

## Résistance aux insecticides chez *An. gambiae sl* dans quatre localités bioclimatiques différentes en Côte d'Ivoire

Salifou KONE\*, Mahama TOURE, Konan Serge Pacôme LOUKOU et Grégoire Yapi YAPI

Université Alassane Ouattara de Bouaké (UAO), Centre d'Entomologie Médicale et Vétérinaire,  
BP V 18 Bouaké, Côte d'Ivoire

(Reçu le 18 Août 2023 ; Accepté le 25 Septembre 2023)

\* Correspondance, courriel : [konesalifou76@yahoo.fr](mailto:konesalifou76@yahoo.fr)

### Résumé

Cette étude a pour objectif d'évaluer les niveaux de sensibilité d'*Anopheles gambiae (sl)* aux insecticides à Jacqueville, Yamoussoukro, Sakassou et Dabakala ; quatre localités bioclimatiques différentes en Côte d'Ivoire. Les larves d'*Anopheles gambiae (sl)* ont été collectées dans les localités d'étude et élevées jusqu'au stade adulte. Les moustiques adultes ainsi obtenus ont été utilisés pour évaluer le statut de résistance à l'aide des kits OMS avec neuf insecticides appartenant aux familles des pyréthrinoides, des organochlorés, des organophosphorés et des carbamates. Ensuite des tests moléculaires ont été réalisés avec des moustiques adultes directement recoltés sous double moustiquaire dans les mêmes localités pour identifier les mutations de cibles kdr L1014F et ace1<sup>R</sup> G119S. Les résultats ont montré des populations d'*An. gambiae sl* résistantes à presque toutes les familles d'insecticides sauf à un organophosphoré ; le pirimiphos-méthyl 0,25 %. Les deux mutations ponctuelles de cibles ont été retrouvées dans toutes les localités avec des fréquences comprises entre 0,57 et 0,83 pour la mutation L1014F et entre 0,02 et 0,16 pour la mutation G119S. Le pirimiphos-méthyl pourrait être conseillé dans la lutte contre les vecteurs du paludisme dans ces localités.

**Mots-clés :** vecteurs du paludisme, résistance, mutation, bioclimatique, Côte d'Ivoire.

### Abstract

#### Resistance into *An. gambiae sl* in four different bioclimatic areas in Côte d'Ivoire

The aim of this study was to assess the levels of susceptibility of *Anopheles gambiae (sl)* to insecticides in Jacqueville, Yamoussoukro, Sakassou and Dabakala, four different bioclimatic localities in Côte d'Ivoire. *Anopheles gambiae (sl)* larvae were collected in the study localities and reared to the adult stage. The adult mosquitoes thus obtained were used to assess resistance status using WHO kits with nine insecticides belonging to the pyrethroid, organochlorine, organophosphate and carbamate families. Molecular tests were then carried out on adult mosquitoes collected directly under double nets in the same localities to identify mutations in the kdr L1014F and ace1<sup>R</sup> G119S targets. The results showed *An. gambiae (sl)* populations resistant to almost all insecticide families except one organophosphate, pirimiphos-methyl 0.25 %. The two target point mutations were found in all localities with frequencies of between 0.57 and 0.83 for the L1014F mutation and between 0.02 and 0.16 for the G119S mutation. Pirimiphos-methyl could be recommended for malaria vector control in these localities.

**Keywords :** resistance, malaria vectors, mutation, bioclimatic, Côte d'Ivoire.

## 1. Introduction

Le paludisme est une parasitose transmise par les moustiques du genre *Anopheles*. Cette pathologie demeure une cause importante de décès chez les enfants et les adultes à travers le monde. Selon l'Organisation mondiale de la Santé, le paludisme a causé 247 millions de cas et 619 000 décès au monde en 2021 [1]. L'Afrique supporte le plus lourd fardeau de cette maladie avec 95 % des cas et 96 % des décès [1], en raison de la présence du parasite le plus virulent du paludisme, *Plasmodium falciparum*, et des vecteurs majeurs, *Anopheles gambiae* (sl) et *An. funestus* (sl) [2, 3]. En général, le contrôle des maladies implique la prévention et le traitement des infections humaines. Or les vaccins efficaces contre le paludisme ne sont pas encore disponibles et les parasites responsables de cette pathologie résistent continuellement aux différents médicaments. Ainsi, la lutte antivectorielle basée principalement sur l'utilisation des MILDA [Moustiquaires Imprégnées à longue Durée d'action] et la PID [Pulvérisation Intradomiciliaire] à base d'insecticides devient une nécessité. Cependant, la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme est répandue en Afrique de l'Ouest et pourrait entraver le succès des programmes de lutte antivectorielle. En Côte d'Ivoire, plusieurs travaux ont indiqué une résistance d'*An. gambiae* (sl), le principal vecteur du paludisme, aux quatre familles d'insecticides utilisés en santé publique [4 - 8]. Cette résistance est non seulement liée aux mutations de cibles Kdr et ACE-1 mais elle est aussi métabolique. La mutation kdr qui confère une résistance croisée aux pyréthrinoides et au DDT est causée par la substitution de la leucine sur le codon 1014 par la phénylalanine (L1014F, kdr communément trouvé en Afrique de l'ouest) ou par la sérine (L1014S, kdr communément trouvé en Afrique de l'est) est beaucoup répandue et est même proche de la fixation dans le pays [5, 7, 9, 10]. La mutation de l'acétylcholinestérase (ACE-1) est due à une substitution nucléotidique unique de la glycine en sérine à la position 119 dans le gène ACE-1 (G119S) [11] et réduit considérablement l'affinité de l'acétylcholinestérase pour les carbamates et les organophosphorés. La résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme est un processus dynamique dans lequel le niveau de résistance peut changer rapidement et fortement sous l'effet de la pression de sélection exercée à la fois par la santé publique et les pratiques agricoles [7, 12, 13]. Ainsi, rechercher l'existence de la résistance aux insecticides chez les vecteurs et déterminer les mécanismes responsables en fonction des contextes écologiques est-il nécessaire pour la mise en place de stratégies rationnelles de bonne gestion de lutte contre le paludisme. C'est pourquoi, la présente étude a pour objectif d'évaluer les niveaux de sensibilité aux insecticides chez *Anopheles gambiae* (sl) dans quatre localités bioclimatiques différentes en Côte d'Ivoire.

## 2. Matériel et méthodes

### 2-1. Sites de l'étude

Cette étude a été menée dans quatre localités de la Côte d'Ivoire. Il s'agit de Jacquerville (05°12' 21" N - 04°25' 24.071" W) située en zone de forêt ombrophile à 60 Km à l'ouest d'Abidjan(capitale économique), Yamoussoukro la capitale politique et administrative de la Côte-d'Ivoire (6°49'13" N - 5°16'36"W) située en zone de forêt mésophile et au centre à 230 km d'Abidjan, Sakassou (7° 25' 0"N - 5° 25' 0"W) en zone pré-forestière située au centre à 313 km d'Abidjan et Dabakala (8°21'48 "N - 4°25'43 "W) en zone de savane située au centre-nord à 479 Km d'Abidjan (*Figure 1*).

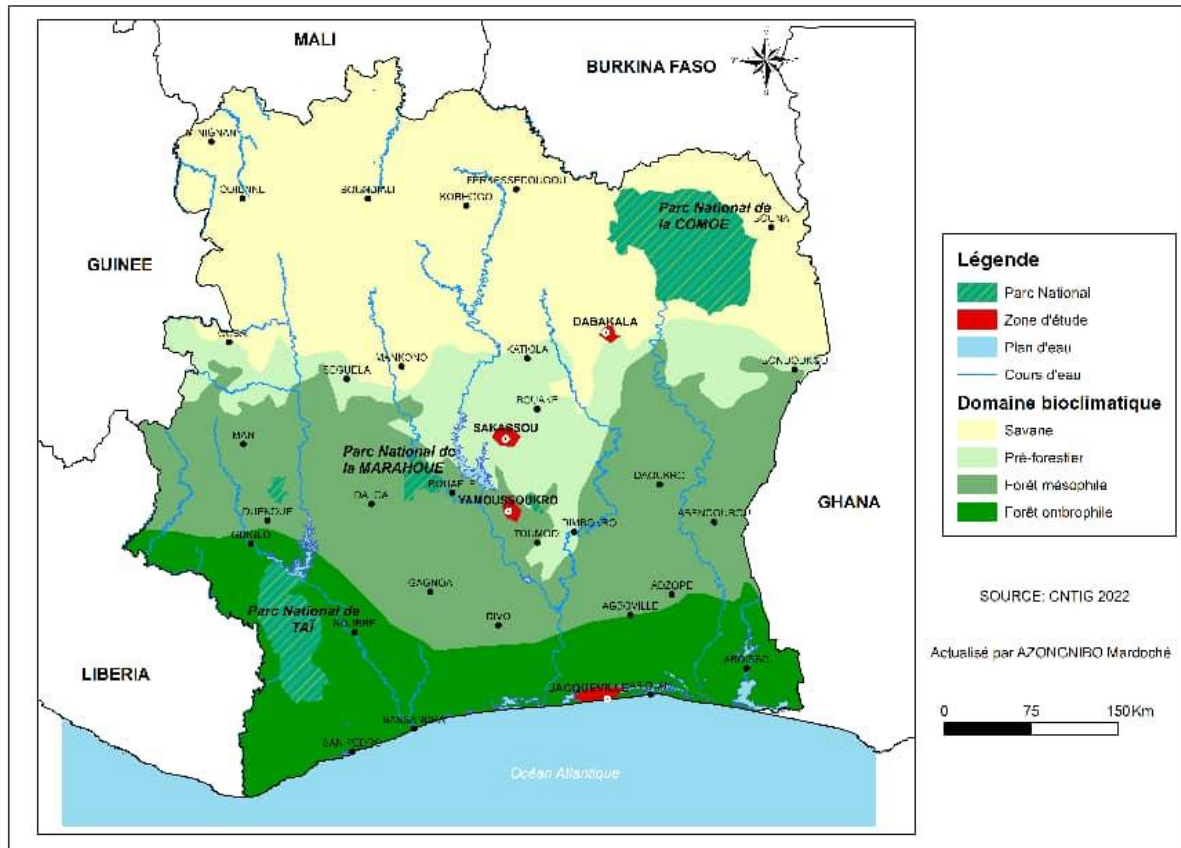


Figure 1 : Sites de l'étude en Côte d'Ivoire

## 2-2. Matériel technique

### 2-2-1. Matériel de collecte et d'élevage des larves

Il est composé de louches, cuvettes, tamis, pipettes, bocaux à fermeture, bacs à fond blanc, couvercles en tulle, mélange de protéines moulues, gobelets en plastique, cages et solution de miel dilué à 10 %.

### 2-2-2. Le matériel utilisé pour les tests de sensibilité

Le matériel technique pour les tests de sensibilité des moustiques aux insecticides est constitué de papiers insecticides imprégnés aux doses diagnostiques ; de papiers non imprégnés servant de contrôle ; d'un kit OMS, d'aspirateurs à bouche, de coton imbibé de jus sucré (miel dilué à environ 10 %) ; d'un chronomètre et de fiches de test.

### 2-2-3. Matériel de capture des moustiques adultes

Le matériel de capture et de conservation des moustiques adultes est composé, d'une double moustiquaire, d'aspirateurs à bouche et de tubes à hémolyse, de saccules, de torches, de « lit pico » et de coton.

### 2-2-4. Matériel d'identification et de conservation des moustiques

L'identification des moustiques adultes a nécessité une loupe binoculaire et une clé d'identification morphologique [14]. La conservation des moustiques adultes s'est faite à l'aide de tubes Eppendorf, de silicagel, de coton et de sachets.

### **2-2-5. Matériel d'extraction de l'ADN total et de réalisation des PCR**

Il est constitué d'amorces, d'éthanol absolu (95-96%), d'eau pure pour PCR (H<sub>2</sub>O), de tampon de lyse (NTC), liquide RNASE-free (eau sans nucléase) et de tampon (Tris, KCl, MgCl<sub>2</sub>) qui ont servi de réactifs. Le matériel a également été composé de gants, de micropipettes à différents volumes P10, P20, P100, P200 et P1000, d'homogénéisateur (vortex), d'une centrifugeuse réfrigérée UNIVERSAL 320 de marque Hittech, de tube de 1,5 ml, de tube PCR, de portoirs réfrigérés, d'une machine qPCR LigthCycler 96 de marque La Roche, une clé USB (pour copier le résultat à partir du LigthCycler) et un ordinateur avec un logiciel LigthCycler installé pour la lecture des résultats.

## **2-3. Méthodes**

### **2-3-1. Récolte et élevage des larves**

Pour la récolte des larves, des prospections ont été faites dans tous les lieux potentiels de reproduction des anophèles de juin 2020 à juin 2021 dans les sites d'étude. Les larves ont été collectées à l'aide de louches à manche dans les rizières, flaques d'eau, mares et bacs d'élevage des alevins. Elles ont ensuite été conservées dans des bouteilles en plastiques de 1,5 litre et transportées sur une durée de deux à quatre heures en fonction de la localité jusqu'à l'insectarium du Centre d'Entomologie Médicale et Vétérinaire pour élevage. Pour les tests, les moustiques adultes ont été morphologiquement identifiés et seules les femelles d'*An. gambiae* ont été sélectionnées. La souche « Kisumu » d'*An. gambiae* originaire du Kenya [15] a été utilisée comme souche de référence sensible.

### **2-3-2. Collecte des moustiques adultes**

La collecte des moustiques adultes a été faite sous double moustiquaire. La technique de capture sous double moustiquaire est une technique qui permet d'éviter tout contact entre le moustique et l'homme qui lui sert d'appât [16]. Le captureur est assis sur un lit-picot recouvert d'une petite moustiquaire. Le captureur et la petite moustiquaire sont ensuite recouverts par une moustiquaire beaucoup plus grande. Le dispositif est conçu de telle sorte que le moustique à la recherche d'un repas sanguin ; traverse la première moustiquaire dont la hauteur au-dessus du sol est égale à 0,25 m. La deuxième moustiquaire recouvrant entièrement l'occupant (assis sur un « lit picot ») empêche le contact homme-moustique. Attiré par l'odeur corporelle (dioxyde de carbone), le moustique franchit la première barrière. Ne pouvant pas être en contact avec le captureur car protégé par la seconde moustiquaire, les moustiques sont ainsi piégés. Le captureur, équipé d'un aspirateur à bouche, aspire pendant 10 minutes (min) tous les moustiques emprisonnés après 50 min de piègeage. Les moustiques alors collectés individuellement sont mis dans des tubes à hémolyse et placés dans les sachets de capture portant les différentes tranches horaires.

### **2-3-3. Réalisation des tests de sensibilité**

Les tests de sensibilité aux insecticides ont été réalisés conformément aux directives de l'OMS à l'aide du kit de test de sensibilité en tube [17]. Les moustiques ont été exposés à des papiers imprégnés de neuf insecticides aux doses diagnostiques fabriqués par le fournisseur de l'OMS, l'Université Sains Malaysia (Indonésie). Ces papiers insecticides comprenaient quatre pyréthrinoïdes (Alpha-cyperméthrine 0,05 %, Lambdacyalothrine 0,05 %, Deltaméthrine 0,05 %, Permethrine 0,75 %), un organochloré (DDT4 %), deux organophosphorés (Pirimiphos-méthyl 0,25 %, Malathion 5 %) et deux carbamates (Bendiocarb 0,1 %, Propoxur 0,1 %). Les tests ont été réalisés dans une salle où la température était maintenue à 25°C avec un taux d'humidité de 70 % à 80 % en utilisant des femelles non gorgées âgées de 3 à 5 jours.

Pour chaque insecticide, quatre lots de 25 moustiques ont été exposés pendant une heure aux papiers imprégnés d'insecticides. Le temps d'exposition est de 60 minutes. Après la période d'exposition, tous les moustiques sont transférés dans des tubes d'observation et nourris avec une solution de miel dilué à 10 %. Le temps d'observation est de 24 heures au bout duquel les mortalités des moustiques sont déterminées.

#### **2-3-4. Extraction de l'ADN**

L'ADN génomique a été extrait de chaque moustique à l'aide du Bromure de Céthyl Triméthyl Ammonium (CTAB) 2 %. Chaque moustique a individuellement été écrasé et homogénéisé dans un tube de 1,5 ml contenant 200 µl de tampon CTAB et incubé à 65°C dans un bain-marie pendant 5 minutes. Deux cents microlitres (200 µl) de chloroforme ont été ajoutés à l'homogénat, mélangés par inversion et centrifugés pendant 5 minutes à 12000 tr/min à 25°C. Le surnageant a été pipeté dans de nouveaux tubes de 1,5 ml. Un volume de 200 µl d'alcool isopropylique a été ajouté et le mélange a été centrifugé à 12000 rpm pendant 15 minutes. Le surnageant a ensuite été éliminé doucement et le culot d'ADN a ensuite été « lavé » avec de l'éthanol à 70 %, avant d'être séché pendant une nuit à température ambiante et reconstitué dans 20 µl d'eau de biologie moléculaire. Des échantillons d'ADN ont ensuite été utilisés pour l'analyse par qPCR afin d'identifier les espèces d'*An. gambiae* présentes et de détecter les mutations kdr L1014F et ace-1<sup>R</sup> G119S.

#### **2-3-5. Détection de la mutation Kdr L1014F chez *An. gambiae* s.l.**

La détection de la mutation Kdr L1014F a été réalisée à l'aide d'une PCR en temps réel (qPCR) [18]. Deux amorces ont été utilisées pour la détection de cette mutation. Il s'agit des amorces kdr-Forward (5'-CATTCTTGGCCACTGTAGTGAT-3') et kdr-Reverse (5'-CGATCTTGGTCCATGTTAATTTGCA-3'). Les amorces ont été marquées avec deux fluorophores distincts : VIC pour détecter l'allèle sensible et FAM pour détecter l'allèle résistant. Les amplifications ont été réalisées sur la machine qPCR LightCycler® 96 Systems (Roche LifeScience, Meylan, France) dans les conditions d'expérimentation suivantes : 95°C pendant 10 min comme étape initiale de dénaturation de double brin d'ADN, suivie de 45 cycles composés de dénaturation à 95°C pendant 10 s, hybridation des amorces à 60°C pendant 45 s et polymérisation à 72°C pendant 1 s. Les fluorescences FAM et VIC ont été capturées à la fin de chaque cycle et les génotypes ont été générés à partir de la fluorescence du point final à l'aide du logiciel LightCycler® 96 (Roche LifeScience, Meylan, France) pour l'analyse des résultats.

#### **2-3-6. Détection de la mutation Ace-1<sup>R</sup> G119S chez *An. gambiae* s.l.**

La détection de la mutation Ace-1<sup>R</sup> G119S relativement à la résistance conférée par l'acétylcholinestérase insensible a été réalisée chez *An. gambiae* s.l à l'aide du test PCR en temps réel (qPCR) [19]. Deux amorces ont été utilisées pour la détection de cette mutation. Il s'agit des amorces Ace-1-Forward (5'-GGC CGT CAT GCT GTG GAT-3') et Ace-1-Reverse (5'-GCG GTG CCG GAG TAG A-3'). Les amorces ont été marquées avec deux fluorophores distincts : VIC pour détecter l'allèle sensible et FAM pour détecter l'allèle résistant. La qPCR a été réalisée à l'aide de la machine LightCycler® 96 Systems (Roche LifeScience, Meylan, France) selon les conditions d'expérimentation suivantes : dénaturation du double brin d'ADN à 95°C pendant 10 min, suivies de 55 cycles dont une dénaturation à 92°C pendant 15 s, une hybridation des amorces à 60°C pendant 60 s et une polymérisation à 72°C pendant 1 s. Les fluorescences FAM et VIC ont été capturées à la fin de chaque cycle et les génotypes ont été générés à partir de la fluorescence du point final à l'aide du logiciel LightCycler® 96 (Roche LifeScience, Meylan, France) pour l'analyse des résultats.

### **2-3-7. Analyse des données**

Les taux de mortalité ont été calculés et analysés selon l'échelle de l'OMS [17], pour déterminer si les échantillons étaient sensibles ou résistants. Lorsqu'une mortalité inférieure à 90 % était observée, la population était considérée comme « résistante » ; de 90 à 98 % de mortalité la population était suspectée de « résistante » ; et de 98 % à 100 %, la population était considérée comme « sensible » [17]. Les fréquences des allèles résistants aux locus Kdr L1014F et Ace-1<sup>R</sup> G119S ont été calculés à l'aide du logiciel GENEPOP version 4.6 [20]. La différenciation génotypique a été étudiée à travers le test G de Goudet qui a permis de vérifier l'uniformité de la distribution des génotypes entre les différentes populations [20, 21]. La conformité à l'équilibre de Hardy-Weinberg a été testée. L'écart à la panmixie selon Weir et Cockerham a également été estimé par l'indice Fis de Wright [21].

## **3. Résultats**

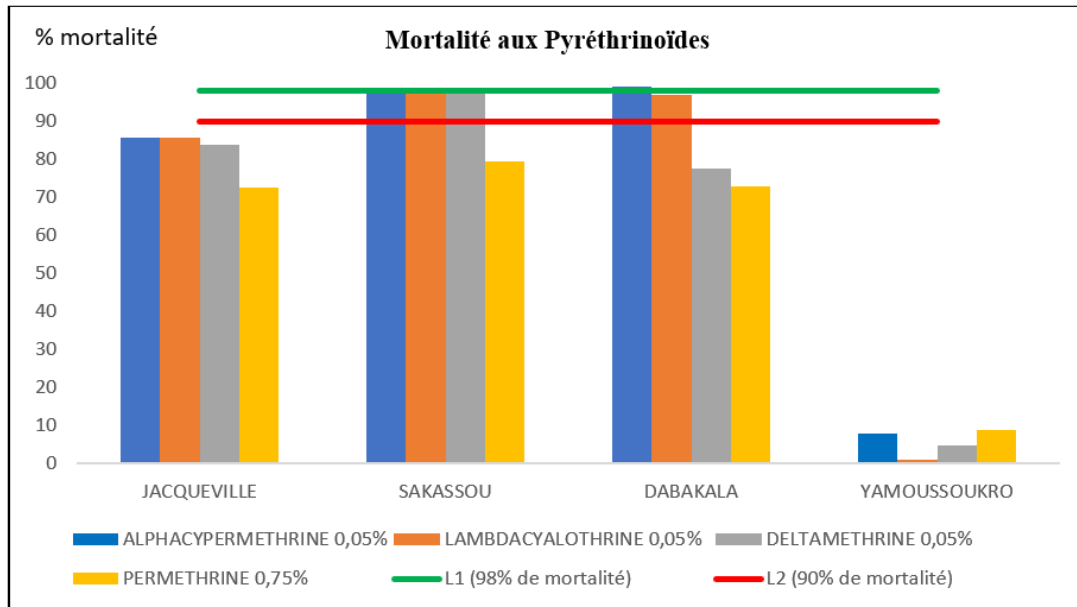
### **3-1. Statut de sensibilité de la souche Kisumu et des moustiques sauvages exposés aux insecticides**

#### **3-1-1. Taux de mortalité des témoins**

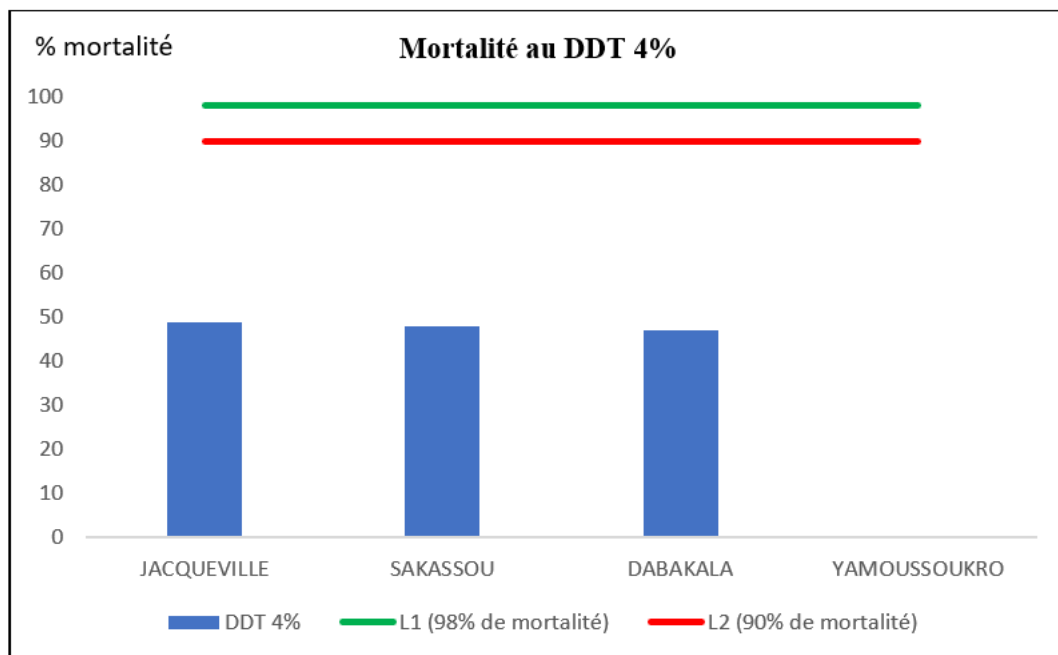
Les taux de mortalités de la souche kisumu utilisée comme « référence sensible » était de 100 % avec tous les insecticides. Les taux de mortalités des populations sauvages utilisées comme témoins d'observation ont varié entre 0 % et 1,28 %. Par conséquent tous les tests de l'étude ont été validés sans avoir fait d'ajustement.

#### **3-1-2. Taux de mortalité des populations sauvages d'*Anopheles gambiae***

Durant cette étude, un total de 3596 femelles d'*An. gambiae*, ont été exposés aux insecticides. Au niveau des pyréthrinoïdes, seule la population de Sakassou a montré une sensibilité à trois des quatre insecticides à savoir 98,06 % avec l'alphacyperméthrine 0,05 %, 98,04 % avec la lambda-cyhalothrine 0,05 % et 98,04 % avec la deltaméthrine 0,05 %. Quant à la population de Dabakala, une sensibilité a été observée avec l'alphacyperméthrine 0,05 % (99,04 %) et une suspicion de résistance avec la lambda-cyhalothrine 0,05 % (97,06 %). Les populations de Jacquville et de Yamoussoukro ont été résistantes à tous les quatre insecticides pyréthrinoïdes avec des mortalités allant de 1,09 % à 85,71 % (**Figure 2**). Au niveau du DDT 4 %, toutes les populations exposées ont montré un taux de mortalité inférieur à 50 %, indiquant une résistance à cet insecticide dans toutes les localités (**Figure 3**). Avec le pirimiphos-méthyl 0,25 %, les moustiques de trois localités sur quatre ont montré des mortalités très élevées respectivement de 99,05 % à Jacquville et 100 % à Sakassou et Dabakala (**Figure 4**). Seuls les moustiques de Yamoussoukro ont été résistants à cet insecticide avec une mortalité de 44,94 %. Tandis qu'avec le malathion 5 %, la mortalité la plus élevée a été observée à Sakassou avec 93,13 % indiquant une suspicion de résistance. Ces mortalités ont été toutes inférieures à 88,23 % chez les moustiques des autres localités. Au niveau des carbamates, les taux de mortalité les plus élevés ont été observés à Jacquville avec respectivement 70,19 % et 59 % pour le propoxur 0,1 % et le bendiocarb 0,1 %, indiquant une résistance à ces deux insecticides (**Figure 5**).

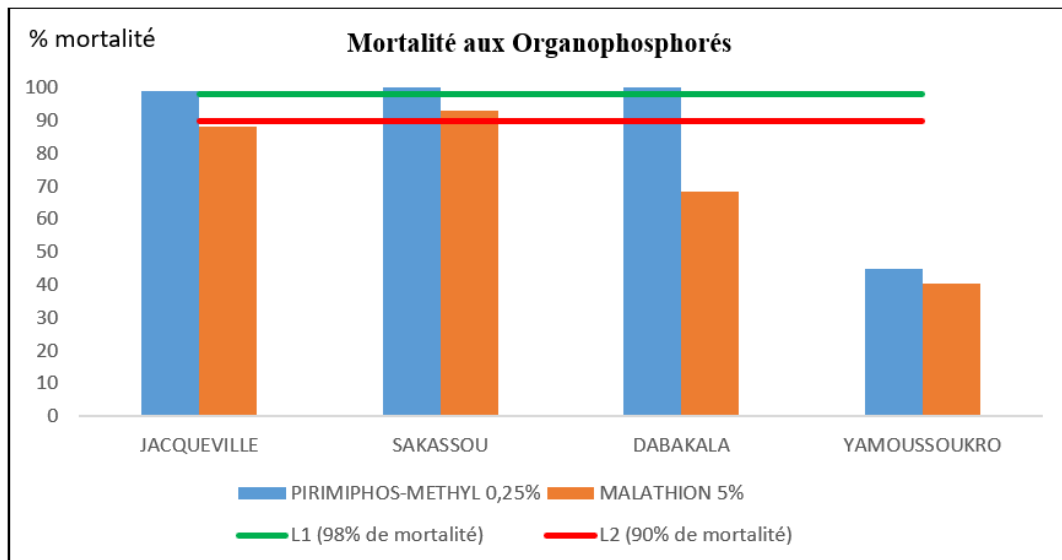


**Figure 2 :** Taux de mortalité des populations sauvages d’*Anopheles gambiae* exposés aux pyréthriinoïdes

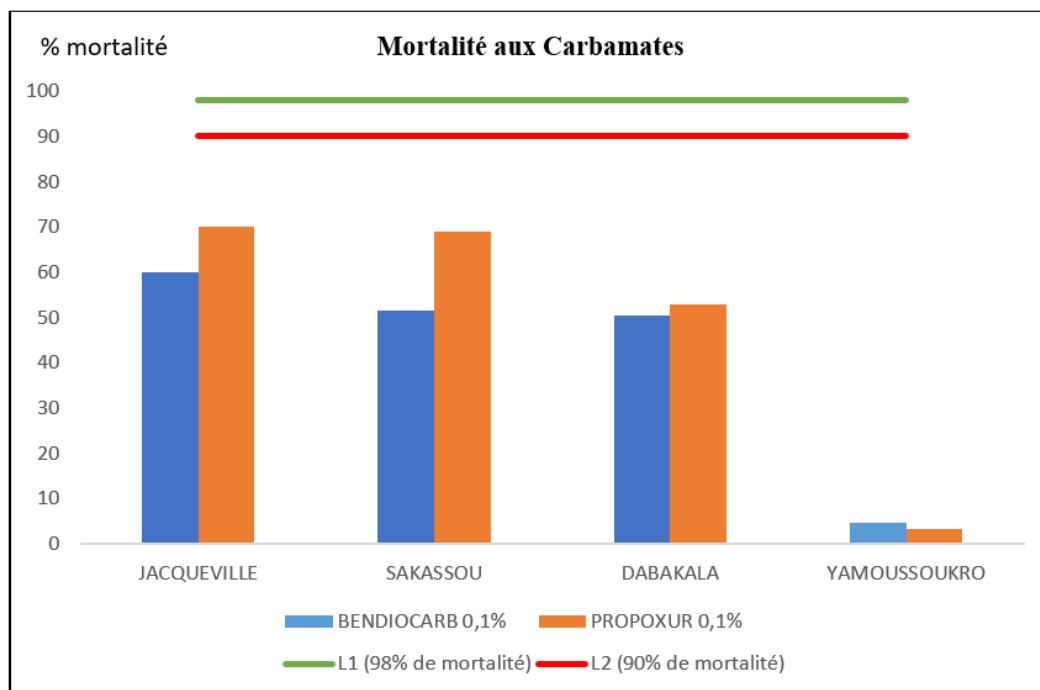


**Figure 3 :** Taux de mortalité des populations sauvages d’*Anopheles gambiae* exposés au DDT 4 %





**Figure 4 :** Taux de mortalité des populations sauvages d'*Anopheles gambiae* exposés aux organophosphorés



**Figure 5 :** Taux de mortalité des populations sauvages d'*Anopheles gambiae* exposés aux carbamates

### 3-2. Résistance aux insecticides conférés par mutation ponctuelle de cible de l'insecticide

#### 3-2-1. Distribution des fréquences alléliques aux locus *Kdr* L1014F et *Ace1* G119S

Quatre cent quatre-vingt-cinq (485) individus d'*An. gambiae* ont été testés pour les mutations L1014F et G119S. Les fréquences des mutations L1014F sont indiquées dans le tableau 1. Elles ont été modérées à Sakassou et Yamoussoukro, respectivement 0,57 et 0,61 et élevées à Dabakala et à Jacquville, respectivement estimées à 0,71 et 0,83. Quant aux fréquences des mutations G119S, elles ont été faibles dans l'ensemble. Elles ont été comprises entre 0,02 à Dabakala et 0,16 à Sakassou (**Tableau 1**).



**Tableau 1 : Distribution des génotypes et Fréquences des mutations kdr L1014F et Ace1<sup>R</sup> G119S chez An. gambiae (s) dans les localités d'étude**

Localités	Locus Kdr L1014F					Locus Ace1 <sup>R</sup> G119S			
	N	SS	RS	RR	F(Kdr)	SS	RS	RR	F(Ace1 <sup>R</sup> )
Jacqueville	116	5	30	81	0,83	96	20	0	0,09
Sakassou	130	20	72	38	0,57	92	35	3	0,16
Dabakala	128	16	42	70	0,71	122	6	0	0,02
Yamoussoukro	111	24	39	48	0,61	93	16	2	0,09
Total	485	65	183	237	0,68	403	77	5	0,09

SS : Homozygote sensible ; RS : Hétérozygote, RR : Homozygote résistant ; N : Effectif de moustiques analysés ; F(kdr) : fréquence de l'allèle kdr ; F(Ace1<sup>R</sup>) : fréquence de l'allèle Ace1<sup>R</sup>.

**3-2-2. Equilibre de Hardy Weinberg et différenciation génotypique aux locus Kdr L1014F et Ace1 G119S**

• **Au Locus Kdr**

Les populations de Jacqueville et Sakassou sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ) tandis que celles de Dabakala ( $P(HW) = 0,0298$ ) et de Yamoussoukro ( $p = 0,0062$ ) ne le sont pas. L'indice de Wright mesurant l'écart à la panmixie ( $F_{is}$ ) montre qu'il y a un excès d'hétérozygotes au niveau des populations de Sakassou au locus kdr ( $F_{is}(W\&C) < 0$ ) (Tableau 2). Les tests de différenciation génotypique montrent une différence significative entre les populations de Jacqueville et celles de Sakassou ( $P(dG) = 0,000$ ), entre celles de Sakassou et Dabakala ( $P(dG) = 0,00193$ ), entre celles de Dabakala et Yamoussoukro ( $P(dG) = 0,03727$ ) (Tableau 3). Toutefois, la différence observée entre Dabakala et Yamoussoukro est relativement faible. En revanche, il n'existe aucune différence significative entre les populations de Yamoussoukro et celles de Sakassou ( $P(dG) = 0,42035$ ) situées respectivement en zone de forêt mésophile et en zone pré forestière.

• **Au Locus Ace 1<sup>R</sup>**

Les populations culicidiennes sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ) dans toutes les localités d'étude. L'indice de Wright mesurant l'écart à la panmixie ( $F_{is}$ ) montre qu'il y a un excès d'hétérozygotes au niveau des populations de Jacqueville, Sakassou et Dabakala au locus Ace 1<sup>R</sup> ( $F_{is}(W\&C) < 0$ ) (Tableau 2). Les tests de différenciation génotypique ne montrent aucune différence significative entre les populations de Jacqueville et celles de Yamoussoukro ( $P(dG) = 1,0000$ ) situées respectivement en zone de forêt ombrophile et en zone de forêt mésophile. Par contre ces tests montrent une différence significative entre les populations des autres localités comparées deux à deux ( $P(dG) < 0,05$ ) (Tableau 4).

**Tableau 2 : Allèles Kdr L1014F et Ace1<sup>R</sup> G119S dans les populations d'An. gambiae (s) dans les localités d'études**

Populations	Locus Kdr L1014F		Locus Ace1 <sup>R</sup> G119S		N
	P(HW)	Fis(W&C)	P(HW)	Fis(W&C)	
Jacqueville	0,3247	0,098	1,0000	-0,0900	116
Sakassou	0,2123	-0,1255	1,0000	-0,0096	130
Dabakala	0,0298	0,2054	1,000	-0,201	128
Yamoussoukro	0,0062	0,267	0,2043	0,1252	111

P(HW) : Valeur de la probabilité exacte de Hardy Weinberg ; Fis (W&C) : Indice de Wright mesurant l'écart à la panmixie selon Weir et Cockerham ; N : Effectif de moustiques analysés

**Tableau 3 : Différenciation Génotypique au Locus Kdr L1014F**

	P(dG) Locus Kdr L1014F		
	Sakassou	Dabakala	Yamoussoukro
Jacqueville	0,00000	0,00667	0,00000
Sakassou	-	0,00193	0,42035
Dabakala	-	-	0,03727

*P(dG) : Test de différenciation génotypique selon Goudet.*

**Tableau 4 : Différenciation Génotypique au Locus Ace1<sup>R</sup> G119S**

	P(dG) Locus Ace1 <sup>R</sup> G119S		
	Sakassou	Dabakala	Yamoussoukro
Jacqueville	0,01899	0,00251	1,00000
Sakassou	-	0,00000	0,02910
Dabakala	-	-	0,00216

*P(dG) : Test de différenciation génotypique selon Goudet.*

## 4. Discussion

### 4-1. Niveau de sensibilité des moustiques sauvages exposés aux insecticides

Les tests de sensibilité réalisés avec les populations d'*An. gambiae* s/ des différentes localités d'étude ont montré des populations résistantes à des degrés variables. Avec les pyréthrinoides, la plupart des moustiques ont montré une résistance. Seules les populations de Sakassou ont montré une sensibilité à l'alphacyperméthrine 0,05 %, la lambdacyalothrine 0,05 % et la deltaméthrine 0,05 % et celles de Dabakala à l'alphacyperméthrine 0,05 %. Une étude sur la sensibilité avait montré des populations d'anophèles sensibles à la deltaméthrine à Kaforo et Korhogo, deux localités du nord de la Côte d'Ivoire [5]. Avec les carbamates et le DDT, toutes les populations ont été résistantes. Cette résistance au DDT serait due à la pression de sélection antérieure exercée par l'usage agricole du DDT et des pulvérisations massives de cet insecticide dans le cadre de la lutte contre les vecteurs du paludisme en Afrique subsaharienne [22 - 25]. La forte persistance du DDT dans la nature, rendrait évident qu'après 50 années d'utilisation cet insecticide ait sélectionné la résistance chez les vecteurs du paludisme [25]. En revanche avec les organophosphorés, les populations ont été sensibles au pirimiphos-méthyl 0,25 % dans trois des localités à savoir Jacqueville, Sakassou et Dabakala et résistantes au Bendiocarb 0,1 % et au propoxur 0,1 % dans toutes les localités. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus au sud du Cameroun [26] où les populations d'*An. gambiae* étaient sensibles au pimiphos-méthyl et résistantes au Bendiocarb et au propoxur. Certainement à cause des faibles pressions sélectives qu'exerceraient les organophosphorés du fait de leur faible rémanence dans l'environnement [27]. Ce résultat suggère que les composés organophosphorés tels que le pirimiphos-méthyl pourraient être utilisés pour la lutte contre le paludisme dans ces localités. Les présents travaux ont révélé des moustiques résistants à la plupart des pyréthrinoides, au DDT, aux carbamates et en partie aux organophosphorés. La résistance à toutes ces familles d'insecticides a déjà été mise en évidence par plusieurs études en Côte d'Ivoire et en Afrique de l'ouest [4, 5, 7, 9, 25, 28 - 31]. Cette résistance pourrait s'expliquer non seulement par la localisation des sites d'étude en zones agricoles où des activités de riziculture, de maraichage, d'aquaculture, de culture pérennes (cacao, café, anacarde) et de culture du coton sont pratiquées mais aussi par la distribution massive de MILDA par le Programme national de lutte contre le paludisme dans les districts sanitaires. L'utilisation à long terme d'insecticides dans l'agriculture et les ménages a été

impliquée dans la résistance croissante des insectes vecteurs et en particulier des moustiques vecteurs du paludisme aux insecticides [31 - 37]. En effet des travaux menés dans plusieurs régions de la Côte d'Ivoire ont montré une utilisation massive et non maîtrisée de produits insecticides contre les ravageurs des cultures [22, 38]. Ces pratiques paysannes en matière d'utilisation des insecticides constituent un facteur de sélection d'insectes résistants non seulement au niveau des ravageurs des cultures mais aussi chez les vecteurs du paludisme [25, 38]. Puisque les traitements insecticides génèrent des particules de pesticides qui entrent en contact avec les gîtes larvaires. Ces particules exercent soit une action létale sur les larves de certaines populations d'insectes soit une pression sélective qui conduit progressivement à la sélection de la résistance aux insecticides chez certaines populations de moustiques notamment *An. gambiae* [25].

#### 4-2. Résistance aux insecticides conférée par mutation ponctuelle de cible de l'insecticide

Les résultats de la PCR ont montré la présence de mutations *kdr* L1014F et *ace-1<sup>R</sup>* G119S dans les populations sauvages d'*An. gambiae* *sl* dans toutes les localités d'étude. La mutation L1014F a été modérée à Sakassou et Yamoussoukro comprise entre 0,57 et 0,62. Des fréquences faibles et modérées de l'allèle *kdr* avaient été observées dans la région de Danané [39] et dans plusieurs autres localités du pays [5]. En revanche cette fréquence était élevée à Dabakala 0,71 et à Jacqueville où elle a atteint 0,83. Une étude récente avait trouvé la même fréquence à Jacqueville [8]. Par contre, la mutation est pratiquement fixée dans la région de Korhogo au nord de la Côte d'Ivoire où les fréquences atteignent 100 % dans certaines localités [40]. Ces fréquences élevées surtout à Dabakala (0,71) et Jacqueville (0,83) sont liées à la présence de nombreux individus homozygotes résistants conformément aux génotypes individuels enregistrés à ce locus. Ce qui suggère un avantage écologique associé à l'homozygotie au locus *kdr*. En outre, le nombre élevé d'homozygotes corrobore les valeurs de *Fis* (W&C) qui indiquent un déficit d'hétérozygotes à Jacqueville, Dabakala et Yamoussoukro. Les fréquences des mutations *ace-1<sup>R</sup>* G119S ont été faibles dans l'ensemble. Elles ont été comprises entre 0,02 à Dabakala et 0,16 à Sakassou renforçant les résultats des bioessais mettant en évidence une absence ou un faible mécanisme de résistance aux organophosphorés à Jacqueville, Sakassou et Dabakala. Le faible nombre d'individus homozygotes pour le locus *ace-1<sup>R</sup>* a déjà été signalé dans des études antérieures en Côte d'Ivoire [4, 8, 41, 42]. Ce faible taux d'homozygotes résistants au locus *ace-1<sup>R</sup>* G119S observé pourrait indiquer un coût génétique élevé associé au gène *ace-1<sup>R</sup>* G119S [43, 44]. Les valeurs négatives de *Fis* (W&C) dans la présente étude indiquent un excès en individus hétérozygotes au locus *Ace-1*. Toute chose qui pourrait avoir un impact sur les niveaux de résistance aux insecticides [4]. En effet, des études ont montré que 25 % de l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase suffisaient à protéger *Drosophila melanogaster* contre les insecticides [45]. Ainsi, des individus hétérozygotes ayant 50 % de molécules cibles sensibles et 50 % d'insensibles à l'insecticide répondraient génétiquement comme des moustiques homozygotes et résisteraient, indiquant qu'*ace-1<sup>R</sup>* G119S est un allèle dominant [4]. Par ailleurs, la quasi-totalité des populations étant à l'équilibre de Hardy-Weinberg au locus *ace-1<sup>R</sup>* G119S traduit un croisement panmictique entre les populations sauvages d'*An. gambiae* *sl* étudiées.

## 5. Conclusion

Les populations sauvages d'*An. gambiae* *sl* ont été résistantes à presque toutes les quatre grandes familles d'insecticides sauf à un organophosphoré, le pimiphos-méthyl. Cet insecticide pourrait être utilisé pour la PID dans le cadre de la lutte contre le paludisme dans ces localités. Par ailleurs, les mutations ponctuelles de cibles L1014F et G119S ont été retrouvées dans toutes les localités d'étude, même si les fréquences ont été faibles pour la mutation G119S. L'existence de ces mutations constitue une préoccupation et une donnée à considérer dans l'élaboration des stratégies de lutte antivectorielle contre le paludisme en Côte d'Ivoire.

## Références

- [1] - OMS, Rapport 2022 sur le Paludisme dans le monde. Dossier d'information. Principaux messages, (2022) 21 p.
- [2] - A. LOUISE, L. KELLY-HOPE, M. F. ELLIS, The multiplicity of malaria transmission : a review of entomological inoculation rate measurements and methods across sub-Saharan Africa. *Malaria Journal*, 8 (19) (2009), doi :10.1186/1475-2875
- [3] - A. DJENONTIN, S. BIO-BANGANA, N. MOIROUX, M. HENRY, O. BOUSARI, J. CHABI, R. OSSE, S. KOUDENOUKPO, V. CORBEL, M. AKOGBETO, F. CHANDRE, Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vector in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa) : a pre-intervention study, *Parasites & Vectors*, 3 (83) (2010) 83 - 84
- [4] - M. TOURE, L. DJOGBENOU, G. Y. YAPI and S. D. TOURE, Status of *Anopheles gambiae* Resistance to Carbamates and Organophosphates Insecticides and Implication on Malaria Vector Control in Côte d'Ivoire. *BioTechnology: An Indian Journal*, 13 (5) (2017)
- [5] - S. CAMARA, A. A. KOFFI, L. P. AHOUA-ALOU, K. KOFFI, J. K. KABRAN, A. KONE, M. F. KOFFI, R. N'GUESSAN, C. PENNETIER, Mapping insecticide resistance in *Anopheles gambiae* (s.l.) from Cote d'Ivoire. *Parasit Vectors*, 11 (19) (2018), DOI 10.1186/s13071-017-2546-1
- [6] - E. TIA, "Situation de la résistance d'*Anopheles gambiae*, vecteur majeur du paludisme, aux pyréthrinoides dans cinq écosystèmes agricoles en Côte d'Ivoire", thèse unique, Université de Cocody, Abidjan, (2008) 188 p.
- [7] - D. D. ZOH, L. P. AHOUA ALOU, M. TOURE, C. PENNETIER, S. CAMARA, D. F. TRAORE, A. A. KOFFI, MAURICE A. A, AHOUA YAPI and F. CHANDRE, The current insecticide resistance status of *Anopheles gambiae* (s.l.) (Culicidae) in rural and urban areas of Bouaké, Côte d'Ivoire. *Parasit Vectors*, 11 (118) (2018) <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2702-2>
- [8] - S. KONE, M. TOURE, G. Y. YAPI, K. S. P. LOUKOU, Impact of Resistance to Pyrehroids on the Incidence of Malaria into *Anopheles gambiae* (Giles, 1902) in the Southern Forest Area in Côte d'Ivoire. *International Journal of Science and Research*, 11 (3) (2022) 411 - 417 doi: 10.21275/SR22305003253 ISSN: 2319-7064
- [9] - A. A. KOFFI, L. P. AHOUA ALOU, M. A. ADJA, F. CHANDRE, C. PENNETIER, Insecticide resistance status of *Anopheles gambiae* s.s. population from M'Be : a WHOPEs-labelled experimental hut station, 10 years after the political crisis in Côte d'Ivoire. *Malar J.*, 12 (151) (2013) doi :10.1186/1475-2875-12-151
- [10] - C. M. A. SADIA-KACOU, L. P. AHOUA ALOU, A. V. C., EDI, M. C. YOBO, A. M. ADJA, F. A. OUATTARA, D. MALONE, A. A. KOFFI, Y. TANO and G. B. KOUDOU, Presence of susceptible wild strains of *Anopheles gambiae* in a large industrial palm farm located in Aboisso, South-Eastern of Côte d'Ivoire, *Malaria Journal*, 16 (157) (2017). DOI 10.1186/s12936-017-1804-1
- [11] - M. WEILL, C. MALCOLM, F. CHANDRE, K. MOGENSEN, A. BERTHOMIEU, M. MARQUINE, M. RAYMOND, The unique mutation in *ace-1* giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors, *Insect Mol Biol.*, 13 (1) (2004) 1 - 7. DOI : 10.1111/j.1365-2583.2004. 00452.x
- [12] - C. CZEHER, R. LABBO, I. ARZIKA, J. B. DUCHEMIN, Preuve de l'augmentation de la mutation de résistance knockdown Leu-Phe chez *Anopheles gambiae* du Niger suite à la mise en place de moustiquaires imprégnées d'insecticide de longue durée à l'échelle nationale. *Malaria Journal*, 189 (7) (2008) DOI : 10.1186/1475-2875-7-189
- [13] - A. W. YADOLETON, A. ASIDI, R. F. DJOUAKA, J. BRAIMA, C. D. AGOSSOU, M. C. AKOGBETO, Development of vegetable farming : a cause of the emergence of insecticide resistance in populations of *Anopheles gambiae* in urban areas of Benin. *Malaria Journal*, 103 (8) (2009) DOI :10.1186/1475-2875-8-103

- [14] - M. COETZEE, Key to the females of Afrotropical Anopheles mosquitoes (Diptera: Culicidae), *Malaria Journal*, 19 (70) (2020), <https://doi.org/10.1186/s12936-020-3144-9>
- [15] - A. YADOLETON, J. R. KLOTOE, R. AGBANRIN, F. AHISSOU, G. HOUNDETON, R. TOSSOU, A. AGOLINO, M. AKOGBETO, Contrôle de qualité des rideaux imprégnés à la bifenthrine en vue de leur utilisation et vulgarisation au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, ISSN : 1991- 8631 12 (5) (2018) DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v12i5.7>. <https://www.ajol.info/index.php/ijbcs>
- [16] - J. P. HERVE, Méthodes d'évaluation des densités de population d'*Aedes aegypti*. In : La dengue dans les départements Français d'Amérique, Edition IRD, Collection Expertise Collégiale, (2003) 16 p.
- [17] - OMS, Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes., Second edition, (2017) 55 p.
- [18] - C. BASS, D. NIKOU, M. J. DONNELLY, M. S. WILLIAMSON, H. RANSON, A. BALL, J. VONTAS and L. M. FIELD, Detection of knockdown resistance (kdr) mutations in *Anopheles gambiae* : a comparison of two new high-throughput assays with existing methods, *Malaria Journal*, 6 (111) (2007), doi :10.1186/1475-2875-6-111
- [19] - C. BASS, D. NIKOU, J. VONTAS, M. S. WILLIAMSON & L. M. FIELD, Development of high-throughput real-time PCR assays for the identification of insensitive acetylcholinesterase (ace-1R) in *Anopheles gambiae*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 96 (2) (2010) 80 - 85, <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.09.004>
- [20] - F. ROUSSET GENEPOP'007, A complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Res.*, 8 (2008) 103 - 106, <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
- [21] - M. SERE, S. THEVENON, A. M. G. BELEM, T. DE MEEUS, Comparison of different genetic distances to test isolation by distance between populations, *Heredity*, 119 (2) (2017) 55 - 63, doi: 10.1038/hdy.2017.26
- [22] - E. TIA, M. AKOGBETO, A. KOFFI, M. TOURE, A. M. ADJA, K. MOUSSA, T. YAO, P. CARNEVALE, E. CHANDRE, Pyrethroid and DDT resistance of *Anopheles gambiae s.s. (Diptera:Culicidae)* in five agricultural ecosystems from Côte d'Ivoire, *Bull Soc Pathol Exot*, 4 (99) (2006) 278 - 282
- [23] - I. DJEGBE, A. A. MISSIHOUN, R. DJOUAKA, M. AKOGBETO, 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, *Journal of Applied Biosciences*, (111) (2017) 10934-10943 ISSN 1997-5902. Published online at [www.m.elewa.org](http://www.m.elewa.org) on 31st March 2017 <http://dx.doi.org/104314/jab.v111i1.10>
- [24] - C. ANTONIO-NKONDJIO, BT FOSSOG, C. NDO, B. M DJANTIO, S. Z TOGOUET, P. AWONO-AMBENE, C. COSTANTINI, C. S WONDJI, H. RANSON, Répartition d'*Anopheles gambiae* et résistance aux insecticides dans les villes de Douala et Yaoundé (Cameroun): influence de l'agriculture urbaine et pollution, *Malar. J.*, 154 (10) (2011) 13 p.
- [25] - A. YADOLETON, R. AGBANRIN, C. CHABI, C. TCHIBOZO, F. AHISSOU, G. HOUNDETON, A. SIDICK, M. AKOGBETO, Contribution de l'agriculture dans la sélection et la distribution de la résistance d'*Anopheles gambiae* (Diptera Culicidae) aux insecticides le long du Transect sud-nord en république du Benin, *International Journal of Progressive Sciences and Technologies (IJPSAT)* ISSN : 2509-0119, (7) (2018) 57 - 68, <http://ijpsat.ijshj-journals.org>
- [26] - A. J. BINYANG, E. E. NDILLE, B. T. FOSSOG, C. NDO, L. NOUAGE, T. ASSATSE, Y. F. TOGUEM, R. TABUE, F. ZEUKENG, D. N. NGUIFO, J. ETANG, F. NJIOKOU and C. S. WONDJI, Distribution of acetylcholinesterase (Ace1<sup>R</sup>) target-site G119S mutation and resistance to carbamates and organophosphates in *Anopheles gambiae sensu lato* populations from Cameroon. *Parasites & Vectors*, 15 (53) (2022) <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05174-1>
- [27] - D. ALIGON, J. BONNEAU, J. GARCIA, D. GOMEZ, D. LE GOFF, Estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés, les organophosphorés et les pyréthrinoides. Projet d'Estimation des Risques Sanitaires, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique, (2010) 78 p.



- [28] - L. P. AHOUA ALOU, A. A. KOFFI, M. A. ADJA, S. B. ASSI, P. K. KOUASSI, R. N'GUESSAN, Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* s.s. M form prior to the scaling up of long-lasting insecticidal nets (LLINs) in Adzopé, eastern cote d'Ivoire, *Parasites & Vectors*, 5 (289) (2012), doi :10.1186/1756-3305-5-289
- [29] - E. TIA, M. CHOUAIBOU, C. N. G. GBALÉGBA, A. M. O. BOBY, M. KONE, A. K. KADJO, Distribution des espèces et de la fréquence du gène Kdr chez les populations d'*Anopheles gambiae* s.s. et d'*Anopheles coluzzii* dans cinq sites agricoles de la Côte d'Ivoire. *Société de pathologie exotique*, 110 (2017) 130 - 134
- [30] - B. L. KOUASSI, C. EDI, E. TIA, L. Y. KONAN, M. A. AKRE, A. A. KOFFI, A. F. OUATTARA, A. M. TANO, P. ZINZINDOHOUE, B. KOUADIO, A. MCKENZIE, S. R. IRISH, J. ARMISTEAD, D. DENGELA, N. G. CISSE, C. FLATLEY and J. CHABI, Susceptibility of *Anopheles gambiae* from Côte d'Ivoire to insecticides used on insecticide-treated nets : evaluating the additional entomological impact of piperonyl butoxide and chlorfenapyr. *Malaria Journal*, 19 (454) (2020), <https://doi.org/10.1186/s12936-020-03523-y>
- [31] - A. S. HIEN, D. D. SOMA, O. HEMA, B. BAYILI, M. NAMOUNTOUGOU, O. GNANKINE, T. BALDET, A. DIABATE, K. R. DABIRE, Evidence that agricultural use of pesticides selects pyrethroid resistance within *Anopheles gambiae* s.l. populations from cotton growing areas in Burkina Faso, West Africa. *PLoS One*, 12 (3) (2017) e0173098, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173098>
- [32] - M. C. AKOGBETO, R. DJOUAKA, H. NOUKPO, Use of agricultural insecticides in Benin. In *Bull Soc Path Exo*, 98 (5) (2005) 400 - 405
- [33] - R. K. DABIRE, A. DIABATE, T. BALDET, L. PARE-TOE, R. T. GUIGUEMDE, J. B. OUEDRAOGO, O. SKOVMAND, Personal protection of long lasting insecticide-treated nets in areas of *Anopheles gambiae* s.s. resistance to pyrethroids. *Malaria Journal*, 5 (12) (2006) doi :10.1186/1475-2875-5-12
- [34] - R. N'GUESSAN, V. CORBEL, M. AKOGBETO, M. ROWLAND, Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin, *Emerging Infectious Diseases*, 13 (2) (2007) 199 - 206, doi: 10.3201/eid1302.060631
- [35] - A. W. YADOLETON, G. PADONOU, A. ASIDI, N. MOIROUX, B. SAHABI, V. CORBEL, R. N'GUESSAN, D. GBENOU, I. YACOUBOU, G. KINDE, M. C. AKOGBETO, Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin, *Malar J*, 9 (83) (2010) doi :10.1186/1475-2875-9-83
- [36] - A. RIVERO, J. VEZILIER, M. WEILL, A. F. READ, S. GANDON, Insecticide control of vector-borne diseases: when is insecticide resistance a problem? *PLoS Pathog*, 6 (8) (2010) e1001000
- [37] - J. CHABI, P. K. BAIDOO, A. K. DATSOMOR, D. OKYERE, A. ABLORDE, A. IDDRISU, M. D. WILSON, S. K. DADZIE, H. P. JAMET & J. W. DICLARO II, Sensibilité aux insecticides des populations naturelles d'*Anopheles coluzzii* et d'*Anopheles gambiae* (*sensu stricto*) du site d'irrigation d'Okyereko, Ghana, Afrique de l'Ouest. *Parasites et vecteurs*, 9 (182) (2016), DOI 10.1186/s13071-016-1462-0
- [38] - M. S. CHOUAÏBOU, B. K. FODJO, G. FOKOU, O. F. ALLASSANE, B. G. KOUDOU, J. P. DAVID, C. A. NKONDJIO, B. BONFOH, Influence of the agrochemicals used for rice and vegetable cultivation on insecticide resistance in malaria vectors in southern Côte d'Ivoire, *Malar J*, 15 (426) (2016) doi: 10.1186/s12936-016-1481-5
- [39] - M TOURE, Impact de la lutte antivectorielle sur la résistance aux insecticides et incidence sur la structure génétique de *Anopheles gambiae* s.s. Giles ; 1902 (*Diptera : Culicidae*) en zone forestière à l'Ouest de la Côte d'Ivoire. *Thèse de Doctorat de l'Université de Cocody*, (2008) 114 p.
- [40] - B. ZOGO, D. D. SOMA, B. N. TCHIEKUI, A. SOME, L. P. AHOUA ALOU, A. A. KOFFI, F. FOURNET, A. DAHOUNTO, B. COULIBALY, S. KANDE, R. K. DABIRE, L. BABA-MOUSSA, N. MOIROUX and C. PENNETIER, *Anopheles* bionomics, insecticide resistance mechanisms, and malaria transmission in the Korhogo area, northern Côte d'Ivoire : a pre-intervention study, *Parasite*, 40 (26) (2019), doi : 10.1051/parasite/2019040

- [41] - A. N. ASIDI, R. N'GUESSAN, A. A. KOFFI, C. F. CURTIS, J. M. HOUGARD, F. CHANDRE, F. DARRIET, M. ZAIM et M. W. ROWLAND, Experimental hut evaluation of bednets treated with an organophosphate (chlorpyrifos-methyl) or pyrethroid (lambda-cyhalothrin) alone and in combination against insecticide-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quiquefaciatus* mosquitoes. *Malaria Journal*, 4 (25) (2005), doi:10.1186/1475-2875-4-25
- [42] - L. DJOGBENOU, P. LABBE, F. CHANDRE, N. PASTEUR, WEILL M. Ace-1, duplication in *Anopheles gambiae* : a challenge for malaria control. *Malaria Journal*, 8 (70) (2009), doi:10.1186/1475-2875-8-70
- [43] - H. ALOUT, R. K. DABIRE, L. S. DJOGBENOU, L. ABATE, V. CORBEL, F. CHANDRE et A. COHUET, Interactive cost of *Plasmodium* infection and insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae*, *Scientific Reports*, (6) (2016) <https://doi.org/10.1038/srep29755>
- [44] - L. DJOGBENOU, V. NOEL, P. AGNEW, Costs of insensitive acetylcholinesterase insecticide resistance for the malaria vector *Anopheles gambiae* homozygous for the G119S mutation. *Malaria Journal*, 9 (12) (2010), <https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-12>
- [45] - F. HOFFMANN, D. FOURNIER, P. SPIERER, Minigene rescues acetylcholinesterase lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. *J Mol Biol*, 223 (1) (1992) 17 - 22