

**UNIVERSITE DE YAOUNDE I**  
**UNIVERSITY OF YAOUNDE I**



**FACULTE DES SCIENCES**  
**FACULTY OF SCIENCE**

**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES**  
**DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY**

**LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE ET ECOLOGIE**  
**PARASITOLOGY AND ECOLOGY LABORATORY**

**Influence des activités anthropiques sur le profil entomologique  
du paludisme en zone équatoriale camerounaise : cas de  
Simbock et Nyabessan**

**Thèse**

Présentée en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D en Biologie des Organismes Animaux

Option : Parasitologie et Ecologie

Par

**MBAKOP Lili Ranaise**

Matricule : 05U007

*Master ès-sciences*

Sous la co-direction de

**ETANG Josiane Désirée**

**Maître de Conférences**

**Université de Douala**

et

**FOMENA Abraham**

**Professeur**

**Université de Yaoundé I**



**Année 2022**

REPUBLIQUE DU CAMEROUN  
Paix-Travail-Patrie  
\*\*\*\*\*  
UNIVERSITÉ DE YAOUNDE I  
\*\*\*\*\*  
FACULTE DES SCIENCES  
BP: 812 YDE  
\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROON  
Peace-Work-Fatherland  
\*\*\*\*\*  
THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
\*\*\*\*\*  
FACULTY OF SCIENCE  
BP: 812 YDE  
\*\*\*\*\*

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES  
*DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY*

**ATTESTATION DE CORRECTION DE LA THESE**

Nous soussignés, membres du jury de la Thèse de Doctorat/Ph.D en Biologie des Organismes Animaux (Option : Parasitologie) de Mme MBAKOP Lili Ranaise, matricule 05U007, soutenance autorisée par la correspondance N° 041-2022/UYI/CRFD\_SVSE/URFD-SV/ad du Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 11 mars 2022 sur le sujet intitulé : « **Influence des activités anthropiques sur le profil entomologique du paludisme en zone équatoriale camerounaise : cas de Simbock et Nyabessan** », attestons que les corrections exigées à la candidate lors de cette évaluation, qui a eu lieu le 04 Avril 2022, ont réellement été effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

En foi de quoi la présente attestation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé le **20 JUN 2022** .....

L'Examineur

*Jude D. Bigoga, PhD*  
Professor,  
(Molecular Parasitology / Medical Entomology)

Le Président du jury

*P. F. Njikon*

Le Chef de Département



*Charles Félicie Bilong Bilong*  
Professeur

|                                                                                                                                        |                                                                                  |                                                                                                                                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b><br><b>Faculté des Sciences</b><br>Division de la Programmation et du<br>Suivi des Activités Académiques |  | <b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I</b><br><b>Faculty of Science</b><br>Division of Programming and Follow-up<br>of Academic Affairs |
| <b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>                                                                                                |                                                                                  | <b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>                                                                                         |

**ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022**

(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION 22 septembre 2021**

**ADMINISTRATION**

**DOYEN** : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

**VICE-DOYEN / DPSAA** : ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

**VICE-DOYEN / DSSE** : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DRC** : ABOSSOLO Monique, *Maître de Conférences*

**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*

**Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR** : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

**1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (37)**

| N° | NOMS ET PRÉNOMS                | GRADE      | OBSERVATIONS        |
|----|--------------------------------|------------|---------------------|
| 1  | BIGOGA DAIGA Jude              | Professeur | En poste            |
| 2  | FEKAM BOYOM Fabrice            | Professeur | En poste            |
| 3  | FOKOU Elie                     | Professeur | En poste            |
| 4  | KANSCI Germain                 | Professeur | En poste            |
| 5  | MBACHAM FON Wilfried           | Professeur | En poste            |
| 6  | MOUNDIPA FEWOU Paul            | Professeur | Chef de Département |
| 7  | NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG | Professeur | En poste            |
| 8  | OBEN Julius ENYONG             | Professeur | En poste            |

|    |                                |                       |               |
|----|--------------------------------|-----------------------|---------------|
| 9  | ACHU Merci BIH                 | Maître de Conférences | En poste      |
| 10 | ATOGHO Barbara Mma             | Maître de Conférences | En poste      |
| 11 | AZANTSA KINGUE GABIN BORIS     | Maître de Conférences | En poste      |
| 12 | BELINGA née NDOYE FOE F. M. C. | Maître de Conférences | Chef DAF / FS |
| 13 | BOUDJEKO Thaddée               | Maître de Conférences | En poste      |
| 14 | DJUIDJE NGOUNOUE Marceline     | Maître de Conférences | En poste      |
| 15 | EFFA ONOMO Pierre              | Maître de Conférences | En poste      |
| 16 | EWANE Cécile Annie             | Maître de Conférences | En poste      |

|    |                           |                       |                               |
|----|---------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| 17 | MOFOR née TEUGWA Clotilde | Maître de Conférences | Inspecteur de Service MINESUP |
| 18 | NANA Louise épouse WAKAM  | Maître de Conférences | En poste                      |
| 19 | NGONDI Judith Laure       | Maître de Conférences | En poste                      |
| 20 | NGUEFACK Julienne         | Maître de Conférences | En poste                      |
| 21 | NJAYOU Frédéric Nico      | Maître de Conférences | En poste                      |
| 22 | TCHANA KOUATCHOUA Angèle  | Maître de Conférences | En poste                      |

|    |                                |                  |          |
|----|--------------------------------|------------------|----------|
| 23 | AKINDEH MBUH NJI               | Chargé de Cours  | En poste |
| 24 | BEBEE Fadimatou                | Chargée de Cours | En poste |
| 25 | BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie | Chargé de Cours  | En poste |
| 25 | DAKOLE DABOY Charles           | Chargé de Cours  | En poste |
| 26 | DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane    | Chargée de Cours | En poste |
| 27 | DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise   | Chargé de Cours  | En poste |
| 28 | FONKOUA Martin                 | Chargé de Cours  | En poste |
| 29 | KOTUE TAPTUE Charles           | Chargé de Cours  | En poste |
| 30 | LUNGA Paul KEILAH              | Chargé de Cours  | En poste |
| 31 | MANANGA Marlyse Joséphine      | Chargée de Cours | En poste |
| 32 | MBONG ANGIE M. Mary Anne       | Chargée de Cours | En poste |
| 33 | Palmer MASUMBE NETONGO         | Chargé de Cours  | En poste |
| 34 | PECHANGOU NSANGO Sylvain       | Chargé de Cours  | En poste |

|    |                                 |            |          |
|----|---------------------------------|------------|----------|
| 33 | FOUPOUPOUOGNIGNI Yacouba        | Assistant  | En poste |
| 34 | KOUOH ELOMBO Ferdinand          | Assistant  | En poste |
| 35 | MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle | Assistante | En poste |
| 36 | OWONA AYISSI Vincent Brice      | Assistant  | En poste |
| 37 | WILFRIED ANGIE Abia             | Assistante | En poste |

## 2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (51)

|    |                              |            |                     |
|----|------------------------------|------------|---------------------|
| 1  | AJEAGAH Gideon AGHAINDUM     | Professeur | DAARS/FS            |
| 2  | BILONG BILONG Charles-Félix  | Professeur | Chef de Département |
| 3  | DIMO Théophile               | Professeur | En Poste            |
| 4  | DJIETO LORDON Champlain      | Professeur | En Poste            |
| 5  | DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré | Professeur | En Poste            |
| 6  | ESSOMBA née NTSAMA MBALA     | Professeur | Vice Doyen/FMSB/UYI |
| 7  | FOMENA Abraham               | Professeur | En Poste            |
| 8  | KAMTCHOUING Pierre           | Professeur | En poste            |
| 9  | KEKEUNOU Sévilor             | Professeur | En poste            |
| 10 | NJAMEN Dieudonné             | Professeur | En poste            |
| 11 | NJIOKOU Flobert              | Professeur | En Poste            |
| 12 | NOLA Moïse                   | Professeur | En poste            |
| 13 | TAN Paul VERNYUY             | Professeur | En poste            |

|    |                              |            |                                                        |
|----|------------------------------|------------|--------------------------------------------------------|
| 14 | TCHUEM TCHUENTE Louis Albert | Professeur | <i>Inspecteur de service<br/>Coord.Progr./MINSANTE</i> |
| 15 | ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert  | Professeur | <i>En poste</i>                                        |

|    |                                         |                       |          |
|----|-----------------------------------------|-----------------------|----------|
| 16 | BILANDA Danielle Claude                 | Maître de Conférences | En poste |
| 17 | DJIOGUE Séfirin                         | Maître de Conférences | En poste |
| 18 | JATSA BOUKENG Hermine épse<br>MEGAPTCHÉ | Maître de Conférences | En Poste |
| 19 | LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.               | Maître de Conférences | En poste |
| 20 | MEGNEKOU Rosette                        | Maître de Conférences | En poste |
| 21 | MONY Ruth épse NTONE                    | Maître de Conférences | En Poste |
| 22 | NGUEGUIM TSOFAK Florence                | Maître de Conférences | En poste |
| 23 | TOMBI Jeannette                         | Maître de Conférences | En poste |

|    |                             |                  |               |
|----|-----------------------------|------------------|---------------|
| 24 | ALENE Désirée Chantal       | Chargée de Cours | En poste      |
| 25 | ATSAMO Albert Donatien      | Chargé de Cours  | En poste      |
| 26 | BELLET EDIMO Oscar Roger    | Chargé de Cours  | En poste      |
| 27 | DONFACK Mireille            | Chargée de Cours | En poste      |
| 28 | ETEME ENAMA Serge           | Chargé de Cours  | En poste      |
| 29 | GOUNOUE KAMKUMO Raceline    | Chargée de Cours | En poste      |
| 30 | KANDEDA KAVAYE Antoine      | Chargé de Cours  | En poste      |
| 31 | MAHOB Raymond Joseph        | Chargé de Cours  | En poste      |
| 32 | MBENOUN MASSE Paul Serge    | Chargé de Cours  | En poste      |
| 33 | MOUNGANG Luciane Marlyse    | Chargée de Cours | En poste      |
| 34 | MVEYO NDANKEU Yves Patrick  | Chargé de Cours  | En poste      |
| 35 | NGOULATEU KENFACK Omer Bébé | Chargé de Cours  | En poste      |
| 36 | NGUEMBOK                    | Chargé de Cours  | En poste      |
| 37 | NJUA Clarisse Yafi          | Chargée de Cours | Chef Div. UBA |
| 38 | NOAH EWOTI Olive Vivien     | Chargée de Cours | En poste      |
| 39 | TADU Zephyrin               | Chargé de Cours  | En poste      |
| 40 | TAMSA ARFAO Antoine         | Chargé de Cours  | En poste      |
| 41 | YEDE                        | Chargé de Cours  | En poste      |

|    |                                    |            |          |
|----|------------------------------------|------------|----------|
| 42 | AMPON NSANGO Indou                 | Assistant  | En poste |
| 43 | BASSOCK BAYIHA Etienne Didier      | Assistant  | En poste |
| 44 | ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine      | Assistante | En poste |
| 45 | FEUGANG YOUNSSI François           | Assistant  | En poste |
| 46 | FOKAM Alvine Christelle Epse KEGNE | Assistante | En poste |
| 47 | GONWOUO NONO Legrand               | Assistant  | En poste |
| 48 | KOGA MANG DOBARA                   | Assistant  | En poste |
| 49 | LEME BANOCK Lucie                  | Assistante | En poste |
| 50 | NWANE Philippe Bienvenu            | Assistant  | En poste |
| 51 | YOUNOUSSA LAME                     | Assistant  | En poste |

**3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (31)**

|   |                          |            |                     |
|---|--------------------------|------------|---------------------|
| 1 | AMBANG Zachée            | Professeur | Chef Division/UYII  |
| 2 | BELL Joseph Martin       | Professeur | En poste            |
| 3 | DJOCGOUE Pierre François | Professeur | En poste            |
| 4 | MBOLO Marie              | Professeur | En poste            |
| 5 | MOSSEBO Dominique Claude | Professeur | En poste            |
| 6 | YOUMBI Emmanuel          | Professeur | Chef de Département |
| 7 | ZAPFACK Louis            | Professeur | En poste            |

|    |                              |                       |              |
|----|------------------------------|-----------------------|--------------|
| 8  | ANGONI Hyacinthe             | Maître de Conférences | En poste     |
| 9  | BIYE Elvire Hortense         | Maître de Conférences | En poste     |
| 10 | MALA Armand William          | Maître de Conférences | En poste     |
| 11 | MBARGA BINDZI Marie Alain    | Maître de Conférences | CT/ MINESUP  |
| 12 | NDONGO BEKOLO                | Maître de Conférences | CE / MINRESI |
| 13 | NGODO MELINGUI Jean Baptiste | Maître de Conférences | En poste     |
| 14 | NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.    | Maître de Conférences | En poste     |
| 15 | TONFACK Libert Brice         | Maître de Conférences | En poste     |
| 16 | TSOATA Esaïe                 | Maître de Conférences | En poste     |

|    |                             |                  |          |
|----|-----------------------------|------------------|----------|
| 17 | DJEUANI Astride Carole      | Chargé de Cours  | En poste |
| 18 | GOMANDJE Christelle         | Chargée de Cours | En poste |
| 19 | MAFFO MAFFO Nicole Liliane  | Chargé de Cours  | En poste |
| 20 | MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel | Chargé de Cours  | En poste |
| 21 | NGALLE Hermine BILLE        | Chargée de Cours | En poste |
| 22 | NNANGA MEBENGA Ruth Laure   | Chargé de Cours  | En poste |
| 23 | NOUKEU KOUAKAM Armelle      | Chargé de Cours  | En poste |
| 24 | ONANA JEAN MICHEL           | Chargé de Cours  | En poste |

|    |                                   |           |          |
|----|-----------------------------------|-----------|----------|
| 25 | GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG        | Assistant | En poste |
| 26 | KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger | Assistant | En poste |
| 27 | KONO Léon Dieudonné               | Assistant | En poste |
| 28 | LIBALAH Moses BAKONCK             | Assistant | En poste |
| 29 | LIKENG-LI-NGUE Benoit C           | Assistant | En poste |
| 30 | TAEDOUNG Evariste Hermann         | Assistant | En poste |
| 31 | TEMEGNE NONO Carine               | Assistant | En poste |

**4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (32)**

|   |                                 |            |                                   |
|---|---------------------------------|------------|-----------------------------------|
| 1 | AGWARA ONDOH Moïse              | Professeur | <i>Chef de Département</i>        |
| 2 | DJOUFAC WOUUMFO Emmanuel        | Professeur | En poste                          |
| 3 | Florence UFI CHINJE épouse MELO | Professeur | <i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>    |
| 4 | GHOGOMU Paul MINGO              | Professeur | <i>Ministre Chargé de Miss.PR</i> |

|    |                            |            |                          |
|----|----------------------------|------------|--------------------------|
| 5  | NANSEU Njiki Charles Péguy | Professeur | En poste                 |
| 6  | NDIFON Peter TEKE          | Professeur | CT MINRESI               |
| 7  | NDIKONTAR Maurice KOR      | Professeur | Vice-Doyen Univ. Bamenda |
| 8  | NENWA Justin               | Professeur | En poste                 |
| 9  | NGAMENI Emmanuel           | Professeur | DOYEN FS UDs             |
| 10 | NGOMO Horace MANGA         | Professeur | Vice Chancellor/UB       |

|    |                           |                       |          |
|----|---------------------------|-----------------------|----------|
| 11 | ACAYANKA Elie             | Maître de Conférences | En poste |
| 12 | EMADACK Alphonse          | Maître de Conférences | En poste |
| 13 | KAMGANG YOUNI Georges     | Maître de Conférences | En poste |
| 14 | KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C. | Maître de Conférences | En poste |
| 15 | KONG SAKEO                | Maître de Conférences | En poste |
| 16 | NDI NSAMI Julius          | Maître de Conférences | En poste |
| 17 | NJIOMOU C. épse DJANGANG  | Maître de Conférences | En poste |
| 18 | NJOYA Dayirou             | Maître de Conférences | En poste |
| 19 | TCHAKOUTE KOUAMO Hervé    | Maître de Conférences | En poste |

|    |                                 |                  |                 |
|----|---------------------------------|------------------|-----------------|
| 20 | BELIBI BELIBI Placide Désiré    | Chargé de Cours  | CS/ ENS Bertoua |
| 21 | CHEUMANI YONA Arnaud M.         | Chargé de Cours  | En poste        |
| 22 | KENNE DEDZO GUSTAVE             | Chargé de Cours  | En poste        |
| 23 | KOUOTOU DAOUDA                  | Chargé de Cours  | En poste        |
| 24 | MAKON Thomas Beauregard         | Chargé de Cours  | En poste        |
| 25 | MBEY Jean Aime                  | Chargé de Cours  | En poste        |
| 26 | NCHIMI NONO KATIA               | Chargé de Cours  | En poste        |
| 27 | NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE | Chargée de Cours | CT/ MINPROFF    |
| 28 | NYAMEN Linda Dyorisse           | Chargée de Cours | En poste        |
| 29 | PABOUDAM GBAMBIE A.             | Chargée de Cours | En poste        |

|    |                         |           |          |
|----|-------------------------|-----------|----------|
| 30 | NJANKWA NJABONG N. Eric | Assistant | En poste |
| 31 | PATOUOSSA ISSOFA        | Assistant | En poste |
| 32 | SIEWE Jean Mermoz       | Assistant | En Poste |

| <b>5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (40)</b> |                             |            |                                         |
|-----------------------------------------------------|-----------------------------|------------|-----------------------------------------|
| 1                                                   | DONGO Etienne               | Professeur | Vice-Doyen/FSE/UII                      |
| 2                                                   | GHOLOMU TIH Robert Ralph    | Professeur | Dir. IBAF/UDA                           |
| 3                                                   | NGOUELA Silvere Augustin    | Professeur | Chef de Département UDS                 |
| 4                                                   | NYASSE Barthélemy           | Professeur | En poste                                |
| 5                                                   | PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel | Professeur | Directeur/ MINESUP/ Chef de Département |
| 6                                                   | WANDJI Jean                 | Professeur | En poste                                |

|   |                          |                       |                    |
|---|--------------------------|-----------------------|--------------------|
| 7 | Alex de Théodore ATCHADE | Maître de Conférences | Vice-Doyen / DPSAA |
|---|--------------------------|-----------------------|--------------------|

|    |                                 |                       |                       |
|----|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| 8  | AMBASSA Pantaléon               | Maître de Conférences | En poste              |
| 9  | EYONG Kenneth OBEN              | Maître de Conférences | En poste              |
| 10 | FOLEFOC Gabriel NGOSONG         | Maître de Conférences | En poste              |
| 11 | FOTSO WABO Ghislain             | Maître de Conférences | En poste              |
| 12 | KEUMEDJIO Félix                 | Maître de Conférences | En poste              |
| 13 | KENMOGNE Marguerite             | Maître de Conférences | En poste              |
| 14 | KOUAM Jacques                   | Maître de Conférences | En poste              |
| 15 | MBAZOA née DJAMA Céline         | Maître de Conférences | En poste              |
| 16 | MKOUNGA Pierre                  | Maître de Conférences | En poste              |
| 17 | MVOT AKAK CARINE                | Maître de Conférences | En poste              |
| 18 | NGO MBING Joséphine             | Maître de Conférences | Sous/Direct. MINERESI |
| 19 | NGONO BIKOBO Dominique Serge    | Maître de Conférences | C.E/ MINESUP          |
| 20 | NOTE LOUGBOT Olivier Placide    | Maître de Conférences | C.S/ MINESUP          |
| 21 | NOUNGOUE TCHAMO Diderot         | Maître de Conférences | En poste              |
| 22 | TABOPDA KUATE Turibio           | Maître de Conférences | En poste              |
| 23 | TAGATSING FOTSING Maurice       | Maître de Conférences | En poste              |
| 24 | TCHOUANKEU Jean-Claude          | Maître de Conférences | <i>Doyen /FS/ UYI</i> |
| 25 | TIH née NGO BILONG E. Anastasie | Maître de Conférences | En poste              |
| 26 | YANKEP Emmanuel                 | Maître de Conférences | En poste              |
| 27 | ZONDEGOUMBA Ernestine           | Maître de Conférences | En poste              |

|    |                           |                  |          |
|----|---------------------------|------------------|----------|
| 28 | KAMTO Eutrophe Le Doux    | Chargé de Cours  | En poste |
| 29 | NGNINTEDO Dominique       | Chargé de Cours  | En poste |
| 30 | NGOMO Orléans             | Chargée de Cours | En poste |
| 31 | OUAHOUE WACHE Blandine M. | Chargée de Cours | En poste |
| 32 | SIELINOUE TEDJON Valérie  | Chargé de Cours  | En poste |

|    |                                |            |          |
|----|--------------------------------|------------|----------|
| 33 | MESSI Angélique Nicolas        | Assistant  | En poste |
| 34 | MUNVERA MFIFEN Aristide        | Assistant  | En poste |
| 35 | NONO NONO Éric Carly           | Assistant  | En poste |
| 36 | OUETE NANTCHOUANG Judith Laure | Assistante | En poste |
| 37 | TCHAMGOUE Joseph               | Assistant  | En poste |
| 38 | TSAFFACK Maurice               | Assistant  | En poste |
| 39 | TSAMO TONTSA Armelle           | Assistante | En poste |
| 40 | TSEMEUGNE Joseph               | Assistant  | En poste |

## 6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

|   |                             |            |                                      |
|---|-----------------------------|------------|--------------------------------------|
| 1 | ATSA ETOUNDI Roger          | Professeur | <i>Chef Div.MINESUP</i>              |
| 2 | FOUDA NDJODO Marcel Laurent | Professeur | <i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i> |

|   |               |                       |          |
|---|---------------|-----------------------|----------|
| 3 | NDOUNDAM René | Maître de Conférences | En poste |
|---|---------------|-----------------------|----------|

|    |                                |                 |                                     |
|----|--------------------------------|-----------------|-------------------------------------|
| 4  | ABESOLO ALO'O Gislain          | Chargé de Cours | En poste                            |
| 5  | AMINOOU Halidou                | Chargé de Cours | <i>Chef de Département</i>          |
| 6  | DJAM Xaviera YOUH - KIMBI      | Chargé de Cours | En Poste                            |
| 7  | DOMGA KOMGUEM Rodrigue         | Chargé de Cours | En poste                            |
| 8  | EBELE Serge Alain              | Chargé de Cours | En poste                            |
| 9  | KOUOKAM KOUOKAM E. A.          | Chargé de Cours | En poste                            |
| 10 | MELATAGIA YONTA Paulin         | Chargé de Cours | En poste                            |
| 11 | MONTHÉ DJIADEU Valéry M.       | Chargé de Cours | En poste                            |
| 12 | MOTO MPONG Serge Alain         | Chargé de Cours | En poste                            |
| 13 | OLLE OLLE Daniel Claude Delort | Chargé de Cours | Directeur adjoint Enset.<br>Ebolowa |
| 14 | TAPAMO Hyppolite               | Chargé de Cours | En poste                            |
| 15 | TINDO Gilbert                  | Chargé de Cours | En poste                            |
| 16 | TSOPZE Norbert                 | Chargé de Cours | En poste                            |
| 17 | WAKU KOUAMOU Jules             | Chargé de Cours | En poste                            |

|    |                               |            |          |
|----|-------------------------------|------------|----------|
| 18 | BAYEM Jacques Narcisse        | Assistant  | En poste |
| 19 | EKODECK Stéphane Gaël Raymond | Assistant  | En poste |
| 20 | HAMZA Adamou                  | Assistant  | En poste |
| 21 | JIOMEKONG AZANZI Fidel        | Assistant  | En poste |
| 22 | MAKEMBE. S . Oswald           | Assistant  | En poste |
| 23 | MESSI NGUELE Thomas           | Assistant  | En poste |
| 24 | MEYEMDOU Nadège Sylvianne     | Assistante | En poste |
| 25 | NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.     | Assistant  | En poste |

**7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)**

|   |                       |            |                           |
|---|-----------------------|------------|---------------------------|
| 1 | AYISSI Raoult Domingo | Professeur | Chef de Département       |
| 2 | EMVUDU WONO Yves S.   | Professeur | <i>Inspecteur MINESUP</i> |

|    |                            |                       |                                                          |
|----|----------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------|
| 3  | KIANPI Maurice             | Maître de Conférences | En poste                                                 |
| 4  | MBANG Joseph               | Maître de Conférences | En poste                                                 |
| 5  | MBEHOU Mohamed             | Maître de Conférences | En poste                                                 |
| 6  | MBELE BIDIMA Martin Ledoux | Maître de Conférences | En poste                                                 |
| 7  | NKUIMI JUGNIA Célestin     | Maître de Conférences | En poste                                                 |
| 8  | NOUNDJEU Pierre            | Maître de Conférences | <i>Chef service des programmes &amp; Diplômes/FS/UYI</i> |
| 9  | TCHAPNDA NJABO Sophonie B. | Maître de Conférences | Directeur/AIMS Rwanda                                    |
| 10 | TCHOUNDJA Edgar Landry     | Maître de Conférences | En poste                                                 |

|    |                               |                  |                        |
|----|-------------------------------|------------------|------------------------|
| 11 | BOGSO ANTOINE MARIE           | Chargé de Cours  | En poste               |
| 12 | AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard | Chargé de Cours  | Chef Cellule MINPLAMAT |
| 13 | CHENDJOU Gilbert              | Chargé de Cours  | En poste               |
| 14 | DJIADEU NGAHA Michel          | Chargé de Cours  | En poste               |
| 15 | DOUANLA YONTA Herman          | Chargé de Cours  | En poste               |
| 16 | FOMEKONG Christophe           | Chargé de Cours  | En poste               |
| 17 | KIKI Maxime Armand            | Chargé de Cours  | En poste               |
| 18 | MBAKOP Guy Merlin             | Chargé de Cours  | En poste               |
| 19 | MENGUE MENGUE David Joe       | Chargé de Cours  | En poste               |
| 20 | NGUEFACK Bernard              | Chargé de Cours  | En poste               |
| 21 | NIMPA PEFOUKEU Romain         | Chargée de Cours | En poste               |
| 22 | POLA DOUNDOU Emmanuel         | Chargé de Cours  | En poste               |
| 23 | TAKAM SOH Patrice             | Chargé de Cours  | En poste               |
| 24 | TCHANGANG Roger Duclos        | Chargé de Cours  | En poste               |
| 25 | TETSADJIO TCHILEPECK M. E.    | Chargé de Cours  | En poste               |
| 26 | TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie    | Chargée de Cours | En poste               |

|    |                              |            |          |
|----|------------------------------|------------|----------|
| 27 | BITYE MVONDO Esther Claudine | Assistante | En poste |
| 28 | FOKAM Jean Marcel            | Assistant  | En poste |
| 29 | LOUMNGAM KAMGA Victor        | Assistant  | En poste |
| 30 | MBATAKOU Salomon Joseph      | Assistant  | En poste |
| 31 | MBIAKOP Hilaire George       | Assistant  | En poste |
| 32 | MEFENZA NOUNTU Thiery        | Assistant  | En poste |
| 33 | OGADOA AMASSAYOGA            | Assistant  | En poste |
| 34 | TCHEUTIA Daniel Duviol       | Assistant  | En poste |
| 35 | TENKEU JEUFACK Yannick Léa   | Assistant  | En poste |

**8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (21)**

|   |                               |            |                            |
|---|-------------------------------|------------|----------------------------|
| 1 | ESSIA NGANG Jean Justin       | Professeur | <i>Chef de Département</i> |
| 2 | NYEGUE Maximilienne Ascension | Professeur | <i>VICE-DOYEN / DSSE</i>   |
| 3 | NWAGA Dieudonné M.            | Professeur | En poste                   |

|   |                                               |                       |          |
|---|-----------------------------------------------|-----------------------|----------|
| 4 | ASSAM ASSAM Jean Paul                         | Maître de Conférences | En poste |
| 5 | BOYOMO ONANA                                  | Maître de Conférences | En poste |
| 6 | KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM<br>Laure Brigitte | Maître de Conférences | En poste |
| 7 | RIWOM Sara Honorine                           | Maître de Conférences | En poste |
| 8 | SADO KAMDEM Sylvain Leroy                     | Maître de Conférences | En poste |

|    |                           |                  |          |
|----|---------------------------|------------------|----------|
| 9  | BODA Maurice              | Chargé de Cours  | En poste |
| 10 | BOUGNOM Blaise Pascal     | Chargé de Cours  | En poste |
| 11 | ESSONO OBOUGOU Germain G. | Chargé de Cours  | En poste |
| 12 | NJIKI BIKOÏ Jacky         | Chargée de Cours | En poste |
| 13 | TCHIKOUA Roger            | Chargé de Cours  | En poste |

|    |                                        |            |          |
|----|----------------------------------------|------------|----------|
| 14 | ESSONO Damien Marie                    | Assistant  | En poste |
| 15 | LAMYE Glory MOH                        | Assistant  | En poste |
| 16 | MEYIN A EBONG Solange                  | Assistante | En poste |
| 17 | MONI NDEDI Esther Del Florence         | Assistante | En poste |
| 18 | NKOUDOU ZE Nardis                      | Assistant  | En poste |
| 19 | SAKE NGANE Carole Stéphanie            | Assistante | En poste |
| 20 | TAMATCHO KWEYANG Blandine<br>Pulchérie | Assistante | En poste |
| 21 | TOBOLBAÏ Richard                       | Assistant  | En poste |

**9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (44)**

|    |                              |            |                         |
|----|------------------------------|------------|-------------------------|
| 1  | BEN- BOLIE Germain Hubert    | Professeur | En poste                |
| 2  | DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM | Professeur | En poste                |
| 3  | EKOBENA FOU DA Henri Paul    | Professeur | <i>Vice-Recteur. UN</i> |
| 4  | ESSIMBI ZOBO Bernard         | Professeur | En poste                |
| 5  | KOFANE Timoléon Crépin       | Professeur | En poste                |
| 6  | NANA ENGO Serge Guy          | Professeur | En poste                |
| 7  | NANA NBENDJO Blaise          | Professeur | En poste                |
| 8  | NDJAKA Jean Marie Bienvenu   | Professeur | Chef de Département     |
| 9  | NJANDJOCK NOUCK Philippe     | Professeur | En poste                |
| 10 | NOUAYOU Robert               | Professeur | En poste                |
| 11 | PEMHA Elkana                 | Professeur | En poste                |
| 12 | TABOD Charles TABOD          | Professeur | Doyen FS Univ/Bda       |

|    |                      |            |          |
|----|----------------------|------------|----------|
| 13 | TCHAWOUA Clément     | Professeur | En poste |
| 14 | WOAFO Paul           | Professeur | En poste |
| 15 | ZEKENG Serge Sylvain | Professeur | En poste |

|    |                               |                       |                             |
|----|-------------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| 16 | BIYA MOTTO Frédéric           | Maître de Conférences | DG/HYDRO Mekin              |
| 17 | BODO Bertrand                 | Maître de Conférences | En poste                    |
| 18 | ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA | Maître de Conférences | En poste                    |
| 19 | EYEBE FOU DA Jean sire        | Maître de Conférences | En poste                    |
| 20 | FEWO Serge Ibraïd             | Maître de Conférences | En poste                    |
| 21 | HONA Jacques                  | Maître de Conférences | En poste                    |
| 22 | MBANE BIOUELE César           | Maître de Conférences | En poste                    |
| 23 | MBINACK Clément               | Maître de Conférences | En poste                    |
| 24 | NDOP Joseph                   | Maître de Conférences | En poste                    |
| 25 | SAIDOU                        | Maître de Conférences | Chef de centre/IRGM/MINRESI |
| 26 | SIEWE SIEWE Martin            | Maître de Conférences | En poste                    |
| 27 | SIMO Elie                     | Maître de Conférences | En poste                    |
| 28 | VONDOU Derbetini Appolinaire  | Maître de Conférences | En poste                    |
| 29 | WAKATA née BEYA Annie         | Maître de Conférences | <i>Directeur/ENS/UJI</i>    |

|    |                               |                  |                                  |
|----|-------------------------------|------------------|----------------------------------|
| 30 | ABDOURAHIMI                   | Chargé de Cours  | En poste                         |
| 31 | CHAMANI Roméo                 | Chargé de Cours  | En poste                         |
| 32 | EDONGUE HERVAIS               | Chargé de Cours  | En poste                         |
| 33 | FOUEDJIO David                | Chargé de Cours  | Chef Cell. MINADER               |
| 34 | MBONO SAMBA Yves Christian U. | Chargé de Cours  | En poste                         |
| 35 | MEL'I Joelle Larissa          | Chargée de Cours | En poste                         |
| 36 | MVOGO ALAIN                   | Chargé de Cours  | En poste                         |
| 37 | OBOUNOU Marcel                | Chargé de Cours  | DA/Univ Inter<br>Etat/Sangmalima |
| 38 | WOULACHE Rosalie Laure        | Chargée de Cours | En poste                         |

|    |                                   |            |          |
|----|-----------------------------------|------------|----------|
| 39 | AYISSI EYEBE Guy François Valérie | Assistant  | En poste |
| 40 | DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes | Assistante | En poste |
| 41 | LAMARA Maurice                    | Assistant  | En poste |
| 42 | OTTOU ABE Martin Thierry          | Assistant  | En poste |
| 43 | TEYOU NGOUPOU Ariel               | Assistant  | En poste |
| 44 | WANDJI NYAMSI William             | Assistant  | En poste |

#### 10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

|   |                            |            |                           |
|---|----------------------------|------------|---------------------------|
| 1 | BITOM Dieudonné            | Professeur | <i>Doyen / FASA / UDs</i> |
| 2 | FOUATEU Rose épouse YONGUE | Professeur | En poste                  |
| 3 | NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy  | Professeur | En poste                  |

|   |                     |            |                     |
|---|---------------------|------------|---------------------|
| 4 | NDJIGUI Paul Désiré | Professeur | Chef de Département |
| 5 | NGOS III Simon      | Professeur | En poste            |
| 6 | NKOUMBOU Charles    | Professeur | En poste            |
| 7 | NZENTI Jean-Paul    | Professeur | En poste            |

|    |                             |                       |                                                        |
|----|-----------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------------|
| 8  | ABOSSOLO née ANGUE Monique  | Maître de Conférences | <i>Vice-Doyen / DRC</i>                                |
| 9  | BISSO Dieudonné             | Maître de Conférences | <i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>              |
| 10 | EKOMANE Emile               | Maître de Conférences | En poste                                               |
| 11 | GANNO Sylvestre             | Maître de Conférences | En poste                                               |
| 12 | GHOGOMU Richard TANWI       | Maître de Conférences | CD/Uma                                                 |
| 13 | MOUNDI Amidou               | Maître de Conférences | <i>CT/ MINIMDT</i>                                     |
| 14 | NGUEUTCHOUA Gabriel         | Maître de Conférences | CEA/MINRESI                                            |
| 15 | NJILAH Isaac KONFOR         | Maître de Conférences | En poste                                               |
| 16 | NYECK Bruno                 | Maître de Conférences | En poste                                               |
| 17 | ONANA Vincent Laurent       | Maître de Conférences | <i>Chef service Maintenance &amp; du Matériel/UYII</i> |
| 18 | TCHAKOUNTE J. épouse NUMBEM | Maître de Conférences | <i>Chef.cell / MINRESI</i>                             |
| 19 | TCHOUANKOUE Jean-Pierre     | Maître de Conférences | En poste                                               |
| 20 | TEMDJIM Robert              | Maître de Conférences | En poste                                               |
| 21 | YENE ATANGANA Joseph Q.     | Maître de Conférences | <i>Chef Div. /MINTP</i>                                |
| 22 | ZO'O ZAME Philémon          | Maître de Conférences | <i>DG/ART</i>                                          |

|    |                            |                  |                            |
|----|----------------------------|------------------|----------------------------|
| 23 | ANABA ONANA Achille Basile | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 24 | BEKOA Etienne              | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 25 | ELISE SABABA               | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 26 | ESSONO Jean                | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 27 | EYONG JOHN TAKEM           | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 28 | FUH Calistus Gentry        | Chargé de Cours  | <i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i> |
| 29 | LAMILLEN BILLA Daniel      | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 30 | MBESSE CECILE OLIVE        | Chargée de Cours | En poste                   |
| 31 | MBIDA YEM                  | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 32 | METANG Victor              | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 33 | MINYEM Dieudonné-Lucien    | Chargé de Cours  | CD/Uma                     |
| 34 | NGO BELNOUN Rose Noël      | Chargée de Cours | En poste                   |
| 35 | NGO BIDJECK Louise Marie   | Chargée de Cours | En poste                   |
| 36 | NOMO NEGUE Emmanuel        | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 37 | NTSAMA ATANGANA Jacqueline | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 38 | TCHAPTCHET TCHATO De P.    | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 39 | TEHNA Nathanaël            | Chargé de Cours  | En poste                   |
| 40 | TEMGA Jean Pierre          | Chargé de Cours  | En poste                   |

|    |                    |           |          |
|----|--------------------|-----------|----------|
| 41 | FEUMBA Roger       | Assistant | En poste |
| 42 | MBANGA NYOBE Jules | Assistant | En poste |

## Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

| NOMBRE D'ENSEIGNANTS |               |                        |                  |                |                 |
|----------------------|---------------|------------------------|------------------|----------------|-----------------|
| DÉPARTEMENT          | Professeurs   | Maîtres de Conférences | Chargés de Cours | Assistants     | Total           |
| BCH                  | 8 (01)        | 14 (10)                | 13 (05)          | 05 (02)        | <b>40 (18)</b>  |
| BPA                  | 15 (01)       | 8 (06)                 | 18 (05)          | 10 (03)        | <b>51 (15)</b>  |
| BPV                  | 07 (01)       | 9 (01)                 | 8 (06)           | 07 (01)        | <b>31 (9)</b>   |
| CI                   | 10 (01)       | 09 (02)                | 10 (02)          | 03 (0)         | <b>32 (5)</b>   |
| CO                   | 6 (0)         | 21 (05)                | 05 (02)          | 08 (02)        | <b>40 (9)</b>   |
| IN                   | 2 (0)         | 1 (0)                  | 14 (01)          | 08 (01)        | <b>25 (2)</b>   |
| MAT                  | 2 (0)         | 8 (0)                  | 15 (01)          | 09 (02)        | <b>34 (7)</b>   |
| MIB                  | 3 (0)         | 5 (03)                 | 06 (01)          | 06 (02)        | <b>20 (6)</b>   |
| PHY                  | 15 (0)        | 14 (02)                | 09 (03)          | 08 (03)        | <b>46 (8)</b>   |
| ST                   | 7 (1)         | 15 (01)                | 18 (05)          | 02 (0)         | <b>42 (7)</b>   |
| <b>Total</b>         | <b>75 (5)</b> | <b>104 (30)</b>        | <b>116 (31)</b>  | <b>66 (16)</b> | <b>361 (86)</b> |

Soit un total de **361 (86)** dont :

- Professeurs **75 (5)**
- Maîtres de Conférences **104 (30)**
- Chargés de Cours **116 (31)**
- Assistants **66 (16)**

( ) = Nombre de Femmes **86**

# **Dédicace**

*Je dédie ce travail à*

- *Mon époux, **Thierry Giscard DJOPSEU***
- *Mon feu papa, **Fredéric NKUEYA***

## REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier DIEU le tout Puissant qui m'a donné la grâce, la force et la patience d'accomplir ce modeste travail,

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés dans le Laboratoire de Recherche sur le Paludisme (LRP) de l'Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC) à Yaoundé au Cameroun. Les recherches effectuées durant cette thèse ont bénéficié de l'appui financier de la Commission Européenne à travers le projet INFRAVEC, référence 228421.

Avant d'exposer les résultats de mes recherches, il est nécessaire d'exprimer, avec plaisir, ma reconnaissance et mes remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à leur réalisation. Je pense particulièrement à :

**Pr Abraham FOMENA** pour m'avoir renouvelé sa confiance en me faisant l'honneur de superviser ce travail. Sa disponibilité, sa rigueur scientifique et ses suggestions m'ont été grandement profitables,

**Pr Josiane Désirée ETANG**, mon directeur de recherche, pour avoir accepté de m'encadrer et pour m'avoir permis d'intégrer son équipe de recherche. Je lui suis reconnaissante pour la formation à la recherche que j'ai obtenue à ses côtés ; elle m'a fait l'honneur de diriger ce travail de bout en bout et m'a fait bénéficier de son expérience. Elle reste pour moi, un modèle de subtilité et de rigueur scientifique. Merci infiniment pour tout,

**Dr Herman Parfait AWONO**, chef de Laboratoire de Recherche sur le Paludisme (LRP) à l'OCEAC, pour m'avoir accueillie avec bienveillance au sein de ce laboratoire. Il m'a initié au domaine de l'entomologie médicale et m'a fait bénéficier de son expertise dans ce domaine. Je lui dois ce travail et quelques lignes ne suffisent pas à lui témoigner ma reconnaissance,

**Dr Constant Roger AYENENGOYE** ancien Secrétaire Exécutif de l'OCEAC, pour m'avoir accordé un stage académique au sein de l'institution dont il avait la direction,

**Pr BILONG BILONG Charles Félix** Chef de Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, pour sa dévotion à une formation de qualité aux étudiants,

Tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales qui, par leurs enseignements et leur encadrement, ont contribué à l'aboutissement de ce travail,

Le laboratoire de Parasitologie et Ecologie de l'Université de Yaoundé I, pour ma formation et mon initiation à la recherche,

Drs **Philippe NWANE**, **Christophe Antonio NKONDJIO**, **Cyrille NDO** et **Mr Michael PIAMEU**, pour leurs conseils et suggestions qui m'ont permis d'améliorer ce travail,

**Mr Jean claude TOTO** affectueusement appelé « père JC » technicien au Laboratoire de Recherche sur le Paludisme à l'OEAC, pour m'avoir initié à l'identification des anophèles. Son expérience de terrain force le respect. Au-delà des connaissances entomologiques, j'ai bénéficié de son expérience et de ses conseils sur le plan social et familial,

**Dr Wolfgang EKOKO** et **Mr Stanislas MANDENG** mes amis et collègues de laboratoire, pour leur accompagnement sur le terrain et au labo,

**Mr Bertrand FESUH** doctorant à l'Ecole Nationale Supérieure de Polytechniques, pour la modélisation mathématique de mes données,

**Mr Narcisse MVONDO** mon collègue, pour m'avoir initié aux collectes larvaires et aux tests de sensibilité,

**Dr BAMOU Roland** et **Mme DJOUNKOUA NOUAGE Lynda épouse SAMBE** mes amis et collègues doctorant, pour leurs conseils et soutien moral ;

Tous mes camarades stagiaires de l'OCEAC, pour la chaleur et la bonne ambiance maintenues au laboratoire qui ont contribué à créer une atmosphère sereine de travail et de fait, amélioré la réalisation de ce travail,

Je rends hommage aux habitants de Nyabessan, Olama et Simbock, pour leur contribution à la collecte des moustiques et leur hospitalité,

Enfin je remercie celles et ceux qui me sont chers, notamment :

- Mes mamans, Pauline et Hélène pour leur soutien, leur affection, leur amour inégalable, pour tous les sacrifices qu'elles ne cessent de me consentir. A l'instant où je rédige ces lignes, une grande émotion m'envahit et comme le disait Victor Hugo, les mots manquent aux émotions ; mais je sais qu'elles perçoivent l'amour profond que j'ai pour elles,
- Mes frères et sœur Yannick TCHATCHOU, Willy NOUPA, Ulrich NYAMSI et Doriane TOUGNIA, pour leur sollicitude, leur sensibilité et leur soutien moral,
- Mme Bernadette NGUETKAM ma belle-mère, pour sa sollicitude et son soutien moral.
- Mes enfants Grâce, Nathan et Kenan. Ils sont la bouffée d'oxygène qui me ressource quand je suis lasse.

A vous tous, merci encore du fond du cœur.

## SOMMAIRE

|                                                                                        |          |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Enseignants permanents de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I.....    | i        |
| Dédicace.....                                                                          | xiii     |
| Remerciements.....                                                                     | xiv      |
| Sommaire.....                                                                          | xvi      |
| Liste des figures.....                                                                 | xviii    |
| Liste des tableaux.....                                                                | xx       |
| Liste des abréviations .....                                                           | xxii     |
| Résumé.....                                                                            | xxiv     |
| Abstract.....                                                                          | xxvi     |
| <b>INTRODUCTION.....</b>                                                               | <b>1</b> |
| <b>CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....</b>                                       | <b>6</b> |
| I-1. Epidémiologie du paludisme.....                                                   | 7        |
| I-1-1. Paludisme dans le monde.....                                                    | 7        |
| I-1-2. Paludisme au Cameroun .....                                                     | 8        |
| I-2. Agents pathogènes du paludisme .....                                              | 9        |
| I-2-1. Position systématique .....                                                     | 9        |
| I-2-2. Répartition géographique de <i>Plasmodium</i> .....                             | 10       |
| I-2-3. Cycle de développement de <i>Plasmodium</i> .....                               | 12       |
| I-2-4. Lutte contre <i>Plasmodium</i> , agent du paludisme .....                       | 13       |
| I-3. Vecteurs du paludisme.....                                                        | 15       |
| I-3-1. Position systématique .....                                                     | 15       |
| I-3-2. Morphologie générale.....                                                       | 17       |
| I-3-3. Bioécologie et cycle de développement des anophèles.....                        | 18       |
| I-3-4. Historique et répartition biogéographique des anophèles au Cameroun.....        | 20       |
| I-3-5. Principaux vecteurs du paludisme au Cameroun.....                               | 21       |
| I-4. Définitions des concepts .....                                                    | 25       |
| I-4-1. Anthropophilie / Zoophilie, Endophagie / Exophagie, Endophilie / Exophilie..... | 25       |
| I-4.2. Paramètres de la transmission du paludisme.....                                 | 25       |
| I-5. Lutte contre les vecteurs du paludisme.....                                       | 26       |
| I-5-1. Lutte antilarvaire.....                                                         | 26       |
| I-5-2. Lutte imagocide.....                                                            | 27       |
| I-5-3. Composés utilisés en santé publique.....                                        | 28       |

|                                                                                                                  |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| I-6. Résistance des vecteurs aux insecticides .....                                                              | 31         |
| I-6-1. Mécanismes de résistance.....                                                                             | 31         |
| I-6-2. Stratégies de gestion de la résistance.....                                                               | 34         |
| I-7. Développement socio-économique et dynamique de la transmission du paludisme .....                           | 35         |
| I-7-1. Paludisme et barrages .....                                                                               | 36         |
| I-7-2. Paludisme et urbanisation.....                                                                            | 37         |
| <b>CHAPITRE II : CADRE GEOGRAPHIQUE, MATERIEL ET METHODES.....</b>                                               | <b>39</b>  |
| II-1. Cadre géographique et sites d'étude.....                                                                   | 40         |
| II-1-1. Nyabessan.....                                                                                           | 40         |
| II-1-2. Simbock.....                                                                                             | 41         |
| II-1-3. Olama.....                                                                                               | 42         |
| II-2. Type d'étude.....                                                                                          | 43         |
| II-3. Matériel et méthodes .....                                                                                 | 46         |
| II-3-1. Echantillonnage.....                                                                                     | 46         |
| II-3-2. Identification et distribution des anophèles .....                                                       | 47         |
| II-3-3. Etude de la transmission du paludisme.....                                                               | 51         |
| II-3-4. Evaluation de la sensibilité des anophèles aux insecticides et mécanismes de<br>résistance.....          | 53         |
| II-3-5. Analyse de données.....                                                                                  | 62         |
| <b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>                                                               | <b>66</b>  |
| III-1 Resultats.....                                                                                             | 67         |
| III-1-1. Caractérisation des populations d'anophèles vecteurs du paludisme à Nyabessan,<br>Simbock et Olama..... | 67         |
| III-1-2. Paramètres de la transmission du paludisme .....                                                        | 73         |
| III-1-3. Profil de sensibilité aux insecticides.....                                                             | 93         |
| III-1-4. Détermination des génotypes de la mutation kdr.....                                                     | 101        |
| III-2. Discussion.....                                                                                           | 103        |
| III-2-1. Diversité, abondance et comportement de piqûre des populations de vecteurs.....                         | 103        |
| III-2-2. Impact des modifications de l'environnement sur la transmission du paludisme.....                       | 105        |
| III-2-3. Sensibilité des populations naturelles d' <i>A. gambiae</i> s.l. aux insecticides.....                  | 106        |
| III-2-4. Mécanismes de résistance .....                                                                          | 108        |
| <b>CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....</b>                                                          | <b>110</b> |
| Références bibliographiques.....                                                                                 | 114        |
| Annexes.....                                                                                                     | 137        |

## Liste des figures

|                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1.</b> Evolution de l'incidence du paludisme dans le monde entre 2010 et 2018...                                                      | 7  |
| <b>Figure 2.</b> Progression de l'élimination du paludisme entre 2000 et 2018.....                                                              | 8  |
| <b>Figure 3.</b> Répartition géographique de l'incidence palustre au Cameroun en 2019<br>(nombre de cas de paludisme pour 1000 habitants) ..... | 9  |
| <b>Figure 4.</b> Classification partielle des <i>Plasmodium</i> .....                                                                           | 10 |
| <b>Figure 5.</b> Cycle biologique de <i>Plasmodium</i> spp chez l'homme et l'anophèle .....                                                     | 13 |
| <b>Figure 6.</b> Adulte femelle d' <i>Anopheles</i> .....                                                                                       | 18 |
| <b>Figure 7.</b> Cycle biologique des anophèles.....                                                                                            | 20 |
| <b>Figure 8.</b> Localisation des sites d'étude.....                                                                                            | 42 |
| <b>Figure 9.</b> Procédure de capture Nocturne.....                                                                                             | 46 |
| <b>Figure 10.</b> Illustration du principe d'une PCR.....                                                                                       | 49 |
| <b>Figure 11.</b> Programme de température pour amplification PCR SINE.....                                                                     | 50 |
| <b>Figure 12.</b> Principe de l'ELISA appliqué à la détermination de l'infection à <i>P. falciparum</i> chez les anophèles.....                 | 52 |
| <b>Figure 13.</b> Protocole du test de sensibilité aux insecticides.....                                                                        | 55 |
| <b>Figure 14.</b> Illustration du principe de la technique HOLA.....                                                                            | 56 |
| <b>Figure 15.</b> Cycle de température pour amplification de la portion d'ADN susceptible de renfermer de la mutation <i>kdr</i> .....          | 58 |
| <b>Figure 16.</b> Cycle de température pour la réaction de ligation à chaud.....                                                                | 61 |
| <b>Figure 17.</b> Différents génotypes de la mutation <i>kdr</i> obtenus par la technique HOLA...                                               | 62 |
| <b>Figure 18.</b> Distribution des espèces à Nyabessan, Olama et Simbock.....                                                                   | 68 |
| <b>Figure 19.</b> Taux moyens d'agressivité des principales espèces d'anophèles à Nyabessan, Simbock et Olama .....                             | 74 |

|                                                                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure 20.</b> Cycles horaires d'agressivité des principaux vecteurs du paludisme à Nyabessan, Simbock et Olama.....        | 81  |
| <b>Figure 21.</b> Taux d'infection moyens des anophèles à Nyabessan, Simbock et Olama...                                       | 83  |
| <b>Figure 22.</b> Taux d'Inoculation Entomologique (TIE) des espèces collectées à Nyabessan, Simbock et Olama.....             | 91  |
| <b>Figure 23.</b> Taux de mortalité après exposition des anophèles aux insecticides.....                                       | 100 |
| <b>Figure 24 :</b> Fréquences alléliques et génotypiques de la mutation kdr chez <i>A. gambiae</i> et <i>A. coluzzii</i> ..... | 102 |

## Liste des tableaux

|                                                                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau I</b> : Récapitulatif des périodes d'échantillonnage des moustiques adultes.....                                                                                                                 | 44 |
| <b>Tableau II</b> : Périodes de collectes larvaires.....                                                                                                                                                    | 45 |
| <b>Tableau III</b> : Composition du milieu réactionnel de la PCR SINE.....                                                                                                                                  | 50 |
| <b>Tableau IV</b> : Composition du milieu réactionnel pour l'amplification par PCR du fragment<br>d'ADN entourant la mutation « kdr » .....                                                                 | 58 |
| <b>Tableau V</b> : Amorces utilisées pour la ligation des oligonucléotides détecteurs/reporteurs                                                                                                            | 60 |
| <b>Tableau VI</b> : Composition du milieu réactionnel d'une PCR pour identification de la<br>mutation kdr, étape de la ligation.....                                                                        | 59 |
| <b>Tableau VII</b> : Variations de la distribution des espèces d'anophèles à Nyabessan, Simbock<br>et Olama.....                                                                                            | 70 |
| <b>Tableau VIII</b> : Distribution d' <i>A. gambiae</i> s.s. et <i>A. coluzzii</i> à Simbock, Nyabessan et<br>Olama.....                                                                                    | 72 |
| <b>Tableau IX</b> : Variations de l'agressivité des espèces à l'intérieur et à l'extérieur des<br>habitations entre les deux périodes de l'étude à Nyabessan.....                                           | 76 |
| <b>Tableau X</b> : Variations de l'agressivité des espèces à l'intérieur et à l'extérieur des<br>habitations entre les deux périodes de l'étude à Simbock.....                                              | 77 |
| <b>Tableau XI</b> : Variations de l'agressivité des espèces à l'intérieur et à l'extérieur des<br>habitations entre les deux périodes de l'étude à Olama.....                                               | 78 |
| <b>Tableau XII</b> : Comparaison des agressivités en fonction des variables période, site, espèces,<br>position (intérieur ou extérieur), heure de piqûre et leurs différentes interactions<br>(ANOVA)..... | 82 |
| <b>Tableau XIII</b> : Comparaison des taux d'infection en fonction des périodes, des espèces, du<br>site de capture et leurs différentes interactions (ANOVA).....                                          | 84 |

|                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau XIV</b> : Variations des ICS à l'intérieur et à l'extérieur des habitations à Nyabessan,<br>Simbock et Olama.....                                                                     | 87 |
| <b>Tableau XV</b> : Comparaison des Taux d'Inoculation Entomologique en fonction de la<br>période (rétrospective et prospective), des espèces, du site et leurs différentes<br>interactions..... | 90 |
| <b>Tableau XVI</b> : variations des TIE à l'intérieur et à l'extérieur des habitations à Nyabessan,<br>Simbock et Olama.....                                                                     | 92 |
| <b>Tableau XVII</b> : Temps de <i>knockdown</i> (tkd50 et tkd95) en minutes des populations d' <i>A.</i><br><i>gambiae</i> s.l. collectés à Nyabessan.....                                       | 95 |
| <b>Tableau XVIII</b> : Temps de <i>knockdown</i> (tkd50 et tkd95) en minutes des populations d' <i>A.</i><br><i>gambiae</i> s.l. collectés à Simbock.....                                        | 98 |
| <b>Tableau XIX</b> : Temps de <i>knockdown</i> (tkd50 et tkd95) en minutes des populations d' <i>A. gambiae</i><br><i>s.l.</i> d'Olama.....                                                      | 99 |

## Liste des abréviations

**A.:** *Anopheles*

**Acm:** Anticorps monoclonal

**ADN:** Acide désoxyribonucléique

**BB:** Blocking Buffer

**BSA :** Bovine Serum Albumin

**CEMAC :** Communauté Economique et Monétaire de l'Afrique Centrale

**CPCS :** Conférence des Parties à la Convention de Stockholm

**CSP :** Circum Sporozoitic Protein

**CTAB :** Cétyl Triméthyl Ammonium Bromide

**DDT :** Dichloro-Diphenyl-Trichloroethane

**dNTP :** désoxyribo-Nucléotide Tri-Phosphate

**EDTA :** Ethylène Diamine TétraAcétique

**ELISA:** Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

**GSTs:** Glutathion-S-tranfêrases

**HOLA:** Hot Oligonucléotide Ligation Assay

**ICS :** Indice Circum Sporozoïtique

**INC :** Institut National de la Cartographie

**ITS:** Internal Transcribed Spacer

**kdr:** knockdown resistance

**LRP :** Laboratoire de Recherche sur le Paludisme

**LTCB :** Lancement des Travaux de Construction du Barrage

**LTIU :** Lancement des Travaux d'Infrastructures Urbaines

**MgCl<sub>2</sub> :** Chlorure de Magnesium

**MILDA :** Moustiquaire imprégnée à longue durée d'action

**MINSANTE :** Ministère de la Santé

**NP40 :** Nonidet P40

**OCEAC :** Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Central

**OMS :** Organisation Mondiale de la Santé

**Pb :** paires de bases

**PBO :** Pyperonyl ButOxyde

**PBS:** Phosphate Buffered- Saline

**PCR:** Polymerase Chain Reaction

**PID** : Pulvérisation intradomiciliaire

**PNLP** : Programme National de Lutte contre le Paludisme

**PU** : Processus d'Urbanisation

**RBM** : Roll Back Malaria

**s.l.** : sensu lato (sens large)

**s.s.** : sensu stricto (sens stricte)

**SINE** : Short Interpesed Elements

**Taq**: Thermophilus aquaticus

**TBE**: Tris-Borate-EDTA

**TIE** : Taux d'Inoculation Entomologique

**Tkd** : Temps de knock down

**TMB** : Tetramethyl Benzidine

## Résumé

Les modifications de l'environnement résultant des projets de développement tels que les barrages, les processus d'urbanisation contribuent à créer des gîtes de reproduction des moustiques, vecteurs des maladies tropicales telles que le paludisme. En effet, dans de nombreux pays d'Afrique sub saharienne, il a été démontré que les infrastructures hydrauliques et l'urbanisation affectent les interactions entre l'homme et les insectes vecteurs de pathogènes, avec une implication significative sur la transmission des maladies. La présente étude visait à évaluer l'influence des projets de développement (construction d'un barrage hydroélectrique et urbanisation) sur le profil de transmission du paludisme dans le faciès équatorial du Cameroun. Il s'agissait en effet de répertorier d'éventuels changements sur la composition de la faune anophélienne vectrice du paludisme, la transmission du *Plasmodium* et d'évaluer la sensibilité aux insecticides d'*Anopheles gambiae* s.l., vecteur émergent du paludisme dans un contexte écologique perturbé.

Les captures nocturnes de moustiques adultes ont été effectuées par des volontaires avant et pendant la construction du barrage à Nyabessan et le processus d'urbanisation à Simbock, entre 2000 et 2006 (étude rétrospective), puis entre 2014 et 2016 (étude prospective). La même étude a été conduite simultanément dans le village Olama qui a été considéré comme site témoin. Les vecteurs du paludisme ont été identifiés à l'aide des clés d'identification morphologique et analysés par la technique ELISA pour la détection de la protéine circumsporozoïte de *Plasmodium falciparum*. Les espèces d'*Anopheles* (*A.*) *gambiae* s.l. ont été identifiées à l'aide des marqueurs moléculaires. Les collectes larvaires ont été effectuées entre 2014 et 2017 pour effectuer les tests de sensibilité aux insecticides notamment à la deltaméthrine, à la perméthrine, au DDT et au Bendiocarb. L'utilisation du synergiste PBO (Pipéronyle Butoxyde) a permis d'explorer les mécanismes de résistance métabolique aux pyréthrinoïdes. Les mécanismes de résistance aux pyréthrinoïdes et au DDT par modification de la cible (mutation kdr) ont également été criblés à l'aide des marqueurs moléculaires.

Au total, 17530 moustiques adultes appartenant à 13 espèces ont été collectés dont 6127 à Nyabessan, 5341 à Simbock et 6062 à Olama. A Nyabessan, *A. moucheti* et *A. ovengensis* qui étaient les principales espèces avant la construction du barrage (27,4 - 37,5 piques/homme/nuit- p/h/n, 0,48 - 0,22 piqûres infectantes/homme/nuit- pi/h/n), ont montré une diminution de leur rôle dans la transmission du paludisme pendant la mise en place du barrage (14,5 - 11,6 p/h/n, 0,12 - 0,01 pi/h/n) ( $p < 0,005$ ). Inversement, *A. gambiae* s.l. et *A. paludis* ont présenté pendant la construction du barrage, un rôle accru dans la transmission (6,3 - 9,3 p/h/n,

0,24 - 0,2 pi/h/n) ( $p < 0,001$ ). A Simbock *A. moucheti* qui était l'espèce majeure avant l'urbanisation (8,1p/h/n, 0,12 pi/h/n) n'a pas été capturé entre 2014 et 2016 (durant le processus d'urbanisation). A Olama, *A. moucheti* est restée le principal vecteur du paludisme tout au long de l'étude entre 2000 et 2016. Les populations d'*A. gambiae* s.l. de Nyabessan, Simbock et Olama étaient résistantes à la deltaméthrine (46-95% de mortalité), à la perméthrine (7 - 66%) et au DDT (5-10%) mais sensibles au bendiocarb (98-100%). L'exposition des moustiques au PBO avant le test de sensibilité a significativement restauré la sensibilité des vecteurs à la deltaméthrine (98% - 100%) mais n'a pas changé le statut résistant des anophèles à la perméthrine (22%). L'allèle L1014F responsable de la résistance kdr a été retrouvé à des fréquences élevées dans les trois sites d'étude, soit 0,68 à Nyabessan, 0,64 à Simbock et 0,98 à Olama.

Les modifications anthropiques de l'environnement de grande envergure (à l'exemple de l'urbanisation et de la construction de barrage) engendrent une modification profonde du profil entomologique, consistant en une substitution des vecteurs secondaires (*A. moucheti*) par des vecteurs majeurs (*A. gambiae* s.l.), entraînant par conséquent un accroissement du risque d'infection palustre. Ceci est d'autant plus grave que ces vecteurs majeurs sont résistants aux insecticides usuels en santé publique, avec par endroit des combinaisons de mécanismes de résistance kdr et métabolique. Ces résultats soulignent d'une part la nécessité de mettre en place un système de surveillance efficace contre les maladies à transmission vectorielle autour des projets de développement susceptibles de modifier l'environnement, et d'autre part l'urgence d'adopter l'utilisation des combinaisons d'insecticides comme méthode de gestion de la résistance.

**Mots clés :** barrage hydroélectrique, étude d'impact, paludisme, urbanisation, vecteurs du paludisme.

## Abstract

Environmental changes resulting from development projects such as dams, urbanization activities create breeding grounds favourable for mosquito development, vectors of tropical diseases such as malaria. Indeed, in many sub-Saharan African countries, it has been shown that hydraulic infrastructures and urbanization affect the interactions between humans and insect vectors of pathogens, with a significant implication on disease transmission. The present study aimed to assess the influence of development projects (construction of a hydroelectric dam and certain urbanizational projects) on the transmission profile of malaria in the equatorial zone of Cameroon. Specifically ; to identify possible changes in the composition of the anopheline fauna ensuring malaria transmission and to determine the susceptibility to insecticides of *Anopheles gambiae* s.l., an emerging vector of malaria in a disturbed ecological context.

Human landing catches of adult mosquitoes were carried out by volunteers before and during the construction of the dam in Nyabessan and the process of urbanization in Simbock, between 2000 and 2006 (retrospective study), then between 2014 and 2016 (prospective study). The same study was conducted simultaneously in Olama village which was considered as the control site. Malaria vectors were identified using morphological identification keys and analyzed by the ELISA technique for the detection of the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum*. *Anopheles gambiae* s.l. was identified down to species using molecular markers. Larval collections were carried out between 2014 and 2017 to perform susceptibility tests to insecticides (deltamethrin, permethrin, DDT and Bendiocarb). The use of the synergist PBO (Piperonyl Butoxide) made it possible to explore the mechanisms of metabolic resistance to pyrethroids. Mechanisms of resistance to pyrethroids and DDT by modification of the target (kdr mutation) were also screened using molecular markers.

A total of 17,530 adult mosquitoes belonging to 13 species were collected, including 6,127 in Nyabessan, 5,341 in Simbock and 6,062 in Olama. In Nyabessan, *A. moucheti* and *A. ovengensis* which were the main species before the construction of the dam (27.4 - 37.5 bites/man/night- b/m/n, 0.48 - 0.22 infective bites/ man/night-ib/m/n), showed a decrease in their role in malaria transmission during the construction of the dam (14.5 - 11.6 p/h/n, 0.12 - 0, 01 ib/m/n) ( $p < 0.005$ ). Conversely, *A. gambiae* s.l. and *A. paludis* showed an increased role in transmission during dam construction (6.3 - 9.3 b/m/n, 0.24 - 0.2 ib/m/n) ( $p < 0.001$ ). At Simbock, *A. moucheti* which was the major species before urbanization (8.1b/m/n, 0.12 ib/m/n) was not caught between 2014 and 2016 (during the urbanization process). In Olama, *A.*

*moucheti* remained the main vector of malaria throughout the study between 2000 and 2016. Populations of *A. gambiae* s.l. from Nyabessan, Simbock and Olama were resistant to deltamethrin (46-95% mortality), permethrin (7 - 66%) and DDT (5-10%) but susceptible to bendiocarb (98-100%). Exposure of mosquitoes to PBO before susceptibility testing significantly restored vector susceptibility to deltamethrin (98% - 100%) but did not change the resistance status of anophelines to permethrin (22%). The L1014F allele responsible for kdr resistance was found at high frequencies in the three study sites, including 0.68 in Nyabessan, 0.64 in Simbock and 0.98 in Olama.

Large-scale anthropogenic modifications of the environment (such as urbanization and dam construction) generate a profound modification of the entomological profile, consisting of a substitution of secondary vectors (*A. moucheti*) by major vectors (*A. gambiae* s.l.), thereby increasing the risk of malaria infection. This is even more serious as these major vectors are resistant to common public health insecticides, including combinations of kdr and metabolic resistance mechanisms. These results underline on one hand, the need to set up an effective surveillance system against vector-borne diseases around developmental projects which are likely to modify the environment, and on the other hand the urgency of adopting the use of combinations of insecticides as a resistance management method.

Keywords : hydroelectric dam, study impact, malaria, urbanization, malaria vectors.



Le paludisme demeure la maladie à transmission vectorielle la plus mortelle dans le monde avec 405000 décès estimés en 2019, dont près de 94% sont enregistrés en Afrique subsaharienne (OMS, 2020). Cette maladie est due à un hématozoaire du genre *Plasmodium* Marchiafava et Celli, 1885, transmis par des moustiques du genre *Anopheles* Meigen, 1868. La prévention du paludisme est essentiellement basée sur la lutte antivectorielle à travers l'utilisation des insecticides soit par pulvérisations intra domiciliaires (PID), soit par l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILDA). Les pyréthrinoïdes restent à nos jours la principale classe d'insecticides recommandée par l'OMS pour l'imprégnation des moustiquaires, parce qu'ils ont un effet foudroyant, agissent à de très faibles doses et sont peu toxiques pour les animaux à sang chaud (Zaim *et al.*, 2000). La mise à échelle de ces stratégies de lutte antivectorielle entre 2010 et 2014 a permis d'obtenir une baisse de la prévalence du paludisme dans les zones endémiques. Toutefois, les avancées enregistrées à travers le monde se sont stabilisées ces dernières années (OMS, 2020), montrant ainsi la difficulté à atteindre les objectifs de la stratégie mondiale de réduire le poids global du paludisme à près de 90% d'ici 2030 (OMS, 2015).

Parmi les défis rencontrés dans la lutte contre le paludisme, figure la prolifération des populations de moustiques vecteurs de *Plasmodium*, en particulier dans les zones ayant subi des modifications de l'environnement. En effet, les modifications écologiques liées aux changements climatiques, à la déforestation, à l'agriculture, à l'irrigation, à la construction des barrages et à l'urbanisation participent à l'augmentation de l'incidence du paludisme, parce qu'elles créent des gîtes propices au développement des moustiques (Mouchet *et al.*, 1998, Minakawa *et al.*, 2006). A titre d'exemple, le déboisement et la déforestation favorisent le développement des vecteurs héliophiles comme *A. gambiae* sensu lato (s.l.) en Afrique (Guerra *et al.*, 2006, Manguin *et al.*, 2008). De même, les barrages et les fossés d'irrigation constituent des habitats larvaires favorables aux vecteurs tels qu'*A. gambiae* s.l. et *A. arabiensis* (Mouchet & Brengues, 1990). Kibret *et al.* (2015) ont montré que ces infrastructures sont à l'origine d'au moins un million d'infections de paludisme chaque année en Afrique.

Le Cameroun regorge une grande diversité d'espèces anophéliennes avec une soixantaine d'espèces repertoriées (Bamou *et al.*, 2021), parmi lesquelles 6 assurent majoritairement la transmission du paludisme : *Anopheles gambiae*, *A. coluzzii*, *A. funestus*, *A. nili*, *A. moucheti* majoritairement distribués dans le domaine forestier au Sud Cameroun, et *A. arabiensis* principalement retrouvé en zone de savane au Nord du pays (Njan Nloga *et al.*, 1993, Atangana *et al.*, 2010, Ekoko *et al.*, 2019). En plus des espèces majeures, d'autres espèces sont également impliquées dans la transmission du paludisme à travers le pays : *A. carnevalei*, *A.*

*coustani*, *A. hancocki*, *A. lesoni*, *A. marshallii*, *A. melas*, *A. paludis*, *A. pharoensis*, *A. ovengensis*, *A. wellcomei*, *A. rufipes*, et *A. ziemanni* (Tchuinkam *et al.*, 2010 ; Awono *et al.*, 2018 ; Tabue *et al.*, 2014 ; 2017). Cette grande biodiversité anophélienne fait du Cameroun un cas spécial qui mérite une attention particulière ; d'autant plus qu'il abrite actuellement de grands chantiers de construction d'infrastructures susceptibles d'entraîner des changements au niveau de la bioécologie et du comportement des anophèles, avec un impact négatif sur les interventions de lutte antivectorielle (Bamou *et al.*, 2018). En effet, des études antérieures ont montré que les changements écologiques résultant de grands travaux tels que la construction des barrages et l'urbanisation anarchique entraînent de profondes modifications de l'épidémiologie du paludisme à travers l'émergence des vecteurs hautement anthropophiles comme *A. gambiae* s.l. et *A. funestus* (Atangana *et al.*, 1979 ; Salem et Samé-Ekobo, 2001 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2005). Par ailleurs, l'utilisation massive des insecticides en santé publique et en agriculture a favorisé l'émergence et la propagation de la résistance au sein des populations de moustiques vecteurs du paludisme (Etang *et al.*, 2003, Chouaibou *et al.*, 2008, Nwane *et al.*, 2009, 2013). La résistance des insectes aux insecticides est un processus évolutif, et une meilleure compréhension des mécanismes impliqués peut éclairer les stratégies de gestion des risques de résistance (Macleán *et al.*, 2010, Neve *et al.*, 2014). Au cours de la dernière décennie, des ressources importantes ont été déployées au niveau national pour mettre en œuvre les interventions préventives à haut impact telles que le traitement préventif intermittent chez la femme enceinte, la distribution de masse de MILDA en 2011 et 2015 et la chimioprévention du paludisme saisonnier chez les enfants en 2018 (MINSANTE, 2017 ; OMS, 2020). Ces efforts ont permis de réaliser des progrès en termes de baisse de la morbidité et de la mortalité liées au paludisme ; celles-ci sont passées de 30,1% et 22,9% en 2014 à 25,9% et 14,9 % en 2018 respectivement (PNLP, 2020). En dépit de ces progrès, la morbidité palustre en hospitalisation reste au-delà de 50% dans toutes les régions du pays (PNLP, 2020), montrant que la menace persiste. Par ailleurs, les données entomologiques actuellement disponibles pour certaines zones à haut risque de paludisme sont anciennes et/ou parcellaires (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2005, Awono *et al.*, 2009) ; cette situation rend difficile l'amélioration des stratégies pour une lutte évolutive et ciblée. Au vu des grands travaux en cours dans notre pays et des nouvelles conditions écologiques qu'ils créent, une problématique liée à l'évolution des espèces vectrices du paludisme dans ces environnements se dégage : quels seraient les conséquences des modifications anthropiques de l'environnement sur le fitness et le comportement des vecteurs, et sur la résistance aux insecticides des espèces émergentes dans ces nouvelles conditions ?

Pour explorer cette question, il est nécessaire de se pencher sur des sites en pleine mutation à cause des projets de développement tels que Nyabessan, qui abrite le barrage hydroélectrique de Memve'ele dont la construction a débuté en 2012 et du village Simbock, devenu une banlieue de la ville de Yaoundé. Dans ces sites, les données les plus récentes sur la bio écologie et la transmission du paludisme datent de 2009 (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002, Awono *et al.*, 2009) ; de plus, la sensibilité des vecteurs aux insecticides est peu documentée.

Dans le cadre de cette étude, il a été émis un certain nombre d'hypothèses :

- i) Les modifications de l'environnement du fait des grands travaux entraîneraient la prolifération des gîtes de reproduction des anophèles, avec pour conséquence une augmentation de la diversité et des densités anophéliennes ;
- ii) Les nouvelles conditions écologiques du milieu suite à l'action anthropique sur l'environnement, rendraient les anophèles plus agressifs, contribuant ainsi à augmenter les niveaux de transmission des espèces plasmodiales ;
- iii) *Anopheles. gambiae* s.l., espèce inféodée aux activités anthropiques pourrait émerger dans les sites de grands travaux et développer une résistance aux insecticides, car la pullulation des moustiques induit une augmentation de l'utilisation d'insecticides dans les ménages, ce qui constitue une pression de sélection des gènes de résistance au sein des populations.

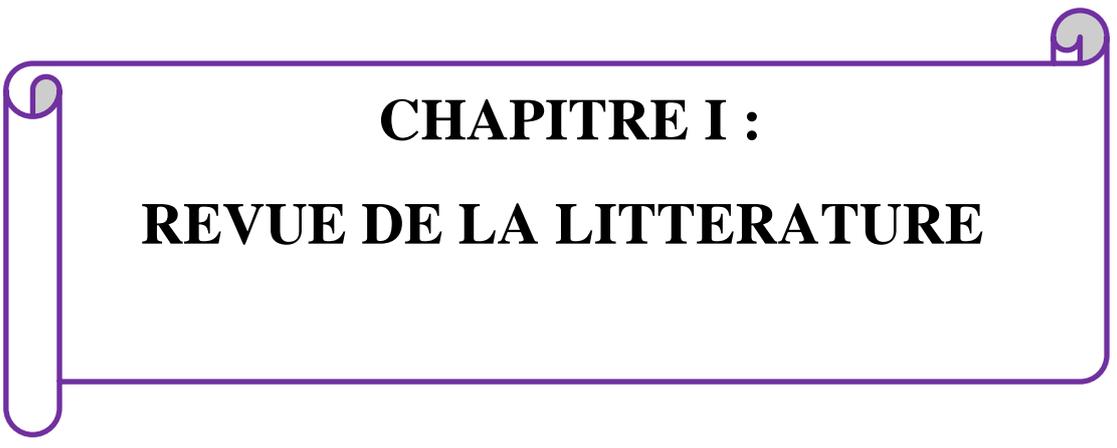
La présente étude vise donc à évaluer l'impact que pourrait avoir les changements anthropiques environnementaux liés d'une part à l'urbanisation et d'autre part à la construction d'un barrage hydroélectrique, sur le profil entomologique du paludisme, afin de générer des données permettant aux décideurs de conceptualiser la prise en compte de l'évolution des vecteurs du paludisme, dans la planification de l'urbanisation et des grands travaux.

Les objectifs spécifiques de cette étude sont les suivants :

- 1) Décrire l'évolution de la composition spécifique, de la distribution et de l'abondance de la faune anophélienne vectrice du paludisme, en fonction des changements écologiques ;
- 2) Déterminer les paramètres de la transmission du *Plasmodium* dans les nouvelles conditions écologiques ;
- 3) Évaluer la sensibilité aux insecticides et la fréquence des allèles de la résistance de type kdr (knock-down resistance) chez les espèces vectrices émergentes.

Ce travail est structuré en trois chapitres encadrés par une introduction et une conclusion. Le premier chapitre présente les généralités sur le paludisme, ses vecteurs, la

résistance aux insecticides et l'implication du développement socio-économique sur la dynamique des vecteurs. Le second décrit le cadre géographique de l'étude, le matériel et les protocoles utilisés ainsi que les méthodes d'analyses des résultats. Le troisième présente les différents résultats obtenus et leur discussion.

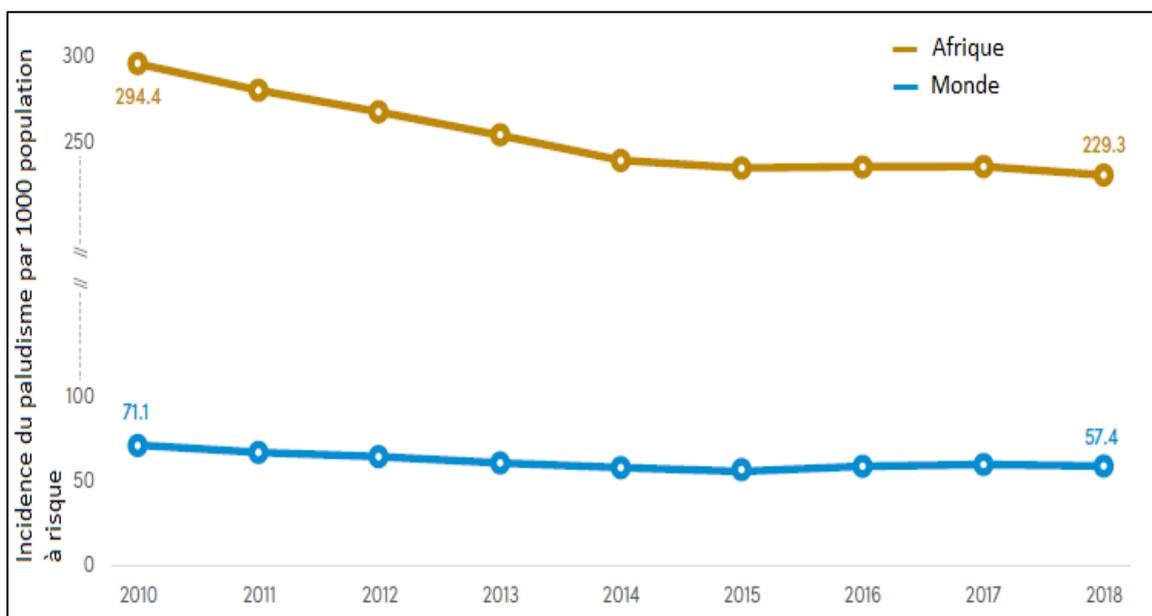


**CHAPITRE I :**  
**REVUE DE LA LITTERATURE**

## I-1. Epidémiologie du paludisme

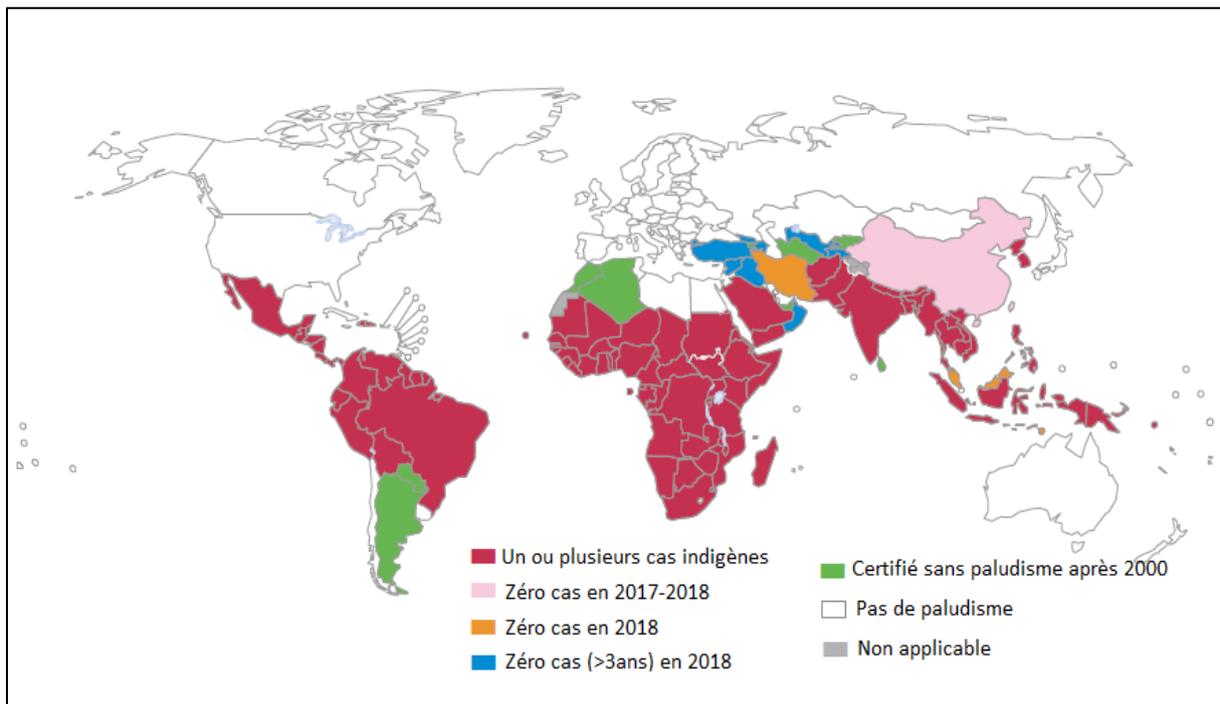
### I-1-1. Paludisme dans le monde

L'épidémiologie du paludisme est extrêmement variable d'une zone géographique à une autre. Cette hétérogénéité est sous la dépendance de nombreux facteurs principaux notamment la distribution des anophèles, leur capacité vectorielle et les caractéristiques biologiques des différentes espèces de *Plasmodium*. Au niveau mondial, le nombre de cas de paludisme est estimé à 229 millions en 2019 dont 93% de cas Afrique (OMS, 2020). Le nombre de décès dus au paludisme a été estimé à 409 000 en 2019 ; les enfants de moins de 5 ans qui sont les plus vulnérables ont représenté 67 % (272 000) des décès associés au paludisme dans le monde (OMS, 2019). L'incidence du paludisme a reculé entre 2010 et 2018, passant de 71 cas pour 1 000 habitants exposés au risque de paludisme à 57 pour 1000. Néanmoins, cette baisse a considérablement ralenti entre 2014 et 2018, l'incidence ayant diminué à 57 pour 1000 en 2014 pour rester à un niveau similaire jusqu'en 2018 (**Figure 1**). En effet, une étude publiée par l'Institut Lowy de Sydney en Australie indique que la prévalence du paludisme pourrait être 1,8 à 4,8 fois plus importante en 2050 qu'en 1990 et la part de la population mondiale vivant dans des zones où la maladie est endémique pourrait ainsi passer de 45 % à 60 % d'ici la fin du siècle (Potter, 2008).



**Figure 1.** Evolution de l'incidence du paludisme dans le monde entre 2010 et 2018 (OMS, 2019)

Toutefois, les efforts menés pour la prévention et le traitement du paludisme contribuent à faire progresser son élimination. En effet, vingt et un pays recensés dans cinq régions de l'OMS ont été identifiés comme étant les plus susceptibles de franchir le cap d'élimination du paludisme à l'échéance 2020. Les pays certifiés indemnes de paludisme sont ceux ayant atteint 3 années consécutives sans cas indigène de paludisme (**Figure 2**) ; entre 2000 et 2018, 19 pays ont atteint le cap de zéro cas indigène pendant 3 ans ou plus. En Afrique, on compte le Maroc indemne de paludisme depuis 2010 et l'Algérie en 2019.



**Figure 2.** Progression de l'élimination du paludisme entre 2000 et 2018 (OMS, 2019).

### I-1-2. Paludisme au Cameroun

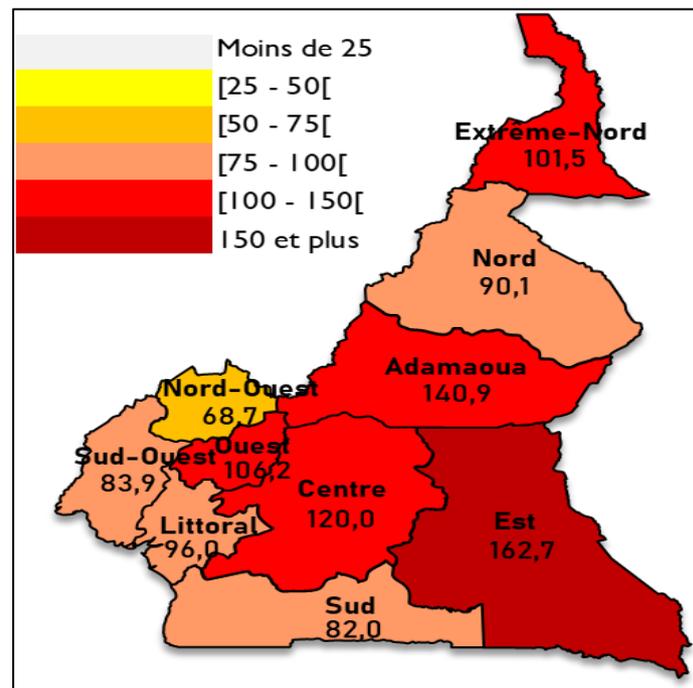
Au Cameroun, le paludisme demeure l'endémie majeure et la première cause de morbidité et de mortalité. Les statistiques sanitaires révèlent qu'il est responsable de 27,9% d'hospitalisations avec 18,3 % du total des décès dans les formations sanitaires. Les personnes les plus vulnérables sont les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes chez lesquels on enregistre des taux de mortalité de 39,6% et 10,8% respectivement (PNLP 2020). La distribution géographique du paludisme au Cameroun montre que la région de l'Est est la plus touchée parmi les dix régions, suivie de l'Adamaoua, du Centre et de l'Ouest (**Figure 3**).

Les études entomologiques montrent que la dynamique de la transmission suit un gradient décroissant du sud au nord suivant trois modalités (Rogier *et al.*, 2003 ; Mouchet *et al.*, 2004) :

- une transmission continue et intense tout au long de l'année dans la zone forestière du sud. C'est le faciès équatorial de paludisme stable à transmission pérenne. La prémunition est acquise vers l'âge de 5 ans (Rogier *et al.*, 2003);

- une transmission saisonnière longue sur les plateaux de l'Ouest et de l'Adamaoua. La transmission est intense pendant la saison des pluies (6 à 9 mois) et peut atteindre une trentaine de piqûres infectantes par homme, par mois (Rogier *et al.*, 2003) ;

- une transmission saisonnière marquée et courte dans la zone sahélienne du nord Cameroun. Elle dure environ 3 mois et les taux d'inoculation sont de l'ordre de 10 piqûres infectantes par homme, par mois.



**Figure 3.** Répartition géographique de l'incidence palustre au Cameroun en 2019 (nombre de cas de paludisme pour 1000 habitants) (PNLP, 2020).

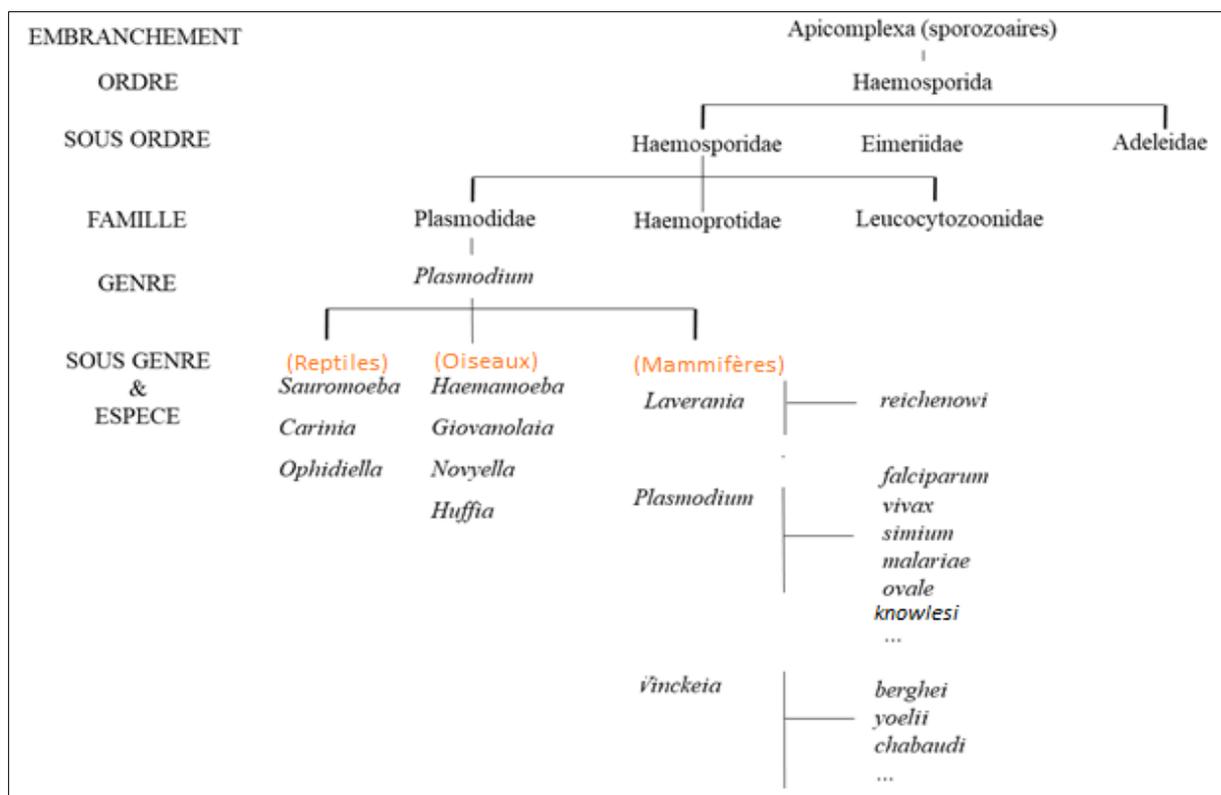
## I-2. Agents pathogènes du paludisme

### I-2-1. Position systématique

Les agents du paludisme sont des organismes unicellulaires, appartenant au sous-règne des Protozoaires, à l'embranchement des Apicomplexa (sporozoaires), à la classe des Sporozoaires, à l'ordre des Coccidiomorpha, au sous-ordre des Hemosporidae, à la famille des Plasmodidae et au genre *Plasmodium* Marchiafava et Celli, 1895. Il comprend plus de 140

espèces (ANOFEL, 2014) réparties en dix sous-genres, dont trois sont spécifiques de mammifères (primates et rongeurs), quatre des oiseaux et trois des reptiles. Des trois sous-genres de mammifères, seuls *Plasmodium* et *Laverania* sont ceux retrouvés chez les primates (Figure 4).

Le *Plasmodium* se présente sous la forme d'un protozoaire de taille réduite (1 à 2 µm selon les formes). La coloration au May-Grünwald-Giemsa montre qu'il est constitué d'un cytoplasme bleu pâle entourant une vacuole nutritive claire et contenant un noyau rouge et du pigment brun-doré ou noir (hémozoïne).



**Figure 4.** Classification partielle des *Plasmodium* (Bruce-Chwatt, 1980 modifié)

### I-2-2. Répartition géographique des *Plasmodium*

Cinq espèces plasmodiales peuvent infecter les humains (ANOFEL, 2014): *P. falciparum* Welch 1897, *P. vivax* Grassi et Feletti 1890, *P. malariae* Grassi et Feletti 1889, *P. ovale* Stephens 1922 et *P. knowlesi* Knowles, 1932 récemment reconnu comme la cinquième espèce du genre *Plasmodium* causant le paludisme dans les populations humaines en Asie du Sud-Est (Cox-Singh *et al.* 2008 ; White, 2008).

- ***Plasmodium falciparum* Welch 1897** est à l'origine de 99,7 % des cas de paludisme en Afrique, tout comme en Asie du Sud-Est (50 %), Méditerranée orientale (71 %) et Pacifique occidental (65 %) (OMS, 2019). L'incubation dure de 7 à 12 jours. Il est très virulent pour les personnes n'ayant aucune immunité acquise (jeunes enfants, expatriés) chez qui il cause des accès pernicieux graves, notamment le neuropaludisme et les anémies, souvent mortels en absence de traitement ou suite à une mauvaise prise en charge.

- ***Plasmodium vivax* Grassi et Feletti 1890** présente une vaste aire de distribution. Au niveau mondial, 53 % des cas de paludisme à *P. vivax* sont enregistrés en Asie du Sud-Est (OMS 2019). C'est l'espèce prédominante en Amérique où elle est responsable de 75% de cas de paludisme. Il est rarement représenté en Afrique, essentiellement en Afrique de l'Est et dans les îles de l'océan indien (Comores et Madagascar). Sa période d'incubation minimale est de 11 à 15 jours. On peut observer des rechutes (accès de reviviscence) dues au réveil d'hypnozoïtes pendant 3 à 4 ans. Le paludisme à *P. vivax* détermine habituellement des accès fébriles sans gravité. Cependant, les infestations massives et répétées engendrent parfois des tableaux sévères tels que les fièvres rémittentes et le paludisme viscéral évolutif, mais jamais d'accès pernicieux (Baudon, 1987).

- ***Plasmodium ovale* Stephens 1922** sévit en Afrique intertropicale du centre et de l'Ouest. Comme *P. vivax* dont il est très proche, il provoque des accès de fièvre bénigne et il peut être à l'origine d'une fièvre rythmée tierce. Son incubation est de 15 jours au minimum mais peut être beaucoup plus longue. L'évolution est bénigne mais on peut observer, comme avec *P. vivax*, des rechutes tardives (5 ans).

- ***Plasmodium malariae* Grassi et Feletti 1889** sévit sur les trois continents tropicaux de manière beaucoup plus sporadique et se rencontre dans toute la région afrotropicale avec des fréquences qui varient de 2% à 45%, surtout dans les régions forestières. Il se différencie des autres espèces par une incubation plus longue (15 à 21 jours), la périodicité des accès intermittents et sa longévité (Baudon, 1987). L'infection est bénigne mais *P. malariae* peut parfois entraîner des complications rénales.

- ***Plasmodium knowlesi* Knowles, 1932** est une espèce zoonotique du singe récemment reconnue responsable d'un nombre important d'infections humaines en Asie du Sud-Est (Cox-Singh *et al.* 2008 ; White 2008). Elle sévit également en zone forestière et est étroitement liée à la répartition des singes macaques, son hôte habituel. Elle se différencie des autres espèces par un cycle érythrocytaire de 24 heures responsable d'une fièvre quotidienne.

Les infections sont le plus souvent simples, mais au moins 10 % des patients font un accès grave et 1 à 2 % ont une issue fatale.

### **I-2-3. Cycle de développement de *Plasmodium***

Les espèces du genre *Plasmodium* ont un cycle dixène qui se déroule successivement chez l'homme (phase asexuée chez l'hôte intermédiaire) et chez l'anophèle (phase sexuée chez l'hôte définitif) (**Figure 5**).

- **Phase asexuée chez l'homme**

Chez l'homme, la phase asexuée est divisée en 2 périodes intracellulaires : une phase hépatique et une phase sanguine.

- **Phase hépatique ou Schizogonie pré-érythrocytaire**

Après leur introduction dans l'organisme d'un individu via la piqûre d'une femelle de moustique vecteur (porteuse du stade sporozoïte), les sporozoïtes migrent en quelques minutes dans les cellules du foie, en empruntant la circulation sanguine. Dans l'hépatocyte, le sporozoïte se transforme en schizonte (pré érythrocytaire) ou « corps bleu » (forme multinucléée). Après 7 à 15 jours de maturation, ces cellules éclatent et libèrent les mérozoïtes qui gagnent la circulation sanguine. La schizogonie hépatique est unique et asymptomatique, la cellule hépatique ne pouvant être infectée que par des sporozoïtes.

- **Phase sanguine ou schizogonie érythrocytaire**

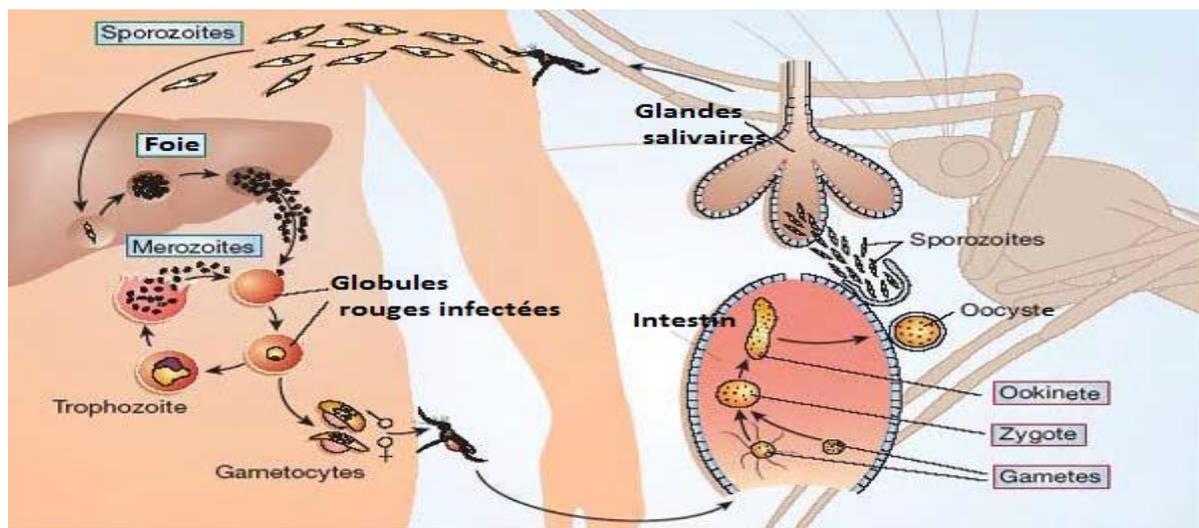
Une fois dans le sang, les mérozoïtes pénètrent très rapidement les globules rouges (érythrocytes) et se transforment après maturation en trophozoïtes. Ils divisent leurs noyaux plusieurs fois pour devenir des schizontes (érythrocytaires). Les schizontes devenus matures, ou corps en rosace éclatent et libèrent les mérozoïtes dont certains vont pénétrer de nouveaux globules rouges et débiter un nouveau cycle schizogonique. Cette partie du cycle correspond à la période clinique au cours de laquelle la parasitémie s'élève, le sujet devient fébrile : c'est l'accès palustre. En l'absence de traitement, tous les parasites évoluent progressivement au même rythme, tous les schizontes érythrocytaires arrivent en maturité au même moment, entraînant la destruction d'un grand nombre de globules rouges de manière périodique, toutes les 24 heures (pour *P. knowlesi*), 48 heures (fièvre tierce de *P. falciparum*, *P. vivax* ou *P. ovale*) ou toutes les 72 heures (fièvre quarte de *P. malariae*). En pratique on observe que la fièvre tierce due à *P. falciparum* est rarement synchrone. Après un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes subissent une maturation pendant une dizaine de jours,

accompagnée d'une différenciation sexuée. Ces mérozoïtes se transforment en gamétocytes mâle ou femelle, qui vont rester en circulation dans le sang pendant 10 à 15 jours.

- **Phase sexuée chez l'anophèle**

**Gamogonie**

Lors de son repas de sang sur un sujet infesté, le moustique absorbe différents stades du parasite. Les éléments asexués (trophozoïtes et schizontes) sont digérés, seuls les gamétocytes poursuivront leur développement. Les gamétocytes se transforment en gamètes mâles et femelles qui fusionnent en un œuf libre, mobile appelé ookinète. La fécondation a lieu vingt minutes à deux heures après le repas de sang. Cet ookinète quitte la lumière du tube digestif, se fixe ensuite sur la face externe de l'estomac et se transforme en oocyste. Celui-ci donne à son tour, naissance à des sporozoïtes capables de migrer à travers l'hémolymphe vers les glandes salivaires de l'anophèle, d'où ils pourront infecter le prochain être humain piqué par l'insecte.



**Figure 5.** Cycle biologique de *Plasmodium* spp chez l'homme et l'anophèle (Menard, 2005).

**I-2-4. Lutte contre *Plasmodium*, agent du paludisme**

La prévention, le diagnostic, et le traitement précoce du paludisme constituent les principaux moyens de réduction de l'intensité du paludisme, et permettent ainsi d'éviter le décès. Ils contribuent aussi à réduire la transmission du parasite.

**Prévention.** L'utilisation de médicaments antipaludiques préventifs, seuls ou en combinaison, est une stratégie recommandée par l'OMS chez les groupes les plus vulnérables

contre le paludisme en Afrique subsaharienne notamment les femmes enceintes, les nourrissons et les enfants de moins de 5 ans, vivant dans les zones à charge élevée et à forte transmission saisonnière du paludisme. Le traitement préventif intermittent du paludisme pendant la grossesse (TPIp), constitué de trois doses ou plus de TPIp par sulfadoxine-pyriméthamine (SP) est utilisé pour prévenir le paludisme chez les femmes enceintes. Depuis 2012, l’OMS recommande la chimioprévention saisonnière du paludisme comme stratégie complémentaire de prévention antipaludique pour le Sahel, sous-région de l’Afrique. Cette stratégie prévoit l’administration d’un traitement d’un mois d’amodiaquine et de sulfadoxine-pyriméthamine à tous les enfants de moins de cinq ans pendant la saison de forte transmission.

La mise au point de vaccins contre le paludisme a connu une accélération marquée au cours des dix dernières années. Le nombre d’essais cliniques a augmenté et quelques antigènes ont été essayés en zone d’endémie. Ces essais ont montré sans ambiguïté qu’un certain niveau d’immunité clinique antipalustre pouvait être induit par vaccination, dans des conditions expérimentales ou sur le terrain (Saul, 2007 ; Greenwood & Targett, 2009). Le plus récent, le Mosquirix (développé en avril 2019) associe en effet une protéine du *P. falciparum* fusionnée et combinée à des antigènes de surface du virus de l’hépatite B sous forme de particules analogues à un virus mais dénuées de propriétés infectieuses. Cette composition explique que le Mosquirix, qui nécessite quatre doses pour être opérant, immunise également contre l’hépatite B. Des essais cliniques rigoureux ont montré que le vaccin permettait de réduire à 4 sur 10 les cas de paludisme chez les jeunes enfants (OMS, 2020). Dès le mois d’octobre 2020, près d’un demi-million d’enfants ont reçu leur première dose de vaccin dans trois pays africains notamment le Ghana, le Kenya et le Malawi.

**Diagnostic.** Il est préalable au traitement et doit se faire de façon précoce et fiable afin de limiter le plus tôt possible les dommages causés par la maladie (morbidité et mortalité) et l’apparition d’une résistance aux médicaments utilisés pour le traitement. Il se fait par différents moyens dont le TDR (test de diagnostic rapide). Les techniques de goutte épaisse et de frottis constituent depuis plusieurs années l’examen de référence («*gold standard*») pour la détection de l’infection à Plasmodium (A-Elgayoum *et al.*, 2009; Parajuli *et al.*, 2009).

**Traitement.** Il est destiné à réduire la transmission de l’infection en diminuant le réservoir infectieux, et à éviter l’apparition et la propagation d’une résistance aux antipaludiques. Suite à la résistance de plus en plus croissante des parasites aux médicaments antipaludiques les plus usuels tels que la chloroquine, l’amodiaquine ou la sulfadoxine-pyriméthamine. Le meilleur traitement disponible et recommandé par l’OMS, en particulier

pour le paludisme à *P. falciparum*, est une combinaison thérapeutique à base d'artémisinine (CTA). L'utilisation de l'artémisinine dans la prise en charge du paludisme simple offre un gain sur la mortalité car permettant la destruction des trophozoïtes (Dondorp, 2008). Les combinaisons qui sont le plus couramment utilisées sont : artéméther + lumefantrine, artésunate + amodiaquine, artésunate + méfloquine, artésunate + sulfadoxine-pyriméthamine. Outre leur efficacité démontrée dans le traitement des cas de paludisme simple, ces combinaisons ont également un effet direct sur la viabilité des gamétocytes et donc sur la transmission et la propagation de l'infection palustre.

### **I-3. Vecteurs du paludisme**

#### **I-3-1. Position systématique**

Les anophèles appartiennent à l'embranchement des Arthropodes, à la classe des Insectes, à l'ordre des Diptères, au sous-ordre des Nématocères, et à la famille des Culicidae. Cette famille comprend 3 sous-familles : les Anophelinae, les Culicinae et les Toxorhynchitinae. La sous-famille des Culicinae comporte 33 genres dont certaines espèces transmettent des arboviroses (fièvre jaune, chikungunya, fièvre de la vallée du Rift, encéphalite japonaise, dengues...) et les filarioses lymphatiques. Certaines espèces appartenant aux genres *Aedes* et *Culex* transmettent les *Plasmodium* d'oiseaux mais n'ont jamais été impliqués dans la transmission des *Plasmodium* humains. La sous famille des Anophelinae comprend 3 genres dont *Anopheles* Meigen, 1818 constitué de 472 espèces, *Bironella* Theobald, 1905 constitué de 8 espèces, et *Chagasia* Cruz, 1906 constitué de 4 espèces (Harbach & Kitching, 2016). Le genre *Anopheles* Meigen, 1818 occupe une position taxinomique bien précise au sein de l'embranchement des Arthropodes, d'après Harbach (2004):

#### ➤ **Embranchement des Arthropodes :**

- corps formé par une succession de métamères regroupés en 2 à 3 tagmes ;
- présence en principe d'appendices articulés sur chaque métamère.

#### ➤ **Sous-embranchement des Hexapodes :**

- présence de 3 paires de pattes thoraciques ;
- corps divisé en 3 tagmes (tête, thorax, abdomen).

➤ **Classe des Ectognathes :**

- pièces buccales visibles à l'extérieur ;
- mandibules mono- ou dicondylées.

➤ **Sous-classe des Ptérygotes :**

- présence d'ailes à au moins un stade de leur développement post-embryonnaire.

➤ **Infra-classe des Néoptères :**

- présence d'un champ jugal sur l'aile.

➤ **Section des Oligonéoptères :**

- champ jugal avec une seule nervure longitudinale simple.

➤ **Ordre des Diptères :**

- présence d'une paire d'ailes, les ailes postérieures étant transformées en balanciers ;
- pièces buccales de type piqueur-suceur.

➤ **Sous-ordre des Nématocères :**

- antennes longues, multiarticulées avec des articles arrondis ;
- pronotum séparé du mésonotum par une suture transverse.

➤ **Famille des Culicidae :**

- corps recouvert d'écailles filiformes ;
- bord postérieur des ailes frangé d'écailles.

➤ **Sous-famille des Anophelinae :**

- trompe dressée en avant, beaucoup plus longue que le reste de la tête ;
- scutellum régulièrement courbé au bord postérieur.

➤ **Genre *Anopheles* Meigen, 1818**

- Taches formées par les écailles claires et sombres sur la costa.

### **I-3-2. Morphologie générale**

Les anophèles sont facilement reconnaissables au stade adulte par leur corps effilé portant de longues pattes, leur trompe également longue et la présence d'écailles sur la plupart des parties du corps (Figure 6).

La tête comprend :

- Deux gros yeux composés (avec de nombreuses ommatidies),
- Deux antennes constituées chacune de 15 articles, avec un fort dimorphisme sexuel.

Les mâles ont des antennes avec des soies longues et plumeuses (antennes plumeuses) comprenant les organes récepteurs pour l'olfaction, la perception des phéromones, et l'audition de certaines vibrations. Les femelles ont des antennes avec des soies verticillées, courtes et moins fournies que celles des mâles (antennes glabres). Elles portent de nombreux chémorécepteurs olfactifs qui servent au repérage et à la localisation de l'hôte pour le repas de sang.

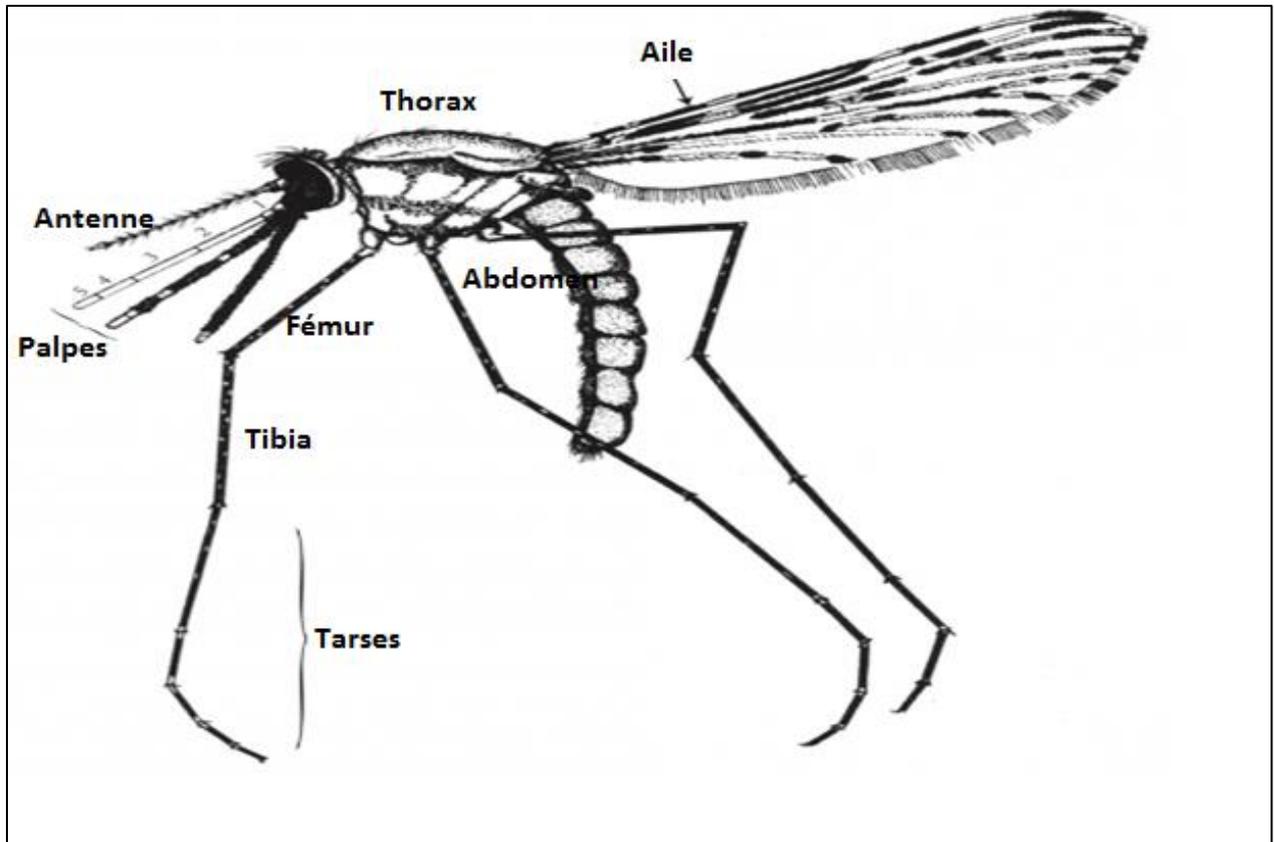
- Un appareil buccal de type suceur pour les mâles qui se nourrissent de jus sucré, du nectar de fleurs, de la sève, etc. Cet appareil est de type vulnérant chez les femelles qui se nourrissent comme les mâles mais qui sont aussi hématophages.

- Deux palpes maxillaires formés de 5 articles situés de part et d'autre du proboscis. Ces palpes sont caractéristiques. Chez les femelles d'*Anophelinae*, ils sont aussi longs que la trompe, alors que chez les *Culicinae* ils sont nettement plus courts que la trompe. Chez les mâles d'*Anophelinae*, l'extrémité des palpes est renflée en forme de massue et porte des soies, alors que les mâles de *Culicinae* ont les extrémités des palpes effilées et plus velues.

Le thorax porte 1 paire d'ailes et 3 paires de pattes. Il est segmenté en 3 parties visibles (pro-, méso- et méta-thorax) de tailles inégales. Chaque segment porte, au niveau ventral, une paire de pattes, longues et fines, chacune formée de 9 parties successives articulées (arthropodes) : la hanche, le trochanter, le fémur, le tibia et les 5 articles du tarse dont le dernier porte deux griffes latérales permettant au moustique de s'accrocher sur le support. Les pattes peuvent porter de nombreuses écailles dont l'ornementation est utilisée en systématique avec un critère ainsi libellé « pattes tachetées ou non » (Gillies & de Meillon, 1968). Le thorax est composé de nombreuses plaques chitinisées appelées tergites sur la face dorsale, ou sternites sur la face ventrale et pleurites sur les faces latérales. Il porte aussi deux paires de stigmates

latéraux pour la respiration et de nombreuses soies et écailles dont la forme et la disposition sont des critères taxinomiques.

L'abdomen comprend 10 segments dont au moins 7 sont bien visibles. Il porte également des écailles en nombre variable, qui sont utilisées comme éléments de systématique.



**Figure 6.** Adulte femelle d'*Anopheles* (Holstein, 1949).

### **I-3-3. Bioécologie et cycle de développement des anophèles**

Les anophèles sont des insectes holométaboles (à métamorphose complète). Leur développement comprend une succession de mues donnant lieu à quatre stades qui se déroulent en deux phases. Les trois premiers stades (oeuf, larve et nymphe) sont aquatiques, alors que le quatrième (adulte ou imago : mâle et femelle) est aérien (**Figure 7**).

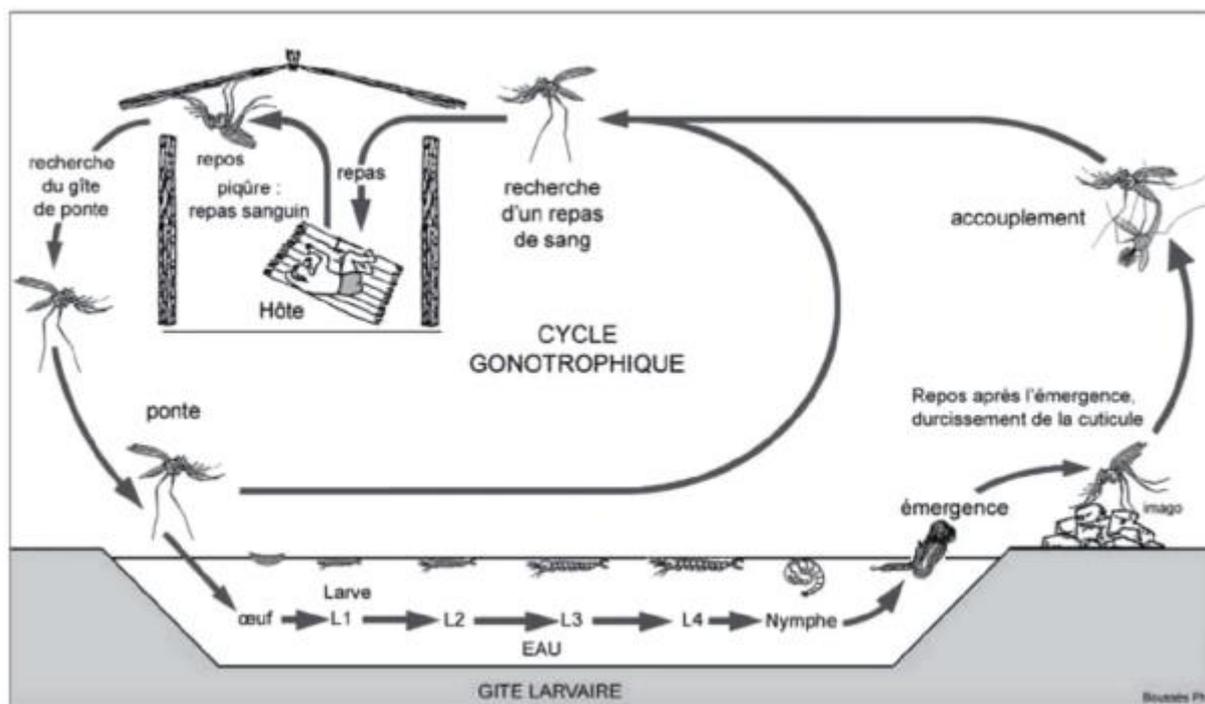
- **Phase aquatique**

Les femelles pondent les œufs isolément en lots de cent à cent cinquante, à la surface des points d'eau. Les gîtes larvaires (naturels ou artificiels, permanents ou temporaires) peuvent être très variés (dimensions, exposition au soleil, végétation aquatique et conditions

physicochimiques de l'eau) et constituent un élément important dans la distribution géographique des espèces. Les œufs se maintiennent à la surface de l'eau grâce à leurs minuscules flotteurs sur les côtés. L'œuf éclot au bout de 36 à 48h mais il arrive que sur la boue humide ou en eau très froide l'éclosion soit différée de quelques jours (Danis & Mouchet, 1991). Il donnera une larve de stade 1 (L1) qui après trois mues aboutira à une larve de stade 4 (L4). Les larves sont détritivores, se nourrissent d'éléments planctoniques comme les levures, les bactéries, les protozoaires. La durée totale de la vie larvaire est de 8 à 12 jours (Danis & Mouchet, 1991). La larve de stade 4 se transforme en une nymphe mobile qui ne se nourrit pas. La durée de vie nymphale est estimée entre 24 et 48h environs. La nymphe subira des transformations morphologiques et physiologiques importantes pour devenir un adulte.

- **Phase aérienne**

Après l'émergence, les moustiques se reposent 2 à 3 jours près des gîtes. Ces premiers jours de la vie imaginale permettent le durcissement de la cuticule, la prise d'alimentation sucrée et la maturation des organes locomoteurs et sexuels. L'accouplement a lieu au crépuscule lors d'essaimages (« swarming »), près des gîtes ou des habitations (Diabaté et *al.*, 2006). Les mâles sont fertiles après le 3e jour de vie imaginale, ce délai est nécessaire pour le bon fonctionnement des organes reproducteurs. Seule la femelle est hématophage et un délai de 24 h lui est nécessaire pour que ses pièces buccales durcissent avant de pouvoir percer l'épiderme de ses hôtes. Le repas de sang constitue pour la femelle un apport nutritionnel nécessaire à la maturation des ovocytes et conditionne la ponte, qui survient environ 48 à 72 heures après celui-ci (Rodhain & Perez 1985). Suivant la disponibilité d'un hôte, une femelle peut parcourir jusqu'à 3 km pour trouver un repas qui lui convient. Après chaque prise de sang lors d'une piqûre, la femelle gorgée se réfugie dans un abri ou gîte de repos pendant 48 à 72 heures dans les régions tropicales et subtropicales, pour digérer son repas de sang (Mouchet et *al.*, 2004). A la fin de la digestion, la femelle gravide présentant un abdomen blanchâtre et rempli d'œufs se met à la recherche d'un gîte d'oviposition ou gîte larvaire. L'ensemble du processus qui débute par la recherche de l'hôte, se poursuit par la prise d'un repas de sang puis sa digestion concomitante, la maturation des ovocytes, et se termine par la ponte est appelé cycle gonotrophique (**Figure 7**). Après la ponte, la femelle se met à la quête d'un nouvel hôte et un autre cycle recommence.



L1, L2, L3 et L4 : larves de stades 1, 2, 3 et 4.

**Figure 7.** Cycle biologique des anophèles (Mouchet et *al.*, 2004).

#### **I-3-4. Historique et répartition biogéographique des anophèles au Cameroun**

Les premières études sur les anophèles au Cameroun ont été faites en 1905 par Grünberg. De 13 espèces en 1943 (Vaucel & Campourcy, 1943), la faune anophélienne du Cameroun s'est enrichie au fil du temps : 15 espèces en 1953 (Rageau et Adam, 1953) et 20 en 1955 (Adam, 1955). Une étude menée au Cameroun par Adam (1956) dénombre 22 espèces d'anophèles, avec dans la région de Yaoundé et la zone forestière du Cameroun en général, un vecteur principal : *A. gambiae* et trois vecteurs secondaires : *A. funestus*, *A. moucheti*, *A. nili*.

En 1961, Mouchet et Gariou font une répartition biogéographique de 30 espèces anophéliennes retrouvées sur le territoire camerounais. Ainsi, on a 9 espèces ubiquistes qui sont : *A. nili*, *A. wellcomei*, *A. hancocki*, *A. rhodesiensis*, *A. gambiae*, *A. funestus*, *A. coustani*, *A. brunnipes* et *A. implexus*, 10 espèces savanicoles dont *A. flavicosta*, *A. brohieri*, *A. longipalpis*, *A. lesoni*, *A. rivulorum*, *A. pharoensis*, *A. squamosus*, *A. pretoriensis*, *A. rufipes* et *A. macmahoni*, 3 espèces montagnardes notamment *A. buxloni*, *A. natalensis* et *A. demelloni* et 8 espèces forestières *A. hargreavesi*, *A. cinctus*, *A. obscurus*, *A. paludis*, *A. smithii*, *A. jebudensis*, *A. fretownensis* et *A. moucheti*. Cependant, ces auteurs notent la présence probable

sur le territoire des espèces suivantes : *Anopheles marshalli* forme *musinhoi* et forme *gibbinsi*, *Anopheles maculipalpis* et *Anopheles barberellus*.

Les enquêtes entomologiques menées par Hervy *et al.* (1998) font état de 12 nouvelles espèces : *A. carnevalei*, *A. dualaensis*, *A. okuensis*, *A. cydippis*, *A. deemingi*, *A. domicola*, *A. mousinhoi*, *A. multicinctus*, *A. namibien sis*, *A. rageaui*, *A. sergentii macmahoni* et *A. vinckei*.

L'espèce nouvellement recensée est *A. ovengensis* appartenant au groupe *A. nili*, décrite par Awono-Ambene *et al.* (2004) dans la localité d'Oveng, dans la région du sud au Cameroun. Le Cameroun compte ainsi à nos jours, une soixantaine d'espèces anophéliennes recensées (Hervy *et al.*, 1998 ; Brunhes *et al.*, 2003 ; Cohuet *et al.*, 2003 ; Kengne *et al.* 2003 ; Awono-Ambene *et al.*, 2004 Antonio-Nkondjio *et al.*, 2019, Coetzee *et al.*, 2020, Kyalo *et al.*, 2017 ; Irish *et al.*, 2020). Parmi ces espèces, 6 revêtent une importance majeure : *A. gambiae*, *A. coluzzii*, *A. arabiensis*, *A. funestus*, *A. nili* et *A. moucheti* (Njan Nloga *et al.*, 1993 ; Fontenille & Simard, 2004, Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006, Djamouko *et al.*, 2020). Les espèces secondaires telles que *A. paludis*, *A. pharoensis*, *A. nili*, *A. rufipes* et *A. ziemanni* ont été rapportées comme jouant un rôle dans la transmission localisée du paludisme au Cameroun (Fontenille *et al.*, 2000 ; Awono-Ambene *et al.*, 2009 Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006, Tabue *et al.*, 2014 et 2017).

### **I-3-5. Principaux vecteurs du paludisme au Cameroun**

La plupart des vecteurs de *Plasmodium* appartiennent à des complexes d'espèces, groupes ou sous-groupes (Mouchet *et al.*, 2004) dont il est important de lever l'équivoque sur la nuance sémantique :

**Une espèce** est un groupe de populations naturelles réellement ou potentiellement interfécondes, isolées du point de vue reproductif des autres groupes équivalents Mayr (1942).

**Un complexe d'espèces** est un ensemble de plusieurs espèces morphologiquement identiques à tous les stades, mais différentes sur le plan génétique. Il est composé d'espèces jumelles. Les espèces jumelles ne sont pas seulement similaires morphologiquement, mais également proches génétiquement. Elles ont la même origine phylogénétique (Reid, 1968 ; Reid & Knight, 1961).

**Un groupe d'espèces** est un ensemble espèces très proches morphologiquement mais qui présentent de petites différences à un stade au moins de leur développement (Harbach, 1994).

### **I-3-5-1. Complexe *Anopheles gambiae***

Découvert en 1902, *Anopheles gambiae* Giles, 1902 est le principal complexe d'espèces cryptiques vecteur du paludisme en Afrique. Ce complexe est composé de neuf espèces jumelles différenciables (Davidson, 1962 ; Davidson & Hunt, 1973 ; Coetzee *et al.*, 2013) d'abord grâce à des techniques de cytogénétique (Coluzzi *et al.*, 1979) puis sur la base de l'étude du polymorphisme génétique interspécifique des régions de l'ADN ribosomique et sur une insertion SINE 200 irréversible (Scott *et al.*, 1993, Santolamazza *et al.*, 2008). Il s'agit d'*A. gambiae* Giles, 1902 ; *A. merus* Dönitz, 1902 ; *A. melas* Theobald, 1903 ; *A. arabiensis* Patton, 1904 ; *A. quadriannulatus* Theobald, 1911 ; *A. bwambae* White, 1985 ; *A. comorensis* Brunhes, le Goff et Geoffroy, 1997 ; *A. coluzzii* Coetzee et Wilkerson, 2013 ; et *A. amharicus* Hunt, Wilkerson et Coetzee, 2013. Les dernières études concernant ce complexe tendent à montrer la spéciation de deux sous-groupes, qui nécessiteraient des investigations supplémentaires : (1) un groupe proche d'*A. gambiae* s.s. découvert au Burkina faso, nommé provisoirement *Anopheles gambiae goundry* (Riehle *et al.* 2011) et (2) un groupe plus proche d'*A. bwambae* découvert au Gabon, que les auteurs ont nommé *A. fontenillei* (Barron *et al.*, 2019).

Ces espèces diffèrent sur de nombreux aspects écologiques, en particulier dans les préférences alimentaires des hôtes, les sites de reproduction, le comportement alimentaire et leur rôle dans la transmission du paludisme (Davidson, 1962 ; White *et al.*, 2011). Au Cameroun, seuls *A. gambiae*, *A. coluzzii*, *A. arabiensis* et *A. melas* sont présents (Adam, 1956 ; Service, 1958 ; Fondjo, 1996). *A. gambiae* et *A. coluzzii* sont adaptés aux zones de forêt et de savane humide, tandis que *A. arabiensis* peuple les environnements plus secs jusqu'en bordure du Sahara (Coz, 1973 ; Coetzee *et al.*, 2000). Au sud du Cameroun, *A. gambiae* et *A. coluzzii* coexistent avec une forte ségrégation des habitats le long des gradients d'urbanisation, avec *A. coluzzii* prédominant dans les milieux densément urbanisés et des habitats larvaires plus stables mais pollués (Kamdem *et al.*, 2012). *A. melas* est retrouvée sur la frange littorale Atlantique (Davidson & Lane, 1981 ; Gillies & Coetzee, 1987). *A. gambiae*, *A. coluzzii* et *A. arabiensis* jouent un rôle majeur dans la transmission du paludisme en Afrique tandis que autres espèces du complexe ont un rôle nul ou secondaire. *A. merus* se développe dans les eaux saumâtres des mangroves, respectivement sur le littoral Ouest et Est de l'Afrique. *A. quadriannulatus* et *A. amharicus* sont strictement zoophiles et ne sont pas impliqués dans la transmission du paludisme humain. *A. quadriannulatus* se rencontre en Afrique du sud-est et *A. amharicus* en Ethiopie (Hunt *et al.*, 1998 ; Coetzee *et al.*, 2013). *A. bwambae* est exclusivement connu en

Ouganda où ses larves vivent dans les sources d'eau minérale (White, 1985 ; Fontenille & Simard, 2004). La biologie d'*A. comorensis* présente sur l'île de Grande Comores dans l'océan Indien, reste peu connue. *A. goundry* et *A. fontenillei* récemment décrites sont toutes exclusivement exophiles avec une préférence zoophile.

### **I-3-5-2. Groupe *Anopheles moucheti***

Sur la base des similitudes morphologiques entre *A. bervoetsi* et *A. moucheti nigeriensis*, *Anopheles moucheti* a été considéré par Brunhes *et al* (1998) comme étant un groupe composé de trois formes morphologiques, à savoir *A. m. moucheti* Evans, 1925 (forme typique), *A. m. nigeriensis* Evans, 1931 et *A. m. bervoetsi* Haenens, 1961 ; distinguables par de légers caractères morphologiques présents chez l'adulte et / ou aux stades larvaires (Gillies & De Meillon, 1968). Des études isoenzymatiques ont révélé un faible niveau de variation nucléotidique sans corrélation avec ces formes morphologiques au sein des populations géographiques du Cameroun ; permettant ainsi de les considérer comme une seule espèce (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002). *A. moucheti* est largement répandu en Afrique de l'Ouest et du Centre. Ses larves sont fréquemment associées aux rivières lenticules, de basse température et de végétation aquatique abondante (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2009). Au Cameroun, cette espèce se développe à travers le réseau des rivières dans le Sud forestier. L'urbanisation accrue, l'extension de la déforestation ainsi que des modifications même à plus petite échelle telles que le nettoyage des berges des cours d'eau, peuvent être très préjudiciables à cette espèce au profit d'*A. gambiae* s.l. (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2005).

### **I-3-5-3. Groupe *Anopheles nili***

Rare dans les régions sahéliennes, *A. nili* se retrouve dans la majeure partie de l'Afrique tropicale. Ses larves se développent dans la végétation bordant les rives des rivières et des fleuves à courant rapide en zones forestières. Dans les années 1990, *A. nili* constituait le principal vecteur dans la zone forestière du sud Cameroun (Carnevale *et al.*, 1992). Sur la base des variations morphologiques, écologiques et éthologiques rapportées parmi les populations sauvages de *A. nili* s.l. (Gillies & De Meillon 1968, Carnevale *et al.*, 1992 ; Brunhes *et al.*, 1999), trois espèces et une variante ont été décrites : (1) *Anopheles nili* s.s. Theobald, 1904, espèce très anthropophile, elle colonise la majeure partie de l'Afrique intertropicale, du Sud du Sénégal au Soudan et au Nord de l'Afrique du Sud (Hamon & Mouchet 1961, Gillies & De Meillon 1968). Dans le bassin du Congo, une variante à ailes pâles connue sous le nom de

"forme Congo" (De Meillon 1947) a été signalée, mais aucune donnée biologique et / ou génétique ne permet de l'élever au rang d'espèce. *A. carnevalei* (Brunhes *et al.*, 1999) a été rapporté dans les régions de la forêt équatoriale de Côte d'Ivoire et du Cameroun. Largement répandu mais très méconnu, *A. somalicus* (Rivola & Holstein 1957) est zoophile et exophile ; et ne jouerait donc probablement aucun rôle dans la transmission des *Plasmodium*. Des études menées sur les populations de *A. nili* de la forêt dans la région Sud Cameroun ont permis de mettre en évidence la « forme Oveng » dont les études morphologiques et la structure génétique ont révélé qu'il s'agit d'une nouvelle espèce dénommée *Anopheles ovengensis* (Awono *et al.*, 2004).

L'analyse de séquences des régions ITS1, ITS2 et domaine D3 de rDNA des espèces et formes a révélé quatre groupes de génotypes, qui correspondent bien aux 4 espèces citées ci-dessus. En se basant sur la variation de séquence d'ITS2 des espèces du groupe *A. nili*, une méthode d'amplification par PCR allèle spécifique a été développée (Kengne *et al.*, 2003) ; permettant l'identification à tous les stades des quatre espèces de ce groupe.

#### **I-3-5-4. Groupe *Anopheles funestus***

*A. funestus* est un des vecteurs majeurs de *Plasmodium* en Afrique, ayant une compétence vectorielle parfois supérieure à celle d'*A. gambiae* (Gillies & De Meillon, 1968). Le groupe *A. funestus* est constitué de 11 espèces : *A. funestus* s.s., *A. funestus-like*, *A. parensis*, *A. aruni*, *A. vaneedeni*, *A. rivulorum*, *A. rivulorum-like*, *A. brucei*, *A. confusus*, *A. fucivenosus*, *A. lesoni* et *A. fluviatilis*. Plusieurs techniques de biologie moléculaire ont été mises au point pour l'identification précise des espèces du groupe *A. funestus* (Koekemoer *et al.*, 1998, 1999, 2002 ; Cohuet *et al.*, 2003 ; Spillings *et al.*, 2009). La plus récente est basée sur le polymorphisme de la région ITS2 de l'ADN ribosomal ; elle permet d'identifier *A. funestus* s.s., *A. vaneedeni*, *A. rivulorum*, *A. rivulorum-like*, *A. lesoni*, *A. parensis* et *A. funestus like* (Spillings *et al.*, 2009). Au sein de l'espèce *A. funestus*, des études cytogénétiques ont permis de caractériser deux formes chromosomiques dénommées Kiribina et Folonzo, avec un polymorphisme contrasté, témoignant probablement d'un phénomène de spéciation en cours (Costantini *et al.*, 1999). Ses larves se développent dans des étendues d'eau claire assez larges, permanentes ou semi-permanentes, avec une végétation émergente haute de quelques dizaines de centimètres, suffisante pour faire de l'ombre à la surface de l'eau (Evans, 1938). A ce jour, 3 espèces appartenant à ce groupe ont été signalées au Cameroun (Mouchet *et al.*, 1961 ; Cohuet *et al.*, 2004) : *A. funestus*, *A. lesoni* et *A. rivulorum* ; cependant, seul *A. funestus* est largement

distribué à travers le pays et joue un rôle majeur dans la transmission du paludisme (Cohuet *et al.*, 2004).

#### **I-4. Définitions des concepts**

##### **I-4-1. Anthrophilie / zoophilie, endophagie / exophagie, endophilie / exophilie**

**Anthrophilie et zoophilie** : une espèce est dite anthrophile lorsqu'elle se nourrit du sang de l'homme. Elle est par contre zoophile si elle se nourrit sur les animaux. Cependant, il peut exister des espèces à régime mixte homme/animal. L'anthrophilie est l'une des conditions pour qu'un anophèle soit vecteur de paludisme humain.

**Endophagie et exophagie** : une espèce est qualifiée d'endophage si elle pique à l'intérieur des habitations, et d'exophage si elle pique à l'extérieur. L'exophagie des vecteurs peut réduire l'efficacité des méthodes de lutte telle que l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides.

**Endophilie et exophilie** : les espèces endophiles sont celles qui se reposent dans les maisons après la prise de leur repas de sang. Celles qui se reposent dans les abris externes sont dites exophiles. Cependant, certains anophèles, tout en piquant à l'intérieur, sortent plus ou moins rapidement des maisons pour gagner les abris extérieurs et présentent donc des tendances exophiles. L'exophilie de certaines espèces d'anophèles peut être considérée comme l'une des causes d'échec des campagnes de lutte antipaludique par des traitements intra-domiciliaires d'insecticide.

##### **I-4.2. Paramètres de la transmission du paludisme**

Plusieurs indices sont souvent utilisés pour évaluer le rôle épidémiologique d'une espèce d'anophèle. Les plus couramment utilisés sont :

**Le taux d'anthrophilie (a)** définit comme le nombre de repas de sang pris par un moustique sur un homme en 24h. Cependant, le taux d'anthrophilie peut aussi représenter le pourcentage d'anophèles ayant pris un repas de sang sur l'homme.

**L'agressivité (ma)** représente le nombre de piqûres que reçoit en moyenne un individu en une période donnée. L'agressivité a pour expression :  $m \times a$  ; où **m** représente la densité relative de femelles piquant l'homme, et **a** le taux d'anthrophilie.

**L'indice sporozoïtique (Is)** ou circumsporozoïtique (**ICS**) est le pourcentage de moustiques infectés par *Plasmodium* sur un échantillon disséqué (Is) ou alors le pourcentage de

moustiques positifs après un test ELISA (ICS), qui permet de détecter la présence de l'antigène circumsporozoïte.

**Le taux d'inoculation entomologique (TIE)** définit comme le nombre de piqûres infectantes que reçoit un homme pendant une période donnée. Le taux d'inoculation entomologique peut être calculé par nuit, mois ou an, et pour chaque espèce vectrice. Son expression est : **TIE = ma x ICS**.

## **I-5. Lutte contre les vecteurs du paludisme**

La lutte antivectorielle fait partie intégrante de la lutte contre le paludisme dont elle constitue une des méthodes préventives. Elle a pour but l'action efficace, rapide et persistante sur les vecteurs visés, avec moins d'effets possibles sur l'homme et les organismes non-cibles (Rodhain & Perez 1985). On distingue les méthodes de lutte visant à réduire les populations larvaires, ou à augmenter la mortalité des adultes (lutte imagicide) et des méthodes visant à réduire le contact homme-vecteur.

### **I-5-1. Lutte antilarvaire**

Les moyens de lutte contre les larves peuvent prendre plusieurs formes :

- La lutte physique qui vise à aménager l'environnement de manière à le rendre défavorable au développement ou à la survie des vecteurs. Le principal moyen de lutte physique contre les anophèles vecteurs consiste à supprimer les gîtes larvaires potentiels par drainage, comblement ou amélioration de l'évacuation des eaux de pluie (Keiser *et al.* 2005 ; Rodhain & Perez 1985). Ce type d'opération peut être envisagé dans certains cas, par exemple en présence d'un gîte important et très productif, mais s'avère souvent difficile à réaliser en raison de la présence de nombreux gîtes naturels disséminés et temporaires (Bomblies *et al.* 2008 ; Gillies & Coetzee 1987). Les méthodes de culture irriguée peuvent également être définies de manière à limiter les possibilités de développement des vecteurs, principalement par l'aménagement, l'entretien et le nettoyage des canaux, et l'assèchement périodique des parcelles (Keiser *et al.* 2005 ; Mutero *et al.* 2000).

- La lutte biologique quant à elle préconise l'utilisation de prédateurs inféodés aux gîtes potentiels de moustiques qui élimineraient ou réduiraient considérablement l'espérance de vie des vecteurs. Les prédateurs peuvent être les nématodes (*Ramanormis cilivorax*), les larves et adultes de libellules, les punaises aquatiques, les planaires, les cyclops, les poissons larvivores du genre *Gambusia*, les guppies (*Poecilia reticulata*), les larves de moustiques du

genre *Toxorhynchites*. Les champignons *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* ont montré de bons résultats sur plusieurs espèces de Culicidae, dont le principal vecteur du paludisme en Afrique sub-Saharienne, *A. gambiae* s.s. (Farenhorst *et al.*, 2009, Lovett *et al.*, 2019). De rares exemples de lutte efficace utilisant des poissons larvivores culiciphages ont été observés dans des zones de paludisme instable, où les gîtes larvaires étaient limités et facilement repérables (Louis & Albert 1988). Les pathogènes présentent certains avantages par rapport aux prédateurs ; ils sont sélectifs, facilement reproductibles et stockables pour une meilleure utilisation (Lacey & Undeen 1986).

La lutte chimique consiste à épandre des larvicides (insecticides, préparations bactériennes) et des inhibiteurs de croissance des insectes (IGRs : Insect growth regulators en anglais) dans les gîtes larvaires. Cette intervention peut être particulièrement utile dans des zones urbaines et périurbaines, mais il est peu probable qu'elle soit efficace dans la plupart des milieux ruraux d'Afrique où les sites de reproduction sont généralement innombrables, mouvants, et largement dispersés.

Au Cameroun deux études pilotes de lutte anti larvaire avec *Bacillus sphaericus*, ont été initiées dans les années 1990, la première à Maroua et la seconde à Yaoundé, toutes contre *Culex quinquefasciatus* (Barbazan *et al.*, 1997). Une campagne de lutte antilarvaire contre les anophèles a été effectuée dans la ville de Yaoundé de 2017 à 2020 avec un larvicide à base de *Bacillus thuringiensis* qui a permis d'avoir des résultats satisfaisants (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2021).

### **I-5-2. Lutte imagocide**

- La lutte imagocide agit principalement sur la longévité des vecteurs, en diminuant la probabilité de survie jusqu'à un âge épidémiologiquement dangereux. Elle peut faire appel à des méthodes physiques, biologiques, génétiques ou chimiques qui ont leurs avantages et inconvénients mais dont il importe de connaître les conditions d'emploi et les limites en termes d'efficience et d'efficacité.

- La lutte physique consiste à empêcher l'anophèle de piquer l'homme en interposant une barrière mécanique (grillage de fenêtres, moustiquaires) pour limiter l'accessibilité des anophèles à l'hôte.

- Les méthodes biologiques utilisent des organismes vivants et des pathogènes capables d'affecter les populations d'arthropodes visés. En effet, les champignons *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* ont montré une efficacité contre plusieurs espèces de

Culicidae y compris *Anopheles gambiae* s.s., le principal vecteur du paludisme en Afrique sub-Saharienne (Farenhorst *et al.*, 2009 ; Scholte *et al.*, 2005 ; 2006). Les adultes infectés présentent des taux de survie et de fécondité réduits, ainsi qu'une moindre propension à prendre un repas sanguin (Scholte *et al.* 2006). Toutefois, cette méthode n'est pas praticable à grande échelle.

- Dans le cadre de la lutte génétique, deux approches sont actuellement en exploration : la Technique de l'Insecte Stérile (TIS) et les moustiques transgéniques sont en cours de développement et sont basées sur la manipulation du patrimoine génétique des moustiques afin d'obtenir des individus transgéniques qui peuvent être soit stériles, soit réfractaires aux parasites qu'ils transmettent habituellement (Tabachnick, 2003, Fontenille *et al.*, 2005). La lutte génétique peut en effet, dans certains cas, permettre la réduction des populations de moustiques dans des aires géographiques restreintes, mais reste toutefois une technique très coûteuse qui nécessite un personnel hautement qualifié et du matériel délicat. Les lâchées de moustiques génétiquement modifiés dans l'environnement nécessiteraient des approbations sur les plans de la biosécurité, de l'éthique et de la réglementation, ainsi que le consentement des communautés.

- La lutte chimique antiimaginale est la plus utilisée et la plus diversifiée ; les 2 principales méthodes préconisées par l'OMS et à efficacité prouvée dans de nombreuses situations, sont : les moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) et la pulvérisation ou aspersion intradomiciliaire (PID) d'insecticides à effet rémanent à l'intérieur des habitations. Ces méthodes utilisent les propriétés de nombreuses molécules à effet insecticide (substances synthétiques ou végétales) qui tuent les vecteurs par contact ou par ingestion.

### **I-5-3. Composés utilisés en santé publique**

#### **I-5-3-1. Insecticides**

Les principaux insecticides utilisés appartiennent à quatre principales familles : les organochlorés (DDT, dieldrine), les organophosphorés (malathion, fenitrothion, téméphos), les carbamates (propoxur) et les pyréthriinoïdes (perméthrine, deltaméthrine, lambda-cyhalothrine, alpha-cyperméthrine, bifenthrine...). Ces produits peuvent être appliqués directement dans l'environnement sous différentes formulations, en suspension, poudres mouillables, émulsions, tablettes ou microcapsules

- **Organochlorés**

Cette famille d'insecticides comprend le dichloro-diphényl-trichloroétane ou DDT et ses analogues, le lindane (hexachloro-cyclohexane ou HCH) et les cyclodiènes (dieldrine, endosulfan). Les organochlorés ont pour cible principale les canaux sodiques de l'insecte dont

ils bloquent périodiquement la fermeture entraînant un déséquilibre ionique entre l'intérieur et l'extérieur de la membrane. Il en résulte une perturbation de la transmission de l'influx nerveux à travers le nerf, provoquant ainsi un effet de choc ou « knockdown » suivi d'une paralysie qui entraîne la mort de l'insecte (Carle, 1985). Toutefois la dièldrine, bien qu'appartenant à cette même famille d'insecticides, possède un mécanisme d'action bien particulier qui affecte le bon fonctionnement des récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA). L'insecticide se fixe sur les sites GABA en inhibant la dynamique du canal chlore qui reste alors en position ouverte. Ce dysfonctionnement entraîne une inactivation de la membrane nerveuse qui, lorsqu'elle se prolonge, se traduit par une paralysie du système nerveux. Le DDT a été l'insecticide le plus utilisé notamment pour les pulvérisations intra-domiciliaires à grandes échelles pendant les campagnes d'éradication du paludisme dans les années 1950. Cet insecticide agit sur l'insecte par contact et ingestion, induisant une incoordination motrice puis une paralysie générale. La toxicité aiguë des organochlorés envers l'homme est relativement faible, dans les conditions normales d'utilisation, mais ont une rémanence excessive car certains peuvent persister très longtemps dans les sols, les tissus animaux et végétaux ; c'est pourquoi ils ont été interdits par la convention de Stockholm (CPCS, 2009)

- **Organophosphorés**

Ce sont les dérivés organiques de l'acide phosphorique. Ils agissent sur le système nerveux par inhibition du cholinestérase, qui est bloquée sous une forme inactive : l'acétylcholine libérée s'accumule au niveau de la synapse, empêchant la transmission de l'influx nerveux, ce qui entraîne la mort de l'insecte. À la différence des organochlorés, les organophosphorés présentent une faible rémanence. Ils pénètrent facilement dans l'organisme des insectes par leur liposolubilité élevée (Testud & Grillet, 2007).

- **Carbamates**

Les carbamates sont les dérivés de l'acide carbamique ; comme les organophosphorés, ce sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Ils sont moins rémanents et, pour la plupart, moins toxiques pour les mammifères que les organochlorés et les organophosphorés.

- **Pyréthriinoïdes**

Les pyréthriinoïdes sont des dérivés synthétiques des pyréthrines (insecticides naturels extraits des fleurs de *Chrysanthemum cinariaefolium*) dont ils diffèrent par leur stabilité à la

lumière. Suivant leur composition chimique et leurs modes d'action, ces insecticides sont classés en 2 groupes : les pyréthrinoïdes de type I qui n'ont pas de groupement cyano (exemple : la perméthrine) et les pyréthrinoïdes de type II caractérisés par la présence du groupement cyano en position  $\alpha$  de la liaison ester (exemples : la deltaméthrine et la lambda cyalothrine) (Elliot, 1989). Comme les organochlorés, ils tuent l'insecte en bloquant le fonctionnement des canaux sodiques indispensables à la transmission de l'influx nerveux (Hemingway *et al.*, 2004). Les pyréthrinoïdes sont les seuls insecticides recommandés pour l'imprégnation des moustiquaires en raison de leur rapidité d'action à faible dose (effet knock-down ou KD), leur effet excito-répulsif et leur innocuité pour l'homme (Zaim *et al.*, 2000).

### **I-5-3-2. Régulateurs de croissance**

Les régulateurs de croissance sont des analogues des hormones de croissance des insectes ; ils appartiennent à deux groupes : les juvénoïdes et les ecdysoïdes. Les juvénoïdes sont actifs sur les larves de dernier stade et inhibent la nymphose. Les ecdysoïdes agissent sur tous les stades larvaires et inhibent la formation de l'exosquelette de la larve après la mue (Doannio *et al.*, 1992).

### **I-5-3-3. Synergistes**

Ce sont des composés chimiques qui n'ont pas d'effet létal par eux-mêmes ; mais qui, combinés à certains insecticides, augmentent leur activité en bloquant les mécanismes de détoxification (Mouchet, 1980). Ils sont en effet reconnus comme un substrat par certaines enzymes de détoxification. Ainsi, leur utilisation permet d'évaluer l'implication de mécanismes de résistance métabolique dans l'expression de phénotypes de résistance. Trois synergistes sont communément utilisés pour mettre en évidence l'effet des enzymes responsables de la dégradation des toxines chez les insectes :

- Le Pypéronyl butoxide (PBO) qui inhibe l'activité des oxydases (Protopopoff *et al.*, 2018),
- Le S,S,S-tributylphosphotrithioate (DEF) qui inhibe l'activité des estérases (Etang *et al.*, 2022)
- Le diéthylmaléate (DEM) qui inhibe l'activité des glutathion S-transférases (Nwane *et al.*, 2013).

## **I-6. Résistance des vecteurs aux insecticides**

La résistance des insectes est définie par l'OMS comme étant « l'apparition, dans une souche d'insectes, de la faculté de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet létal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce. L'expression "résistance due au changement de comportement" désigne l'apparition d'une aptitude de l'insecte à éviter une dose qui serait létale pour lui. » (OMS, 2012).

Le développement et le maintien de résistances dans des populations dépendent de la quantité et de la fréquence des traitements, ainsi que des espèces concernées. Certaines espèces peuvent être résistantes à une très large gamme de composés chimiques ; on parle alors de résistance « croisée » lorsqu'un seul mécanisme confère la résistance à différents insecticides et de résistance « multiple » lorsque plusieurs mécanismes distincts confèrent la résistance à différents insecticides (Whalon *et al.*, 2008).

Plusieurs types de mécanismes de résistance peuvent être distingués : Les mécanismes de résistance comportementale qui permettent aux individus d'éviter le contact avec le produit toxique ou qui limitent la durée de ce contact ; les mécanismes entraînant une pénétration réduite de l'insecticide dans le corps de l'arthropode, son excrétion accrue ou sa séquestration sont mal documentés et ne semblent pas jouer un rôle prépondérant dans la résistance chez les insectes vecteurs de pathogènes. En revanche, les mécanismes touchant les processus biochimiques (mutation de la cible et dégradation métabolique de l'insecticide) sont plus fréquents et peuvent aboutir à des niveaux de résistance considérables (Hollingworth & Dong, 2008 ; Pedrini *et al.*, 2009 ; Roberts & Andre, 1994 ; Scott, 1999).

### **I-6-1. Mécanismes de résistance**

Les résistances sont contrôlées par un ou plusieurs gènes qui peuvent présenter différents allèles apparus par mutation (Poirié & Pasteur, 1991) et qui permettent à l'insecte, d'éviter le contact avec le composé toxique (résistance comportementale) (Lines *et al.*, 1987, Mathenge *et al.*, 2001), de diminuer sa pénétration ou d'augmenter son excrétion (résistance cuticulaire) (Apperson & Georghiou, 1975) ou encore sa détoxification (résistance métabolique), et même de modifier la structure des cibles ; de sorte que l'affinité avec l'insecticide est diminuée.

#### **I-6-1-1. Résistance cuticulaire**

Elle se traduit par une pénétration réduite de l'insecticide dans le corps de l'insecte ; ce faible taux de pénétration donnerait plus de temps aux enzymes de détoxification pour métaboliser les molécules insecticides, aboutissant à une meilleure survie des moustiques comme observé chez *A. gambiae*, (Awolola *et al.*, 2009). L'excrétion accrue ou la séquestration de l'insecticide sont mal documentées et ne semblent pas jouer un rôle prépondérant dans la résistance chez les insectes vecteurs de pathogènes. Seul, ce mécanisme offre une résistance moindre comparé aux autres mécanismes physiologiques, mais combiné à des mécanismes de détoxification, ils peuvent ensemble générer des niveaux bien plus importants de résistance (résistance multiplicative) tel qu'observé pour la résistance aux pyréthriinoïdes chez *A. gambiae* (Djouaka *et al.*, 2008).

### **I-6-1-2. Résistance comportementale**

Le mécanisme de résistance comportementale peut :

- Être dépendant du stimulus, ce qui implique une reconnaissance de la substance toxique par des récepteurs sensoriels de l'insecte, créant une irritabilité (qui pousse l'insecte à quitter l'environnement toxique au contact de l'insecticide) et une répulsion (qui permet à l'insecte d'éviter le contact avec le pesticide) (Davidson, 1953).
- Correspondre à la possibilité pour l'insecte de limiter le temps de contact avec le pesticide.

### **I-6-1-3. Résistance métabolique**

Cette catégorie regroupe les mécanismes biochimiques entraînant une dégradation de l'insecticide en métabolites moins toxiques ou inactifs et plus facilement excrétables (plus faible lipophilie), diminuant ainsi la quantité d'insecticide atteignant la cible. Cette dégradation est causée par des enzymes dites de « détoxification » comme les monooxygénases à cytochrome P450 (P450s ou CYP pour les gènes correspondants), les glutathion S-transférases (GSTs) ou bien les carboxylestérases (COEs). Les cytochromes P450s peuvent catalyser un grand nombre de réactions chimiques comme des hydroxylations, dealkylations, epoxydations, oxydations etc. (Wondji *et al.*, 2009, Vontas *et al.*, 2020). Les GSTs catalysent l'addition d'un groupement glutathion par conjugaison, mais peuvent aussi catalyser la déchloration des organochlorés comme le DDT (Menze *et al.*, 2018). Enfin, les estérases catalysent l'hydrolyse de liaisons ester (Prasad *et al.*, 2017).

#### **I-6-1-4. Résistance par modification de la cible**

Les sites d'action des insecticides de synthèse (organophosphorés, des carbamates et des pyréthriinoïdes) sont pour la plupart localisés dans le système nerveux. Parmi les cibles moléculaires, les trois plus importantes sont : la modification du canal sodium (résistance knock-down : kdr) responsable de la résistance aux pyréthriinoïdes et au DDT, la modification de l'acétylcholinestérase responsable de la résistance aux organophosphates et aux carbamates, et la modification de l'acide gamma-aminobutyrique responsable de la résistance à la dieldrine (RDL) (Hemingway & Ranson, 2000, Enayati & Hemingway, 2010).

- **Résistance kdr**

L'insecticide provoque chez l'insecte l'effet "knock down" (kd). L'effet kd représente la traduction phénotypique de la sensibilité du système nerveux de l'insecte vis-à-vis du pesticide. La résistance à l'effet kd se caractérise par une diminution de l'affinité entre les protéines membranaires des neurones et les insecticides, ce qui au niveau moléculaire se traduit par une mutation du gène dit *Kdr* au niveau du canal sodique (Hemingway *et al.*, 2004). Le canal sodique est le site cible des insecticides DDT et pyréthriinoïdes et des substitutions d'acides aminés à ce locus sont associées à une résistance aux insecticides. Cette résistance a été observée pour la première fois dans les années 1950, chez une souche de mouche domestique (Milani & Travaglini, 1957). Cette diminution de la sensibilité du système nerveux est sous la dépendance d'un gène récessif nommé kdr « knock down resistance » situé sur le chromosome 3 (Tsukamoto *et al.*, 1965). Chez l'anophèle, la mutation à l'origine de kdr se trouve en position 1014 dans le segment hydrophobe 6 du domaine II du canal sodique voltage dépendant. Une nouvelle mutation, la N1575Y, située dans la boucle intra-cytoplasmique reliant les domaines III et IV des canaux sodiques, a été observée dans des populations d'*A. gambiae* portant déjà la mutation kdr. Elle augmente de manière significative la résistance aux pyréthriinoïdes, alors que seule, la mutation N1575Y, ne semble avoir aucun effet.

- **Modification de l'acétylcholinestérase**

L'acétylcholinestérase est la cible des organophosphorés et des carbamates. Le rôle de l'acétylcholinestérase est d'hydrolyser l'acétylcholine ce qui permet la fermeture des canaux associés au récepteur du neurotransmetteur. Si l'action de cette enzyme est bloquée, la membrane post-synaptique se trouve continuellement excitée. Dans ce cas, la résistance est sous la dépendance du gène dit "*Ace.I*" ou Acétylcholinestérase Insensible (Mutero *et al.*, 1994). Elle provient d'une substitution de la glycine par la sérine due à une mutation à la position 119 du

gène Ace-1 (G119S) et affecte la structure de l'enzyme, de telle sorte que le site catalytique est moins accessible à l'insecticide. Cette mutation est à l'origine d'une résistance croisée aux carbamates et aux organophosphorés.

- **Les récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA<sub>r</sub>)**

Les récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA<sub>r</sub>) sont les cibles de nombreux insecticides organohalogénés, dont la dieldrine et le lindane. La résistance provient d'une substitution de l'alanine par la sérine (Ffrench-Constant *et al.*, 1993) appelée mutation A296S sur une séquence codante du GABA. Les insecticides se fixent au récepteur de l'acide gamma-aminobutyrique et inhibent le fonctionnement du canal chlore qui lui est associé.

## **I-6-2. Stratégies de gestion de la résistance**

Les stratégies de gestion de la résistance visent à prévenir, retarder, ou limiter le développement d'individus résistants au sein d'une population cible. La gestion de la résistance doit être une partie intégrante de toute stratégie de lutte à base d'insecticides. Une gestion adéquate ne peut se réaliser que si l'on connaît bien les facteurs biotiques et abiotiques influençant l'évolution et la dispersion des gènes de résistance dans les populations naturelles. Afin de limiter au maximum la pression de sélection et retarder l'évolution de la résistance, il faut (Leeper *et al.*, 1986) :

- choisir un insecticide suffisamment différent de ceux utilisés auparavant ;
- respecter la dose d'application ;
- localiser l'application dans le temps et dans l'espace ;
- utiliser des produits synergiques ;
- diversifier les méthodes de lutte.

D'une manière générale, on distingue trois méthodes de gestion de la résistance chez les insectes : la gestion par modération, la gestion par saturation et la gestion par combinaison d'insecticides.

### **I-6-2-1 Gestion par modération**

Cette stratégie consiste à minimiser la pression de sélection exercée sur un gène de résistance en diminuant la fréquence d'application et les doses d'insecticides, ou encore en

utilisant les produits peu rémanents qui se dégradent rapidement dans l'environnement (Leeper *et al.*, 1986).

### **I-6-2-2 Gestion par saturation**

Cette méthode consiste à utiliser des doses d'insecticides suffisamment fortes pour éliminer les individus hétérozygotes (Tabashnik & Croft, 1982 ; Roush, 1989). Elle nécessite le maintien d'une zone non traitée, permettant la migration d'individus sensibles dans la population afin de "diluer" à chaque génération la proportion d'individus homozygotes résistants qui survivent aux traitements (Curtis, 1981).

### **I-6-2-3. Gestion par les combinaisons d'insecticides**

Cette méthode repose sur l'utilisation combinée d'insecticides ayant des modes d'action différents. Les insecticides peuvent être utilisés de façon simultanée (mélange), ou alternée dans le temps (séquences, rotation) et dans l'espace (mosaïque) (Tabashnik, 1989). Les rotations d'insecticides et les mosaïques ont pour principe de limiter la durée d'exposition de la faune cible à chaque insecticide, afin que la fréquence du gène de résistance qui a augmenté pendant que l'on utilisait l'insecticide correspondant, décroisse (Tabashnik, 1989). Enfin, les mélanges d'insecticides se basent sur l'hypothèse que si la probabilité de voir apparaître une résistance à l'un des composés du mélange est un événement rare et indépendant, alors la probabilité de voir apparaître une résistance à plusieurs composés de l'association est extrêmement rare (Curtis, 1985). L'intérêt fondamental de cette stratégie vient du fait que soit les insecticides en mélange pourraient agir en synergie, soit chaque insecticide du mélange va pouvoir éliminer les individus qui lui sont génétiquement sensibles (Comins, 1986 ; Roush, 1989).

## **I-7. Développement socio-économique et dynamique de la transmission du paludisme**

Les variables socio-environnementales influencent la distribution spatiale et temporelle, l'intensité et la durée des maladies infectieuses en général (Wu *et al.*, 2014 ; Bouzid *et al.*, 2014 ; Ostfeld & Brunner, 2015) ; et la survenue, la transmission, la saisonnalité et la périodicité du paludisme en particulier (Zinyowera *et al.*, 1997 ; Harvell *et al.*, 2002 ; Alegana *et al.*, 2013). En effet, le statut socioéconomique et l'éducation seraient indirectement liés au paludisme, et l'amélioration de ces deux facteurs a contribué à la lutte contre la maladie dans de nombreux pays en développement (Zhou *et al.*, 2010). De même, les mouvements démographiques et les altérations environnementales favorisent la prolifération des maladies à transmission

vectorielle, principalement le paludisme, la filariose lymphatique, l'encéphalite japonaise B et l'onchocercose (Hunter *et al.*, 1993).

Les modifications de l'environnement pour la construction des barrages, des routes et des centres industriels et résidentiels entraînent la création des gîtes de reproduction des moustiques ; par conséquent, elles modifient la dynamique de la transmission du paludisme (Breman *et al.*, 2007).

La constance du paludisme endémique dans certaines parties du monde et la résurgence de la maladie dans les régions où des efforts d'éradication ont été entrepris sont en grande partie dues aux facteurs sociaux, culturels et économiques.

Au Cameroun, des études ont été conduites en zone équatoriale entre 2000 et 2006, suggérant l'influence des modifications environnementales sur la transmission du paludisme (Quakyi *et al.*, 2000 ; Manga *et al.*, 1997).

#### **I-7-1. Paludisme et barrages**

Les barrages sont construits pour apporter des avantages sociaux et économiques mais, comme tout effort de développement, ils sont également associés aux coûts sociaux. Leur impact sur la santé des riverains constitue une problématique majeure dans les pays tropicaux. De ce fait, il est important que les conséquences possibles sur la santé soient soigneusement évaluées lors de la planification, la construction et l'exploitation des barrages.

Les barrages créent des changements microclimatiques (température ambiante minimale élevée), fournissent des micro-habitats frais et humides aux moustiques en raison des infiltrations d'eau, de la saturation des sols et de la croissance abondante de la végétation (Fisiha 2002).

Environ 9,4 millions de personnes en Afrique subsaharienne sont à risque de contracter le paludisme parce qu'ils vivent à proximité des grands barrages ou des systèmes d'irrigation formels (Keiser *et al.*, 2005). En Ethiopie par exemple, la construction du barrage de Koka a été associée à des niveaux accrus de transmission du paludisme et à une augmentation de la prévalence de *P. falciparum* au sein des communautés riveraines (Lautze *et al.*, 2007). De même, Yewhalaw *et al.* (2009) ont observé un taux élevé d'infections à *P. vivax* chez les enfants vivant dans les communautés environnantes. L'augmentation de la transmission du paludisme a également été rapportée dans les communautés proches du barrage de Bamendjin au Cameroun (Atangana *et al.*, 1979).

Les fortes densités de populations humaines autour des barrages coïncident souvent avec une augmentation en densité de moustiques résultant de l'augmentation des gîtes de reproduction créés le long du réservoir. Dans les régions tropicales, les réservoirs ont un grand potentiel d'accroissement de la transmission du paludisme tant que les températures quotidiennes sont assez chaudes ( $> 20^{\circ}\text{C}$ ) pour entretenir le développement des stades aquatiques des moustiques ainsi que le développement du parasite du paludisme. Cependant, les réservoirs n'entraînent pas toujours une augmentation de la transmission du paludisme, surtout dans les lieux où le paludisme est saisonnier.

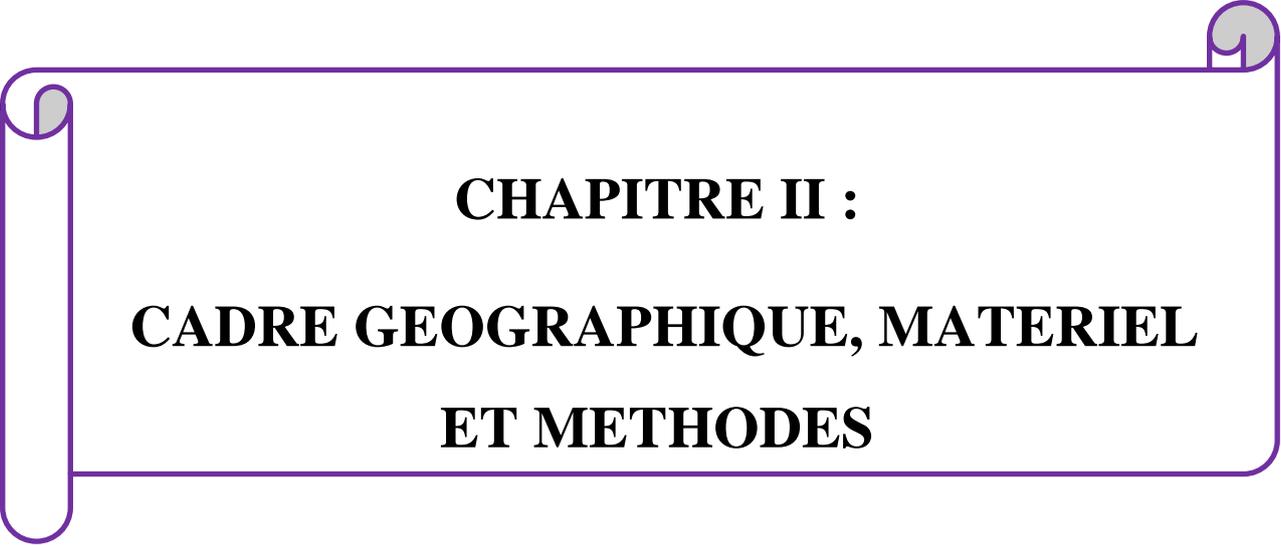
### **I-7-2. Paludisme et urbanisation**

L'urbanisation entraîne systématiquement les modifications de l'environnement. En effet, il importe de définir un panel d'indicateurs informatifs, reproductibles et peu coûteux, susceptibles d'hierarchiser et de localiser dans l'espace et le temps les facteurs de risque de maladies à vecteurs (Salem & Samé-Ekobo, 2001). L'urbanisation exponentielle des grandes villes africaines (mégalo-poles) du fait de l'exode rural ou des échanges avec le milieu rural (forte transmission), fait planer des risques d'épidémie de paludisme en zone urbaine pendant la saison de transmission (Nimpaye *et al.*, 2001 ; Rogier *et al.*, 2003 ; Mouchet *et al.*, 2004). En général, les zones urbaines ont des densités de la population humaine les plus élevées, ce qui entraîne une augmentation des taux de transmission des maladies, un grand nombre de gîtes de développement larvaire de moustiques, en raison des pratiques de stockage de l'eau et des méthodes limitées d'élimination des eaux usées. Le développement rapide des villes en Afrique est souvent associé à l'urbanisation non planifiée avec d'importantes répercussions sur la santé publique (Hay *et al.*, 2005 ; Keiser *et al.*, 2004). Le paludisme urbain est actuellement considéré comme un problème de santé émergent en Afrique et fait l'objet de nouvelles réflexions dans de nombreux pays (Donnelly *et al.*, 2005 ; Klinkenberg *et al.*, 2008 ; Mourou *et al.*, 2012 ; Mathanga *et al.*, 2016).

Plusieurs études menées à partir de 2000 ont indiqué d'importants changements sur les populations de vecteurs, notamment que l'urbanisation favorise l'installation d'espèces vectrices du paludisme telles que *A. gambiae s.l.* (Trape 1986, Fondjo *et al.*, 1992, Antonio-Nkondjio *et al.*, 2005). Dans les villes de Douala et Yaoundé, une augmentation de la distribution de moustiques dans les habitats et sites de reproduction artificiels a été signalée (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011).

De plus, les moustiques se reproduisant dans des zones polluées ou dans des sites cultivés se sont montrés plus résistants aux insecticides par rapport à ceux qui se développent dans des sites non pollués (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011 ; Tene Fossog *et al.*, 2012). L'évolution rapide de la résistance aux insecticides a également été enregistrée dans des populations de vecteurs et une augmentation de la fréquence des gènes de résistance kdr a été observée (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2015, Tene Fossog *et al.*, 2013). De plus, l'exposition des moustiques aux xénobiotiques a influencé la carte de distribution d'*A. gambiae* et *A. coluzzii* dans les villes de Douala et Yaoundé, avec *A. coluzzii* plus tolérant aux polluants prédominants dans le centre urbain alors qu'*A. gambiae* est moins tolérant à la présence de polluants en milieu rural (Kamdem *et al.*, 2012 ; Tene Fossog *et al.*, 2015). Les expérimentations en laboratoire ont fourni les preuves d'une influence possible de cette adaptation sur la compétence vectorielle de ces deux espèces, avec *A. coluzzii* plus compétent pour transmettre le parasite du paludisme comparé à *A. gambiae* (Boissière *et al.*, 2013).

En outre, quelques études montrent que le processus d'urbanisation en Afrique tend à supprimer les gîtes de reproduction des anophèles, par la conquête progressive des terrains de culture et le comblement des points d'eau, ainsi que par la pollution des collections d'eau résiduelle peu favorables aux vecteurs du paludisme (Vercruysse & Jancloes, 1981 ; Gazin *et al.*, 1987 ; Trape & Zoulani, 1987 a et b ; Mouchet, 1987).



**CHAPITRE II :**  
**CADRE GEOGRAPHIQUE, MATERIEL**  
**ET METHODES**

## II-1. Cadre géographique et sites d'étude

L'étude a été réalisée dans trois sites (**Figure 8**) répartis dans deux régions du Cameroun : Nyabessan dans la région du Sud Cameroun, Simbock et Olama dans la région du Centre Cameroun. Les sites ont été choisis d'une part en raison de la disponibilité des données entomologiques antérieures, et d'autre part en raison de profonds changements survenus dans leur milieu, pouvant impacter la distribution et l'abondance des vecteurs. En plus de la disponibilité de données entomologiques antérieures, la stabilité apparente du milieu était le critère de choix du site témoin. Les trois sites d'étude appartiennent au domaine forestier Sud camerounais, qui s'étend entre le 2<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> degré de latitude Nord, et entre le 2<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> degré de longitude Est. Ce domaine couvre les régions du Centre (68926 km<sup>2</sup>), Sud (47720 km<sup>2</sup>) et Est (109011 km<sup>2</sup>) qui appartiennent à la même zone bioclimatique.

Le climat est équatorial de type guinéen, avec quatre saisons : une petite saison des pluies de mars à juin, une petite saison sèche entre juillet et août, une grande saison des pluies de septembre à novembre, et une grande saison sèche de décembre à février. Ce climat est soumis à l'influence de 2 grands courants d'air qui conditionnent les précipitations : l'harmattan chargé de masses d'airs très sèches issues des hautes pressions sahariennes et la mousson chargée d'air humide originaire de l'anticyclone de Sainte-Hélène ou qui est élaborée sur place au contact de la forêt pluviale (Suchel & Tsalefac, 1995).

L'humidité relative de l'air est très élevée, oscille entre 77 et 81% ; la température moyenne annuelle présente des maxima journaliers situés entre 28 et 30°C et des minima entre 19 et 20°C (Suchel & Tsalefac, 1995).

La lutte antivectorielle dans ces sites repose essentiellement sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées à longue durée d'action, dont le taux de couverture est de 96,8% (Bamou *et al.*, données non publiées).

### II-1-1. Nyabessan

Nyabessan (2° 80' N, 10° 25' E) est un village situé dans la région du Sud Cameroun, dans la réserve de Ma'an (département du Ntem, à 220 km au Sud de Yaoundé. Choisi en juin 2012 pour accueillir le barrage hydroélectrique de Memve'ele (2° 24' 09'' N, 10° 23' 37'' E), sa population est passée en quelques mois de 200 à plus de 2 500 personnes. Par ailleurs, ce village a été doté de nouvelles infrastructures notamment un Lycée, un centre de santé et un poste de gendarmerie. Le barrage de Memve'ele sur le fleuve Ntem est destiné à assurer l'approvisionnement électrique d'une capacité de 211 MW.

Le village Nyabessan est traversé par trois cours d'eau : le fleuve Ntem et ses chutes de Memve'ele, la Biwome et la Ndjo'o. Il dispose de trois stations hydrologiques sur chacun de ces cours d'eau (Olivry, 1986). Le fleuve Ntem qui traverse le village présente une chute de 35m de dénivelé naturel (chute Memve'ele), ce qui permet d'entretenir une humidité propice au développement des anophèles dans les villages à proximité du fleuve ; cependant, la plupart des gîtes d'*Anopheles gambiae* qui y existent sont le fait des activités humaines. La forêt présente encore une couverture profonde dans cette partie de la région Sud même si elle est parfois dégradée autour du village par les habitants. L'habitat est surtout de type traditionnel, avec des cases en terre battue et en planches, couvertes de tôles. Les murs présentent de nombreux interstices par lesquels les moustiques peuvent entrer dans les maisons. La principale activité pratiquée est la pêche et dans une moindre mesure l'agriculture de subsistance.

Selon une étude de Livadas *et al.* (1958), l'index plasmodique à Nyabessan était de 79%, avec trois vecteurs (*A. nili* (*A. ovengensis*), *A. moucheti* et *A. gambiae*). Jusqu'en 2006, la composition de la faune vectorielle du paludisme à Nyabessan était la même (Awono Ambene *et al.*, 2006).

## **II-1-2. Simbock**

La localité de Simbock est située à environ 6 km du centre-ville de Yaoundé à 3° 50' N, 11° 30' E. Cette localité, qui a longtemps présenté un caractère rural s'est progressivement érigé en un quartier de la ville de Yaoundé, du fait de l'extension de la zone urbaine vers la périphérie. Le choix de ce site se justifie ainsi par la modification de son écosystème rural en écosystème urbain avec le bitumage de son axe principal en 2008. L'habitat à Simbock est devenu moderne ; le mode de vie et les habitudes des habitants varient selon les groupes ethniques. On y trouve des étangs piscicoles destinées à la pêche.

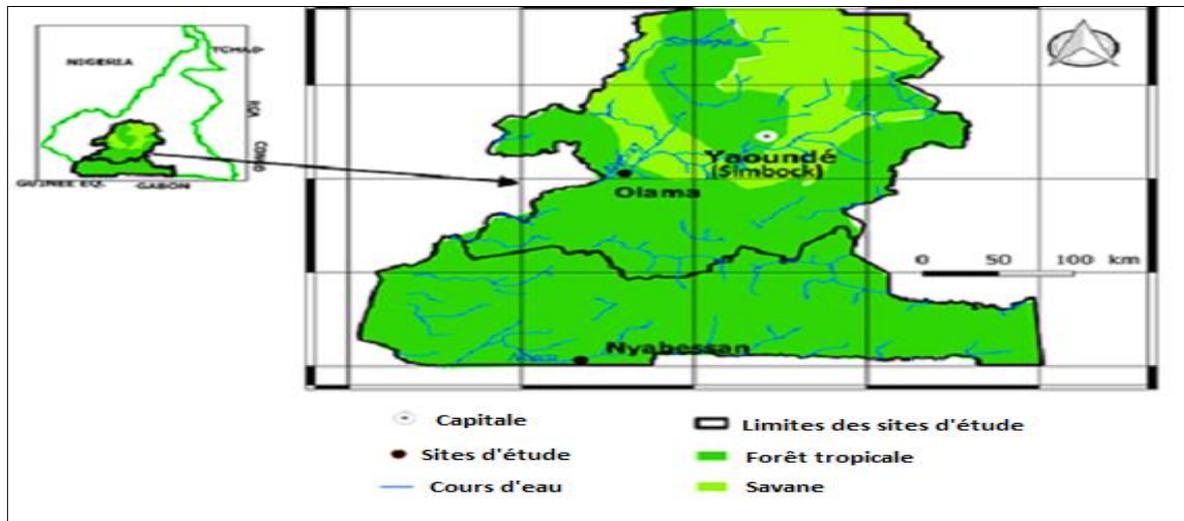
La rivière Mefou traverse la localité et crée des marécages permanents favorables à la reproduction des moustiques (Suchel, 1987). Des prospections antérieures ont montré que la diversité des écosystèmes (marécages, puits, ornières, étangs) qui y règne est propice au développement de quatre espèces d'anophèles d'importance épidémiologique majeure : *A. gambiae s.s.*, *A. funestus*, *A. moucheti* et *A. nili* (Meunier *et al.*, 1999 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002). Étant situé en altitude (750 m), la plupart des gîtes de reproduction des anophèles sont temporaires et sont présents pendant la saison des pluies. La pollution domestique et le mauvais drainage des eaux usées sont responsables de la création des gîtes permanents caractéristiques de la reproduction des moustiques du genre *Culex* sp.

### II-1-3. Olama

Olama (3° 24' N, 11° 18' E) est un village situé dans le département de la Mefou et Akono, dans la région du Centre, sur la rive gauche du Nyong, à 65 km au Sud de Yaoundé. Ce village a été choisi comme le site témoin d'une part, du fait de la similitude des caractéristiques géographiques avec Nyabessan par la présence du fleuve Nyong ; et d'autre part en raison de son caractère rural.

Le fleuve Nyong constitue la principale source d'eau et le principal gîte de reproduction des moustiques. Cette localité compte environ 250 habitants. Les habitants sont pour la plupart des petits agriculteurs et des pêcheurs. L'agriculture pratiquée ici est surtout une agriculture de subsistance. Bien que situé dans la zone de forêt, le village présente plutôt une végétation dégradée du fait de la création des champs. Les habitations sont pour la plupart traditionnelles, en terre battue avec des toits en tôle.

. Des études antérieures menées dans ce site entre 2000 et 2001 ont révélé la présence de *A. moucheti* comme espèce majeure ; les espèces telles que *A. nili*, *A. ziemanni*, *A. paludis*, *A. marshallii* et *A. gambiae* y ont été retrouvées avec de très faibles densités (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006)



**Figure 8.** Localisation des sites d'étude (INC modifié).

## II-2. Type d'étude

Cette étude comprend deux volets dont le premier est une étude ambispective (rétrospective et prospective) transversale de la transmission entomologique du paludisme ; le second volet est une étude transversale de la sensibilité des anophèles aux insecticides.

Concernant la première partie, les données entomologiques rétrospectives ont été obtenues à partir de la base de données « Access » du laboratoire de lutte contre le paludisme de l'Organisation de Coopération pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC), une agence d'exécution de la Communauté Economique et Monétaire de l'Afrique Centrale (CEMAC) en matière de santé publique. La base de données exploitée regroupe toutes les informations entomologiques sur les anophèles collectées dans différentes villes du Cameroun. Elle présente les variables suivantes : numéro d'ordre, genre, espèce, numéro de case, lieu de collecte, heure de collecte, type de collecte, date, position de collecte (intérieur/extérieur), PCR, CSP, parturité, repas de sang, glande salivaire. Les variables considérées dans le tri des données utilisées pour ce travail étaient :

- Le lieu de collecte : Nyabessan, Simbock et Olama,
- La date : de 2000 à 2006,
- Le type de collecte : capture sur appât humain.

La plupart des collectes ont été effectuées pendant la saison des pluies, qui correspond à la période de forte abondance de moustiques. Les données prospectives ont été collectées sur le terrain de 2014 à 2016, calquées sur le schéma de collecte des données rétrospectives afin de permettre une comparaison cohérente entre les deux périodes (**Tableau I**).

Pour l'étude de la sensibilité d'*A. gambiae* s.l. aux insecticides, les larves ont été collectées sur le terrain de 2014 à 2017 (**Tableau II**).

Toutes les analyses de laboratoire se sont déroulées au Laboratoire de Lutte contre le Paludisme de l'OCEAC.

**Tableau I** : Récapitulatif des périodes d'échantillonnage des moustiques adultes

| Collecte des adultes |                        |                                                                                                          |                                     |                     |                     |          |                      |           |           |
|----------------------|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------|---------------------|----------|----------------------|-----------|-----------|
| Site                 | Période rétrospective* |                                                                                                          |                                     |                     |                     |          | Période prospective  |           |           |
| d'étude              | Année                  | 2000                                                                                                     | 2001                                | 2002                | 2004                | 2006     | 2014                 | 2015      | 2016      |
| Nyabessan            | NbHn                   | 12                                                                                                       | 20                                  | 15                  | ND                  | 6        | 32                   | 12        | 12        |
|                      | Période                | mai, septembre                                                                                           | mars, mai,<br>juillet,<br>décembre  | février,<br>juillet | ND                  | décembre | juillet,<br>décembre | août      | septembre |
| Simbock              | NbHn                   | 120                                                                                                      | 144                                 | ND                  | 50                  | 2        | 18                   | 12        | 12        |
|                      | Période                | janvier, mars,<br>avril, juillet,<br>septembre,<br>novembre,<br>décembre                                 | janvier,<br>février,<br>mars, Avril | ND                  | avril,<br>juillet   | novembre | novembre             | août      | juillet   |
| Olama                | NbHn                   | 40                                                                                                       | 24                                  | ND                  | 4                   | 2        | 12                   | 12        | 12        |
|                      | Période                | février, mars,<br>avril, mai, juin,<br>juillet, août,<br>septembre,<br>octobre,<br>novembre,<br>décembre | mars, avril,<br>juin                | ND                  | février,<br>juillet | novembre | décembre             | septembre | août      |

\*Source de données : LRP/OCEAC NbHn : Nombre d'hommes-nuit ND : Non disponible

**Tableau II** : Récapitulatif des périodes de collectes larvaires

| <b>Année</b>     | <b>Collecte larvaire</b> |             |             |             |
|------------------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|
|                  | <b>2014</b>              | <b>2015</b> | <b>2016</b> | <b>2017</b> |
| <b>Nyabessan</b> | juillet                  | janvier     | décembre    | décembre    |
| <b>Simbock</b>   | juillet                  | janvier     | juin        | décembre    |
| <b>Olama</b>     | ND                       | ND          | décembre    | ND          |

ND : Non disponible

## II-3. Matériel et méthodes

### II-3-1. Echantillonnage

#### II-3-1-1. Collecte des anophèles adultes

- **Clairence éthique et consentement éclairé**

L'étude a été menée sous l'autorisation éthique no. 2016/01/685 / CE / CNERSH / SP délivré par le Comité National d'Ethique du Cameroun (CNE) pour la recherche en santé humaine. Tous les volontaires participant aux captures humaines ont signé un formulaire de consentement éclairé écrit, indiquant leur volonté de participer à l'étude. Ils ont également reçu un traitement gratuit contre le paludisme.

- **Collecte des moustiques**

Que ce soit pendant la période rétrospective ou pendant la période prospective, les échantillons d'anophèles adultes issus des différents sites d'étude ont été collectés par captures nocturnes sur volontaires humains. Elles se sont déroulées entre 19h et 05h du matin à l'intérieur et / ou à l'extérieur des habitations, en deux périodes : la première période de 19h à 01h et la deuxième période de 01 h à 05h du matin. Chaque volontaire majeur était muni d'une torche, d'une montre, des tubes à hémolyse, du coton et des sacs pour chaque tranche horaire. Assis sur un tabouret les jambes nues, le volontaire capturait les moustiques qui se posaient sur lui, à l'aide des tubes à hémolyse qu'il bouchait avec du coton (**Figure 9**). Il mettait ensuite le tube dans le sac portant mention de la tranche horaire de capture correspondante. A la fin de chaque tranche horaire, l'équipe de supervision passait récupérer les moustiques ainsi capturés dans les postes de capture.



**Figure 9.** Procédure de capture nocturne de moustiques

### **II-3-1-2. Collecte et élevage des larves d'anophèles**

Les larves d'anophèles ont été collectées par la méthode de « dipping » ou trempage (Service, 1993). Cette méthode consiste à prélever l'eau du gîte à l'aide d'une louche ou d'un bac et à y rechercher les larves reconnaissables par leur position horizontale à la surface de l'eau. Les spécimens ont ensuite été transportés à l'insectarium du laboratoire pour l'élevage. Les larves ont été transférées dans des bacs en plastique avec l'eau du gîte et nourries tous les matins avec de la farine pour alevins (TétraMim<sup>®</sup>Baby). Les nymphes issues du développement larvaire ont été triées tous les matins, puis isolées dans une cage pour l'émergence des adultes, lesquels ont été nourris avec une solution de glucose à 10%. Les adultes de deux à quatre jours ont été identifiés morphologiquement à l'aide des clés d'identification des anophèles (Gillies & De Meillon, 1968 ; Gillies & Coetzee, 1987) puis utilisés pour le test de sensibilité aux insecticides.

### **II-3-2. Identification et distribution des anophèles**

#### **II-3-2-1. Identification morphologique et conservation des anophèles adultes**

Après la collecte des moustiques, les anophèles séparés des autres culicidés ont été identifiés au stade de l'espèce à l'aide d'une loupe binoculaire, sur la base des critères morphologiques (Gillies & De Meillon, 1968 ; Gillies & Coetzee, 1987) (**Annexe 1**). Les anophèles ainsi identifiés ont été placés individuellement dans des tubes contenant un dessiccateur (silica gel) et portant un numéro et une indication du site de collecte. Pour chaque moustique, la date, l'heure, le lieu, la case de capture, ont été reportées sur une fiche puis saisies dans une base de données sur le logiciel excel. Une fois au laboratoire, chaque moustique a été disséqué. L'ensemble tête-thorax a été isolé dans un tube pour la détection des sporozoïtes et le reste du corps placé dans un autre tube, pour l'identification moléculaire. Les deux tubes portant le même numéro d'ordre initial sont ainsi conservés au congélateur à -20°C.

#### **II-3-2-2. Identification moléculaire des espèces du complexe *A. gambiae* s.l.**

L'identification de l'espèce se fait à partir de l'ADN génomique extrait des moustiques.

- **Extraction de l'ADN total des anophèles**

L'ADN des moustiques adultes a été extrait au cétyle triméthyle ammonium bromide (CTAB) à 2% (Wagner *et al.*, 1987) : les moustiques entiers ou leurs fragments sont broyés dans 200 µl de CTAB à 2%, puis chauffés au bain-marie pendant 5 minutes. A ce broyat, 200 µl de

chloroforme sont ajoutés et le mélange est centrifugé pendant 5 minutes à 12000 tr.mn-1 à température ambiante. La phase supérieure est prélevée et introduite dans un tube stérile auquel on ajoute 200 µl d'isopropanol ; le mélange est centrifugé pendant 15 minutes à 12000 tr.mn-1 et à température ambiante pour précipiter l'ADN qui forme un culot peu visible au fond du tube. L'isopropanol est éliminé et le tube égoutté ; le culot est ensuite rincé avec 200 µl d'éthanol 70%. Après une nouvelle centrifugation à 12000 tr.mn-1 à température ambiante pendant 5 minutes, l'éthanol est éliminé et le culot séché sous vide (Speed-Vac®). L'ADN ainsi extrait est reconstitué dans 20 µl d'eau stérile et laissé à 4°C pendant une nuit pour la resuspension. Il peut être ensuite conservé à -20°C.

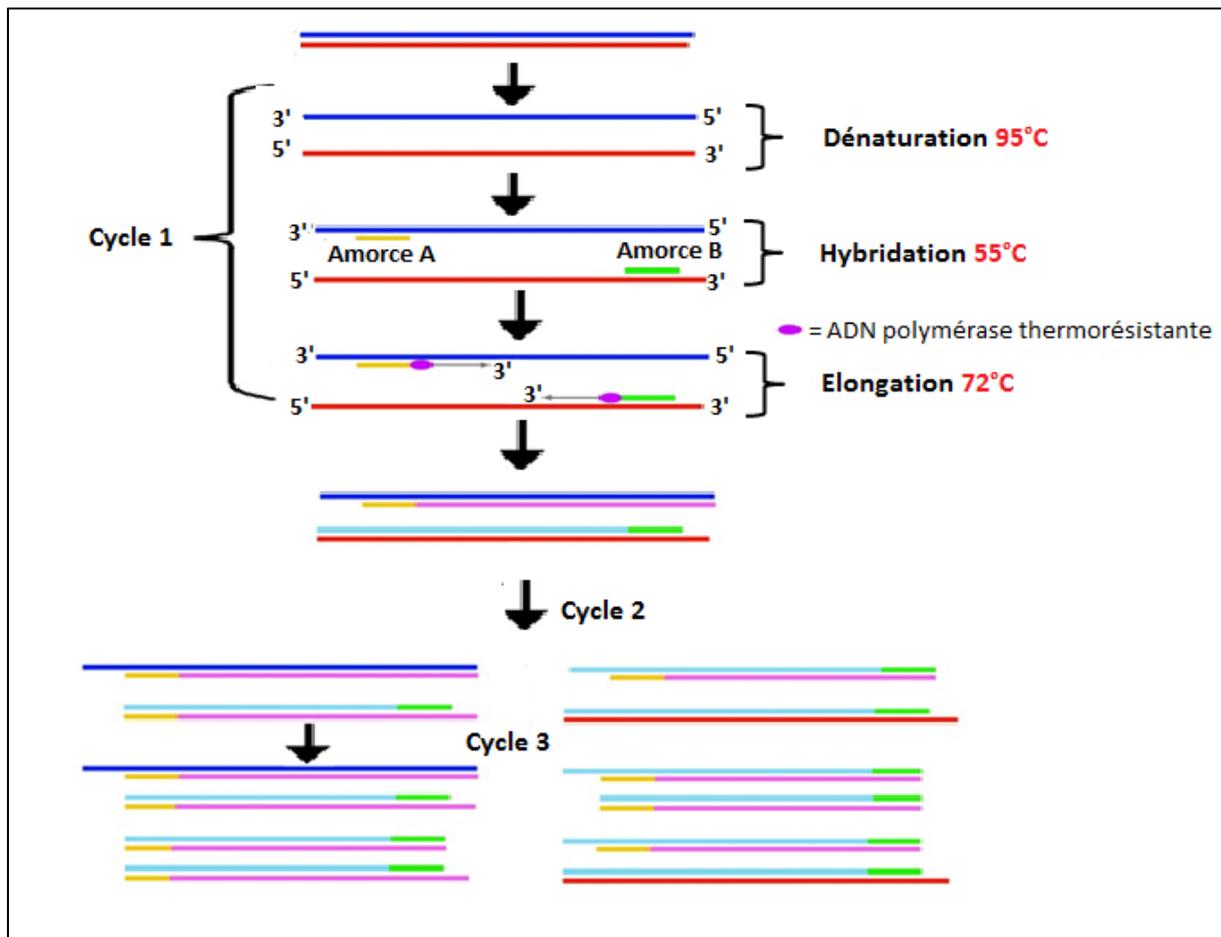
- **Amplification de l'ADN**

- Principe de la PCR**

Le test Polymérase Chain Reaction (PCR) est une méthode de biologie moléculaire d'amplification ciblée *in vitro*. Ce test permet d'obtenir à partir d'une infime quantité d'ADN, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique à l'issue de plusieurs cycles de température. Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes (**Figure 10**) :

- Une dénaturation de l'ADN par chauffage entre 90 et 95°C pour séparer les deux brins qui le composent
- Une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée à une température comprise entre 40 et 65°C,
- Une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase à 72°C.

Ce cycle est répété un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible (la durée d'un cycle est de l'ordre de la minute).



**Figure 10.** Illustration du principe d'une PCR ([www. microbiologie-medicale.fr](http://www.microbiologie-medicale.fr)).

### **-Protocole de la PCR**

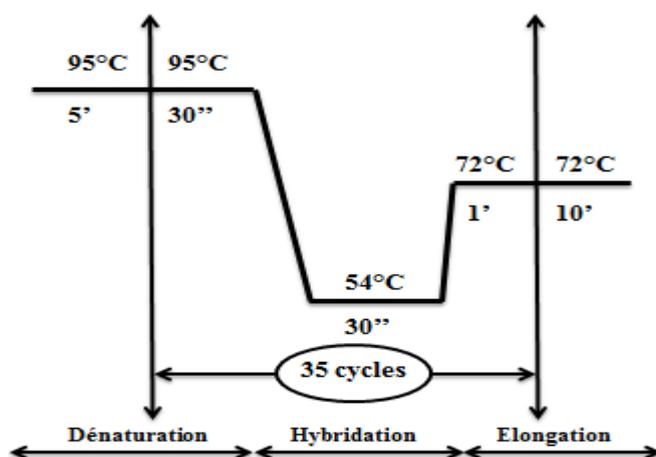
La technique de PCR utilisée cible le polymorphisme dans les sites d'insertion pour un groupe de retrotransposons connus comme des « Short interspersed elements » (SINE) (Santolamazza et al., 2008). Le milieu réactionnel ou mix (**tableau III**) est constitué des amorces oligonucléotidiques spécifiques (S200 X6F et S200 X6R), les désoxyribonucléotides triphosphates (dNTPs), le magnésium (MgCl<sub>2</sub>) indispensable au fonctionnement de l'ADN polymérase thermorésistante (Taq ADN polymérase). Dans le mix, on y ajoute l'ADN à amplifier. Toutes les réactions d'amplification se sont déroulées dans un thermocycleur de marque « 2720 Thermal Cycler » (Applied Biosystems).

**Tableau III** : Composition du milieu réactionnel de la PCR SINE

| Réactifs                  | Concentration finale | Volume pour une réaction à 15µl |
|---------------------------|----------------------|---------------------------------|
| Tampon de Taq 10X         | 1X                   | 1,5 µl                          |
| TaqADN polymérase (5U/µL) | 0,04 UI/µL           | 0,12 µl                         |
| dNTPs (25 mM)             | 0,2 mM               | 0,12 µl                         |
| MgCl <sub>2</sub> (25 mM) | 1,25 mM              | 0,75 µl                         |
| S200 X6F (10 mM)          | 0,34 mM              | 0,51 µl                         |
| S200 X6R (10 mM)          | 0,34 mM              | 0,51 µl                         |
| ddH <sub>2</sub> O        | -                    | 10,49 µl                        |

ADN : 1 µl

Dans un thermocycleur de marque « 2720 Thermal Cycler » (Applied Biosystems), cette solution est soumise à une première phase de dénaturation initiale de 5 minutes à 95°C, une phase d'hybridation (30 secondes à 95°C, 30 secondes à 54°C, 1 minute à 72°C) répétée 35 fois, suivie d'une élongation finale de 10 minutes à 72°C (**Figure 11**).



**Figure 11.** Programme de température pour amplification PCR SINE

- **Electrophorèse**
  - **Principe**

C'est une technique séparative qui consiste à soumettre un mélange de molécules à un champ électrique ce qui entraîne la migration des molécules chargées. En fonction de différents

paramètres (charge, masse, forme, nature du support, conditions physico-chimiques) la vitesse de migration va être variable, ce qui permet la séparation des différentes molécules.

#### - Préparation du gel d'agarose

Le gel d'agarose a été préparé à 1,5% dans du TBE 1X. Le mélange agarose et TBE 1X dans l'erlenmeyer a été ensuite chauffé dans un four à micro-ondes pendant une minute 30 secondes. Le mélange a été laissé à tiédir pendant quelques minutes à température ambiante. Lorsque la température du mélange a atteint environ 50°C, du bromure d'éthidium à 0,5µg/ml a été ajouté à la solution. La solution a ensuite été versée dans un moule. Un peigne a été placé dans le gel chaud. Le gel a été laissé à polymériser à température ambiante pendant 1 à 2 heures.

#### - Distribution des échantillons dans le gel

Après la polymérisation totale du gel, le peigne a été retiré. Le tampon TBE 1X a été ajouté au gel. A l'aide d'une pipette de 20 µl, 12 µl de solution (composée de 11µl d'ADN amplifié et 1µl de bleu de bromophénol) a été déposé dans chaque puits. Dans un ou deux puits, le marqueur de poids moléculaire mélangé au bleu de bromophénol a également été déposé.

#### - Migration électrophorétique et révélation

Le moule qui constitue la cuve à électrophorèse a été relié grâce aux électrodes aux bornes d'un générateur de courant continu qui produit une puissance d'environ 20W avec une tension stabilisée à 140 volts. La migration s'est effectuée de la cathode vers l'anode ; pendant une durée d'environ 45 minutes à température ambiante. Après la migration électrophorétique, le gel a été placé dans un spectrophotomètre muni d'un révélateur à ultra-violet pour la visualisation. Chaque extrait d'ADN ayant migré s'est présenté sous forme de bande sur le gel. Une photographie du gel a ensuite été réalisée et interprétée. Le profil des bandes attendues pour chaque espèce après digestion a été détaillé ainsi qu'il suit : *A. coluzzii* 479 paires de base, *A. gambiae* s.s. 249 paires de base (**Annexe 2**).

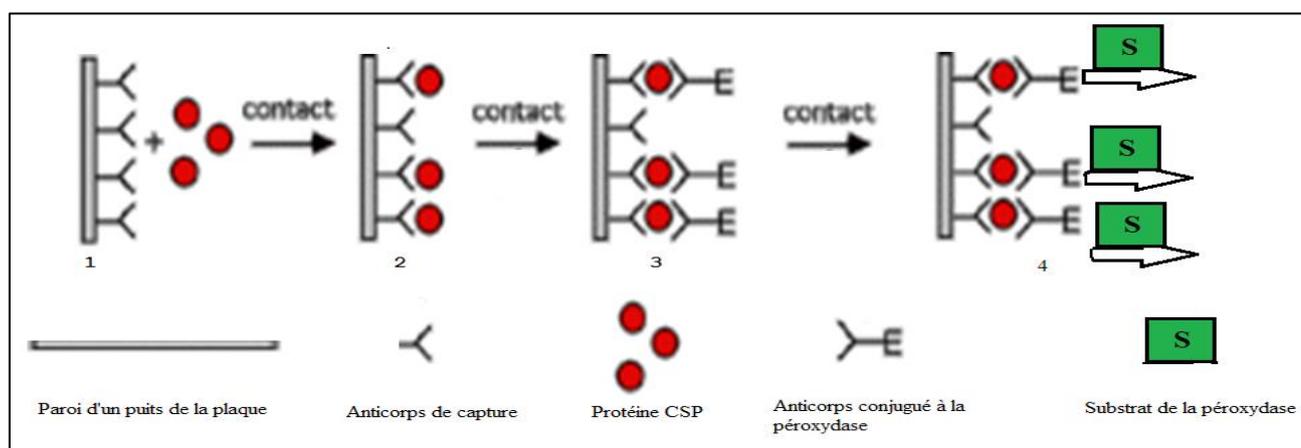
### II-3-3. Etude de la transmission du paludisme

#### • Recherche de l'infection des anophèles par *Plasmodium falciparum*

La mise en évidence de l'infestation des anophèles femelles par *P. falciparum* pendant les périodes rétrospective et prospective, a été faite par la technique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Elle permet de détecter la protéine circumsporozoïtique de *Plasmodium* (CSP) dans la tête et le thorax des anophèles. La technique utilisée est celle de Burkot *et al.*, (1984), améliorée par Wirtz *et al.* (1987).

- **Principe de l'ELISA Circum Sporozoïtique**

Cette technique consiste à coupler la protéine CSP à un anticorps monoclonal de capture (ACm) anti-circumsporozoïte(anti-CSP) préalablement fixé sur la paroi des puits d'une plaque (**Figure 12**). Le complexe antigène-anticorps formé est ensuite révélé par un anticorps monoclonal anti-CSP couplé à la peroxydase (marqué). L'adjonction d'un substrat qui sera dégradé sous l'action de l'enzyme induit une réaction colorée visible et dont la densité optique sera mesurée par spectrophotométrie.



1 : Adsorption de l'anticorps de capture sur la paroi du puits

2 : Capture de la protéine CSP par les anticorps de capture spécifiques à l'espèce recherchée (*P. falciparum*)

3 : Formation du complexe Anticorps de capture-Protéine CSP- Anticorps conjugué

4 : Révélation du complexe par addition du substrat de la peroxydase

**Figure 12.** Principe de l'ELISA appliqué à la détermination de l'infection à *P. falciparum* chez les anophèles (Adapté de [snv.jussieu.fr](http://snv.jussieu.fr)).

- **Protocole ELISA circumsporozoïtique monospécifique**

L'ensemble tête-thorax de chaque moustique a été coupé et placé individuellement dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml (Eppendorf, France). Pour faciliter le broyage, 20 µl d'une solution de Nonidet P40 (NP40) ont été ajoutés dans chaque tube. Cette solution est un détergent qui facilite la destruction des cellules par hydrolyse des protéines membranaires. Après une 1h d'incubation à température ambiante ou toute la nuit au réfrigérateur (+4°C), le broyage a été fait dans 380 µl de tampon « Blocking Buffer » (tampon BB). Après cette étape, les broyats peuvent être conservés à -20°C.

L'Acm de capture de *P. falciparum* a été reconstitué et conservé à -20°C. La plaque a été sensibilisée en ajoutant 50 µl de cette solution d'Acm diluée au 1/300 dans chaque puits, et incubée toute la nuit à température ambiante. Le lendemain, la plaque a été vidée sans être lavée, puis 200 µl de tampon BB ont été déposés dans chaque puits pour saturer les sites de fixation de l'Acm. La plaque a ensuite été incubée pendant une 1h à température ambiante. Après ce temps, la plaque a été vidée mais sans être lavée, puis 50 µl de broyat de moustique ont été déposés dans chaque puits, à raison d'un échantillon par puits. De même, 50 µl de tampon BB ont été déposés dans chaque puits de la colonne réservée aux témoins négatifs, alors que 50 µl de la CSP de *P. falciparum* ont été déposés dans le puits correspondant au témoin positif. La plaque a été incubée à température ambiante pendant 2h au cours desquelles la CSP se fixe sur l'anticorps de capture anti-CSP. Au bout de ce temps, les plaques ont été lavées deux fois au PBS/Tween 20. Avant de procéder au lavage, une solution d'Acm conjuguée à la peroxydase a été préparée en mélangeant l'Acm conjugué à la peroxydase de *P. falciparum* avec le tampon BB. Après lavages, 50 µl de cette solution ont été déposés dans chaque puits. Après 1h d'incubation à température ambiante, la plaque a été lavée 4 fois au PBS/Tween 20. La révélation a été faite en déposant 100µl de substrat de la peroxydase dans chaque puits et en incubant la plaque pendant 30 min à température ambiante et à l'obscurité. La réaction a été stoppée par addition de 50 µl d'acide sulfurique 4N dans chaque puits avant de procéder à la lecture au spectrophotomètre.

#### **II-3-4. Evaluation de la sensibilité des anophèles aux insecticides et mécanismes de résistance**

L'évaluation de la sensibilité des anophèles aux insecticides consistait à exposer les femelles d'anophèles F<sub>0</sub> aux doses discriminatoires d'insecticides sur papiers imprégnés, puis à évaluer le temps nécessaire pour obtenir 50% et 95% de moustiques assommés (tkd<sub>50</sub> et tkd<sub>95</sub>) et à déterminer la mortalité au bout de 24 heures. L'expression des gènes de résistance à l'effet « knock down » a été évaluée chez les moustiques ayant survécus aux tests avec pyréthrinoïdes et DDT.

##### **II-3-4-1. Tests de sensibilité aux insecticides**

Ces tests ont été effectués sur les anophèles de la génération F<sub>0</sub> issus de l'élevage, ayant 2 à 5 jours, et préalablement identifiés comme appartenant au complexe *A. gambiae* s.l. Les insecticides utilisés pour évaluer la sensibilité des moustiques étaient : le DDT 4% (organochlorés), le bendiocarb 0,1% (carbamates), la deltaméthrine 0,05% et la perméthrine

0,75% (pyréthriinoïdes). Les tests associant les pyréthriinoïdes avec le synergiste PBO 4% ont également été réalisés pour évaluer l'implication des enzymes de détoxification dans la résistance aux insecticides. Les papiers imprégnés d'insecticide utilisés ont été fournis par l'Unité de Recherche sur le Contrôle des Vecteurs de l'Université Sains de Malaisie (Centre Collaborateur OMS de référence pour la fourniture des papiers imprégnés d'insecticides) et les papiers imprégnés du synergiste PBO ont été fournis par le Laboratoire de Recherche sur le Paludisme de l'OCEAC à Yaoundé.

- **Protocole**

Le protocole utilisé est celui de l'OMS 2016. Il consiste à exposer les moustiques aux doses discriminatoires d'insecticides sur papiers imprégnés, puis à évaluer le temps nécessaire pour obtenir 50% et 95% de moustiques assommés (tkd50 et tkd95) ; et à déterminer la mortalité au bout de 24 heures. 20 à 25 anophèles femelles ont été aspirés à l'aide d'un aspirateur à bouche (**Figure 13 a**) et introduits dans des cylindres d'observation (**Figure 13 c**) dont l'intérieur est tapissé de papier non imprégné d'insecticide (12x15Cm). Après une heure d'acclimatation, les moustiques ont été transférés dans des cylindres d'exposition dont l'intérieur est tapissé cette fois de papier imprégné d'insecticide. Pendant 1 heure d'exposition, les moustiques assommés (knocked down) ont été dénombrés à intervalle de temps réguliers de cinq minutes. A la fin de la période d'exposition, les moustiques ont de nouveau été transférés dans le cylindre d'observation (**Figure 13 d**) ; du coton imbibé d'une solution de saccharose à 10% a été déposé au-dessus du cylindre pour la nutrition des moustiques (**Figure 13 e**) et la mortalité a été déterminée au bout de 24 heures.

Un test complet était réalisé avec quatre lots de 20 à 25 moustiques exposés à l'insecticide et deux lots témoin de 20 à 25 moustiques non exposés à l'insecticide. Au bout de 24 heures, le test était validé si le taux de mortalité des lots témoins est inférieur à 5% ; s'il était supérieur à 20%, le test était annulé et devait être repris ; s'il était compris entre 5% et 20%, la mortalité globale des moustiques exposés à l'insecticide était corrigée par la formule d'Abbot (1925) :

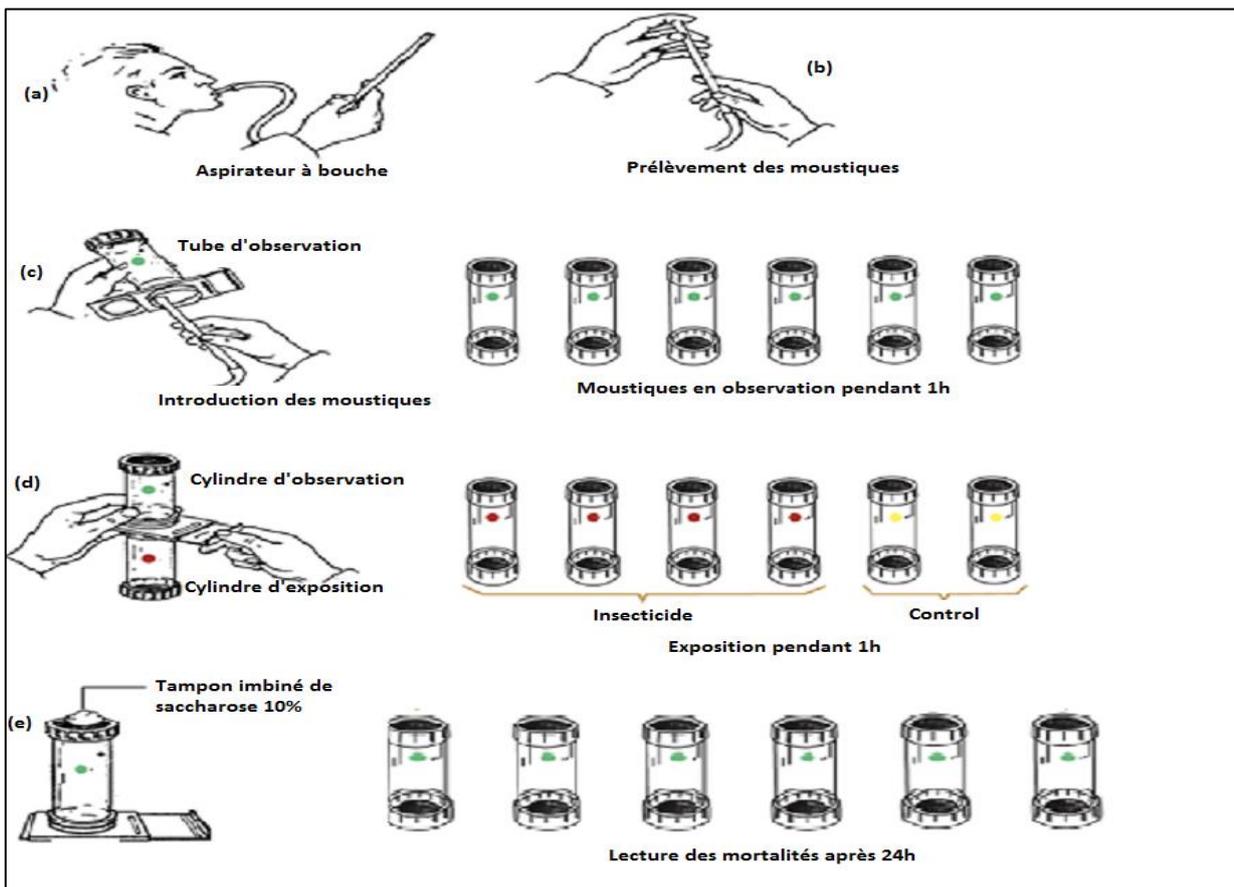
$$\text{mortalité corrigée} = \frac{\% \text{ mortalité observée} - \% \text{ mortalité témoin}}{100 - \% \text{ mortalité témoin}} \times 100$$

- **Tests avec combinaison synergiste/insecticide**

L'effet de l'inhibiteur d'enzymes pyperonyl butoxide PBO sur la sensibilité des populations naturelles d'*A. gambiae* à la deltaméthrine a été testé sur les échantillons de Simbock et Nyabessan. Les tests de combinaison synergiste/insecticide n'ont pas été effectués à Olama du fait de la rareté et la non productivité des gîtes à *A. gambiae*. La souche de référence *A. gambiae* Kisumu a servi de repère de sensibilité.

Les tests de sensibilité associés aux synergistes se sont déroulés suivant le protocole général ci-dessus mais avec la particularité que les moustiques ont subi une double exposition : une première au synergiste et une seconde à l'insecticide pendant 1 heure respectivement.

Les moustiques issus des tests ont été repartis pour chaque insecticide en trois lots (morts, survivants et témoins) puis, conservés individuellement dans des tubes Eppendorf de 1,5ml contenant du silicagel et stockés à -20°C pour les analyses moléculaires.



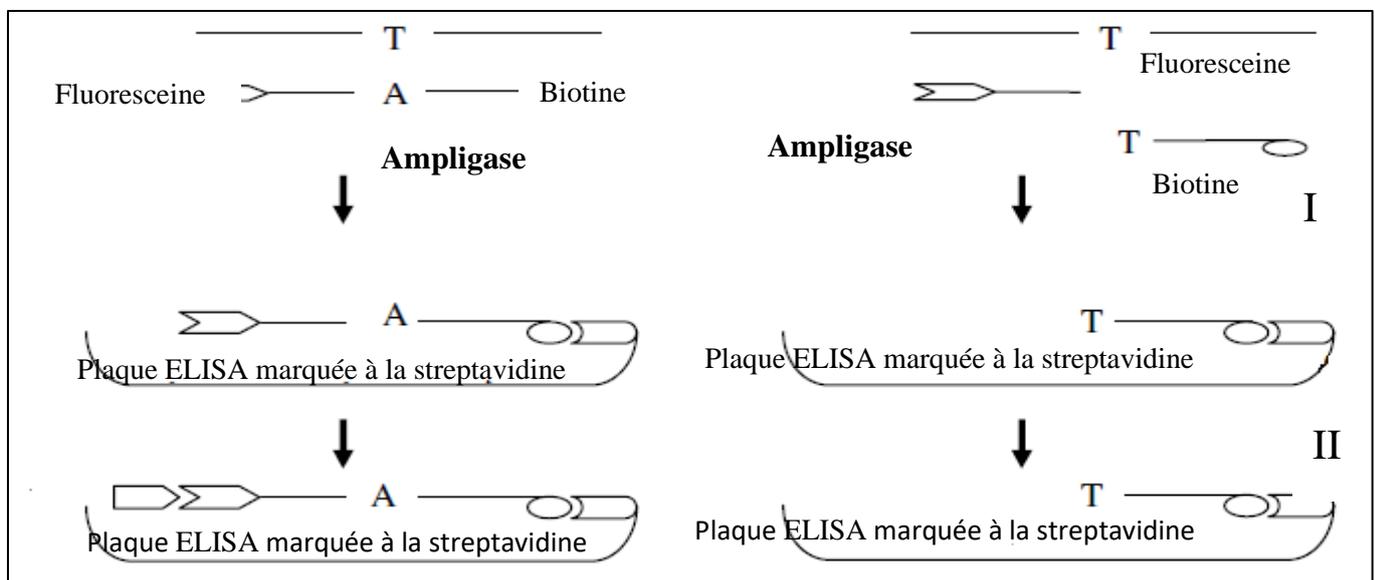
**Figure 13.** Protocole du test de sensibilité aux insecticides

### II-3-4-2. Recherche de la résistance de type kdr par la technique de Hot Ligation Assay

La technique HOLA (Hot Oligonucleotide Ligation Assay) décrite par Lynd *et al.*, (2005) validée au laboratoire de l'OCEAC (Etang *et al.*, 2006) a permis de rechercher la mutation kdr chez les spécimens ayant survécus aux tests de sensibilité aux pyréthrinoïdes et au DDT. Cette technique permet de détecter simultanément des allèles du gène kdr notamment les allèles L1014F (allèle résistant kdr-ouest), L1014S (allèle résistant kdr-est) et L1014L (allèle sensible) à l'état homozygote ou hétérozygote, sur une vingtaine de spécimens par plaque de 96 puits.

- **Principe**

La région de l'ADN entourant la mutation kdr est d'abord amplifiée par PCR à partir de l'ADN génomique puis, le génotype est déterminé grâce à une réaction de ligation à chaud (58-60°C) entre les oligonucléotides détecteurs, c'est-à-dire complémentaires d'un allèle spécifique au locus kdr, marqués à la biotine, et les oligonucléotides reporteurs marqués à la fluorescéine ; une réaction de colorimétrie permet ensuite la lecture directe sur une microplaque préalablement traitée à la streptavidine (**Figure 14**).



**Figure 14.** Illustration du principe de la technique HOLA (Chouaibou, 2011)

Le génotype est déterminé grâce à une ligation à chaud (58-60°C) en présence de l'ampligase, entre oligonucléotides détecteurs marqués à la biotine et oligonucléotides reporteurs marqués à la fluorescéine (I). Une réaction colorimétrique basée sur l'adjonction de

l'antifluorescéine et du TMB (substrat) permet la lecture directe du génotype sur la microplaque de 96 puits préalablement traitée à la streptavidine (II).

- **Protocole**

- **Préparation de la plaque**

Une plaque Elisa (Nunc Immuno-plate Maxi-sorb) a été sensibilisée avec une solution de streptavidine (SIGMA) à 5µg/ml pendant une nuit à 37°C ; après s'être assuré que la streptavidine a bien séché, une première série de lavages au PBS/Tween20 (PBS 1X, 0.1% v/v Tween 20) a été effectuée. Une solution de blocage le "Bovine Serum Albumin" (BSA) (PBS 1X, 0.1% v/v Tween 20, 2% w/v BSA) a été ajoutée dans la plaque qui est incubée pendant 1 heure à température ambiante. Une nouvelle série de lavages a été effectuée afin d'éliminer le BSA non adsorbé.

- **Amplification de la portion d'ADN susceptible de renfermer la mutation kdr**

La région d'ADN de 293 paires de bases entourant le locus de la mutation kdr a été amplifiée par PCR à partir de 3 µl de suspension d'ADN génomique total. La réaction a été réalisée dans un volume final de 25 µl contenant l'ADN polymérase thermostable (Taq polymerase, Qiagen) et ses cofacteurs, les di-nucléotides triphosphates (dNTPs, Eurogentec), et les amorces oligonucléotidiques spécifiques (Agd1 et Agd2, Eurogentec).

### **Conditions de la PCR**

Les amorces utilisées sont les suivantes :

- AGD1 : ATAGATTCCCCGACCATG

- AGD2 : AGACAAGGATGATGAACC

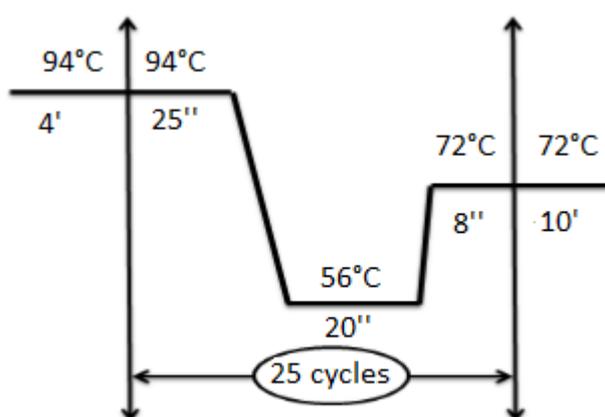
A partir de ces amorces, une solution a été préparée suivant le **tableau IV** pour un volume final de 25µl par réaction.

**Tableau IV :** Composition du milieu réactionnel pour l'amplification par PCR du fragment d'ADN entourant la mutation « kdr ».

| Reactifs                                               | Concentration finale | Pour 1 réaction à 25 $\mu$ l |
|--------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------|
| Tampon de Taq 10X<br>contenant 15 mM MgCl <sub>2</sub> | 1 X                  | 2,5 $\mu$ l                  |
| 25 mM MgCl <sub>2</sub>                                | 2,75 mM final        | 0,5 $\mu$ l                  |
| 5 mM dNTP                                              | 0,2 mM each          | 1,0 $\mu$ l                  |
| Primer AgD1 (10 $\mu$ M)                               | 10 pmoles            | 1,0 $\mu$ l                  |
| Primer AgD2 (10 $\mu$ M)                               | 10 pmoles            | 1,0 $\mu$ l                  |
| Taq DNA Polym (5 U/ $\mu$ l)                           | 1,0 U                | 0,2 $\mu$ l                  |
| ddH <sub>2</sub> O                                     |                      | 13,8 $\mu$ l                 |

ADN : 5,0  $\mu$ l

La solution ainsi préparée a été placée dans un thermocycleur de type GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems). L'ADN a été dénaturé à 94°C pendant 4 minutes, puis, à 94°C pendant 25 secondes ; suivi d'un cycle d'hybridation (56°C pendant 20 secondes) et d'élongation (72°C pendant 8 secondes) ; ce cycle est répété 25 fois. La réaction s'est terminée par une ultime étape d'élongation à 72°C pendant 10 minutes (**Figure 15**).



**Figure 15.** Cycle de température pour amplification de la portion d'ADN susceptible de renfermer de la mutation kdr

### - **Ligation à chaud**

Cette réaction est catalysée par une enzyme, l'ampligase qui permet la ligation des oligonucléotides détecteurs marqués à la biotine et des oligonucléotides reporteurs marqués à la fluorescéine. L'ADN amplifié de chaque moustique est soumis à 3 réactions :

- une réaction qui met en évidence l'allèle sensible kdr Ouest ;
- une réaction qui met en évidence l'allèle résistant kdr Ouest ;
- une réaction qui met en évidence l'allèle résistant kdr Est.

### **Conditions de la PCR**

Les amorces utilisées au cours de cette ligation sont consignées dans le **tableau V**

A partir de ces amorces, 4 solutions détecteur/reporteur ont été préparées suivant le **tableau VI**, pour un volume final de 20 µl par réaction en procédant aux combinaisons suivantes :

- Kdr104L-DTe/Kdr104-Rte
- Kdr104S-DTe/Kdr104-Rte
- Kdr104L-DTw/Kdr104-RTw
- Kdr104F-DTw/Kdr104-RTw

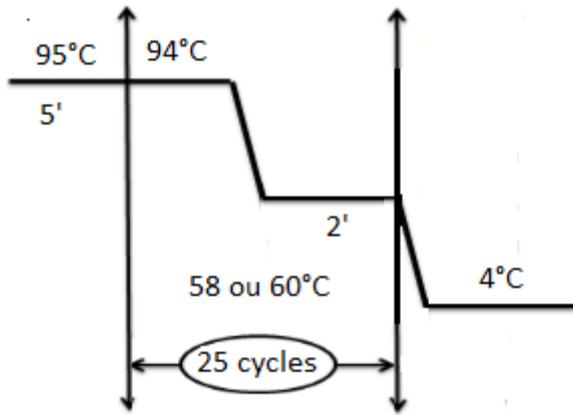
**Tableau VI :** Composition du milieu réactionnel d'une PCR pour identification de la mutation kdr, étape de la ligation.

| <b>Réactifs</b>    | <b>Concentration finale</b> | <b>Pour 1 réaction à 20 µl</b> |
|--------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| Tampon 10 X        | 1 X                         | 2,0 µl                         |
| Amorce (1 µM )     | 50 nM                       | 1,0 µl                         |
| Ampligase (5 U/µl) | 1,0 U                       | 0,2 µl                         |
| ddH <sub>2</sub> O |                             | 13,8 µl                        |
| ADN: 3µl           |                             |                                |

**Tableau V :** Amorces utilisées pour la ligation des oligonucléotides détecteurs/reporteurs

| <b>Description</b>                            | <b>Amorce</b> | <b>Oligo sequence 5'-3' et marquage</b>      |
|-----------------------------------------------|---------------|----------------------------------------------|
| Détecteur allèle sensible <i>kdr</i> /Est     | Kdr104L-DTe   | ATTTGCATTACTTACGACTA 5'biotin                |
| Détecteur allèle résistant <i>kdr</i> /Est    | Kdr104S-DTe   | ATTTGCATTACTTACGACTG 5'biotin                |
| Reporter allele <i>kdr</i> /Est               | Kdr104-Rte    | AATTTCCCTATCACTACAGTG 5'Phosph/3'Fluorescein |
| Détecteur allèle sensible <i>kdr</i> /Ouest   | Kdr104L-DTw   | AATTTGCATTACTTACGACT 5'biotin                |
| Détecteur allèle résistant <i>kdr</i> / Ouest | Kdr104F-DTw   | AATTTGCATTACTTACGACA 5'biotin                |
| Reporter allele <i>kdr</i> / Ouest            | Kdr104-RTw    | AAATTTCCCTATCACTACAGT 5'Phosph/3'Fluorescein |

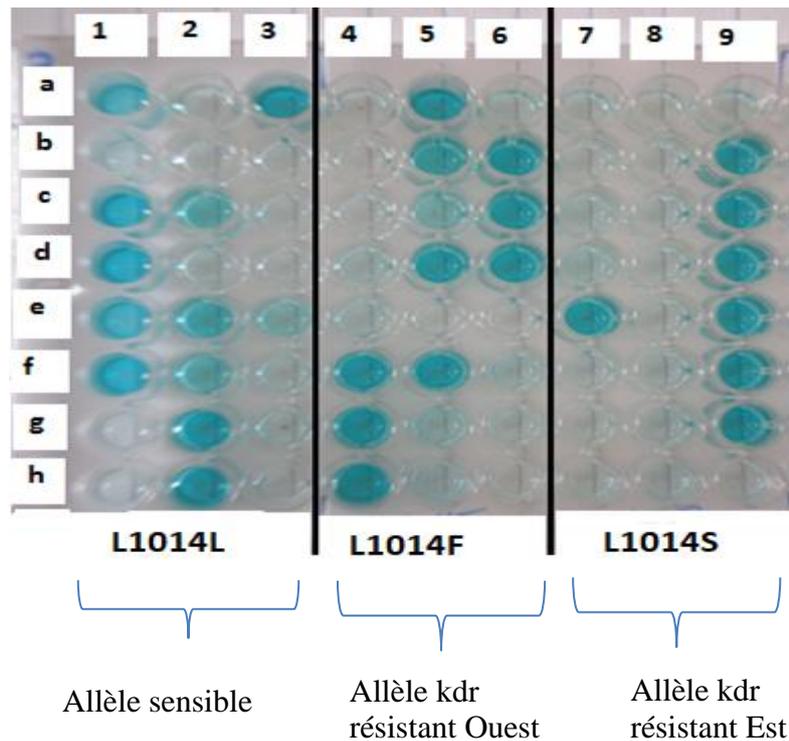
Les solutions ainsi préparées ont été distribuées dans les tubes PCR, 3µl du produit PCR à génotyper y ont été ajoutés et le tout a été placé dans un thermocycleur. Le génotype a été déterminé grâce à une ligation à chaud (58-60°C) entre les différents oligonucléotides suivant le cycle de température présenté à la **figure 16**.



**Figure 16.** Cycle de température pour la réaction de ligation à chaud.

#### - Révélation et détermination des génotypes

Pour cette étape, on ajoute 15 µl de TNE (1M Tris-HCl PH 7.5 ; EDTA PH 8 ; 5M NaCl) au produit de ligation, on distribue ensuite les 30 µl de mixture ainsi obtenue dans les puits de la plaque préalablement enduite à la streptavidine. La plaque est incubée à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 minutes puis, la mixture est délicatement retirée à l'aide d'une pipette multicanaux. La plaque est lavée 2 fois avec 250 µl de Wash buffer 1 (10Mm NaOH, 0.05% v/v Tween 20) fraîchement préparée, puis 2 fois avec 250 µl de Wash buffer 2 (0.1 Tris-HCl PH 7.5 ; 0.15M NaCl ; 0.05% v/v Tween 20). Ensuite, on ajoute 30µl de solution d'anti-fluorescéine dans chaque puits et on incube la plaque à température ambiante pendant 30 minutes. L'anti-fluorescéine est délicatement évacuée et la plaque est à nouveau lavée 3 fois avec 250 µl de Wash buffer 2. Les traces de tampon sont retirées en tapant la plaque contre un papier buvard puis, on ajoute 100 µl de solution Tétraméthyl benzidine (TMB, Roche BM blue, Pod substrate). Au bout de 5 minutes, une coloration bleue apparaît au fond des puits, matérialisant ainsi la dégradation du substrat (**Figure 17**).



**Figure 17.** Différents génotypes de la mutation *kdr* obtenus par la technique HOLA (Nwane, 2012)

Sur cette figure, la plaque est divisée en trois parties correspondantes aux trois allèles 1014L (allèle sensible), L1014F (allèle résistant *kdr*-Ouest) et L1014S (allèle résistant *kdr*-Est). Les différents spécimens sont répétés trois fois sur la plaque, pour chaque allèle (colonnes 1, 2, 3 pour l'allèle L1014L, colonnes 4, 5, 6 pour l'allèle L1014F et colonnes 7, 8, 9 pour l'allèle L1014S). Un spécimen présentant la coloration bleue pour un seul allèle est dit homozygote pour cet allèle, et un spécimen présentant la coloration bleue pour deux allèles est dit hétérozygote.

Différents profils : 1a, 1c, 1d, 2e, 3a = Homozygotes sensibles ; 1g, 1h, 2a, 2b, 2d = Homozygotes résistants *kdr*-Ouest ; 3f, 3g = Homozygotes résistants *kdr*-Est ; 1f, 2c, 2f = Hétérozygotes sensible/*kdr*-Ouest ; 1e, 3e = Hétérozygotes sensible/*kdr*-Est ; 3b, 3c, 3d = Hétérozygotes résistants *kdr*-Ouest/*kdr*-Est.

## II-3-5. Analyse de données

### II-3-5-1. Détermination des paramètres entomologiques de la transmission

La base de données pour cette étude a été construite sur Microsoft excel à partir des données rétrospectives obtenues de la base de données de l'OCEAC et des données prospectives collectées sur le terrain et au laboratoire. Elle a permis d'effectuer le calcul des paramètres de la transmission suivants :

- **Taux d'agressivité (m.a.)**

Encore appelé densité agressive, il est le produit de la densité anophélienne en relation avec l'Homme (m) et du taux d'anthropophilie (a). Il s'exprime en nombre de piqûres d'anophèles par Homme par unité de temps. Il s'obtient en capturant les anophèles venant piquer l'homme et en divisant le nombre d'anophèles capturés par le nombre de sujets utilisés, par unité de temps.

- **Indice Circum Sporozoïtique (ICS)**

Il représente le rapport entre le nombre de moustiques retrouvés porteurs de l'antigène circumsporozoïte de *P. falciparum* par le nombre total de moustiques testés par ELISA.

- **Taux d'Inoculation Entomologique (TIE)**

C'est le nombre de piqûres infectées que reçoit un homme pendant une période donnée. Le taux d'inoculation peut être calculé pour une nuit, un mois, un an et pour chaque espèce vectrice.

$$\text{TIE} = \text{Taux d'agressivité (m.a.)} \times \text{Indice Circum Sporozoïtique (ICS)}$$

### **II-3-5-2. Modélisation des paramètres de la transmission**

Un modèle mathématique est un ensemble d'hypothèses décrivant les relations entre différents paramètres d'un système ou d'un processus donné.

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel R 3.5.0 (R Development Équipe principale, Vienne, Autriche, 2018).

Le test d'égalité des proportions a été utilisé pour comparer les proportions de chaque espèce pendant les périodes rétrospectives et prospectives. La fonction ANOVA a permis de comparer les valeurs moyennes m.a., ICS, et TIE et de décrire l'impact de chaque variable explicative par rapport à la référence. Le degré de signification des interactions entre différentes variables explicatives a été déterminé et le seuil de signification était fixé à 5% (0,05).

### **II-3-5-3. Analyse et interprétation des temps de « Knockdown » et des taux de mortalité**

Les variables calculées au cours des tests de sensibilité aux insecticides sont les suivantes :

- Les temps de knockdown 50% et 95% ( $tkd_{50}$  et  $tkd_{95}$ ) qui correspondent respectivement aux temps nécessaires pour que 50% ou 95% de moustiques de l'échantillon exposé soient assommés ;

- Le taux de mortalité qui correspond au pourcentage de moustiques morts au bout de 24 heures après l'exposition à l'insecticide.

Les temps de « knockdown » ont été analysés avec le logiciel WIN DL (Version 4.6) qui permet d'apprécier l'effet « knockdown ». Après transformation logarithmique des temps d'exposition en probits de fréquences cumulées de mortalité, ce logiciel trouve un ajustement des résultats à une droite de régression qui permet d'estimer les temps de knockdown.

Les critères de l'OMS (2016) ont permis d'interpréter les résultats à partir de la mortalité :

- Population sensible : taux de mortalité supérieur à 98% ;
- Résistance possible à confirmer : taux de mortalité compris entre 90 et 98% ;
- Résistance : taux de mortalité inférieur ou égal à 90%.

L'effet du synergiste sur la sensibilité des populations naturelles d'*A. gambiae* a été évalué en déterminant le taux de réversion de l'effet knockdown ( $trkd$ ) défini par Thomas *et al.* (1991), selon la formule :

$$trkd = [1 - (tkd_{50} \text{ synergiste + insecticide} / tkd_{50} \text{ insecticide})] \times 100$$

$tkd_{50} \text{ synergiste + insecticide}$  = temps nécessaire pour que 50% des moustiques exposés au synergiste puis à l'insecticide soient assommés ;

$tkd_{50} \text{ insecticide}$  = temps nécessaire pour que 50% de moustiques exposés uniquement à l'insecticide soient assommés.

L'évaluation de l'implication des enzymes de détoxification dans la résistance aux insecticides a été effectuée par :

- La détermination du taux de réversion de la résistance due aux synergistes ;
- La comparaison des intervalles de confiance à 95% ( $IC_{95}$ ) des temps de knockdown des tests insecticides seuls et combinaisons synergiste/insecticide.

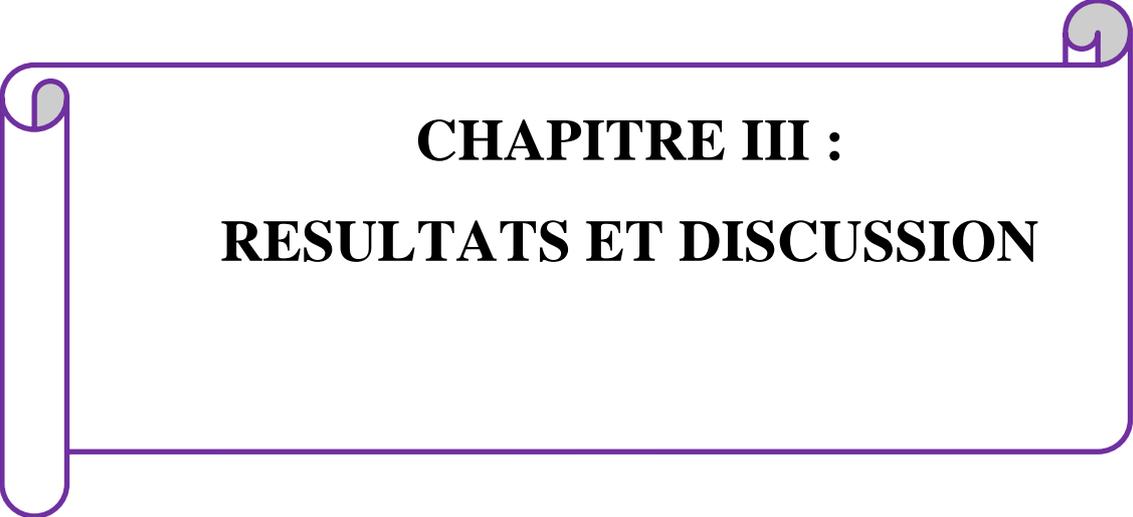
#### **II-3-5-4. Interprétation des fréquences alléliques et génotypiques du gène *kdr***

- **Test de conformité à l'équilibre d'Hardy-Weinberg**

Ce test a été effectué en utilisant le logiciel FSTAT, sur l'hypothèse nulle ( $H_0$ ) de l'union aléatoire des gamètes dans une population. Le modèle de Hardy-Weinberg décrit les relations entre les fréquences alléliques et génotypiques dans une population en équilibre ; la notion d'équilibre dans les modèles de Hardy-Weinberg est soumise aux conditions suivantes :

- Le modèle concerne les espèces diploïdes qui se reproduisent de façon sexuée ;
- La population est panmictique : les couples se forment au hasard et leurs gamètes se rencontrent au hasard ;
- La population est de taille infinie pour minimiser les variations d'échantillonnage ;
- Il ne doit avoir ni sélection, ni mutation, ni migration ; de ce fait, il n'y a ni perte, ni gain des allèles ;
- Les générations successives sont non chevauchantes, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de croisement entre les différentes générations.

Les fréquences alléliques et les fréquences génotypiques au locus *kdr* observées ont été comparées à celles estimées à partir des fréquences alléliques sous l'hypothèse  $H_0$  « union au hasard des gamètes » (Haldane, 1954). L'excès ou le déficit d'hétérozygotes a été estimé par l'indice  $F_{is}$  de Wright (1954) qui correspond à l'écart à la panmixie au sein de chaque population. Cet indice a été calculé tel que suggéré par Raymond et Rousset (1995). Tous les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel GENEPOP Version 4.2.



**CHAPITRE III :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

### III-1 RESULTATS

#### III-1-1. Caractérisation des populations d'anophèles vecteurs du paludisme à Nyabessan, Simbock et Olama

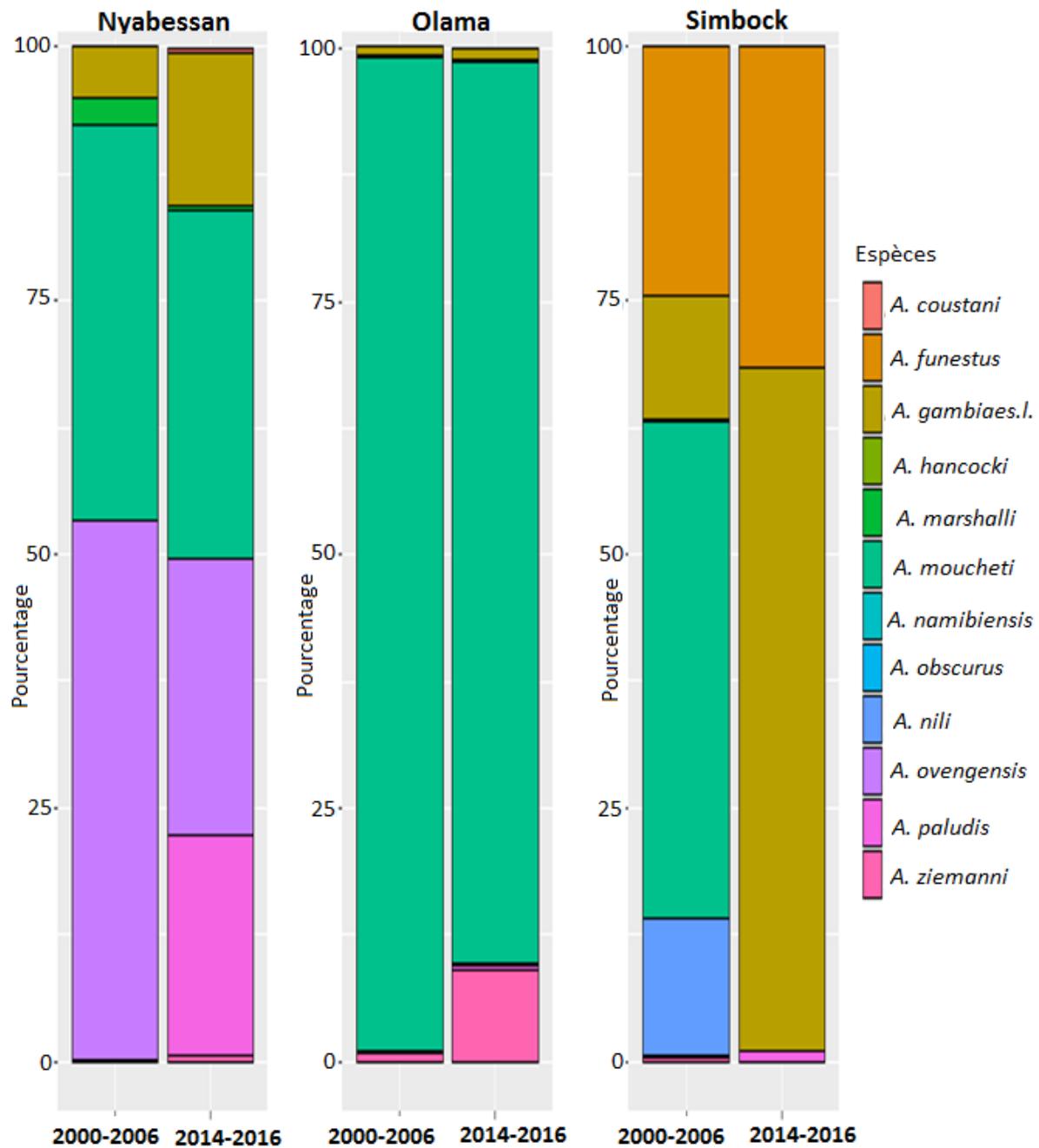
##### III-1-1-1. Composition de la faune anophélienne

Au total, 17530 anophèles adultes ont été collectés dans les trois sites d'étude entre 2000 et 2016, soit :

- 6127 spécimens à Nyabessan dont 3738 anophèles collectés par 53 hommes-nuit pendant la première période de l'étude (entre 2000-2006) et 2389 collectés par 56 hommes-nuit pendant la seconde période (entre 2014-2016),
- 5341 spécimens à Simbock dont 5240 anophèles collectés par 316 hommes-nuit pendant la première période et 101 collectés par 42 hommes-nuit pendant la seconde période,
- 6062 spécimens à Olama dont 5147 collectés par 70 hommes-nuit pendant la première période et 915 collectés par 36 hommes-nuit pendant la seconde période de l'étude.

La figure 18 présente la distribution et la composition des espèces anophéliennes dans les trois sites d'étude. Les anophèles collectés et identifiés sur la base des critères morphologiques appartenaient à 13 espèces réparties comme suit :

- huit espèces à Nyabessan (*A. moucheti*, *A. nili (ovengensis)*, *A. gambiae* s.l., *A. paludis*, *A. marshallii*, *A. ziemanni*, *A. coustani*, *A. obscurus*),
- neuf espèces à Simbock (*A. moucheti*, *A. nili*, *A. gambiae* s.l., *A. paludis*, *A. ziemanni*, *A. funestus*, *A. hancocki*, *A. namibiensis* et *A. coustani*),
- six espèces à Olama (*A. moucheti*, *A. nili*, *A. gambiae* s.l., *A. paludis*, *A. marshallii*, *A. ziemanni*).



**Figure 18.** Composition de la faune anophélienne à Nyabessan, Olama et Simbock

### III-1-1-2. Distribution et abondance des espèces de la faune anophélienne

Parmi les 13 espèces identifiées, cinq ont été retrouvées dans les trois sites bien qu'à des proportions différentes, notamment *A. moucheti*, *A. nili*, *A. gambiae* s.l., *A. paludis* et *A. ziemanni*. Les espèces *A. funestus*, *A. hancocki* et *A. namibiensis* ont été collectées exclusivement à Simbock et *A. obscurus* n'a été collecté qu'à Nyabessan. Le nombre d'espèces collectées à Nyabessan a augmenté de 5 espèces à 8 entre la période rétrospective (2000-2006) et la période prospective (2014-2016) ; tandis qu'à Simbock le nombre d'espèces anophéliennes a diminué de 9 à 3. Le nombre d'espèces à Olama n'a pas varié entre les deux périodes de l'étude. Les proportions des différentes espèces retrouvées dans les trois sites sont consignées dans le **tableau VII**.

Le tableau VII présente les variations de la distribution des espèces d'anopèles collectées dans les trois sites d'étude, en fonction de la période de collecte (période rétrospective entre 2000 et 2006, période prospective entre 2014 et 2016).

A Nyabessan, *A. ovengensis* a été l'espèce majoritaire avant la mise en place des travaux de construction du barrage (53%) tandis qu'*A. moucheti* était majoritaire (34%) pendant les travaux de construction du barrage. *A. gambiae* s.l. et *A. paludis* ont plutôt émergé pendant les travaux de déconstruction du barrage, atteignant des proportions de 15-22%, contre moins de 6% avant le lancement des travaux de construction du barrage (LTCB) ( $P < 0,0001$ ). D'une période à l'autre, l'abondance d'*A. ovengensis* a montré une tendance à la diminution avec des proportions variant de 53% avant la construction du barrage à 27% pendant les travaux ( $P < 0,0001$ ). La même tendance a été observée avec *A. moucheti* et *A. marshalli*, avec des proportions variant de 39% et 2,6% avant à 34% et 0,6% respectivement, pendant les travaux. Les espèces *A. ziemanni*, *A. coustani* et *A. obscurus* qui n'avaient pas été collectées avant le LTCB, sont apparues pendant les travaux de construction du barrage bien qu'à des proportions encore très faibles ( $< 1\%$ ).

A Simbock, *A. moucheti* (49%) qui était l'espèce majoritaire avant le lancement des travaux d'infrastructures urbaines (LTIU) n'a pas été retrouvé dans les échantillons collectés après les travaux. Cependant, après l'urbanisation, la faune anophélienne était essentiellement composée d'*A. funestus* (32%) et *A. gambiae* s.l. (67%) contre moins de 15% avant ( $P < 0,0001$ ). Les espèces *A. ziemanni*, *A. coustani*, *A. namibiensis* et *A. hancocki* qui étaient déjà très peu représentées avant le processus d'urbanisation ont pratiquement disparu avec le temps.

A Olama, *A. moucheti* était l'espèce majoritaire pendant les deux périodes d'étude avec des proportions supérieures à 89% bien que l'abondance soit en baisse ( $P < 0,0001$ ). Par contre,

**Tableau VII :** Variations de la distribution des espèces d'anophèles à Nyabessan, Simbock et Olama

| Sites<br>d'étude   | Espèces                | 2000-2006   | 2014-2016   | Valeur de p du test de chi carré à 2<br>échantillons pour l'égalité des<br>proportions |
|--------------------|------------------------|-------------|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Nyabessan          | <i>A. gambiae</i> s.l. | 190 (5,1)   | 358 (15,0)  | <0,0001                                                                                |
|                    | <i>A. moucheti</i>     | 1455 (38,9) | 817 (34,2)  | 0,0002                                                                                 |
|                    | <i>A. ovengensis</i>   | 1992 (53,3) | 651 (27,2)  | <0,0001                                                                                |
|                    | <i>A. paludis</i>      | 4 (0,1)     | 524 (21,9)  | <0,0001                                                                                |
|                    | <i>A. ziemanni</i>     | 0           | 11 (0,5)    | 0,0001                                                                                 |
|                    | <i>A. marshallii</i>   | 97 (2,6)    | 14 (0,6)    | <0,0001                                                                                |
|                    | <i>A. coustani</i>     | 0           | 13 (0,5)    | <0,0001                                                                                |
|                    | <i>A. obscurus</i>     | 0           | 1 (0,04)    | 0,8214                                                                                 |
|                    | <b>Total</b>           | <b>3738</b> | <b>2389</b> |                                                                                        |
| Simbock            | <i>A. gambiae</i> s.l. | 637(12,1)   | 68(67,3)    | <0,0001                                                                                |
|                    | <i>A. moucheti</i>     | 2566(49)    | 0           | <0,0001                                                                                |
|                    | <i>A. funestus</i>     | 1287(24,6)  | 32(31,6)    | 0,1266                                                                                 |
|                    | <i>A. nili</i>         | 709(13,5)   | 0           | 0,0001                                                                                 |
|                    | <i>A. paludis</i>      | 13(0,2)     | 1(1)        | 0,6439                                                                                 |
|                    | <i>A. ziemanni</i>     | 20(0,3)     | 0           | 1                                                                                      |
|                    | <i>A. coustani</i>     | 1(0,02)     | 0           | 1                                                                                      |
|                    | <i>A. namibiensis</i>  | 1(0,02)     | 0           | 1                                                                                      |
| <i>A. hancocki</i> | 6(0,05)                | 0           | 1           |                                                                                        |
| <b>Total</b>       | <b>5240</b>            | <b>101</b>  |             |                                                                                        |
| Olama              | <i>A. gambiae</i> s.l. | 45 (0.9)    | 10 (1.1)    | 0,6503                                                                                 |
|                    | <i>A. moucheti</i>     | 5037 (97.9) | 814 (89.0)  | <0,0001                                                                                |
|                    | <i>A. nili</i>         | 10 (0.2)    | 1 (0.1)     | 0,8925                                                                                 |
|                    | <i>A. paludis</i>      | 5 (0.1)     | 4 (0.4)     | 0,0460                                                                                 |
|                    | <i>A. ziemanni</i>     | 41 (0.8)    | 83 (9.1)    | <0,0001                                                                                |
|                    | <i>A. marshallii</i>   | 9 (0.2)     | 3 (0.3)     | 0,5783                                                                                 |
| <b>Total</b>       | <b>5147</b>            | <b>915</b>  |             |                                                                                        |

() : Pourcentage par rapport à l'effectif total ; valeur P : signification à 5%.

*A. ziemanni* a montré une tendance à la hausse avec les proportions passant de 0,8% à 9% d'une période à l'autre ( $P < 0,0001$ ). Les espèces *A. gambiae* s.l., *A. paludis*, *A. nili* et *A. marshalli* ont été très peu abondantes quelle que soit la période d'étude, avec des proportions inférieures ou égales à 1% ( $p > 0,05$ ).

### III-1-1-3. Composition des espèces au sein du complexe *A. gambiae*

L'identification moléculaire a été réalisée sur 1308 anophèles morphologiquement identifiés comme appartenant au complexe *A. gambiae* s.l., dont 548 collectés à Nyabessan, 705 à Simbock et 55 à Olama. En effet, deux espèces ont été identifiées : *A. gambiae* s.s. et *A. coluzzii*. La distribution de ces espèces à Nyabessan, Simbock et Olama pendant les deux périodes de l'étude est consignée dans le **tableau VIII**.

À Nyabessan, seule *A. gambiae* s.s. a été identifiée avec une proportion de 100% avant les TCB ; après la construction du barrage, avec une proportion de 91,2%. Cependant l'abondance de cette espèce à la première période de l'étude était significativement supérieure que pendant la seconde période ( $P < 0,0001$ ). *A. coluzzii* n'a été identifiée qu'après le LTCB à une proportion de 8,8%.

À Simbock, le ratio *A. gambiae* s.s. / *A. coluzzii* n'a pas significativement varié entre les deux périodes de l'étude ; ce ratio a été de 8,2/91,8 avant le LTIU contre 14,2/85,8 pendant le processus d'urbanisation.

À Olama, *A. gambiae* s.s. qui a été identifiée pendant la première période de l'étude à une proportion de 40% a été la seule espèce identifiée pendant la seconde période ( $P = 0,002$ ), tandis qu'*A. coluzzii* a été seulement identifiée pendant la première période à 60%

**Tableau VIII :** Distribution d'*A. gambiae* s.s. et *A. coluzzii* à Simbock, Nyabessan et Olama

| Site                   | Nyabessan |            |                 | Simbock    |           |             | Olama     |           |              |
|------------------------|-----------|------------|-----------------|------------|-----------|-------------|-----------|-----------|--------------|
|                        | 2000-2006 | 2014 -2016 | Valeur de P     | 2000-2006  | 2014-2016 | Valeur de P | 2000-2006 | 2014-2016 | Valeur P     |
| <i>A. gambiae</i> s.s. | 190 (100) | 326 (91,2) | < <b>0,0001</b> | 52 (8,2)   | 10 (14,2) | 0,55        | 18 (40)   | 10 (100)  | <b>0,002</b> |
| <i>A. coluzzii</i>     | 0         | 32 (8,8)   | ND              | 585 (91,8) | 58 (85,8) | 0,12        | 27 (60)   | 0         | <b>ND</b>    |
| <b>Total</b>           | 190       | 358        |                 | 637        | 68        |             | 45        | 10        |              |

() : pourcentage par rapport à l'effectif total valeur P : signification à 5%

### III-1-2. Paramètres de la transmission du paludisme

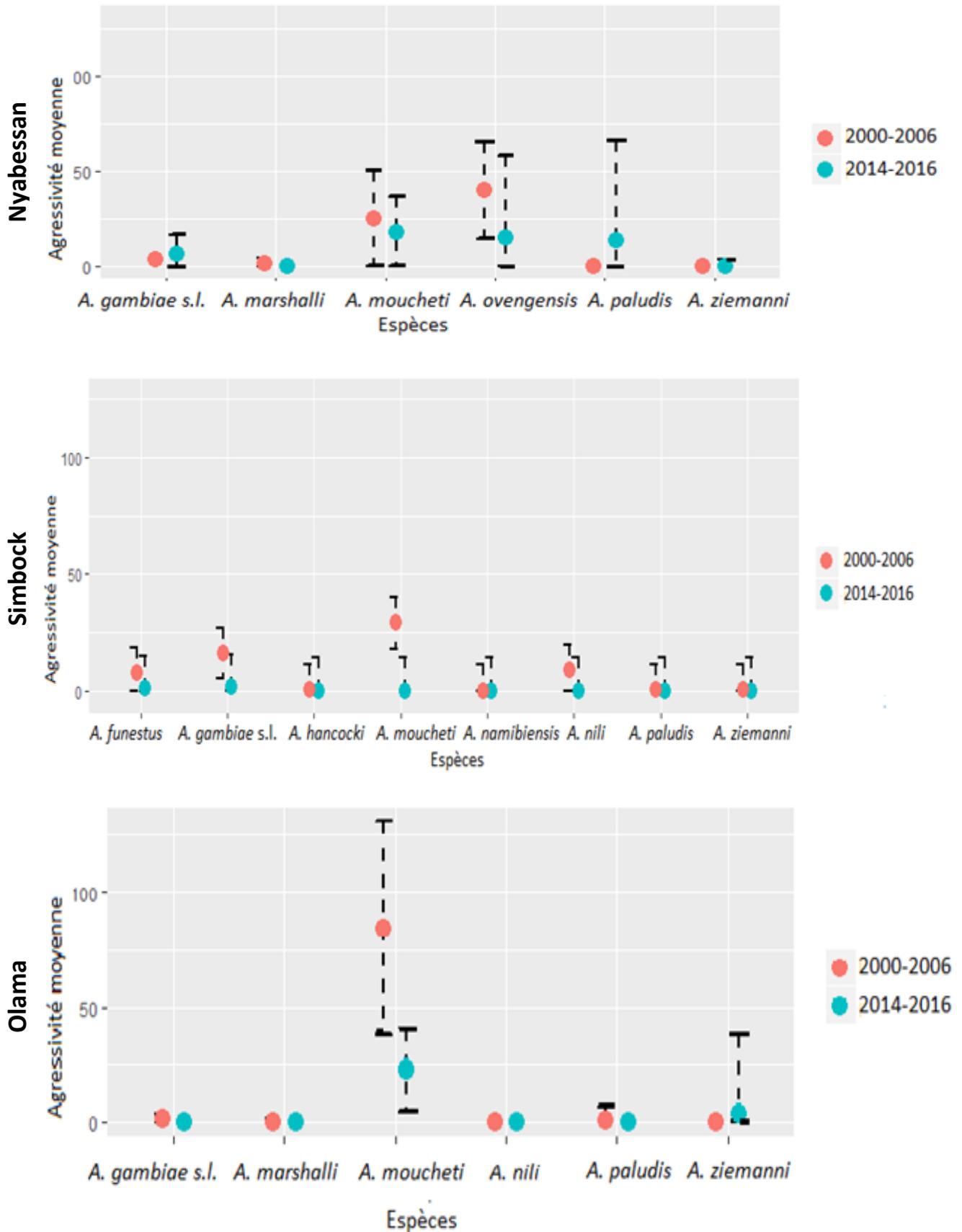
#### III-1-2-1. Agressivité moyenne des anophèles

La figure 19 présente les taux moyens d'agressivité des espèces d'anophèles capturés à Nyabessan, Simbock et Olama pendant les périodes rétrospective et prospective.

A Nyabessan, l'agressivité moyenne globale a été baissée de 70,5 p/h/n entre 2000-2006, à 42,6 p/h/n entre 2014-2016. *Anopheles ovengensis* et *A. moucheti* étaient les espèces les plus agressives tout au long de l'étude avec respectivement 37,5p/h/n et 27,4 p/h/n avant le LTCB, contre 11,6p/h/n et 14,5p/h/n après le LTCB. *A. paludis* qui a présenté une agressivité inférieure à 1 p/h/n avant le LTCB a été retrouvée avec 9,3p/h/n après le début des travaux (P=0,003). *Anopheles gambiae* s.l. a montré une agressivité moyenne variant de 3,6 à 6,3 p/h/n avant et après le LTCB cependant, cette variation n'était pas significative (Figure 19). Les espèces *A. marshalli*, et *A. ziemanni* ont présenté chacune une agressivité inférieure à 2 p/h/n au cours des deux périodes de l'étude.

A Simbock, l'agressivité moyenne pour toutes les espèces a baissé de 16,6 p/h/n entre 2000-2006 à 2,4 p/h/n entre 2014-2016. *Anopheles moucheti* qui était l'espèce la plus agressive avant le PU (8,1 p/h/n) a présenté une agressivité nulle pendant le PU. Les espèces *A. gambiae* s.l. et *A. funestus* ont présenté des agressivités moyennes de 2 p/h/n et 4 p/h/n respectivement avant le PU ; elles ont été les seules espèces agressives pendant le PU, cependant avec des agressivités faibles de 1,6 p/h/n et 0,7 p/h/n respectivement. Les espèces *A. nili*, *A. paludis*, *A. hancocki*, *A. namibiensis* et *A. ziemanni* qui présentaient déjà des agressivités faibles (de 2 à moins d'1 p/h/n) avant le PU, n'ont pas été retrouvées pendant le PU (0 p/h/n).

A Olama, l'agressivité moyenne enregistrée pour toutes les espèces a également baissée de 73,5 p/h/n entre 2000-2006 à 25,4 p/h/n entre 2014 et 2016. *A. moucheti* était l'espèce la plus agressive avec 72 p/h/n et 22,6 p/h/n pendant les périodes rétrospective et prospective respectivement (p<0,05). L'agressivité d'*A. ziemanni* a varié de moins d'1 p/h/n à 2,3 p/h/n pendant la seconde période de l'étude. L'agressivité des espèces *A. gambiae* s.l., *A. nili*, *A. paludis*, et *A. marshalli* est restée la même que ce soit pendant l'une ou l'autre période d'étude, avec une agressivité inférieure à 1 p/h/n.



**Figure 19:** Taux moyens d'agressivité des principales espèces d'anophèles à Nyabessan, Simbock et Olama

### III-1-2-2 Agressivité à l'intérieur et à l'extérieur des habitations (endophagie/exophagie)

Les taux d'agressivité des différentes espèces à l'intérieur et à l'extérieur des habitations ont varié d'une période de l'étude à une autre. Une tendance exophagie a été enregistrée pendant la première période de l'étude à Nyabessan, et une tendance endophagie pendant la même période à Simbock et Olama. Pendant la seconde période de l'étude, le comportement phagique était quasi similaire à l'intérieur et à l'extérieur des habitations dans les trois sites d'étude. Les variations des taux d'agressivité en fonction de la position de capture (intérieur/extérieur des habitations) sont consignées dans les tableaux IX (Nyabessan), X (Simbock) et XI (Olama).

- **Nyabessan**

Entre 2000-2006, 800 anophèles ont été capturés par 31 hommes-nuit à l'intérieur et 2620 par 22 hommes-nuit à l'extérieur des habitations. L'agressivité moyenne a été remarquablement faible à l'intérieur par rapport à l'extérieur des habitations, soit 25,8p/h/n et 119,1 p/h/n respectivement. Les principales espèces notamment *A. ovengensis*, *A. moucheti* et *A. gambiae* ont présenté une tendance majoritairement exophagie, avec des agressivités de 72,3 p/h/n contre 9,6 p/h/n, 38,6 p/h/n contre 14,5 p/h/n et 3,9 p/h/n contre 1,6 p/h/n à l'extérieur et à l'intérieur des habitations respectivement. Cependant, les différentes variations d'agressivité entre l'intérieur et l'extérieur des habitations n'étaient pas significatives ( $p > 0,05$ ) (Tableau IX).

Entre 2014-2016, 1084 moustiques ont été collectés à l'intérieur contre 1094 à l'extérieur des habitations par 28 hommes-nuit. L'agressivité moyenne a été quasi similaire à l'intérieur et à l'extérieur des habitations, soit 38,7 p/h/n et 39,1 p/h/n à l'intérieur et à l'extérieur respectivement. Les espèces *A. moucheti* et *A. gambiae* s.l., ont présenté une tendance exophagie non significative, comme à la première période de l'étude : 14p/h/n et 6,3p/h/n contre 12,8p/h/n et 4,6p/h/n à l'extérieur et à l'intérieur respectivement (Tableau IX). L'espèce *A. ovengensis* a présenté une agressivité quasi similaire à l'extérieur et à l'intérieur des habitations soit 11,1p/h/n et 10p/h/n respectivement tandis qu'*A. paludis* a montré une tendance majoritairement endophagie avec 11 p/h/n à l'intérieur contre 7,2 p/h/n à l'extérieur des habitations.

Les 3 espèces majoritaires pendant toute l'étude à Nyabessan, notamment *A. ovengensis*, *A. moucheti* et *A. gambiae* ont montré une tendance plus marquée à l'exophagie avant la construction du barrage, par rapport à la période d'après la construction du barrage. Par ailleurs,

*A. paludis* a montré une aptitude d'agressivité aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des habitations, après la construction du barrage. Néanmoins, les différences observées dans les tendances à l'exophagie et à l'endophagie des différents vecteurs entre les deux périodes de l'étude n'étaient pas significatives ( $p > 0,05$ ) (Tableau IX).

**Tableau IX :** Variations de l'agressivité (nombre de piqûres/homme/nuit) des espèces à l'intérieur et à l'extérieur des habitations entre les deux périodes de l'étude à Nyabessan

|                        | 2000-2006         |                    |             | 2014-2016         |                   |             |
|------------------------|-------------------|--------------------|-------------|-------------------|-------------------|-------------|
|                        | Intérieur         | Extérieur          | Valeur de P | Intérieur         | Extérieur         | Valeur de P |
| <i>A. gambiae</i> s.l. | 1,6 (49)          | 3,9 (87)           | 0,32        | 4,6 (128)         | 6,3 (178)         | 0,53        |
| <i>A. moucheti</i>     | 14,5 (450)        | 38,6 (849)         | 0,28        | 12,8 (359)        | 14 (386)          | 0,88        |
| <i>A. ovengensis</i>   | 9,6 (298)         | 72,3 (1590)        | 0,06        | 10 (275)          | 11,1 (312)        | 0,93        |
| <i>A. paludis</i>      | 0,03 (1)          | 0,1 (3)            | 0,11        | 11,4 (320)        | 7,2 (201)         | 0,69        |
| <i>A. marshalli</i>    | 0,1 (2)           | 4,1 (91)           | ND          | 0                 | 0                 | ND          |
| <i>A. ziemanni</i>     | 0                 | 0                  | ND          | 0,1 (2)           | 0,3 (9)           | ND          |
| <i>A. coustani</i>     | 0                 | 0                  | ND          | 0                 | 0,2 (7)           | ND          |
| <i>A. obscurus</i>     | 0                 | 0                  | ND          | 0                 | 0,03 (1)          | ND          |
| <b>Total</b>           | <b>25,8 p/h/n</b> | <b>119,1 p/h/n</b> |             | <b>38,7 p/h/n</b> | <b>39,1 p/h/n</b> |             |
|                        | <b>(800)</b>      | <b>(2620)</b>      |             | <b>(1084)</b>     | <b>(1094)</b>     |             |

( ) : effectif pour chaque espèce    **ND** : non déterminé    **Valeur de P** : seuil de signification à 5%

- **Simbock**

Entre 2000-2006, 1288 anophèles ont été capturés par 159 hommes-nuit à l'intérieur et 1452 par 157 hommes-nuit à l'extérieur des habitations. Les anophèles ont présenté une agressivité deux fois plus élevée à l'intérieur (22,5 p/h/n) par rapport à l'extérieur (9,2 p/h/n) des habitations. Les espèces *A. moucheti*, *A. funestus*, *A. nili*, et *A. gambiae* ont présenté des agressivités à l'intérieur de 11,1 p/h/n, 5,7 p/h/n, 3,2 p/h/n et 2,4p/h/n respectivement contre 4,7p/h/n, 2,2p/h/n, 1,1p/h/n, et 1,1p/h/n à l'extérieur. Toutefois, cette tendance à l'endophagie n'a pas été significative ( $P > 0,1$ ) (Tableau X).

Entre 2014-2016, 56 anophèles ont été collectés à l'intérieur et 45 à l'extérieur des habitations par 21 hommes-nuit. L'agressivité à l'intérieur et à l'extérieur des habitations n'a

pas été significativement différente ( $P>0,4$ ), soit 2p/h/n. Seules les espèces *A. gambiae* s.l. et *A. funestus* ont présenté une agressivité à la fois à l'intérieur et à l'extérieur des habitations ; celle-ci était inférieure à 2p/h/n.

Les deux espèces agressives qui étaient présentes à Simbock aussi bien avant que pendant le processus d'urbanisation à Simbock, notamment *A. funestus*, et *A. gambiae* s.l. étaient aussi bien endophages qu'exophages quelle que soit la période d'étude (avant et pendant le PU) (Tableau X).

**Tableau X** : Variations de l'agressivité (nombre de piqûres/homme/nuite) des espèces à l'intérieur et à l'extérieur des habitations pendant les deux périodes de l'étude à Simbock

| Espèces                | 2000-2006                    |                             |             | 2014-2016                 |                           |          |
|------------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------|---------------------------|---------------------------|----------|
|                        | Intérieur                    | Extérieur                   | Valeur de P | Intérieur                 | Extérieur                 | Valeur P |
| <i>A. moucheti</i>     | 11,1 (1764)                  | 4,7 (748)                   | 0,41        | 0                         | 0                         | ND       |
| <i>A. funestus</i>     | 5,7 (906)                    | 2,2 (343)                   | 0,13        | 1 (21)                    | 0,5 (11)                  | 0,50     |
| <i>A. gambiae s.l.</i> | 2,4 (379)                    | 1,1 (167)                   | 0,52        | 1,6 (35)                  | 1,6 (33)                  | 0,43     |
| <i>A. nili</i>         | 3,2 (512)                    | 1,1 (176)                   | 0,71        | 0                         | 0                         | ND       |
| <b>Total</b>           | <b>22,5 p/h/n<br/>(1288)</b> | <b>9,2 p/h/n<br/>(1452)</b> |             | <b>2,6 p/h/n<br/>(56)</b> | <b>2,1 p/h/n<br/>(45)</b> |          |

( ) : effectif collecté pour chaque espèce ND : non disponible disponible Valeur P : seuil de signification à 5%

- **Olama**

Entre 2000-2006, 3772 anophèles ont été capturés par 38 hommes-nuit à l'intérieur et 1430 anophèles par 32 hommes-nuit à l'extérieur des habitations. Les anophèles ont présenté une forte tendance à l'endophagie avec une agressivité moyenne de 99,2 p/h/n à l'intérieur contre 44,7 p/h/n à l'extérieur. L'espèce principale *A. moucheti* a été responsable de la quasi-totalité des piqûres aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des habitations, soit 96,3 p/h/n et 43 p/h/n respectivement, avec une différence significative entre les deux positions ( $P=0,008$ ). Les espèces moins agressives notamment *A. gambiae* s.l., *A. nili*, *A. marshalli* et *A. ziemanni* ont

présenté une agressivité inférieure ou égale à 1p/h/n que ce soit à l'intérieur ou à l'extérieur des habitations. (Tableau XI).

Entre 2014-2016, 428 anophèles ont été collectés à l'intérieur et 494 à l'extérieur des habitations par 18 hommes-nuit. Le taux d'agressivité enregistré a varié de 23,7 p/h/n à 27,4 p/h/n à l'intérieur et à l'extérieur respectivement. L'espèce *A. moucheti*, précédemment endophage a présenté une aptitude à piquer aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des habitations avec une agressivité  $\approx 23$  p/h/n ( $p=0,3$ ). L'espèce *A. ziemanni* a montré une tendance à l'exophagie avec une agressivité de 4 p/h/n à l'extérieur et moins d'1 p/h/n à l'intérieur des habitations bien que cette différence ne soit pas significative ( $p=0,4$ ). Les espèces *A. gambiae* s.l., *A. nili*, et *A. marshalli* ont une fois de plus présenté une agressivité inférieure à 1 p/h/n aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des habitations (Tableau XI).

**Tableau XI :** Variations de l'agressivité des espèces à l'intérieur et à l'extérieur des habitations entre les deux périodes de l'étude à Olama

| Espèces                | 2000-2006                    |                              |              | 2014-2016                   |                             |             |
|------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------|
|                        | Intérieur                    | Extérieur                    | Valeur de P  | Intérieur                   | Extérieur                   | Valeur de P |
| <i>A. moucheti</i>     | 96,3 (3662)                  | 43 (1375)                    | <b>0,008</b> | 22,2 (400)                  | 23 (414)                    | 0,34        |
| <i>A. nili</i>         | 0,3 (10)                     | 0,1 (5)                      | <b>0,70</b>  | 0                           | 0,05 (1)                    | ND          |
| <i>A. gambiae</i> s.l. | 1,2 (45)                     | 0,4 (13)                     | <b>0,51</b>  | 0,3 (5)                     | 0,3 (5)                     | 1           |
| <i>A. ziemanni</i>     | 0,1 (5)                      | 0,1 (2)                      | <b>1</b>     | 0,6 (18)                    | 4 (72)                      | 0,41        |
| <i>A. marshalli</i>    | 0,2 (9)                      | 0,1 (3)                      | <b>0,51</b>  | 0,1 (3)                     | 0                           | ND          |
| <b>Total</b>           | <b>99,2 p/h/n<br/>(3772)</b> | <b>44,7 p/h/n<br/>(1430)</b> |              | <b>23,7 p/h/n<br/>(428)</b> | <b>27,4 p/h/n<br/>(494)</b> |             |

() : effectif collecté pour chaque espèce  
signification à 5%.

**ND** : non disponible

**Valeur P** : seuil de

### III-1-2-3. Agressivité horaire des principales espèces d'anophèles

La figure 20 présente les différentes variations horaires de l'agressivité des espèces en fonction des périodes de l'étude à Nyabessan, Simbock et Olama.

- **Nyabessan**

L'agressivité horaire des principales espèces d'anophèles collectés à Nyabessan notamment *A. moucheti* et *A. ovengensis* a significativement diminué entre la première période de l'étude et la seconde période. La courbe de piqûres de l'espèce *A. moucheti* a présenté la même allure avant le LTCB et pendant les travaux cependant avec des pics différents d'une période à une autre. En effet, l'activité de piqûres était croissante au cours de la première partie de la nuit et décroissante pendant la seconde partie, avec un pic entre 21 et 01h. Avant le LTCB, le pic a été enregistré à 15 p/h/n entre 21h-23h à l'extérieur des habitations, tandis que pendant les travaux, le maximum de piqûres s'étendait en un plateau autour de 6 p/h/n, entre 21h et 01h. A l'intérieur des habitations, les pics d'agressivité ont été atteints entre 23h-01h, avec 18p/h/n et 7 p/h/n avant et pendant les travaux de construction du barrage respectivement. L'espèce *A. ovengensis* a engendré l'essentiel de l'agressivité au cours de la première partie de la nuit avant la LTCB, avec un maximum de piqûres de 19p/h/n et 10p/h/n à l'extérieur et à l'intérieur respectivement, pendant la tranche horaire 19h-21h. Pendant les travaux de construction du barrage, le pic de piqûres a été atteint entre 23h-01h à l'extérieur avec 6 p/h/n tandis qu'à l'intérieur, l'agressivité a évolué en un plateau en dessous de 3p/h/n toute la nuit.

Pendant les deux périodes de l'étude, *A. gambiae* s.l. a présenté une activité agressive croissante entre 19h et 23h, puis elle s'est stabilisée entre 23h et 05h avec un taux de piqûres  $\leq 3$ p/h/n, ceci à l'intérieur et à l'extérieur des habitations.

*Anopheles paludis* dont l'agressivité était inférieure à 1p/h/n avant le LTCB, a présenté pendant les travaux, une activité agressive évoluant sous forme de plateau. Le taux de piqûres était inférieur ou égal à 3p/h/n à l'extérieur tandis qu'à l'intérieur, il a évolué graduellement pour atteindre un pic de 9p/h/n entre 3h-5h.

- **Simbock**

Pendant les deux périodes de l'étude, l'agressivité horaire des anophèles capturés à Simbock est restée faible, c'est-à-dire inférieure ou égale à 5p/h/n mais avec d'importantes variations horaires.

Avant l'urbanisation, la courbe d'agressivité d'*A. moucheti* et *A. nili* à l'intérieur des habitations, a augmenté régulièrement jusqu'à la tranche horaire 23h-01h à laquelle elle a atteint un pic de 5 p/h/n et 4 p/h/n pour *A. moucheti* et *A. nili* respectivement. A l'extérieur, *A. moucheti* a atteint un pic de 3 p/h/n à la même tranche horaire 23h-01h ; tandis qu'*A. nili* a présenté une agressivité horaire évoluant sous forme de plateau avec des taux d'agressivité inférieurs à 2p/h/n toute la nuit. *Anopheles gambiae* et *A. funestus* qui étaient les seules espèces agressives

aussi bien avant que pendant le processus d'urbanisation (PU), ont présenté pendant toute l'étude, des agressivités horaires inférieures ou égales à 3p/h/n. l'espèce *A. gambiae* s.l. a présenté à l'extérieur des habitations, une agressivité horaire évoluant en un plateau de 2p/h/n et en dessous de 1p/h/n avant et pendant le processus d'urbanisation respectivement. A l'intérieur, la courbe d'agressivité horaire a présenté un pic de 2p/h/n avant le PU et a évolué en un plateau situé à moins d'1p/h/n pendant le PU. *Anopheles funestus* a montré à l'extérieur des habitations une activité de piqûre évoluant en un plateau de moins d'1 p/h/n aussi bien avant que pendant le PU ; tandis qu'à l'intérieur, elle a atteint un pic de 3p/h/n et 1p/h/n avant et pendant le PU respectivement.

- **Olama**

L'agressivité a été essentiellement assurée par *A. moucheti* aussi bien pendant la première que la seconde période de l'étude, cependant avec une activité significativement plus importante pendant la première période. Entre 2000-2006, les courbes d'agressivité horaire ont augmenté de manière régulière à partir de 19h-21h jusqu'à atteindre le niveau maximal de 13p/h/n entre 01h-03h et 24p/h/n entre 23h-01h à l'extérieur et à l'intérieur respectivement. Après le pic, l'agressivité a diminué et s'est stabilisée au petit matin à 10 p/h/n et à 17p/h/n, à l'extérieur et à l'intérieur des habitations respectivement. Entre 2014-2016, l'agressivité horaire a augmenté progressivement toute la nuit pour se stabiliser au petit matin à 7p/h/n à l'extérieur et à 4p/h/n à l'intérieur des habitations.

La fonction ANOVA a été utilisée pour tester l'hypothèse nulle selon laquelle il n'y a pas de différence de taux de piqûre en fonction des variables périodes d'étude, site, espèces, heures et position (intérieur/extérieur) (Tableau XII).

L'agressivité horaire a montré des fluctuations significativement différentes pour les variables site, position, heure et période de capture, seules ou associées. Que ce soit à Nyabessan, Simbock ou Olama, les variations d'agressivité horaire observées de manière globale entre les différentes espèces pendant les deux périodes de l'étude, étaient significatives.

Cependant, les taux d'agressivité horaire n'ont pas significativement varié en fonction de la position intérieur/extérieur des habitations ( $P= 0,13$ ), ainsi qu'en fonction des variables associées période et site de l'étude d'une part ( $P= 0,11$ ), et période et heure de capture d'autre part ( $P=0,19$ ).

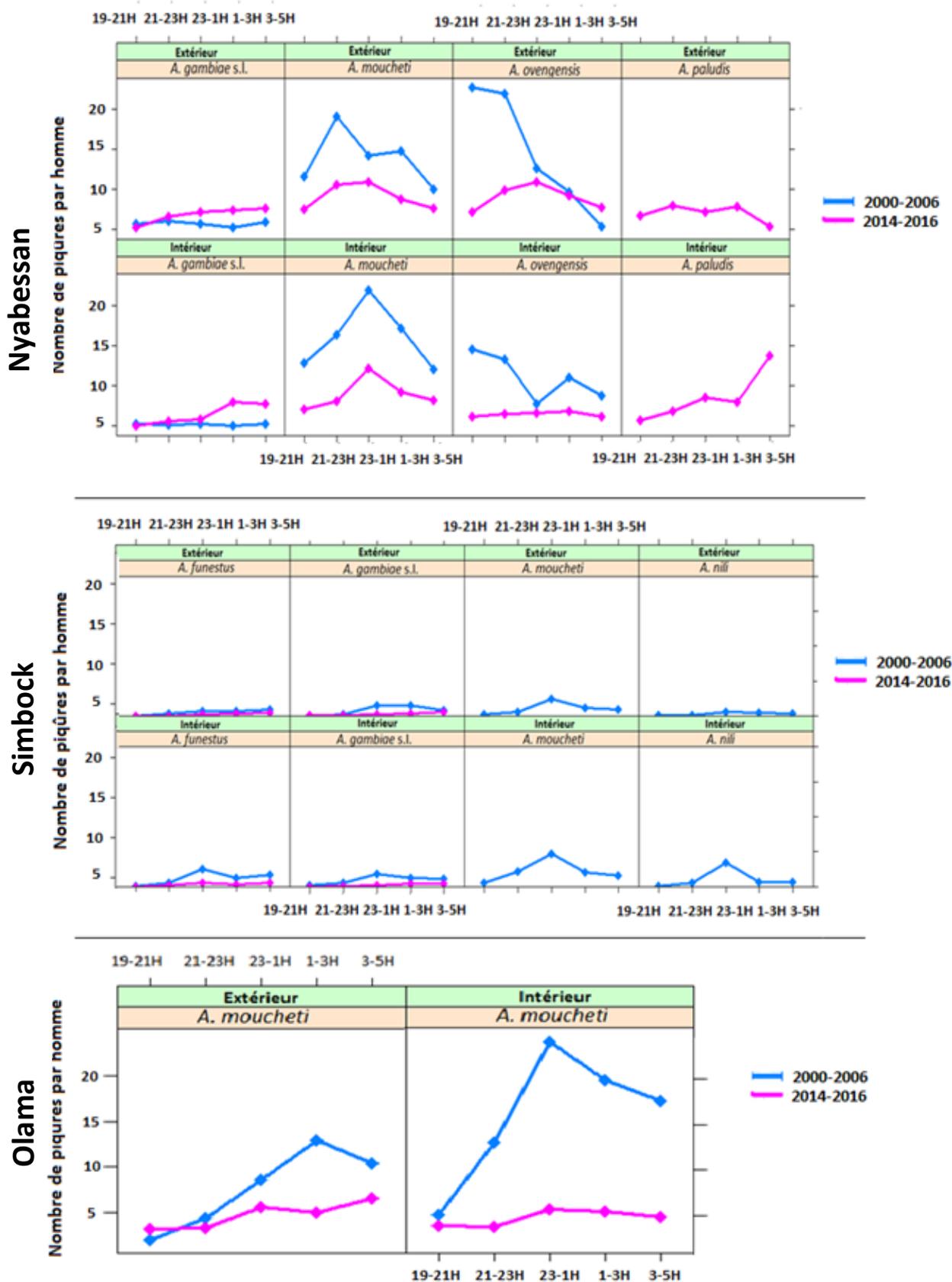


Figure 20: Cycles horaires d'agressivité des principaux vecteurs du paludisme à Nyabessan, Simbock et Olama.

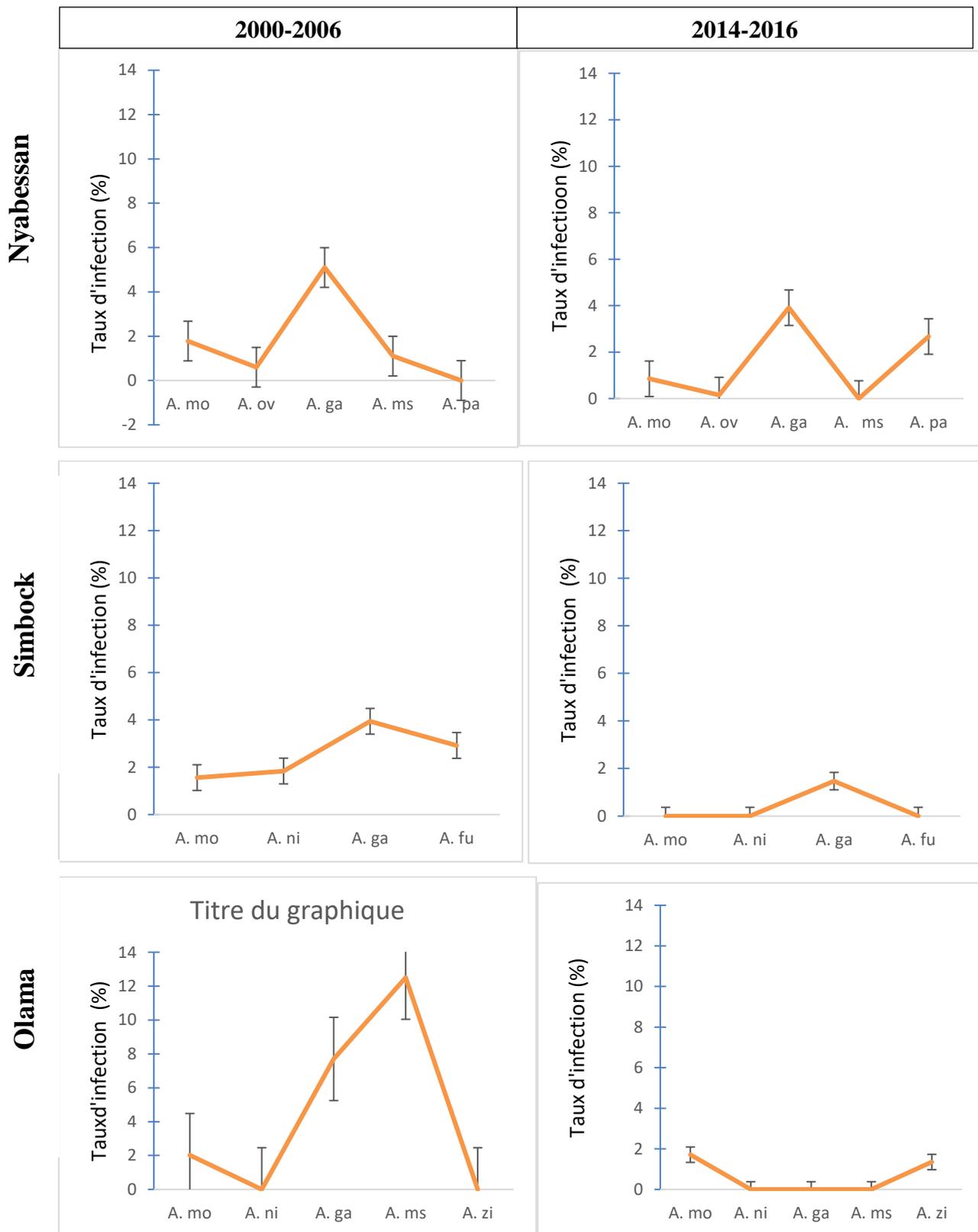
**Tableau XII:** Comparaison des agressivités en fonction des variables période, site, espèces, position (intérieur ou extérieur), heure de piqûre et leurs différentes interactions (ANOVA).

| <b>Variable</b>         | <b>Somme<br/>des carrés</b> | <b>Dl</b> | <b>valeur de F</b> | <b>P(&gt;F)</b> |
|-------------------------|-----------------------------|-----------|--------------------|-----------------|
| Période                 | 568,40                      | 1         | 82,79              | <0,0001 ***     |
| Site                    | 834,46                      | 2         | 60,77              | <0,0001 ***     |
| Espèces                 | 400,90                      | 5         | 11,68              | <0,0001 ***     |
| Position                | 15,26                       | 1         | 2,22               | 0,13            |
| Heure                   | 197,30                      | 4         | 7,18               | <0,0001 ***     |
| Période: Site           | 29,32                       | 2         | 2,13               | 0,11            |
| Période: Espèces        | 310,43                      | 3         | 15,07              | <0,0001 ***     |
| Site: Espèces           | 403,89                      | 1         | 58,83              | <0,0001 ***     |
| Période: Position       | 52,26                       | 1         | 7,61               | 0,0061 **       |
| Site: Position          | 42,14                       | 2         | 3,06               | 0,04 *          |
| Espèces: Position       | 106,92                      | 5         | 3,11               | 0,0092 **       |
| Période: Heure          | 4212                        | 4         | 1,53               | 0,19            |
| Site: Heure             | 247,94                      | 8         | 4,51               | <0,0001 ***     |
| Période: Site: Position | 155,50                      | 2         | 11,32              | <0,0001 ***     |
| Période: Site:Heure     | 301,06                      | 8         | 5,48               | <0,0001 ***     |

Dl : degré de liberté Valeur F : Valeur de la statistique F pour chaque coefficient P : Valeur de P pour le test-F du model. Degré de signification à 5%.

#### **III-1-2-4. Taux d'infection plasmodiale des anophèles**

La technique ELISA CSP a été utilisée pour détecter les moustiques infectés par *P. falciparum*. Un total de 13977 anophèles a été analysé pendant toute l'étude, dont 5159 à Nyabessan, 3619 à Simbock, et 5199 à Olama. Les taux moyens d'infection des échantillons d'anophèles collectés à Nyabessan, Simbock et Olama sont représentés à la figure 21. Les variations des indices circum sporozoïtiques en fonction de la position de capture des anophèles (intérieur/extérieur des habitations) sont consignées dans le tableau XIII.



**Figure 21.** Taux d'infection des anophèles collectés à Nyabessan, Simbock et Olama pendant les deux périodes de l'étude (2000-2006 et 2014-2016).

A. fu : *Anopheles funestus* ; A. ga: *Anopheles gambiae* s.l.; A. ms: *Anopheles marshallii*;  
 A. mo: *Anopheles moucheti*; A. ov : *Anopheles ovengensis* A. ni: *A. nili*; A. pa: *Anopheles paludis*; A. zi: *Anopheles ziemanni*.

**Tableau XIII:** Variations des indices circum sporozoïtiques (ICS) à l'intérieur et à l'extérieur des habitations à Nyabessan, Simbock et Olama

| Site d'étude     | Espèces                | 2000-2006 |      |           |      |          | 2014-2016 |     |           |     |          |
|------------------|------------------------|-----------|------|-----------|------|----------|-----------|-----|-----------|-----|----------|
|                  |                        | Intérieur |      | Extérieur |      | Valeur P | Intérieur |     | Extérieur |     | Valeur P |
|                  |                        | N         | ICS  | N         | ICS  |          | N         | ICS | N         | ICS |          |
| <b>Nyabessan</b> | <i>A. gambiae s.l.</i> | 49        | 14,2 | 87        | 0    | 0,30     | 128       | 5,4 | 178       | 2,8 | 0,85     |
|                  | <i>A. moucheti</i>     | 450       | 1,5  | 849       | 1,9  | 0,48     | 359       | 1,1 | 386       | 0,7 | 0,88     |
|                  | <i>A. ovengensis</i>   | 298       | 1,1  | 1590      | 0,5  | 0,95     | 275       | 0   | 312       | 0,3 | 0,77     |
|                  | <i>A. paludis</i>      | 1         | 0    | 3         | 0    | ND       | 320       | 2,1 | 201       | 3,4 | 2,7      |
|                  | <i>A. marshalli</i>    | 2         | 0    | 88        | 1,1  | ND       | 0         | 0   | 0         | 0   | ND       |
| <b>Simbock</b>   | <i>A. moucheti</i>     | 1764      | 1,3  | 748       | 2,2  | 0,40     | 0         | 0   | 0         | 0   | ND       |
|                  | <i>A. funestus</i>     | 906       | 2,4  | 343       | 4,7  | 0,21     | 21        | 0   | 11        | 0   | ND       |
|                  | <i>A. gambiae s.l.</i> | 379       | 3,6  | 167       | 3,9  | 0,48     | 35        | 0   | 33        | 3,0 | 0,35     |
|                  | <i>A. nili</i>         | 512       | 2,0  | 176       | 1,8  | 0,36     | 0         | 0   | 0         | 0   | ND       |
| <b>Olama</b>     | <i>A. moucheti</i>     | 3662      | 2    | 1375      | 2,2  | 0,42     | 400       | 1,5 | 414       | 1,9 | 0,07     |
|                  | <i>A. gambiae s.l.</i> | 45        | 0    | 13        | 15,4 | 0,17     | 5         | 0   | 5         | 0   | ND       |
|                  | <i>A. ziemanni</i>     | 5         | 0    | 2         | 0    | ND       | 18        | 0   | 72        | 1,3 | 0,42     |
|                  | <i>A. marshalli</i>    | 9         | 0    | 3         | 33,3 | 0,42     | 3         | 0   | 0         | 0   | ND       |

N : effectif, ICS : Indice Circum Sporozoïtique en pourcentage, ND : non disponible Valeur P : seuil de signification à 5%.

- **Nyabessan**

Entre 2000-2006, 2983 anophèles femelles ont été testées, avec un taux d'infection de 1,24%, contre 2176 anophèles testés entre 2014-2016 avec un taux d'infection de 1,6%. Quatre espèces ont été retrouvées infectées par *P. falciparum* avant et après le LTCB, parmi lesquelles *A. gambiae* s.l., *A. moucheti* et *A. ovengensis* infectés quel que soit la période de l'étude, *A. marshalli* uniquement avant le LTCB et *A. paludis* uniquement après le LTCB. L'espèce *A. gambiae* s.l. a présenté l'indice circum sporozoïtique (ICS) le plus élevé pendant les deux périodes de l'étude, cependant avec une variation de 5,1% avant le LTCB à 4% après le LTCB. Les espèces *A. moucheti* et *A. ovengensis* ont présenté une baisse de l'ICS (indice circum sporozoïtique) ; leurs taux d'infection respectifs ont été de 1,78%, et 0,6% avant le LTCB, contre 0,85%, et 0,15% après le LTCB. L'espèce *A. marshalli* a présenté un taux d'infection de 1,1% avant le LTCB, tandis que *A. paludis* a présenté un ICS de 2,67% après le LTCB. (Figure 21).

Avant le LTCB, la variation de l'ICS à l'intérieur des habitations (ICS= 2,25%, N= 701) et à l'extérieur (ICS= 0,92%, N= 2273) n'était pas significative ( $P>0,2$ ) (Tableau XIII). L'espèce *A. gambiae* s.l. a présenté un ICS de 14,2% à l'intérieur des habitations, et un ICS nul à l'extérieur. L'espèce *A. moucheti* a présenté une augmentation de l'ICS de l'intérieur (1,5%) vers l'extérieur des habitations (1,9%), tandis qu'*A. ovengensis* a présenté un ICS plus faible à l'extérieur (0,5%) par rapport à l'intérieur des habitations (1,1%). Cependant, ces variations n'étaient pas significatives ( $P>0,05$ ). L'espèce *A. marshalli* n'a été retrouvée infectée qu'à l'extérieur des habitations, avec l'ICS de 1,1%.

De même, après le LTCB, les ICS des échantillons d'anophèles collectés à l'intérieur (N=1082, ICS=1,6%) n'étaient pas significativement différents de ceux collectés à l'extérieur (N= 1094, ICS= 1,5%) ( $P>0,7$ ). Les espèces *A. gambiae* s.l. et *A. moucheti* ont présenté des ICS diminuant de l'intérieur (5,4% et 1,1% respectivement) vers l'extérieur des habitations (2,8% et 0,7% respectivement). L'espèce *A. paludis* a présenté les ICS de 2,1% et 3,4% à l'intérieur et à l'extérieur des habitations respectivement. L'espèce *A. ovengensis* a été retrouvée infectée par *P. falciparum* uniquement à l'extérieur des habitations, avec un ICS de 0,3%.

- **Simbock**

Le taux d'infection des anophèles a varié de 2,1% (N= 3518 anophèles testés) entre 2000-2006 avant l'urbanisation, à 1% (N= 101 anophèles testés) entre 2014-2016 pendant le processus d'urbanisation (PU). Quatre espèces d'anophèles ont été retrouvées infectées par *P. falciparum* avant l'urbanisation notamment, *A. moucheti* (ICS= 1,56%), *A. funestus* (ICS= 3%),

*A. gambiae* (ICS= 4%) et *A. nili* (ICS= 1,54%) tandis que seule l'espèce *A. gambiae* s.l. a été trouvée infectée pendant le PU (ICS=1,47%) (Figure 21).

Avant le PU, les espèces *A. gambiae*, *A. funestus* et *A. moucheti* ont présenté des ICS plus élevés à l'extérieur qu'à l'intérieur des habitations tandis qu'*A. nili* a montré un ICS diminuant de l'intérieur (2%) vers l'extérieur (1,4%). Cependant ces variations n'étaient pas significatives (tableau XIII).

Pendant le PU, *A. gambiae* s.l. a été retrouvé infecté par *P. falciparum* uniquement à l'extérieur des habitations avec un ICS de 3%.

- **Olama**

Un total de (5199) moustiques ont été analysés pour la recherche de *P. falciparum*, dont 4284 entre 2000-2006 pendant la première période et 915 entre 2014-2016 pendant la seconde période de l'étude. Les taux d'infection de 2,05 et 1,6 ont été obtenus pendant la première et la seconde période de l'étude respectivement.

Trois espèces ont été retrouvées infectées pendant la première période de l'étude, notamment *A. moucheti* (ICS = 2,02%), *A. gambiae* s.l (ICS= 7,69%) et *A. marshalli* (ICS= 12,5%) ; tandis que deux espèces ont été retrouvées infectées pendant la seconde période de l'étude notamment *A. moucheti* (ICS= 1,5%) et *A. ziemanni* (ICS=0,3%) (Figure 21).

Pendant la première période de l'étude, le taux d'infection des anophèles a varié de 1,9% à l'intérieur des habitations (N=2865 anophèles analysés), à 2,3% à l'extérieur (N=1419 anophèles analysés). *A. moucheti* était la seule espèce infectée par *P. falciparum* à la fois à l'intérieur et à l'extérieur des habitations, avec un ICS de 2% quelque soit la position (intérieur et extérieur). Les espèces *A. gambiae* s.l. et *A. marshalli* ont été retrouvées infectées par *P. falciparum* uniquement à l'extérieur, avec des ICS de 15,4% et 33,3% respectivement.

Pendant la seconde période de l'étude, l'espèce *A. moucheti* a également présenté des ICS quasi similaire à l'intérieur et à l'extérieur des habitations, soit 1,5% et 1,9% respectivement (Tableau XIII). L'espèce *A. ziemanni* a été retrouvée infectée uniquement à l'extérieur avec un ICS de 1,3%.

Le tableau XIV présente les comparaisons des taux d'infection en fonction des différentes variables, effectuées à partir du test ANOVA. En considérant l'ensemble des données des trois sites d'étude, le test ANOVA a montré que de manière globale, les différences de taux d'infection par *P. falciparum* observées entre les deux périodes de l'étude (i.e. l'ICS plus élevé pendant la construction du barrage par rapport à la période de LTCB à Nyabessan, l'ICS deux fois plus élevé avant l'urbanisation par rapport à la période pendant le PU à Simbock

et l'ICS plus élevé pendant la première période par rapport à la seconde période de l'étude à Olama), étaient significatives (P= 0,01) (Tableau XIV). De même, les différences de taux d'infestation entre les espèces i.e la hausse de l'ICS d'*A. gambiae* s.l. et la baisse de l'ICS d'*A. moucheti* et *A. ovengensis* pendant la seconde période par rapport à la première période de l'étude étaient significative (p= 0,02). Cependant, la variation du taux d'infection plasmodiale entre les trois sites d'étude n'était pas significative (P= 0,5) (Tableau XIV).

**Tableau XIV** : Comparaison des taux d'infection en fonction des périodes, des espèces, du site de capture et leurs différentes interactions (ANOVA).

| <b>Variable</b>      | <b>Somme des carrés</b> | <b>Dl</b> | <b>Valeur de F</b> | <b>Pv(&gt;F)</b> |
|----------------------|-------------------------|-----------|--------------------|------------------|
| Période              | 31.29                   | 1         | 6.68               | 0.01*            |
| Espèces              | 117.78                  | 7         | 3.59               | 0.001 **         |
| Site                 | 6.54                    | 2         | 0.69               | 0.50             |
| Période: Espèces     | 40.50                   | 7         | 1.23               | 0.29             |
| Période: Site        | 1.39                    | 2         | 0.14               | 0.86             |
| Espèces: Site        | 26.90                   | 10        | 0.57               | 0.82             |
| Période:Espèces:Site | 21.06                   | 9         | 0.50               | 0.87             |

Dl : degré de liberté Valeur F : Valeur de la statistique F pour chaque coefficient Pv : Valeur-P pour le test-F du model. Degré de signification à 5%.

### III-1-2-5. Taux d'inoculation entomologique (TIE) des anophèles

La distribution des taux d'inoculation entomologique (TIE) par espèce, par période et par site d'étude est présentée à la figure 22. Les variations des TIE en fonction des lieux de capture des anophèles (intérieur/extérieur des habitations) sont consignées dans le tableau XIV.

- **Nyabessan**

Pendant la première période de l'étude, le taux d'inoculation entomologique global a été de 0,87 piqûres infectantes par homme par nuit (pi/h/n) contre 0,68 pi/h/n lors de la deuxième période de l'étude. Les espèces *A. gambiae* s.l., *A. moucheti* et *A. ovengensis* ont été impliquées dans la transmission de *P. falciparum* aussi bien pendant la première que pendant la seconde période de l'étude, avec des TIE de 0,18 pi/h/n, 0,48 pi/h/n et 0,22 pi/h/n contre 0,24 pi/h/n, 0,12 pi/h/n et 0,01 pi/h/n respectivement (Figure 22). L'espèce *A. gambiae* s.l. était uniquement impliquée dans la transmission plasmodiale à l'intérieur des habitations avant le LTCB avec un TIE de 0,2 pi/h/n, tandis qu'après le LTCB, cette espèce a présenté un TIE aussi bien à l'intérieur (0,1 pi/h/n) qu'à l'extérieur (0,2 pi/h/n) des habitations. Inversement, avant le LTCB, l'espèce *A. ovengensis* a été impliqué dans la transmission plasmodiale à l'extérieur (0,3 pi/h/n) et à l'intérieur (0,1 pi/h/n) des habitations ; cependant, après le LTCB, son TIE a diminué de 0,03 pi/h/n à l'extérieur et était nul à l'intérieur des habitations. L'espèce *A. moucheti* quant à elle a présenté un TIE plus élevé à l'extérieur (0,7 pi/h/n) qu'à l'intérieur des habitations (0,2 pi/h/n) avant le LTCB ; ce TIE a diminué après le LTCB à 0,1 pi/h/n aussi bien à l'intérieur et à l'extérieur des habitations. L'espèce *A. paludis* a été impliquée dans la transmission de *P. falciparum* seulement après le LTCB, avec un TIE de 0,2 pi/h/n à l'intérieur et à l'extérieur des habitations. Toutes les variations de TIE à l'intérieur et à l'extérieur des habitations n'étaient pas significatives (Tableau XV).

#### **Simbock**

Avant le processus d'urbanisation, la transmission de *Plasmodium* a été estimée à 0,34 pi/h/n pour toutes les espèces d'anophèles collectées. Cette transmission était assurée par quatre espèces d'anophèles, notamment *A. moucheti* (0,12 pi/h/n), *A. funestus* (0,11 pi/h/n), *A. gambiae* s.l (0,07 pi/h/n) et *A. nili* (0,03 pi/h/n) (Figure 22). Ces espèces ont montré une implication dans la transmission plasmodiale aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des habitations, avec des TIE variant de 0,01 pi/h/n à 0,1 pi/h/n.

Pendant le PU, le TIE global a été de 0,02 pi/h/n ; l'espèce *A. gambiae* s.l. était la seule impliquée dans la transmission plasmodiale pendant le PU, et uniquement à l'extérieur avec un TIE de 0,04 pi/h/n.

### III-1-2-5-3. Olama

La transmission du *Plasmodium* pendant la première période de l'étude a été supérieure à celle observée lors de la seconde période de l'étude avec un TIE de 1,5 pi/h/n contre 0,4 pi/h/n. L'essentiel de la transmission a été assurée par *A. moucheti* avec des TIE de 1,45 pi/h/n et 0,38 pi/h/n pendant la première et la seconde période de l'étude respectivement. La diminution du taux d'inoculation entomologique observée avec *A. moucheti* entre les deux périodes de l'étude n'a pas été significative (Figure 22).

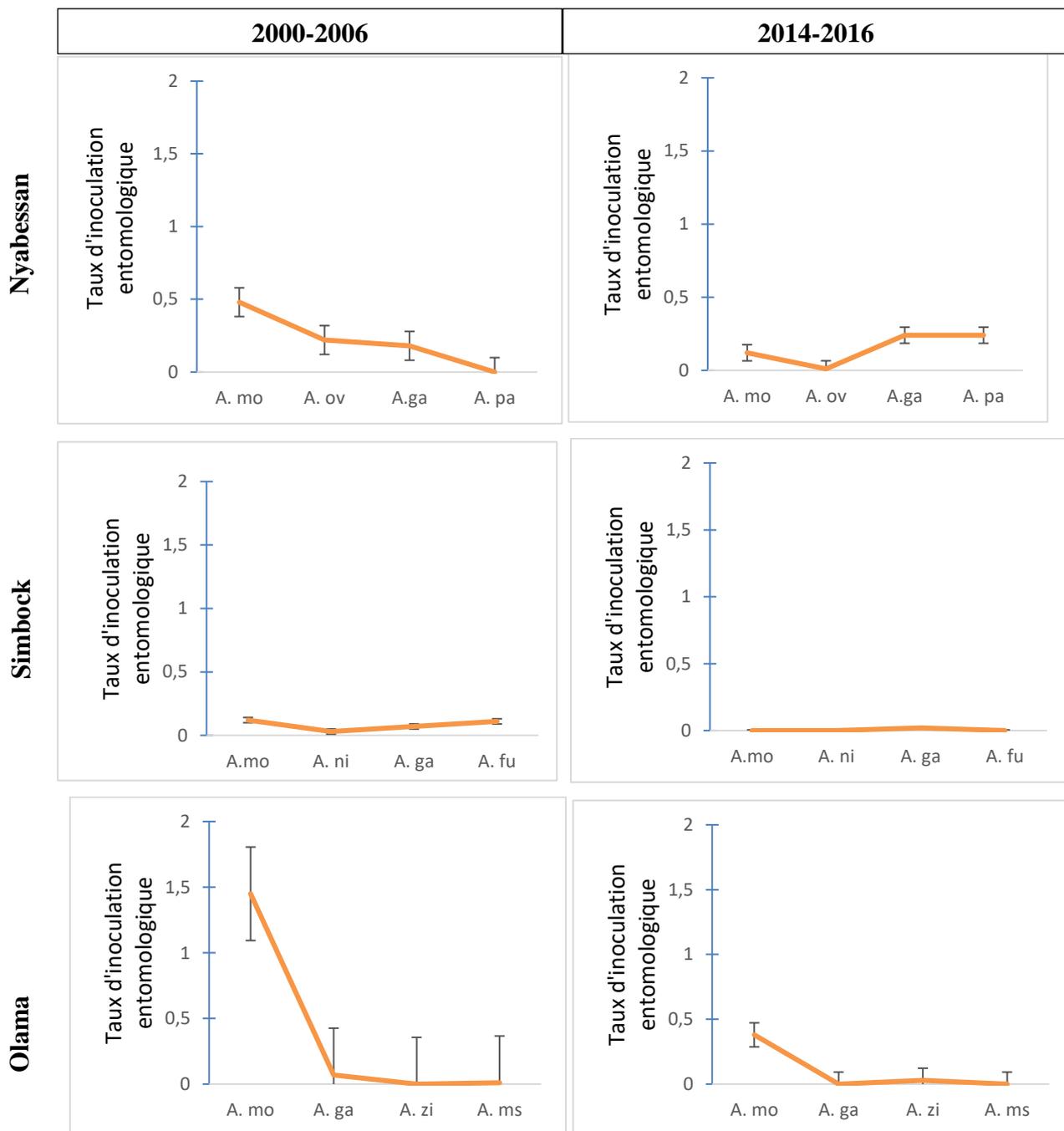
Entre 2000-2006 *A. moucheti* a présenté un TIE de 1,8 pi/h/n à l'intérieur contre 1 pi/h/n à l'extérieur. Cependant entre 2014-2016, cette espèce a présenté à l'intérieur et à l'extérieur des habitations, un TIE de 0,3 et 0,4 pi/h/n respectivement. L'espèce *A. gambiae* s.l. a joué un rôle dans la transmission uniquement à l'extérieur des habitations pendant les deux périodes de l'étude, avec un TIE de 0,06 pi/h/n entre 2000-2006 et 0,1 pi/h/n entre 2014-2016. L'espèce *A. ziemanni* a été impliquée dans la transmission entre 2014-2016 à l'extérieur uniquement, avec un TIE de 0,05 pi/h/n.

Le tableau XV présente la comparaison des taux d'inoculation entomologique (TIE) en fonction des différentes variables, effectuée à partir du test ANOVA. Contrairement aux taux d'infection où nous avons observé des différences significatives entre les espèces vectrices et les périodes d'étude, les variations des TIE en fonction des périodes et des espèces n'étaient pas significatives ( $p > 0,08$ ) (tableau XV).

**Tableau XV:** Comparaison des Taux d’Inoculation Entomologique en fonction de la période (rétrospective et prospective), des espèces, du site et leurs différentes interactions.

| <b>Variable</b>      | <b>Somme des carrés</b> | <b>DI</b> | <b>valeur F</b> | <b>Pv(&gt;F)</b> |
|----------------------|-------------------------|-----------|-----------------|------------------|
| Période              | 22.11                   | 1         | 3.06            | 0.08             |
| Espèces              | 65.58                   | 7         | 1.30            | 0.26             |
| Site                 | 9.71                    | 2         | 0.67            | 0.51             |
| Période: Espèces     | 51.34                   | 7         | 1.01            | 0.42             |
| Période: Site        | 16.86                   | 2         | 1.17            | 0.31             |
| Espèces: Site        | 30.16                   | 7         | 0.59            | 0.75             |
| Période:Espèces:Site | 12.68                   | 2         | 0.88            | 0.42             |

DI : degré de liberté Valeur F : Valeur de la statistique F pour chaque coefficient Pv : Valeur-P pour le test-F du model. Degré de signification à 5%.



**Figure 22** : Taux d'inoculation entomologique (TIE) des espèces d'anophèles collectées à Nyabessan, Simbock et Olama pendant les deux périodes de l'étude (2000-2006 et 2014-2016)

A. fu : *Anopheles funestus* ; A. ga: *Anopheles gambiae* s.l.; A. ms: *Anopheles marshallii*; A. mo: *Anopheles moucheti*; A. ov : *Anopheles ovengensis* A. ni: *A. nili*; A. pa: *Anopheles paludis*; A. zi: *Anopheles ziemanni*.

**Tableau XVI** : variations des TIE à l'intérieur et à l'extérieur des habitations à Nyabessan, Simbock et Olama

|           |                        | 2000-2006 |      |           |      |             | 2014-2016 |     |           |      |          |
|-----------|------------------------|-----------|------|-----------|------|-------------|-----------|-----|-----------|------|----------|
|           |                        | Intérieur |      | Extérieur |      | Valeur P    | Intérieur |     | Extérieur |      | Valeur P |
|           |                        | N         | TIE  | N         | TIE  |             | N         | TIE | N         | TIE  |          |
| Nyabessan | <i>A. moucheti</i>     | 450       | 0,2  | 849       | 0,7  | 0,955       | 359       | 0,1 | 386       | 0,1  | 0,731    |
|           | <i>A. gambiae</i> s.l. | 49        | 0,2  | 87        | 0    | 0,359       | 128       | 0,1 | 178       | 0,2  | 0,914    |
|           | <i>A. ovengensis</i>   | 298       | 0,1  | 1590      | 0,3  | 0,320       | 275       | 0   | 312       | 0,03 | 0,457    |
|           | <i>A. paludis</i>      | 1         | 0    | 3         | 0    | ND          | 320       | 0,2 | 201       | 0,2  | 0,795    |
|           | <i>A. marshalli</i>    | 2         | 0    | 88        | 0,04 | ND          | 0         | 0   | 0         | 0    | ND       |
| Simbock   | <i>A. moucheti</i>     | 1764      | 0,1  | 748       | 0,1  | 0,342       | 0         | 0   | 0         | 0    | ND       |
|           | <i>A. funestus</i>     | 906       | 0,1  | 343       | 0,1  | 0,134       | 21        | 0   | 11        | 0    | ND       |
|           | <i>A. gambiae</i>      | 379       | 0,1  | 167       | 0,05 | 0,427       | 35        | 0   | 33        | 0,04 | ND       |
|           | <i>A. nili</i>         | 512       | 0,06 | 176       | 0,01 | 0,447       | 0         | 0   | 0         | 0    | ND       |
| Olama     | <i>A. moucheti</i>     | 3662      | 1,8  | 1375      | 1,0  | <b>0,04</b> | 400       | 0,3 | 414       | 0,4  | 0,074    |
|           | <i>A. gambiae</i> s.l. | 45        | 0    | 13        | 0,06 | ND          | 5         | 0   | 5         | 0,1  | ND       |
|           | <i>A. ziemanni</i>     | 5         | 0    | 2         | 0    | ND          | 18        | 0   | 72        | 0,05 | 0,423    |
|           | <i>A. marshalli</i>    | 9         | 0    | 3         | 0    | ND          | 3         | 0   | 0         | 0    | ND       |

N : effectif, TIE : taux d'inoculation entomologique (nombre de piqûres infectantes par homme par nuit), ND : non disponible, valeur P: seuil de signification à 5%

### **III-1-3. Profil de sensibilité aux insecticides**

Du fait de la non disponibilité des données rétrospectives sur la sensibilité des anophèles aux insecticides dans les sites d'étude, les données de ce volet de l'étude sont celles collectées uniquement pendant la période prospective. Les tests de sensibilité des anophèles aux insecticides ont été réalisés avec les échantillons d'*A. gambiae* issus des collectes larvaires, effectuées à Nyabessan, Simbock et Olama de 2014 à 2017. Les mêmes tests ont été effectués avec les moustiques de la souche sensible de référence, la souche kisumu élevé au laboratoire de l'OCEAC et exempt de toute résistance aux insecticides. Les insecticides utilisés sont la deltaméthrine à 0,05% et la perméthrine à 0,75% (pyréthrinoïdes), le bendiocarb à 0,1% (carbamate) et le DDT à 4% (organochloré). Les tests avec les pyréthrinoïdes associés au synergiste Piperonil butoxide (PBO) ont également été effectués, pour explorer l'implication des oxydases comme mécanisme de résistance. Les temps de knockdown des moustiques au contact avec les insecticides et les taux de mortalité enregistrés 24h après exposition sont présentés aux tableaux XVII, XVIII, XIX et à la figure 22 respectivement.

#### **III-1-3-1. Souche sensible de référence**

Au total 6 tests ont été effectués avec 600 spécimens d'*A. gambiae* issus de la souche Kisumu, soit un lot de 100 anophèles testés par insecticide (80 moustiques exposés à l'insecticide et 20 moustiques témoins).

Les taux de mortalité et les temps de knockdown enregistrés pendant les tests de sensibilité sont consignés au tableau XVII.

La souche d'*A. gambiae* Kisumu a été sensible à la deltaméthrine et à la perméthrine sans ou combinés au PBO, au DDT et au bendiocarb avec des taux de mortalité de 100%. Les temps de *knockdown* pour 50% de moustiques ( $tkd_{50}$ ) étaient 8,8-9,5 minutes pour la deltaméthrine et la perméthrine avec ou sans PBO, tandis que les temps de knock down pour 95% de moustiques ( $tkd_{95}$ ) étaient 9,2-9,7 minutes. Les  $tkd_{50}$  et  $tkd_{95}$  obtenus avec le DDT étaient 19,1minutes et 31,2 minutes respectivement. Les temps de knockdown au bendiocarb n'ont pas été évalués du fait que les doses de carbamate utilisées n'induisent pas d'effet *knockdown* sur *A. gambiae*.

#### **III-1-3-2. Populations naturelles d'*A. gambiae* s.l. de Nyabessan**

Au total, 12 tests de sensibilité ont été réalisés sur 1495 femelles d'*A. gambiae* s.l. collectés à Nyabessan, avec 2 à 4 insecticides par an en fonction du nombre de moustiques collectés.

## **Mortalité**

Durant les trois premières années de 2014 à 2016, les moustiques ont été résistants à la deltaméthrine avec des taux de mortalité variant entre 46% et 63%. Pendant la dernière enquête en 2017, la mortalité a augmenté à 95%, traduisant une résistance probable de la population à la deltaméthrine. Pour la perméthrine, les anophèles testés ont présenté un statut de résistance, avec des taux de mortalité variant à la baisse soit 66% en 2015 et 31% en 2016. De plus, une très forte résistance au DDT a été observée en 2014, avec une mortalité de 5,8%. Une résistance au bendiocarb a également été observée en 2014 avec une mortalité de 83,3%, mais cette population de vecteurs a présenté une parfaite sensibilité au bendiocarb entre 2015 et 2017 avec un taux de mortalité de 100%.

- **Temps de *knockdown* (tkd)**

La résistance à la deltaméthrine observée durant les trois premières enquêtes a été accompagnée d'une augmentation des temps de knock-down, avec des  $tkd_{50}$  variant entre 27 et 50 minutes, et des  $tkd_{95}$  toujours supérieurs à 1 heure (Tableau XVII). Le ratio de  $tkd_{50}$  de la deltaméthrine par rapport à la souche kisumu a varié entre 2 et 5,3. Bien que cette population d'anophèles ait présenté un statut de résistance probable à la deltaméthrine au cours de la dernière enquête en 2017, le  $tkd_{50}$  enregistré a été de 40 minutes et le  $tkd_{95}$  supérieur à 1 heure. Durant toute l'étude, la résistance à la perméthrine et au DDT à Nyabessan a également été associée à une augmentation des temps de knockdown avec des  $tkd_{50}$  et  $tkd_{95}$  supérieurs à 1 heure. Cette augmentation des tkd suggère fortement l'implication de la mutation kdr dans la résistance aux pyréthrinoïdes et au DDT.

- **Combinaison PBO+ pyréthrinoïdes**

Un seul test a été réalisé avec le synergiste PBO du fait de la rareté des anophèles dans ce site. En janvier 2015, la combinaison PBO+deltaméthrine a permis d'obtenir 98% de mortalité, suggérant une reversion significative de la résistance à la deltaméthrine.

L'association du PBO à la deltaméthrine a également entraîné une diminution de  $tkd_{50}$ , avec un ratio de  $tkd_{50}$  passant de 5 pour la deltaméthrine sans PBO à 3 pour la deltaméthrine+PBO, pour un taux de reversion de l'effet knock-down de 40%.

**Tableau XVII** : Temps de *knockdown* (tkd50 et tkd95) en minutes des populations d'*A. gambiae* s.l. collectés à Nyabessan.

|                                            |                 | <b>Insecticide</b>         | <b>N</b> | <b><i>tkd</i><sub>50</sub>[IC95](min)</b> | <b><i>tkd</i><sub>95</sub>[IC95](min)</b> | <b><i>Tkd</i><sub>50</sub>R</b> | <b>Statut</b> |
|--------------------------------------------|-----------------|----------------------------|----------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------|---------------|
| Souche<br>Kisumu                           |                 | Deltaméthrine              | 100      | 9,5[8,4-10,8]                             | 17,3[15,7-19,4]                           | -                               | S             |
|                                            |                 | Perméthrine                | 100      | 8,8[7,3-11,1]                             | 14,0[12,6-17,8]                           | -                               | S             |
|                                            |                 | DDT                        | 100      | 19,1[17,8-21,1]                           | 31,2[28,5-33,1]                           | -                               | S             |
|                                            |                 | Deltaméthrine+PBO          | 100      | 9,2[7,8-10,8]                             | 18,4[17,2-20,4]                           | -                               | S             |
|                                            |                 | Perméthrine+PBO            | 100      | 9,7[7,8-11,5]                             | 17,2[16,1-20,6]                           | -                               | S             |
|                                            |                 | Bendiocarb                 | 100      | -                                         | -                                         | -                               | S             |
| Population<br>naturelle<br>de<br>Nyabessan | Juillet         | 0,05% Deltaméthrine        | 129      | 44,1[42,0-46,5]                           | >60 min                                   | 4,6                             | R             |
|                                            | 2014            | 4% DDT                     | 136      | >60 min                                   | >60 min                                   | ND                              | R             |
|                                            |                 | 0,1% Bendiocarb            | 132      | -                                         | -                                         | -                               | R             |
|                                            |                 | 0,05% Deltaméthrine        | 97       | 50,3[47,1-53,8]                           | >60 min                                   | 5,3                             | R             |
|                                            | 2015            | 0,75% Perméthrine          | 84       | >60 min                                   | >60 min                                   | ND                              | R             |
|                                            |                 | 0,1% Bendiocarb            | 110      | -                                         | -                                         | -                               | S             |
|                                            | 2016            | 0,05% Deltaméthrine+4% PBO | 102      | 30,5[29,2-31,7]                           | 54,9[44,9-78,8]                           | 40%*                            | S             |
|                                            |                 | 0,05% Deltaméthrine        | 250      | 27,1[24,6-29,5]                           | >60 min                                   | 2,8                             | R             |
|                                            |                 | 0,75% Perméthrine          | 163      | >60 min                                   | > 60 min                                  | ND                              | R             |
|                                            |                 | 0,1% Bendiocarb            | 143      | -                                         | -                                         | -                               | S             |
| Décembre                                   |                 | 0,05% Deltaméthrine        | 72       | 40,1[37,9-42,4]                           | >60 min                                   | 4,2                             | RP            |
| 2017                                       | 0,1% Bendiocarb | 77                         | -        | -                                         | -                                         | S                               |               |

*tkd*<sub>50</sub>: Temps de knockdown pour 50% de la population    *tkd*<sub>95</sub>: Temps de knockdown pour 95% de la population    IC<sub>95</sub> : Intervalle de confiance à 95%    *tkd*<sub>50</sub>R: Ratio du *tkd*<sub>50</sub> de la souche sauvage sur celui de la souche Kisumu    S : Sensible    R : Résistant    RP : Résistance probable    \* : trkd, taux de reversion de l'effet knock down

### III-1-3-3. Populations naturelles d'*A. gambiae* s.l. de Simbock

Au total, 1182 anophèles femelles ont été utilisés pour réaliser 15 tests de sensibilité ; avec 2 à 6 insecticides par an selon les effectifs de moustiques disponibles.

- **Mortalité**

Les tests de sensibilité réalisés ont révélé une résistance d'*A. gambiae* s.l. à la deltaméthrine (49-89% de mortalité), à la perméthrine (7-40% de mortalité) et au DDT (7-10% de mortalité). Cependant, les échantillons de moustiques testés étaient parfaitement sensibles au bendiocarb (100% de mortalité), quelle que soit la période de test.

- **Temps de *knockdown***

Tout au long des quatre années d'enquêtes, la résistance à la deltaméthrine a été associée à une augmentation des temps de *knockdown* (tkd<sub>50</sub> et tkd<sub>95</sub>) (Tableau XVIII). Les ratios de tkd<sub>50</sub> pour cet insecticide par rapport à ceux de la souche Kisumu étaient compris entre 4 et 5. De même, la résistance à la perméthrine et au DDT a été associée à un tkd<sub>50</sub> supérieur à 1 heure, suggérant l'implication de la mutation *kdr* dans le phénotype de résistance observé.

- **Combinaison PBO+ pyréthrinoïdes**

En 2015, la mortalité obtenue en associant le synergiste PBO à la deltaméthrine a été de 90%, ce qui correspond au statut de résistance probable. Ce taux de mortalité est significativement supérieur à celui obtenu en testant la deltaméthrine seule (50%) ( $\chi^2=10,4$  p=0,001). Cependant en 2016, cette population a présenté une parfaite sensibilité avec un taux de mortalité de 100% en combinant le PBO à la deltaméthrine. Avec l'utilisation du PBO combiné à la perméthrine, le taux de mortalité obtenu (22,3%) n'a pas changé le statut résistant d'*A. gambiae* à la perméthrine.

La préexposition des anophèles au PBO a entraîné une diminution, mais non significative (p= 0,06) du tkd<sub>50</sub> avec la deltaméthrine. Le ratio des tkd<sub>50</sub> par rapport à la souche kisumu a diminué de 5,7 à 3,7 en 2015 et de 5 à 3,3 en 2016. Par contre, les tkd<sub>50</sub> et les tkd<sub>95</sub> enregistrés avec la combinaison PBO+perméthrine sont restés supérieurs à 1 heure, ie sans variation significative. Ces résultats montrent une réversion significative (35%) de la résistance d'*A. gambiae* à la deltaméthrine à Simbock, suggérant l'implication des oxydases comme l'un des mécanismes de résistance à la deltaméthrine dans cette population de moustiques. Par

contre, la non reversion de la résistance à la perméthrine par le PBO, suggère que la mutation kdr est le principal mécanisme de résistance à cet insecticide.

### **III-1-3-3. Populations naturelles d'*Anopheles gambiae* s.l. d'Olama**

Du fait de la rareté de l'espèce *A. gambiae* à Olama, seules la deltaméthrine et la perméthrine ont été utilisés pour les tests de sensibilité. Au total, 255 anophèles femelles ont été utilisés pour réaliser ces tests en 2016.

- **Mortalité**

Tout comme à Simbock et Nyabessan, la population d'*A. gambiae* d'Olama a montré une résistance à la deltaméthrine et à la perméthrine avec des taux de mortalité de 71% et 45% aux deux insecticides respectivement.

- **Temps de *knockdown***

La résistance observée aux pyréthriinoïdes a été accompagnée par une augmentation du temps de knockdown. Avec la deltaméthrine, le tkd<sub>50</sub> obtenu était de 40 minutes, ie 4 fois plus élevé que celui de la souche kisumu. Le tkd<sub>50</sub> enregistré avec la perméthrine était supérieur à 60 minutes. (Tableau XIX). Les tkd<sub>95</sub> étaient à chaque fois supérieurs à 60 minutes.

**Tableau XVIII** : Temps de *knockdown* (*tkd50* et *tkd95*) en minutes des populations d'*A. gambiae s.l.* collectées à Simbock

|                                    |               | <b>Insecticide</b>       | <b>N</b> | <b><i>tkd</i><sub>50</sub>[IC<sub>95</sub>](min)</b> | <b><i>tkd</i><sub>95</sub>[IC<sub>95</sub>](min)</b> | <b><i>Tkd</i><sub>50</sub>R</b> | <b>Statut</b> |
|------------------------------------|---------------|--------------------------|----------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------|---------------|
| Population naturelle<br>de Simbock | Juillet 2014  | 0,05% Deltaméthrine      | 46       | 37,2[34,5-40,6]                                      | >60 min                                              | 3,9                             | R             |
|                                    |               | 4% DDT                   | 41       | >60 min                                              | >60 min                                              | ND                              | R             |
|                                    | Janvier 2015  | 0,05% Deltaméthrine      | 98       | 53,9[51,1-57,6]                                      | >60 min                                              | 5,6                             | R             |
|                                    |               | 0,75% Perméthrine        | 45       | >60 min                                              | >60 min                                              | ND                              | R             |
|                                    |               | 0,1% Bendiocarb          | 92       | -                                                    | -                                                    | -                               | S             |
|                                    |               | 0,05%Deltaméthrine+4%PBO | 84       | 35,0[29,7-40,5]                                      | > 60 min                                             | 35%*                            | RP            |
|                                    | Juin 2016     | 0,05% Deltaméthrine      | 113      | 47,1[42,8-54,1]                                      | >60 min                                              | 5                               | R             |
|                                    |               | 0,75% Permethrine        | 100      | >60min                                               | >60min                                               | ND                              | R             |
|                                    |               | 4% DDT                   | 103      | >60min                                               | >60min                                               | ND                              | R             |
|                                    |               | 0,1% Bendiocarb          | 70       | -                                                    | -                                                    | -                               | S             |
|                                    |               | 0,05%Deltaméthrine+4%PBO | 100      | 30,9[27,4-33,8]                                      | 53,3[47,2-66,0]                                      | 35%*                            | S             |
|                                    |               | 0,75%Perméthrine+4%PBO   | 76       | >60min                                               | >60min                                               | ND                              | R             |
|                                    | Décembre 2017 | 0,05% Deltaméthrine      | 89       | 58,2[54,0-64,6]                                      | >60min                                               | 6,1                             | R             |
|                                    |               | 0,75% Perméthrine        | 61       | >60min                                               | >60min                                               | ND                              | R             |
|                                    |               | 0,1% Bendiocarb          | 64       | -                                                    | -                                                    | -                               | S             |

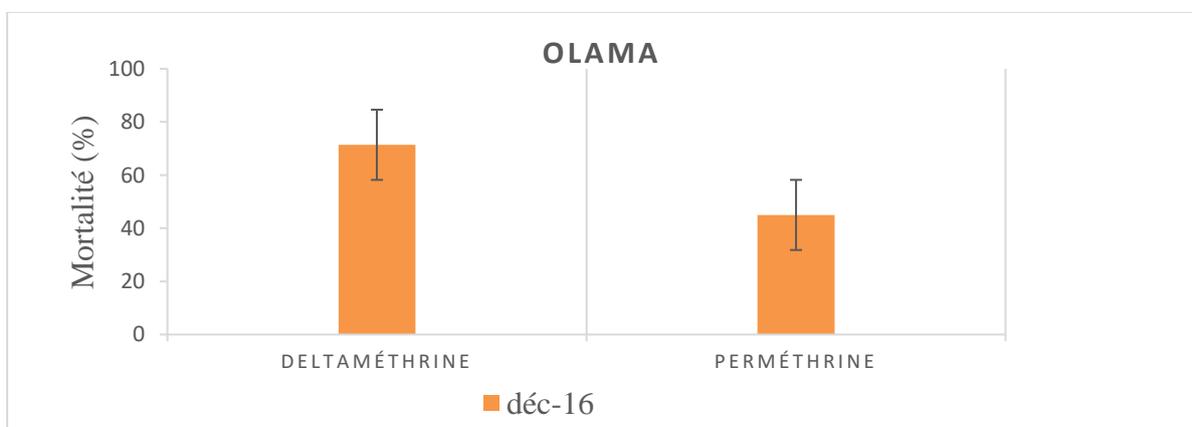
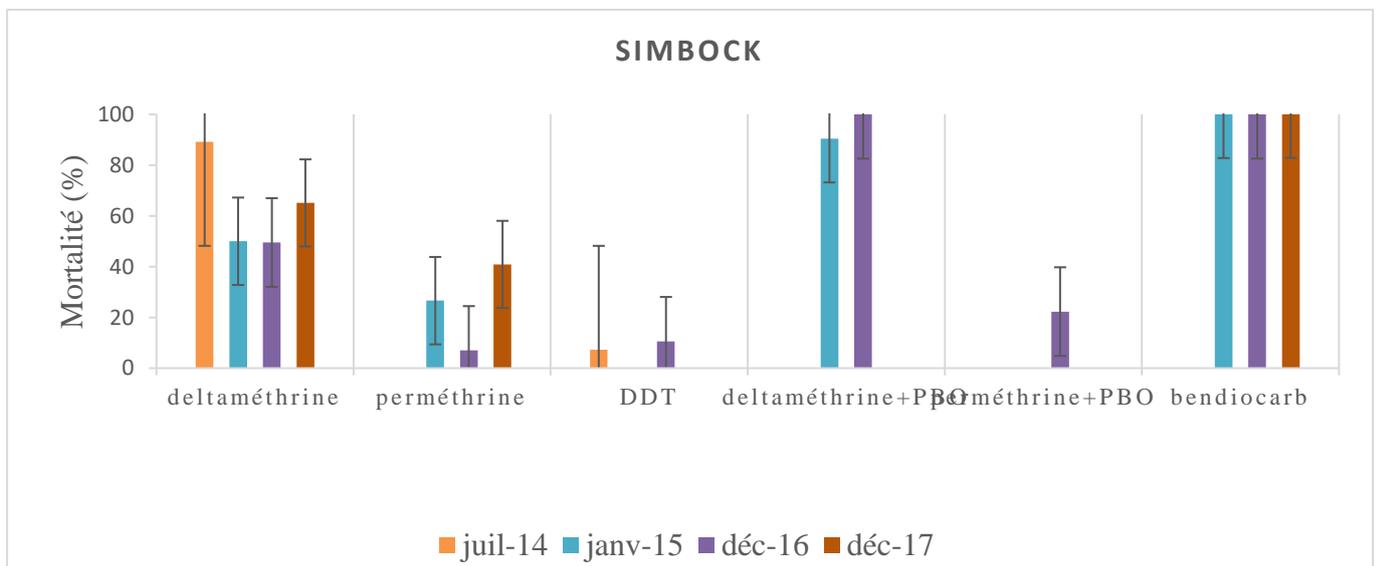
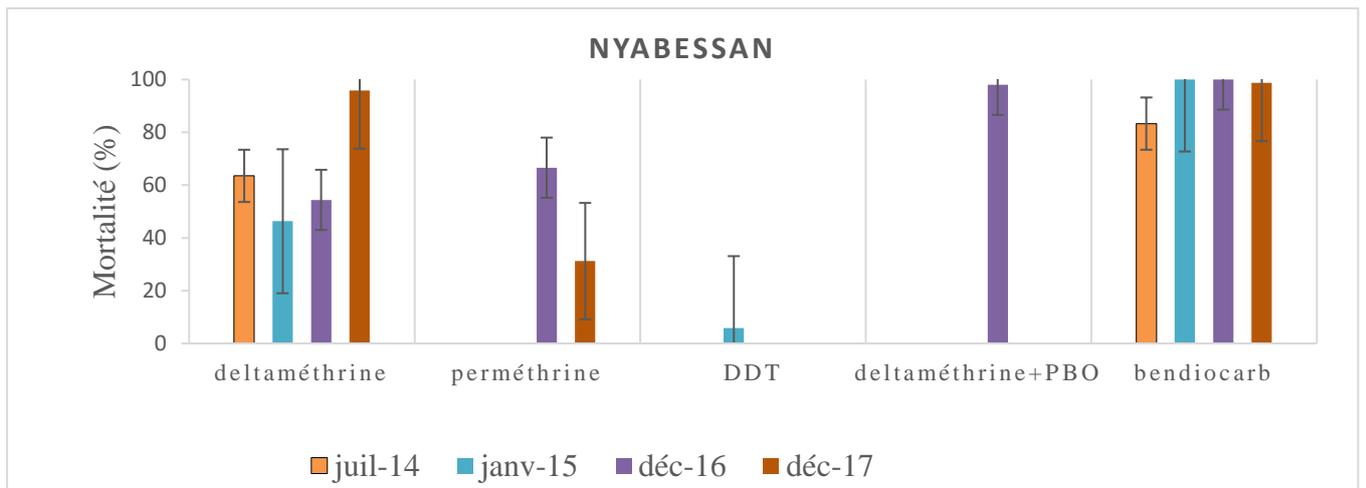
*tkd*<sub>50</sub>: Temps de knockdown pour 50% de la population    *tkd*<sub>95</sub>: Temps de knockdown pour 95% de la population    IC<sub>95</sub> : Intervalle de confiance à 95%    *tkd*<sub>50</sub>R: Ratio du *tkd*<sub>50</sub> de la souche sauvage sur celui de la souche Kisumu    S : Sensible    R : Résistant    RP : Résistance probable  
\* :trkd, taux de reversion de l'effet knock down.

**Tableau XIX:** Temps de *knockdown* ( $tkd_{50}$  et  $tkd_{95}$ ) en minutes des populations d'*Anopheles gambiae* s.l. d'Olama.

|                              | <b>Insecticide</b>  | <b>N</b> | <b><math>tkd_{50}</math>[IC95](min)</b> | <b><math>tkd_{95}</math>[IC95](min)</b> | <b><math>Tkd_{50R}</math></b> | <b>Statut</b> |
|------------------------------|---------------------|----------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------|---------------|
| Population Naturelle d'Olama | 0,05% Deltaméthrine | 154      | 40,3[37,5-43,8]                         | >60min                                  | 4,2                           | R             |
|                              | 0,75% Perméthrine   | 101      | >60min                                  | >60min                                  | -                             | R             |

$tkd_{50}$ : Temps de knockdown de 50% de la population       $tkd_{95}$ : Temps de knockdown de 95% de la population

IC<sub>95</sub> : Intervalle de confiance à 95%       $tkd_{50R}$ : Ratio du  $tkd_{50}$  de la souche sauvage sur celui de la souche Kisumu



**Figure 23:** Taux de mortalité des échantillons d'*A. gambiae* s.l. collectés à Nyabessan, Simbock et Olama, 24 heures après exposition aux insecticides.

### **III-1-4. Résistance par mutation de cible : mutation *kdr***

Un total de 188 échantillons choisis au hasard au sein des spécimens d'*A. gambiae* s.l. ayant survécus aux tests de sensibilité a été utilisée pour la détermination des génotypes au locus *kdr* par la technique HOLA. Parmi ces moustiques, 69 provenaient de Nyabessan, 80 de Simbock et 39 d'Olama. Ces échantillons ont été identifiés comme appartenant à 2 espèces du complexe *A. gambiae* s.l., notamment *A. gambiae* et *A. coluzzii*. L'allèle L1014F de la mutation *kdr* de l'Afrique de l'Ouest (L1014F, *kdr*-ouest), a été retrouvé dans les trois sites d'étude tandis que l'allèle L1014S de la mutation *kdr* de l'Afrique de l'Est (L1014S, *kdr*-est) n'a été retrouvé qu'à Simbock. Les fréquences génotypiques et alléliques observées à Nyabessan, Simbock et Olama sont représentées à la figure 24.

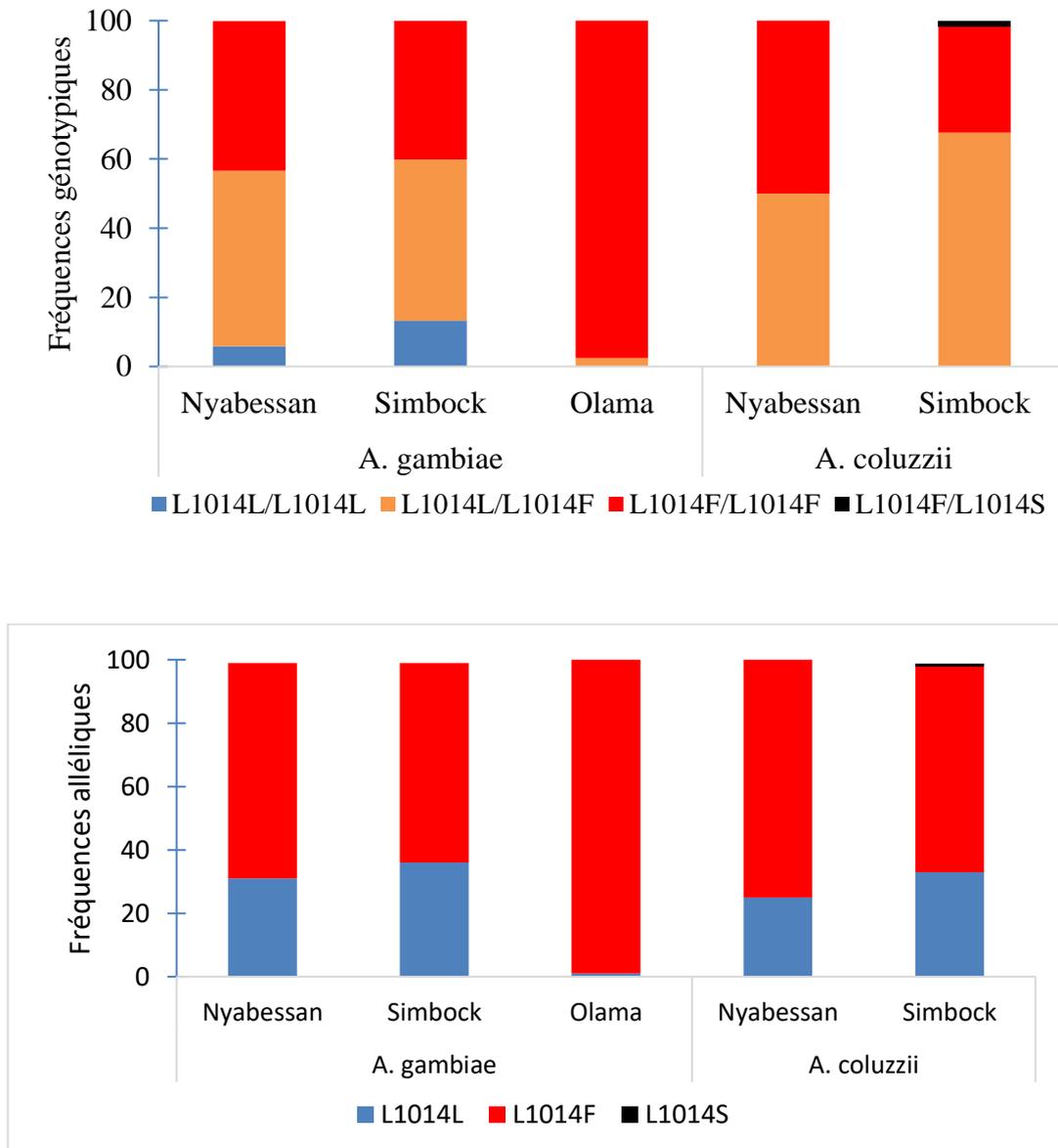
#### **III-1-4-1. Fréquences génotypiques et alléliques du gène « *kdr* » chez *A. gambiae***

La détection de la mutation *kdr* a été réalisée sur 121 moustiques identifiés comme appartenant à l'espèce *A. gambiae*, dont 67 à Nyabessan, 15 à Simbock et 39 à Olama. Que ce soit à Nyabessan, à Simbock ou à Olama, seul l'allèle résistant L1014F de la mutation *kdr* de l'Afrique de l'Ouest a été détectée chez *A. gambiae*, avec des fréquences alléliques élevées variant entre 0,63 et 0,98. L'allèle sensible L1014L a été retrouvé chez cette espèce avec la même fréquence de 0,3 à Nyabessan et à Simbock tandis qu'à Olama, il a présenté la très faible fréquence de 0,01. Les trois génotypes, homozygote sensible 1014L/1014L (0,05 - 0,13), homozygote résistant 1014F/1014F (0,40 - 0,97) et hétérozygote 1014L/1014F (0,02 - 0,50) étaient distribués dans les sous populations d'*A. gambiae*. Les valeurs de FIS étaient négatives (de -0,02 à -0,34), traduisant un excès d'hétérozygotes. A Olama, aucun spécimen portant le génotype homozygote sensible n'a été retrouvé.

#### **III-1-4-2. Fréquences génotypiques et alléliques du gène « *kdr* » chez *A. coluzzii***

La détection de la mutation *kdr* a été effectuée sur 67 moustiques identifiés comme appartenant à l'espèce *A. coluzzii*, dont 2 à Nyabessan et 65 à Simbock. Cette espèce n'a pas été identifiée à Olama. Des deux spécimens d'*A. coluzzii* identifiés à Nyabessan, l'un était homozygote résistant 1014F/1014F et l'autre hétérozygote 1014L/1014F. A Simbock, les deux allèles résistants de la mutation L1014F *kdr*- ouest de l'Afrique de l'ouest et L1014S *kdr*-est de l'Afrique de l'Est ont été détectés chez *A. coluzzii*. L'allèle résistant L1014S a été retrouvé à une très faible fréquence (0,007) ; l'allèle résistant L1014F a présenté une fréquence de 0,65 tandis que l'allèle sensible a présenté une fréquence de 0,33.

Au total, 3 génotypes liés à cette mutation ont été retrouvés chez *A. coluzzii*, notamment homozygote résistant L1014F/L1014F (30-50%) hétérozygote ouest L1014L/L1014F (0,50 - 0,67) et hétérozygote ouest/est L1014F/L1014S (0,15). Tout comme chez *A. gambiae*, les valeurs de FIS étaient négatives (de -0,34 à -0,64), traduisant un excès d'hétérozygotes dans cette sous population. Le génotype homozygote sensible L1014L/L1014L n'a pas été identifié au sein de ces sous populations.



**Figure 24 :** Fréquences alléliques et génotypiques de la mutation kdr chez *A. gambiae* et *A. coluzzii*

## III-2. DISCUSSION

### III-2-1. Diversité, abondance et comportement de piqûre des populations de vecteurs

Parmi les quarante espèces de vecteurs du paludisme déjà identifiées au Cameroun (Hervy *et al.*, 1998 ; Awono-Ambene *et al.*, 2009), treize espèces ont été répertoriées, parmi lesquelles *A. gambiae*, *A. coluzzii*, *A. moucheti*, *A. nili* et *A. funestus* connues comme les principaux vecteurs du paludisme dans la région forestière équatoriale. Chaque espèce d'anophèle est caractérisée par ses préférences en matière d'habitat, notamment l'exposition au soleil, la turbidité de l'eau et la présence de végétation, le pH ou les concentrations de nitrates et de phosphates dans l'eau (Van der Hoek *et al.*, 1998). Ces conditions environnementales dans lesquelles se développent les vecteurs sont spécifiques de chaque milieu en relation avec son écologie. Les barrages créent de nouveaux gîtes de reproduction des moustiques et augmentent le contact homme-vecteur, du fait des changements écologiques et démographiques. Au cours de notre étude, la richesse spécifique des vecteurs à Nyabessan a varié de 5 espèces avant le lancement des travaux de construction du barrage à 8 espèces pendant la période de construction. Les espèces *A. ziemanni* (également capturée dans le site témoin), *A. coustani* et *A. obscurus* qui ont été retrouvées à Nyabessan uniquement pendant la seconde période de l'étude, se développent habituellement au bord des cours d'eau et sont des espèces communes de la zone forestière équatoriale du Cameroun (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006 ; Bigoga *et al.*, 2012). De ce fait, leur présence ne pourrait être associée aux travaux de construction du barrage. *Anopheles moucheti* et *A. ovengensis* étaient les espèces de vecteurs les plus abondantes à Nyabessan durant toute l'étude ; *A. ovengensis* est l'une des espèces vectrices du paludisme appartenant au groupe *A. nili*. Jusqu'à présent, cette espèce n'a été trouvée exclusivement que dans la région du sud Cameroun. Ce résultat concorde avec ceux des études précédentes faites dans cette localité et aux alentours (Carnevale *et al.*, 1992 ; Awono *et al.*, 2004 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2007). Les fluctuations au sein des populations de vecteurs montrent une augmentation significative des densités moyennes d'*A. gambiae* s.l. et d'*A. paludis* durant la période de construction du barrage.

L'identification moléculaire de spécimens appartenant au complexe *A. gambiae* s.l. a révélé que les échantillons prélevés à Nyabessan étaient composés de deux espèces, à savoir *A. gambiae* s.s. (76,3%) et *A. coluzzii* (1,43%). Les modifications de l'environnement liées à la construction de l'habitat, provoquées par l'arrivée massive des employés du barrage à Nyabessan, pourraient avoir créé des sites de reproduction propices à *A. gambiae* s.s. Cette espèce est connue pour coloniser les habitats aquatiques résultant de la construction

d'habitations et d'activités agricoles dans les zones périurbaines d'Afrique subsaharienne (Diuk-Wasser *et al.*, 2007 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2005 ; Fondjo *et al.*, 1992, Manga *et al.*, 1992 ; Robert *et al.*, 1986). L'arrivée apparemment nouvelle d'*A. coluzzi* à Nyabessan peut être associée à une anthropisation de l'environnement, ainsi que des activités humaines aléatoires et incontrôlées (Kamdem *et al.*, 2012 ; Kudom, 2015). *Anopheles paludis* est une espèce hautement anthropophile et qui préfère se reproduire dans des cours d'eau à faible débit ; les travaux de construction du barrage ayant empêché l'écoulement naturel des eaux du fleuve, ont converti ainsi la localité en un lieu propice à la reproduction de ce vecteur.

Une grande variation de la diversité spécifique a été observée à Simbock où le processus d'urbanisation a été accéléré au cours des années 2010. Dans ce site, neuf espèces ont été collectées avant le début du processus d'urbanisation, contre trois espèces collectées pendant le processus d'urbanisation (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002). De même, les densités anophéliennes étaient significativement plus élevées avant le processus d'urbanisation. En effet, l'urbanisation tend à réduire la diversité et les densités spécifiques anophéliennes. Des observations similaires ont été faites au Cameroun et ailleurs (Robert *et al.*, 2003, Antonio-Nkondjio *et al.*, 2005). *Anopheles moucheti*, espèce majoritaire à Simbock avant le processus d'urbanisation, a été remplacée par *A. coluzzii* durant le processus de l'urbanisation. *Anopheles moucheti* est un moustique de la forêt se reproduisant dans les rivières à faible débit, sur les îlots de végétation composés de *Pistia stratiotes* et de *Paspallum* (Mouchet et Gariou, 1966 ; Gillies et De Meillon, 1968 ; Njan Nloga, 1993 ; Manga *et al.*, 1995 ; Meunier *et al.*, 1999). La destruction de la végétation due au défrichage le long de la rivière Mefou qui traverse Simbock et le déboisement pourraient avoir entraîné la disparition d'*A. moucheti* et des autres espèces telles que *A. nili* et *A. paludis* inféodées aux gîtes avec végétation dressée. La prédominance d'*A. coluzzii* à Simbock après l'urbanisation est conforme aux études précédentes qui ont montré que cette espèce est la plus abondante en zone urbaine (Tene-Fossog *et al.*, 2015 ; Kudom *et al.*, 2015).

Que ce soit à Nyabessan, Simbock ou Olama, on note de manière globale une baisse de l'agressivité des moustiques pendant la deuxième période de l'étude. En effet, une augmentation de la température de 0,4 ° C par rapport à la période 1961-1990 et une réduction des précipitations allant de 10 à 20% ont été signalées au Cameroun (Sighomnou, 2004) ; de tels changements de régime météorologique pourraient avoir une incidence sur la dynamique et le comportement anophéliens. Pendant les deux périodes de l'étude, les cycles d'agressivité d'*A. moucheti*, *A. funestus* et *A. gambiae*, principales espèces capturées à Olama et à Simbock ont présenté un maximum d'activité pendant la première partie de la nuit, avec une tendance

endophage. Ces observations sont conformes au schéma habituel du cycle d'agressivité nocturne des anophèles (Gillies et De Meillon, 1968) et la même tendance a été observée précédemment dans ces localités (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2005). A Nyabessan, il est apparu que les moustiques piquaient principalement pendant la première partie de la nuit (pour les espèces comme *A. moucheti* et *A. ovengensis*) et majoritairement pendant la seconde partie la nuit (pour *A. gambiae* et *A. paludis*). Des études antérieures ont signalé des changements de comportement de piqûres des moustiques, qui pourraient résulter d'un changement dans la composition spécifique des populations de moustiques en raison du remplacement progressif de taxons les plus vulnérables, ou de l'expression de phénotypes comportementaux préexistants en réponse à la modification de la disponibilité des ressources (Gatton *et al.*, 2013, Killeen *et al.*, 2014). Les principales espèces vectrices (*A. moucheti*, *A. ovengensis* et *A. gambiae*) avaient une tendance exophage aussi bien avant le lancement des travaux que pendant la construction du barrage, à l'exception d'*A. paludis* qui a présenté une tendance endophage durant la deuxième période de l'étude. Cette espèce a été signalée il y'a 30 ans dans la zone forestière du Sud Cameroun, avec une tendance exophage (Karch et Mouchet, 1992). Les résultats de la présente étude soulignent le risque élevé de transmission du *Plasmodium* aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur, et la variabilité du comportement de piqûre des vecteurs du paludisme en fonction des facteurs environnementaux comme souligné antérieurement (Mouchet et Gariou 1966). Par ailleurs, l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides comme c'est le cas dans nos sites d'étude depuis 2011, est également connue pour induire un comportement exophage chez les moustiques (Killeen et Chitnis, 2014 ; Gatton *et al.*, 2013).

### **III-2-2. Impact des modifications de l'environnement sur la transmission du paludisme**

Dans la localité de Nyabessan, la transmission du paludisme a été observée tout au long de l'étude. Une augmentation de l'intensité de la transmission a été observée pendant les travaux de construction du barrage. Ce résultat serait lié à la prolifération d'*A. gambiae* s.s. et d'*A. paludis* durant cette période. En effet, *A. paludis*, est connu comme vecteur secondaire du paludisme en Afrique de l'Ouest et de l'Est (Kyalo *et al.*, 2017). Au Cameroun, cette espèce a été retrouvée dans 21 villages (Ayala *et al.*, 2009) et son rôle dans la transmission a été confirmé depuis 1964 (Pajot *et al.*, 1964). Un taux d'inoculation entomologique de 0,24 pi/h/n a été enregistré avec cette espèce vectrice pendant la seconde période de l'étude, engendrant 35% des infections par *P. falciparum*. Ces résultats soulignent le rôle important et croissant d'*A. paludis* dans la transmission du paludisme à Nyabessan aux côtés des vecteurs principaux que

sont *A. gambiae* s.l., *A. moucheti* et *A. ovengensis*. En effet, *A. paludis* pourrait être responsable du risque élevé de paludisme à Nyabessan au cours des prochaines années. Ces données sont comparables à celles rapportées par Karch *et al.* (1992) dans la région de Bandundu en République démocratique du Congo pendant la saison sèche. Une baisse de l'intensité de la transmission du paludisme a été observée aussi bien à Simbock qu'à Olama ; il est probable que l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides ait contribué à réduire la transmission du paludisme dans ces deux localités. A Olama, la transmission était assurée en permanence par *A. moucheti* durant les deux périodes de l'étude, avec l'implication d'*A. gambiae* et *A. marshalli* comme vecteurs secondaires pendant la première période et d'*A. ziemanni* comme vecteur secondaire durant la seconde période. Par contre à Simbock, *A. moucheti* et *A. funestus* étaient responsables de la transmission du paludisme avant le processus d'urbanisation tandis qu'au cours de ce processus, seul *A. gambiae* s.l. assurait ce rôle. Ces résultats rejoignent la plupart des observations faites en milieu forestier qui montrent qu'*A. moucheti* constitue le vecteur majeur du paludisme dans ce faciès (Njan Nloga *et al.*, 1993 ; 1994 ; Languillon *et al.*, 1956). En milieu forestier, le rôle d'*A. gambiae* reste très limité, comparé à celui d'*A. moucheti* et d'*A. nili*, particulièrement le long des cours d'eau où ils présentent des taux d'inoculation parfois 10 fois supérieurs à ceux d'*A. gambiae* (Carnevale *et al.*, 1992 ; Languillon *et al.*, 1956). En effet, des études précédentes ont relevé qu'*A. gambiae* constitue le vecteur majeur du paludisme en milieu urbain (Robert *et al.*, 1986 ; Fondjo *et al.*, 1992 ; Nimpaye *et al.*, 2001). L'infection plasmodiale d'*A. ziemanni* à Olama met en évidence le rôle secondaire de cette espèce dans la transmission du paludisme au niveau local. Ces données corroborent les études antérieures qui ont révélé qu'*A. ziemanni* jouait un rôle majeur dans la transmission du paludisme au Nord-Ouest Cameroun (Tabue *et al.*, 2014).

### **III-2-3. Sensibilité des populations naturelles d'*A. gambiae* s.l. aux insecticides**

La seconde partie de notre étude s'inscrit dans une évaluation longitudinale de la résistance d'*A. gambiae* s.l. aux insecticides, dans trois environnements soumis à des pressions anthropiques différentes. C'est la première évaluation de la résistance de ce vecteur aux insecticides à Nyabessan, Simbock et Olama. La rareté des gîtes de reproduction de l'espèce *A. gambiae* s.l. à Olama ne nous a pas permis d'y réaliser une étude longitudinale de la résistance avec tous les insecticides ; de ce fait, seuls les tests à la deltaméthrine et à la perméthrine y ont été réalisés. Les mortalités obtenues à la suite des tests ont confirmé que les populations sauvages d'*A. gambiae* s.l. des sites d'étude sont résistantes au DDT et aux pyréthrinoïdes. Des

études antérieures ont montré une dispersion rapide de la résistance des vecteurs du paludisme à ces insecticides au Cameroun (Etang *et al.*, 2003 et 2007, Chouaibou *et al.*, 2008, Nwane *et al.*, 2009 et 2013, Wondji *et al.*, 2011). La présente étude met en exergue une résistance élevée et croissante dans le temps, au DDT et à la perméthrine chez les populations d'*A. gambiae* s.l. de Nyabessan et Simbock. La revue sur la résistance des moustiques aux insecticides au Cameroun, faite par Antonio-Nkondjio *et al.* (2017) montre que depuis 2006, le niveau de résistance aux pyréthrinoïdes et au DDT des populations d'*A. gambiae* s.l. dans la zone forestière du sud Cameroun a progressivement augmenté. Par ailleurs, l'utilisation intensive des organochlorés au cours des programmes de pulvérisations intradomiciliaires dans les années 50, la distribution et l'utilisation massive des moustiquaires imprégnées à longue durée d'action expliqueraient l'augmentation de la résistance à ces insecticides. Avec la deltaméthrine, les populations d'anophèles ont présenté des niveaux variables de résistance, d'une année à une autre. De 2014 à 2016 à Nyabessan, une résistance à la deltaméthrine a été observée avec des taux de mortalité variant de 46% à 63% ; mais en 2017, la mortalité a augmenté à 95%, ce qui indique une résistance probable à confirmer. Ce regain de la sensibilité à la deltaméthrine pourrait être lié aux fluctuations temporelles du niveau de résistance en fonction de l'utilisation des insecticides dans les ménages et dans la conservation de la grume et dont la fréquence varie suivant les saisons (Diabaté *et al.*, 2002, Chouaibou *et al.*, 2008, Nwane *et al.*, 2009).

La forte sensibilité des moustiques au bendiocarb serait probablement due au fait que cet insecticide n'est pas utilisé dans les programmes de lutte antivectorielle au Cameroun et également en agriculture dans les sites d'étude. En effet, une résistance à cet insecticide a été observée dans les localités où des carbamates étaient utilisés pour lutter contre les insectes ravageurs de cultures du coton, du riz ou des tomates au Cameroun (Chouaïbou *et al.*, 2008) et au Mali (Cissé *et al.*, 2015).

La faible productivité des gîtes ne nous a pas permis de tester tous les pyréthrinoïdes avec/et sans synergiste dans les trois sites. Nous avons néanmoins évalué l'effet du synergiste PBO associé à la deltaméthrine à Nyabessan et Simbock, ainsi qu'à la perméthrine à Simbock. L'utilisation des synergistes a pour rôle de donner une indication préliminaire sur les mécanismes métaboliques responsables de la résistance des populations d'insectes aux insecticides (McCaffrey, 1998). La préexposition des moustiques au PBO a permis de restaurer partiellement ou complètement la sensibilité à la deltaméthrine à Simbock et à Nyabessan, reflétant l'implication des mono oxygénases à cytochrome P<sub>450</sub> sur l'expression phénotypique de la résistance au sein de ces populations étudiées. Ces observations sont conformes aux précédentes études faites en zone équatoriale du Cameroun (Etang *et al.*, 2006 ; Nwane *et al.*,

2009 et 2013 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011). L'absence de l'effet inhibiteur du PBO sur les échantillons de Simbock exposés à la perméthrine démontre que la détoxification enzymatique n'est pas impliquée dans la résistance observée. Cette résistance serait alors essentiellement liée à d'autres mécanismes tels que la mutation de type « kdr » mise en évidence dans cette population au cours de ce travail. La présente étude confirme donc la perméthrine comme un meilleur indicateur pour la détection précoce de la résistance aux pyréthrinoides basée sur le kdr (Chandre *et al.*, 1999).

### III-2-4. Mécanismes de résistance

L'allèle kdr résistant L1014F a été retrouvé chez les populations d'anophèles dans nos trois sites d'étude, avec des proportions élevées de génotypes homozygotes résistants L1014F/L1014F et hétérozygotes L1014L/L1014F. Des études antérieures menées au Cameroun ont montré la propagation de cet allèle dans toutes les zones écologiques du Cameroun (Etang *et al.*, 2006, Reimer *et al.*, 2008, Nwane *et al.*, 2009 et 2011). Les fréquences élevées de l'allèle L1014F présentées ci-dessus (entre 0,6 et 0,9) sont semblables à celles rapportées en Afrique de l'Ouest (Chandre *et al.*, 1999 ; Weill *et al.*, 2000 ; Diabaté *et al.*, 2002 ; Yawson *et al.*, 2004 ; Awolola *et al.*, 2007) où cet allèle a été mis en évidence pour la première fois (Martinez-Torres *et al.*, 1998) et en Afrique centrale (Nwane *et al.*, 2011). Toutefois, la présence du génotype homozygote sensible L1014L/L1014L identifié également chez les moustiques de phénotype résistant confirme l'hypothèse de Brooke (2008) selon laquelle la mutation « kdr » seule ne suffit pas à produire une résistance phénotypique mesurable en l'absence de certains cofacteurs non encore identifiés. Cependant, cette hypothèse n'exclut pas la relation entre le génotype « kdr » et le phénotype de résistance des moustiques aux insecticides (Donnelly *et al.*, 2009). Ce résultat suggère l'existence de mécanisme de résistance alternatif au sein de ces populations. En effet, des études ont mis en évidence la coévolution de la résistance de type « kdr » et de type métabolique au Sud Cameroun (Etang *et al.*, 2007, Nwane *et al.*, 2013).

L'allèle résistant L1014S n'a été retrouvé qu'à Simbock, avec une faible fréquence ; ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Bamou *et al.*, 2019 qui notent l'absence de cet allèle dans des échantillons collectés au Sud Cameroun. La rareté de cet allèle dans nos échantillons pourrait s'expliquer par sa rareté au Cameroun, par rapport à l'allèle résistant L1014F (Etang *et al.*, 2006, Nwane *et al.*, 2011). Santolamazza *et al.*, 2008 soulignent à cet effet que la mutation L1014S au sein des populations d'*A. gambiae* s.l. a une répartition

géographique beaucoup plus restreinte en Afrique de l'Est contrairement à la mutation L1014F qui est largement répandue en Afrique de l'Ouest et Centrale. Dans la même lancée, Nwane *et al.*, (2013) suggèrent que l'allèle L1014S se disperserait de l'Est vers l'Ouest et l'allèle 1014F dans le sens contraire. Bien que retrouvée à une faible fréquence, la mutation L1014S est déjà installée et continue de se propager dans toute l'Afrique et en particulier au Cameroun (Mandeng *et al.*, 2019).

Deux allèles résistants de la mutation *kdr* notamment L1014F et L1014S ont été mis en évidence chez *A. coluzzii* tandis que seul l'allèle résistant L1014F a été retrouvé chez *A. gambiae*. L'allèle L1014S a été identifié pour la première fois au Kenya chez *A. gambiae* (ancienne forme S) (Ranson *et al.*, 2000). Le fait que cet allèle ait été identifié chez *A. coluzzii* dans cette étude concorde avec quelques observations antérieures (Reimer *et al.*, 2008, Nwane *et al.*, 2011). Les fréquences élevées de l'allèle L1014F chez *A. gambiae* et *A. coluzzii* observées dans cette étude, démontrent qu'il tend à se fixer au sein de ces populations au Cameroun. L'extension rapide et la fixation des allèles « *kdr* » résistants dans les populations pourrait être le fait d'évènements mutationnels survenus « *in situ* » (Etang *et al.*, 2009) ; la pression de sélection provenant de l'utilisation des insecticides en agriculture ou des moustiquaires imprégnées d'insecticides, qui jouent un rôle déterminant dans la sélection des allèles de la résistance, en particulier ceux du gène « *kdr* ».



**CONCLUSION, RECOMMANDATIONS  
ET PERSPECTIVES**

## CONCLUSION

Les travaux menés dans le cadre de cette étude avaient pour objectif de mettre en évidence l'influence des changements environnementaux liés à l'urbanisation et à la construction d'un barrage sur le profil entomologique du paludisme à Simbock et Nyabessan respectivement. Nous avons comparé les données rétrospectives et prospectives sur les paramètres de la transmission du paludisme dans les sites d'étude, par rapport à un site témoin, puis nous avons évalué le niveau de résistance d'*A. gambiae* s.l. aux insecticides dans ces sites pour la première fois. Il ressort que bien que la composition spécifique ait été la même à Nyabessan et à Olama, des variations ont été observées dans les paramètres de la transmission pendant les travaux de construction du barrage à Nyabessan ; notamment des changements dans la distribution spécifique des vecteurs, l'augmentation de l'abondance et du taux d'inoculation entomologique d'*A. paludis* et son comportement de piqûre optimal à l'intérieur des habitations dans la seconde partie de la nuit. Ce résultat met en exergue la capacité vectorielle d'*A. paludis* considéré comme vecteur secondaire du paludisme, et souligne le risque d'augmentation de cas du paludisme pendant des grands projets socio économiques. En effet, ce travail a permis de révéler *A. paludis* comme vecteur majeur émergent du paludisme autour du site du barrage de Memve'ele avec un taux d'infestation par *P. falciparum* de 0,6 % au même rang qu'*A. gambiae*. La transmission du paludisme assurée par les espèces *A. moucheti*, *A. gambiae* s.l. et *A. paludis* observée pendant la période de construction du barrage, permet de savoir que le risque du paludisme y est perpétuel. Ces données sont d'une grande importance pour la mise en œuvre des mesures supplémentaires de lutte contre le paludisme à Nyabessan. Les modifications de l'environnement liées au processus d'urbanisation à Simbock ont été bénéfiques par la réduction de la composition spécifique, des densités anophéliennes et de la transmission plasmodiale. Cependant, le fait que le principal vecteur *A. gambiae* s.l. affiche un comportement de piqûre similaire à l'intérieur et à l'extérieur des habitations, démontre les limites des moustiquaires imprégnées d'insecticides qui devraient réduire le comportement d'endophagie chez les anophèles. Par ailleurs, ce résultat souligne le risque de contracter le paludisme aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des habitations en zone urbaine et suggère la mise en œuvre des mesures de lutte antivectorielle complémentaires aux moustiquaires imprégnées, en particulier celles visant à réduire la transmission du paludisme à l'extérieur. Compte tenu de la complexité du système vectoriel au Cameroun, de la grande diversité éco-climatique et des perpétuels changements de l'environnement, il serait important d'approfondir la recherche sur

la dynamique des systèmes vectoriels afin de développer des stratégies de lutte spécifiques à chaque type d'environnement au Cameroun.

Cette étude a également relevé une résistance croissante des populations d'*A. gambiae* s.l. aux pyréthrinoïdes et au DDT, mais une sensibilité au bendiocarb. Cette étude était la première évaluation de la sensibilité aux insecticides dans les sites d'étude. Une telle étude est d'une grande importance avant la mise en œuvre à large échelle de tout moyen de lutte antivectorielle basé sur l'utilisation des insecticides. Elle permet en effet de faire un choix raisonné de l'insecticide à utiliser ; cependant, une étude longitudinale et saisonnière permettrait de mieux apprécier les différentes variations dans la sensibilité aux insecticides. Les analyses moléculaires ont permis de déterminer l'existence et les fortes fréquences de l'allèle L1014F de la résistance de type kdr au sein des populations de moustiques testés. Par ailleurs, l'effet inhibiteur du PBO sur l'expression de la résistance d'*A. gambiae* s.l. à la deltaméthrine a été mis en évidence, suggérant une coexistence au sein de ces populations, d'une résistance liée à la détoxification enzymatique par les oxydases. Ces résultats montrent la nécessité de mettre sur pied des stratégies de gestion de la résistance par la combinaison d'insecticides, et d'utiliser l'association PBO+pyréthrinoïdes pour l'imprégnation des moustiquaires.

## RECOMMANDATIONS

A l'issue de ce travail, nous recommandons

- Aux pouvoirs publics :
  - d'encourager et d'investir sur des études d'impact sanitaire lors de la construction d'infrastructures, en particulier sur la dynamique des vecteurs des maladies à transmission vectorielle,
  - d'intégrer dans les programmes de lutte antivectorielle, la distribution des moustiquaires de seconde génération (pyréthrinoïdes+synergiste) et des méthodes de gestion de la résistance par les combinaisons d'insecticides, afin de limiter sa propagation, au vu de la coévolution de plusieurs mécanismes de résistance au sein des populations d'anophèles.
- Aux chercheurs :
  - d'approfondir les recherches sur les vecteurs souvent relégués au second plan tels qu'*A. paludis*, *A. moucheti* et *A. nili*.
- Aux populations :
  - d'assainir leur environnement en éliminant les gîtes potentiels de moustiques et l'usage quotidien des MILDA.

## PERSPECTIVES

Nous nous proposons dans les travaux futurs, de :

- effectuer de nouvelles enquêtes entomologiques associées à la transmission parasitologique chez l'homme, en vue d'apprécier l'évolution du comportement des vecteurs quelques années après la fin des travaux et la mise eau du barrage hydroélectrique de Memve'ele,
- étendre cette étude dans d'autres localités avec des pressions environnementales différentes,
- étudier la biologie, la dynamique et la compétence vectorielle d'*A. paludis*,
- évaluer la sensibilité aux insecticides, et l'impact des outils actuels de lutte antivectorielle sur les vecteurs tels qu'*A. moucheti*, *A. nili* et *A. paludis*, impliqués dans la transmission du paludisme au Sud Cameroun, au même titre qu'*A. gambiae* s.l.



## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott W. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of American Mosquito Control Association*, 1987 (3): 302-3.
- Adam, J.P. 1955. Quelques anophèles nouveaux pour la faune camerounaise. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 30(4) :389-394.
- Adam, J.P. 1956. Note faunistique et biologique sur les anophèles de la région de Yaoundé et la transmission du paludisme en zone forestière du Sud-Cameroun. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 49 : 210 – 220.
- A-elgayoum, S., El-Fekiael, K., Mahgoub, B., El-Rayah, E.-A. & Giha, H. 2009. Malaria overdiagnosis and burden of malaria misdiagnosis in the suburbs of central Sudan: special emphasis on artemisinin-based combination therapy era. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*, 64: 20-6.
- Alegana, V.A., Atkinson, P.M., Wright, J.A., Kamwi, R., Uusiku, P., Katokele, S., Snow, R.W. & Noor, A.M. 2013. Estimation of Malaria Incidence in Northern Namibia in 2009 Using Bayesian Conditional-Autoregressive Spatial-Temporal Models. *Spatiotemporal Epidemiology*, 7 :25–36.
- ANOFEL. 2014. polycopié national de parasitologie et de mycologie.
- Antonio-Nkondjio, C., Awono-Ambene, P., Toto, J. C., Meunier, J. Y., Zebaze-Kemleu, S., Nyambam, R., Wondji, C., Tchuinkam, T. & Fontenille, D. 2002. High malaria transmission intensity in a village close to Yaounde, the capital city of Cameroon. *Journal of medical entomology*, 39(2): 350-355.
- Antonio-Nkondjio, C., Simard, F., Awono-Ambene, P., Ngassam, P., Toto, J.C., Tchuinkam, T. & Fontenille, D. 2005. Malaria vectors and urbanization in the equatorial forest region of south Cameroon. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 99(5):347-54.
- Antonio-Nkondjio, C., Keraf Hinzoumbe, C., Simard, F., Awono-Ambene, P., Tchuinkam, T. & Fontenille, D. 2006. Complexity of the malaria vectorial system in Cameroon: Contribution of secondary vectors to malaria transmission. *Journal of Medical Entomology*, 43:1215- 1221.
- Antonio-Nkondjio, C., Ndo, C., Awono-Ambene, P., Ngassam, P., Fontenille, D., & Simard, F. 2007. Population genetic structure of the malaria vector *Anopheles moucheti* in south Cameroon forest region. *Acta tropica*, 101(1), 61-68.

- Antonio-Nkondjio, C., Meunier, J.C., Awono-Ambene, P. & Fontenille, D. 2009. La présence de bovins comme hôtes alternatifs peut-elle modifier le comportement trophique des vecteurs du paludisme en zone de forêt ? *Sciences et Médecines d'Afrique, 1* : 7-12.
- Antonio-Nkondjio, C., Tene Fossog, B., Ndo, C., Djantio, B. M., Togouet, S. Z., Awono-Ambene, P., Costantini, C., Wondji, C.S. & Ranson, H. 2011. *Anopheles gambiae* distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): influence of urban agriculture and pollution. *Malaria Journal, 10*(1): 154.
- Antonio-Nkondjio, C., Sonhafouo-Chiana, N., Ngadjeu, C. S., Doumbe-Belisse, P., Talipouo, A., Djamouko-Djonkam, L., Kopya, E., Bamou, R., Awono-Ambene, P. & Wondji, C. S. 2017. Review of the evolution of insecticide resistance in main malaria vectors in Cameroon from 1990 to 2017. *Parasites & Vectors, 10*(1), 1-14.
- Antonio-Nkondjio, C., Ndo, C., Njiokou, F., Bigoga, J. D., Awono-Ambene, P., Etang, J., Same, E.A. & Wondji, C. S. 2019. Review of malaria situation in Cameroon: technical viewpoint on challenges and prospects for disease elimination. *Parasites & vectors, 12*(1), 1-23.
- Antonio-Nkondjio, C., Doumbe-Belisse, P., Djamouko-Djonkam, L., Ngadjeu, C. S., Talipouo, A., Kopya, E., Bamou, R., Mayi, M. P., Sonhafouo-Chiana, N., Nkahe, D. L., Tabue, R., Achu Fosah, D., Bigoga, J.D. Awono-Ambene, P. & Wondji, C. S. 2021. High efficacy of microbial larvicides for malaria vectors control in the city of Yaounde Cameroon following a cluster randomized trial. *Scientific reports, 11*(1): 1-15.
- Apperson, C. S. & Georghiou, G. P. 1975. Mechanisms of resistance to organophosphorus insecticides in *Culex tarsalis*. *Journal of economic entomology, 68*:153-157.
- Atangana, J., Bigoga, J., Patchoke, S., Ndjemai, M. N., Tabue, R., Nem, T. & Fondjo, E. 2010. Anopheline fauna and malaria transmission in four ecologically distinct zones in Cameroon. *Acta tropica, 115* (1-2) : 131-136.
- Atangana, S., Foumbi, J., Charlois, M., Ambroise-Thomas, P. & Ripert, C. 1979. Étude épidémiologique de l'onchocercose et du paludisme dans la région du lac de retenue de Bamendjin- Cameroun. Faune malacologique locale et possibilités d'implantation des bilharzioses. *Médecine Tropicale, 39* :537-43.
- Awolola, T. S., Oduola, A. O., Obansa, J. B., Chukwurar, N. J., & Unyimadu, J. P. 2007. *Anopheles gambiae* ss breeding in polluted water bodies in urban Lagos, southwestern Nigeria. *Journal of vector borne diseases, 44*(4) : 241.
- Awolola, T., Oduola, O., Strode, C., Koekemoer, L., Brooke, B. & Ranson, H. 2009. Evidence of multiple pyrethroid resistance mechanisms in the malaria vector *Anopheles gambiae*

- sensu stricto from Nigeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103: 1139-1145.
- Awono-Ambene, H. P., Kengne, P., Simard, F., Antonio-Nkondjio, C., & Fontenille, D. 2004. Description and bionomics of *Anopheles* (Cellia) *ovengensis* (Diptera: Culicidae), a new malaria vector species of the *Anopheles nili* group from south Cameroon. *Journal of medical entomology*, 41(4): 561-568.
- Awono-Ambene, H. P., Simard, F., Antonio-Nkondjio, C., Cohuet, A., Kengne, P., & Fontenille, D. 2006. Multilocus enzyme electrophoresis supports speciation within the *Anopheles nili* group of Malaria vectors in Cameroon. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 75(4), 656-658.
- Awono-Ambene, H. P., Antonio-Nkondjio, C., Toto, J. C., Ndo, C., Etang, J., Fontenille, D. & Simard, F. 2009. Epidemiological importance of the *Anopheles nili* group of malaria vectors in equatorial villages of Cameroon, Central Africa. *Sciences et Médecines d'Afrique*, 1: 13-20.
- Awono-Ambene, H.P., Etang, J., Antonio-Nkondjio, C., Ndo, C., Ekoko, W., Piameu, M., Mandeng, S., Mbakop, L.R., Toto, J-C., Patchoke, S., Mnzava, A.P., Knox, T.B., Donnelly, M., Fondjo, E. & Bigoga, J. 2018. The bionomics of the malaria vector *Anopheles rufipes* Gough, 1910 and its susceptibility to deltamethrin insecticide in North Cameroon. *Parasites & Vectors*, 11 (1): 1-11.
- Ayala, D., Costantini, C., Ose, K., Kamdem, G.C., Antonio-Nkondjio, C., Agbor, J.P., Awono-Ambene, P., Fontenille, D. & Simard, F. 2009. Habitat suitability and ecological niche profile of major malaria vectors in Cameroon. *Malaria Journal*, 8: 307.
- Bamou, R., Mbakop, L. R., Kopya, E., Ndo, C., Awono-Ambene, P., Tchuinkam, T., Rono K.M., Mwangangi, J. & Antonio-Nkondjio, C. 2018. Changes in malaria vector bionomics and transmission patterns in the equatorial forest region of Cameroon between 2000 and 2017. *Parasites & vectors*, 11(1): 1-13.
- Bamou, R., Sonhafouo-Chiana, N., Mavridis, K., Tchuinkam, T., Wondji, C. S., Vontas, J. & Antonio-Nkondjio, C. 2019. Status of insecticide resistance and its mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Anopheles coluzzii* populations from forest settings in south Cameroon. *Genes*, 10(10): 741.
- Bamou, R., Mayi, M. P. A., Djiappi-Tchamen, B., Nana-Ndjangwo, S. M., Nchoutpouen, E., Cornel, A. J., Awono-Ambene, P., Parola, P., Tchuinkam, T. & Antonio-Nkondjio, C. 2021. An update on the mosquito fauna and mosquito-borne diseases distribution in Cameroon. *Parasites & vectors*, 14(1) : 1-15.

- Barron, M. G., Paupy, C., Rahola, N., Akone-Ella, O., Ngangue, M. F., Wilson-Bahun, T. A., Pombi, M., Kengne, P., Costantini, C., Simard, F., Gonzalez, J., & Ayala, D. 2019. A new species in the major malaria vector complex sheds light on reticulated species evolution. *Scientific reports*, 9(1) :1-13.
- Baudon, D. 1987. Aspects épidémiologiques des paludismes en Afrique sub-saharienne. *Bulletins et Mémoires de la Société de Médecine de Paris*.
- Barbazan, P., Baldet, T., Darriet, F., Escaffre, H., Djoda, D. H., & Hougard, J. M. 1997. Control of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) with *Bacillus sphaericus* in Maroua, Cameroon. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 13(3): 263-269.
- Bigoga, J. D., Nanfack, F. M., Awono-Ambene, P. H., Patchoké, S., Atangana, J., Otia, V. S., Fondjo, E., Moyou, R.S., & Leke, R. G. 2012. Seasonal prevalence of malaria vectors and entomological inoculation rates in the rubber cultivated area of Niete, South Region of Cameroon. *Parasites & vectors*, 5(1) : 1-7.
- Boissiere, A., Gimonneau, G., Tchioffo, M. T., Abate, L., Bayibeki, A., Awono-Ambene, P. H., Nsango, S.E., & Morlais, I. 2013. Application of a qPCR assay in the investigation of susceptibility to malaria infection of the M and S molecular forms of *A. gambiae* ss in Cameroon. *PLoS One*, 8(1):54820.
- Bomblies, A., Duchemin, J. & Eltahir, E. 2008. Hydrology of malaria: Model development and application to a Sahelian village. *Water Resources Research*, 44: W12445.
- Bouزيد, M., Colón-González, F.J., Lung, T., Lake, I.R. & Hunter, P.R. 2014. Climate Change and the Emergence of Vector-Borne Diseases in Europe: Case Study of Dengue Fever. *BMC Public Health*, 14 :781.
- Breman, J.G., Alilio, M.S. & White, N.J. 2007. Defining and Defeating the Intolerable Burden of Malaria III. Progress and Perspectives. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 77(6): 6-11.
- Brooke, B. D. 2008. Kdr: can a single mutation produce an entire insecticide resistance phenotype? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(6), 524-525.
- Bruce-Chwatt, L. J. 1980. Essential malariology. William Heinemann Medical Books Ltd., 23 Bedford Square, London WC1B3HH.
- Brunhes, J., Legoff, G. & Geoffroy, B. 1999. Afro-tropical anopheline mosquitoes: description of three new species: *Anopheles carnevalei* sp. nov., *A. hervyi* sp. nov and *A. dualaensis* sp. nov., and resurrection of *A. rageaui* Mattingly and Adam. *Journal of American Mosquito Control Association*, 15:552-558.

- Brunhes, J., Le Goff, G. & Bousses, P. 2003. Anophèles afrotropicaux. V. Description du mâle et des stades pré-imaginaux d'*A. deemingi* Service, 1970 et description d'*A. eouzanin* sp. (Diptera : Culicidae). *Annales de la Société entomologique de France*, 39(2) : 179-185.
- Burkot, T.R., Williams, J.L., Schneider, J. 1984. Identification of Plasmodium falciparum infected mosquitoes by a double antibody enzyme-linked immunosorbent assay. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 33 : 783–788.
- Carle, P. 1985. Mode d'action et utilisation des pyréthrinoïdes. Insectes-insecticides-santé. Colloque national d'Angers. ACTA, 225-244.
- Carnevale, P., Le Goff, G., Toto, J.C. & Robert, V. 1992. *Anopheles nili* as the main vector of human malaria in villages of southern Cameroon. *Medical and Veterinary Entomology*, 6:135- 138.
- Chandre, F., Darrier, F., Manga, L., Akogbeto, M., Faye, O., Mouchet, J., & Guillet, P. 1999. Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* sensu lato. *Bulletin of the World Health Organization*, 77(3): 230.
- Chouaïbou, M., Etang, J., Brevault, T., Nwane, P., Hinzoumbe, C. K., Mimpfoundi, R., & Simard, F. 2008. Dynamics of insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae* s.l. from an area of extensive cotton cultivation in Northern Cameroon. *Tropical Medicine & International Health*, 13(4): 476-486.
- Chouaïbou, M. 2011. Résistance métabolique chez *anopheles gambiae* giles, 1902 en zone cotonnière du nord-cameroun : dynamique, bases génétiques et impact sur les opérations de lutte. Thèse de doctorat Ph. D soutenue à l'Université de Yaoundé I.
- Cisse, M. B., Keita, C., Dicko, A., Dengela, D., Coleman, J., Lucas, B., Jules Mihigo, J., Sadou, A., Belemvire, A., George, K., Fornadel, C., & Beach, R. 2015. Characterizing the insecticide resistance of *Anopheles gambiae* in Mali. *Malaria Journal*, 14(1) : 1-10.
- Costantini, C., Sagnon, N. F., Torre, A. D., & Coluzzi, M. 1999. Mosquito behavioural aspects of vector-human interactions in the *Anopheles gambiae* complex. *Parassitologia*, 41(1/3): 209-220.
- Coetzee, M., Craig, M. & Le Sueur, D. 2000. Distribution of African malaria mosquitoes belonging to the *Anopheles gambiae* complex. *Parasitology today*, 16(2): 74-77.
- Coetzee, M., Hunt R.H., Wilkerson, R., Della Torre, A., Coulibaly, M.B. & Besansky, N. 2013. *Anopheles coluzzii* and *Anopheles amharicus*, new members of the *Anopheles gambiae* complex. *Zootaxa*, 3619(2):246-74.

- Cohuet, A., Simard, F., Toto, J.C., Kengne, P., Coetzee, M. & Fontenille, D. 2003. Species identification within the *Anopheles funestus* group of malaria vectors in Cameroon and evidence for a new species. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 69:200–5.
- Cohuet, A., Dia I., Simard, F., Raymond, M. & Fontenille, D. 2004. Population structure of the malaria vector *Anopheles funestus* in Senegal based on microsatellite and cytogenetic data. *Insect Molecular Biology*, 13(3): 251–258.
- Coluzzi, M., Sabatini, A., Petrarca, V. & Di Deco, M.A. 1979. Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(5): 483-97.
- Comins, H. N. 1986. Tactics for resistance management using multiple pesticides. *Agriculture, ecosystems & environment*, 16(2):129-148.
- Cox-Singh, J., Davis, T. M., Lee, K. S., Shamsul, S. S., Matusop, A., Ratnam, S., Rahman, H.A., Conway, D.J. & Singh, B. 2008. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clinical infectious diseases*, 46(2) : 165-171.
- Coz, J. 1973. Les mécanismes d'isolement génétique dans le complexe *Anopheles gambiae* Giles.
- CPCS, Conférence des Parties à la Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants. 2009. Quatrième réunion Genève, UNEP/POPS/COP.4/33.
- Curtis, C. F. 1981. Possible methods of inhibiting or reversing the evolution of insecticide resistance in mosquitoes. *Pesticide Science*, 12(5): 557-564.
- Curtis, C. F. 1985. Theoretical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance. *Bulletin of entomological research*, 75(2): 259-266.
- Danis & Mouchet, J. 1991. Paludisme. *Editions Marketing Ellipses/AUPELF*, Paris.
- Davidson, G. 1953. Experiments on the effect of residual insecticides in houses against *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus*. *Bulletin of Entomological Research*, 44(2): 231-254.
- Davidson, G. & Hunt, R.H. 1973. The crossing and chromosome characteristics of a new 6th species in the *Anopheles gambiae* complex. *Parassitologia*, 15(1–2): 121–8.
- Davidson, G., & Lane, J. 1981. Distribution maps for the *Anopheles gambiae* complex. *Mosquito studies at the London School of Hygiene and Tropical Medicine. Progress Report*, (40): 2-4.
- Davidson, P. 1962. *Anopheles gambiae* complex. *Nature*, 196: 907.

- De Meillon, B. 1947. The Anophelini of the Ethiopian geographical region. *Publications of the South African Institute for Medical Research*, 10(49).
- Diabate, A., Baldet, T., Chandre, F., Akogbeto, M., Guiguemde, T. R., Darriet, F., Brengues, C., Guillet, P., Hemingway, J., Small, G.J., & Hougard, J. M. 2002. The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae* sl in Burkina Faso. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 67(6): 617-622.
- Diabate, A., Dabire, R. K., Kengne, P., Brengues, C., Baldet, T., Ouari, A., Simard, F. & Lehmann, T. 2006. Mixed swarms of the molecular M and S forms of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in sympatric area from Burkina Faso. *Journal of Medical Entomology*, 43: 480-3.
- Diuk-Wasser, M. A., Toure, M. B., Dolo, G., Bagayoko, M., Sogoba, N., Sissoko, I., Traoré, S., & Taylor, C. E. 2007. Effect of rice cultivation patterns on malaria vector abundance in rice-growing villages in Mali. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 76:869-74.
- Djouaka, R. F., Bakare, A. A., Coulibaly, O. N., Akogbeto, M. C., Ranson, H., Hemingway, J. & Strode, C. 2008. Expression of the cytochrome P450s, CYP6P3 and CYP6M2 are significantly elevated in multiple pyrethroid resistant populations of *Anopheles gambiae* ss. from Southern Benin and Nigeria. *BMC genomics*, 9: 538.
- Doannio, J. M., Dossou-Yovo, J., Duval, J., & Hougard, J. M. 1992. Small-scale evaluation of the efficacy of growth-regulating insecticides on larvae of the *Simulium damnosum* complex (Diptera: Simuliidae). *Annales de la Societe Belge de Medecine Tropicale*, 72(3) : 197-203.
- Dondorp, A. 2008. Clinical significance of sequestration in adults with severe malaria. *Transfusion Clinique et Biologique*, 15 : 56-7.
- Donnelly, M. J., McCall, P. J., Lengeler, C., Bates, I., Dalessandro, U., Barnish, G., Konradsen, F., Klinkenberg, E., Townson, H., Trape, J-F., Hastings, I.M. & Clifford, M. 2005. Malaria and urbanization in sub-Saharan Africa. *Malaria journal*, 4(1): 12.
- Donnelly, M. J., Corbel, V., Weetman, D., Wilding, C. S., Williamson, M. S., & Black IV, W. C. 2009. Does kdr genotype predict insecticide-resistance phenotype in mosquitoes? *Trends in parasitology*, 25(5): 213-219.
- Ekoko, W. E., Awono-Ambene, P., Bigoga, J., Mandeng, S., Piamou, M., Nvondo, Toto, J.C., Nwane, P., Patchoke, S., Mbakop, L.R., Binyang, A. J., Donnelly, M., Kleinschmidt, I., Knox, T., Mbida Mbida, A., Dongmo, A., Fondjo, E., Mnzava, A. & Etang, J. 2019. Patterns of anopheline feeding/resting behaviour and *Plasmodium* infections in North

- Cameroon, 2011–2014: implications for malaria control. *Parasites & vectors*, 12(1): 1-12.
- Enayati, A. & Hemingway, J. 2010. Malaria management: past, present, and future. *Annual review of entomology*, 55: 569-591.
- Etang, J., Manga, L., Chandre, F., Guillet, P., Fondjo, E., Mimpfoundi, R., Toto, J-C. & Fontenille, D. 2003. Insecticide susceptibility status of *Anopheles gambiae* sl (Diptera: Culicidae) in the Republic of Cameroon. *Journal of medical entomology*, 40(4): 491-497.
- Etang, J., Fondjo, E., Chandre, F., Morlais, I., Brengues, C., Nwane, P., Chouaibou, M., Ndjemai, H., & Simard, F. 2006. First report of knockdown mutations in the malaria vector *Anopheles gambiae* from Cameroon. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 74(5): 795-797.
- Etang, J., Manga, L., Toto, J. C., Guillet, P., Fondjo, E., & Chandre, F. 2007. Spectrum of metabolic-based resistance to DDT and pyrethroids in *Anopheles gambiae* sl populations from Cameroon. *Journal of Vector Ecology*, 32(1): 123-133.
- Etang, J., Vicente, J. L., Nwane, P., Chouaibou, M., Morlais, I., Do Rosario, V. E., Simard, F., Awono-Ambene, H.P., Toto, J-C. & Pinto, J. 2009. Polymorphism of intron-1 in the voltage-gated sodium channel gene of *Anopheles gambiae* ss populations from Cameroon with emphasis on insecticide knockdown resistance mutations. *Molecular Ecology*, 18(14): 3076-3086.
- Etang, J., Mandeng, S. E., Nwane, P., Awono-Ambene, H. P., Bigoga, J. D., Ekoko, W. E., Binyang, A.J., Piameu, M., Mbakop, L.R., Mvondo, N., Tabue, R., Mimpfoundi, R., Toto, J-C., Kleinschmidt, I., Knox, T.B., Mnzava, A.P., Donnelly, M.J. & Fondjo, E. 2022. Patterns of Kdr-L995F Allele Emergence Alongside Detoxifying Enzymes Associated with Deltamethrin Resistance in *Anopheles gambiae* sl from North Cameroon. *Pathogens*, 11(2): 253.
- Evans, A. M. 1938. Mosquitoes of the Ethiopian Region. II.-Anophelini. Adults and Early Stages. *Mosquitoes of the Ethiopian Region. II.-Anophelini. Adults and Early Stages*.
- Farenhorst, M., Mouatcho, J. C., Kikankie, C. K., Brooke, B. D., Hunt, R. H., Thomas, M. B., Koekemoer, L.L., Knols B.G. & Coetzee, M. 2009. Fungal infection counters insecticide resistance in African malaria mosquitoes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(41): 17443-17447.

- Fisiha, M.Y. 2002. Do local environmental changes resulting from the construction of microdams lead to increased malaria transmission in Tigray, Ethiopia? UK : *University of Durham*.
- Fondjo, E. 1996. Etude du comportement du complexe *A. gambiae* et de la transmission du paludisme dans deux facies eco-climatiques au Mali et au Cameroun. *These Doctorat 3e cycle. Université de Bamako (Mali) Bamako*.
- Fondjo, E., Robert, V., Le Goff, G., Toto, J.C. & Carnevale, P. 1992. Le paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun) : Etude entomologique dans deux quartiers peu urbanisés. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 85 : 57-63.
- Fontenille, D. & Simard, F. 2004. Unravelling complexities in human malaria transmission dynamics in Africa through a comprehensive knowledge of vector populations. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 27(5): 357-375.
- Fontenille, D., Wanji, S., Djouaka, R. & Awono-Ambene, H.P. 2000. *Anopheles hancocki*, vecteur secondaire du paludisme au Cameroun. *Bulletin de liaison et de documentation de l'OCEAC*, 33 : 23-26.
- Fontenille, D., Cohuet, A., Awono-Ambene, P., Kengne, P., Antonio-Nkondjio, C., Wondji, C. & Simard, F. 2005. Malaria vectors: from the field to genetics. *Research in Africa. Revue d'épidémiologie et de Santé Publique*, 53 : 283-290.
- Ffrench-Constant, R. H., Steichen, J. C., Rocheleau, T. A., Aronstein, K., & Roush, R. T. 1993. A single-amino acid substitution in a gamma-aminobutyric acid subtype A receptor locus is associated with cyclodiene insecticide resistance in *Drosophila* populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(5): 1957-1961.
- Gatton, M. L., Chitnis, N., Churcher, T., Donnelly, M.J., Ghani, A.C., Godfray, H.C.J., Gould, F., Hastings, I., Marshall, J., Ranson, H., Rowland, M., Shaman, J., & Lindsay, S. W. 2013. The importance of mosquito behavioral adaptations to malaria control in Africa. *Evolution*, 67 :1218–30.
- Gazin, P., Robert, V., & Carnevale, P. 1987. Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). 2. Les indices paludologiques. *Cahiers ORSTOM. Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 25, 27-31.
- Gillies, M.T. & De Meillon, B. 1968. The Anophelinae of Africa south of the Sahara. *Second ed. South African Institute of Medical Research, Johannesburg*. 343 p.

- Gillies, M.T. & Coetzee, M. A. 1987. Supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara; *Publications of the South African Institute for Medical Research*: Johannesburg, South Africa, p. 55.
- Greenwood, B. & Targett, G. 2009. Do we still need a malaria vaccine? *Parasite Immunology*, 31 : 582-586.
- Guerra, C.A., Snow, R.W., Hay, S.I. 2006. A global assessment of closed forests, deforestation, and malaria risk. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 100(3):189-204.
- Haldane, J. B. 1954. An exact test for randomness of mating. *Journal of Genetics*, 52(1) : 631-635.
- Hamon, J. & Mouchet, J. 1961. Les vecteurs secondaires du paludisme humain en Afrique. *Medecine Tropicale*, 21: 643-60.
- Harbach, R.E. 1994. Review of the internal classification of the genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): the foundation for comparative systematics and phylogenetic research. *Bulletin of Entomological Research*, 84: 331-342.
- Harbach, R.E. 2004. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bulletin of Entomological Research*, 94(6):537-53.
- Harvell, C.D., Mitchell, C.E., Ward, J.R., Altizer, S., Dobson, A.P., Ostfeld, R.S. & Samuel, M.D. 2002. Climate Warming and Disease Risks for Terrestrial and Marine Biota. *Science*, 296:2158–2163.
- Hay, S. I., Guerra, C. A., Tatem, A. J., Atkinson, P. M. & Snow, R. W. 2005. Opinion tropical infectious diseases: Urbanization, malaria transmission and disease burden in Africa. *Nature Reviews Microbiology*, 3(1): 81.
- Hemingway, J. & Ranson, H. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annual review of entomology*, 45: 371-391.
- Hemingway, J., Hawkes, N., Carroll, L. & Ranson, H. 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34: 653-65.
- Hervy, J.F., Le Goff, G., Geoffroy, B., Herve, J.P., Manga, L. & Brunhes. 1998. Les anophèles de la région afrotropicale. CD-ROM, *ORSTOM éditions*, Paris.
- Hollingworth, R.M. & Dong, K. 2008. The biochemical and molecular genetic basis of resistance in arthropods. p. 192. *Cambridge, MA* : CAB International.
- Holstein, M. 1949. Etude sur l'anophélisme en AOF, Soudan Français, Bamako. *Bulletin de la Société de Pathologie exotique*, 42 : 374-378.

- Hunt, R. H., Coetzee, M. & Fettene, M. 1998. The *Anopheles gambiae* complex: a new species from Ethiopia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 92(2): 231-235.
- Hunter, J.M., Rey, L., Chu, K.Y., Adekolu-John, L. & Mon, K.L. 1993. Parasitic Diseases in Water Resources Development. The Need for Inter Sectorial Negotiation; WHO: Genève, Switzerland. 152p.
- Irish, S. R., Kyalo, D., Snow, R. W., & Coetzee, M. 2020. Updated list of *Anopheles* species (Diptera: Culicidae) by country in the Afrotropical Region and associated islands. *Zootaxa*, 4747(3): zootaxa-4747.
- Kamdem, C., Tene Fossog, B., Simard, F., Etoua, J., Ndo, C., Kengne, P., Boussès, P., Etoa, F-X., Awono-Ambene, P., Fontenille, D., Antonio-Nkondjio, C., Besansky, N.j. & Costantini, C. 2012. Anthropogenic habitat disturbance and ecological divergence between incipient species of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *PloS one*, 7(6) : e39453.
- Karch, S., & Mouchet, J. 1992. *Anopheles paludis*: important vector of malaria in Zaire. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique (1990)*, 85(5) : 388-389.
- Keiser, J., Utzinger, J., De Castro M. C., Smith, T. A., Tanner, M. & Singer, B. H. 2004. Urbanization in sub-saharan Africa and implication for malaria control. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 71(2): 118-127.
- Keiser, J., Caldas De Castro, M., Maltese, M. F., Bos, R., Tanner, M., Singer, B. H. & Utzinger, J. 2005. Effect of irrigation and large dams on the burden of malaria on a global and regional scale. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 72(4): 392-406.
- Kengne, P., Awono-Ambene, H. P., Antonio-Nkondjio, C., Simard, F. & Fontenille, D. 2003. Molecular identification of the *Anopheles nili* group African malaria vectors. *Medical and Veterinary Entomology*, 17:67-74.
- Kibret, S., Lautze, J., McCartney, M., Glenn, G. W., Nhamo, L. 2015. Malaria impact of large dams in sub-Saharan Africa: maps, estimates and predictions. *Malaria Journal*, 14 (1), 1-12.
- Killeen, G. & Chitnis, N. 2014. Potential causes and consequences of behavioural resilience and resistance in malaria vector populations: a mathematical modelling analysis. *Malaria Journal*, 13:97.
- Klinkenberg, E., McCall, P. J., Wilson, M. D., Amerasinghe, F. P. & Donnelly, M. J. 2008. Impact of urban agriculture on malaria vectors in Accra, Ghana. *Malaria Journal*, 7(1): 151.

- Koekemoer, L. L., Coetzee, M., & Hunt, R. H. 1998. HpaII endonuclease distinguishes between two species in the *Anopheles funestus* group. *Insect molecular biology*, 7(3): 273-277.
- Koekemoer, L. L., Lochouart, L., Hunt, R. H., & Coetzee, M. 1999. Single-strand conformation polymorphism analysis for identification of four members of the *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) group. *Journal of Medical Entomology*, 36(2): 125-130.
- Koekemoer, L., Kamau, L., Hunt, R. & Coetzee, M. 2002. A cocktail polymerase chain reaction assay to identify members of the *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) group. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66: 804–811.
- Kudom, A. A. 2015. Larval ecology of *Anopheles coluzzii* in Cape Coast, Ghana: water quality, nature of habitat and implication for larval control. *Malaria journal*, 14(1) : 1-13.
- Kyalo, D., Amratia, P., Mundia, C.W., Mbogo, C.M., Coetzee, M. & Snow, R.W. 2017. A geo-coded inventory of anophelines in the Afrotropical Region south of the Sahara: 1898–2016. *Wellcome Open Research*, 2: 57.
- Lacey, L. A., & Undeen, A. H. 1986. Microbial control of black flies and mosquitoes. *Annual Review of Entomology*, 31(1): 265-296.
- Languillon, J., Mouchet, J., Rivola, E., & Rageau, J. 1956. Contribution à l'étude de l'épidémiologie du paludisme dans la région forestière du Cameroun. Paludométrie, espèces plasmodiales, anophélisme, transmission. *Médecine tropicale*, 16(347) : 78.
- Lautze, J., McCartney, M., Kirshen, P., Olana, D., Jayasinghe, G. & Spielman, A. 2007. Effect of a large dam on malaria risk: the Koka reservoir in Ethiopia. *Tropical Medicine and International Health*, 12: 982-9.
- Leeper, H. M., Nedberge, D., & Taskovich, L. T. 1986. Skin permeation enhancer compositions. *U.S. Patent 4*: 568,343.
- Lines, J., Myamba, J. & Curtis, C. 1987. Experimental hut trials of permethrin-impregnated mosquito nets and eave curtains against malaria vectors in Tanzania. *Medical and veterinary entomology*, 1: 37-51.
- Livadas, G., Mouchet, J., Gariou, J., & Chastang, R. 1958. Peut-on envisager l'éradication du paludisme dans la région forestière du Sud Cameroun ?
- Louis, J. P., & Albert, J. P. 1988. Le paludisme en République de Djibouti : stratégie de contrôle par la lutte antilarvaire biologique : poissons larvivores autochtones (*Aphanius dispar*) et toxines bactériennes. *Médecine tropicale*, 48(2) : 127-131.

- Lovett, B., Bilgo, E., Millogo, S. A., Ouattarra, A. K., Sare, I., Gnambani, E. J., Dabire, R. K., Diabate, A. & Leger, R. J. S. 2019. Transgenic *Metarhizium* rapidly kills mosquitoes in a malaria-endemic region of Burkina Faso. *Science*, 364: 894-897.
- Lynd, A., Ranson, H., McCall, P.J., Randle, N.P., Black IV, W.C., Walker, E.D., & Donnelly, M. 2005. A simplified high-throughput method for pyrethroid knockdown resistance (kdr) detection in *Anopheles gambiae*. *Malaria Journal*, 4 :16.
- Maclean, C. A., Moussalli, A. & Stuart-Fox, D. 2010. The predation cost of female resistance. *Behavioural Ecology*, 21 (4), 861-867.
- Mandeng, S. E., Awono-Ambene, H. P., Bigoga, J. D., Ekoko, W. E., Binyang, J., Piameu, M., Mbakop, L.R., Nono Fesuh, B., Mvondo, N., Tabue, R., Nwane, P., Mimpfoundi, R., Toto J.C., Kleinschmidt, I., Knox, T. B., Mnzava, A.P., Donnelly, M; J., Fondjo, E. & Etang, J. 2019. Spatial and temporal development of deltamethrin resistance in malaria vectors of the *Anopheles gambiae* complex from North Cameroon. *PloS one*, 14(2) : e0212024.
- Manga, L., Robert, V., Messi, J., Desfontaine, M., & Carnevale, P. 1992. Le paludisme urbain à Yaoundé, Cameroun : 1. etude entomologique dans deux quartiers centraux. 1992.
- Manga, L., Toto, J-C., Le Goff, G., Brunhes, J. 1997. The bionomics of *Anopheles funestus* and its role in malaria transmission in a forested area of southern Cameroon. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91 (4), pp.387-388.
- Manguin S, Carnevale P, Mouchet J, Coosemans M, Julvez J, Richard-Lenoble D, Sircoulon J. 2008. Biodiversity of malaria in the world. Montrouge, France: John Libbey Eurotext.
- Martinez-Torres, D., Chandre, F., Williamson, M. S., Darriet, F., Berge, J. B., Devonshire, A. L., Guillet, P., Pasteur, N., & Pauron, D. 1998. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* ss. *Insect molecular biology*, 7(2), 179-184.
- Mathanga, D. & Molyneux, M. E. 2016. Commentary (The Lancet) Bednets and malaria in Africa. *Malawi Medical Journal*, 28(3): 92-93.
- Mathenge, E. M., Gimnig, J. E., Kolczak, M., Ombok, M., Irungu, L. W. & Hawley, W. A. 2001. Effect of permethrin-impregnated nets on exiting behavior, blood feeding success, and time of feeding of malaria mosquitoes (Diptera: Culicidae) in western Kenya. *Journal of medical entomology*, 38: 531-536.
- Mayr, E. 1942. Systematics and the origin of species, from the viewpoint of a zoologist, Harvard University Press.

- McCaffery, A. R. 1998. Resistance to insecticides in heliothine Lepidoptera: a global view. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 353(1376): 1735-1750.
- Milani, R., & Travaglino, A. 1957. Ricerche genetiche sulla resistenza al DDT in *Musca domestica* concatenazione del gene kdr (knockdown-resistance) con due mutanti morfologici. *Rivista di parassitologia*, 18 : 199-202.
- Minakawa, N., Omukunda, E., Zhou, G., Githeko, A., & Yan, G. 2006. Malaria vector productivity in relation to the highland environment in Kenya. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 75(3), 448-453.
- Meunier, J. Y., Safeukui, I., Fontenille, D., & Boudin, C. 1999. Etude de la transmission du paludisme dans une future zone d'essai vaccinal en forêt équatoriale du sud Cameroun. *Bull Soc Pathol Exot*, 92: 309-312.
- Menze, B. D., Wondji, M. J., Tchappa, W., Tchoupo, M., Riveron, J. M., & Wondji, C. S. 2018. Bionomics and insecticides resistance profiling of malaria vectors at a selected site for experimental hut trials in central Cameroon. *Malaria journal*, 17(1) : 1-10.
- Mouchet, J. & Gariou, J. 1961. Répartition géographique et écologique des anophèles au Cameroun. *Bulletin de la Société de Pathologie exotique*, 54 (1) : 102-118.
- Mouchet, J. & Gariou, J. 1966. *Anopheles moucheti* au Cameroun. *Cahiers ORSTOM. Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 4 :71-81.
- Mouchet, J., & World Health Organization. 1987. Methods of urban vector control other than chemical, biological and environmental management measures (No. VBC/ECV/EC/87.5/15. Unpublished).
- Mouchet, J., Cavalie, P., Caillies, J. M., & Marticou, M. 1961. L'irritabilité vis-à-vis du DDT d'*Anopheles gambiae* et d'*Anopheles funestus* dans le Nord-Cameroun. *Rivista di Malariologia*, 40(4-6): 1-27.
- Mouchet, J., & Brengues, J. 1990. Agriculture-health interface in the field of epidemiology of vector-borne diseases and the control of vectors. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique*, 83(3) : 376-393.
- Mouchet, J., Manguin, S., Sircoulon, J., Laventure, S., Faye, O., Onapa, A.W., Carnevale, P., Julvez, J., & Fontenille, D. 1998. Evolution of malaria in Africa for the past 40 years : impact of climatic and human factors. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 14(2) :121-130. PMID : 9673911.

- Mouchet, J., Carnevale, P., Coosemans, M., Julvez, J., Manguin, S., Richard-Lenoble, D., & Sircoulon, J. 2004. Biodiversité du paludisme dans le monde. *Editions John Libbey Eurotext*.
- Mourou, J. R., Coffinet, T., Jarjaval, F., Cotteaux, C., Pradines, E., Godefroy, L., Kombila, M., & Pagès, F. 2012. Malaria transmission in Libreville: results of a one-year survey. *Malaria journal*, 11(1): 40.
- Mutero, A., Pralavorio, M., Bride, J. M., & Fournier, D. 1994. Resistance-associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase. *Proceedings of the national academy of sciences*, 91(13): 5922-5926.
- Mutero, C. M., Blank, H., Konradsen, F., & Van Der Hoek, W. 2000. Water management for controlling the breeding of *Anopheles* mosquitoes in rice irrigation schemes in Kenya. *Acta tropica*, 76(3): 253-263.
- Neve, P., Busi, R., Renton, M. & Vila-Aiub, M.M. 2014. Expanding the eco-evolutionary context of herbicide resistance research. *Pest management science*, 70 (9), 1385-1393.
- Nimpaye, H., Van Der Kolk, M., Fontenille, D., & Boudin, C. 2001. Le paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun) en 2000 : étude entomologique dans le quartier central "Dakar". *Bulletin de Liaison et de Documentation-OCEAC*, 34(2), 11-14.
- Njan Nloga, A. M. 1994. *Bioécologie et rôle vecteur du paludisme d'"Anopheles moucheti" à Ebogo au Caméroun* (Doctoral dissertation, Montpellier 2).
- Njan Nloga, A., Vincent, R., Toto, J. C. & Carnevale, P. 1993. *Anopheles moucheti*, vecteur principal du paludisme au sud-Cameroun. *Le bulletin de liaison et de documentation OCEAC*, 26 : 63-67.
- Nwane, P., Etang, J., Chouaïbou, M., Toto, J. C., Kerah-Hinzoumbé, C., Mimpfoundi, R., Awono-Ambene, P. & Simard, F. 2009. Trends in DDT and pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* ss populations from urban and agro-industrial settings in southern Cameroon. *BMC infectious diseases*, 9(1): 1-10.
- Nwane, P., Etang, J., Chouaïbou, M., Toto, J. C., Mimpfoundi, R., & Simard, F. 2011. Kdr-based insecticide resistance in *Anopheles gambiae* ss populations in Cameroon: spread of the L1014F and L1014S mutations. *BMC research notes*, 4(1) : 1-9.
- Nwane, P., Etang, J., Chouaïbou, M., Toto, J. C., Koffi, A., Mimpfoundi, R., & Simard, F. 2013. Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* sl populations from Cameroon, Central Africa. *Parasites & vectors*, 6(1): 1-14
- Olivry, J. C. 1986. Fleuves et rivières du Cameroun. Collection « Monographies hydrologiques », no 9, *ORSTOM*, Paris. 781 p.p. 203.

- Organisation mondiale de la Santé. 2012. Recommandation de politique générale de l’OMS: chimioprévention du paludisme saisonnier pour lutter contre le paludisme à *Plasmodium falciparum* en zone de forte transmission saisonnière dans la sous-région du Sahel en Afrique (No. WHO/HTM/GMP/2012.02).
- Organisation Mondiale de la Santé. 2015. Rapport sur le paludisme dans le monde 2014: résumé (No. WHO/HTM/GMP/2015.2). Organisation mondiale de la Santé.
- Organisation Mondiale de la Santé. 2019. World Malaria Report. ISBN 978-92-4-156572-1.
- Organisation Mondiale de la Santé. 2020. Rapport sur le paludisme dans le monde, 30 novembre 2020.
- Ostfeld, R.S. & Brunner, J.L. 2015. Climate Change and Ixodes Tick-Borne Diseases of Humans. *Philos. Transaction of Royal Society of Biology and Science*, 370:20140051.
- Pajot, F.X. & Serges, L.G. Notes sur la biologie d’*Anopheles hargreavesi* (Evans), 1927, et d’*Anopheles paludis* de Yaounde (Cameroun), le long du fleuve Nyong. 1964. *Cahiers ORSTOM. Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 4 :71–81.
- Parajuli, K., Hanchana, S., Inwong, M., Pukrittayakamee, S. & Chimire, P. 2009. Comparative evaluation of microscopy and polymerase chain reaction (PCR) for the diagnosis in suspected malaria patients of Nepal. *Nepal Medical College Journal*, 11: 23-7.
- Pedrini, N, Mijailovsky, S.J., Girotti, J.R., Stariolo, R., Cardozo, R.M., Gentile, A. & Juarez, M.P. 2009. Control of Pyrethroid-Resistant Chagas Disease Vectors with Entomopathogenic Fungi. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 3(5) : 11.
- PNLP. 2020. Synthèse des données de surveillance du paludisme en 2019. Minsante Cameroun Yaoundé, Mars 2020.
- Poirié, M. & Pasteur, N. 1991. La résistance des insectes aux insecticides. *La Recherche : l'actualité des sciences*, 22 : 874-881.
- Potter, S. 2008. The Sting of Climate Change : Malaria and Dengue Fever in Maritime Southeast Asia and Pacific Islands. *Lowy Institute for International Policy*, Sydney, Australie.
- Prasad, K. M., Raghavendra, K., Verma, V., Velamuri, P. S., & Pande, V. 2017. Esterases are responsible for malathion resistance in *Anopheles stephensi*: a proof using biochemical and insecticide inhibition studies. *Journal of Vector Borne Diseases*, 54(3):226.
- Protopopoff, N., Mosha, J. F., Lukole, E., Charlwood, J. D., Wright, A., Mwalimu, C. D., Manjurano, A., Mosha F.D., Kisinza, W. Kleinschmidt, I. & Rowland, M. 2018. Effectiveness of a long-lasting piperonyl butoxide-treated insecticidal net and indoor

- residual spray interventions, separately and together, against malaria transmitted by pyrethroid-resistant mosquitoes: a cluster, randomised controlled, two-by-two factorial design trial. *The Lancet*, 391(10130): 1577-1588.
- Quakyi, I. A., Leke, R. G., Befidi-Mengue, R., Tsafack, M., Bomba-Nkolo, D., Manga, L., ... & Taylor, D. W. 2000. The epidemiology of Plasmodium falciparum malaria in two Cameroonian villages: Simbok and Etoa. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 63(5-6): 222-230.
- Ranson, H., Jensen, B., Vulule, J. M., Wang, X., Hemingway, J., & Collins, F. H. 2000. Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan Anopheles gambiae associated with resistance to DDT and pyrethroids. *Insect molecular biology*, 9(5) : 491-497.
- Raymond, M., & Rousset, F. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution*, 1280-1283.
- Rageau, J. & Adam, J. 1953. Répartition géographique des anophèles au Cameroun Français. Document *ORSTOM Service d'hygiène mobile et prophylaxie*. 5p.
- Reid, J. A. 1968. Anopheline mosquitoes of Malaya and Bornea. Anopheline mosquitoes of Malaya and Bornea, (31).
- Reid, J. A. & Knight, K. L. 1961. Classification within the subgenus Anopheles (Diptera, Culicidae). *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 55: 474-488.
- Riehle, M. M., Guelbeogo, W. M., Gneme, A., Eiglmeier, K., Holm, I., Bischoff, E., Thierry Garnier, T., Snyder, G.M., Li, X., Markianos, K., Sagnon, N. & Vernick, K. D. 2011. A cryptic subgroup of *Anopheles gambiae* is highly susceptible to human malaria parasites. *Science*, 331(6017) : 596-598.
- Rivola, E. & Holstein, M.H. 1957. Note sur une variété d'*Anopheles nili* (Theo). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 50 : 382 – 386.
- Robert, V., Gazin, P., Ouedraogo, V., & Carnevale, P. 1986. Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Cahiers ORSTOM Ser Ent Parasitol*, 24: 121-128.
- Robert, V., Macintyre, K., Keating, J., Trape, J. F., Duchemin, J. B., Warren, M., & Beier, J. C. 2003. Malaria transmission in urban sub-Saharan Africa. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 68(2): 169-176.
- Roberts, D.R. & Andre, R.G. 1994. Insecticide Resistance Issues in Vector-Borne Disease Control. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 50(6): 21–34.
- Rodhain, F. & Perez, C. 1985. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. *Maloine Editeur*, Paris, 458p.

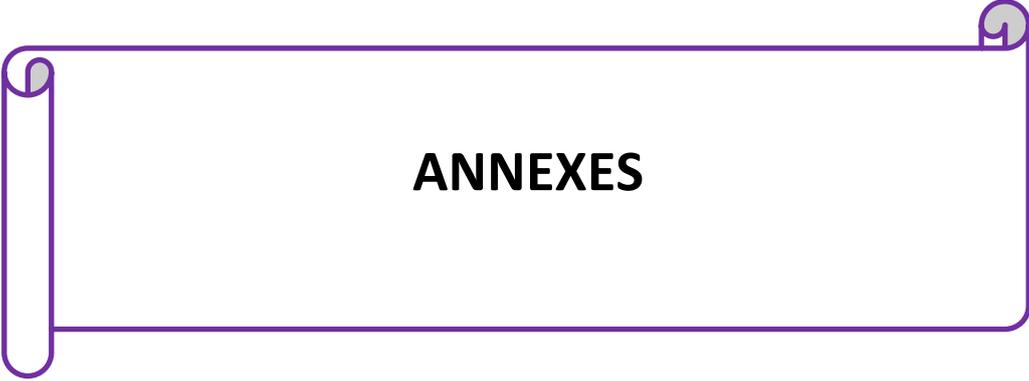
- Rogier, C. 2003. Paludisme de l'enfant en zone d'endémie : épidémiologie, acquisition d'une immunité et stratégie de lutte. *Medécine Tropicale*, 63: 449-464.
- Roush, R. T. 1989. Designing resistance management programs: how can you choose? *Pesticide Science*, 26(4): 423-441.
- Salem, G. & Samé-Ekobo, A. 2001. Processus d'urbanisation, paludisme et autres maladies à vecteurs. 191-202.
- Santolamazza, F., Calzetta, M., Etang, J. 2008. Distribution of knock-down resistance mutations in *Anopheles gambiae* molecular forms in west and west-central Africa. *Malaria Journal*, 7:74.
- Saul, A. 2007. Mosquito stage, transmission blocking vaccines for malaria. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 20: 476-481.
- Scholte, E. J., Ng'Habi, K., Kihonda, J., Takken, W., Paaijmans, K., Abdulla, S., Killeen, G.F. & Knols, B. G. 2005. An entomopathogenic fungus for control of adult African malaria mosquitoes. *Science*, 308(5728) : 1641-1642.
- Scholte, E. J., Knols, B. G., & Takken, W. 2006. Infection of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* reduces blood feeding and fecundity. *Journal of invertebrate pathology*, 91(1) : 43-49.
- Scott, J.A., Brogdon, G. & Collins, F.H. 1993. Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 49: 520 - 529.
- Scott, J.G. 1999. Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochemistry Molecular*, 29(9): 757-777.
- Service, M. W. 1958. Mosquito survey of some areas in the Southern Cameroons under United Kingdom administration. *The West African medical journal*, 7(4): 161.
- Service, M. W., & Service, M. W. 1993. Sampling the larval population. *Mosquito Ecology: Field Sampling Methods*, 75-209.
- Sighomnou, D. 2004. Analyse et définition des régimes climatiques et hydrologiques du Cameroun : perspectives d'évolution des ressources en eau. PhD Thesis, University of Yaoundé 1, Yaoundé Cameroon.
- Spillings, B.L., Brooke, B.D., Koekemoer, L.L., Chipwanya, J., Coetzee, M. & Hunt, R.H. 2009. A new species concealed by *Anopheles funestus* Giles, a major malaria vector in Africa. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81(3):510-5.
- Suchel, J. B. 1987. *Les climats du Cameroun* (Doctoral dissertation, Bordeaux 3).
- Suchel, J. B., & Tsalefac, M. 1995. La climatologie : planche 3.

- Tabachnick, W. 2003. Reflections on the *Anopheles gambiae* genome sequence, transgenic mosquitoes and the prospect for controlling malaria and other vector borne diseases. *Journal of Medical Entomology*, 40:597-606.
- Tabashnik, B. E. 1989. Managing resistance with multiple pesticide tactics: theory, evidence, and recommendations. *Journal of Economic Entomology*, 82(5):1263-1269.
- Tabashnik, B. E. & Croft, B. A. 1982. Managing pesticide resistance in crop-arthropod complexes: interactions between biological and operational factors. *Environmental Entomology*, 11(6): 1137-1144.
- Tabue, R. N., Nem, T., Atangana, J., Bigoga, J. D., Patchoke, S., Tchouine, F., Fodjo, B.Y., Leke, R.G. & Fondjo, E. 2014. *Anopheles ziemanni* a locally important malaria vector in Ndop health district, north west region of Cameroon. *Parasites and vectors*, 7(1): 262.
- Tabue, R. N., Awono-Ambene, P., Etang, J., Atangana, J., Antonio-Nkondjio, C., Toto, J. C., Patchoke, S., Leke, R.G.F., Fondjo, E, Mnzava, A.P., Knox, T.B., Tougordi, A., Donnelly, M.J. & Bigoga, J.D. 2017. Role of *Anopheles* (*Cellia*) *rufipes* (Gough, 1910) and other local anophelines in human malaria transmission in the northern savannah of Cameroon: a cross-sectional survey. *Parasites and vectors*, 10(1):22.
- Tchuinkam, T., Simard, F., Lele-Defo, E, Tene-Fossog, B., Tateng-Ngouateu, A., Antonio-Nkondjio, C., Mpoame, M., Toto, J-C., Njiné, T., Fontenille, D. & Awono-Ambene P. 2010. Bionomics of anopheline species and malaria transmission dynamics along an altitudinal transect in Western Cameroon. *BMC Infectious Diseases*, 10:119.
- Tene Fossog, B., Kopya, E., Ndo, C., Menze-Djantio, B., Costantini, C., Njiokou, F., Awono-Ambene, P., & Antonio-Nkondjio, C. 2012. Water quality and *Anopheles gambiae* larval tolerance to pyrethroids in the cities of Douala and Yaounde (Cameroon). *Journal of tropical medicine*, 2012.
- Tene Fossog, B., Poupardin, R., Costantini, C., Awono-Ambene, P., Wondji, C. S., Ranson, H. & Antonio-Nkondjio, C. 2013. Resistance to DDT in an urban setting: common mechanisms implicated in both M and S forms of *Anopheles gambiae* in the city of Yaoundé Cameroon. *PloS one*, 8(4) : 61408.
- Tene Fossog, B., Ayala, D., Acevedo, P., Kengne, P., Ngomo Abeso Mebuy, I., Makanga, B., Magnus, J., Awono-Ambene, P., Njiokou, F., & Antonio-Nkondjio, C. 2015. Habitat segregation and ecological character displacement in cryptic African malaria mosquitoes. *Evolutionary applications*, 8(4): 326-345.

- Testud, F. & Grillet, J-P. 2007. Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes de synthèse et divers. *Pathologie professionnelle et de l'environnement*, 2(2) :1-24
- Trape, J. F. 1986. L'impact de l'urbanisation sur le paludisme en Afrique centrale. Doctoral dissertation, Paris 11. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 10-8.
- Trape, J. F. & Zoulani, A. 1987. Malaria and urbanization in central Africa: the example of Brazzaville. Part II: Results of entomological surveys and epidemiological analysis.
- Trape, J. F., & Zoulani, A. 1987. Malaria in a forest-savannah mosaic zone of Central Africa, Brazzaville region. I. Results of entomological studies. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique Filiales*, 80 : 84-99.
- Tsukamoto, M., Narahashi, T., & Yamasaki, T. 1965. Genetic Control of Low Nerve Sensitivity to DDT in Insecticide-Resistant Housefliest. *防虫科学*, 30(4): 128-132.
- Vaucel, M. & Campourcy, A. 1943. L'anophélisme au Cameroun français. *Riv. Sci. Méd. Phar. Vet. Afr. Fr. Libre*, 2 : 85.
- Van der Hoek, W., Amerasinghe, F. P., Konradsen, F., & Amerasinghe, P. H. 1998. Characteristics of malaria vector breeding habitats in Sri Lanka: relevance for environmental management. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 29(1): 168-172.
- Vercruyse, J. & Jancloes, M. 1981. Etude entomologique sur la transmission du paludisme humain dans la zone urbaine de Pikine (Sénégal). *Cahiers ORSTOM. Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 19(3) : 165-178.
- Vontas, J. Katsavou E. & Mavridis K. 2020. Cytochrome P450-based metabolic insecticide resistance in Anopheles and Aedes mosquito vectors: Muddying the waters. *Pesticide biochemistry and physiology*, 170: 104666.
- Wagner, D.B., Furnier, G.R., Saghay-Marroof, M.A., Williams, S.M., Dancik, B.P. & Allard, R.W. 1987. Chloroplast DNA polymorphisms in lodgepole and jack pines and their hybrids. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 84: 2097–2100.
- Weill, M., Chandre, F., Brengues, C., Manguin, S., Akogbeto, M., Pasteur, N., Guillet, P., & Raymond, M. 2000. The kdr mutation occurs in the Mopti form of *Anopheles gambiae* s. s. through introgression. *Insect molecular biology*, 9(5): 451-455.
- Whalon, M.E, Mota-Sanchez, D. & Hollingworth, R.M. 2008. Global Pesticide Resistance in Arthropods. 169 pp. *Oxford University Press*, Oxford, UK.

- White, G. B. 1985. *Anopheles bwambae* sp. n., a malaria vector in the Semliki Valley, Uganda, and its relationships with other sibling species of the *An. gambiae* complex (Diptera: Culicidae). *Systematic Entomology*, 10(4), 501-522.
- White, N. J. 2008. *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. *Clinical infectious diseases*, 46(2): 172-173.
- White, B.J., Collins, F.H. & Besansky, N.J. 2011. Evolution of *Anopheles gambiae* in relation to humans and malaria. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42(1): III–32.
- Wirtz, R.A., Burkot, T.R., Graves, P.M., Andre, R.G. 1987. Field evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays for *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* sporozoites in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from Papua New Guinea. *Journal of Medical Entomology*, 24: 433–437.
- Wondji, C. S., Irving, H., Morgan, J., Lobo, N. F., Collins, F. H., Hunt, R. H., Coetzee, M., Hemingway, J. & Ranson, H. 2009. Two duplicated P450 genes are associated with pyrethroid resistance in *Anopheles funestus*, a major malaria vector. *Genome research*, 19(3), 452-459.
- Wondji, C. S., Dabire, R. K., Tukur, Z., Irving, H., Djouaka, R., & Morgan, J. C. 2011. Identification and distribution of a GABA receptor mutation conferring dieltrin resistance in the malaria vector *Anopheles funestus* in Africa. *Insect biochemistry and molecular biology*, 41(7) : 484-491.
- World Health Organization: Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. Geneva: WHO, 2013.
- Wu, X., Tian, H., Zhou, S., Chen, L. & Xu, B. 2014. Impact of Global Change on Transmission of Human Infectious Diseases. *China Earth Science*, 57 :189–203.
- Wright, S. 1954. The interpretation of multivariate systems. *Statistics and mathematics in biology*, 2: 11-33.
- www.microbiologie-médicale.fr, Amplification génique par PCR, cours de microbiologie en ligne, 2022.
- Yawson, A. E., McCall, P. J., Wilson, M. D., & Donnelly, M. J. 2004. Species abundance and insecticide resistance of *Anopheles gambiae* in selected areas of Ghana and Burkina Faso. *Medical and veterinary entomology*, 18(4) : 372-377.
- Yewhalaw, D., Legesse, W., Van Bortel, W., Gebre-Selassie, S., Kloos, H., Duchateau, L., & Speybroeck, N. 2009. Malaria and water resource development: the case of Gilgel-Gibe hydroelectric dam in Ethiopia. *Malaria journal*, 8(1): 1-10.

- Zaim, M., Aitio, A. & Nakashima, N. 2000. Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *Medical and veterinary entomology*, 14:1-5.
- Zhou, S.S., Huang, F., Wang, J.J., Zhang, S.S., Su, Y.P. & Tang, L.H. 2010. Geographical, Meteorological and Vectorial Factors Related to Malaria Re-Emergence in Huang-Huai River of Central China. *Malaria Journal*, 9:337.
- Zinyowera, M.C., Moss, R.H. & Watson, R.T. 1997. The Regional Impacts of Climate Change: An Assessment of Vulnerability. *Cambridge University Press*, Volume 27 Cambridge, UK.



**ANNEXES**

**Annexe 1 : Clé d'identification des adultes d'anophèles**

**CLES DES ANOPHELES VECTEURS MAJEURS AU CAMEROUN (adultes)**

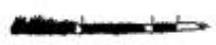
**CARACTERES COMMUNS**

- Abdomen SANS touffes d'écailles latérales
- Pattes postérieures SANS AUCUN tarse entièrement blanc
- Apex des palpes blancs
- Aile avec des taches blanches et noires réparties sur toute la surface

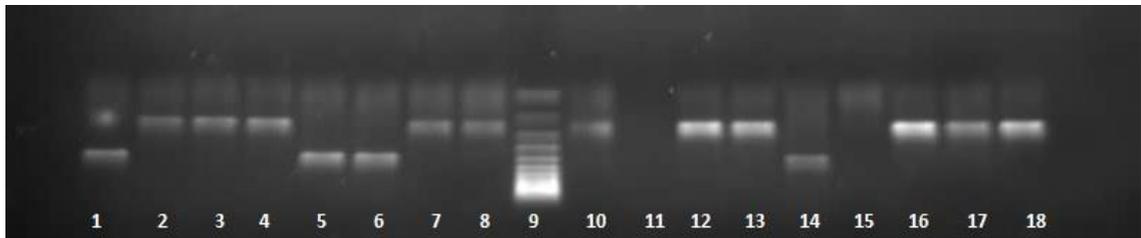
**CARACTERES DISTINCTIFS**

1. - Palpe entièrement noire .....*An. obscurus (non vector)* 
  - Palpe avec bandes pâles ⇒ 2
2. - Palpe avec une seule bande pâle sur l'apex ..... *An. nili* 
  - Palpe avec plus d'une bande pâle ⇒ 3
3. - Pattes entièrement noires ..... *An. funestus* 
  - Pattes pas complètement noires ⇒ 4
4. - Pattes tachetées..... *A. gambiae s.l.* 
  - Pattes avec bandes pâles sur l'apex de chaque tarse..... *An. m. moucheti* 

**AUTRES CRITERES BIOMETRIQUES**

|                          | palpe                                                                               | aile                                                                                | patte                                                                                 |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| - <i>A. gambiae s.l.</i> |  |  |  |
| - <i>An. funestus</i>    |  |  |  |
| - <i>An. moucheti</i>    |  |  |  |
| - <i>An. nili</i>        |  |  |  |

**Annexe 2 :** photographie d'un gel d'agarose à 1,5% après migration électrophorétique pour l'identification des espèces du complexe *A. gambiae* s.l. à Nyabessan



1 : Témoin *A. coluzzii* (479 bp); 2 : témoin *A. gambiae* ( 249 bp); 9: marqueur de taille; 11: témoin négatif ; 3,4,7,8,10,12,13,16,17,18: *A. gambiae*; 5,6,14: *A. coluzzii*, 15: échantillon non valide

**Annexe 3:** publication issue de la thèse

**Lili R. MBAKOP**, Parfait H. AWONO-AMBENE , Stanislas E. MANDENG, Wolfgang E. EKOKO, Bertrand N. FESUH , Christophe ANTONIO-NKONDJIO, Jean-Claude TOTO, Philippe NWANE, Abraham FOMENA and Josiane ETANG. **2019**. Malaria Transmission around the Memve'ele Hydroelectric Dam in South Cameroon: A Combined Retrospective and Prospective Study, 2000–2016, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16, 1618.

#### **Annexe 4 : liste des présentations aux conférences**

##### **Présentations orales**

**Lili Ranaise MBAKOP**, Parfait AWONO-AMBENE , Wolfgang EKOKO, Stanislass MANDENG, Christophe Antonio-Nkondjio, Abraham FOMENA, Josiane ETANG. **2021. The effects of urbanization on malaria vector populations in Simbock-Cameroon.** Second Cameroon PAMCA chapter conference, July 06-07 2021.

**Lili Ranaise MBAKOP**, Parfait AWONO-AMBENE , Wolfgang EKOKO, Stanislass MANDENG, Christophe Antonio-Nkondjio, Abraham FOMENA, Josiane ETANG. **2018.** Monitoring of insecticide susceptibility of *Anopheles gambiae* in two environments under anthropogenic pressure. *PAMCA Cameroon first annual conference*, January 11, 2018.

##### **Presentations poster**

**Lili Ranaise MBAKOP**, Parfait AWONO-AMBENE , Wolfgang EKOKO, Stanislass MANDENG, Christophe Antonio-Nkondjio, Abraham FOMENA, Josiane ETANG. 2021. The effects of urbanization on malaria vector populations in Simbock-Cameroon. *Première conférence de « WIM » (Women In Malaria)*, webinaire du 22 au 24 Mars 2021.

**Lili Ranaise MBAKOP**, Parfait AWONO-AMBENE , Wolfgang EKOKO, Stanislass MANDENG, Christophe Antonio-Nkondjio, Abraham FOMENA, Josiane ETANG. **2017.** Changes on malaria vector composition and behavior induced by the construction of a large dam in South Cameroon. *22nd Meeting and Conference of the African Association of Insect Scientists* 23 – 26 October 2017, Wad Medani, Sudan.

**Lili R. MBAKOP**, Parfait H. AWONO-AMBENE , Stanislas E. MANDENG, Wolfgang E. EKOKO, Bertrand N. FESUH , Christophe ANTONIO-NKONDJIO, Jean-Claude TOTO, Philippe NWANE, Abraham FOMENA and Josiane ETANG. **2019.** Malaria Transmission around the Memve’ele Hydroelectric Dam in South Cameroon: A Combined Retrospective and Prospective Study, 2000–2016. *6th PAMCA Annual Conference & Exhibition* 23-25 September, 2019, Hilton Hotel Yaoundé, Cameroon.