

Surveillance Entomologique: Dynamique de la population et de la résistance aux insecticides chez *Anopheles gambiae* s.l en milieu de riziculture irriguée au Sud Bénin.

DJEGBE Innocent ^{1,3*}, MISSIHOUN Antoine Abel ², DJOUAKA Rousseau ³, AKOGBETO Martin ⁴

¹⁾ Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques d'Abomey, Ecole Normale Supérieure de Natitingou, BP 72, Natitingou, Bénin

²⁾ Département de Génétique et des Biotechnologies, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 01BP 526 Cotonou Bénin

³⁾ Plateforme AgroEcoHealth, Institut International d'Agriculture Tropicale, 08 BP. 0932 Tri-postal Cotonou, Bénin

⁴⁾ Faculté des Sciences et Techniques de l'Université d'Abomey-Calavi, Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, 06 BP 2604, Bénin

Adresse de l'auteur correspondant : DJEGBE Innocent, Tél : (+229) 96775683, Email : djegbe1@yahoo.fr

Original submitted in on 31st January 2017. Published online at www.m.elewa.org on 31st March 2017
<http://dx.doi.org/10.4314/jab.v11i1.10>

RÉSUMÉ

Objectifs : Un suivi entomologique longitudinal a été réalisé à Lélé, un village de riziculture irriguée du Sud Bénin, entre Février 2009 et Janvier 2010. L'étude avait pour but de répertorier les vecteurs du paludisme par capture de moustiques sur des volontaires, récolter des larves d'anophèles et évaluer la sensibilité des moustiques aux insecticides couramment utilisés en santé publique.

Méthodes et Résultats : Des moustiques ont été capturés sur appâts humains volontaires en utilisant des aspirateurs à bouche et des larves d'anophèles ont été collectées dans des casiers rizicoles par la méthode de dipping en Février 2009, Mai 2009 et Octobre 2009. La densité agressive moyenne et le taux d'inoculation entomologique ont été calculés. Des bioessais ont été réalisés selon le protocole de l'OMS avec des femelles d'*Anopheles gambiae* s.l âgées de deux à cinq jours. Les insecticides utilisés sont : le DDT 4%, la perméthrine 0,75%, la deltaméthrine 0,05%, le carbosulfan 0,6%, le bendiocarbe 0,1% et le fénitrothion 1%. L'infection au *Plasmodium* a été testée par la méthode d'ELISA. Les espèces d'anophèles capturés et les mécanismes de résistance développés ont été identifiés par la PCR. Quatre espèces appartenant au genre *Anopheles* ont été collectées avec la prédominance d'*An. gambiae* (94%). La technique ELISA a montré que seul *An. gambiae* s.l était porteur de *Plasmodium falciparum* avec un indice sporozoïtique de 4,17%. La densité agressive d'*An. gambiae* a été de 34,52 piqûres/homme/nuit et le taux d'inoculation entomologique de 525 piqûres infectantes/homme/an. Les résultats de la PCR ont montré qu'*An. coluzzii* était la seule espèce du complexe *An. gambiae* retrouvée. Les bioessais ont montré une forte résistance des moustiques au DDT, à la perméthrine, à la deltaméthrine et au carbosulfan. En revanche ces moustiques ont été totalement sensibles au fénitrothion et au bendiocarb. Le mécanisme de résistance en cours était la mutation kdr, (knockdown resistance), L1014F qui favorise une résistance croisée au DDT et aux pyréthrinoides avec une fréquence variant entre 0,68 et 0,86.

Conclusion et application : Dans ce village, les mesures de lutte contre le paludisme basées sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides pourraient être compromises. Vu la sensibilité des moustiques au

bendiocarb et au fénitrothion, ces insecticides pourraient constituer une alternative dans la lutte contre les vecteurs du paludisme. Le présent article véhicule de nouvelles informations qui devraient être profitables pour les programmes de lutte dans la réduction du poids du paludisme au Bénin.

Mots clés : riziculture irriguée, *Anopheles gambiae*, résistance aux insecticides, mutation kdr, Bénin

Entomological survey: Dynamic of population and the insecticide resistance in *Anopheles gambiae* s.l in irrigated rice field in Southern Benin

ABSTRACT

Objectives: From February 2009 to January 2010 a longitudinal entomological survey was carried out in Lélé, an irrigated rice growing village in southern Benin. This study aimed to record the index Plasmodium-carrying, *Anopheles* species by capturing mosquitoes on human volunteers, collecting larvae and assessing the susceptibility of mosquitoes to insecticides commonly used in public health

Methods and Results: Mosquitoes were captured on human volunteers using mouth aspirator and anopheline larvae were collected using the dipping method, three times during this survey. The mean aggressive density and entomological inoculation rate were calculated. WHO Bioassays were carried out using females of *An. gambiae* s.l aged two to five days. The insecticides used were 4% DDT, 0.75% permethrin, 0.05% deltamethrin, 0.6% carbosulfan, 0.1% bendiocarb and 1% fenitrothion. The *plasmodium* infection was tested by the ELISA method. Captured anopheline species and the developed resistance mechanism were identified by PCR. A total of 4 species belonging to the *Anopheles* genus were collected with the predominance of *An. gambiae* (94%). ELISA technique demonstrated that only *An. gambiae* s.l was able to carry *Plasmodium falciparum* with a sporozoite rate of 4.17%. The mean aggressive density of *An. gambiae* was 34.52 bites/man/night and the inoculation rate was 525 infective bites/man/year. The PCR results showed that *An. coluzzii* was the only species of the *An. gambiae* complex recorded. WHO bioassays showed that mosquitoes were resistant to DDT, permethrin, deltamethrin and carbosulfan. However, these mosquitoes are fully susceptible to fenitrothion and bendiocarb. The current resistance mechanism was the kdr L1014F (knockdown resistance) mutation which promoted cross-resistance to DDT and pyrethroids at high frequencies varying between 0.68 and 0.86.

Conclusion and application: The high frequency of kdr, L1014F mutation recorded in this irrigated rice village could jeopardize the malaria vectors control based on the use of insecticide-treated mosquito nets. The full susceptibility of mosquitoes to bendiocarb and fenitrothion, suggested that these insecticides may be an alternative in the control of malaria vectors in this village. This paper conveyed new information that should be beneficial to control programs to reduce the malaria burden in Benin.

Keys words: irrigated rice field, *Anopheles gambiae*, insecticide resistance, kdr mutation, Benin

INTRODUCTION

Au cours des dix dernières années, les fonds alloués à la lutte contre le paludisme à l'échelle mondiale ont été multipliés par 10 pour atteindre 2,5 milliards de dollars en 2014. Si le nombre de cas de paludisme et de décès associés a baissé, la maladie reste un problème de santé publique majeur dans de nombreux pays d'Afrique au sud du Sahara (OMS, 2015). Dans la région intertropicale de l'Afrique, les zones de reproduction des anophèles vecteurs du paludisme connaissent une extension suite à la déforestation et des aménagements hydro-agricoles comme la riziculture (Tia et al., 2006). Au Bénin,

pour répondre à la très forte demande de vivres liée à une croissance rapide de la population, le gouvernement a encouragé l'installation des rizières dans les zones marécageuses. Ainsi, la transformation des bas-fonds en rizières, aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain, connaît-elle une expansion rapide. La superficie des bas-fonds aménagés afin d'augmenter la production vivrière devrait s'accroître suivant les recommandations de la FAO (FAO, 2011). Cette organisation soutient la réalisation de petits projets agricole en milieu urbains et périurbains qui malheureusement favorisent la

prolifération des vecteurs du paludisme. C'est le cas de la ville de Cové où un bas-fond d'environ 165 ha a été aménagé pour la riziculture depuis 1972 (Agbazahou, 2013). Cette situation a eu pour conséquence une augmentation de la densité des populations anophéliennes. Dans ces conditions, les principales méthodes de lutte contre les vecteurs du paludisme à l'aide de moustiquaires imprégnées à longue durée d'action et de pulvérisations intradomiciliaires d'insecticides à effet rémanent sont largement acceptées par les populations. Cependant, de récentes études ont évoqué le lien entre la résistance des vecteurs du paludisme et les traitements (emploi de pesticides et de fertilisants) en agriculture dans plusieurs régions d'Afrique (Diataté *et al.*, 2002 ; Akogbéto *et al.*, 2005 ;

Chouaibou *et al.*, 2008 ; Yadouleton *et al.*, 2009). Cette situation est préoccupante dans la mesure où l'utilisation à grande échelle des moustiquaires imprégnées de pyréthrinoides est fortement adoptée par les programmes nationaux de lutte contre le paludisme (PNLP). Dans un contexte de lutte contre le paludisme et du développement de la résistance des vecteurs aux insecticides, il est indispensable de connaître les espèces locales des anophèles vecteurs et leur niveau de sensibilité vis-à-vis des insecticides dans un faciès écologique bien défini. Notre étude a eu pour but d'évaluer la densité et la sensibilité aux insecticides des populations d'*An. gambiae* s.l en zone de riziculture irriguée de Lélé sur une période d'un an.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Zone d'étude : L'étude a été réalisée dans la Commune de Cové, dans le périmètre rizicole de Lélé (7°14N-2°17') (voir figure 1). Cové est situé à environ 160 Km de Cotonou la capitale économique du Bénin. La zone d'étude jouit d'un climat de transition entre le climat subéquatorial maritime et le climat soudano-guinéen du nord Bénin avec deux saisons pluvieuses d'Avril à Juin et de Septembre à Octobre ; et deux saisons sèches de Novembre à Mars et de Juillet à Août. La ville de Cové possède un bas-fond aménagé pour la culture du riz depuis 1972 par des riziculteurs regroupés en coopérative. Le périmètre rizicole couvre une superficie de 165 hectares. Le riz est cultivé au moins deux fois par an (d'Octobre à Juillet) avec une maîtrise de l'eau. Les parcelles sont irriguées par l'eau du fleuve Zou à l'aide de motopompes pendant la saison sèche. Dans la pratique, l'exploitation des casiers rizicoles est réalisée de façon asynchrone au cours d'un cycle, avec pour conséquence des parcelles à différents stades de développement des plants de riz durant le cycle cultural. Les paysans utilisent les herbicides pour la destruction des mauvaises herbes, des insecticides pour le traitement des cultures et des fertilisants comme les engrais chimiques.



Figure 1 : Carte du Bénin montrant la zone d'étude

Capture des moustiques : Le protocole d'étude repose sur un suivi entomologique longitudinal réalisé entre Février 2009 et Janvier 2010 par des prospections larvaires et des captures sur des volontaires (protégés contre le paludisme par une prophylaxie à la cofanthrine et vaccinés contre la fièvre jaune). Les moustiques adultes ont été récoltés de 20h à 6h du matin, sur des sujets humains volontaires, placés à l'extérieur et à l'intérieur de 5 habitations choisies comme points de captures. La collecte s'est déroulée à un rythme de 2 nuits consécutives/mois. Dans l'ensemble cette étude a nécessité 240 homme-nuits de captures pour les 12 mois.

Pour la récolte des larves, des prospections ont été faites dans les casiers rizicoles pouvant constituer des gîtes larvaires à anophèles. Des larves d'anophèles ont été collectées par la méthode de dipping (Silver et Service, 2007) en utilisant des louches à manche dans les casiers rizicoles. Elles sont conservées dans des gobelets puis transportées aux insectariums du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou où elles ont été élevées jusqu'à l'émergence des adultes. Les moustiques issus de l'élevage à l'insectarium et ceux capturés directement sur appât humains volontaires ont été identifiés, à partir de critères morphologiques contenus dans les clés de détermination taxonomique (Gillies et De Meillon, 1968).

Test de sensibilité aux insecticides : Les tests de sensibilité ont été réalisés avec des moustiques femelles issus de l'émergence de larves d'*An. gambiae* récoltées sur le terrain en Février, Mai et Octobre 2009. Les larves ont été élevées dans des conditions standard de température (26 à 30 °C) et d'humidité (70 à 80 %) à l'insectarium du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC). Le dépistage et la caractérisation phénotypique des spectres et niveaux de résistance ont été effectués par des tests de sensibilité réalisés selon les méthodes standards de l'OMS (WHO, 2005) avec des femelles non gorgées, âgées de 2 à 5 jours. Pour chaque insecticide, 4 lots de 15 à 25 moustiques ont été exposés pendant 1 heure aux papiers imprégnés d'insecticides. Le temps d'exposition des moustiques aux papiers imprégnés d'insecticides est de 60 minutes et le temps d'observation avant la lecture des mortalités est de 24 heures.. Deux pyréthrinoïdes communément employés pour l'imprégnation des moustiquaires (la perméthrine 0,75% et la deltaméthrine 0,05%), un organochloré (le DDT 4%), deux carbamates (le bendiocarb 0.1% et le carbosulfan 0,6%) et un organophosphoré (le fénitrothion 1%) ont été testés. Les bioessais ont impliqué également l'utilisation de synergiste classique PBO (Pipéronyl-butoxyde), afin de ressortir l'importance des enzymes de détoxification dans la résistance. Pour ce faire, les moustiques ont été d'abord exposés au PBO pendant 1h avant d'être soumis à la perméthrine ou à la deltaméthrine. Des moustiques (témoins) ont été

également exposés aux papiers non imprégnés. La mortalité au bout de 24 heures a été déterminée. Les tests n'ont été validés que lorsque la mortalité observée dans les témoins a été inférieure à 5 %.

Traitement des moustiques au laboratoire : La détermination des anophèles infectés par *Plasmodium falciparum* a été faite par la technique d'ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) circumsporozoïte protein (CSP) décrite par Burkot et al. (1984) et modifiée par Wirtz et al. (1987) afin de calculer l'indice sporozoïtique et le taux d'inoculation entomologique. Environ 70 moustiques issus des témoins des bioessais ont été utilisés pour la détermination des espèces (Favia et al. 1997) et des mutations kdr L1014F et Ace.1 par PCR (Polymerase Chain Reaction). Les amorces Agd1 (5'-ATAGATTCCCCGACCATG-3') et Agd3 (5'-AATTTCATTACTTACGACA-3') ont été utilisées pour le criblage de la mutation kdr (L1014F) tel que décrits par Martinez-Torres et al. (1998). Par contre, les amorces Ex3AGdir (5'-GATCGTGGACACCGTGTTCG-3') et Ex3AGrev (5'-AGGATGGCCCGCTGGAACAG-3') ont permis la détection de la mutation Ace.1 (G119S) suivant le protocole décrit par Weill et al. (2004).

Analyse statistique des données : La densité agressive (nombre de piqûre/homme/nuit) et le taux d'inoculation entomologique (TIE) ont été calculés par la méthode standard précédemment décrite par Fontenille et al. (1997). Le TIE annuel a été exprimé en nombre de piqûres infestés/homme/an, il est calculé en faisant le produit du taux d'infestation moyen annuel (%) et de la densité agressive moyenne annuelle (phn) X 365 jours. La sensibilité et la résistance des moustiques vis-à-vis des insecticides ont été définies suivant les critères de l'OMS (OMS, 1998) : mortalité > 98% indique une population sensible ; mortalité de 90-98% résistance suspectée et mortalité < 90% indique une population résistante. Les fréquences alléliques des gènes de résistances kdr L1014F et Ace.1 responsables respectivement de la résistance aux pyréthrinoïdes/DDT et aux carbamates/organophosphorés ont été calculées puis comparées entre les périodes de collectes des moustiques via le test de Chi² du logiciel GENEPOP.

RÉSULTATS

Composition de la faune culicidienne : De février 2009 à janvier 2010, 19134 moustiques ont été capturés en 240 homme-nuits. Ces moustiques ont été constitués majoritairement d'espèces des genres *Anopheles* (8770 individus), *Mansonia* (6538 individus) et *Culex* (3725 individus) (Tableau 1). Parmi les anophèles collectés, les deux espèces vectrices du paludisme au Bénin à savoir

Anopheles gambiae s.l et *Anopheles funestus* ont représenté respectivement 8285 (94,43%) et 21 (0,23%) de la faune anophélienne (Tableau 2). Parmi les femelles d'*An. gambiae* s.l capturées, 192 ont été choisis au hasard puis testés à la PCR. *An. coluzzii* a été la seule espèce identifiée dans le complexe *An. gambiae*.

Tableau 1 : Faune culicidienne collectée dans le périmètre rizicole de Lélé

Espèces capturées	févr-09	mars-09	avr-09	mai-09	juin-09	juil-09	août-09	sept-09	oct-09	nov-09	déc-09	janv-10	Total (%)	
An. gambiae s.l	746	1079	1180	859	1019	534	295	194	315	579	698	787	8285	(43,299885)
<i>An. pharoensis</i>	46	77	42	15	7	10	31	24	22	34	49	61	418	(2,184593)
<i>An. ziemanni</i>	2	3	21	8	5	0	2	0	0	2	0	3	46	(0,24041)
An. funestus	1	1	5	3	4	0	1	0	0	0	5	1	21	(0,109752)
<i>Ma. africana</i>	338	164	123	494	825	1192	908	328	643	543	466	514	6538	(34,169541)
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	255	213	130	272	523	633	329	167	329	206	302	366	3725	(19,467963)
<i>Ae. Aegypti</i>	6	1	6	9	3	7	10	5	2	19	12	21	101	(0,527856)
Total	1394	1538	1507	1660	2386	2376	1576	718	1311	1383	1532	1753	19134	(100)

NB : An = *Anopheles*, Ma = *Mansonia*, Cx = *Culex*, Ae = *Aedes*

Tableau 2: Faune anophélienne capturée dans le périmètre rizicole de Lélé

Espèces	févr-09	mars-09	avr-09	mai-09	juin-09	juil-09	août-09	sept-09	oct-09	nov-09	déc-09	janv-10	Total (%)
An. gambiae s.l	746	1079	1180	859	1019	534	295	194	315	579	698	787	8285 (94,469783)
<i>An. pharoensis</i>	46	77	42	15	7	10	31	24	22	34	49	61	418 (4,766249)
<i>An. ziemanni</i>	2	3	21	8	5	0	2	0	0	2	0	3	46 (0,524515)
An. funestus	1	1	5	3	4	0	1	0	0	0	5	1	21 (0,239453)
Total	795	1160	1248	885	1035	544	329	218	337	615	752	852	8770 (100)

Densité agressive des femelles de moustiques : Dans ce périmètre rizicole, la densité agressive a été estimée en moyenne à 34,52 piqûres/homme/nuit (phn) pour *An. gambiae* s.l. Cette densité est influencée par le niveau du développement du riz. Elle a atteint son pic en Avril (59

phn) et en juin (50,95 phn) (figure 2), périodes de la production intense qui coïncident avec le repiquage du riz. Pour le second vecteur, *An. funestus*, la densité agressive moyenne est de 0,08 phn.

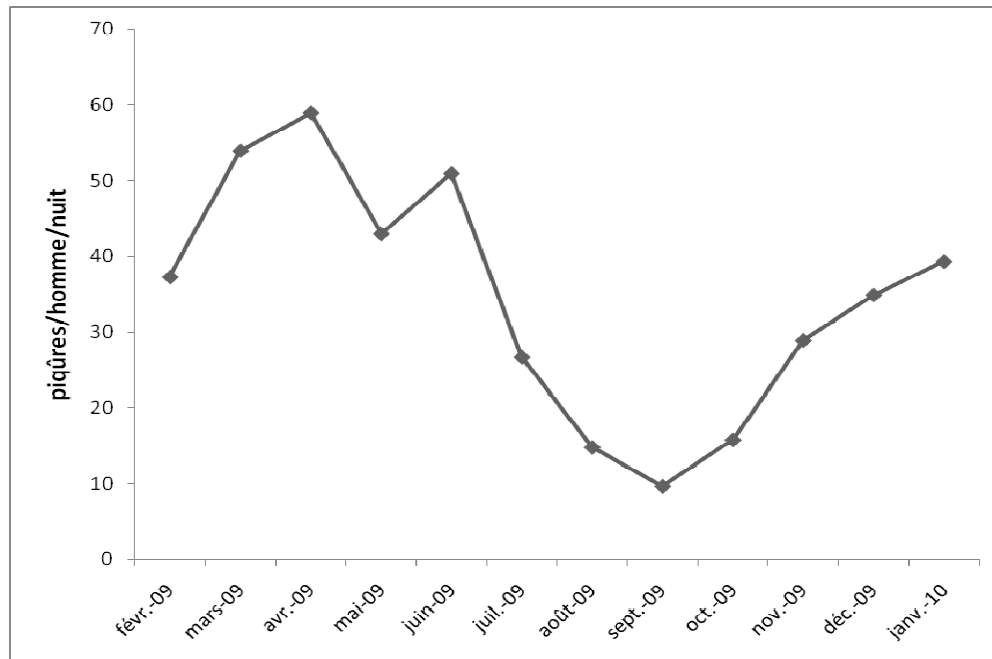


Figure 2 : Evolution de la densité agressive d'*An. gambiae* s.l

Indice sporozoïtique et taux d'inoculation entomologique : Au total, 959 femelles d'*An. gambiae* s.l et 21 femelles d'*An. funestus* ont été testées par ELISA CSP. Le taux d'infestation à *P. falciparum* a été de 4,17% pour *An. gambiae* s.l. et nul pour *An. funestus*. Le taux d'inoculation entomologique annuel a été de 525 piqûres infectantes par homme et par an pour *An. gambiae* s.l.

Sensibilité d'*An. gambiae* s.l aux insecticides : Les tests de sensibilité réalisés ont montré une très forte résistance des moustiques au DDT, à la perméthrine, à la deltaméthrine et au carbosulfan avec de très faible taux

de mortalité au cours des trois périodes de collecte de larves des anophèles (Figure 3). En revanche, ces populations ont été complètement sensibles au bendiocarb et au fénitrothion durant toute la période de l'étude. Les tests impliquant le synergiste PBO (inhibiteur des P450) ont montré une réduction significative du niveau de résistance à la deltaméthrine confirmant ainsi l'implication des enzymes de détoxification « oxydases » dans la résistance aux pyréthrinoides dans ce milieu rizicole (Figure 4).

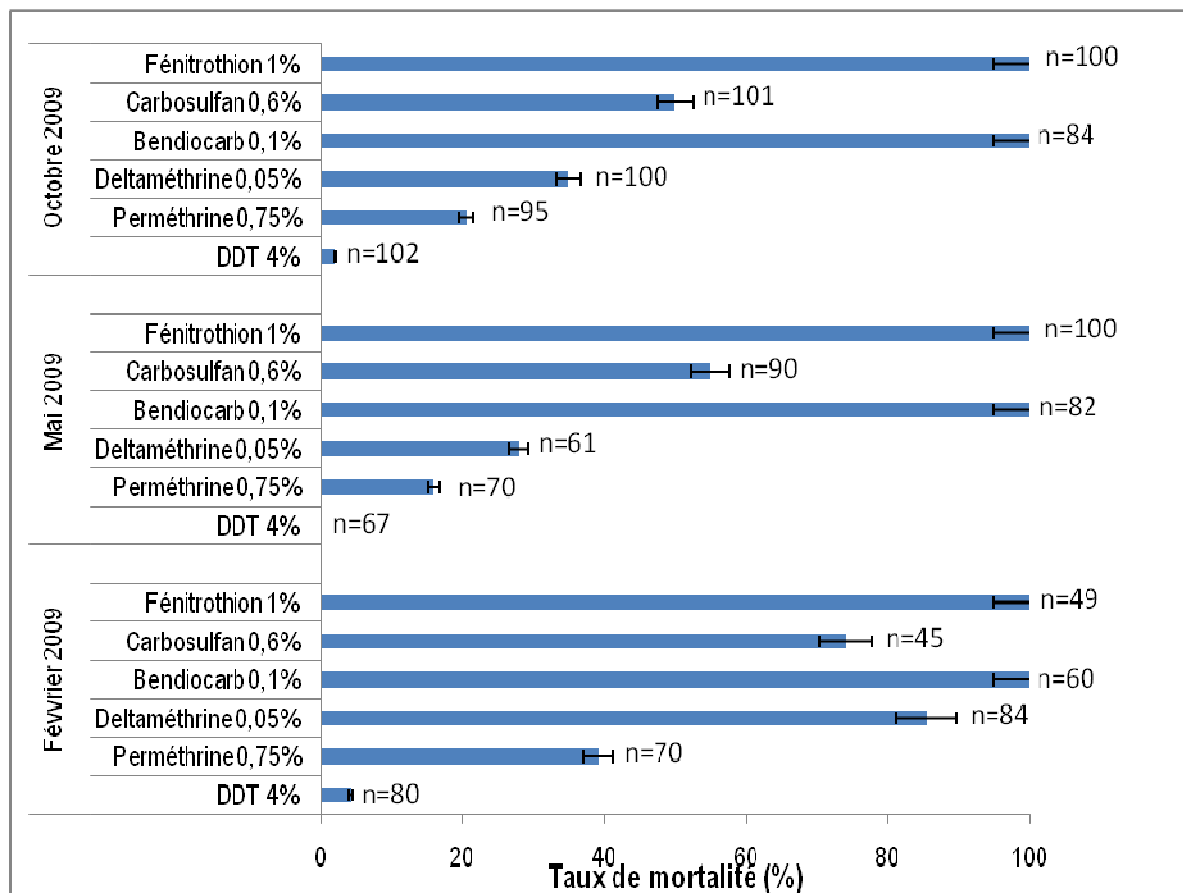


Figure 3 : Statut de la sensibilité aux insecticides chez *An. gambiae* s.l à différentes périodes

NB : Les histogrammes indiquent les taux (%) de mortalité des moustiques après 24h d'exposition suivant les insecticides utilisés. n correspond au nombre de moustiques exposés à chacun des insecticides) Les barres d'erreurs sont des intervalles de confiance à 95%

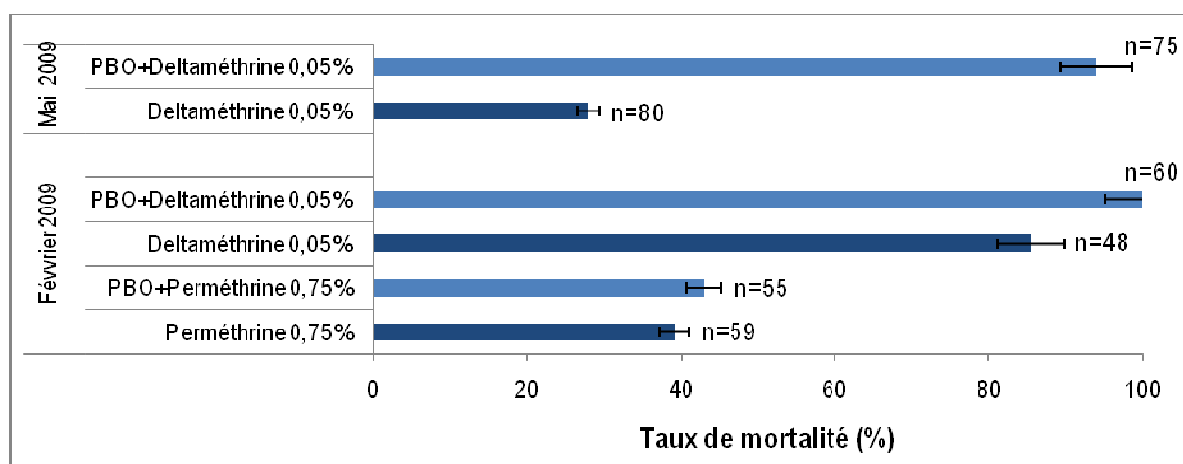


Figure 4 : Sensibilité de *An. gambiae* s.l aux Pyréthrinoïdes avec ou sans PBO.

NB : Les histogrammes en bleu foncé indiquent les taux (%) de mortalité des moustiques après 24h d'exposition aux insecticides seuls tandis que ceux en bleu-ciel correspondent aux taux (%) de mortalité des moustiques après 1h d'exposition au PBO suivi d'exposition aux insecticides pendant 24h. n est égal au nombre de moustiques testés par insecticide. Les barres d'erreurs sont des intervalles de confiance à 95%

Mécanisme de résistance aux insecticides : La PCR diagnostic d'espèce a montré que seule *An. coluzzii* était présente dans le périmètre rizicole de Lélé. La mutation kdr L1014F était présente dans la population sauvage d'*An. coluzzii* à une forte fréquence, respectivement de 0,68 ; 0,77 et 0,86 en Février 2009, Mai 2009 et Octobre

2009.. La fréquence allélique de ce gène a été significativement plus forte en Octobre 2009 qu'en Février 2009 ($p=0,023$), (Tableau 3). En revanche, la mutation Ace.1 a été retrouvée dans la population mais à une très faible fréquence en Octobre 2009 (voir Tableau 3).

Tableau 3: Fréquences alléliques des mutations kdr L1014F et Ace.1 chez *An. coluzzii*

	Mutation kdr					Mutation Ace.1			
	N	SS	RS	RR	F(R)	SS	RS	RR	F(R)
févr-09	66	8	26	32	0,68 ^a	66	0	0	0
mai-09	70	6	19	45	0,77 ^{ab}	70	0	0	0
oct-09	64	4	10	50	0,86 ^b	62	2	0	0,015

NB : Les nombres portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents,

RR = individus homozygotes résistant, RS = individus hétérozygotes et SS = individus homozygotes sensibles ;

F(R) = Fréquence de l'allèle résistant = $\frac{nRS + 2x(nRR)}{2N}$

DISCUSSION

L'étude de la dynamique des populations et du niveau de sensibilité aux insecticides des anophèles vecteurs du paludisme est un préalable indispensable pour mettre en place un contrôle efficace et ciblé de ces vecteurs (Fontenille et al. 2003). Le suivi entomologique réalisé de Février 2009 à Janvier 2010 dans ce milieu de riziculture a permis d'identifier 4 espèces anophéliennes. Cette diversité d'espèces observée résulterait de la combinaison des différents facteurs écologiques et climatiques qui ont façonné des biotopes offrant des gîtes spécifiques au développement des larves de chaque espèce (Tia et al. 2006). Les deux vecteurs du paludisme capturés dans ce milieu sont *An. coluzzii* et *An. funestus* avec une forte prédominance de la première espèce. La diversification et la prédominance du genre *Anopheles*, en particulier la prépondérance d'*An. coluzzii* dans les aménagements hydro-agricoles ont été déjà rapportées par de nombreux travaux (Tia et al. 2006 ; Konan et al. 2009). Cette prédominance serait sans doute la conséquence de la nature permanente des gîtes rencontrés en milieu rizicole. En effet, dans les périmètres rizicoles, l'irrigation permanente des casiers entretient la prolifération des anophèles surtout ceux inféodés aux gîtes permanents comme *An. coluzzii* (Djegbe et al. 2011 ; Konan et al. 2011). Les captures nocturnes réalisées sur hommes ont permis d'obtenir des pics d'agressivité d'*An. gambiae* s.l qui coïncident avec le stade de repiquage du riz. En effet, la riziculture irriguée, son exploitation ininterrompue et les chevauchements réguliers des cycles culturels et de différents stades phénologiques des plants assurent une grande disponibilité et une pérennisation des biotopes propices

au développement larvaire de cette espèce. Les tests d'ELISA CSP ont montré que seule *An. coluzzii* était capable de transmettre *P. falciparum*. Des observations similaires ont été déjà faites dans le milieu rizicole de Malanville à l'extrême Nord du Bénin par Gnanguenon et al. (2014). Dans notre étude *An. funestus* n'a pas été porteur de *Plasmodium* mais ce constat serait lié au faible effectif des individus capturés. De récents travaux réalisés dans les localités de Pahou et de Kpomé au Sud du Bénin ont bien démontré le rôle vecteur d'*An. funestus* avec des taux d'infection très élevés surtout pendant la saison des pluies lorsque l'activité de *An. gambiae* diminue (Djouaka et al. 2011 ; 2016). Cette étude révèle la présence d'une résistance aux insecticides au sein des populations de vecteurs dans ce périmètre rizicole. Les niveaux de résistance au DDT et aux pyréthrinoides ont été très élevés et ont différé suivant les périodes de collecte des moustiques. Une très forte résistance croisée au DDT et aux pyréthrinoides impliquant principalement la mutation kdr et les enzymes métaboliques a été observée chez *An. coluzzii*. Ces résultats confirment les travaux d'autres auteurs au Bénin (Djogbenou et al. 2010 ; Djegbe et al. 2014 ; Gnanguenon et al. 2015). En revanche, toutes les populations de moustiques testées ont été sensibles au Bendiocarbe et au fénitrothion confirmant les résultats de Djogbenou et al. (2010). Cette résistance est due à l'utilisation anarchique d'insecticides agricoles et domestiques à base de pyréthrinoides contre les ravageurs de cultures et contre la nuisance culicidienne occasionnée par les aménagements de cette rizière. Par ailleurs, la riziculture est pratiquée à Lélé depuis 1972 et bénéficie de l'encadrement des structures

étatiques et de la coopération chinoise. Elle aurait été soumise à des applications répétées de nombreuses familles d'insecticides chimiques. Ces applications induiraient une pression sélective sur les populations d'anophèles qui favorise les individus porteurs du gène de la résistance. Car les insecticides agricoles ne sont pas spécifiques et sont toxiques, aussi bien pour les ravageurs des cultures que pour les larves de moustiques. En général, les observations faites avec la mortalité corroborent celles enregistrées au niveau de la

fréquence allélique de la mutation *kdr*. La résistance aux pyréthrinoides observée chez *An. gambiae* en Afrique de l'Ouest est probablement un héritage de la résistance au DDT. Bien que le DDT ne soit plus utilisé au Bénin, la résistance actuelle à cet insecticide proviendrait de la pression de sélection exercée par le DDT, notamment pour la protection du coton entre les années 50 à 70, relayée par la suite par celle des pyréthrinoides (Chandre et al. 1999, Tia et al. 2006).

CONCLUSION

Dans la Commune de Covè, l'aménagement de 165 hectares de bas-fond pour la culture du riz irriguée à partir du fleuve Zou a modifié les conditions écologiques, favorisant la reproduction des anophèles vecteurs du paludisme toute l'année. La densité agressive quotidienne moyenne d'*An. gambiae*, à Lélé, village jouxtant le périmètre rizicole reste élevée pendant notre étude. Le manque de synchronisation des travaux sur l'ensemble du périmètre rizicole est un facteur qui participe au maintien de la transmission du paludisme.

Le phénomène de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides a été observé dans ce périmètre rizicole. Les traitements agricoles et domestiques en sont potentiellement responsables. Les recherches sur les différents facteurs qui influent sur la sélection de la résistance sont à encourager car elles sont indispensables à la compréhension de son évolution dans les populations des vecteurs du paludisme et, par la suite, à la mise en place de stratégies de gestion durable de cette résistance.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'Organisation Mondiale de la Santé pour avoir financé ces travaux et les agriculteurs de Lélé pour leur franche collaboration pendant la collecte des données. Innocent DJEGBE remercie l'Institut de

Recherche pour le Développement IRD pour lui avoir octroyé la bourse du Département Soutien et Formation (DSF) qui a servi en partie à financer cette étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agbazahou S.M., 2013. Durabilité de la riziculture sur les périmètres irrigués de Koussir-Lélé (Commune de Covè), Thèse de doctorat unique, université d'Abomey Calavi, 262p
- Akogbeto M.C., Djouaka R., Noukpo H., 2005. Use of agricultural insecticides in Benin. Bull Soc Pathol Exot, 98: 400-405.
- Burkot T.R., Williams J.L., Schneider I., 1984 - Identification of *Plasmodium falciparum* infected mosquitoes by double antibody enzyme-linked immunosorbent assay. Am J Trop Med Hyg, 33 : 783-788.
- Chandre F., Darrier F., Manga L., Akogbeto M., Faye O., Mouchet J., Guillet P. 1999. Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* sensu lato. Bull World Health Organ, 77: 230-234.
- Chouaibou 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. Trop Med Int Health, 13: 476-486.
- Diabate A., Baldet T., Chandre F., Akoobeto M., Guiguemde T.R., Darriet F., Brengues C., Guillet P., Hemingway J., Small GJ., Hougard J.M., 2002. The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae* s.l. in Burkina Faso. Am J Trop Med Hyg, 67: 617-622.
- Djegbe I., Boussari O., Sidick A., Martin T., Ranson H., Chandre F., Akogbeto M., Corbel V., 2011. Dynamics of insecticide resistance in malaria vectors in Benin: first evidence of the presence of L1014S *kdr* mutation in *Anopheles gambiae* from West Africa. Malar J, 10: 261.
- Djègbè I., Agossa F., Jones C.M., Poupardin R., Cornelie S., Akogbeto M., Ranson H., Corbel V., 2014. Molecular characterization of DDT resistance in *Anopheles gambiae* from Benin Parasit Vectors, 7:409

- Djogbenou L., Pasteur N., Akogbeto M., Weill M., Chandre F., 2010. Insecticide resistance in the *Anopheles gambiae* complex in Benin: a nationwide survey. Med Vet Entomol, 25: 256-267.
- Djouaka R., Riveron J.M., Yessoufou A., Tchigossou G., Akoton R., Irving H., Djegbe I., Moutairou K., Adeoti R., Tamò M., Manyong V., Wondji C.S., 2016 Multiple insecticide resistance in an infected population of the malaria vector *Anopheles funestus* in Benin. Parasit Vectors, 9:453
- FAO, 2011. Produire plus avec moins d'intrant. Guide à l'intention des décideurs sur l'intensification durable de l'agriculture paysanne. FAO, Rome, Italie.
- Favia G., Della Torre A., Bagayoko M., Lanfrancotti A., Sagnon N.F., Toure Y., Coluzzi, M., 1997 Molecular identification of sympatric chromosomal forms of *Anopheles gambiae* and further evidence of their reproductive isolation. Insect Mol Biol, 6: 377-383.
- Fontenille D., Lochouart L., Diagne N., Sokhna C., Lemasson J.J., Diatta M., Konaté L., Faye F., Rogier C., Trape J.F., 1997 High annual and seasonal variations in malaria transmission by anopheline and vector species composition in Dielmo, a Holoendemic area in Senegal.. Am J Trop Med and Hyg 56 : 247-253.
- Fontenille D., Cohuet A., Awono-Ambene P.H., Antonio-Nkondjio C., Wondji C., Kengne P., Dia I., Boccolini D., Duchemin J.B., Rajaonarivelo V., Dabiré R., Adja-Akre M., Ceainu C., Le Goff G. Simard F 2003. Systématique et biologie des anophèles vecteurs de *Plasmodium* en Afrique : données récentes. Med Trop, 63 : 247-53.
- Gillies M.T., 1987 A supplement to the Anophelinae of Africa south of the Sahara (Afrotropical region). Johannesburg: South African Institute for medical research, 143.
- Gillies M.T., De Meillon B., 1968. The Anophelinae of Africa South Or the Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). Johannesburg The South African Institute for Medical Research.
- Gnanguenon V., Govoechan R., Agossa F., Ossè R., Oke-Agbo F., Azondekon R., Sovi A Attolou R., Badirou K., Tokponnon F.T., Padonou G.G., Akogbeto M.C., 2014. Transmission patterns of *Plasmodium falciparum* by *Anopheles gambiae* in Benin. Malar J, 13: 444
- Konan K.G., Kone A.B., Konan Y.L., Fofana D., Konan K.L., Diallo A., Ziogba J.C., Touré M., Kouassi K.P., Doannio J.M.C., 2011. Résistance d'*Anopheles gambiae* s.l aux pyréthrinoides et au DDT à Tiassalékro, village de riziculture irriguée en zone sud forestière de Côte-d'Ivoire. Bull. Soc.Pathol. Exot, 104 :303-306
- Konan Y.L., Koné A.B., Doannio J.M.C., Fofana D., Odehouri-Koudou P, 2009. Malaria transmission in Tiassalékro, an irrigated rice growing village situated in the South forest area of Côte d'Ivoire. Santé Publique n°3203
- 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* s.s. Insect Mol Biol, 7:179-184
- Silver J.B., Service M.W., 2007. Mosquito Ecology: Field sampling methods. Springer Eds: 1494 pp.
- Tia E., Akogbeto M., Koffi A., Toure M., Adja A.M., Moussa K., Yao T., Carnevale P., Chandre F., 2006. Pyrethroid and DDT resistance of *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae) in five agricultural ecosystems from Cote-d'Ivoire]. Bull Soc Pathol Exot, 99: 278-282.
- WHO, 2015. World Malaria Report. Geneva.
- WHO, 1998 Tests procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces. WHO/CDS/CPC/MAL/98 12: 43 pp.
- WHO, 2005. Test Procedures for Insecticide Resistance Monitoring in Malaria Vector Mosquitoes. WHO, Geneva.
- Wirtz R.A., Zavala F., Charoenvit Y., Campbell G.H., Burkot T.R., Schneider I., Esser K.M., Beaudoin R.L, Andre R.G., 1987. Comparative testing of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* sporozoites for ELISA development. Bull World Health Organ, 65:39-45.
- Yadouleton AW., Asidi A., Djouaka R.F., Braima J., Agossou CD., Akogbéto M. 2009. Development of vegetable farming: a cause of the emergence of insecticide resistance in populations of *Anopheles gambiae* in urban areas of Benin. Malar J 8: 103.