

## Transmission du paludisme et distribution des gènes *Kdr* et *Ace-1* dans la population d'*Anopheles gambiae* d'Azuretti, village côtier lagunaire de Grand-Bassam, en Côte-d'Ivoire

### [ Malaria transmission and *Kdr* and *Ace-1* gene distribution in the population of *Anopheles gambiae* of Azuretti, a laogon costal village of Grand-Bassam, in Côte-d'Ivoire ]

Guillaume Koffi Konan<sup>1,2</sup>, Emmanuel Tia<sup>2</sup>, Anne-Marie Boby-Ouassa<sup>2</sup>, Baba Coulibaly<sup>3</sup>, Bernard Kouassi Koffi<sup>3</sup>, Moussa Koné<sup>2</sup>, Alphonse Kouamé Kadjo<sup>2</sup>, and Philippe Kouassi Kouassi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Milieux Naturels et Conservation de la Biodiversité de l'UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Centre d'Entomologie Médicale et Vétérinaire de Bouaké, Université Alassane Ouattara, 27 BP 529 Abidjan 27, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup>Centre de Recherches Pierre Richet, 01 BP 1500 Bouaké 01, 01 BP V 47, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

Copyright © 2023 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** Malaria remains a public health concern in Côte d'Ivoire. The fight against transmission of this disease requires a good knowledge of the vector as well as their level of susceptibility to insecticides most commonly used in public health, in order to better select tools and guide vector control strategies. An entomological survey was conducted in Grand-Bassam from January 2015 to december 2015. Adult resting mosquitoes were collected using pyrethrum spraying catches methods. Susceptibility tests were performed with three pyrethroids (alphacypermethrin, deltamethrin, permethrin) and an organophosphate (chlorpyrifos-methyl) according to the standard WHO test cylinder method, on 2-to-4-days old female *Anopheles gambiae s.l.* emerged from larvae collected in breeding sites and reared in the insectary. Complex members, insecticide resistance genes and *An. gambiae s.l.* infection with *Plasmodium* were analyzed, using polymerase chain reaction (PCR) method. Four genera of culicidae (*Aedes*, *Anopheles*, *Culex* and *Mansonia*) divided into nine species were collected. *Anopheles gambiae s.l.* was the most abundant species (69.3%) with the highest size recorded in June (n=116). The parity rate of captured females *An. gambiae* was very high (94.1%). Susceptibility tests showed that *An. gambiae s.l.* were resistant to all insecticides tested. The PCR results demonstrated that *An. coluzzii* was the only species of *An. gambiae s.l.* found in the study area. The resistance mechanisms involved the *Kdr-w* and *Ace-1* mutations, which were expressed at allelic frequencies of 0.54 and 0.29, respectively in the population. *Plasmodium falciparum* was the only malaria parasite found with an infestation rate of 4.3%. These outcomes are important for planning the national malaria vector control programs.

**KEYWORDS:** Malaria, *Anopheles coluzzii*, *Plasmodium falciparum*, Resistance, Grand-Bassam, Côte d'Ivoire.

**RESUME:** Le paludisme demeure un problème de santé publique en Côte d'Ivoire. La lutte contre la transmission de cette maladie exige une bonne connaissance du vecteur ainsi que leur niveau de sensibilité aux insecticides couramment utilisés en santé publique, afin de mieux sélectionner les outils et guider les stratégies de lutte anti vectorielle. Une enquête entomologique a été conduite de janvier 2015 à décembre 2015 à Grand-Bassam par capture intra-domiciliaire. Les tests de sensibilité ont été réalisés avec trois pyréthrinoïdes (alphacyperméthrine, deltaméthrine, perméthrine) et un organophosphoré (chlorpyrifos-méthyl) selon la méthode standard des cylindres tests OMS, sur des anophèles femelles âgées de deux à quatre

jours, émergées des stades larvaires dans les gîtes de reproduction et élevées à l'insectarium. Les membres du complexe, les gènes de résistance aux insecticides et l'infestation à *Plasmodium d'An. gambiae s.l.* ont été analysés, à l'aide de la technique de réactions en chaîne par polymérase (PCR). Quatre genres de culicidés (*Aedes*, *Anopheles*, *Culex* et *Mansonia*) répartis en neuf espèces ont été collectés. *An. gambiae s.l.* est l'espèce la plus abondante (69,3%) avec l'effectif le plus élevé enregistrée en juin (n=116). Le taux de parturité des femelles d'*An. gambiae* capturées était très élevé (94,1%). Les tests de sensibilité ont montré qu'*An. gambiae* était résistante à tous les insecticides testés. Les résultats des tests de PCR ont révélé qu'*An. coluzzii* est la seule espèce d'*An. gambiae s.l.* trouvée dans le site d'étude. Les mécanismes de résistance mis en cause impliquaient les mutations *Kdr-w* et *Ace-1* qui se sont exprimées à des fréquences alléliques respectives de 0,54 et 0,29 au sein de la population. L'espèce *Plasmodium falciparum* seule a été retrouvée avec un taux d'infestation de 4,3%. Ces résultats sont importants pour la planification des programmes nationaux de lutte contre les vecteurs du paludisme.

**MOTS-CLEFS:** Paludisme, *Anopheles coluzzii*, *Plasmodium falciparum*, Résistance, Grand-Bassam, Côte d'Ivoire.

## 1 INTRODUCTION

Le paludisme constitue la maladie infectieuse à transmission vectorielle la plus répandue dans le monde. En 2020, il y a eu une augmentation du nombre de cas de paludisme de 14 millions, passant de 227 millions en 2019 à 241 millions. Cette année là, cette pathologie a fait 627000 décès. La majeure partie de cette hausse a été observée en Afrique [1].

En Côte-d'Ivoire, le paludisme sévit de façon permanente sur tout le territoire avec une recrudescence pendant les saisons pluvieuses [2]. Il demeure un problème majeur de santé publique, de par sa fréquence élevée, sa gravité et ses conséquences socio-économiques importantes. En effet, le paludisme représente la première cause de morbidité avec 43 % des motifs de consultation dans les formations sanitaires du pays. Le taux d'incidence en 2011 était de 115 cas pour 1000 dans la population générale et de 389 pour 1000 chez les enfants âgés de moins de cinq ans. En 2020, ce taux a varié de 155 à 230 cas pour 1000 dans la population générale, alors que chez les enfants de moins de cinq ans, il a oscillé entre 287 et 596 cas pour 1000 [3]. Les enfants âgés de moins de cinq ans et les femmes enceintes constituent les populations les plus vulnérables. Sur le plan socio-économique, le paludisme est responsable respectivement de 40% et 42% d'absentéisme en milieu scolaire et professionnel et 50% de perte de revenu agricole, réduisant ainsi la capacité des ménages à contribuer à la productivité. Un grand nombre d'enfants et de femmes enceintes sont exposés au paludisme [4]. De nombreux travaux concernant le paludisme ont été effectués au nord [5], [6] et au centre [7] du pays en zone de savane, au sud et à l'ouest en zone de forêt [8] et en milieu urbain [9]. Par contre, la transmission du paludisme côtier lagunaire a été très peu étudiée et reste donc mal connue. Quelques données existent sur les aspects parasito-cliniques et cliniques (espèce plasmodiale dominante, sensibilité des parasites aux antipaludiques usuels). Mais, elles sont insuffisantes et éparpillées; d'où la difficulté de leur prise en compte dans l'élaboration de stratégies de lutte efficace contre le paludisme. Par ailleurs, les données relatives aux aspects entomologiques sont quasiment inexistantes à part quelques études menées à Sassandra [10] et à Dabou [11], alors que cet écosystème particulier de milieu côtier lagunaire est très contrasté, vaste et s'étend le long de la côte sur environ 600 km.

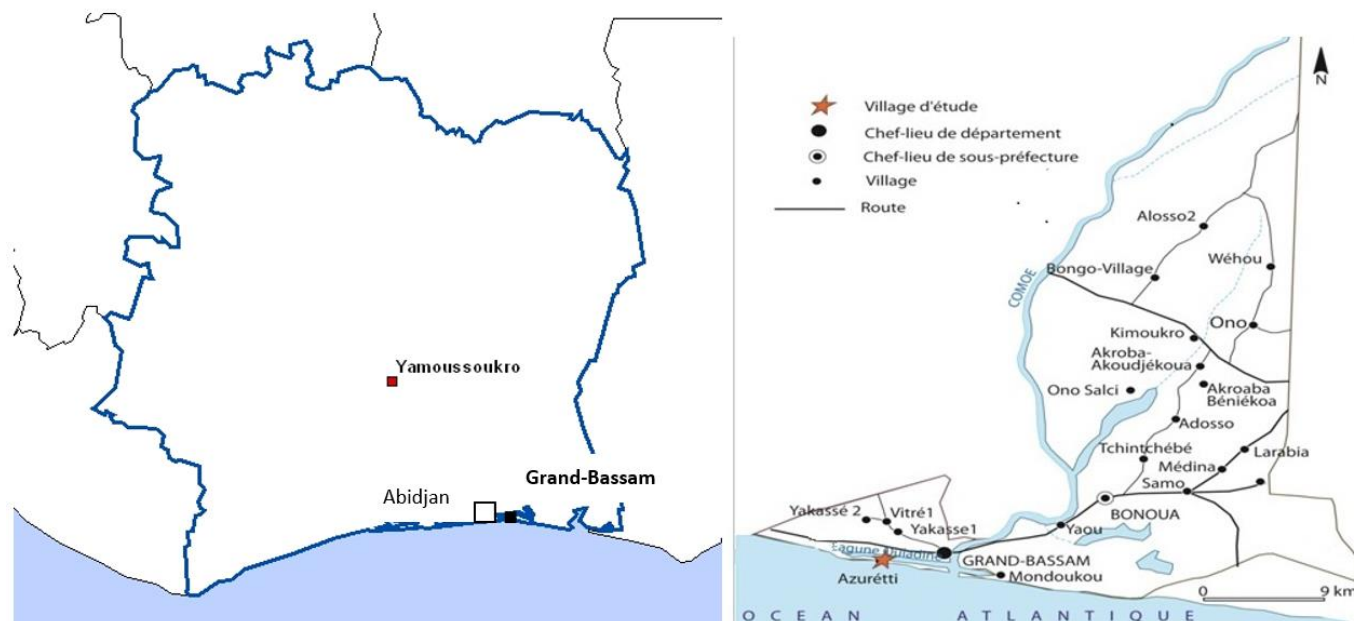
L'objectif de la présente étude est de fournir des données sur la population de culicidés à Azzuretti et la dynamique de celle-ci, d'une part, et d'évaluer la sensibilité des moustiques de Grand-Bassam aux pyréthrinoïdes (perméthrine, deltaméthrine et alphacyperméthrine) et au chlorpyrifos-méthyl (organophosphoré), d'autre part.

## 2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.1 ZONE D'ÉTUDE

Grand-Bassam, ville balnéaire située à 5° 12' Latitude Nord et 3° 44' Longitude Ouest à 43 km au Sud-Est d'Abidjan, est traversée par la lagune Ebrié. La ville est limitée à l'Est par le fleuve Comoé et au Sud par l'Océan Atlantique. Le département de Grand-Bassam a une population estimée à environ 267103 habitants (INS, RGPH, 2021) pour une superficie de 958 Km<sup>2</sup>. Azzuretti est un village, situé à 5 Km environ de Grand-Bassam entre la lagune Ebrié et l'Océan Atlantique (Fig.1). La principale activité économique de la population locale est la pêche. À cela, on peut ajouter les activités liées au tourisme. Azzuretti a deux quartiers relativement modernes: les quartiers Fanti et N'zima alimentés en eau courante, en électricité et ayant un habitat moderne. La plupart des habitations sont en briques de ciment avec un toit en tuile; la brise de mer rongant les tôles. Les concessions sont ornées de fleurs dont les aisselles, les pots et les dessous de pots de fleurs conservent de l'eau après les pluies. En perspective de nouvelles constructions, de nombreuses briques ont été moulées à plusieurs endroits dans le village.

Les trous de ces briques retiennent aussi de l'eau de pluie et favorisent le développement des moustiques. Azuretti a aussi cinq autres quartiers précaires, avec un habitat en bois entouré de palissades faites de palmes de cocotiers, sans électricité, ni eau courante. Il s'agit des quartiers béninois, ghanéens 1 et 2, Alladjan et Ebrié, jonchés de pirogues, de bassines et de seaux abandonnés. Le village n'ayant pas de centre de santé, la population est contrainte, en cas de maladie de se rendre à Grand-Bassam.



Dessin : Bamoro COULIBALY

Fig. 1. Carte du Département de Grand-Bassam avec la localisation du site d'étude

La végétation est une forêt côtière constituée de forêts marécageuses et de mangroves. Le climat de Grand-Bassam est de type tropical humide caractérisé par quatre saisons: une grande saison sèche (décembre à mars), une grande saison de pluie (avril à mi-juillet), une petite saison sèche (mi-juillet à mi-septembre) et une petite saison de pluie (mi-septembre à novembre) [12].

## 2.2 COLLECTE DES MOUSTIQUES

Des séances de captures intra-domiciliaires mensuelles de moustiques ont été réalisées de janvier 2015 à décembre 2015. Nous avons sélectionné dans le village douze cellules ayant servi de chambre à coucher la nuit précédente. Ces captures se sont déroulées très tôt le matin, entre six heures et sept heures. Après avoir étalé un drap de 25 m<sup>2</sup> (5m x 5m) dans la pièce, un insecticide à effet non rémanent a été pulvérisé en prenant soin de fermer toutes les issues pouvant permettre aux moustiques de s'échapper. Cinq à 10 min après, les moustiques tombés sur le drap ont été récoltés à l'aide de pinces souples et introduits dans des boîtes de pétri contenant du coton. Ces séances se sont déroulées en deux jours consécutifs, à raison de six chambres visitées par jour.

Les moustiques acheminés au laboratoire ont été identifiés grâce aux clés de détermination de Mattingly [13] et de Gillies et de Meillon [14], et ce à l'aide d'une loupe binoculaire sur fond blanc.

### 2.2.1 DISSECTION DES OVAIRES ET ÉVALUATION DU TAUX DE PARTURITÉ DES ANOPHÈLES

Les ovaires ont été disséqués dans le champ d'une loupe binoculaire et lus au microscope optique au grossissement 40 (Gx40), afin de distinguer les anophèles pares des nullipares, par observation de l'aspect des trachéoles des ovaires selon la méthode de Detinova [15]. Ensuite, le taux de parturité a été calculé selon la formule suivante:

$$TP = \frac{\text{nbre de femelles pares}}{\text{nbre total de femelles disséquées}} \times 100$$

## 2.2.2 IDENTIFICATION DES ESPÈCES DU COMPLEXE *AN. GAMBIAE* PAR PCR

L'identification spécifique a été faite par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR). À cet effet, l'ADN total des anophèles a été au préalable extrait selon le protocole de Collins [16] et dilué au 1/15 pour la réalisation de chaque PCR. Ainsi, la PCR permettant d'identifier les espèces a été réalisée conformément à la méthode de Favia [17] qui utilise quatre amorces (R3, R5, Mopti int et B/S int) dont les séquences sont respectivement 5'-GCC AAT CCG AGC TGA TAG CGC-3', 5'-CGA ATT CTA GGG AGC TCC AG-3', 5'-GCC CCT TCC TCG ATG GCAT-3' et 5'-ACC AAG ATG GTT CGT TGC-3'. Le couple d'amorces R3/R5 a servi à amplifier un fragment d'environ 1300 paires de base (pb). Le couple Mopti int et B/S quant à lui, a amplifié un fragment de 727 paires de bases chez les anophèles de forme M et un autre de 475 paires de bases chez les anophèles de forme S, dorénavant appelés respectivement *An. coluzzii* et *An. gambiae s.s.*

## 2.2.3 RECHERCHE DES ESPÈCES DE *PLASMODIUM*

La recherche des *Plasmodium* a également été réalisée par la réaction de polymérisation en chaîne, en utilisant un couple d'amorces (PL1473F18 et PL1679R18) dont les séquences sont respectivement 5'-TAA CGA ACG AGA TCT TAA-3' et 5'-GTT CCT CTA AGA AGC TTT-3'. Le mélange réactionnel a été constitué de 3 µl de chacune des amorces, ajoutés, à 6,4 µl d'eau, 0,2 µl de 5x Hot Pol EvaGreen qPCR Mix Plus (no ROX), 9 µl de volume aliquoté et de 1 µl d'ADN. Ce mélange a subi une série d'amplifications en quatre étapes: dénaturation initiale, dénaturation, hybridation et élongation. L'identification des espèces de *Plasmodium* est basée sur les températures de fusion (Tm) de chaque espèce de *Plasmodium*, obtenues à partir de la courbe de dissociation. Les températures de fusion des différentes espèces de *Plasmodium* sont les suivantes: Tm de *P. malariae*= [73,5-75,5], Tm de *P. falciparum*= [75,5-77,5], Tm de *P. ovale*= [77,5-79,5] et Tm de *P. vivax*= [79,5-81,0], [18].

## 2.2.4 MUTATION *KDR* ET *ACE-1*

Les mutations *Kdr* et *Ace-1* ont été recherchées par PCR aussi. La recherche de la mutation *Kdr* a été réalisée selon le protocole de Bass [19], [20]. Quant à la mutation *Ace-1*, la détermination des génotypes a été réalisée selon le protocole d'Essando [21]. Le mélange réactionnel était constitué de 1 µl de l'ADN génomique, 5 µl de Sensifast Probe Kit (Bioline), 0,125 µl de Kit Primer/sonde et 3,875 µl d'eau stérile; soit un volume total de 10 µl. Ces deux méthodes sont identiques. Elles ne diffèrent que par la durée et le nombre de cycles d'amplification, et utilisent des sondes fluorescentes pour mesurer des quantités d'acide nucléique cibles. L'analyse des fluorescences a été faite avec le logiciel LightCycler®96. Une augmentation substantielle de la fluorescence VIC (couleur verte) et FAM (couleur bleue) indiquent respectivement les individus homozygotes sensibles et homozygotes résistants. Une augmentation intermédiaire (couleur orange) des deux signaux indique des individus hétérozygotes.

## 2.3 TESTS DE SENSIBILITÉ AUX INSECTICIDES

Les tests de sensibilité aux insecticides ont été effectués sur des femelles adultes non gorgées, âgées de deux à quatre jours, issues de larves prélevées à Grand-Bassam et élevées à l'insectarium. Ces tests ont été réalisés avec les cylindres test OMS, selon le protocole standardisé de l'OMS [22]. La sensibilité de cette population de Grand-Bassam a été comparée à celle de la souche Kisumu utilisée comme référence.

## 3 RÉSULTATS

### 3.1 PARAMÈTRES ENTOMOLOGIQUES

Trois cent soixante cinq (365) femelles de Culicidés et réparties en neuf espèces culicidiennes ont été récoltées. *An. gambiae* (69,3%) était l'espèce la plus rencontrée. Les autres, plus rares (30,7%), étaient *Culex annulioris*, *Culex poicilipes* et *Mansonia africana*. L'effectif mensuel des anophèles a varié toute la durée de l'enquête, de janvier à décembre 2015. Il a atteint un pic au mois de juin (n=116). Les effectifs les plus faibles ont été enregistrés aux mois de mars et septembre (Tableau I). Au total, sur 253 femelles d'anophèles disséquées, 238 étaient pares, soit un taux de parturité de 94,1%. Il y a eu en tout 11 cas d'infestation à *Plasmodium falciparum*, soit un indice sporozoïtique (IS) de 4,3%.

Tableau 1. Faune culicidienne matinale récoltée à Azuretti

Espèces	mois												Total	Pourcentage (%)
	Janv	Fev	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Sept	Oct	Nov	Dec		
<i>An.gambiae</i>	10	12	8	6	5	116	59	8	1	3	12	13	253	69,31
<i>Aedes aegypti</i>	0	1	0	0	1	2	0	0	0	2	0	0	6	1,64
<i>Culex annulioris</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,27
<i>Culex poicilipes</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,54
<i>Culex quinquefasciatus</i>	3	0	0	5	3	2	1	2	0	3	0	0	19	5,20
<i>Culex thalassius</i>	0	0	0	0	0	4	10	5	1	2	2	0	24	6,6
<i>Culex tigripes</i>	0	0	0	0	23	0	0	0	0	0	0	0	23	6,3
<i>Mansonia africana</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0,54
<i>Mansonia uniformis</i>	1	8	2	0	0	0	14	5	0	1	3	1	35	9,6

### 3.2 SENSIBILITÉ DES ANOPHÈLES

#### 3.2.1 EFFET KNOCK-DOWN (KD) AVEC LES PYRÉTHRINOÏDES SUR LES POPULATIONS D'AN. GAMBIAE

Concernant la souche Kisumu d'*An. gambiae*, les KdT 50 de la perméthrine, la deltaméthrine et l'alphacyperméthrine ont été respectivement de 09,28; 7,35 et 13,44 minutes. De même, pour cette même souche, les KdT 95 obtenus avec la perméthrine, la deltaméthrine et l'alphacyperméthrine ont été respectivement de 20,27; 44,31 et 32,98 minutes. Quant à *An gambiae* récolté à Grand-Bassam, les KdT50 ont été de 86; 56,4 et 97,8 minutes respectivement pour la perméthrine, la deltaméthrine et l'alphacyperméthrine. Quant aux valeurs des Kd95, elles ont été respectivement de 370; 195,2 et 679,9 minutes (Tableau II).

Tableau 2. Effet Kd des pyrétthinoïdes testés sur les populations d'*An. gambiae*

Souches	Insecticides	KdT50	IC	KdT95	IC
Kisumu	Alphacyperméthrine (0,05 %)	13,44	(12,1-14,9)	32,98	(28,3-38,5)
	Deltaméthrine (0,05 %)	7,35	(2,57-11,33)	44,31	(27,9-142,3)
	Perméthrine (0,75 %)	9,28	(8,54-9,99)	20,27	(18,45-22,27)
Grand-Bassam	alphacyperméthrine (0,05 %)	97,8	(76,7-142)	679,9	(374-1772,6)
	Deltaméthrine (0,05 %)	56,4	(48,9-69,46)	195,2	(136,16-352,6)
	Perméthrine (0,75 %)	86	(66,9-136)	370	(205-1117)

#### 3.2.2 MORTALITÉ DES SOUCHES D'AN. GAMBIAE TESTÉES AUX INSECTICIDES

Avec la souche Kisumu, une mortalité de 100% a été observée avec tous les insecticides testés: la deltaméthrine, la perméthrine, l'alphacyperméthrine et le chlorpyrifos-méthyl. Ceci confirme la sensibilité de cette souche désignée comme la souche de référence sensible pour les tests de sensibilité aux insecticides. Par ailleurs, les tests avec *An. gambiae* de Grand-Bassam ont permis d'enregistrer le taux de mortalité le plus élevé avec le chlorpyrifos-méthyl (85,15 %), suivi de la deltaméthrine (74,50 %), puis de l'alphacyperméthrine (58,16 %) et enfin de la perméthrine (51,51 %). On constate donc que la souche de Grand-Bassam est résistante à tous les insecticides testés (pyrétthinoïdes et organophosphoré), car le taux de mortalité est inférieur à 90% (Tableau III).

Tableau 3. Mortalité observée d'*An.gambiae* aux insecticides

Souches	Insecticides	Testés			Témoins			Statut
		Effectif	Morts	Mortalité (%)	Effectif	Morts	Mortalité (%)	
Kisumu	Chlorpyrifos-méthyl (0,4 %)	106	106	100	53	1	1,88	S
	Alphacyperméthrine (0,05 %)	102	102	100	51	2	3,92	S
	Deltaméthrine (0,05 %)	78	78	100	45	1	2,22	S
	Perméthrine (0,75 %)	95	95	100	48	0	0	S
Grand-Bassam	Chlorpyrifos-méthyl (0,4 %)	101	86	85,15	54	1	1,85	R
	Alphacyperméthrine (0,05 %)	98	57	58,16	46	1	2,17	R
	Deltaméthrine (0,05 %)	102	76	74,5	52	2	3,84	R
	Perméthrine (0,75 %)	99	51	51,51	49	0	0	R

### 3.3 FORMES MOLÉCULAIRES ET MÉCANISME DE RÉSISTANCE DE ANOPHELES GAMBIAE

253 femelles d'*An. gambiae* répertoriées ont servi pour la détermination des formes moléculaires et des mécanismes de résistance. La PCR des formes moléculaires a été lu au lecteur de gel sous lumière Ultra-Violet (UV). Elle a révélé la seule présence de la forme moléculaire M (*An. coluzzii*) uniquement chez 203 femelles d'*An. gambiae* et 50 femelles d'anophèles n'ont donc pas été déterminées. Ceci pourrait s'expliquer par une difficulté technique dont les causes peuvent être multiples, c'est-à-dire: une non fixation des amorces sur l'ADN, ou une inhibition de la Taq polymérase, ou encore une quantité insuffisante d'ADN extraite. Par ailleurs, aucun individu de la forme moléculaire S (*An. gambiae s.s*), ni hybride (M/S) n'a été identifié. En effet, à la lumière Ultra-Violet (UV), on a vu apparaître nettement deux bandes, l'une commune aux *An. gambiae*, située à 1300 paires de bases, et l'autre représentant la forme moléculaire M (*An. coluzzii*) qu'on retrouve à 727 paires de bases. On a constaté l'absence de la bande caractéristique de la forme moléculaire S (*An. gambiae s.s*) située à 475 paires de base.

Les mécanismes de résistance mis en évidence sont les mutations *Kdr* et *Ace*<sup>-1</sup>. Les résultats donnés par le logiciel LightCycler sont représentés sur des plaques. Concernant la mutation *Kdr*, les fréquences obtenues sont les suivantes: 215 anophèles, soit (89,6%) sont hétérozygotes résistants (RS), 2 anophèles (0,80%) sont homozygotes sensibles (SS) et enfin 23 anophèles, soit (9,6) % sont homozygotes résistants (RR). Quant à la mutation *Ace*<sup>-1</sup> les proportions sont les suivantes: 127 anophèles, soit (53%) sont hétérozygotes résistants (RS), 107 anophèles, soit (44,5%) sont homozygotes sensibles (SS) et 6 anophèles, soit (2,5%) sont homozygotes résistants (RR). Les mutations *Ace*<sup>-1</sup> et *Kdr* n'ont pu être déterminées chez 13 moustiques pour les mêmes raisons évoquées plus haut dans le cas des formes moléculaires. Par ailleurs, les fréquences de l'allèle résistant ont aussi été déterminées avec les proportions suivantes: pour la mutation *Kdr*, l'allèle résistant est présent à une fréquence de 0,54. Quant à la mutation *Ace*<sup>-1</sup> cet allèle s'exprime par une fréquence de 0,29 (tableau IV).

Tableau 4. Détermination des mécanismes de résistance chez *An. gambiae*

Génotypes	Mécanismes de résistance					
	Mutation <i>Ace</i> <sup>-1</sup>			Mutation <i>Kdr</i>		
	Nb de moustiques	FqG (%)	FqA (%)	Nb de moustiques	FqG (%)	FqA (%)
RR	6	2,5	0,29	23	9,6	0,54
RS	127	53	00	215	89,6	00
SS	107	44,5	0,71	2	0,8	0,46
<b>Total</b>	<b>240</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>240</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Nb: Nombre FqG: Fréquence génotypique FqA: Fréquence allélique

### 3.4 ESPÈCE DE PLASMODIUM RENCONTRÉE

La PCR concernant la détermination de l'espèce de *Plasmodium* a révélé une température de fusion variant de [75,5-77,5]. Il s'agit donc de l'espèce *Plasmodium falciparum*.

## 4 DISCUSSION

Cette étude a pour objectif de fournir des données sur la dynamique de la population de culicidés à Azuretti (Culicidés rencontrés, espèces d'anophèles présentes, indicateurs entomologiques de la transmission, évolution des fréquences alléliques des mutations *Kdr* et *Ace-1<sup>R</sup>*) d'une part, et d'évaluer la sensibilité des moustiques de Grand-Bassam aux pyréthrinoïdes (perméthrine, deltaméthrine et alphacyperméthrine) et au chlorpyrifos-méthyl (organophosphoré) d'autre part.

### 4.1 DONNÉES ENTOMOLOGIQUES ET PARASITOLOGIQUES

À Azuretti, *An. gambiae* est l'espèce la plus présente à l'intérieur des maisons (69,3%). Cette espèce a toujours été observée partout en Côte d'Ivoire où l'inventaire de la faune culicidienne a été réalisé [23]. L'effectif maximal d'anophèles a été atteint au mois de juin (N= 116). La proportion très élevée de la population d'*An. gambiae* comparativement aux autres culicidés aurait son explication dans la méthode de capture adoptée, qui a été la capture intra-domiciliaire (CID). En effet, *An. gambiae* est une espèce endophile, endophage et anthropophile [24]. En outre, son abondance maximale au mois de juin s'explique par la pluviométrie maximale (260 mm) observée en ce mois. L'abondance de la pluie favorisant la prolifération des gîtes favorables au développement des larves d'*An. gambiae*, les adultes issus de ces larves sont donc plus nombreux. Cette espèce a représenté plus des deux tiers de la faune culicidienne récoltée. Elle cause, par conséquent, une nuisance aux populations locales. Des trois meilleurs vecteurs du paludisme en Afrique, en l'occurrence *An. gambiae*, *An. funestus* et *An. nili*, seul *An. gambiae* a été rencontré. L'absence des deux espèces pourrait s'expliquer par la rareté des gîtes caractéristiques dans ce village, constitués par les fleuves et les cours d'eau à végétation dressée [25]. L'absence d'*An. funestus* pourrait impacter, dans ce village, la transmission du paludisme car cette espèce assure la continuité de celle-ci en absence d'*An. gambiae* [26], même parfois en saison sèche. Concernant le taux de parturité, sa valeur très élevée, suggère un très faible renouvellement de la population anophélienne, en raison de la rareté des gîtes larvaires indispensables à leur développement ; le sol étant sableux dans ce village, il ne retient pas l'eau pendant longtemps et celle-ci s'infiltré très rapidement. En effet, un faible taux de parturité induit une production massive de femelles nullipares [27]. Mais, ces taux de parturité qui sont proches du maximum (100%) traduisent une capacité très élevée de la transmission du paludisme dans ce village. En effet, ce taux élevé indique la présence de femelles potentiellement vectrices de *Plasmodium* et un haut niveau de contact homme/vecteur.

En ce qui concerne l'infestation de *Plasmodium falciparum*, un indice sporozoïtique (IS) de 4,34% a été observé, traduisant un risque de transmission du paludisme à Azuretti, car le parasite et le vecteur infesté y sont présents. Alors, il ressort que malgré la distribution en masse de moustiquaires imprégnées d'insecticides, le risque de contracter le paludisme est bien présent. Il serait donc judicieux d'envisager d'autres méthodes de lutte comme la lutte anti-larvaire et la pulvérisation intra-domiciliaire (PID). Il faudrait aussi développer des outils d'information, d'éducation et de communication (IEC) afin d'amener la population à mieux mener la lutte contre le paludisme. Ce taux est similaire à ceux obtenus lors d'une étude à Bouaké, au centre de la Côte d'Ivoire, avec un indice sporozoïtique annuel moyen variant de 3,1 à 4,5% [27]. Par contre, ce taux est situé entre ceux obtenus au Burkina Faso où des valeurs allant de 0,83 à 10,31% ont été enregistrées [28]. Cependant, il est plus élevé que les taux obtenus en Afrique centrale, au Cameroun, avec des proportions variant de 0 à 2,15% [29].

### 4.2 TESTS DE SENSIBILITÉ

Les résultats des tests de sensibilité dans les cylindres OMS, avec la souche de référence d'*An. gambiae* (Kisumu) ont révélé une sensibilité parfaite de cette souche à l'organophosphoré (chlorpyrifos-méthyl) et aux pyréthrinoïdes (alphacyperméthrine, deltaméthrine et perméthrine) testés dans cette étude. Par contre, la population d'*Anopheles gambiae* de Grand-Bassam présente une résistance à ces trois pyréthrinoïdes. Cette résistance se traduit par un faible taux de mortalité (inférieur à 80%) et une augmentation du KdT. Toutefois, la mortalité observée des anophèles femelles est plus accentuée avec la deltaméthrine et l'alphacyperméthrine qu'avec la perméthrine, traduisant une résistance moins accentuée avec les  $\alpha$ -cyanés. En effet, les  $\alpha$ -cyanés tels que la deltaméthrine et l'alphacyperméthrine sont plus efficaces que les non  $\alpha$ -cyanés comme la perméthrine. En outre, ce moindre niveau de résistance chez les  $\alpha$ -cyanés peut aussi être dû à leur moindre utilisation ou leur utilisation moins fréquente que celle de la perméthrine par la population locale. De même, une résistance à la deltaméthrine, à la perméthrine et à l'alphacyperméthrine a été observée par d'autres auteurs lors de l'évaluation de la résistance aux pyréthrinoïdes d'*An. gambiae* s.l [29].

Pareillement, la résistance d'*An. gambiae* à ces trois pyréthrinoïdes a été également signalée en Côte d'Ivoire [30]. Cette résistance est très préoccupante dans la mesure où actuellement, seuls ces insecticides sont recommandés par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour l'imprégnation des moustiquaires, des rideaux et autres supports utilisés dans la lutte contre

les vecteurs du paludisme. Toute résistance aux pyréthriinoïdes, du vecteur du paludisme représente alors une menace potentielle pour les programmes nationaux de lutte contre cette maladie endémique, basés sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILDA). Ainsi, des études menées en Afrique, au Bénin, ont déjà montré une chute inquiétante de l'efficacité des MILDA et des PID en zone de forte résistance des vecteurs aux insecticides [31]. Pour tous les pyréthriinoïdes testés, il existe une relation inverse entre le KdT et le taux de mortalité observé. En effet, moins le KdT est élevé et plus la mortalité est élevée. Nous pourrions donc en déduire que l'augmentation du KdT d'un pyréthriinoïde donné, indiquerait le développement d'un phénomène de résistance. Ainsi, la mesure de l'effet Knock down a d'ailleurs été considérée depuis longtemps par plusieurs auteurs comme un critère d'efficacité des pyréthriinoïdes ou de détection de la résistance [32]. De même, *An. gambiae* manifeste une résistance au chlorpyriphos-méthyl à Grand-Bassam.

La zone d'étude est un périmètre agricole depuis la période coloniale. En effet, Grand-Bassam a été un département de culture de cacao, de café, de bananes douces et d'ananas. Dans le but d'améliorer le rendement et la qualité des fruits, une lutte farouche a été menée contre les insectes dévastateurs de cultures. Ainsi, des insecticides sont régulièrement pulvérisés sur les plantes. Ces traitements dégagent des particules de matière active qui entrent directement en contact avec les gîtes larvaires et, par conséquent, avec les larves de moustique qui s'y développent. La résistance actuelle aurait donc pour origine, d'une part, l'intense utilisation des produits chimiques (herbicides, fongicides et insecticides) dans le département, la pression de sélection antérieure créée par l'usage agricole du DDT dans les années 1950 et 1960 [33] et, d'autre part, l'usage des pyréthriinoïdes, ces dernières années, en agriculture et en santé publique [34]. En effet, les pyréthriinoïdes, famille d'insecticides utilisée, par excellence, à l'imprégnation des moustiquaires est celle la plus utilisée sur le plan agricole. Ceci a un effet de sélection vis-à-vis des animaux, dont les insectes (notamment les anophèles) de cette zone.

#### 4.3 MÉCANISMES DE RÉSISTANCE

Tous les anophèles femelles que nous avons capturés au cours de notre enquête ont servi pour la détermination des mécanismes de résistance, par la technique de la qPCR. Les mécanismes de résistance mis en évidence ont été les mutations *Ace<sup>-1</sup>* et *Kdr-w* dans des proportions variées. Concernant la mutation *Kdr-w*, la faible proportion d'individus homozygotes sensibles, d'une part, et la proportion très élevée d'individus hétérozygotes résistants, d'autre part, suggère que l'allèle résistant est bien implanté dans la population d'*An. gambiae* de Grand-Bassam. Au fil des années, la fréquence de l'allèle résistant va augmenter. Toutefois, une étude conduite au nord de la Côte d'Ivoire, à Korhogo, a donné des fréquences alléliques largement supérieures à celles obtenues à Grand-Bassam. En effet, [6] y ont trouvé des fréquences variant de 0,55 à 1. De même, une étude menée au Gabon a révélé des fréquences allant de 0,99 à 1 concernant l'allèle *kdr-w* [35].

Quant à la mutation *Ace-1*, l'allèle résistant s'exprime à une fréquence de 0,29. Il est donc environ deux fois moins présent que l'allèle *Kdr* dans la population. La mutation *Ace<sup>-1</sup>* contrairement à la mutation *Kdr* n'est donc pas encore bien implantée dans la population d'*An. gambiae* de Grand-Bassam. Ceci est conforme aux résultats des tests de sensibilité. En effet, bien que *An. gambiae* se soit révélé résistant au chlorpyriphos- méthyl, le pourcentage de mortalité obtenu avec cet insecticide est beaucoup plus élevé que ceux obtenus avec les pyréthriinoïdes. Cependant, on ne peut pas envisager l'utiliser comme insecticide de substitution aux pyréthriinoïdes. Ces résultats sont presque similaires à ceux obtenus à Bouaké au centre de la Côte d'Ivoire avec des chiffres allant de 0,25 à 0,38 [36]. Par contre, ils sont largement plus élevés que ceux obtenus lors d'une étude réalisée au Burkina Faso avec des valeurs variant de 0 à 0,12 [37].

#### 4.4 FORMES MOLÉCULAIRES

Dans la population étudiée, seule l'espèce *An. coluzzii* (forme moléculaire M) a été identifiée, comme dans le cas de travaux antérieurs. En effet, il est connu qu'*An. coluzzii* est dominante en zone de forêt [30], alors que *An. gambiae* s.s. qui est la forme dite Savane (S) est dominante en zone de savane. L'existence uniquement d'*An. coluzzii* et l'absence d'hybride témoigne d'un processus de spéciation en cours d'évolution en partie liée aux modifications environnementales induites par l'homme [38]. Les larves d'*An. gambiae* s.s., à priori, plus ancestrales, vivent dans les collections d'eau temporaires dépendantes des pluies. Par contre, les larves d'*An. coluzzii*, sont adaptées aux gîtes permanents et/ou sub-permanents que représentent les rivières, les lagunes, les périmètres agricoles irrigués et les rizières.

### 5 CONCLUSION

La présente étude a révélé la présence de quatre genres de moustiques répartis en neuf espèces. La seule espèce vectrice du paludisme répertoriée a été *An. gambiae*, dont la densité la plus forte a été enregistrée au mois de juin. Par ailleurs, seul *An. coluzzii* constitue la population anophélienne d'Azuretti. Les tests de sensibilité réalisés ont montré une résistance des



anophèles vis-à-vis de tous les insecticides utilisés. Les gènes de résistance mis en cause qui sont les gènes *Kdr-w* et *Ace-1* se sont révélés à des fréquences alléliques respectives de 0,54 et 0,29 au sein de la population d'*Anopheles gambiae*. Le gène *Kdr-w* est donc presque deux fois plus abondant que le gène *Ace-1* dans la population d'*Anopheles gambiae* de Grand-Bassam. Sachant qu'aujourd'hui les moustiquaires sont à majorité imprégnées de pyréthrinoïdes, la résistance au chlorpyrifos-méthyl qui est un organophosphoré vient en ajouter encore sur notre inquiétude. Le parasite rencontré était *Plasmodium falciparum*. et le risque de transmission du paludisme est très élevé, en rapport avec un taux de parturité très élevé également et la présence de vecteurs infestés.

#### REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier M. Amouzou KENDJA pour l'aide qu'il nous a apportée durant cette étude. Nous remercions également le chef du village, les notables et la population d'Azuretti pour leur franche collaboration et leur disponibilité dans l'exécution de ce travail.

#### CONFLIT D'INTÉRÊT

Aucun

#### REFERENCES

- [1] OMS, 2021. Rapport sur le paludisme dans le monde, 322 p.
- [2] Gouzilé A.P., Soro G.E., Kouakou K.E., Goula T.B.A. & Sroholou B., 2016. Variabilité climatique et dynamisme du paludisme dans la région de la Marahoué en Côte-d'Ivoire. *Environ., Risq. Sant.*, 15 (6): 515-527.
- [3] PNL, 2021. Plan National de suivi et Evaluation de la Lutte contre le Paludisme 2021-2025, 84 p.
- [4] PNL, 2017. 4<sup>e</sup> Colloque Scientifique sur le Paludisme, 19-20 avril 2017, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, (Côte-d'Ivoire).
- [5] Touré D. S., Ouattara F.A., Kwadjo K.E., Kra K.D., Doumbia M. & Doannio J.M-C, 2018. Diversité spécifique des anophèles et répartition saisonnières des vecteurs majeurs du paludisme de la savane sèche rurale du nord de la Côte d'Ivoire. *Af. Scienc.* 14 (4): 31-39.
- [6] Zogo B., Soma D.D., Tchiekoi N. B., Somé A., Ahoua Alou. P. L., Koffi A. A., Fournet F., Dahounto A., Coulibaly B., Kandé S., Dabiré K. R., Baba-Moussa L., Moiroux N. & Pennetier C., 2019. *Anopheles* binomic, insecticide resistance mechanisms, and malaria transmission in the Korhogo area, northern Côte d'Ivoire: a pre-intervention study. *Parasite*, 26 (40): 1-11.
- [7] Bassa K.F., Ouattara M., Silué K.D., Adiossan G.L., Baïkoro N., Koné S., N'cho M., Traoré M., Bonfoh B., Utzinger J. & N'goran K.E., 2016. Epidemiology of malaria in the Taabo health and demographic surveillance system, south-central Côte d'Ivoire. *Malar.*, 15: 9J.
- [8] Adja A.M., N'goran K.E., Koudou G.B., Dia I., Kengne P., Fontenille D. & Chandre F., 2011. Contribution of *Anopheles funestus*, *An. gambiae* and *An. nili* (Diptera: culicidae) to the perennial malaria transmission in the southern and western forest areas of Côte d'Ivoire. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 105 (1): 13-24.
- [9] Koné A.B., Tiembré I., Cissé G., Diallo A., Tanner M. & N'goran K.E., 2015. Impact de l'urbanisation sur l'indice plasmodique et les densités parasitaires chez les enfants de 0 à 5 ans dans la commune de Yopougon, Abidjan (Côte d'Ivoire). *Med. Sant. trop.*, 25: 69-74.
- [10] Coz J., 1973. Contribution à la biologie du complexe *Anopheles gambiae* Giles en Afrique Occidentale. *Cah.O.R.S.T.O.M., Sér. Ent. Méd. Parasitol.*, 11 (1), 33-40.
- [11] Fofana D., Konan K L., Djohan V., Konan Y.L., Kone A.B., Doannio J.M.C. & N'goran K.E., 2010b. Diversité spécifique et nuisance culicidienne dans les villages de N'gatty et d'Allaba en milieu côtier lagunaire de Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 103 (5), 333-339.
- [12] Gueye M.F., Odoukpe K.S-G., Koné Y.S. & YaoKokoré-Beibro K.H., 2019. Abondance et variation saisonnière des limicoles du littoral Sud-Est de la Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 144 (4): 235-245.
- [13] Mattingly P. F., 1971. Contributions to the mosquito fauna of Southeast Asia. XII. Illustrated keys to the genera of mosquitoes (Diptera, Culicidae). *Cont. Am. Entomol. Inst.*, 7 (4): 1-84.
- [14] Gillies M. T. & De Meillon B., 1968. The Anophelienae of Africa South of Sahara (Ethiopian zoogeographical region), *South Africa Inst. Med. Res., Johannesburg.* 54: 344 p.
- [15] Detinova T S, 1963. Méthode à appliquer pour classer par groupe d'âge les diptères présentant une importance médicale. *Genève, Organisation Mondiale de la Santé, Sér. Monogr.*, 47, 220 p.

- [16] Collins F H, Mendez M A, Rasmussen M O, Mehaffey P C, Besansky N J & Finnerly V, 1987. A ribosomal RNA gene probe differentiates members species of the *Anopheles gambiae* complex. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 37 (1): 37-41.
- [17] Favia G., Lanfrancotti A., Spanos L., Sidén-Kiamos I. & Louis C., 2001. Molecular characterization of ribosomal DNA (rDNA) polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. *Insect. Mol. Biol.*, 10: 19-23.
- [18] Mangold K.M., Manson U.R., Koay S C. E., Stephens L., Regne M.A., Thomson Jr. R.B., Peterson L.R. & Kaul K. L., 2005. Real-Time PCR for detection and Identification of *Plasmodium* spp. *J. Clin. Microbiol.*, 43 (5), 2435-2440.
- [19] Bass C., Nikou D., Donnelly M.J., Williamson M.S., Ranson H., Ball A., Vontas J. & Field L.M., 2007. Detection of knock down resistance (kdr) mutations in *Anopheles gambiae*: a comparison of two new high-throughput assays with existing methods. *Malar. J.*, 6: 111.
- [20] Bass C., Nikou D., Vontas J, Donnelly M.J., Williamson M.S. & Field L.M., 2010. The Vector Population Monitoring Tool (VPMT): High-Throughput DNA-Based Diagnostic for the Monitoring of Mosquito Vector Populations. *Malar. Res. Treat.*, 2010 (190434), 8 p.
- [21] Essandoh J., Yawson A.E., & Weetman D., 2013. Acetylcholinesterase (*Ace*<sup>-1</sup>) target site mutation 119 S is strongly diagnostic of carbamate and organophosphate resistance in *Anopheles gambiae* s.s. and *Anopheles coluzzii* across southern Ghana. *Malar. J.*, 12: 404.
- [22] OMS, 2021. Test procedures for insecticides resistance monitoring in malaria vectors mosquitoes, 54 p.
- [23] Betsi N. A., Tchicaya S. E. & Koudou G. B., 2012. Forte prolifération de larves d'*Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus* en milieux rizicoles irrigués et non irrigués dans la région forestière ouest de la Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 105: 220-229.
- [24] Frei J., 2018. Respiratory physiology and anthropophilic behavioural traits of the main malaria vector *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae). Doctoral thesis, University of Neuchatel, 216 p.
- [25] Adja A.M., 2008. Rôle de *Anopheles funestus* Giles 1900 et *Anopheles nili* Théobald dans la transmission du paludisme en zones de savane et de forêt et structure génétique de leurs populations en Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat d'Entomologie Médicale, Université d'Abidjan-Cocody, 150 p.
- [26] Assouho K.F., Adja A.M., Guindo-Coulibaly N., Tia E., Kouadio A.M.N., Zoh D.D., Koné M., Kessé B.N., Koffi B., Sagna B.A., Poinsignon A. & Yapi A., 2020. Vectorial Transmission of Malaria in Major Districts of Côte d'Ivoire. *J. Med. Entomol.*, 57 (3), p.908-914.
- [27] Diakitè N. R., Adja A. M., Von Stam T., Utzinger J. & N'goran K. E., 2010. Situation épidémiologique avant la mise en eau du barrage hydro-agricole de cinq villages de Bouaké, centre de la Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 103: 22-28.
- [28] Soma D. D., Namountougou M., Sangaré I., Sawadogo S. P., Maïga H., Yaméogo B., Sanou R., Poda S., Fournet F., Tinto H., Diabaté A. & Dabiré K. R., 2017. Transmission entomologique du paludisme à Nanoro, site de l'essai vaccinal RTS'S au Burkina Faso. *Rev. CAMES SANTE*, 5 (2): 15-20.
- [29] Akono N. P., Mbouangoro A., Mbida Mbida A., Ndo C., Nsangou Peka M.F. & Kekeunou S., 2017. Le complexe d'espèce *Anopheles gambiae* et le gène de résistance kdr en périphérie de Douala, Cameroun. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 110: 122-129.
- [30] Tia E., Chouaïbou M., Gbalégba C.N.G., Boby A.M.O., Koné M. & Kadjo K.A., 2017. Distribution des espèces et de la fréquence du gène kdr chez les populations d'*An. gambiae* s.s.et d'*An. coluzzii* dans 5 sites agricoles de la Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 110: 130-134.
- [31] Asidi A.N, N'Guessan R, Akogbeto M, Curtis C. & Rowland M., 2012. Loss of household protection from use of insecticide-treated nets against pyrethroid-resistant mosquitoes, Benin. *Emerg. Infect. Dis.* 2012, 18 (7): 1101-1106.
- [32] Hemingway J., 1980. Modification of the adult resistance test kit to measure knock down rates. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 74: 677.
- [33] Coz J., Davidson G., Chauvet G. & Hamon J., 1968. La résistance des Anophèles aux insecticides en Afrique tropicale et à Madagascar. *Cah. O.R.S.T.O.M., Sér. Ent. Méd. Parasitol.*, 6 (3-4): 207-210.
- [34] Soro G., Koffi M.N., Koné B., Kouakou E.Y., M'Bra R.K., Soro P.D. & Soro N., 2018. Utilisation de produits phytosanitaires dans le maraîchage autour du barrage d'alimentation en eau potable de la ville de Korhogo (nord de la Côte-d'Ivoire): risques pour la santé publique. *Environ. Risque Santé*, 17 (2): p.155-163.
- [35] Koumba A. A., Koumba C. R. Z., Nguema R. M., Djogbenou L. S., Comlan P., Gneingui M. P., Ketoh K.G., M'batchi B. & Mavoungou, J.F, 2018. Détermination de la sensibilité des *Anopheles gambiae* s.l. à quelques pyréthrinoides dans les zones élaéicoles à Mouila (Gabon). *Int. J. Innov. Sci. Res.*, 39 (2): 110-119.
- [36] Zoh D. D., Ahoua Alou. P. L., Touré M., Penetier C., Camara S., Traoré D. F., Koffi A. A., Adja A. M., Yapi A. & Chandre F., 2018. The current insecticide resistance of *Anopheles gambiae* s.l. (Culicidae) in rural and urban areas of Bouaké, Côte d'Ivoire. *Parasit. vectors*, 11: 118.
- [37] Namountougou M., Soma D. D., Kientega M., Balboné M., Kaboré A. P. D., Drabo F. S., Coulibaly Y. A., Fournet F., Baldet T., Diabaté A., Dabiré K. R. & Gnankiné O., 2019. Insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* complex populations from Burkina Faso, West Africa. *Acta Tropica*, 197.
- [38] Coluzzi M., 1992. Malaria vector analysis and control. *Parasitology Today*, 8: p. 113-118.