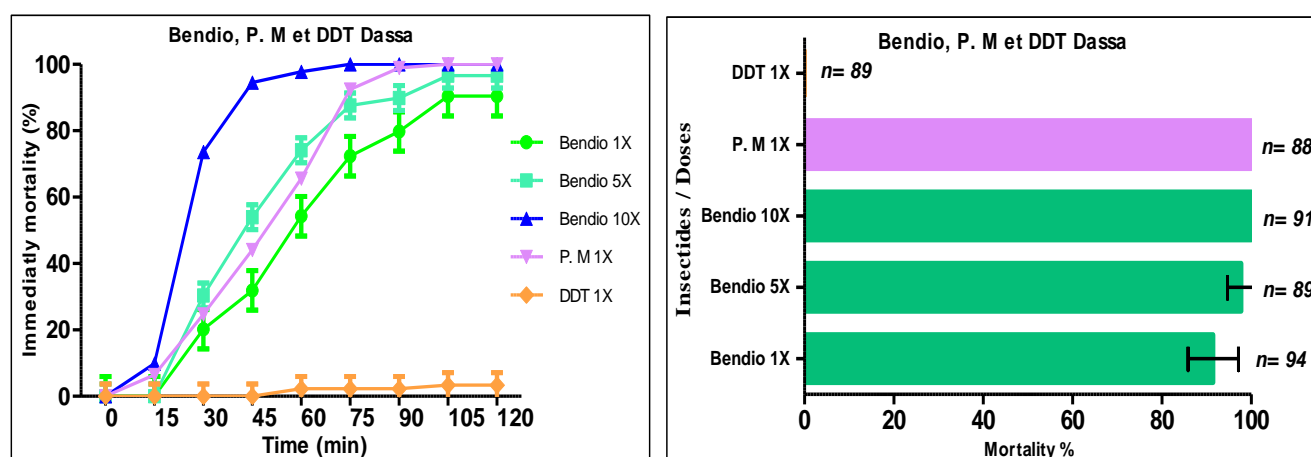


Figure 62: Taux de mortalité immédiat de *An. gambiae* s.l en fonction du temps passé après leur exposition à de multiples doses de Bendiocarbe, Pirimiphos-méthyle et DDT et le taux de mortalité après 24 h en utilisant le test en tubes OMS sur la population de Dassa

CDC Graphs

Cotonou

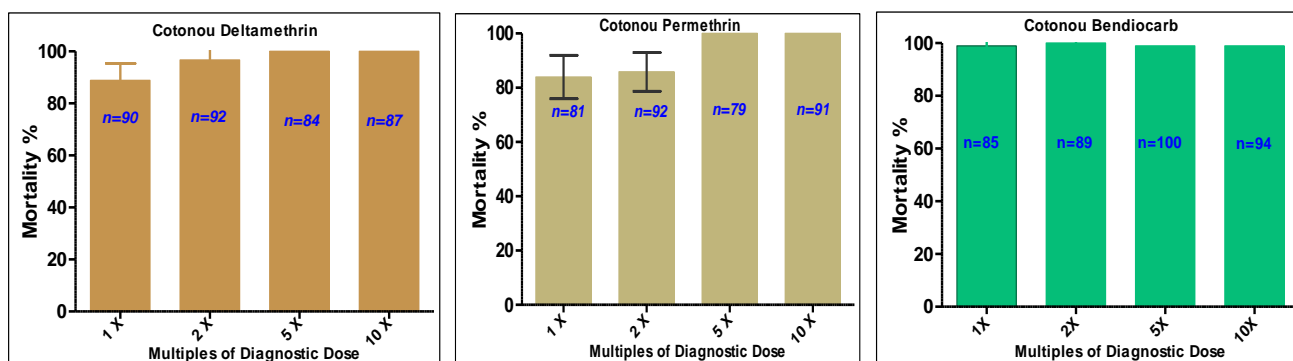


Figure 63: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à doses multiples de différents insecticides en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population de Cotonou

Porto-Novo

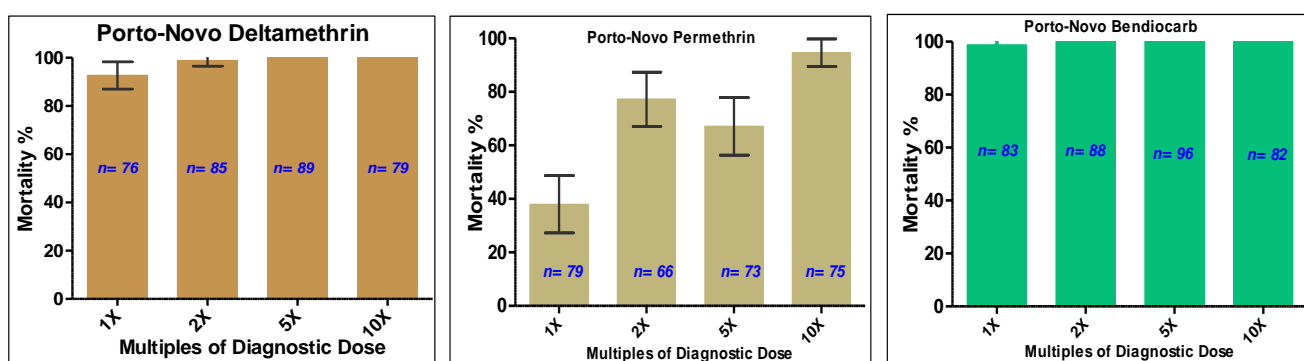


Figure 64: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à doses multiples de différents insecticides en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population de Porto-Novo

Kandi

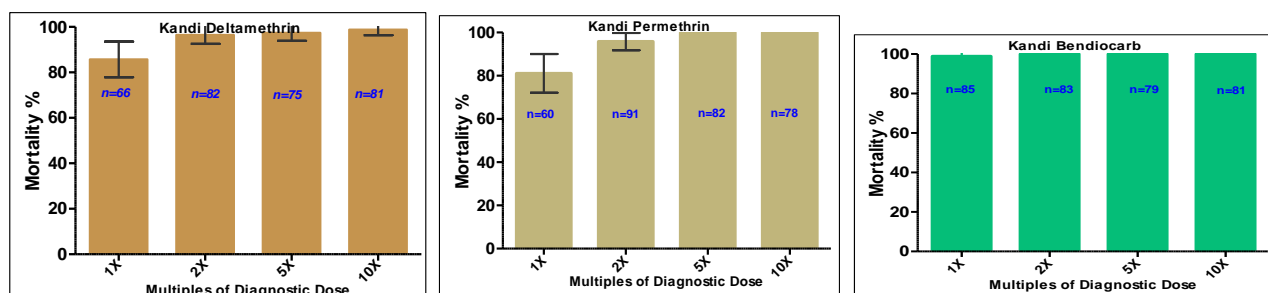


Figure 65: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à doses multiples de différents insecticides en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population de Kandi

Parakou

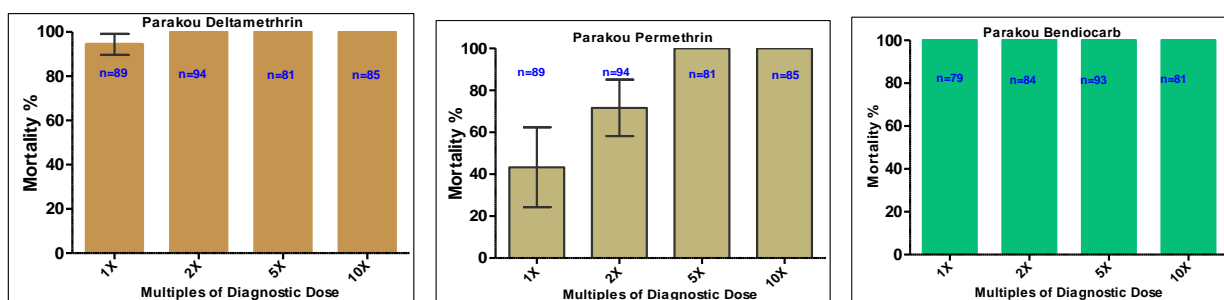


Figure 66: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à doses multiples de différents insecticides en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population de Parakou

Malanville

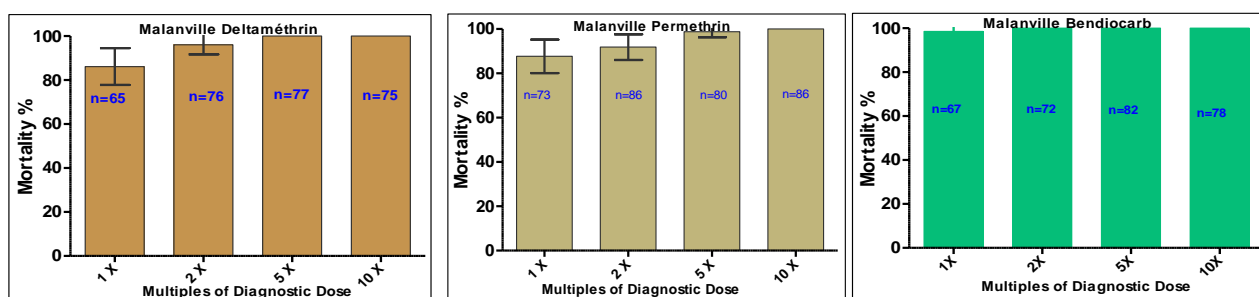


Figure 67: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à doses multiples de différents insecticides en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population de Malanville

Allada

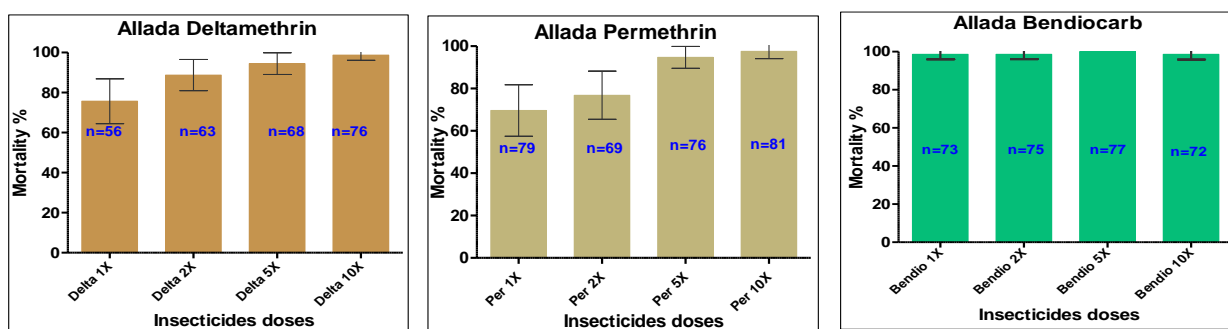


Figure 68: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à doses multiples de différents insecticides en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population de Allada

Allada Deltamethrin + Synergists

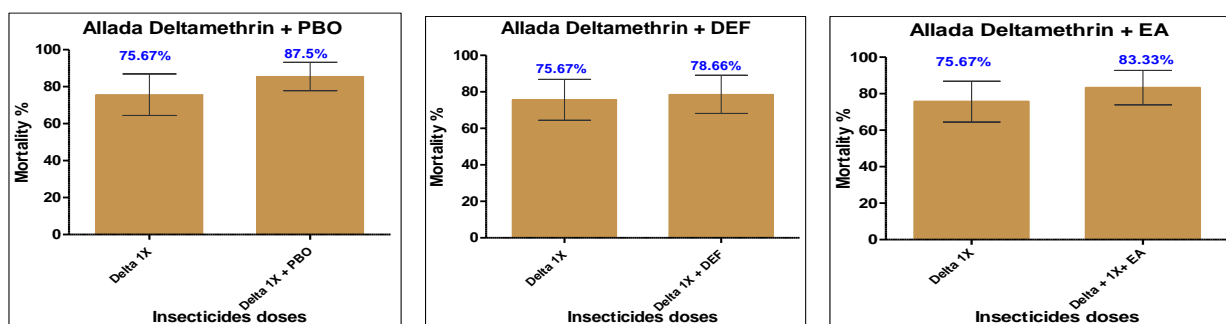


Figure 69: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à Deltamethrin + synergists à l'aide du test en bouteilles de CDC sur la population d'Allada

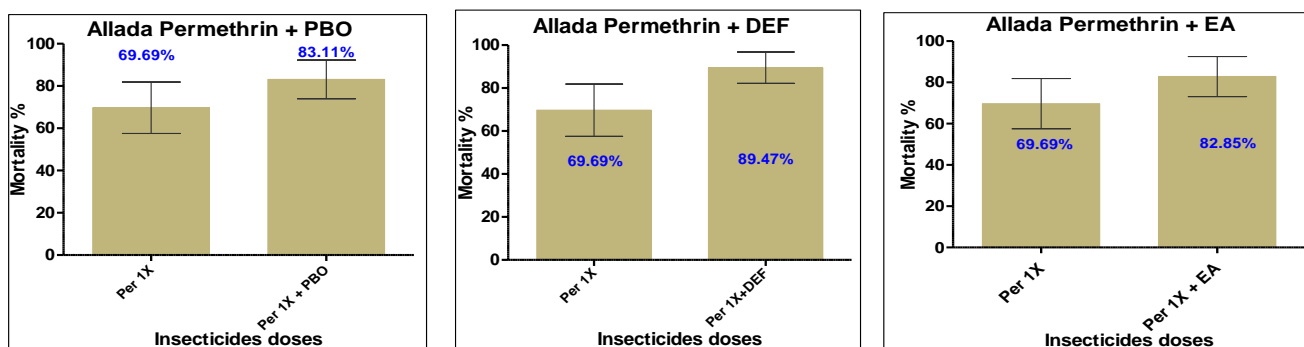


Figure 70: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à Perméthrine + synergistes à l'aide du test en bouteilles de CDC sur la population d'Allada

Bohicon

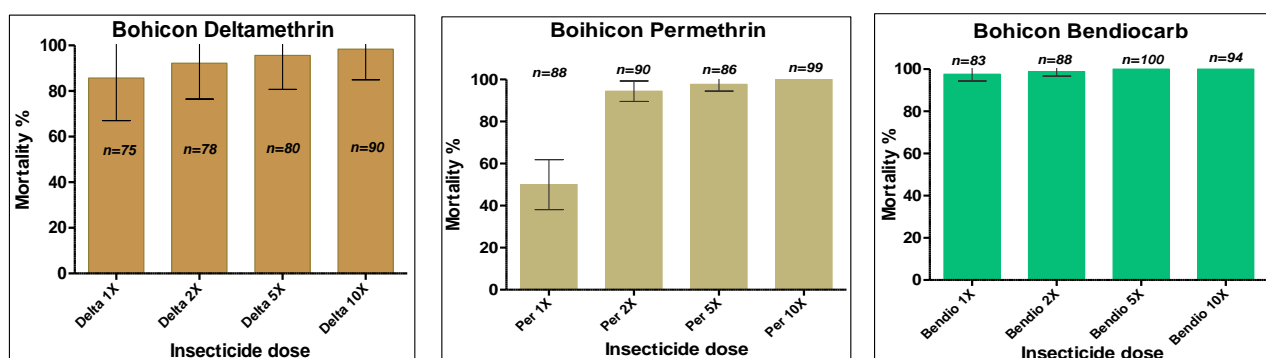


Figure 71: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à doses multiples de différents insecticides en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population de Bohicon

Bohicon Deltaméthrine + Synergistes

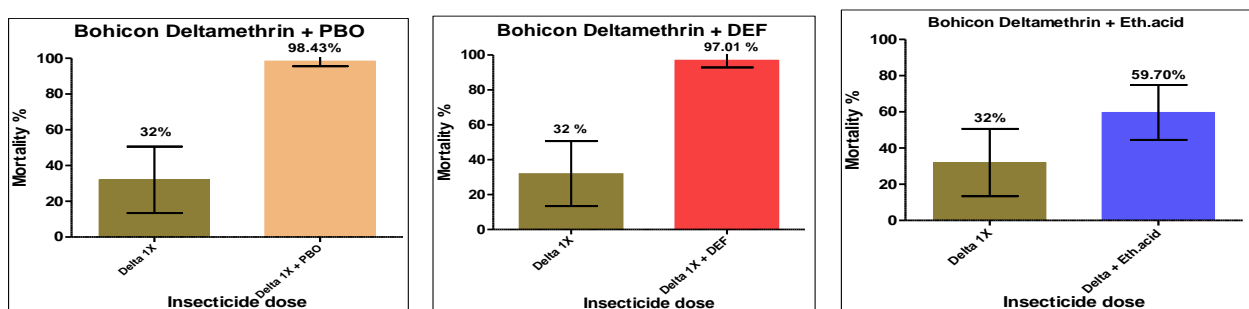


Figure 72: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à Deltaméthrine + synergistes à l'aide du test en bouteilles de CDC sur la population de Bohicon

Bohicon Perméthrine + synergistes

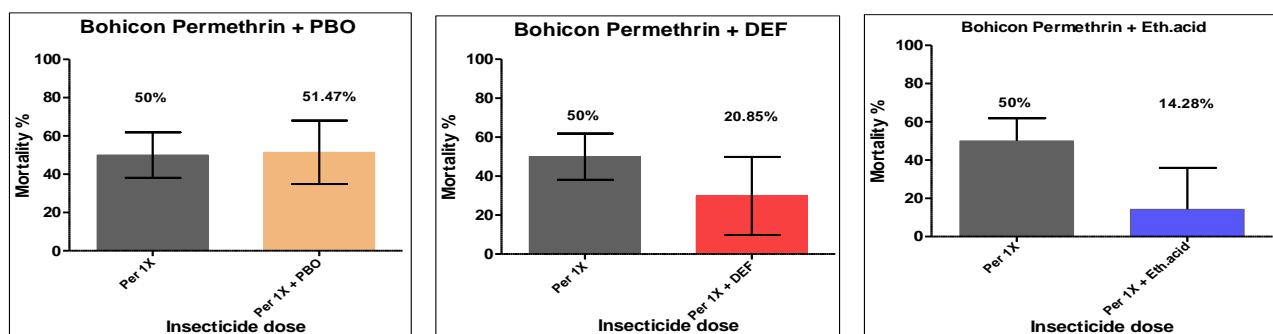


Figure 73: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à Perméthrine + synergistes à l'aide du test en bouteilles de CDC sur la population de Bohicon

Savè

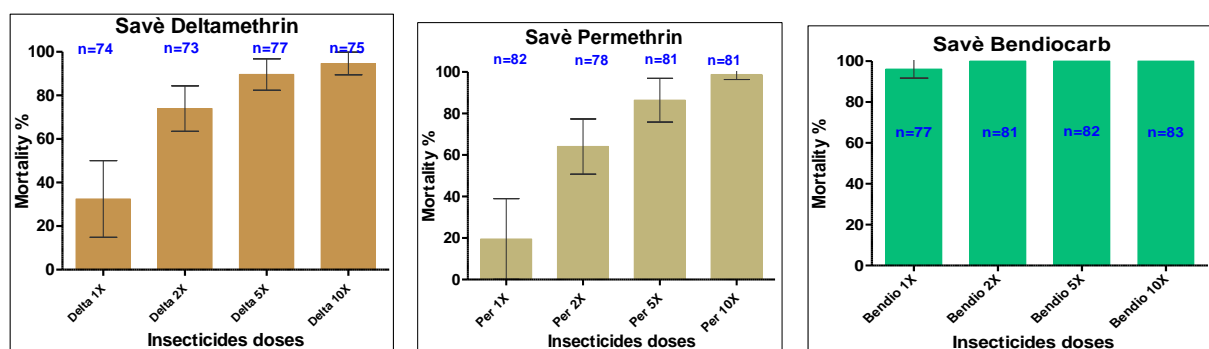


Figure 74: Taux de mortalité après exposition de *An. gambiae* s.l à doses multiples de différents insecticides en utilisant le test en bouteilles CDC sur la population de Save

Photos



Photo 1: Visite sur le terrain d'une équipe de l'USAID avec l'Ambassadrice des USA



Photos 2 : Discussion de la délégation du CREC avec les autorités locales d'une commune a prospectée



Photos 3 : Prospection larvaire



Photo 4 : Réalisation des tests en bouteilles CDC et des tests en tube OMS

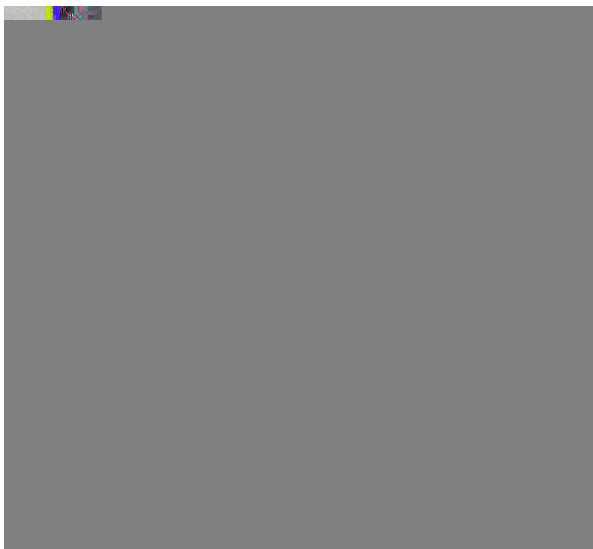


Photo 5 : Extraction de l'ADN des moustiques collectés