

**Evaluation de l'efficacité d'insecticides de longue durée sur les
vecteurs du paludisme en milieu semi-naturel au centre de la
Côte d'Ivoire**

INAUGURALDISSERTATION

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie

Vorgelegt der

Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Emile Félicien Stéphane Tchicaya

aus

Abidjan, Côte d'Ivoire

Basel, 2014

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
auf Antrag von Prof. Dr. Marcel Tanner, Prof. Dr. Jürg Utzinger, und
Prof. Dr. Bruno Betschart.

Basel, den 26. Juni 2012

Prof. Dr. Martin Spiess
Dekan der Philosophisch-
Naturwissenschaftlichen Fakultät

Résumé

Introduction : L'émergence et la propagation de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides constituent un obstacle majeur à la lutte anti-vectorielle. Il est par conséquent nécessaire de développer et valider de nouveaux outils de lutte.

Objectifs : Cette thèse de doctorat est axée autour de trois objectifs à savoir : (1) évaluer l'efficacité d'un produit de réimprégnation de longue durée des moustiquaires, ICON[®] Maxx ; (2) évaluer en cases expérimentales trois nouvelles formulations micro-encapsulées du pirimiphos-méthyl, insecticide devant être utilisées comme produits de pulvérisation intra-domiciliaire appartenant à la famille des organophosphorés, dans une zone de résistance aux pyréthrinoïdes ; et (3) étudier quelques aspects bioécologiques des populations d'*Anopheles gambiae* de la zone d'étude indispensables à la planification du type de méthode de lutte anti-vectorielle utilisée.

Méthodes : En vue de déterminer les caractéristiques bioécologiques des populations d'*An. gambiae*, les moustiques adultes ont été capturés par 72 pièges lumineux, sur sujets humains pour un effort de 72 hommes-nuits de 18 heures à 06 heures, et par pulvérisation intradomiciliaire matinale de 60 chambres au pyrèthre. L'évaluation de ICON[®] Maxx a été réalisée au laboratoire et en case expérimentale. Au laboratoire, des échantillons de moustiquaires en polyester et en polyéthylène ont été traités, lavés 20 fois et leur efficacité estimée par des tests en cônes sur une colonie d'*An. gambiae s.s.* sensible élevée au laboratoire. Par la suite, sur une période de 12 mois, des moustiquaires traitées avec ICON[®] Maxx ont été évaluées en cases expérimentales. La formulation originale et les trois nouvelles formulations micro-encapsulées du pirimiphos-méthyl ont été testés et comparés à un témoin positif (ICON 10CS) et un témoin négatif (sans traitement). L'étude a été menée durant 12 mois en case expérimentale. Au total 24 cases expérimentales ont été utilisées, dont 12 construites en parpaing et l'autre moitié en terre battue.

Résultats : Au total 10 312 et 7 662 moustiques adultes ont été capturés, respectivement à Abokro et Yaokoffikro. Dans les deux sites d'étude, le genre *Anopheles* était prépondérant. Les pièges lumineux ont été trois fois plus efficaces à Abokro qu'à Yaokoffikro. Dans les deux villages, les cycles d'agressivité des femelles d'*An. gambiae* s.s. ont évolué progressivement pour atteindre un pic entre minuit et 01 heure du matin. A Abokro, le comportement d'*An. gambiae* s.s. était fortement endophage et endophile tandis qu'à Yaokoffikro, le comportement était indépendant de celui des habitants des menages.

Au laboratoire, après 20 lavages, le « knock-down » (KD) et le taux de mortalité étaient de 59,4 % et 22,3 % pour les moustiquaires en polyéthylène, et de 55,3 % et 17,9 % pour les moustiquaires en polyester. En case expérimentale, les moustiquaires traitées ont eu un effet significatif sur la dissuasion, l'exophilie induite, le taux de gorgement, et le taux de mortalité (> 60 %). Malgré le lavage des moustiquaires, le KD et le taux de mortalité lors des bioessais, sont restés proches ou excédaient les limites prédéfinies par l'OMS (> 80 %)

Comparé aux autres *Anopheles*, le taux de mortalité dû aux différentes formulations du pirimiphos-méthyl a été plus élevé sur les populations d'*An. gambiae* résistants aux pyréthriinoïdes. L'efficacité la plus élevée a été obtenue avec la formulation pirimiphos-méthyl CS BM, le taux de mortalité est resté proche ou au-delà de 80 % jusqu'à la 28^e semaine dans les cases construites en parpaing et jusqu'à la 19^e semaine dans les constructions en terre battue. Ces résultats ont été confirmés par les tests en cône, le taux de mortalité est resté au-delà de 80 % jusqu'à la 30^e semaine avec la formulation pirimiphos-méthyl CS BM. Il n'y a pas eu de différences significatives au niveau du taux de gorgement pour les *An. gambiae* résistants entre les deux types de construction et entre les trois formulations du pirimiphos-méthyl.

Conclusion : La lutte anti-vectorielle nécessite d'avoir des connaissances sur la bio-écologie et le niveau de résistance des vecteurs aux insecticides. Ainsi l'étude des caractéristiques bioécologiques des vecteurs du paludisme dans notre zone d'étude permettra d'adopter des mesures de lutte adéquates. Les résultats du laboratoire sur les moustiquaires traitées avec ICON[®] Maxx ont montré des taux de mortalité et KD

modérés. Cependant. Dans des conditions semi-naturelles, en zone de résistance aux pyréthrinoïdes, ICON[®] Maxx a montré des résultats satisfaisants. ICON[®] Maxx pourrait avoir un impact positif sur la réduction de la transmission du paludisme. La formulation pirimiphos-méthyl CS BM a montré une grande et stable efficacité sur les populations d'*An. gambiae* résistantes, particulièrement sur les murs en parpaing, et pourrait par conséquent être recommandé comme insecticide de traitement intra-domiciliaire. Il serait utile de déterminer les aspects entomologiques et parasitologiques dans un contexte de traitement à large échelle de ce nouvel insecticide.

Zusammenfassung

Hintergrund: Das zunehmende Auftreten und die Ausbreitung von Insektizid-resistenten Malaria-Vektoren ist eine der wichtigsten Einschränkungen in der Malaria-Vektorkontrolle. Deshalb ist es wichtig neue Insektizide zu entwickeln und zu testen.

Ziele: Die vorliegende Dissertation verfolgte drei spezifische Ziele: (1) Beurteilung der Wirksamkeit des langlebigen Insektizids ICON[®] Maxx für Bettnetze; (2) Beurteilung von drei neuartigen, mikroverkapselten Formulierungen von pirimiphos-methyl zur Indoor Residual Spraying in Versuchshütten in einem durch Pyrethroid-Resistenzen gekennzeichneten Gebiet; und (3) Erforschung von bio-ökologischen Eigenschaften von *Anopheles gambiae s.s.*, welche bei der Wahl der angemessenen Vektorkontrollmethode im Studiengebiet von Bedeutung sind.

Methoden: In den Dörfern Abokro und Yaokoffikro wurden adulte Moskitos mit 72 Lichtfallen gefangen, während 72 Mann-Nächten zwischen 6 Uhr abends und 6 Uhr morgens auf Versuchspersonen gesammelt und früh morgens in 60 Versuchshütten durch Pyrethroid Spray flugunfähig gemacht („knock down“) und erfasst. Im Labor wurden Proben von Polyester- und Polyethylen-Netzen mit ICON[®] Maxx behandelt, bis zu 20 mal gewaschen und die verbleibende Wirksamkeit gegen eine anfällige *An. gambiae s.s.* Kolonie aus dem Labor mittels sogenannten „World Health Organization (WHO) cone assays“ ermittelt. Während 12 Monaten wurden zudem mit ICON[®] Maxx behandelte Netze in Versuchshütten bewertet. Die ursprüngliche Formulierung und drei neuartigen, mikroverkapselten Formulierungen des Organophosphat-Insektizids pirimiphos-methyl wurden beurteilt und mit einer positiven (ICON 10CS) und einer negativen Kontrollgruppe (keine Behandlung) verglichen. Insgesamt wurden 24 Versuchshütten verwendet, 12 aus Backsteinen und 12 aus „Banco“.

Ergebnisse: Insgesamt wurden 10,312 adulte Moskitos in Abokro und 7,662 adulte Moskitos in Yaokoffikro gesammelt. *Anopheles* war die dominierende Gattung in beiden

Orten. Lichtfallen waren dreimal effizienter in Abokro als in Yaokoffikro. An beiden Orten stieg die Beissrate von *An. gambiae s.s.* schrittweise an, bis zu einer Spitze zwischen Mitternacht und 1 Uhr morgens. In Abokro war das Verhalten von *An. gambiae s.s.* endophil und endophagisch, in Yaokoffikro unabhängig vom Haushalt.

In den Bioassays im Labor entsprach die Wirksamkeit des Insektizids nach 20-maligem waschen einer Rate von 59.4 % Knock Down (KD) und einer Mortalität von 22.3 % für Polyethylen-Netze und einer Rate von 55.3% KD und einer Mortalität von 17.9 % für Polyester-Netze. In den Versuchshütten zeigten die behandelten Netze signifikante Auswirkungen auf die Abschreckung, die Exophilie, die Rate der Blutmahlzeiten und die Mortalität (>60%). Nach dem Waschen der behandelten Netze waren die Raten für KD und Mortalität nahe an oder über den vorgegebenen WHO Grenzwerten für „cone assays“ (>80%).

Die durch die mikroverkapselten Formulierungen von pirimiphos-methyl herbeigeführten Mortalitätsraten waren höher in resistenten *An. gambiae s.s.* als in anderen *Anopheles* Spezies. Die Formulierungsvariante pirimiphos-methyl CS BM war am wirksamsten: Die Mortalität blieb über 80% während 28 Wochen in den Backstein-Versuchshütten und während 19 Wochen in den „Banco“-Versuchshütten. Diese Resultate wurden durch die Bioassays bestätigt: Wenn pirimiphos-methyl CS BM verwendet wurde blieb die 24-Stunden-Mortalität während 30 Wochen über dem vorgegebenen Grenzwert von 80%. Keine signifikanten Unterschiede in den mittleren Raten von Blutmahlzeiten von Pyrethroid-resistenten *An. gambiae s.s.* konnten in Bezug auf die zwei Arten von Versuchshütten und in Bezug auf die drei Varianten von pirimiphos-methyl festgestellt werden.

Schlussfolgerung: Zur Vektorkontrolle braucht es Kenntnisse über die bio-ökologischen Eigenschaften und den Grad an Insektizidresistenz des entsprechenden Vektors. Dementsprechend leistet diese Studie einen Beitrag zur Anwendung von angemessenen Kontrollmassnahmen gegen Malaria-Vektoren. Im Labor wiesen durch ICON[®] Maxx

behandelte Netze moderate KD- und Mortalitätsraten auf. Aber unter Quasi-Feldbedingungen in einem Gebiet mit Pyrethroid-resistenten Moskitos lieferte ICON[®] Maxx zufriedenstellende Ergebnisse, d.h. Eigenschaften, welche wahrscheinlich einen positiven Beitrag zur Reduktion der Malaria-Übertragung leisten können. Die Formulierung pirimiphos-methyl CS BM zeigte eine hohe, anhaltende Wirkung gegen resistente *An. gambiae s.s.*, insbesondere an den Wänden in den Backstein-Versuchshütten. Es wird interessant zu sehen, wie sich dieses neue, nicht auf Pyrethroid basierende Mittel in grossangelegten Feldstudien auf entomologische und parasitologische Indikatoren auswirkt.

Summary

Introduction : The emergence and spread of resistance of malaria vectors to insecticides is a key limitation of tools for malaria vector control. Hence, there is a need to develop and validate new insecticides.

Objectives : Three specific objectives were pursued in this PhD : (1) to assess the efficacy of a long-lasting insecticide for bed-net, ICON[®] Maxx; (2) to assess in experimental huts three novel micro-encapsulated formulations of pirimiphos-methyl formulations for indoor residual spraying in an pyrethroid resistance site; and (3) to investigate some bio-ecological characteristics of *Anopheles gambiae s.s* in the study area, important to choose the appropriate method against vectors.

Méthods : In the villages of Abokro and Yaokoffikro, adult mosquitoes were captured with 72 light traps, collected on humans subjects at a rate of 72 man-night from 6 p.m. to 6 a.m., and knocked down using pyrethroid spray inside 60 sentinel houses in the early morning.

In the laboratory, polyester and polyethylene net samples were treated with ICON[®] Maxx, washed up to 20 times and their efficacy determined in World Health Organization (WHO) cone assays against a susceptible laboratory *An. gambiae s.s.* colony. Over a 12-month period, nets treated with ICON[®] Maxx were evaluated in experimental huts. The original formulation and three novel micro-encapsulated formulations of the organophosphate insecticide, pirimiphos methyl were assessed and compare to positif control (ICON 10CS) and negative control (no treatment). A total of 24 experimental huts were used, 12 huts constructed with bricks and 12 ‘banco’ type huts.

Résultats : A total of 10,312 adult mosquitoes were collected in Abokro and 7,662 in Yaokoffikro. *Anopheles* was the dominant genus at both locations. Light traps were three times more efficient in Abokro than in Yaokoffikro. In both places, *An. gambiae s.s.* biting rates increased gradually up to a peak observed between midnight and 1 a.m. In

Abokro, *An. gambiae s.s.* was endophilic and endophagic, while in Yaokoffikro, this species was independent of the household.

In the laboratory, after 20 washings, insecticidal efficacy in bioassays was 59.4 % knockdown (KD) and 22.3 % mortality for polyethylene, and 55.3% KD and 17.9 % mortality for polyester nets. In experimental huts, treated nets showed a significant effect on deterrence, induced exophily, blood-feeding rate and mortality (> 60 %). After washing the treated nets, KD and mortality rates were close to or exceeded predefined WHO thresholds in cone bioassays (> 80 %).

The mortality rate induced by encapsulated formulations of pirimiphos-methyl was higher in resistant *Anopheles gambiae s.s.* compared to other *Anopheles* species. Formulation variant pirimiphos-methyl CS BM was the most efficacious; mortality remained above 80% until 28 weeks in huts constructed with bricks and until 19 weeks in 'banco' type huts. These results were confirmed with bioassays; the 24-h mortality stayed over the preset threshold of 80% until 30 weeks when using pirimiphos-methyl CS BM. There were no significant differences in mean blood-feeding rates for pyrethroid and metabolic resistant *An. gambiae s.s.* between the two types of huts and between the three variants of pirimiphos-methyl.

Conclusion : The vector control need to have knowledge on bio-ecological characteristic and the resistance level to insecticides of vectors. So this study will allow to adopt appropriate control measures against malaria vectors. ICON[®] Maxx-treated nets showed moderate KD and mortality rates in laboratory. However, under semi-field conditions, in an area where mosquitoes are resistant to pyrethroids, ICON[®] Maxx showed satisfactory results; features that are likely to have a positive impact in reducing malaria transmission. The formulation pirimiphos-methyl CS BM showed a high and sustained efficacy against resistant *An. gambiae*, particularly on indoor walls of brick huts. It will be interesting to determine entomological and parasitological outcomes when deploying this novel non-pyrethroid in large-scale field trials.

Remerciements

« Toute grâce excellente et tout don parfait descendent d'en haut, du Père des lumières, chez lequel il n'existe ni changement, ni ombre de variation. Jacques 1 :17 ». Que la gloire revienne à Dieu Tout-Puissant qui dans son infinie bonté, nous couvre des ses grâces tout au long de notre vie

Ce travail a été réalisé à la station expérimentale de M'Bé (Bouaké), au laboratoire de l'Institut Pierre Richet (IPR) à Bouaké, au Laboratoire de Zoologie de l'Université de Neuchâtel, sous la direction de Prof Bruno Betschart.

Au terme de cette étude, je tiens à exprimer mes vifs remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à son aboutissement, à savoir :

- M. Tano Yao, Président de l'Université d'Abobo-Adjamé (Abidjan). Vous avez accepté de co-diriger ce mémoire et participé à son élaboration par vos suggestions et vos directives. Je garderai de vous ce sens élevé du travail parfait. Soyez assuré de notre ferme détermination à rester fidèle à cet esprit de rigueur.

- M. Jürg Utzinger, Professeur à l'Université de Bâle et chercheur à l'Institut Tropical et de Santé Publique Suisse, en acceptant de co-diriger ce mémoire. Vous avez guidé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Vous avez activement soutenu le transfert de ma thèse en Suisse. Malgré vos multiples occupations, vous n'avez jamais ménagé vos efforts pour nous aider à réaliser ce travail. Je profite de l'occasion pour vous témoigner toute ma reconnaissance et ma gratitude. Vos nombreux conseils et encouragements, ainsi que vos qualités humaines m'ont aidé à mener ce travail dans les meilleurs délais.

- J'exprime mes vifs remerciements à M. Bassirou Bonfoh, Professeur et Directeur du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS), qui a bien voulu m'accueillir dans les locaux de la structure qu'il dirige et qui a mis à ma disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation de mon travail.

- Je remercie Prof Marcel Tanner, Directeur de l'Institut Tropical et de Santé Publique de Bâle (SwissTPH) pour ses conseils et encouragements. Vous avez tout mis en œuvre pour le transfert de ma thèse en Suisse, je vous en suis reconnaissant. A travers

vous, je voudrais exprimer ma reconnaissance à tout le personnel du SwissTPH pour leur grande disponibilité et leur souci permanent de créer les conditions idéales de travail.

- Mes sincères remerciements à Prof Benjamin G. Koudou, Chercheur à l'Ecole de Médecine Tropicale de Liverpool , Angleterre. Depuis le DEA, tu m'as manifesté ta confiance en m'intégrant dans ton équipe de recherche. Tout au long de ce présent travail, j'ai bénéficié de ton appui permanent, tes nombreux conseils et directives, ainsi que pour ta grande sympathie. Ta compétence, ton expérience et tes informations utiles ont constitué une source d'enrichissement de ce travail.

- Mes sincères remerciements à Dr Christian Nsanzabana, auprès de qui j'ai toujours trouvé disponibilité et compréhension. Ton suivi constant des travaux, tes suggestions et tes qualités humaines m'ont été d'un très grand réconfort. Reçois ici l'expression de ma profonde gratitude.

- Je remercie M. le Directeur de l'Institut Pierre Richet (IPR) pour m'avoir permis de réaliser mes analyses dans le laboratoire de l'institut qu'il dirige. A travers lui, je remercie du fond du cœur les chercheurs, notamment Dr Adja Akré Maurice, Dr Assi Serge, Dr Alphonsine Koffi, M. Allou Allou Ludovic.

- Je remercie M. Bruno Betschart, Professeur et Directeur du Laboratoire de Zoologie à l'Université de Neuchâtel (Suisse) pour m'avoir permis de réaliser mes analyses moléculaires dans le laboratoire qu'il dirige. A travers lui, je remercie les chercheurs de ce laboratoire.

- A Mlle Jennifer Donzé, étudiante à l'Université de Neuchâtel, ta simplicité et ton esprit d'ouverture nous a permis de travailler en bonne intelligence sur le terrain à Bouaké. Egalement, au cours de mon passage au laboratoire de l'université de Neuchâtel, j'ai pu bénéficier d'un bon accueil et de ton expérience en biologie moléculaire. Trouve ici l'expression de la reconnaissance et de toute ma gratitude.

- J'adresse mes remerciements à Dr Mirko Winkler, ta grande sympathie, ton esprit d'ouverture et ton expérience ont constitué une source d'enrichissement de ce travail.

- A Mlle Maïti Laserna, les quelques semaines passées ensemble ont permis de découvrir une personne au grand cœur et disponible. Trouve à travers ces lignes l'expression de ma reconnaissance.

- Je suis également reconnaissant envers M. Thomas Smith, Professeur à l'Université de Bâle et chercheur à l'Institut Tropical et de Santé Publique Suisse, pour son appui au niveau des analyses statistiques. Qu'il trouve ici toute ma gratitude.

- Je remercie l'ensemble des professeurs de l'UFR Biosciences de l'Université de Cocody, pour m'avoir aidé à faire les premiers pas dans le domaine de la recherche scientifique.

- A M. Koné Boubacar et M. Kabran Jean-Paul, techniciens à l'IPR. Nous avons passé des moments agréables et également des moments difficiles tout au long de ce travail. Ce mémoire est le fruit de votre effort et de votre courage dans un esprit de solidarité et dans le but de toujours mieux faire.

- Je remercie M. Kessé Bli Nestor, technicien du Centre d'Entomologie Médical et Vétérinaire (CEMV), pour son appui lors de nos différentes missions.

- Mes sincères remerciements s'adressent à l'ensemble des chercheurs et employés du CSRS, qui à différents niveaux, ont bien voulu m'apporter leur soutien.

- Je remercie aussi la notabilité et les habitants du village d'Abobro dont la collaboration a énormément facilité la réalisation de ce travail.

- A ma famille, ma mère, mes frères et mes sœurs pour votre soutien permanent qui m'a permis d'atteindre ce stade. Remerciements particuliers à mon épouse Kouakou A. Q. Mireille. Que Dieu Notre Père vous comble de ses grâces.

Support financier : Cette étude a bénéficié d'un appui financier de Syngenta Crop Protection, de la Confédération Fédérale Suisse des bourses étrangères (CFBE) par le biais d'une bourse d'étude, et du Fond National Suisse (projet no. PPOOB--102883 and PPOOB--119129).

Table des matières

Résumé.....	i
Zusammenfassung.....	v
Summary.....	ix
Remerciements.....	xi
Table des matières.....	xv
Liste des figures.....	xvii
Liste des tableaux.....	xviii
Liste des abréviations.....	xix
1. Introduction.....	1
1.1. Situation sanitaire et économique du paludisme dans le monde.....	1
1.2. Parasites et vecteurs du paludisme.....	3
1.2.1. Les parasites du paludisme.....	3
1.2.2. Vecteurs du paludisme.....	8
1.3. Transmission et épidémiologie du paludisme en Côte d'Ivoire.....	15
1.3.1. Faciès épidémiologique de la maladie.....	15
1.3.2. Vecteurs du paludisme en Côte d'Ivoire.....	16
1.4. Lutte contre le paludisme.....	17
1.4.1. Lutte contre les parasites.....	17
1.4.2. Lutte antivectorielle.....	18
1.5. La résistance des vecteurs aux insecticides.....	23
1.6. Références.....	24
2. Objectifs et milieu d'étude.....	31
2.1. Objectifs.....	31
2.1.1. Objectif général.....	31
2.1.2. Objectifs spécifiques.....	31
2.2. Milieu d'étude.....	31
3. Caractéristiques bioécologiques d' <i>Anopheles gambiae s.s.</i> en zones de riziculture irriguée au centre de la Côte d'Ivoire.....	33
3.1. Résumé.....	34
3.2. Abstract.....	34
3.3. Introduction.....	35
3.4. Matériel et méthode.....	36
3.5. Résultats.....	38
3.6. Discussion.....	49
3.7. Conclusion.....	51
3.8. Références bibliographiques.....	52
4. Efficacy of ICON [®] Maxx in the laboratory and against insecticide-resistant <i>Anopheles gambiae</i> in central Côte d'Ivoire.....	59
4.1. Abstract.....	60
4.2. Background.....	61
4.3. Methods.....	62
4.4. Results.....	66
4.5. Discussion.....	73

4.6.	Conclusion	75
4.7.	Conflict of interest statement.....	75
4.8.	Authors ' contributions.....	76
4.9.	Acknowledgements	76
4.10.	References	77
5.	Micro-encapsulated pirimiphos-methyl shows high insecticidal efficacy and long residual activity against pyrethroid-resistant malaria vectors in central Côte d'Ivoire	83
5.1.	Abstract.....	84
5.2.	Background.....	85
5.3.	Methods	85
5.4.	Results	89
5.5.	Discussion.....	92
5.6.	Authors ' contributions.....	94
5.7.	Acknowledgements	95
5.8.	References	96
6.	Discussion et conclusion.....	126
6.1.	Influence de la riziculture sur la population d <i>An. gambiae</i>	126
6.2.	Comparaison de deux méthodes de collecte des moustiques	126
6.3.	Insecticide de réimprégnation des moustiquaires	127
6.4.	Résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides.....	129
6.5.	Pirimiphos-methyl micro-encapsulé, alternative à la résistance aux pyréthriinoïdes	129
6.6.	Conclusion	132
6.7.	Références	135

Liste des figures

Figure 1.1 : Les pays ou les zones à risque de la transmission du paludisme 2009. Source: WHO (http://gamapservet.who.int/mapLibrary).....	2
Figure 1.2 : Cycle évolutif du <i>Plasmodium</i> chez l'homme et le moustique (Swierczynski & Gobbo, 2007)	6
Figure 3.1 : Carte de la Côte d'Ivoire présentant les sites d'étude : Abokro et Yaokoffikro distants de 38 km.....	37
Figure 3.2 : Cycle d'agressivité horaire d' <i>An. gambiae</i> s.s. à Abokro	42
Figure 3.3 : Cycle d'agressivité horaire d' <i>An. gambiae</i> s.s. à Yaokoffikro.....	42
Figure 3.4 : Répartition horaire des taux de parturité d' <i>An. gambiae</i> s.s. à Abokro	44
Figure 3.5 : Répartition horaire des taux de parturité d' <i>An. gambiae</i> s.s. à Yaokoffikro.	44
Figure 4.1 : The effect of washings on the mean KD of <i>An. gambiae</i> Kisumu-susceptible strain after 3 min bioassay test on polyester and polyethylene nets, measured 60 min post-exposure	67
Figure 4.2 : The effect of washings on the mean mortality of <i>An. gambiae</i> Kisumu-susceptible strain after 3 min bioassay test on polyester and polyethylene nets, measured 24 h post-exposure	68
Figure 4.3 : Mortality rate and blood-feeding rate in ICON [®] Maxx-treated huts <i>versus</i> control huts during a 12-month experimental hut trial in the M'Bé station, central Côte d'Ivoire.	71
Figure 4.4 : Development of mean KD (60 min post-exposure) after 3 min bioassay test for <i>An. gambiae</i> Kisumu-susceptible strain over a 12-month experimental hut trial in the M'Bé station, central Côte d'Ivoire, including the effect of the washings on treated an control nets (* data omitted due to insufficient number of mosquitoes).....	72
Figure 4.5 : Development of mean mortality rates (24 h post-exposure) after 3 min bioassay test for <i>An. gambiae</i> Kisumu-susceptible strain over a 12-month experimental hut trial in the M'Bé station, central Côte d'Ivoire, including the effect of the washings on treated an control nets (*data omitted due to insufficient number of mosquitoes).....	73
Figure 5.1: Experimental huts used in the study located in the M'Bé site, near Bouaké in central Côte d'Ivoire.	100
Figure 5.2 : Crude results from experimental hut trials of pirimiphos-methyl and lambda-cyhalothrin on <i>An. gambiae</i> s.s.	101
Figure 5.3 : Summary measures of the effects of pirimiphos-methyl and lambda-cyhalothrin on <i>An. gambiae</i> s.s.	102
Figure 5.4 : Odds ratio of overall insecticidal effect of pirimiphos-methyl relative to lambda-cyhalothrin on <i>An. gambiae</i> s.s.	103
Figure 5.5 : Mortality rate after 24 hours as assessed by bioassays stratified by wall type of experimental hut.	104
Figure 5.6 : Residual activity of insecticide formulations against susceptible <i>An. gambiae</i>	105

Liste des tableaux

Tableau 3.1 : Composition de la faune culicidienne récoltée dans la zone d'étude de Septembre 2008 à Septembre 2009.....	40
Tableau 3.2 : Variations mensuelles des taux d'endophagie et des taux d'exophagie des femelles d' <i>An. gambiae s.s.</i> récoltées à Abokro et à Yaokoffikro de Septembre 2008 à Septembre 2009.....	45
Tableau 3.3 : Variations mensuelles des taux d'endophagie et des taux d'exophagie des femelles pares d' <i>An. gambiae s.s.</i> récoltées à Abokro et à Yaokoffikro de Septembre 2008 à Septembre 2009.....	46
Tableau 3.4 : Densités au repos et état de gorgement des femelles d' <i>An. gambiae s.s.</i> récoltées à Abokro et à Yaokoffikro de Septembre 2008 à Septembre 2009	48
Tableau 4.1 : Mean KD/mortality 60 min/24 h post-exposure to polyester and polyethylene nets after treatment with ICON [®] Maxx under laboratory conditions in Côte d'Ivoire	66
Tableau 4.2 : Average numbers and rates of the 12-month experimental hut trial at M'Bé station, in central Côte d'Ivoire, including numbers of entering and trapped mosquitoes, and mortality and blood-feeding rates	69
Tableau 4.3 : Relative rates of outcomes from treatment compared to control	70
Tableau 5.1 : Number of mosquitoes collected, stratified by taxa and treatment arm over the 12-month study period (September 2008 to August 2009) in experimental huts at the M'Bé station, near Bouaké in Central Côte d'Ivoire.....	99

Liste des abréviations

AChE	: Acétylcholinestérase
CDC	: Centers for Diseases Control and Prevention
CEMV	: Centre d'Entomologie Médicale et Vétérinaire
CSH	: Captures sur Humain
CSRS	: Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire
DDT	: Dichloro Diphényle Trichloroéthane
DPR	: Durée du repos post-repas
DR	: Densité au repos dans les maisons
f/c/j	: femelles par chambre par jour
ha	: Hectare
IRS	: Indoor residual spraying
ITN	: Insecticide Treated Nets
IVCC	: Innovative Vector Control Consortium
KD	: Knock down
kdr	: Knock down resistance
LLIN	: Long-lasting insecticidal net
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PIB	: Produit intérieur brut
PL	: Piège lumineux
PNLP	: Programme National de Lutte contre le Paludisme
s.l.	: <i>Sensu lato</i> (sens large)
s.s.	: <i>Sensu stricto</i> (sens strict)
WHO	: World Health Organization
WHOPES	: World Health Organisation Pesticides Evaluation Scheme

1. Introduction

L'objectif de cette introduction est de présenter les généralités sur le paludisme. Ainsi nous aborderons la situation sanitaire et économique du paludisme dans le monde (section 1.1), et donnerons un aperçu des parasites et des vecteurs du paludisme (section 1.2). Le cas particulier de la Côte d'Ivoire relatif à la transmission et à l'épidémiologie de la maladie sera présenté dans la section 1.3. Par la suite, nous passerons en revue les moyens de lutte contre le paludisme (section 1.4). Un des obstacles majeurs à la lutte contre le paludisme est la résistance des vecteurs aux insecticides, ce point sera abordé dans la section 1.5.

1.1. Situation sanitaire et économique du paludisme dans le monde

Le paludisme est la maladie parasitaire la plus répandue dans le monde (Mouchet *et al.*, 2004). Plus de 40 % de la population mondiale, soit plus de 2 milliards de personnes vivent dans des régions où sévit le paludisme (OMS, 1999). En moyenne 515 millions de cas cliniques de paludisme sont enregistrés dans le monde chaque année (Snow *et al.*, 2005). Dans les pays les plus septentrionaux d'Afrique (Algérie, Egypte, Libye, Maroc, Tunisie), le paludisme a été endigué ou éliminé avec succès (Rozendaal, 1997). Plusieurs zones endémiques ont été déterminées à travers le monde (Figure 1.1). Il est endémique dans certaines îles au large de l'Afrique occidentale (Sao Tomé et Príncipe, Sao Tiago, Cap-Vert). A l'Est, le paludisme est endémique à Madagascar, aux Comores, à Pemba et Zanzibar, mais il a été éliminé sur l'île de la Réunion. Dans certains pays des zones insulaires, particulièrement à Sao Tomé-et-Príncipe et Zanzibar (République-Unie de Tanzanie), qui sont parvenus à un taux élevé de couverture pour les moustiquaires et les traitements, les cas de paludisme et les décès en découlant ont reculé de 50 % et se sont accompagnés de reculs marqués des décès de toute cause confondue chez les enfants de moins de cinq ans (OMS, 2009). A l'île Maurice, le paludisme est maîtrisé depuis les années 1950, hormis des flambées occasionnelles de paludisme à *P. vivax*. En Afrique de l'Ouest, le paludisme est caractérisé par une très grande stabilité (Gazin *et al.*, 1985). Toutefois, de grandes fluctuations sont observées d'une région à une autre (Gazin, 1991). Les autres foyers d'origine diverses (Asie, Océanie et Amérique) tous réunis, sont

responsables de 10 % des cas et provoquent moins de 100 000 morts, bien qu'ils occupent une superficie voisine de celle de la région afrotropicale (Mouchet *et al.*, 2004).

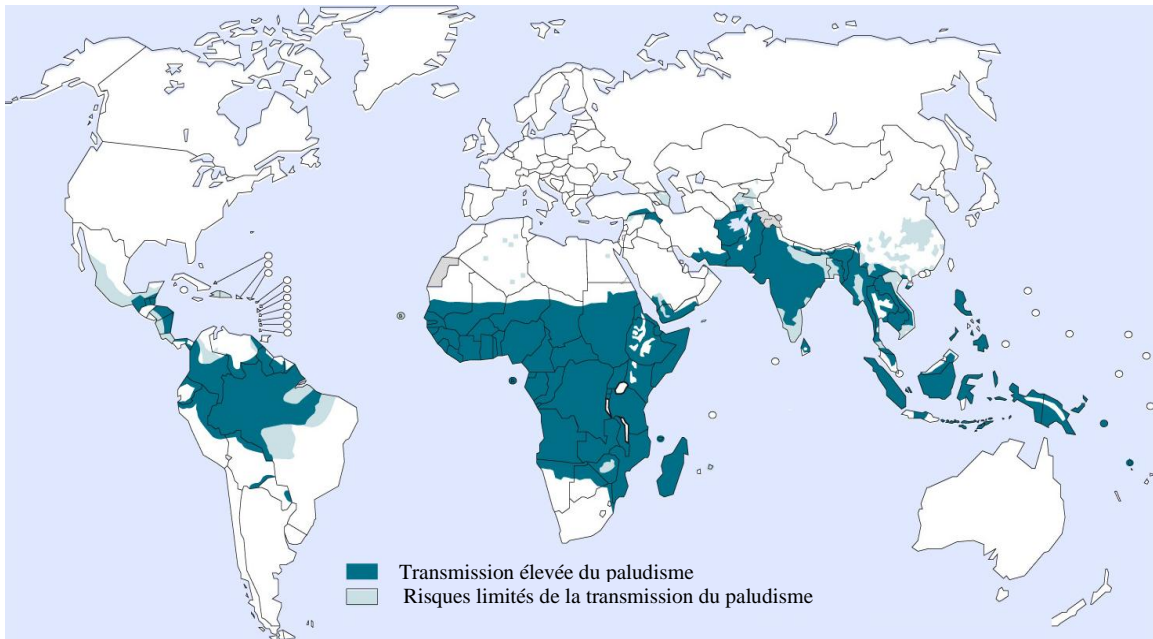


Figure 1.1 : Les pays ou les zones à risque de la transmission du paludisme 2009.
Source : WHO (<http://gamapserver.who.int/mapLibrary>)

En Afrique où le paludisme sévit le plus, les économistes attribuent à la maladie un déficit de croissance annuel pouvant atteindre 1,3 % dans certains pays d'Afrique (Sachs & Malaney, 2002). Au fil des années, l'écart se creuse entre le Produit intérieur brut (PIB) des pays, selon qu'ils sont touchés ou non par le paludisme (Anonyme, 2003). Le coût direct du paludisme recouvre les dépenses individuelles et publiques pour la prévention et le traitement de la maladie. Le coût indirect du paludisme inclut la perte de productivité ou de revenu associée à la maladie ou au décès, ainsi que la douleur et les souffrances humaines causées par la maladie. La simple présence de la maladie dans une collectivité ou un pays est aussi préjudiciable à la prospérité individuelle et nationale en raison de son influence sur les décisions sociales et économiques (Anonyme, 2003). En vue de parvenir à une réduction mesurable de la charge palustre, une mobilisation importante a été enregistrée ces dernières années. En effet, les engagements internationaux pour le financement de la lutte antipaludique ont augmenté, passant de quelque US\$ 0,3 milliard en 2003 à US\$ 1,7 milliard en 2009. Cette progression s'explique largement par la montée en puissance du Fonds Mondial de Lutte contre le

Sida, la Tuberculose et le Paludisme et par la hausse des engagements de l'Initiative du Président des États-Unis contre le paludisme, de la Banque Mondiale et d'autres institutions. Elle a permis d'accroître considérablement la couverture des interventions antipaludiques dans de nombreuses zones (OMS, 2009).

1.2. Parasites et vecteurs du paludisme

Le paludisme est une maladie causée par un parasite protozoaire appartenant au genre *Plasmodium*. Parmi les diverses espèces présentes dans la nature, seules quatre sont des causes majeures de paludisme chez l'homme. Le vecteur responsable de la transmission de la maladie est un moustique du genre *Anopheles*. Seules les femelles sont capables de transmettre le paludisme. Pour que leurs œufs arrivent à maturité, elles doivent prendre un repas de sang en piquant un hôte (humain). C'est au cours de ce repas qu'il peut soit ingérer l'agent pathogène du paludisme d'un sujet infecté, soit l'injecter à un sujet sain, produisant ainsi des infections. Les mâles, en revanche, se nourrissent de la sève et de nectar et ne sont pas impliqués dans la transmission de la maladie.

1.2.1. Les parasites du paludisme

1.2.1.1. Les espèces plasmodiales et leur répartition

Le paludisme ou malaria est une parasitose principalement due à des hématozoaires du genre *Plasmodium* transmis par des moustiques femelles du genre *Anopheles* (Anonyme, 1992). Le paludisme peut aussi se transmettre accidentellement par transfusion de sang contenant des parasites du paludisme ou par des lames ou seringues contaminés. Durant la grossesse, les fœtus peuvent être infectés par le sang de la mère, c'est la transmission transplacentale (Rozendaal, 1997).

Quatre espèces dans le monde infectent les humains:

- *P. falciparum* : Cette espèce est responsable des attaques graves et souvent mortelles, en particulier chez les personnes non immunisées. Dans ce cas, un diagnostic doit être posé avec une urgence extrême, puisque le traitement pharmacologique immédiat s'impose. Il produit un niveau plus élevé de la parasitémie que les autres espèces (Swierczynski & Gobbo, 2007). Il est présent à travers l'Afrique tropicale et une

partie de l'Asie, le Pacifique occidental, l'Amérique du Sud et du Centre, Haïti et la République Dominicaine.

- *P. vivax* : Cette espèce provoque des rechutes fréquentes, en raison de la présence d'hypnozoïtes dans le foie, si l'infection n'est pas correctement traitée avec un médicament schizontocide hépatique (primaquine) (Swierczynski & Gobbo, 2007). Il est presque absent de l'Afrique, il constitue le parasite prédominant en Asie et en Amérique du Sud et Centrale.

- *P. ovale* : Les infections dues à *P. ovale* suivent généralement une évolution bénigne, mais des complications rares peuvent survenir. Comme *P. vivax*, il peut causer des rechutes dues à la présence d'hypnozoïtes dans le foie. Le degré de parasitémie est généralement plus faible que dans les infections à *P. vivax* (Swierczynski & Gobbo, 2007). Il est présent principalement dans les zones tropicales de l'Afrique de l'Ouest et rarement dans le pacifique Ouest (Rozendaal, 1997).

- *P. malariae* : C'est une infection qui suit une évolution bénigne, sauf dans quelques cas. En comparaison avec les autres espèces, il produit généralement une parasitémie très faible (Swierczynski & Gobbo, 2007). Il est rencontré partout dans le monde mais a une distribution sporadique.

Le paludisme est très répandu dans les tropiques et aussi dans les régions subtropicales et tempérées (Rozendaal, 1997). Il menace particulièrement les enfants car leur système immunitaire n'est pas entièrement constitué ; les femmes enceintes parce que leur système de défense est temporairement affaibli, et les immigrés venant de zones à faible endémicité du fait qu'ils ont été moins souvent exposés à l'infection (Verhoef, 1996).

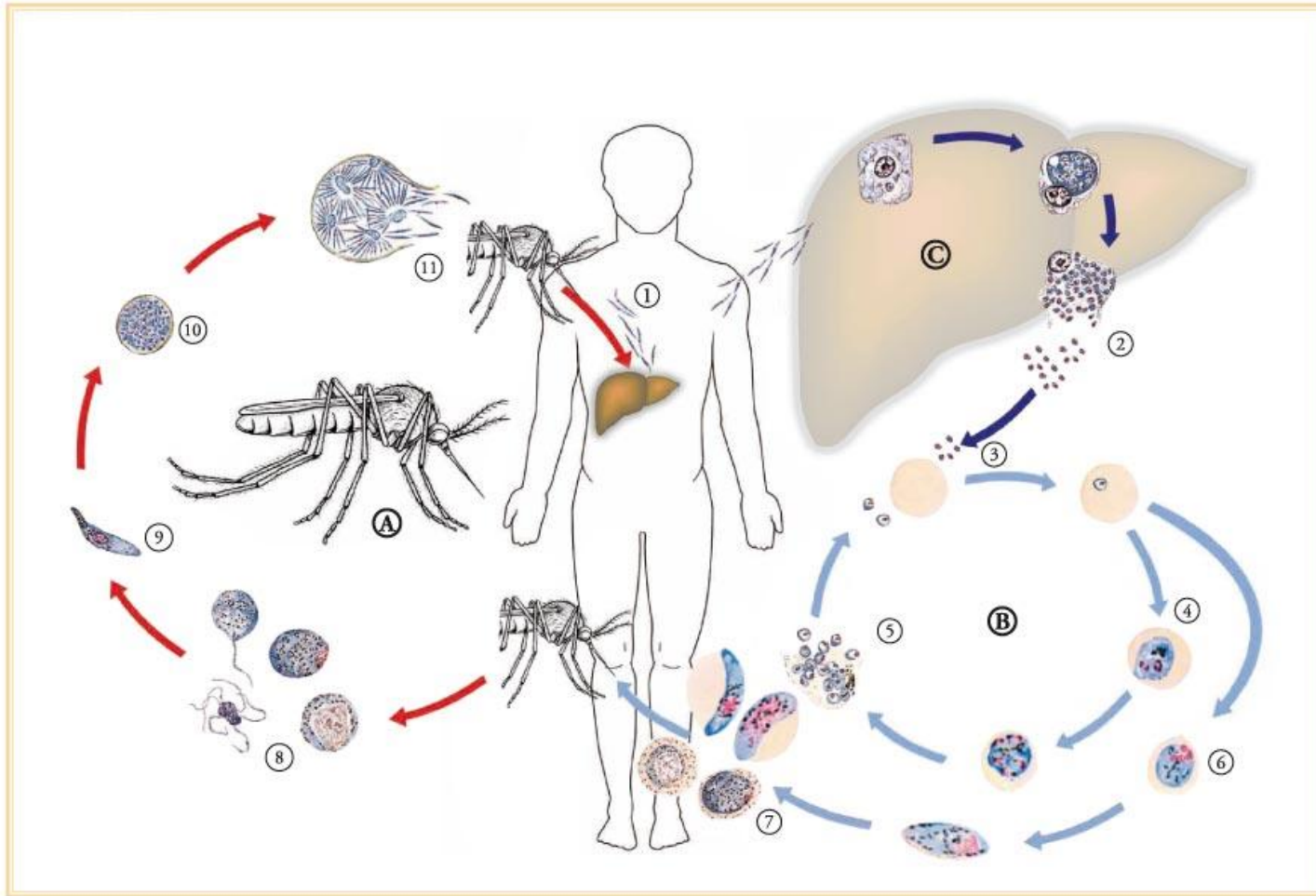
1.2.1.2. Cycle de développement du *Plasmodium*

Les parasites responsables du paludisme sont confrontés à des environnements extrêmement divers au cours du cycle parasitaire ; ils peuvent se trouver dans la circulation sanguine chez l'hôte vertébré et dans l'hémolymphe chez le moustique vecteur, ainsi qu'à l'intérieur de divers types cellulaires (hépatocytes et érythrocytes de l'hôte vertébré, intestin et glandes salivaires de l'insecte) (Doerig *et al.*, 2009). Le cycle

de vie du parasite du paludisme (Figure 1.2) peut être divisé en 3 phases: l'une est la voie sexuelle (cycle sporogonique) et se déroule à l'intérieur du moustique (A) alors que les deux autres sont asexuées et se déroulent à l'intérieur de l'hôte humain, le cycle érythrocytaire (B) (dans les globules rouges) et le cycle exoerythrocytique (C) (dans les cellules du foie) (Swierczynski & Gobbo, 2007).

- Cycle de développement du *Plasmodium* chez l'homme

L'infection d'un hôte humain commence lorsque les sporozoïtes sont injectés dans le corps humain via la piqûre d'un moustique contaminé du genre *Anopheles* (Fujioka & Aikawa, 1999). Il injecte au maximum une centaine de sporozoïtes (1), qui, en entrant dans la circulation sanguine, atteindront le foie (hépatocytes) dans les 30-40 min (Swierczynski & Gobbo, 2007). Après une phase de division dans les hépatocytes, il produit des schizontes hépatiques ; c'est la phase pré-érythrocytaire (avant l'invasion du globule rouge) ou exo-érythrocytaire (hors du globule rouge) du parasite (Mouchet *et al.*, 2004). Après une période variant de 6 à 15 jours, selon les espèces de *Plasmodium*, des milliers de mérozoïtes sont libérés (White *et al.*) dans la circulation sanguine, où ils pénètrent et envahissent les globules rouges rapidement (3) (Swierczynski & Gobbo, 2007). Chaque schizonte libère environ 40 000 mérozoïtes pour *P. falciparum*, 15 000 pour *P. ovale*, 10 000 pour *P. vivax* et de l'ordre de 2000 pour *P. malariae* (Mouchet *et al.*, 2004). Dans le cas de *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes entrent dans une phase de repos, devenant "hypnozoïtes hépatiques". Ces formes resteront latentes pendant des semaines, des mois voire des années jusqu'à ce qu'elles soient réactivées, donnant lieu à des rechutes caractéristiques de ces deux espèces. Les mérozoïtes qui ont pénétré dans les globules rouges se transforment en trophozoïtes, qui, après avoir terminé la phase de croissance végétative, se transforment en schizontes (4).



4

Figure 1.2 : Cycle évolutif du *Plasmodium* chez l'homme et le moustique (Swierczynski & Gobbo, 2007)

Une fois mature (5), les schizontes provoquent l'éclatement des globules rouges, libérant les mérozoïtes (de 6 à 24 pour chaque schizontes érythrocytaires) qui vont envahir d'autres globules rouges du sang. La destruction des globules rouges coïncide également avec la libération de substances pyrogènes, qui déclenchent les mécanismes de production de la fièvre et autres symptômes cliniques. La morbidité et la mortalité associées au paludisme découlent exclusivement des stades érythrocytaires. Le cycle érythrocytaire asexué dure 48 ou 72 heures, en fonction des espèces de *Plasmodium*, et continue jusqu'à leur mise sous contrôle, soit par la réponse immunitaire de l'organisme ou la chimiothérapie. Après avoir envahi un globule rouge (6), certains mérozoïtes ne se développent pas en trophozoïtes mais plutôt, pour des raisons encore peu claires, se différencient en formes sexuées, les gamétocytes mâles (microgametocytes) et des gamétocytes femelles (macrogametocytes) (7) (Swierczynski & Gobbo, 2007).

- Cycle de développement du *Plasmodium* chez le moustique

Lors de son repas, l'anophèle absorbe les gamétocytes mâles et femelles. Dans son estomac, ils se transforment en gamètes (8) alors que les éléments asexués du parasite sont digérés. Les éléments mâles et femelles se conjuguent dans l'estomac de l'insecte pour former un zygote (Mouchet *et al.*, 2004). Le zygote s'allonge et est mobile, appelé ookinete, (9) pénètre dans la paroi de l'estomac et se développe en un oocyste sphérique (10). À l'intérieur de l'oocyste, des divisions répétées donnent lieu à la formation de nombreux sporozoïtes, ce qui finit par provoquer la rupture de l'oocyste (11). Les sporozoïtes sont libérés dans l'hémolymph, d'où elles migrent ensuite vers les glandes salivaires (Swierczynski & Gobbo, 2007). Une glande infectée peut héberger plusieurs centaines, voire plusieurs milliers, de sporozoïtes. La durée du cycle sporogonique varie pour chaque parasite suivant la température. A 25°C, le cycle de *P. vivax* est de 10 jours, celui de *P. falciparum* de 13 jours. La durée de ces cycles s'allonge lorsque la température diminue. A 20°C, le cycle de *P. falciparum* dure 30 jours et il n'est plus réalisé au-dessous de 18°C ; le cycle de *P. vivax* à 20°C dure 25 jours et n'est plus réalisé au-dessous de 15-16°C. Les cycles de *P. malariae* et *P. ovale* sont plus longs, de 18 à 20 jours à 25°C (Mouchet *et al.*, 2004).

1.2.2. Vecteurs du paludisme

1.2.2.1. Les espèces vectrices

Le *Plasmodium* est transmis par des moustiques femelles du genre *Anopheles*. Les moustiques appartenant au genre *Anopheles* ont été identifiés pour la première fois comme vecteurs du paludisme en 1897 by Sir Ronald Ross. Plus de 450 espèces d'anophèles ont été recensées sur la planète, mais seules 70 à 80 peuvent être considérées comme des vecteurs. Elles ont été groupées par régions biogéographiques. L'on distingue les « vecteur principaux » à grande répartition géographique, les « vecteurs d'importance locale » et les « vecteurs secondaires ». En général, les vecteurs principaux présentent des Indices sporozoïtiques (*Is*) supérieurs à 1 % en Afrique. Les vecteurs d'importance locale présentent les mêmes indices que les précédents mais occupent une aire de distribution très limitée ; par exemple. *An. paludis*, dans le bassin supérieur du Congo et de l'Oubangui, présente un *Is* supérieur à 2 % alors que, dans le reste de l'Afrique, il n'est que rarement trouvé infecté. Les vecteurs secondaires ont en général un *Is* inférieur à 0,1 %. Dans le reste du monde, les *Is* sont beaucoup plus bas; en Amérique du Sud, ils sont inférieurs à 0,1 % souvent 0,01 %. (Mouchet *et al.*, 2004).

1.2.2.2. Biologie des anophèles

Les anophèles sont des insectes diptères, holométaboles, qui présentent quatre stades au cours de leur vie. Les trois premiers stades, dit pré-imaginaux, comprennent les œufs, larves et nymphes, et sont aquatiques. Le dernier stade, adulte ou imago, est aérien (Figure 1.3).

- Phase aquatique

La femelle pond à la surface de l'eau après la prise d'un repas de sang. Ces œufs sont munis de flotteurs les maintenant à la surface de l'eau. Après l'éclosion au bout de 24 à 48 heures selon la température (Mouchet *et al.*, 2004), les larves de stade 1 apparaissent. Elles se nourrissent de matière organique et de micro-organismes pour atteindre des larves de stades 2, 3 et 4 après avoir subi plusieurs mues successives. La larve de stade 4 subit une nymphose. La nymphe qui en résulte ne se nourrit pas. La respiration des larves

est assurée par des stigmates respiratoires tandis que celle des nymphes se fait à partir des siphons respiratoires. La durée de la phase aquatique dépend des espèces et de la température du gîte larvaire (Horsfall, 1972). Celles d'*An. gambiae* est en moyenne de 7 à 10 jours (Robert & Carnevale, 1984), tandis que celle d'*An. funestus* est relativement longue, variant de 20 à 30 jours (Hamon *et al.*, 1955).

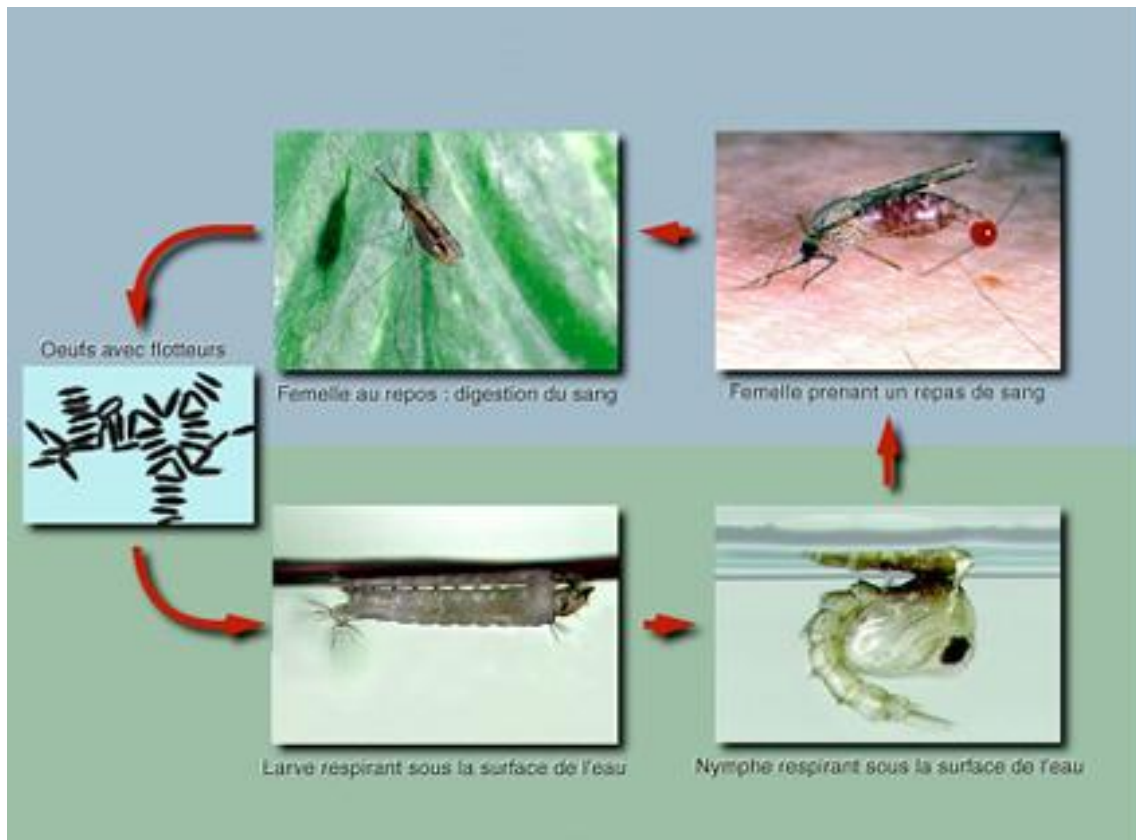


Figure 1.3 : Cycle biologique du moustique *Anopheles* (Mouchet *et al.*, 1991)

- Phase aérienne

Dès son émergence, l'adulte se repose sur un support émergé, durant 10 à 20 heures, pendant que sa cuticule durcit, que ses ailes se déploient et que l'appareil génital subit une hémirrotation de 180°, le rendant fonctionnel (Mouchet *et al.*, 2004). L'accouplement se fait pendant le vol et elle n'a lieu qu'une fois dans la vie de l'anophèle. La fécondation a lieu dans le tractus génital de la femelle après le passage des

ovarioles mûres dans l'oviducte. Les repas de sang pris par la femelle lui apportent les substances nutritives indispensables à sa maturation ovarienne (Detinova, 1963).

1.2.2.3. Ecologie et comportement des adultes

Les différentes espèces exploitent une grande variété de collection d'eau. Les larves peuvent être rencontrées dans les eaux courantes rapides, eaux courantes lentes, mares résiduelles de décrues, eaux de surfaces stagnantes ensoleillées, marais à végétation dressée, collection d'eau des sous bois... . L'évolution saisonnière de la végétation permet à certaines espèces de se succéder dans le temps. Dans les rizières par exemple, les espèces du complexe *An. gambiae*, héliophiles, pullulent lors de la mise en eau et du repiquage ; avec la croissance du riz, elles sont remplacées par des espèces qui recherchent l'ombre et l'abri d'une végétation dressée : *An. pharoensis* en Afrique de l'Ouest, *An. funestus* à Madagascar par exemple. Le choix du site de ponte est un élément du comportement de chaque espèce. La présence de gîtes larvaires favorables détermine la distribution spatiale des différentes espèces et, dans une certaine mesure, leur comportement. En Afrique par exemple, *An. gambiae* ou *An. arabiensis* héliophiles sont présentes partout à l'exception du couvert forestier et dans les zones de haute altitude (près de 2000 m) car leur gîtes larvaires ensoleillés sont peu spécialisés et ont une grande amplitude écologique, allant de l'empreinte de pas à la rizière (Mouchet *et al.*, 2004).

Les anophèles adultes ont généralement une activité nocturne. Certaines espèces piquent en début de nuit, mais la plupart des vecteurs majeurs attaquent entre 23h et 03h, en revenant de pondre. Un certain nombre de spécimens, en particulier les femelles nullipares qui ne sont pas retardées par la ponte, piquent en début de nuit. La période d'agressivité, comme tous les éléments du comportement des anophèles présente de grandes différences d'une population, voire d'un individu, à l'autre, d'un site à l'autre et même d'une saison à l'autre. Les anophèles qui se nourrissent sur Homme sont dits anthropophiles et s'opposent à ceux qui se nourrissent sur différentes espèces animales, dites zoophiles. Lorsque le repas de sang peut être pris dans la maison, on parle de comportement endophage ou à l'extérieur de l'habitation on parle de comportement exophage. Après leur repas de sang, certains anophèles restent dans la même maison pendant toute la durée du cycle gonotrophique. Ils sont dits endophiles. Au contraire,

d'autres espèces quittent rapidement les maisons pour gagner des refuges extérieurs. Ils sont dits exophiles. Toutefois des cas intermédiaires peuvent être rencontrés souvent au sein de la même espèce (Mouchet *et al.*, 2004).

1.2.2.4. Vecteurs du paludisme en Afrique Sub-Saharienne

Plusieurs espèces d'anophèles ont été identifiées comme vecteurs du *Plasmodium* en Afrique Sub-Saharienne. Les plus importantes sont les espèces appartenant aux complexes *An. gambiae*, *An. funestus* et souvent *An. nili*.

1.2.2.5. Complexe *An. gambiae*

Le complexe *An. gambiae* est le plus répandu en Afrique et de loin le plus étudié. Il est composé des espèces *An. gambiae s.s.* (Giles, 1902), *An. arabiensis* (Patton, 1905), *An. bwambae* (White, 1985), *An. melas* (Théobald, 1903), *An. merus* (Doenitz, 1902), et *An. quadriannulatus* (Théobald, 1903). Cette dernière espèce a été scindée en deux catégories, A et B (Manguin *et al.*, 2000). *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis* sont les espèces les plus répandues et constituent d'excellents vecteurs du *Plasmodium*. *An. gambiae s.s.* est répandue en zone de forêt et de savane humide, tandis que *An. arabiensis* est répandue en zones de savane sèche et de steppe. Leurs gîtes préférés sont les points d'eau temporaires, non pollués, peu profonds et ensoleillés telles que les mares, les rizières et les flaques d'eau. Le cycle gonotrophique dure en moyenne 3 à 5 jours chez les femelles nullipares et 2 à 3 jours chez les femelles pares. Les taux quotidiens de survie varient entre 84 % et 93 % (Danis & Mouchet, 1991). *An. melas* et *An. merus* sont des espèces que l'on rencontre dans les eaux saumâtres du littoral atlantique et de l'océan indien d'Afrique. La zoophilie très marquée de ces deux espèces fait d'elles de médiocres vecteurs du paludisme humain (Danis & Mouchet, 1991). L'espèce *An. bwambae* se rencontre dans les eaux marécageuses minéralisées d'origine géothermale de la forêt de Semliki à la frontière de la République Démocratique du Congo et de l'Ouganda.

Bien qu'anthropophiles et vecteurs du paludisme, les adultes de cette espèce ont rarement des contacts avec l'homme (Danis & Mouchet, 1991). *An. quadriannulatus* a une répartition limitée en Ethiopie et dans l'île de Zanzibar. Elle n'intervient pas dans la transmission du paludisme, car elle est zoophage stricte (Danis & Mouchet, 1991).

1.2.2.6. Complexe *An. funestus*

Le complexe *An. funestus* est très répandu dans les pays au Sud du Sahara et constitue avec *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis* les plus importants vecteurs. L'utilisation des techniques PCR (Polymerase chain reaction) ont permis d'identifier six espèces : *An. funestus s.s.*, *An. vaneedeni*, *An. rivulorum*, *An. lesoni*, *An. parensis* (Koekemoer *et al.*, 2002) et *An. rivulorum-like* (Cohuet *et al.*, 2003).

Ces espèces vivent généralement dans les gîtes permanents : marécages, bords de lacs et d'étangs, rives herbeuses de fleuves, rivières et ruisseaux, zones d'inondation des cours d'eau (Hamon *et al.*, 1955). Elles peuvent aussi se développer dans les rizières (Betsi, 2003).

La densité de la population adulte varie en général avec la pluviosité : elle est élevée en saison sèche et atteint son minimum en saison des pluies (Adja *et al.*, 2006; Betsi, 2003; Koudou, 2005; Mouchet *et al.*, 1993). Toutefois, les études réalisées par (Betsi, 2003) dans la région Ouest de la Côte d'Ivoire montrent que son abondance dans ce milieu est liée aux phases de la riziculture. Le taux d'anthropophilie est très élevé, cependant, les individus peuvent se nourrir sur les animaux (Dia, 1999; Betsi, 2003). Ces espèces sont également caractérisées par une nette endophagie (Coulibaly *et al.*, 1989; Fontenille *et al.*, 1992; Betsi, 2003) et l'activité de piqûres débute généralement au crépuscule.

1.2.2.7. Complexe *An. nili*

An. nili s.l. est répandu dans toute l'Afrique tropicale, des savanes humides et limité par les régions sèches où les cours d'eau sont temporaires (Gillies et de Meillon, 1968). Il est présent jusqu'à 1000 m d'altitude (Vermylen, 1967). Le complexe *An. nili* renferme *An. nili s.s.* (Theobald, 1904); *An. carnevali* (Brunhes *et al.*, 1999), *An. ovengensis* et *An. somalicus* (Kengne *et al.*, 2003).

1.2.2.8. Facteurs influençant la transmission du paludisme

La transmission du paludisme est fortement liée aux conditions climatiques et secondairement aux modifications naturelles ou anthropiques de l'environnement. Autrement dit, à petite échelle, la distribution spatio-temporelle des vecteurs et de la maladie se superpose aux faciès bioclimatiques tandis qu'à une échelle plus locale,

d'autres facteurs environnementaux (milieux humides, relief) et anthropiques (agriculture, élevage, irrigation) jouent un rôle prédominant (Saugeon *et al.*, 2009).

Le climat, en particulier la température et la pluviosité affectent la capacité des parasites du paludisme et les vecteurs à coexister assez longtemps pour permettre la transmission (Hay *et al.*, 2005). Le rythme et le volume des précipitations sont des facteurs essentiels qui déterminent les espèces anophéliennes existantes ainsi que leur abondance et la durée de leur présence saisonnière (Saugeon *et al.*, 2009). C'est le cas en Gambie, où la transmission de la maladie se produit principalement durant quelques mois de chaque année, en raison de l'existence d'une seule saison des pluies de juin à octobre, qui crée des sites de reproduction des principaux vecteurs du paludisme (Bryan *et al.*, 1987). L'augmentation de la température ambiante accélère le cycle biologique des anophèles vecteurs et facilite la transmission du paludisme en raccourcissant notamment la durée du cycle sporogonique chez les vecteurs (Afrane *et al.*, 2006; Afrane *et al.*, 2008). La transmission du paludisme peut augmenter dans les zones où les conditions habituelles, qui limitaient normalement la transmission changent radicalement (par exemple : la mise en place de système d'irrigation ou de projets agricoles) (Anonyme, 2000; Keiser *et al.*, 2005). Ainsi, des études réalisées à Yamoussoukro, au centre de la Côte d'Ivoire ont montré que l'installation des systèmes d'irrigation peut provoquer un changement du milieu physique et des conditions écologiques, favorisant ainsi la pullulation des moustiques vecteurs de la maladie et la fréquence de l'infection palustre (Koudou *et al.*, 2005; 2007). De même, les gîtes larvaires créés par l'action humaine (particulièrement la création de bassins dans les lieux publics, les grands travaux ou chantiers, la défaillance des réseaux de distribution d'eau, et les contenus artificiels (Rozendaal, 1997) contribuent au développement des moustiques, favorisant ainsi la propagation de la maladie. En outre, les facteurs écologiques comme la présence ou l'absence d'animaux domestiques peuvent influencer l'abondance des moustiques ainsi que le taux d'inoculation entomologique (TIE). Les études menées au Pakistan (Hewitt *et al.*, 1994), en Gambie (Adiamah *et al.*, 1993) et à Sao Tomé et Príncipe (Sousa *et al.*, 2001), ont montré que les animaux domestiques dans les maisons ou à proximité favoriseraient une réduction de la prévalence et de l'incidence du paludisme. Des événements ponctuels peuvent également moduler la transmission du paludisme, tels que des cataclysmes, des phénomènes

migratoires ou des déplacements massifs de populations (réfugiés). Enfin, il ne faut pas oublier les déterminants opérationnels, à savoir les effets de la prévention et de la lutte antipaludique qui devraient logiquement entraîner une réduction de la morbidité et de la mortalité du paludisme là où ces actions sont effectivement entreprises (Saugeon *et al.*, 2009).

1.2.2.9. Changement climatique et transmission du paludisme

La vie de l'homme est étroitement liée à la dynamique du système climatique de la planète. Ce sont les interactions de l'atmosphère, des océans, de la biosphère terrestre et de la biosphère marine, de la cryosphère et de la surface de la terre qui déterminent le climat en surface. La concentration des gaz à effet de serre dans l'atmosphère augmente principalement du fait de l'activité humaine et conduit à un réchauffement à la surface de la terre. On estime que la température mondiale augmentera en moyenne de 1,0°C à 3,5°C d'ici 2100, ce qui accroîtra la probabilité de nombreuses maladies à transmission vectorielle (Githeko *et al.*, 2000).

Les spéculations sur l'impact potentiel des changements climatiques sont souvent axées sur les maladies infectieuses et particulièrement sur le paludisme. Selon les prédictions, dans les décennies à venir, des dizaines - voire des centaines - de millions de cas additionnels se produiront dans les régions où la maladie est déjà présente, et que les vecteurs et les agents pathogènes se déplaceront vers les hautes latitudes et altitudes (Reiter, 2008). En Afrique sub-saharienne, les prédictions prévoient peu de changements de la distribution globale du paludisme à *P. falciparum*, sauf quelques exceptions, au niveau des zones dites instables comme les franges nord et sud de la zone stable et les zones d'altitude (Hay *et al.*, 2005).

Les espèces de moustiques comme ceux appartenant au complexe *An. gambiae*, *An. funestus*, responsables de la transmission du paludisme, sont sensibles aux changements aussi bien au stade immature dans l'environnement aquatique qu'au stade adulte. Si la température de l'eau augmente, les larves prennent moins de temps pour devenir mature (Rueda *et al.*, 1990), et donc il y aura une pullulation de moustiques au cours de la période de transmission. Comme signalé dans le chapitre précédent, une augmentation de la température ambiante facilite la transmission du paludisme en

raccourcissant notamment la durée du cycle sporogonique chez les vecteurs (Afrane *et al.*, 2008; Afrane *et al.*, 2006). Dans les climats plus chauds, les moustiques femelles adultes digèrent plus rapidement le sang et se nourrissent plus souvent (Gillies, 1953), augmentant ainsi l'intensité de transmission. Toutefois, des températures supérieures à 34°C ont généralement un impact négatif sur la survie des vecteurs et des parasites (Rueda *et al.*, 1990).

Le changement climatique aura des impacts à court et à long terme sur la transmission des maladies. Par exemple, une augmentation à court terme de la température et des précipitations comme celle engendrée par El-Niño, un exemple de la variabilité inter-annuelle du climat, a provoqué des épidémies du paludisme à *Plasmodium falciparum* au Kenya (Anonyme, 1998).

1.3. Transmission et épidémiologie du paludisme en Côte d'Ivoire

1.3.1. Faciès épidémiologique de la maladie

Au nord, le climat fait alterner deux saisons contrastées et la transmission du paludisme s'y fait toute l'année, mais avec une très nette recrudescence en saison des pluies, de mai à août. La transmission du paludisme reste cependant, à un haut niveau toute l'année, le long des cours d'eau. Au Sud, deux zones sont décrites, il s'agit d'une zone de savane où la transmission du paludisme est pérenne et généralisée, et d'une zone forestière où la transmission du paludisme ne se fait que dans les clairières.

Pratiquement tous les faciès épidémiologiques du paludisme sont décrits dans le pays :

- Un paludisme urbain dans la ville d'Abidjan et sa banlieue : l'indice plasmodique moyen était de 19 % en 1988 chez les écoliers asymptomatiques âgés de 5 à 9 ans (Kone *et al.*, 1990). Il existe des différences importantes selon les quartiers : le niveau de transmission le plus élevé est observé à Port-Bouët avec 10 à 30 piqûres infestantes par homme et par an (pi/h/a).
- Un paludisme lagunaire le long de la côte, à l'ouest et à l'est d'Abidjan. Chez les enfants âgés de moins de 14 ans, l'indice plasmodique moyen est de 15 %, l'indice splénique de 12,2 % et le TIE annuel est de l'ordre de 288 pi/h/a (Rogier, 2000).

- Un paludisme de zone forestière dans tout le Sud de la Côte d'Ivoire. L'indice plasmodique moyen y est de 85 % chez les enfants de moins de 14 ans, l'indice splénique de 33 % et le taux d'inoculation entomologique annuel égal à 416 pi/h/an (Nzeyimana *et al.*, 2002).
- Un paludisme de savane humide arborée : cet écosystème est contigu à la zone forestière. L'indice plasmodique moyen chez les enfants de 0-14 ans est de 42,2 %, l'indice splénique de 22 % et le TIE annuel varie entre 0 et 160 pi/h/an (Dossou-Yovo *et al.*, 1995; 1998).
- Un paludisme de savane soudano-sahélienne ou sahélienne : l'écosystème occupe la région Nord de la Côte d'Ivoire. L'indice plasmodique moyen chez les enfants de 0-14 ans est de 11,2 %, l'indice splénique de 54,6 % et le TIE annuel de 15 à 240 pi/h/a (Rogier, 2000).

1.3.2. Vecteurs du paludisme en Côte d'Ivoire

Les premières études sur les anophèles vecteurs ont fait état de la présence généralisée d'*An. gambiae s.l.* et d'*An. funestus*, ainsi que celle plus ponctuelle d'*An. melas* sur la côte (Holstein, 1949; Hamon *et al.*, 1956). Après le démembrement du complexe Gambiae, il apparut qu'*An. gambiae s.s.* occupait la majorité de la Côte d'Ivoire. *An. melas* n'était observé que sur la côte. *An. nili* se développe dans les rivières à courant rapide ; une espèce très voisine, *An. carnevalei*, apparemment sympatrique de la précédente, a été décrite à Tiassalé (Brunhes *et al.*, 1998), mais on ignore tout le rôle réciproque des deux formes, taxonomiquement très proches. Dans le sud forestier, particulièrement dans le sud-ouest du pays, le long du bas-Sassandra, le TIE variait de 3,4 pi/h/an jusqu'à 1275 pi/h/an dans les régions de forêt relativement dégradée (Coz *et al.*, 1966). D'après les auteurs, le TIE, très bas, de la région côtière correspondait à la présence d'*An. melas* comme vecteur. Au contraire, la transmission très élevée en forêt résultait de l'action conjointe d'*An. gambiae s.s.* pour les deux tiers et d'*An. funestus* pour un tiers. Dans la région montagneuse de Man, les vecteurs étaient *An. gambiae* et *An. funestus* avec la présence d'*An. nili* dans quelques localités. La déforestation a conduit à l'augmentation considérable de la transmission en favorisant la création de gîtes héliophiles. Le TIE qui était de 88 pi/h/an à Man (Hamon *et al.*, 1962) et 22 pi/h/an à Sassandra (Coz *et al.*, 1966) est passé à 400 pi/h/an dans la région de Danané (Nzeyimana

et al., 2002). La région Nord de la Côte d'Ivoire est caractérisée par un paludisme de savane soudano-sahélienne ou sahélienne avec un TIE annuel de 15 à 240 pi/h/a (Rogier, 2000). Dans les savanes humides de Côte d'Ivoire, le paludisme est stable mais la transmission est marquée par un pic pendant la saison des pluies, caractéristique de la strate tropicale. En saison sèche, la transmission se poursuit toute l'année mais, à un rythme moins élevé. Dans le village d'Alloukoukro, en zone de savane humide du centre du pays, *An. funestus* participait pour 20 % à 30 % à la transmission du paludisme, dont l'essentiel était assuré par *An. gambiae s.s.* (Dossou-Yovo *et al.*, 1995; 1998). Le taux journalier de piqûre d'*An. gambiae* variait de 13 à 20 par jour suivant les saisons et *An. funestus* marquait un pic très net en fin de saison des pluies et au début de la saison sèche. En 1991, le TIE était de 266 pi/h/an (dont 204 dues à *An. gambiae* et 62 dues à *An. funestus*). En 1992, il était de 196 pi/h/an (dont 160 dues à *An. gambiae* et 36 dues à *An. funestus*). Une étude plus récente menée en 2005 a montré que la transmission était très élevée à Tiémélékro, particulièrement due à *An. gambiae* (244 pi/h/a) et *An. funestus* (328 pi/h/a) (Koudou *et al.*, 2007).

1.4. Lutte contre le paludisme

1.4.1. Lutte contre les parasites

Dans de nombreux pays impaludés, en zones rurales, le manque d'équipements ne permet pas de faire le diagnostic biologique permettant de déterminer la charge et l'espèce plasmodiale de l'infection. Le type de traitement appliqué est le traitement systématique des états fébriles (Danis & Mouchet, 1991). Ce mode de traitement a pour avantage de prévenir les cas de neuropaludisme, de préserver l'état de prémunition ou l'acquisition de l'immunité spécifique chez l'enfant, d'être réalisable à grande échelle.

Certaines formes de *Plasmodium* ont développé des résistances aux antipaludiques, ce qui complique le traitement. En Afrique de l'Ouest, où les vagues de malaria sont particulièrement virulentes, le Lariam est maintenant recommandé malgré ses effets secondaires. Des recherches portant sur l'*Artemisia annua* ont abouti à la synthèse d'une molécule bon marché à base d'artémisinine (Anonyme, 2005). Toutefois, une étude menée par l'OMS a permis de repérer en amont des cas de résistance aux artémisinines. L'OMS dirige une initiative de grande ampleur pour faire face à ce

problème. Le recours à l'artémisinine comme monothérapie constitue un facteur important de résistance (OMS, 2009).

1.4.2. Lutte antivectorielle

La lutte antivectorielle vise à supprimer ou limiter le contact homme-vecteur pour prévenir l'infection des plasmodiums. Elle est complémentaire à la lutte contre le parasite elle-même par la chimioprophylaxie. Aujourd'hui l'élimination des populations de vecteurs n'est pas la finalité de la lutte anti-vectorielle. Son objectif est de diminuer le poids du paludisme (Djogbenou *et al.*, 2009). Les insecticides font partie des produits les plus utilisés par l'homme contre les insectes. Ils exercent aussi bien un effet excito-répulsif, qu'un effet létale sur les insectes. Leur homologation dépend de l'efficacité et du maintien de ces molécules dans les milieux naturels. Les insecticides utilisés en santé publique sont aussi bien d'origine naturelle que synthétique.

1.4.2.1. Les insecticides

- Les insecticides d'origine naturelle

Les molécules d'origine végétale dotées d'un effet insecticide sont connues depuis très longtemps. La nicotine, la roténone, les pyréthrine et les produits pétroliers ont été les premiers insecticides naturels à être utilisés contre les insectes ravageurs des cultures mais aussi les insectes nuisibles et vecteurs de maladies. La roténone, extrait de la plante *Derris elliptica*, a une action « knock down » sur les moustiques. Les pyréthrine extraites du pyrèthre ont toujours servi de « tête de série » à la fabrication de composés de synthèse dont les propriétés physicochimiques, l'activité et la stabilité dépassent largement les pouvoirs du produit naturel. Ils immobilisent très rapidement les arthropodes par leur effet « knock down » et provoquent une modification de la perméabilité de la gaine nerveuse aux ions potassium (K⁺) et sodium (Na⁺), perturbant ainsi l'équilibre entre ces ions (Callec *et al.*, 1985). Egalement, la molécule d'azadirachtine contenue dans les fruits et les feuilles du neem provoque chez les insectes qui l'absorbent ou subissent son contact, des troubles de la nutrition et une inhibition du développement qui aboutissent généralement à la mort (Kumar, 1991). Les avermectines aussi produites par *Streptomyces avermectilis* sont des insecticides chers mais

remarquablement efficaces. A fortes doses, les avermectines paralysent les insectes et perturbent les échanges hydriques alors qu'à des doses sublétales ces produits provoquent une inhibition de la prise alimentaire, de la fécondation et de l'oviposition (Hassall, 1990). Le règne animal fournit également des substances insecticides naturelles. Le ver marin *Lumbriconereis heteropoda* élabore une molécule appelée néréistoxine qui s'avère un puissant neurotoxique vis-à-vis des insectes. Son mode d'action est principalement centré sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase et bloque la transmission synaptique au niveau du système nerveux (Martinez-Torres *et al.*, 1998).

- Les insecticides d'origine synthétique

Les organochlorés

Les insecticides DDT, la dieldrine et l'hexachlorocyclohexane (HCH) sont les organochlorés les plus utilisés. Sous forme de concentré émulsionnable, ils agissent en milieu aquatique, en particulier contre les larves. En poudre mouillable, ils ont une bonne rémanence spécialement sur les murs. Le DDT fut le premier insecticide ayant provoqué une révolution dans la lutte antivectorielle à cause de sa remarquable stabilité et son coût bas (Martinez-Torres *et al.*, 1998). La dieldrine est un insecticide très efficace mais plus coûteux que le DDT, et son emploi dans les programmes de santé publique a été rendu impossible à cause de sa forte toxicité pour l'homme. Le HCH, deux fois plus toxique et deux fois moins rémanent que le DDT, n'avait guère de résultats satisfaisants. Les organochlorés agissent sur le système nerveux aussi bien chez les vertébrés que chez les invertébrés. Ils interviennent dans la répartition des ions potassium (K^+) à l'intérieur du nerf et empêchent le départ de ces ions chargés de rééquilibrer la différence de potentiel existant au repos entre l'extérieur et l'intérieur de l'axone. Ils provoquent chez l'insecte, l'apparition de tremblement de corps et des appendices. Ensuite, dans un délai plus ou moins long suivant les espèces, il se produit une paralysie totale (Callec *et al.*, 1985).

Les organophosphorés

L'apparition d'une résistance des vecteurs aux organochlorés a conduit à leur remplacement par les organophosphorés et des carbamates. Ces produits sont plus coûteux, généralement toxiques à l'homme, et ils ont fréquemment un effet rémanent plus

court que celui des organochlorés utilisés en santé publique. Ces trois facteurs contribuent à l'élévation des coûts d'exploitation, à la multiplication des cycles d'épandage, à l'augmentation des masses à transporter et ils obligent à mettre en oeuvre des mesures et un équipement de sécurité plus onéreux. Parmi quelques centaines de composés organophosphorés, le malathion est l'insecticide le plus utilisé dans les programmes de lutte antipaludique. Les organophosphorés provoquent chez le moustique une excitabilité suivie de tremblement des extrémités et une paralysie entraînant la mort. Ils agissent en inhibant la cholinestérase. Il s'ensuit une accumulation de l'acétylcholine au niveau de la fente synaptique. L'insecte meurt d'hyperactivité et de convulsions (Callec *et al.*, 1985).

Les carbamates

Ce groupe important est composé d'un grand nombre de molécules parmi lesquelles les plus connues et les plus utilisées en santé publique sont le propoxur, le carbonyl, le bendiocarb et le carbosulfan. Le propoxur est un carbamate très efficace contre les insectes domestiques et remplace quelquefois le DDT dans la lutte antipaludique. C'est un bon insecticide en traitement spatial extérieur contre les anophèles. Il est très peu toxique pour l'homme et disponible sous forme de poudre mouillable et de concentré pour émulsion. Tout comme les organophosphorés, les carbamates sont des inhibiteurs des cholinestérases (Callec *et al.*, 1985).

Les pyréthriinoïdes

Conçus à partir des « ancestrales » pyréthrines naturelles, les pyréthriinoïdes ou pyréthrines de synthèse prennent depuis une vingtaine d'années une place de plus en plus importante sur le marché des insecticides. Les pyréthrines naturelles et les premiers pyréthriinoïdes n'étaient pas stables à la lumière, ce qui limitait leur emploi à l'hygiène domestique. Or, avec l'avènement des molécules photostables, cette famille regroupe maintenant des insecticides très actifs qui ne présentent aucun effet cumulatif sur l'environnement, et pratiquement aucune action toxique sur les vertébrés supérieurs. La plupart de ces molécules montrent toutefois une toxicité assez élevée pour les animaux à sang froid, notamment les poissons et les batraciens. Les plus connus et les plus puissants de ces composés sont: la perméthrine, la deltaméthrine, la cyperméthrine,

l'alphaméthrine, la lambda-cyhalothrine. Les pyréthrinoïdes immobilisent très rapidement les arthropodes par leur effet « knock down » ; ils provoquent une modification de la perméabilité de la gaine nerveuse aux ions K⁺ et Na⁺ et perturbent l'équilibre entre ces deux ions. Outre cet effet « knock down », la perméthrine possède un bon effet répulsif sur les moustiques. Cet effet de répulsion s'ajoute à une action létale, ce qui renforce l'efficacité de la moustiquaire imprégnée de perméthrine pour la prévention du paludisme (Callec *et al.*, 1985).

Les répulsifs

La nuisance des insectes a motivé la synthèse de nouveaux répulsifs chimiques. Les principaux répulsifs de synthèse contre les insectes sont : le diéthyltoluamide (DEET), le diméthylphalate (DMP), l'indolone (IND), le 2-éthyl-1,3 hexanediol (EHD) et le diéthylphénylacétamide (DEPA). Présentés sous forme de crèmes ou bombes, ces répulsifs sont considérés comme une mesure de protection individuelle. Ils sont très efficaces mais la durée de protection ne dure que quelques heures (Pages, 2009).

1.4.2.2. La lutte contre les anophèles au stade adulte

- Moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII)

Lorsqu'elles sont en bon état et que la taille de leurs mailles est adaptée, les moustiquaires offrent une bonne protection mécanique pour limiter le contact entre les vecteurs et les humains (Darriet *et al.*, 2000). Toutefois lorsqu'elles ne sont pas imprégnées d'insecticides, elles ont une efficacité limitée lorsqu'elles sont mal bordées, trouées ou plus fréquemment, lorsqu'une partie du corps touche le voilage permettant ainsi aux moustiques de piquer à travers les mailles. Imprégner les moustiquaires avec un insecticide de la famille des pyrethrinoides permet de compenser ces limitations. L'insecticide a plusieurs effets simultanés. A son contact, il repousse les moustiques (effet excito-repulsif), les éloignant ainsi du dormeur. La proportion estimée de ménages africains propriétaires d'au moins une moustiquaire imprégnée d'insecticide a grimpé et le taux de propriétaires dépasse 50 % dans 13 pays africains à forte charge de morbidité (OMS, 2009).

- Pulvérisations intra domiciliaires d'insecticides à effet rémanent

La pulvérisation intradomiciliaire est l'application d'insecticides chimiques à longue durée d'action sur les murs et les toits des maisons et abris pour animaux domestiques dans une zone donnée, afin de tuer les moustiques vecteurs adultes et autres arthropodes se posant sur ces surfaces. Les principaux effets de cette méthode pour faire reculer la transmission du paludisme sont les suivants: (i) réduire la durée de vie des moustiques vecteurs de sorte qu'ils ne puissent plus transmettre le parasite du paludisme d'une personne à l'autre ; et (ii) de réduire la densité des moustiques vecteurs. Dans certaines situations, elle peut conduire à l'élimination des principaux vecteurs du paludisme au niveau local. Certains insecticides repoussent aussi les moustiques et, ce faisant, réduisent le nombre de moustiques entrant dans la salle pulvérisé, et donc le contact humain-vecteur (WHO, 2006).

Le choix de l'insecticide et de sa formulation doit tenir compte de la sensibilité des vecteurs locaux, du support (i.e. nature des surfaces traitées) et de la durée de rémanence souhaitée du produit, en particulier par rapport à la durée de la saison de transmission. Cette méthode a été utilisée largement lors du programme mondial d'éradication du paludisme avec un succès indéniable dans les zones de transmission instables mais une efficacité plus limitée dans les zones à transmission stable avec des populations de vecteurs en partie exophages. Actuellement cette méthode connaît un renouveau d'intérêt (Anonyme, 2006).

1.4.2.3. La lutte contre les anophèles au stade larvaire

Les moyens de lutte contre les larves permettent d'empêcher la prolifération des moustiques. La lutte contre les larves peut prendre plusieurs formes : (i) élimination des lieux de ponte (e.g. drainage et assèchement des zones marécageuses) ; (ii) les modifier pour que les larves ne puissent s'y développer (e.g. curage des canaux pour que l'eau n'y soit pas stagnante) ; (iii) rendre les lieux de ponte inaccessibles aux moustiques adultes (e.g. protection ou couverture étanche des réserves d'eau domestique) ; (iv) introduire dans les lieux de ponte des poissons larvivores ou d'autres prédateurs ; (v) épandre des larvicides (insecticides, préparations bactériennes) et des inhibiteurs de croissance des

insectes (Djogbenou *et al.*, 2009). Les larvicides sont de plus en plus utilisés du fait de l'augmentation des cas de résistance des vecteurs aux insecticides chimiques. La très grande sélectivité des bactéries entomopathogènes et la volonté écologique de protection de l'environnement favorisent le développement et l'application des agents biologiques tels que *Bacillus* sp. (Thiery *et al.*, 1996). Les produits à base de *Bacillus thuringiensis* et de *B. sphaericus* sont les plus utilisés dans la lutte contre les larves de moustiques. Une application de ces deux produits dans un village au centre de la Côte d'Ivoire a permis de réduire la population des principaux vecteurs du paludisme, ainsi que la transmission du *Plasmodium* par *An. funestus* (Tchicaya *et al.*, 2009).

1.5. La résistance des vecteurs aux insecticides

Pour pouvoir employer efficacement les insecticides dans la lutte antivectorielle, il faut que l'espèce de vecteur ciblée soit effectivement sensible à ces produits dans les conditions d'utilisation sur le terrain. Les essais de laboratoire ont permis d'observer couramment des résistances aux insecticides dans de nombreuses populations de vecteurs partout dans le monde. Les différents mécanismes qui permettent aux insecticides de résister à l'action des insecticides peuvent être regroupés en trois catégories : la résistance métabolique, la résistance par modification de la cible, la résistance comportementale (Djogbenou *et al.*, 2009). La résistance métabolique est le mécanisme le plus commun chez les insectes en général. Ce mécanisme repose sur les systèmes enzymatiques que tous les insectes possèdent pour assurer la détoxification naturelle des éléments étrangers. Le second type de mécanisme de résistance communément trouvé chez les insectes est la modification de la cible de l'insecticide. Les principales cibles des insecticides sont les récepteurs ou les enzymes du système nerveux. Les mutations au niveau de la cible sont des mécanismes de résistance croisée pour tous les insecticides agissant sur la même cible. La résistance comportementale repose sur une modification du comportement de l'insecte lui permettant d'éviter un contact avec la molécule d'insecticide. La résistance comportementale est moins bien connue que les autres mécanismes de résistance (Djogbenou *et al.*, 2009)

1.6. Références

- Adiamah, J.H., Koram, K.A., Thomson, M.C., Lindsay, S.W., Todd, J., & Greenwood, B.M. (1993) Entomological risk factors for severe malaria in a peri-urban area of The Gambia. *Ann Trop Med Parasitol*, **87**, 491-500.
- Adja, A.M., N'Goran, K.E., Kengne, P., Koudou, G.B., Toure, M., Koffi, A.A., Tia, E., Fontenille, D., & Chandre, F. (2006) Vectorial transmission of malaria in shrubby Savannah area at Ganse, Ivory Coast. *Med Trop*, **66**, 449-455.
- Afrane, Y.A., Little, T.J., Lawson, B.W., Githeko, A.K., & Yan, G. (2008) Deforestation and vectorial capacity of *Anopheles gambiae* Giles mosquitoes in malaria transmission, Kenya. *Emerg Infect Dis*, **14**, 1533-1538.
- Afrane, Y.A., Zhou, G., Lawson, B.W., Githeko, A.K., & Yan, G. (2006) Effects of microclimatic changes caused by deforestation on the survivorship and reproductive fitness of *Anopheles gambiae* in western Kenya highlands. *Am J Trop Med Hyg*, **74**, 772-778.
- Anonyme (1992) Association française des professeurs de parasitologie, Maladies parasitaires et fongiques. 5e édition, pp. 280 p.
- Anonyme (1998) El Niño and its health impacts. *Wkly. Epidemiol. Rec.*, **73**, 148-152.
- Anonyme (2000) Comité OMS d'experts du paludisme, 20e rapport, Genève. *Organisation Mondiale de la Santé*, 254 p.
- Anonyme (2003) Le rapport sur le paludisme en Afrique. *Organisation mondiale de la santé/UNICEF*, 120 p.
- Anonyme (2005) La malaria. Réseau II de l'Afrique de l'Ouest pour le Traitement antipaludique (<http://www.raotap2.org/content/view/13/38/lang.fr/>).
- Anonyme (2006) Feuille de renseignements sur le Vectolex (*Bacillus sphaericus*) (http://www.regional.niagara.on.ca/living/health_wellness/wnv/pdf/Vectolex-FactSheet-FR.pdf).
- Betsi, A.N. (2003) Etude faunistique des Culicidae, quelques aspects éthologiques et rôle d'*Anopheles funestus* (Giles, 1900) dans la transmission du paludisme en milieu rizicole dans la région forestière Ouest de la Côte d'Ivoire., 156 p.

- Brunhes, J., LeGoff, G., & Geoffroy, B. (1998) Anophèles afrotropicaux: mise au point sur les espèces de la sous-région malgache (Diptera, Culicidae). *Bull. Soc. Ent. France*, **103**, 139-152.
- Bryan, J.H., Petrarca, V., Di Deco, M.A., & Coluzzi, M. (1987) Adult behaviour of members of the *Anopheles gambiae* complex in the Gambia with special reference to *An. melas* and its chromosomal variants. *Parassitologia*, **29**, 221-249.
- Callec J.-J, Hue, B., & Callec M. (1985) Le neurone, cible potentiel des insecticides. Insectes-Insecticides-Santé. Colloque national d'Angers, mode d'action et utilisation des insecticides. ACTA, 93-108.
- 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. *Am J Trop Med Hyg*, **69**, 200-205.
- Coulibaly, A., Soro, N.B., Sangaré, V., David, K., Trolet, C., Josseran, R., & Semenov, M. (1989) Le paludisme en milieu rural ivoirien: 5 ans de surveillance épidémiologique. *Rapport epistat, Institut National de la Santé Publique*, 23 p.
- Coz, J., Hamon, J., & Sales, S. (1966) Etudes entomologiques sur la transmission du paludisme humain dans une zone de forêt humide dans la région de Sassandra, Côte d'Ivoire. *Cahiers ORSTOM, Entomol. Med. Parasitol.*, **4**, 13-42.
- Danis, M. & Mouchet, J. (1991) Paludisme. *Université francophone, Editions Marketing/Ellipse*, 239 p.
- Darriet, F., N'Guessan, R., Koffi, A.A., Konan, L., Doannio, J.M., Chandre, F., & Carnevale, P. (2000) [Impact of pyrethrin resistance on the efficacy of impregnated mosquito nets in the prevention of malaria: results of tests in experimental cases with deltamethrin SC]. *Bull Soc Pathol Exot*, **93**, 131-134.
- Detinova, T.S. (1963) Methodes à appliquer pour classer par groupes d'âges les diptères présentant une importance médicale. Notamment certains vecteurs du paludisme. *WHO Monogr. Ser.*, **47**, 220 p.
- Dia, I. (1999) Bioécologie et cytogénétique des populations d'*Anopheles funestus* GILES, 1900 (Diptera: Culicidae) au Sénégal. Doctorat de troisième cycle de Biologie Animale. Faculté des Sciences et Techniques. *Univ. Cheik Anta Diop Dakar*, 127 p.

- Djogbenou, L., Labbe, P., Chandre, F., Pasteur, N., & Weill, M. (2009) Ace-1 duplication in *Anopheles gambiae*: a challenge for malaria control. *Malar J*, **8**, 70.
- Doerig, C., Baker, D., Billker, O., Blackman, M.J., Chitnis, C., Dhar Kumar, S., Heussler, V., Holder, A.A., Kocken, C., Krishna, S., Langsley, G., Lasonder, E., Menard, R., Meissner, M., Pradel, G., Ranford-Cartwright, L., Sharma, A., Sharma, P., Tardieux, T., Tatu, U., & Alano, P. (2009) Signalling in malaria parasites. The MALSIG consortium. *Parasite*, **16**, 169-182.
- Dossou-Yovo, J., Doannio, J.M., & Diarrassouba, S. (1998) [Feeding preferences of malaria vectors in the city of Bouake and in the surrounding villages of Cote d'Ivoire]. *Bull Soc Pathol Exot*, **91**, 257-258.
- Dossou-Yovo, J., Doannio, J.M., Riviere, F., & Chauvancy, G. (1995) Malaria in Cote d'Ivoire wet savannah region: the entomological input. *Trop Med Parasitol*, **46**, 263-269.
- Fontenille, D., Lepers, J.P., Coluzzi, M., Campbell, G.H., Rakotoarivony, I., & Coulanges, P. (1992) Malaria transmission and vector biology on Sainte Marie Island, Madagascar. *J. Med. Ent.*, **29**, 197-202.
- Fujioka, H. & Aikawa, M. (1999) The malaria parasite and its life cycle; in Wahlgren M, Perlmann P (eds): Malaria: Molecular and Clinical Aspects. *Horwood, Academic Press*, 19-55.
- Gazin, P. (1991) Le paludisme en Afrique au Sud du Sahara: comparaison entre les milieux urbains et ruraux. *Cah. Santé*, **1**, 33-38.
- Gazin, P., Robert, V., & Carnevale, P. (1985) [Longitudinal study of malaria indices in 2 villages of the Bobo Dioulasso region (Burkina Faso)]. *Ann Soc Belg Med Trop*, **65 Suppl 2**, 181-186.
- Gillies, M.T. (1953) The duration of the gonotrophic cycle in *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus*, with a note on the efficiency of hand catching. *East Afr Med J*, **30**, 129-135.
- Githeko, A.K., Lindsay, S.W., Confalonieri, U.E., & Patz, J.A. (2000) Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bull. O.M.S*, 78(9).
- Hamon, J., Abonnenc, E., & Noel, E. (1955) [Culicidae of West Senegal]. *Ann Parasitol Hum Comp*, **30**, 278-308.

- Hamon, J., Adam, J.P. & Grjbine, A. (1956) Observations sur la répartition et le comportement des anophèles de l'Afrique Equatoriale, du Cameroun et de l'Afrique occidentale. *Bull. O.M.S.*, **15**, 549-591.
- Hamon, J., Dedewanou, B., & Eyraud, M. (1962) Etudes entomologiques sur la transmission du paludisme humain dans la région de Man, République de Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Ent. France*, **67**.
- Hassall, K.A. (1990) *The Biochemistry and Uses of Pesticides. Structure, Metabolism, Mode of Action and Uses in Crop Protection* (second ed), VCH, Weinheim, 157p
- Hay, S.I., Guerra, C.A., Tatem, A.J., Atkinson, P.M., & Snow, R.W. (2005) Urbanization, malaria transmission and disease burden in Africa. *Nat Rev Microbiol*, **3**, 81-90.
- Hewitt, S., Kamal, M., Muhammad, N., & Rowland, M. (1994) An entomological investigation of the likely impact of cattle ownership on malaria in an Afghan refugee camp in the North West Frontier Province of Pakistan. *Med Vet Entomol*, **8**, 160-164.
- Holstein, M. (1949) Guide pratique de l'anophélisme en Afrique de l'Ouest française. *Service Général d'Hygiène Mobile et de Prophylaxie*, **55**.
- Horsfall, W.R. (1972) *Mosquitoes: their bionomics and relation to disease*, New York, NY. 723p.
- Keiser, J., Castro, M.C., 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. *Am J Trop Med Hyg*, **72**, 392-406.
- Koekemoer, L.L., Kamau, L., Hunt, R.H., & Coetzee, M. (2002) A cocktail polymerase chain reaction assay to identify members of the *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) group. *Am J Trop Med Hyg*, **66**, 804-811.
- Kone, M., Penali, L.K., Houdier, M., Assoumou, A., & Coulibaly, A. (1990) Evaluation in vivo de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine à Abidjan. *Bull. Soc. Path.*, **83**, 187-192.

- Koudou, G.B. (2005) Etude de la transmission et des aspects parasito-cliniques du paludisme en relation avec le rendement des paysans en zone d'agriculture vivrière intensive de Zatta et de Tiémélékro, dans le centre de la Côte d'Ivoire., Thèse de doctorat d'Université en Entomologie Médicale. Université de Cocody, Abidjan, Côte d' Ivoire.
- Koudou, B.G., Adja, A.M., Matthys, B., Doumbia, M., Cisse, G., Kone, M., Tanner, M., & Utzinger, J. (2007) Pratiques agricoles et transmission du paludisme dans deux zones éco-épidémiologiques au centre de la Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **100**, 124-126.
- Kumar, R. (1991) La lutte contre les insectes ravageurs: la situation de l'agriculture africaine. CTA/Karthala Eds. Wageningen, Paris, 310p
- Manguin, S., Fontenille, D., Chandre, F., Lochouan, L., Kengne, P., & Guillet, P. (2000) Génétique des populations anophéliennes. *Bull. Soc. Path. Exot.*, **92**, 136-138.
- 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.
- Mouchet, J., Blanchy, S., Rakotonjanabelo, A., Ranaivoson, G., Rajaonarivelo, E., Laventure, S., Rossela, M., & Aknouche, F. (1993) épidémiologique du paludisme à Madagascar. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*, **60**, 50-59.
- Mouchet, J., Carnevale, P., Coosemans, M., Julvez, J., Manguin, S., Richard-Lenoble, D., & Sircoulon, J. (2004) *Biodiversité du paludisme dans le monde* John Libbey Eurotext (éd), Paris.
- Nzeyimana, I., Henry, M.C., Dossou-Yovo, J., Doannio, J.M., Diawara, L., & Carnevale, P. (2002) [The epidemiology of malaria in the southwestern forests of the Ivory Coast (Tai region)]. *Bull Soc Pathol Exot*, **95**, 89-94.
- OMS (1999) Rapport sur la santé dans le monde. *O.M.S. Genève*, 130 p.
- OMS (2009) Rapport sur la santé dans le monde. *O.M.S. Genève*, 66p.
- Pages, F. (2009) La lutte antivectorielle dans les armées: une nécessité historique, une adaptation indispensable. *Med Trop*, **69**, 165-172.

- Reiter, P. (2008) Global warming and malaria: knowing the horse before hitching the cart. *Malar J*, **7 Suppl 1**, S3.
- Robert, V. & Carnevale, P. (1984). Les vecteurs du paludisme en Afrique Subsaharienne. *Etudes Médicales*, **2**, 79-90.
- Rogier, C. (2000) Prophylaxie antipalustre et chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* en Côte d'Ivoire. *Rapport d'activités*, 9 p.
- Rozendaal, J.A. (1997) Vector control. Methods for use by individuals and communities. WHO Geneva. *World Health Org*, 412 p.
- Rueda, L.M., Patel, K.J., Axtell, R.C., & Stinner, R.E. (1990) Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*, **27**, 892-898.
- Sachs, J. & Malaney, P. (2002) The economic and social burden of malaria. *Nature*, **415**, 680-685.
- Saugeon, C., Baldet, T., Akogbeto, M., & Henry, M.C. (2009) [Will climate and demography have a major impact on malaria in sub-Saharan Africa in the next 20 years?]. *Med Trop (Mars)*, **69**, 203-207.
- Snow, R.W., Guerra, C.A., Noor, A.M., Myint, H.Y., & Hay, S.I. (2005) The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*, **434**, 214-217.
- Sousa, C.A., Pinto, J., Almeida, A.P., Ferreira, C., do Rosario, V.E., & Charlwood, J.D. (2001) Dogs as a favored host choice of *Anopheles gambiae sensu stricto* (Diptera: Culicidae) of Sao Tome West Africa. *J Med Entomol*, **38**, 122-125.
- Swierczynski, G. & Gobbo, M. (2007) Atlas of Human Malaria. Sirmione, Italy: Az Color s.r.l. ISBN: 978-88-902892-0-0. 203. Printed in April 2007.
- Tchicaya, E.S., Koudou, B.G., Keiser, J., Adja, A.M., Cissé, G., Tanner, M., Tano, Y., & Utzinger, J. (2009) Effect of repeated application of microbial larvicides on malaria transmission in central Côte d'Ivoire. *J Am Mosq Control Assoc*, **25**, 382-385.

White N.J., Nosten F., Looareesuwan S., Watkins W.M., Marsh K., Snow R.W.,
Kokwaro G., Ouma J., Hien T.T., Molyneux M.E., Taylor T.E., Newbold C.I.,
Ruebush T.K., 2nd, Danis M., Greenwood B.M., Anderson R.M., Olliaro P.
(1999). Averting a malaria disaster. *Lancet*, **353**: 1965-1967.

2. Objectifs et milieu d'étude

2.1. Objectifs

2.1.1. Objectif général

Evaluation de nouveaux outils de lutte contre les populations d'*An. gambiae* résistants aux pyréthrinoïdes au centre de la Côte d'Ivoire.

2.1.2. Objectifs spécifiques

- (1) Evaluer l'efficacité d'un produit de réimprégnation de longue durée des moustiquaires, ICON[®] Maxx;
- (2) évaluer en cases expérimentales trois nouvelles formulations micro-encapsulées du pirimiphos-methyl, insecticide devant être utilisées comme produits de pulvérisation intra-domiciliaire appartenant à la famille des organophosphorés, dans une zone de résistance aux pyréthrinoïdes et;
- (3) étudier quelques aspects bioécologiques des populations d'*Anopheles gambiae* de la zone d'étude indispensables à la planification du type de méthode de lutte anti-vectorielle utilisée.

2.2. Milieu d'étude

La zone d'étude est située dans la région de Bouaké (coordonnées géographiques : 5°41W, 7°44N), chef-lieu de la "Région de la vallée de Bandama". L'étude des caractéristiques bio-écologiques d'*An. gambiae* a été réalisée dans deux villages satellites de la ville de Bouaké, Abokro et Yaokoffikro. Ces villages distants de 38 km sont des zones de riziculture intensive et irriguée. L'évaluation de l'efficacité des nouveaux outils de lutte contre les vecteurs du paludisme a été faite au niveau de la station expérimentale de Mbé, localisée à proximité du village d'Abokro.

3. Caractéristiques bioécologiques d'*Anopheles gambiae* s.s. en zones de riziculture irriguée au centre de la Côte d'Ivoire

Zahouli ZBJ^{1,2}, Tchicaya ES^{1,2}, Nsanzabana C⁴, Donzé J⁵, Utzinger J⁵, N'Goran EK^{1,2},
Koudou BG^{1, 3, 6}

1. Centre suisse de recherches scientifiques en Côte d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire.

2. UFR Biosciences, Université de Cocody-Abidjan, Abidjan, Côte d'Ivoire.

3. UFR Science de la nature, Université d'Abobo-Adjamé, Abidjan, Côte d'Ivoire.

4. Institut Tropical et de Santé Publique Suisse, Bâle, Suisse.

5. Université de Neuchâtel, Neuchâtel, Suisse.

⁶ Vector Group/ Liverpool School of Tropical Medicine, Pembroke Place, L3 5QA, UK.

Correspondance: Benjamin G. Koudou, Liverpool School of Tropical Medicine, 35
Pembroke Place, Liverpool, L3 5QA, United Kingdom. Tel.: +44 7405462706. E-mail:
G.B.Koudou@liverpool.ac.uk.

3.1. Résumé

Un suivi entomologique longitudinal de septembre 2008 à septembre 2009 a été réalisé à Abokro et Yaokoffikro, villages du centre de la Côte d'Ivoire, en zones de riziculture irriguée. L'objectif de notre étude était d'identifier quelques aspects bioécologiques des populations femelles d'*Anopheles gambiae s.s.* durant leur cycle gonotrophique. Les moustiques adultes ont été capturés par 72 pièges lumineux, sur sujets humains pour un effort de 72 hommes-nuits de 18 heures à 06 heures, et par pulvérisation intradomiciliaire matinale de 60 chambres au pyrèthre. Au total 10312 et 7662 moustiques adultes ont été capturés, respectivement à Abokro et Yaokoffikro. Dans les deux sites d'étude, le genre *Anopheles* était prépondérant. Les pièges lumineux ont été trois fois plus efficaces à Abokro qu'à Yaokoffikro. Dans les deux villages, les cycles d'agressivité des femelles d'*An. gambiae s.s.* ont évolué progressivement pour atteindre un pic entre minuit et 01 heure du matin. A Abokro, le comportement d'*An. gambiae s.s.* était fortement endophage et endophile avec un taux d'endophagie et une densité au repos respectivement égaux à 67,4 % (n = 4798) et 15 femelles par chambre et par nuit. A Yaokoffikro, le comportement était indépendant de la maison, avec un taux d'endophagie et une densité respectifs de 49,3 % (n = 6775) et trois femelles par chambre et par jour.

3.2. Abstract

Bioecological characteristics of *Anopheles gambiae s.s.* in irrigated rice fields in central Côte d'Ivoire

We conducted a longitudinal entomological survey between September 2008 and September 2009 in the village of Abokro and Yaokoffikro in central Côte d'Ivoire, in area of irrigated rice farming. The purpose of this study was to identify some bioecological factors of *Anopheles gambiae s.s.* during the gonotrophic cycle. In each village, adult mosquitoes were sampled by 72 light traps and by 72 man-night from 06 p.m. to 06 a.m., and by pyrethroid knock-down spray inside 60 sentinel houses in the early morning. In total, 10,312 and 7,662 adult mosquitoes were collected in Abokro and Yaokoffikro, respectively. In both study sites, *Anopheles* was the dominant genus. Light traps were three times more efficient in Abokro than in Yaokoffikro. In both villages, the biting rate of *An. gambiae s.s.* increased gradually with a peak observed between

midnight and 01 a.m. In Abokro, *An. gambiae* s.s. were primarily collected in majority inside sleeping rooms with an endophagic rate and indoor resting density equal to 67.4 % (n = 4798) and 15 females per bedroom per night, respectively. In Yaokoffikro, in contrast, the endophagic rate of *An. gambiae* s.s. and its indoor resting density were equal to 49.3 % (n = 6775) and three females per bedroom per day, respectively.

3.3. Introduction

En Côte d'Ivoire, dans la région de Bouaké, le paludisme constitue l'une des causes majeures de morbidité chez les enfants (Dossou-Yovo *et al.*, 1994; 1998). Sa recrudescence se manifeste en début de saison pluvieuse et se traduit par des taux de prévalence élevés (Dossou-Yovo *et al.*, 1999). La distribution du paludisme est très hétérogène et liée aux conditions climatiques, écologiques, hydrographiques et humaines. A ces facteurs, s'ajoutent des situations particulières telles que l'introduction de la riziculture irriguée et intensive et l'apparition de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides.

La Côte d'Ivoire est le premier importateur africain et le cinquième importateur mondial de riz. Dans sa quête de s'assurer une sécurité alimentaire, la population ivoirienne transforme d'innombrables et vastes bas-fonds et surfaces irrigables en des périmètres rizicoles. Chaque année, 30 à 50 ha sur les 180 ha de bas-fonds, sont régulièrement exploités par les riziculteurs à Bouaké. Les résidus insecticides drainés par l'eau d'irrigation et issus des traitements des champs de riz et de coton sélectionnent des souches résistantes des vecteurs du paludisme, notamment d'*Anopheles gambiae* (Akogbeto & Yakoubou, 1999). La riziculture irriguée (Koudou *et al.*, 2007; 2010) et la résistance d'*An. gambiae* aux pyréthrinoïdes (Doannio *et al.*, 1999) modulent la transmission du paludisme. La mise en place d'une stratégie de lutte adéquate, passe par l'étude des spécificités de chaque situation épidémiologique (Mouchet *et al.*, 2004). En raison de l'extension des périmètres rizicoles, générateurs d'*Anopheles* (Robert *et al.*, 1988; Marrama *et al.*, 1999 ; Mouchet *et al.*, 2004) et de l'extension de la résistance des vecteurs du paludisme en Côte d'Ivoire (Elissa *et al.*, 1993; Vulule *et al.*, 1994; Guillet *et al.*, 1996), et singulièrement dans nos sites d'étude (Chandre *et al.*, 1999; Koffi *et al.*, 1999), il est plus que jamais temps de cibler la lutte anti-vectorielle. La protection

individuelle et collective de la population est garantie, si elle est adaptée au comportement du vecteur et à la dynamique de transmission de *Plasmodium* (Dossou-Yovo *et al.*, 1999).

La présente étude a été réalisée dans deux villages localisés en zones de résistance des vecteurs du paludisme aux pyréthriinoïdes (Chandre *et al.*, 1999; Koffi *et al.*, 1999) et de riziculture irriguée au centre de la Côte d'Ivoire. Elle avait pour but de déterminer le cycle d'agressivité et le comportement de piqûres et de repos des populations femelles d'*An. gambiae s.s.* au cours de leur cycle gonotrophique.

3.4. Matériel et méthode

Sites d'étude

Notre étude a été réalisée entre septembre 2008 et septembre 2009, dans deux villages au centre de la Côte d'Ivoire, Abokro et Yaokoffikro. Le choix de ces villages a été motivé par leurs caractéristiques socio-démographiques distinctes, leur localisation en zones de riziculture irriguée et intensive et la différence du niveau de résistance d'*An. gambiae* aux pyréthriinoïdes.

Abokro est un petit village, enclavé, privé d'électricité, avec des cases en matériaux locaux (banco, paille). La population d'Abokro est composée de 150 habitants. La résistance d'*An. gambiae* aux pyréthriinoïdes y était faible (Chandre *et al.*, 1999; Koffi *et al.*, 1999) avec une fréquence du gène *kdr* de 4 %, mais elle a considérablement augmenté ces 5-6 dernières années pour atteindre 71 % de *kdr* (Koudou et collaborateurs; données non publiées). Par contre, Yaokoffikro est un village moderne de type périurbain, électrifié, avec des maisons construites en matériaux industriels (briques dures, tôles ondulées). La population de Yaokoffikro est composée de 950 habitants. Il s'agit d'une zone de forte résistance d'*An. gambiae* aux pyréthriinoïdes, avec une fréquence du gène *kdr* supérieure à 78 % (Chandre *et al.*, 1999; Koffi *et al.*, 1999).

Les deux villages sont distants de 38 km (Figure 3.1). La végétation est constituée par une mosaïque de savane hétérogène, arborée, arbustive ou herbeuse. La région baigne dans une zone de transition climatique, à deux ou quatre saisons selon les années. La saison sèche, marquée par l'harmattan, s'étend de novembre à mars. La saison pluvieuse est caractérisée par deux maxima pluviométriques, l'un en juin et l'autre en septembre.

Les moyennes pluviométriques annuelles oscillent généralement entre 1000 mm et 1320 mm et ont atteint 1370 mm en 2008. La température varie peu au cours de l'année, avec des moyennes de 26 à 28°C. L'humidité relative moyenne annuelle se situe entre 75 et 90%. Le réseau hydrographique y est dense, composé des fleuves Bandama et N'Zi, leurs affluents, de rivières pérennes ou intermittentes et de petits barrages.



Figure 3.1 : Carte de la Côte d'Ivoire présentant les sites d'étude : Abokro et Yaokoffikro distants de 38 km

Collecte des moustiques sur le terrain

L'échantillonnage des populations adultes de *Culicidae* s'est fait avec trois méthodes différentes (i) des pièges lumineux (PL) de type «CDC light traps»; (ii) capture sur des sujets humains (CSH) protégés du paludisme par une prophylaxie médicamenteuse adéquate et vaccinés contre la fièvre jaune; et (iii) enfin des captures intra-domiciliaires matinales de la faune résiduelle au pyrèthre à 1 %. Les PL et CSH se

sont déroulées de 18 heures à 06 heures du lendemain matin, au rythme de trois nuits successives, tous les deux mois. Quatre points de capture ont été choisis au hasard, pour chaque méthode de capture, dans chaque village. Quatre PL ont été installés, à 1,5 m du sol, à l'intérieur et à l'extérieur de maisons habitées. Deux captureurs ont été placés à l'intérieur et deux autres à l'extérieur de quatre habitations. Pour plus d'efficacité et éliminer les biais liés à l'habilité et à l'attractivité, une rotation a été faite entre deux équipes de huit captureurs. La première équipe a travaillé de 18 heures à minuit et la seconde, de minuit à 06 heures du matin. La capture intra-domiciliaire de la faune résiduelle au pyrèthre à 1 % s'est faite tôt le matin, entre 07 et 08 heures, dans 10 chambres à la fois par jour.

Dans l'ensemble, l'étude a nécessité 72 PL, 72 CSH et 60 chambres pulvérisées au pyrèthre 1 % par village.

Traitement des moustiques au laboratoire

Tous les moustiques capturés, par PL, CSH et pulvérisation intra-domiciliaire au pyrèthre à 1 %, ont été identifiés à partir des critères de Mattingly (Mattingly, 1971), et de Gilles & de Meillon (Gillies & de Meillon, 1968). Après dissection des ovaires, l'âge physiologique des femelles d'*An. gambiae* s.s. a été déterminé à partir des critères morphologiques des trachéoles ovariennes (OMS, 1975), par tranche horaire de capture. Les femelles d'*An. gambiae* s.s. collectées par capture intra-domiciliaire ont été séparées selon leur état physiologique (OMS, 2003).

3.5. Résultats

Inventaire de la faune culicidienne

A Abokro, un total de 10 312 spécimens de moustiques a été récolté. La faune culicidienne a été répartie en quatre genres (*Anopheles* Meigen, *Mansonia* Blanchard, *Culex* Linné et *Aedes* Meigen) et 19 espèces (Tableau 3.1). *Anopheles* est le genre majoritaire (65,6 %). L'espèce *An. gambiae* s.s. Giles est prédominante au sein de la faune totale (53,5 %) (Tableau 3.1) et de la faune anophélienne (81,5 % ; n = 6762).

A Yaokoffikro, un total de 7662 spécimens de moustiques a été capturé. La faune culicidienne a été répartie en quatre genres (*Anopheles*, *Mansonia*, *Culex* et *Aedes*) et 14

espèces (Tableau 3.1). Le genre *Anopheles* est largement majoritaire (93,9 %). L'espèce *An. gambiae s.s.* est prédominante au sein de la faune totale (91,4 %) (Tableau 3.1) et de la faune anophélienne (97,4 % ; n = 7193).

Efficacité des captures au piège lumineux et sur sujets humains

A Abokro, les PL ont permis d'échantillonner 18 espèces (Tableau 3.1). En revanche, les CSH ont permis de récolter 17 espèces dont une (*An. flavicosta*) n'a pas été capturée par les PL. Nous avons obtenu, en moyenne, 24,0 moustiques par PL par nuit (m/p/n), et 119,2 moustiques par CSH par nuit (m/h/n), soit un ratio CSH/PL égal à 5,0. Concernant *An. gambiae s.s.*, nous avons récolté 9,9 m/p/n contre 66,6 m/h/n. Le ratio CSH/PL pour *An. gambiae s.s.* a été estimé à 7,0. Les ratios CSH/PL obtenus avec *Mansonia* et *Culex* étaient de 5,2 et 1,0, respectivement.

A Yaokoffikro, les PL et les CSH ont permis d'échantillonner 13 et 14 espèces, respectivement (Tableau 3.1). Toutes les espèces récoltées par les PL ont été aussi capturées par les CSH. Les PL et les CSH ont capturé, en moyenne, 6,5 m/p/n et 100,0 m/h/n, soit un ratio CSH/PL égal à 15,4. Concernant *An. gambiae s.s.*, nous en avons récolté respectivement, par PL et CSH en moyenne 3,1 m/p/n et 99,1 m/h/n. Le ratio CSH/PL d'*An. gambiae s.s.* a été estimé à 30,0. Les ratios respectifs CSH/PL de *Mansonia* et *Culex* étaient égaux à 2,3 et 1,6.

Les ratios Abokro/Yaokoffikro pour le PL et les CSH étaient respectivement égaux à 3,7 et 1,2. Les PL ont été quantitativement trois fois plus efficaces à Abokro qu'à Yaokoffikro.

Tableau 3.1 : Composition de la faune culicidienne récoltée dans la zone d'étude de Septembre 2008 à Septembre 2009

Genre	Espece	ABOKRO						YAOKOFFIKRO					
		PL		CSH		TOTAL		PL		CSH		TOTAL	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Anopheles</i>	<i>An. gambiae</i> s.l.	713	41,24	4798	55,91	5511	53,45	230	48,94	6775	94,20	7005	91,43
	<i>An. pharoensis</i>	78	4,51	903	10,52	981	9,51	45	9,57	88	1,22	133	1,74
	<i>An. wellcomei</i>	6	0,35	81	0,94	87	0,84	2	0,43	8	0,11	10	0,13
	<i>An. funestus</i>	75	4,34	45	0,52	120	1,16	8	1,70	20	0,28	28	0,37
	<i>An. ziemanni</i>	51	2,89	9	0,10	60	0,57	15	3,19	2	0,03	17	0,22
	<i>An. flavicosta</i>	0	0	3	0,02	3	0,03	0	0	0	0	0	0
<i>Mansonia</i>	<i>Ma africana</i>	199	11,51	1217	14,18	1416	13,73	58	12,34	175	2,43	233	3,04
	<i>Ma uniformis</i>	202	11,68	1110	12,93	1312	12,72	49	10,43	81	1,13	130	1,70
<i>Culex</i>	<i>Cx. nebulosus</i>	115	6,65	244	2,84	359	3,48	5	1,06	11	0,15	16	0,21
	<i>Cx. cinereus</i>	93	5,38	3	0,03	96	0,93	18	3,83	5	0,07	23	0,30
	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	108	6,25	12	0,14	120	1,16	11	2,34	2	0,03	13	0,17
	<i>Cx. decens</i>	35	2,02	117	1,36	152	1,47	23	4,89	14	0,19	37	0,48
	<i>Cx. annulioris</i>	38	2,20	23	0,27	61	0,59	4	0,85	7	0,10	11	0,14
	<i>Cx. rima</i>	4	0,23	6	0,07	10	0,10	0	0	0	0	0	0
<i>Aedes</i>	<i>Ae. vittatus</i>	5	0,29	1	0,01	6	0,06	2	0,43	3	0,04	5	0,07
	<i>Ae. aegypti</i>	3	0,17	10	0,12	13	0,13	0	0	1	0,01	1	0,01
	<i>Ae. africanus</i>	2	0,12	1	0,01	3	0,03	0	0	0	0	0	0
	<i>Ae. luteocephalus</i>	1	0,06	0	0	1	0,01	0	0	0	0	0	0
	<i>Ae. furcifer</i>	1	0,06	0	0	1	0,01	0	0	0	0	0	0
TOTAL		1729	100,00	8583	100,00	10312	100,00	470	100,00	7192	100,00	7662	100,00

n = effectif

% = pourcentage

PL = Piège lumineux

CSH = capture sur sujet humain

Cycles horaires d'agressivité horaire des femelles pares d'*An. gambiae s.s*

A Abokro, un total de 4798 femelles d'*An. gambiae s.s.* ont été capturées par CSH, 1469 (30,6 %) à l'extérieur et 3329 (69,4 %) à l'intérieur des habitations, parmi lesquelles nous avons enregistré 75,8 % de pares dont 857 exophages et 1861 endophages.

A Yaokoffikro, un total de 6775 femelles d'*An. gambiae s.s* ont été échantillonnées par CSH, 3322 (49,0 %) à l'extérieur et 3453 (51,0 %) à l'intérieur des habitations, parmi lesquelles nous avons enregistré 84,5 % de pares dont 1959 exophages et 1672 endophages.

Dans les deux villages, les cycles horaires d'agressivité d'*An. gambiae s.s* se présentent globalement comme suit (Figures 3.2, 3.3, 3.4 et 3.5):

- de 18 à 20 heures, l'agressivité est faible (0,3-2,9 piqûres / heure / homme (p/h/h)) ;
- entre 20 et 1 heure, l'activité de piqûres s'intensifie progressivement, pour atteindre le pic entre minuit et 1 heures (1,5-6 p/h/h);
- de 1 à 4 heures, l'activité de piqûre est maximale et stable (2,6-12,6 p/h/h); et
- à partir de 4 heures du matin à l'aube, l'agressivité baisse lentement pour atteindre 2,6-6,8 p/h/h.

Toutefois, à Abokro, l'activité de piqûres d'*An. gambiae s.s.* est plus intense à l'intérieur qu'à l'extérieur des habitations (Figures 3.2). Deux pics d'agressivité ont été notés, un pic principal entre minuit et 1 heure et un secondaire entre 3 et 4 heures du matin. A Yaokoffikro par contre, l'agressivité des femelles d'*An. gambiae s.s.* est équilibrée aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des habitations et la courbe ne présente qu'un seul pic d'agressivité (Figure 3.3).

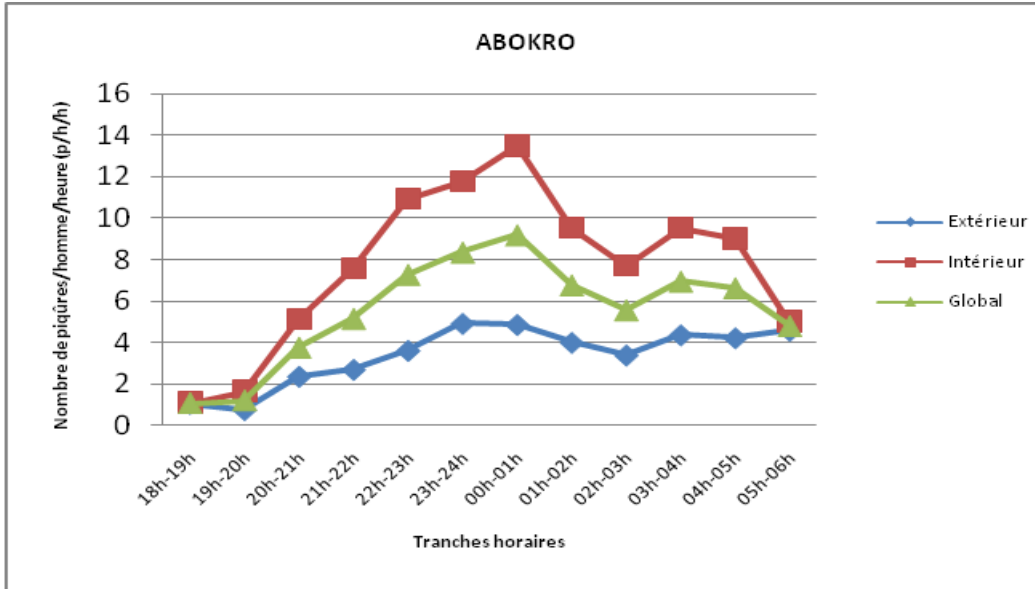


Figure 3.2 : Cycle d'agressivité horaire d'*An. gambiae s.s.* à Abokro

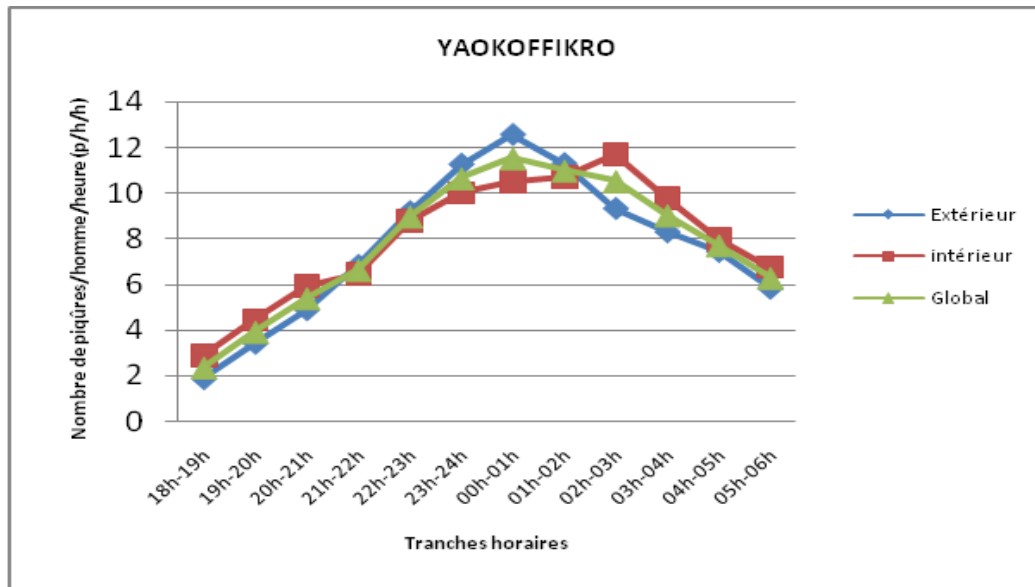


Figure 3.3 : Cycle d'agressivité horaire d'*An. gambiae s.s.* à Yaokoffikro

Evolution horaire du taux de parturité

La répartition horaire des taux de parturité d'*An. gambiae s.s.* est inégale et présente deux phases :

- de 18 à 19 heures, les taux de parturité sont faibles ; ce qui traduit une faible agressivité des femelles pares d'*An. gambiae s.s.*; et
- à partir de 19 heures jusqu'au matin, les taux de parturité sont au maximum, ce qui révèle une agressivité très élevée des femelles pares d'*An. gambiae s.s.* (Figures 3.4 et 3.5).

Les taux moyens de parturité des femelles d'*An. gambiae s.s.* à Abokro et Yaokoffikro étaient égaux à 75,8 % (n = 3702) et 84,6 % (n = 4419), respectivement. Les plus grandes proportions de femelles pares d'*An. gambiae s.s.* sont observées après 19 heures à Abokro, tandis qu'à Yaokoffikro les valeurs ont été très élevées à toutes les heures de captures (Figures 3.4 et 3.5).

Comportement de piqûres

A Abokro, 1469 et 3329 femelles d'*An. gambiae s.s.* ont été capturées respectivement à l'extérieur et à l'intérieur des maisons. Les taux moyens d'endophagie et d'exophagie, respectifs, ont été évalués à 69,4 % et 30,6 % (n = 4798) (Tableau 3.2). Les taux moyens d'endophagie et d'exophagie, respectifs, des femelles pares étaient estimés à 67,2 % et 32,8 % (n = 2718) (Tableau 3.3). Ainsi, les femelles d'*An. gambiae s.s.* se nourrissent aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des maisons, avec une tendance deux fois plus forte à s'alimenter à l'intérieur ($\chi^2 = 796,04$; $P < 0,001$).

A Yaokoffikro, 3322 et 3453 femelles d'*An. gambiae s.s.* ont été récoltées respectivement à l'extérieur et à l'intérieur des maisons. Les taux moyens respectifs d'endophagie et d'exophagie, étaient évalués à 49,3 % et 50,7 % (n = 6775) (Tableau 3.2). Les taux moyens respectifs d'endophagie et d'exophagie des femelles pares étaient estimés à 46,1 % et 53,8 % (n = 3631) (Tableau 3.3). Ainsi, les femelles d'*An. gambiae s.s.* se nourrissent tant à l'intérieur qu'à l'extérieur des habitations, avec une préférence pour l'extérieur ($\chi^2 = 65,54$; $P < 0,001$).

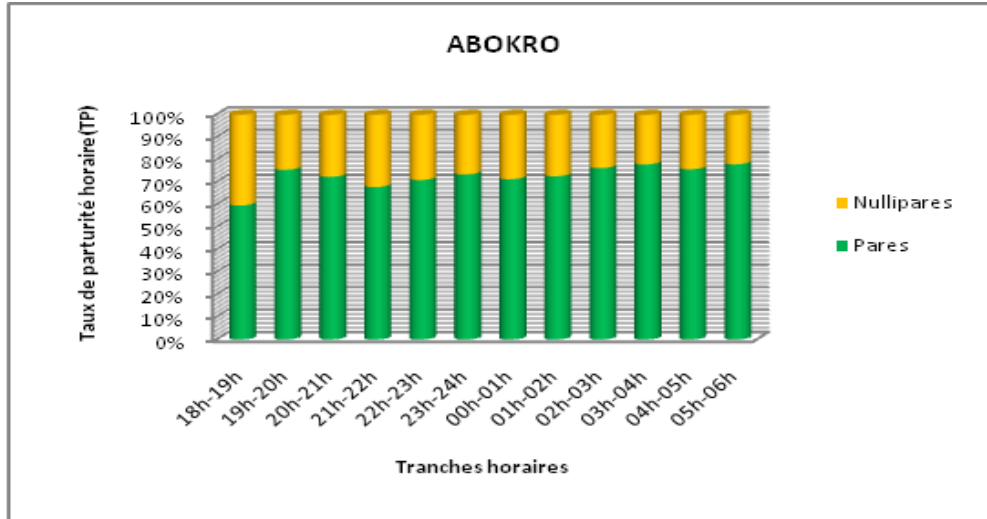


Figure 3.4 : Répartition horaire des taux de parturité d'*An. gambiae s.s.* à Abokro

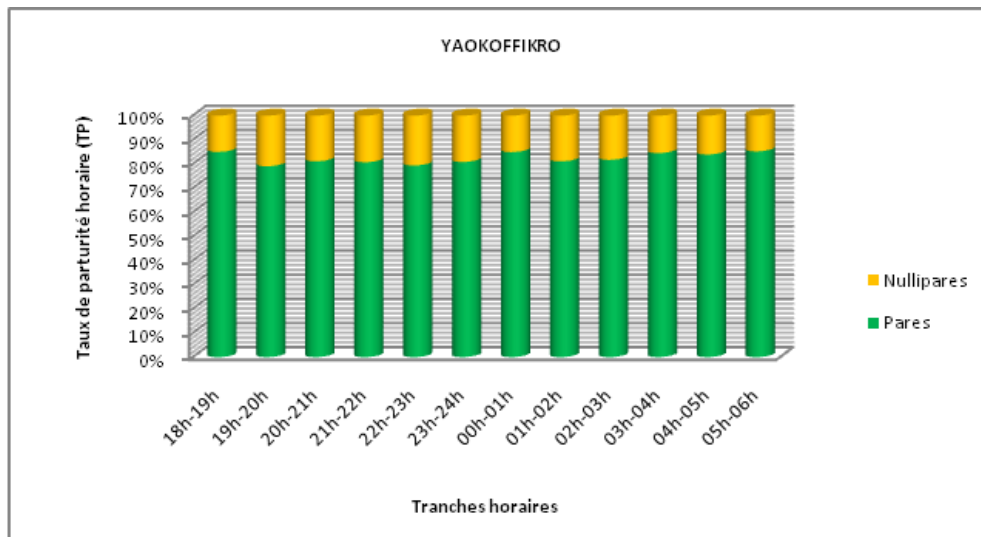


Figure 3.5 : Répartition horaire des taux de parturité d'*An. gambiae s.s.* à Yaokoffikro

Tableau 3.2 : Variations mensuelles des taux d'endophagie et des taux d'exophagie des femelles d'*An. gambiae s.s.* récoltées à Abokro et à Yaokoffikro de Septembre 2008 à Septembre 2009

Période	ABOKRO				YAOKOFFIKRO			
	Extérieur	Intérieur	Ten (%)	Tex (%)	Extérieur	Intérieur	Ten (%)	Tex (%)
sept-08	241	687	74,03	25,97	903	1204	57,14	42,86
nov-08	439	1085	71,19	28,81	669	798	54,40	45,60
janv-09	247	327	56,97	43,03	242	242	50,00	50,00
mars-09	255	653	71,92	28,08	812	595	42,29	57,71
mai-09	179	403	69,24	30,76	551	497	47,42	52,58
juil-09	108	174	61,70	38,30	145	117	44,66	55,34
TOTAL	1469	3329	-	-	3322	3453	-	-
MOYENNE	-	-	67,39	32,61	-	-	49,32	50,68

Ten : taux d'endophagie Tex : taux d'exophagie % : pourcentage

Densité au repos et comportement alimentaire

A Abokro, 894 femelles d'*An. gambiae s.s.* ont été récoltées. La densité moyenne au repos et la durée moyenne du repos post-repas à l'intérieur des habitations furent évaluées à 14,9 femelles par chambre et par jour et 2,5 jours (Tableau 3.4). Les proportions cumulées des femelles gorgées, semi-gravides ou gravides étaient de 73,0 % (n = 894).

A Yaokoffikro, 173 femelles d'*An. gambiae s.s.* ont été récoltées. La densité moyenne au repos et la durée moyenne du repos post-repas à l'intérieur des maisons furent évaluées à 2,9 femelles par chambre et par jour et 1,9 jour, respectivement (Tableau 3.4). Les proportions cumulées des femelles gorgées, semi-gravides ou gravides étaient de 69,9 % (n = 173).

Les densités moyennes des femelles d'*An. gambiae s.s.* au repos à l'intérieur des habitations étaient statistiquement plus élevées à Abokro qu'à Yaokoffikro (LRT = 9,37; $P < 0,001$).

Tableau 3.4 : Densités au repos et état de gorgement des femelles d'*An. gambiae s.s* récoltées à Abokro et à Yaokoffikro de Septembre 2008 à Septembre 2009

	Période	A jeun	Gorgée	Semi-gravide	Gravide	TOTAL	DR (f/c/j)	DPR (j)
ABOKRO	sept-08	12	3	13	18	46	4,6	2,62
	nov-08	114	91	78	72	355	35,5	2,65
	janv-09	7	18	15	8	48	4,8	2,28
	mars-09	17	43	12	21	93	9,3	1,77
	mai-09	87	51	47	53	238	23,8	2,96
	juil-09	4	54	3	53	114	11,4	2,98
	TOTAL		241	260	168	225	894	14,90
YAOKOFFIKRO	sept-08	9	5	3	3	20	2	2,2
	nov-08	17	11	0	6	34	3,4	1,55
	janv-09	8	2	2	2	14	1,4	3
	mars-09	2	22	5	6	35	3,5	1,5
	mai-09	8	15	9	2	34	3,4	1,73
	juil-09	8	20	4	4	36	3,6	1,4
	TOTAL		52	75	23	23	173	2,88

DR : densité au repos dans les maisons DPR : durée du repos post-repas f/c/j : femelles par chambre par jour j : jour

3.6. Discussion

L'inventaire de la faune culicidienne luciphile et anthropophile montre une grande diversité et une forte abondance de moustiques adultes aussi bien à Abokro qu'à Yaokoffikro. La richesse spécifique et l'abondance de moustiques sont dues à une variabilité et à la dynamique des gîtes larvaires naturels ou artificiels, très productifs, de nature et taille différentes (Doannio *et al.*, 2006). La diversification et la prédominance du genre *Anopheles*, en particulier la prépondérance d'*An. gambiae* dans les aménagements agricoles irrigués ont été démontrées par de nombreux travaux (Robert *et al.*, 1988; Doannio *et al.*, 2002; Briet *et al.*, 2003; Dolo *et al.*, 2004; Konan *et al.*, 2009). La riziculture irriguée, son exploitation interrompue et les chevauchements réguliers des cycles culturaux et de différents stades phénologiques des plants assurent une grande disponibilité et une pérennisation des biotopes propices au développement larvaire de cette espèce. L'inégale abondance d'*An. gambiae s.s.* dans les deux villages est due à la différence de leur proximité avec les rizières les plus proches (Dolo *et al.*, 2004). En effet, Abokro est situé à plus de 2 km des rizières alors que Yaokoffikro épouse les limites des périmètres rizicoles.

Une grande diversité de *Culicidae* a été obtenue par les PL et CSH. En effet, lorsqu'elles sont utilisées en combinaison, ces deux méthodes constituent un moyen efficace pour mesurer l'activité de piqûre des moustiques sur l'homme (Davis *et al.*, 1995). Toutefois, les PL ont présenté des résultats parfois inconstants avec des variations aléatoires et fortuites (Mouchet *et al.*, 2004). Leur performance à Abokro particulièrement se trouve améliorée due à leur contact avec des maisons occupées par les dormeurs et leur installation à l'abri d'autres sources externes de lumière. La différence de rendement des PL entre les villages, correspond à la présence de l'électricité (lampadaires) à Yaokoffikro, qui aurait atténué leur principal pouvoir attractif, la lumière. Une incorporation d'un dispositif d'émission d'attractifs chimiques ou d'odeurs corporelles (Okumu *et al.*, 2010), les rendrait moins dépendants des contraintes du milieu. La haute performance des CSH pour *An. gambiae s.s.* se traduit par la supériorité de l'attraction olfactive et trophique à l'attraction lumineuse ou visuelle. En effet dans la région, cette espèce est exclusivement anthropophile (Dossou-Yovo *et al.*, 1998).

Les cycles d'agressivité des femelles endophages, exophages, pares et le rythme global d'activité de piqûres d'*An. gambiae s.s.*, caractérisés par un pic au milieu de la nuit, ont été plusieurs fois signalés en zones savaniques ouest-africaines (Dossou-Yovo *et al.*, 1999; Doannio *et al.*, 2002). Ce comportement démontre à quel point l'espèce est inféodée aux habitudes de son hôte humain. L'évolution disproportionnée, observée, dans la fréquence des femelles pares et des femelles nullipares (OMS, 1975; Dossou-Yovo *et al.*, 1999; Mouchet *et al.*, 2004), est imputable à l'oviposition crépusculaire chez les premières, retardées par rapport aux dernières (Haddow & Senkubuge, 1962). Toutefois, les fréquences élevées des femelles pares à des heures précoces se justifient par la proximité des gîtes de ponte des habitations.

Mais, les similitudes constatées entre les populations femelles d'*An. gambiae s.s.* dans les deux villages ne doit pas occulter les différences particulièrement profondes qui existent entre elles. En effet, à Abokro, les agressions intra-domiciliaires ont été largement supérieures aux agressivités extra-domiciliaires, durant le nyctémère. Ce qui dénote les taux d'endophagie élevés d'*An. gambiae s.s.*, caractéristiques des vecteurs du paludisme des zones rurales d'Afrique (Adja *et al.*, 2006). Ce comportement endophage est favorisé par le fait que les habitants rentrent plus tôt dans les maisons pour se coucher, dans la mesure où Abokro est un petit village isolé et non électrifié. L'endophagie de l'espèce est prolongée par un comportement endophile, marqué par de fortes densités au repos, d'importantes proportions de femelles gorgées, semi-gravides et gravides et une durée plus longue du repos post-repas à l'intérieur des maisons. La qualité précaire des maisons (petites cases sombres, coiffées de toit en paille et construites en terre) et leur concentration sur un espace restreint sont incriminées (Mouchet *et al.*, 2004). Par contre à Yaokoffikro, les agressivités intra-domiciliaires et extra-domiciliaires ont été comparables. Ce comportement diffère de l'endophagie classique de l'espèce dans les zones rurales (Adja *et al.*, 2006), et se rapproche de l'exophagie facultative en milieu urbain (Gilles, 1954; Coz, 1973). Cette situation est imputable aux habitudes semi-rurales et semi-urbaines de la population dont une partie rentre dans les maisons pour se coucher, alors que l'autre partie reste au dehors tard la nuit avant de rentrer ou dort sur les terrasses et les vérandas à cause de la chaleur et l'électricité villageoise. La tendance à l'exophagie est associée à une exophilie délibérée, marquée par de faibles densités de femelles

gorgées, semi-gravides ou gravides et une courte durée du repos post-repas. Les maisons, modernes, écartées les unes des autres, aérées, éclairées par la lumière du jour, offriraient des conditions inappropriées au comportement endophile. Par ailleurs, l'exophilie d'*An. gambiae s.s.* peut être une composante de sa résistance aux pyréthrinoïdes (Chandre *et al.*, 1999; Koffi *et al.*, 1999), connue sous le nom de résistance comportementale, en réponse à l'irritabilité des insecticides (Darriet *et al.*, 2002). En effet, plusieurs études ont montré que la résistance à l'effet létal des insecticides s'accompagne d'une résistance à leur effet irritant par une modification de comportement chez les individus résistants (Darriet *et al.*, 2002), de sorte à quitter les maisons avant d'avoir absorbé la dose létale d'insecticides, massivement utilisées à Yaokoffikro (Zahouli et collaborateurs, données non publiées d'une enquête socio-économique).

3.7. Conclusion

An. gambiae s.s. a présenté un comportement polymorphe et antagoniste selon les villages. A Abokro, l'écologie d'*An. gambiae s.s.* est centrée sur la maison, leur point de passage obligatoire pour la recherche de l'hôte et leur gîte de repos post-repas. A Yaokoffikro, *An. gambiae s.s.* a présenté un comportement très hétérogène, diffus et plus indépendant de la maison. Dans de tels contextes, l'arsenal de la lutte anti-vectorielle devrait être constitué par l'amélioration de l'habitat, les traitements intra-domiciliaires et l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides dans les deux villages.

3.8. Références bibliographiques

- Adja, A.M., N'Goran, K.E., Kengne, P., Koudou, G.B., Toure, M., Koffi, A.A., Tia, E., Fontenille, D., & Chandre, F. (2006) Vectorial transmission of malaria in shrubby Savannah area at Ganse, Ivory Coast. *Med Trop*, **66**, 449-55.
- Akogbeto, M. & Yakoubou, S. (1999) Resistance of malaria vectors to pyrethrins used for impregnating mosquito nets in Benin, West Africa. *Bull Soc Pathol Exot*, **92**, 123-30.
- Briet, O.J., Dossou-Yovo, J., Akodo, E., van de Giesen, N., & Teuscher, T.M. (2003) The relationship between *Anopheles gambiae* density and rice cultivation in the savannah zone and forest zone of Cote d'Ivoire. *Trop Med Int Health*, **8**, 439-48.
- Chandre, F., Manguin, S., Brengues, C., Dossou Yovo, J., Darriet, F., Diabate, A., Carnevale, P., & Guillet, P. (1999) Current distribution of a pyrethroid resistance gene (kdr) in *Anopheles gambiae* complex from west Africa and further evidence for reproductive isolation of the Mopti form. *Parassitologia*, **41**, 319-22.
- Coz, J. (1973) Etudes comparative des fenêtres et des vérandas-pièges comme moyen de sortie pour les moustiques. *Cah ORSTOM Sér Entomol Méd Parasitol*, **96**, 239-246.
- Darriet, F., N'Guessan, R., Hougard, J.M., Traore-Lamizana, M., & Carnevale, P. (2002) An experimental tool essential for the evaluation of insecticides: the testing huts. *Bull Soc Pathol Exot*, **95**, 299-303.
- Davis, J.R., Hall, T., Chee, E.M., Majala, A., Minjas, J., & Shiff, C.J. (1995) Comparison of sampling anopheline mosquitoes by light-trap and human-bait collections indoors at Bagamoyo, Tanzania. *Med Vet Entomol*, **9**, 249-55.
- Doannio, J.M., Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Chauvancy, G., Darriet, F., Chandre, F., Henry, M.C., Nzeyimana, I., Guillet, P., & Carnevale, P. (1999) Efficacy of permethrin-impregnated Olyset Net mosquito nets in a zone with pyrethroid resistant vectors. I--Entomologic evaluation. *Med Trop (Mars)*, **59**, 349-54.
- Doannio, J.M., Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Rakotondraibe, M.E., Chauvancy, G., Chandre, F., Riviere, F., & Carnevale, P. (2002) Dynamics of malaria transmission in Kafine, a rice growing village in a humid savannah area of Cote d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot*, **95**, 11-6.

- Doannio, J.M., Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Rakotondraibe, M.E., Chauvancy, G., & Riviere, F. (2006) Comparison of specific composition and mosquitoes population dynamics in two villages of the centre of Cote-d'Ivoire, with and without irrigated rice growing area. *Bull Soc Pathol Exot*, **99**, 204-6.
- Dolo, G., Briet, O.J., Dao, A., Traore, S.F., Bouare, M., Sogoba, N., Niare, O., Bagayogo, M., Sangare, D., Teuscher, T., & Toure, Y.T. (2004) Malaria transmission in relation to rice cultivation in the irrigated Sahel of Mali. *Acta Trop*, **89**, 147-59.
- Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Doannio, J., Darriet, F., & Carnevale, P. (1999) The aggressive cycle of *Anopheles gambiae s.s.* inside houses and malaria transmission in the Bouake region (Cote d'Ivoire). Value of using impregnated mosquito nets. *Bull Soc Pathol Exot*, **92**, 198-200.
- Dossou-Yovo, J., Doannio, J.M., & Diarrassouba, S. (1998) [Feeding preferences of malaria vectors in the city of Bouake and in the surrounding villages of Cote d'Ivoire]. *Bull Soc Pathol Exot*, **91**, 257-8.
- Adja, A.M., N'Goran, K.E., Kengne, P., Koudou, G.B., Toure, M., Koffi, A.A., Tia, E., Fontenille, D., & Chandre, F. (2006) Vectorial transmission of malaria in shrubby Savannah area at Ganse, Ivory Coast. *Med Trop*, **66**, 449-55.
- Akogbeto, M. & Yakoubou, S. (1999) Resistance of malaria vectors to pyrethrins used for impregnating mosquito nets in Benin, West Africa. *Bull Soc Pathol Exot*, **92**, 123-30.
- Briet, O.J., Dossou-Yovo, J., Akodo, E., van de Giesen, N., & Teuscher, T.M. (2003) The relationship between *Anopheles gambiae* density and rice cultivation in the savannah zone and forest zone of Cote d'Ivoire. *Trop Med Int Health*, **8**, 439-48.
- Chandre, F., Manguin, S., Brengues, C., Dossou Yovo, J., Darriet, F., Diabate, A., Carnevale, P., & Guillet, P. (1999) Current distribution of a pyrethroid resistance gene (kdr) in *Anopheles gambiae* complex from west Africa and further evidence for reproductive isolation of the Mopti form. *Parassitologia*, **41**, 319-22.
- Coz, J. (1973) Etudes comparative des fenêtres et des vérandas-pièges comme moyen de sortie pour les moustiques. *Cah ORSTOM Sér Entomol Méd Parasitol*, **96**, 239-246.

- Darriet, F., N'Guessan, R., Hougard, J.M., Traore-Lamizana, M., & Carnevale, P. (2002) An experimental tool essential for the evaluation of insecticides: the testing huts. *Bull Soc Pathol Exot*, **95**, 299-303.
- Davis, J.R., Hall, T., Chee, E.M., Majala, A., Minjas, J., & Shiff, C.J. (1995) Comparison of sampling anopheline mosquitoes by light-trap and human-bait collections indoors at Bagamoyo, Tanzania. *Med Vet Entomol*, **9**, 249-55.
- Doannio, J.M., Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Chauvancy, G., Darriet, F., Chandre, F., Henry, M.C., Nzeyimana, I., Guillet, P., & Carnevale, P. (1999) Efficacy of permethrin-impregnated Olyset Net mosquito nets in a zone with pyrethroid resistant vectors. I--Entomologic evaluation. *Med Trop (Mars)*, **59**, 349-54.
- Doannio, J.M., Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Rakotondraibe, M.E., Chauvancy, G., Chandre, F., Riviere, F., & Carnevale, P. (2002) Dynamics of malaria transmission in Kafine, a rice growing village in a humid savannah area of Cote d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot*, **95**, 11-6.
- Doannio, J.M., Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Rakotondraibe, M.E., Chauvancy, G., & Riviere, F. (2006) Comparison of specific composition and mosquitoes population dynamics in two villages of the centre of Cote-d'Ivoire, with and without irrigated rice growing area. *Bull Soc Pathol Exot*, **99**, 204-6.
- Dolo, G., Briet, O.J., Dao, A., Traore, S.F., Bouare, M., Sogoba, N., Niare, O., Bagayogo, M., Sangare, D., Teuscher, T., & Toure, Y.T. (2004) Malaria transmission in relation to rice cultivation in the irrigated Sahel of Mali. *Acta Trop*, **89**, 147-59.
- Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Doannio, J., Darriet, F., & Carnevale, P. (1999) The aggressive cycle of *Anopheles gambiae s.s.* inside houses and malaria transmission in the Bouake region (Cote d'Ivoire). Value of using impregnated mosquito nets. *Bull Soc Pathol Exot*, **92**, 198-200.
- Dossou-Yovo, J., Doannio, J.M., & Diarrassouba, S. (1998) [Feeding preferences of malaria vectors in the city of Bouake and in the surrounding villages of Cote d'Ivoire]. *Bull Soc Pathol Exot*, **91**, 257-8.
- Dossou-Yovo, J., Ouattara, A., Doannio, J.M., Diarrassouba, S., & Chauvancy, G. (1998) Malaria surveys in a humid savannah region in Cote d'Ivoire. *Med Trop (Mars)*, **58**, 51-6.

- Dossou-Yovo, J., Ouattara, A., Doannio, J.M., Riviere, F., Chauvancy, G., & Meunier, J.Y. (1994) Aspects of malaria in a village of the humid savannah of the Ivory Coast. *Med Trop (Mars)*, **54**, 331-6.
- Elissa, N., Mouchet, J., Riviere, F., Meunier, J.Y., & Yao, K. (1993) Resistance of *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroids in Cote d'Ivoire. *Ann Soc Belg Med Trop*, **73**, 291-4.
- Gilles, M.T. (1954) Studies in house leaving and outside resting of *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus* in east Africa. *Bull Entomol Res*, **54**, 375-387.
- Gillies, M.T. & de Meillon, B. (1968) *The Anophelinae of Africa South of Sahara*.
- Guillet, P., Chandre, F., Akogbeto, M., Darriet, F., Faye, O., Manga, L., Cavaleyra, M., & (1996) Resistance of *Anopheles gambiae* s.l. to pyrethroid in Africa and use of impregnated materials. In WHO Task Force on impregnated materials for malaria vector control, Brazzaville, Congo.
- Haddow, A.J. & Senkubuge, Y. (1962) Laboratory observations on the oviposition. Cycle in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Ann Trop Med Parasitol*, **56**, 352-355.
- Koffi, A.A., Darriet, F., N'Guessan, R., Doannio, J.M., & Carnevale, P. (1999) Laboratory evaluation of alpha-cypermethrin insecticide efficacy on *Anopheles gambiae* populations of Cote d'Ivoire resistant to permethrin and deltamethrin. *Bull Soc Pathol Exot*, **92**, 62-6.
- Konan, Y.L., Kone, A.B., Doannio, J.M., Fofana, D., & Odehouri-Koudou, P. (2009) Malaria transmission in Tiassalekro, a irrigated rice growing village situated in the South forest area of Cote d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot*, **102**, 26-30.
- Koudou, B.G., Adja, A.M., Matthys, B., Doumbia, M., Cisse, G., Kone, M., Tanner, M., & Utzinger, J. (2007) Agricultural activities and malaria transmission in two eco-epidemiological settings in central Cote d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot*, **100**, 124-6.
- Koudou, B.G., Doumbia, M., Janmohamed, N., Tschannen, A.B., Tanner, M., Hemingway, J., & Utzinger, J. (2010) Effects of seasonality and irrigation on malaria transmission in two villages in Cote d'Ivoire. *Ann Trop Med Parasitol*, **104**, 109-21.

- Marrama, L., Laventure, S., Rabarison, P., & Roux, J. (1999) *Anopheles mascarensis* (De Meillon, 1947): main vector of malaria in the region of Fort-Dauphin (south-east of Madagascar). *Bull Soc Pathol Exot*, **92**, 136-8.
- Mattingly, P.F. (1971) *The mosquitoes of Ethiopian Region* Sutcliffe (ed), London.
- Mouchet, J., Carnevale, P., Coosemans, M., Julvez, J., Manguin, S., Richard-Lenoble, D., & Sircoulon, J. (2004) *Biodiversité du paludisme dans le monde* John Libbey Eurotext (éd), Paris.
- Okumu, F., Biswaro, L., Mbeleyela, E., Killeen, G.F., Mukabana, R., & Moore, S.J. (2010) Using nylon strips to dispense mosquito attractants for sampling the malaria vector *Anopheles gambiae s.s.* *J Med Entomol*, **47**, 274-82.
- OMS (1975) *Manual on Practical Entomology in Malaria. Part II. Methods and Techniques. Publications OMS*, Genève, Suisse.
- OMS (2003) Entomologie du paludisme et contrôle de vecteurs. *WHO/CDS/CPE/SMT/2002*, **18**, 102 p.
- Robert, V., Ouari, B., Ouedraogo, V., & Carnevale, P. (1988) An ecologic study of adult and larval Culicidae in a rice field of Kou Valley, Burkino Faso. *Acta Trop*, **45**, 351-9.
- Vulule, J.M., Beach, R.F., Atieli, F.K., Roberts, J.M., Mount, D.L., & Mwangi, R.W. (1994) Reduced susceptibility of *Anopheles gambiae* to permethrin associated with the use of permethrin-impregnated bednets and curtains in Kenya. *Med Vet Entomol*, **8**, 71-5.

4. Efficacy of ICON[®] Maxx in the laboratory and against insecticide-resistant *Anopheles gambiae* in central Côte d'Ivoire

Mirko S Winkler^{1,2*}, Emile Tchicaya^{3,4*}, Benjamin G Koudou^{3,5,6*}, Jennifer Donzé^{7*}, Christian Nsanzabana^{1,2,3}, Pie Müller^{2,8}, Akéré M Adja⁹ and Jürg Utzinger^{1,2§}

¹*Department of Epidemiology and Public Health, Swiss Tropical and Public Health Institute, P.O. Box, CH-4002 Basel, Switzerland*

²*University of Basel, P.O. Box, CH-4003 Basel, Switzerland*

³*Département Environnement et Santé, Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, 01 BP 1303, Abidjan 01, Côte d'Ivoire*

⁴*UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 BP 582, Abidjan 22, Côte d'Ivoire*

⁵*UFR Sciences de la Nature, Université d'Abobo-Adjame, 02 BP 801, Abidjan 02, Côte d'Ivoire*

⁶*Vector Group, Liverpool School of Tropical Medicine, Pembroke Place, Liverpool, L3 5QA, UK*

⁷*Department of Parasitology, University of Neuchâtel, P.O. Box, CH-2000 Neuchâtel, Switzerland*

⁸*Department of Medical Services and Diagnostic, Swiss Tropical and Public Health Institute, P.O. Box, CH-4002 Basel, Switzerland*

⁹*Institut Pierre-Richet, 01 BP 1500, Abidjan 01, Côte d'Ivoire*

*These four authors contributed equally to the work presented

§Corresponding author

4.1. Abstract

Background: Long-lasting treatment kits, designed to transform untreated nets into long-lasting insecticidal nets (LLINs), may facilitate high coverage with LLIN where non-treated nets are in place. In this study, the efficacy of ICON[®] Maxx (Syngenta) was evaluated under laboratory conditions and in an experimental hut trial in central Côte d'Ivoire, where *Anopheles gambiae s.s.* are resistant to pyrethroid insecticides.

Methods: In the laboratory, polyester and polyethylene net samples were treated with ICON[®] Maxx, washed up to 20 times and their efficacy determined in World Health Organization (WHO) cone assays against a susceptible laboratory *An. gambiae s.s.* colony. Over a 12-month period, the polyester nets were evaluated in a hut trial to determine mosquito deterrence, induced exophily, blood-feeding inhibition and mortality.

Results: In the laboratory, ICON[®] Maxx-treated polyethylene nets showed higher efficacy against pyrethroid-susceptible mosquitoes than polyester nets. After 20 washings, insecticidal efficacy in bioassays was 59.4 % knockdown (KD) and 22.3 % mortality for polyethylene, and 55.3 % KD and 17.9 % mortality for polyester nets. In experimental huts, treated nets showed strong deterrence, induced exophily and an over three-fold reduction in blood-fed mosquitoes. More than half (61.8 %) of the mosquitoes entering the huts with treated nets were found dead the next morning despite high levels of KD resistance. After washing the treated nets, KD and mortality rates were close to or exceeded predefined WHO thresholds in cone bioassays.

Conclusion: In contrast to previous laboratory investigation, ICON[®] Maxx-treated nets showed only moderate KD and mortality rates. However, under semi-field conditions, in an area where mosquitoes are resistant to pyrethroids, ICON[®] Maxx showed high deterrence, induced exophily and provided a significant reduction in blood-feeding rates; features that are likely to have a positive impact in reducing malaria transmission. The WHO cone test may not always be a good proxy for predicting product performance under field conditions.

4.2. Background

Insecticide-treated nets (ITNs) are an efficacious and cost-effective measure to reduce malaria morbidity and mortality [1-3]. As conventional ITNs need to be re-treated with insecticide at least once a year, or after two or three washes, their effective protection in the long term may be compromised [4]. To overcome this constraint, manufacturers have developed long-lasting insecticidal nets (LLINs). Insecticides remain present, either incorporated into, or coated around, the fibre at toxic concentrations for malaria vectors even after multiple washes. Biological activity then lasts for several years with no need for repeated re-treatment [5-10]. Hence, LLINs have become an important tool for vector control against malaria and other mosquito-borne diseases [11-13]. There is a growing demand for LLINs within the frame of national malaria control programmes, so that the target of at least 85 % of the at-risk populations to sleep under an ITN by 2015 can be reached [14,15].

Progress has also been made with long-lasting treatment kits that transform untreated nets into LLINs after simple dipping, combining a conventional insecticide with a binding agent. Untreated and conventionally-treated nets already in use could be transformed into LLINs by applying a long-lasting treatment kit. Currently, the only long-lasting insecticide treatment kit with recommendations from the World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES) is ICON[®] Maxx, developed by Syngenta and released to the market in 2007 [16,17].

In this study, the efficacy of ICON[®] Maxx was evaluated under tropical conditions in Côte d'Ivoire. The efficacy and wash resistance were first assessed in the laboratory on two different net types following the WHOPES guidelines [18]. Subsequently, ICON[®] Maxx was tested under semi-field conditions in experimental huts in central Côte d'Ivoire during a 12-month period, following a case-control design, with half of the nets washed once after six months. Of note, the main objective of this part of the study was to determine the performance of ICON[®] Maxx under 'real-life' conditions, and hence WHOPES guidelines were not strictly followed. The study was implemented in central Côte d'Ivoire, where *Anopheles gambiae s.s.* are resistant to pyrethroids [19,20].

4.3. Methods

ICON[®] Maxx treatment kit

ICON[®] Maxx is based on a slow release 10 % capsule suspension formulation of the pyrethroid lambda-cyhalothrin, combined with a polymer binding agent. The binding agent retains the capsules on the fibre during washing and the capsule suspension technology allows a controlled release of insecticide over time. Each ICON[®] Maxx treatment kit contains one sachet of micro-encapsulated lambda-cyhalothrin ICON[®] 10CS, one sachet of binding agent, treatment instructions, one pair of disposable gloves and a water-measuring bag. One kit is designated for the post-manufacture treatment of one net and is applicable to nets of multiple sizes.

Laboratory investigation

Net treatment. The laboratory evaluation was carried out on two different netting materials widely used in Côte d'Ivoire, polyester and polyethylene. Nets were purchased from a local market in Abidjan in September 2007 (colour: white; no further specifications available). Four nets of each type, plus an additional one serving as control, were treated with ICON[®] Maxx diluted in deionized water and dried in the shade following the manufacturer's instructions. Net samples were cut into square pieces of 25 x 25 cm. From each net, six samples were sliced at randomly selected positions (samples were scheduled for 0, 1, 5, 10, 15 and 20 washings).

For the washing procedure, net samples were individually introduced into 1 l plastic bottles containing 500 ml deionized water, with 1 g of previously dissolved soap ('Savon de Marseille' produced by Unilever). Bottles were placed in a water bath at 30 °C and shaken for 10 min at 155 movements per min. Next, the samples were removed and rinsed twice for 10 min under the same conditions as stated above. Nets were dried in the shade and stored in plastic bags in a cupboard at room temperature. Between the washings, a 24 h interval was respected.

Mosquitoes. *An. gambiae* s.s. Kisumu eggs were sent from the Institut Pierre Richert (IPR) in Bouaké, central Côte d'Ivoire, on a wettish blotting paper, directly to the insect rearing room at Abidjan, where they were introduced in a vessel half filled with deionized water. Each vessel was provided a diet of lab chow (Tetra[®] Mikromin; Spectrum Brands

Inc., Germany) once daily. When the nymph-stadium was reached, nymphs were transferred to a 100 ml plastic beaker using a pipette. The beaker was introduced into a mosquito cage (30 x 30 x 30 cm) together with cotton pads soaked with a 10 % honey solution. Cages were annotated with the actual date and mosquitoes were used for testing at the latest on the fifth day after introduction of the beaker. Cotton wool-pellets imbued with 10 % honey solution were changed daily.

For stock authentication of *An. gambiae s.s.* Kisumu strain, a sub-sample of 40 adult females were screened against presence of the L1014S and L1014F *kdr* allele according to the procedure developed by Martinez-Torres et al. (1998) [21].

Bioassays. Efficacy of ICON[®] Maxx was assessed in WHO cone assays [18] using non-blood-fed, two- to five-day-old adult females from a susceptible *An. gambiae s.s.* Kisumu strain established at IPR for each of the two netting types (i.e. polyethylene and polyester). The assays were performed with unwashed and then repeated with washed netting material after 1, 5, 10, 15 and 20 washings. The implementation of the bio-efficacy test included four treated net samples and one control. For each treated net, 50 mosquitoes were tested in 10 cone bioassays i.e. five mosquitoes per cone.

In cone bioassays, five mosquitoes were introduced into a cone at a time and removed to a plastic beaker after 3 min of exposure at an angle of approximately 45°, using a mouth aspirator. Knock-down (KD) (i.e. mosquitoes are not moving anymore when gently knocking the beaker) was measured at the end of the exposure time (3 min) and again 60 min post-exposure. After 3 min, mosquitoes were transferred to holding containers with access to a 10 % honey solution. Mortality was recorded 24 h after exposure. Mosquitoes that had lost at least three legs or at least one wing were deemed dead. Bioassays were carried out at a temperature of 25±2 °C and a relative humidity of 75±10 %.

Experimental hut trial

Study area and experimental set-up.

The efficacy of nets treated with ICON[®] Maxx was evaluated over a 12-month period (June 2008 to May 2009) in experimental huts at M'Bé station, 35 km north-west of Bouaké, central Côte d'Ivoire (geographical coordinates: 7°53'45" N latitude and 5°05'51" W longitude) [22,23]. In this area a recent study found high frequency of *kdr* in

pyrethroid-resistant *An. gambiae* s.s. with high frequency of heterozygotes (97.3 % resistant heterozygote) and low frequency of homozygotes (2.7 % resistant homozygotes) [24]. Additionally, the species and molecular forms of the *An. gambiae* complex were identified in the study area using a PCR method described by Fanello *et al* [25]. *An. gambiae* S was the predominant form (92 %) with a low rate of *An. gambiae* M form (8 %).

Four experimental huts were used, following a case-control design. Two of the huts were equipped with ICON[®] Maxx-treated polyester nets (most common net type in Côte d'Ivoire), whereas the remaining huts were equipped with untreated nets of the same type that served as control. According to WHOPES guidelines [18], experimental huts were fitted with entry slots, exit traps and screened verandas.

Volunteer sleepers, rotation and mosquito collection.

Adult volunteer sleepers (males, aged 18-40 years) spent six nights per week (from 20:00 to 06:00 hours) under the mosquito nets in the experimental huts [26]. Sleepers were rotated among the huts every night of the study. Bedding and pyjamas did not rotate to avoid insecticide contamination of the controls. Once every week, the huts were cleaned and thoroughly aired to avoid contamination.

Each morning, collected mosquitoes were transferred to the laboratory of IPR and identified to the genus and species level using a readily available determination key [27]. Mosquitoes were classified as (i) dead/blood-fed; (ii) alive/blood-fed; (iii) dead/unfed; and (iv) alive/unfed. Surviving mosquitoes were provided with a 10 % honey solution and kept for 24 h after which delayed mortality was determined. For *An. gambiae* and *An. funestus*, the following parameters were assessed: (i) deterrent effect (reduction in hut entry relative to the control huts); (ii) induced exophily (proportion of mosquitoes found in the exit traps); (iii) blood-feeding rate; and (iv) immediate (in the morning) and delayed (24 h after collection) mortality rates. All parameters were reported for each hut separately.

After six months and in keeping with local practices, two of the nets (one treated and an untreated control net) were removed from the huts and washed separately using tap water and 'Savon de Marseille' type soap. The manual washing procedure, performed

by women living in the study area, took approximately 10 min per net. Subsequently, the nets were rinsed twice and then dried in the shade.

Furthermore, five cone bioassays (one on each side of the rectangular-shaped net and one on top) were carried out at the end of each month on each net according to the procedure described above, with the only difference that 10 rather than five mosquitoes were introduced in a cone at a time. KD and mortality rates were determined.

Ethical considerations

Ethical approval was obtained from the Ministry of Health in Côte d'Ivoire, through the national malaria control programme. Volunteer sleepers provided oral informed consent, as most of them were illiterate. The volunteer sleepers were offered free anti-malarial chemotherapy (artesunate plus amodiaquine, according to national policies), and their vaccination status against yellow fever was checked before enrolment. Medical supervision was provided throughout the study and for an additional six months after the end of the study by qualified medical personnel.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed in the open source software package R version 2.14.1 (<http://www.r-project.org>) using the “lme4” library for linear mixed-effects models [28]. For statistical testing the level of significance was set at $\alpha = 0.05$.

Data obtained from mosquitoes collected in the experimental huts were analyzed for four groups, (i) *An. gambiae s.s.*; (ii) *An. funestus*; (iii) other *Anopheles* species; and (iv) all other mosquitoes not included in the first three groups. For each of the four groups the following outcomes were compared between treated and untreated nets: (i) deterrence (i.e. reduction in hut entry relative to the control); (ii) induced exophily (i.e. the proportion of mosquitoes that were found in the exit traps); (iii) blood-feeding inhibition (i.e. the reduction of blood-feeding compared with that in the control huts); and (iv) mortality (i.e. the proportion of mosquitoes that were killed either immediately or 24 h post-collection. Deterrence was analyzed as the reduction in total numbers (sum of mosquitoes caught in room and veranda) using a Poisson generalized linear mixed model (GLMM) with a log link function. For the proportional outcomes induced exophily, blood-feeding inhibition and mortality, the Poisson GLMM was replaced by a binomial

generalized linear model (GLM) with a logit link function. The model terms for the fixed effects were *SPECIES* + *SPECIES:TREATMENT*, where *SPECIES* is a factor for the different mosquito species groups and *SPECIES:TREATMENT* an interaction term for the species (i.e. mosquito species group) specific treatment effect. The model terms for the random effects were *DAY*, *SLEEPER* and *ROW*. While *DAY* accounted for the temporal random effects, *SLEEPER* accounted for the random variation between sleepers. The random effect *ROW* accounted for over-dispersion of the data and assigns a random effect for each observation (i.e. data row in the data table; hence the label *ROW*). For reporting, the relative rates (RR) for the aforementioned outcomes are given with their respective 95% confidence intervals (CI) for each of the four groups of mosquitos.

4.4. Results

Findings from laboratory investigations

Baseline KD mortality rates. Prior to washing, the baseline KD and mortality rates of *Anopheles* for polyester and polyethylene nets treated with ICON® Maxx were measured. Table 4.1 shows the mean percentage of KD and dead mosquitoes, as determined by the 3 min exposure efficacy tests. KD was measured 60 min post-exposure. Means of each net-type are based on the exposure of 200 mosquitoes to four treated net samples. None of the treated nets showed 100 % baseline mortality, but with a KD of 98.0 %, ICON® Maxx was highly efficacious when applied on polyethylene nets. KDs for all untreated control net samples were 0 %.

Table 4.1 : Mean KD/mortality 60 min/24 h post-exposure to polyester and polyethylene nets after treatment with ICON® Maxx under laboratory conditions in Côte d'Ivoire

Time post-exposure	Outcome measure	<i>An. gambiae</i> Kisumu	
		Polyester	Polyethylene
60 min	Mean KD	88.7 %	98.0 %
	(95 % CI)	(82.2–95.2 %)	(95.4–100.0 %)
	[range]	[84.3–94.2 %]	[96.0–100.0 %]
24 h	Mean mortality	52.5%	45.7%
	(95 % CI)	(38.9–66.1 %)	(19.27–72.0 %)
	[range]	[42.3–61.5 %]	[30.6–68.0 %]

KD and mortality rates after washing. Mean KD rates of *An. gambiae* Kisumu exposed to the net samples after 0, 1, 5, 10, 15 and 20 washings are shown in Figure 4.1. Both net types showed a clear decrease from 98.0 % (polyethylene) and 88.7 % (polyester) for the unwashed samples to 59.4 % and 55.3 % after 20 washings, respectively. Hence, after 20 washings, KD rates were considerably below the mean KD defined for LLINs by WHOPES guideline (i.e. 95 % after 20 washings). The polyester net showed higher fluctuation in loss of efficacy than polyethylene nets. The untreated control net, washed the same way as the treated ones, revealed a constant KD of 0 %.

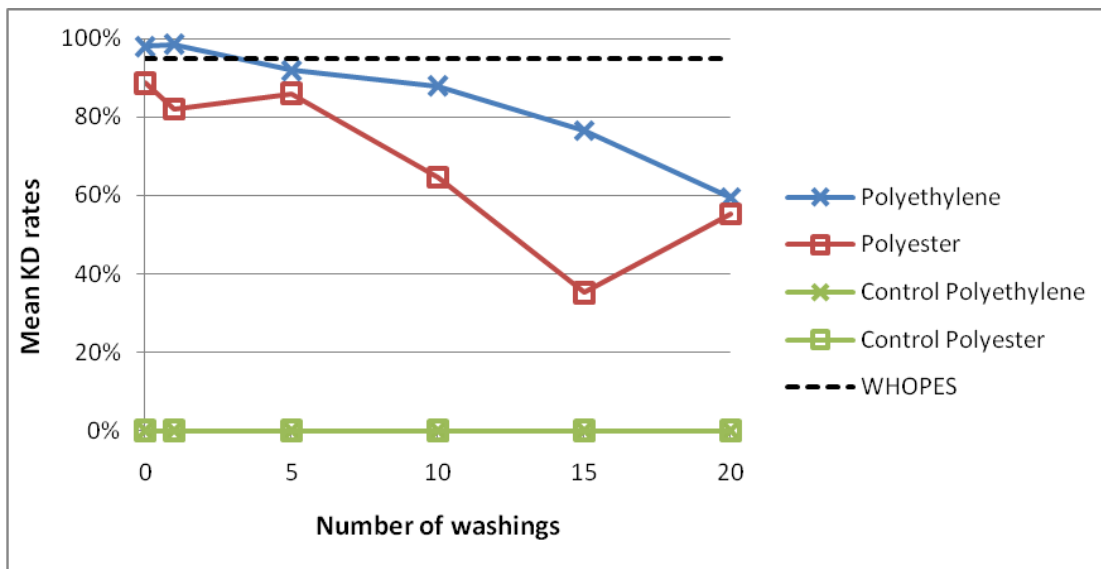


Figure 4.1 : The effect of washings on the mean KD of *An. gambiae* Kisumu-susceptible strain after 3 min bioassay test on polyester and polyethylene nets, measured 60 min post-exposure

Mosquito mortality rates 24 h post-exposure are presented in Figure 4.2. There was considerable variation in mortality of the different treated net samples with the same number of washings. After one washing, polyethylene peaked with a mean mortality of 76.7 %, whereas polyester showed the lowest value (30.3 %). Overall the mean mortality decreased for both netting materials. After 20 washings polyester was 30.2 % less lethal for exposed mosquitoes when compared with the baseline estimate. The respective value for polyethylene was 23.4 %.

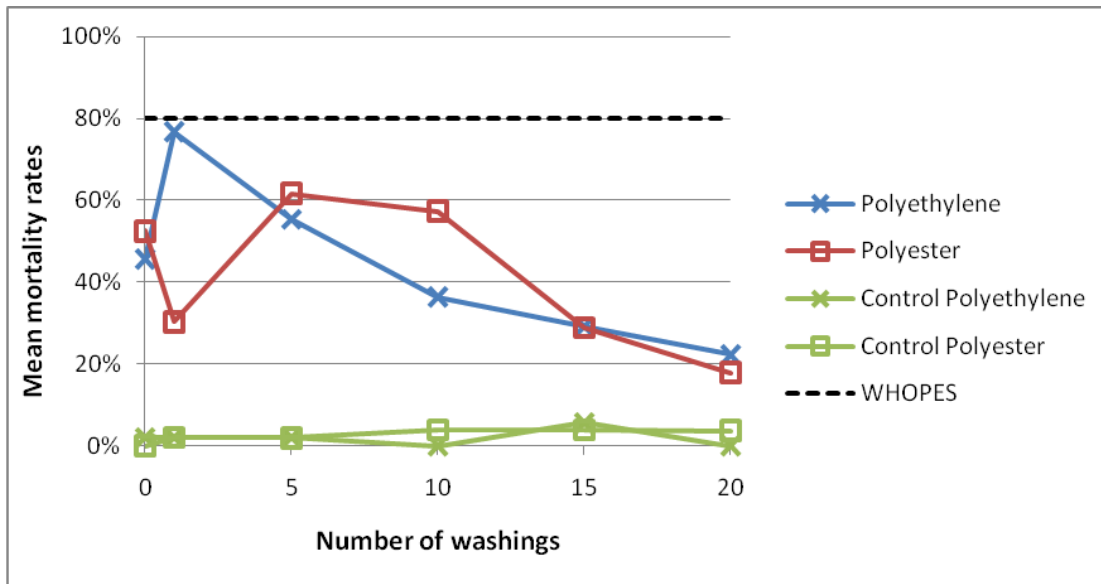


Figure 4.2 : The effect of washings on the mean mortality of *An. gambiae* Kisumu-susceptible strain after 3 min bioassay test on polyester and polyethylene nets, measured 24 h post-exposure

***Kdr* mutation in *An. gambiae* Kisumu strain.** On the gel electrophoresis-plot obtained with the PCR-diagnostic test for identification of the *kdr* allele, the susceptible band (137 bp) was visible, the resistant band (195 bp) was missing and the common band existed. Hence, the genotype of *An. gambiae* Kisumu strain was SS: homozygous, standard susceptible [21].

Results from the experimental hut trial

Mosquito abundance. From June 2008 to May 2009, a total of 17,373 mosquitoes were sampled by the four volunteer sleepers based on 1,176 man-nights of collection (Table 4.2). On average, 1,448 mosquitoes were caught per month, with a maximum of 1,860 mosquitoes in April 2009 and a minimum of 705 mosquitoes in January 2009. *An. gambiae* was the predominant species (62.9 %). *An. funestus* accounted for 7.1 % and other *Anopheles* species for 2.2 %. The remaining 27.8 % of mosquitoes belonged to other genera (i.e. *Culex*, *Aedes* and *Mansonia*).

Table 4.2 : Average numbers and rates of the 12-month experimental hut trial at M'Bé station, in central Côte d'Ivoire, including numbers of entering and trapped mosquitoes, and mortality and blood-feeding rates

	Total number	Outcomes			
		Mosquitoes caught in exit traps*	Blood-feeding rate**	Immediate mortality rate***	Delayed mortality rate****
<i>An. gambiae</i> (n = 10,922)					
Treated huts	2,816 (25.9 %)	73.8 %	4.9 %	49.5 %	9.4 %
Control huts	8,106 (74.1 %)	44.8 %	13.6 %	13.2 %	2.4 %
<i>An. funestus</i> (n = 1,234)					
Treated huts	140 (10.9 %)	60.7 %	3.6 %	66.4 %	5.0 %
Control huts	1,094 (89.1 %)	34.8 %	12.7 %	10.2 %	5.0 %
Other <i>Anopheles</i> (n = 384)					
Treated huts	92 (21.5 %)	47.8 %	7.6 %	78.3 %	3.3 %
Control huts	295 (78.5 %)	50.8 %	23.4 %	22.7 %	4.7 %
Other species (n = 4,830)					
Treated huts	1,541 (31.4 %)	44.7 %	0.3 %	82.9 %	0.9 %
Control huts	3,289 (68.2 %)	41.7 %	7.0 %	10.9 %	0.6 %
All mosquitoes (n = 17,373)					
Treated huts	4,589 (26.4 %)	62.7 %	3.4 %	61.8 %	6.3 %
Control huts	12,784 (73.6%)	43.3 %	12.0 %	12.6 %	2.2 %

* Percentage of mosquitoes caught in exit traps = total # mosquitoes caught in exit traps / total # mosquitoes entering the hut * 100

**Blood-feeding rate = total # blood-fed mosquitoes / total # mosquitoes entering * 100

*** Immediate mortality rate = total # mosquitoes death mosquitoes in the morning / total # mosquitoes entering the hut * 100

**** Delayed mortality rate = total # mosquitoes death mosquitoes 24h after collection / total # mosquitoes entering the hut * 100

Deterrence rate. Altogether, three-quarter (73.6 %) of the total number of mosquitoes were caught in the control huts, and hence there was a considerable deterrent effect of ICON[®] Maxx. Deterrence was highest on *Anopheles* spp. (RR = 0.33; p <0.001) with, on average, 75.7 % of the mosquitoes entering the control huts, compared to 68.1 % of the other genera.

Table 4.3 : Relative rates of outcomes from treatment compared to control

Mosquito group	Relative rate (95 % confidence interval)			
	Deterrence (95 % CI)	Induced exophily (95 % CI)	Blood-feeding inhibition (95 % CI)	Mortality (95 % CI)
<i>An. gambiae s.s.</i>	0.33 (0.28-0.39)**	4.31 (3.56-5.22)**	0.27 (0.19-0.37)**	8.8 (7.4-10.4)**
<i>An. funestus</i>	0.12 (0.09-0.16)**	3.71 (2.29-6.03)**	0.15 (0.05-0.50)*	18.5 (11.6-29.7)**
<i>Anopheles</i> spp.	0.29 (0.22-0.40)**	0.91 (0.51-1.61) n.s.	0.24 (0.08-0.66)*	17.2 (9.0-32.9)**
Other	0.43 (0.37-0.52)**	1.12 (0.89-1.41) n.s.	0.04 (0.01-0.12)**	60.8 (47.2-78.5)**

n.s. = not significant, * $p < 0.01$, ** $p < 0.001$

Induced exophily rate

Most of the mosquitoes entering the treated huts (62.8 %) were caught in the exit traps (induced exophily). The respective percentage of mosquitoes that entered the control huts was 43.6 %. *An. gambiae s.s.* induced exophily recorded in the treated huts was significantly higher than the one recorded in the control huts (RR = 4.31, 95 % CI: 3.56-5.22) (Table 4.3). Similar results were observed for *An. funestus* (RR = 3.71, 95 % CI: 2.29-6.03). In the treated huts, induced exophily was highest for *An. gambiae* (73.8 % of the mosquitoes were caught in the exit traps). For species other than *Anopheles*, exophily was similar for the treated and the control huts (44.8 % versus 41.7 %).

Blood-feeding rate

On average, the portion of blood-fed mosquitoes was several-fold higher in the control huts (12.0 %) than in the treated huts (3.4 %). The blood-feeding rate was lowest for species other than *Anopheles* with 0.3 % for treated huts and 7.0 % for controls. *An. gambiae* showed a mean blood-feeding rate of 4.9 % in treated huts and 13.6 % in the controls, with a slight increase towards the end of the experimental hut trial, as shown in Figure 4.3. The *An. gambiae s.s.* blood-feeding rate recorded in the control huts was higher than the one recorded in the treated huts (RR = 0.27, 95 % CI: 0.19-0.37). Similar results were observed for *An. funestus* (RR = 0.15, 95 % CI: 0.05-0.50) and species other than *Anopheles* (RR = 0.04, 95 % CI: 0.01-0.12).

Mortality rate. In the morning, 61.8 % of the mosquitoes sampled in the treated huts were dead (immediate mortality), compared to 12.6 % in the control huts. For *An. gambiae*, immediate mortality reached the highest level (76.3 %) after eight months (January 2009), followed by a steady decrease to 27.3 % (Figure 4.3). Overall, delayed mortality rates (24 h after collection) were higher for *Anopheles* species (treated huts: 9.4 % and control huts: 2.7 %) than for species others than *Anopheles* (treated huts: 0.9 % and control huts: 0.6 %).

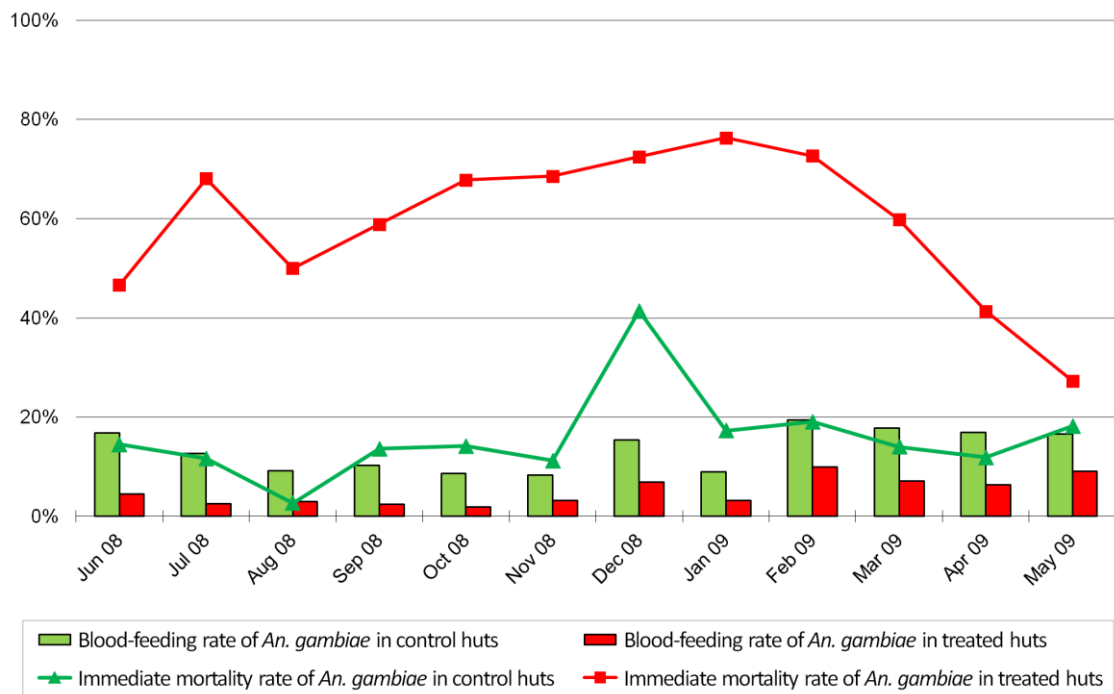


Figure 4.3 : Mortality rate and blood-feeding rate in ICON[®] Maxx-treated huts versus control huts during a 12-month experimental hut trial in the M’Bé station, central Côte d’Ivoire.

Mean KD and mortality rate in cone bioassays. The dynamics of the mean KD and mortality rates of the cone bioassay efficacy test are shown in Figures 4.4 and 4.5. Over the 12-month experimental hut trial period, mean KD of *An. gambiae* Kisumu exposed to the treated nets remained at relatively high levels with a trend of higher KDs in the

second half of the trial following net washing. Mean KDs for untreated net samples that served as controls were very low, with a small peak in January 2009 (unwashed control: 8.0 %; washed control: 18.0 %).

The mean mortality rate of *An. gambiae* Kisumu exposed to the treated nets showed a decrease in the second month from 78.1 % to 60.8 %. Subsequently, the mean mortality increased to a level above 80 %, hence above the predefined WHOPEs threshold for the second half of the experimental hut trial (Figure 4.5), including two months with 100 % mean mortality. For the untreated net samples, the mean mortality rate was somewhat elevated in the middle of the experimental hut trial period with a peak of 36.0 % in January, for both, the washed and the unwashed control nets.

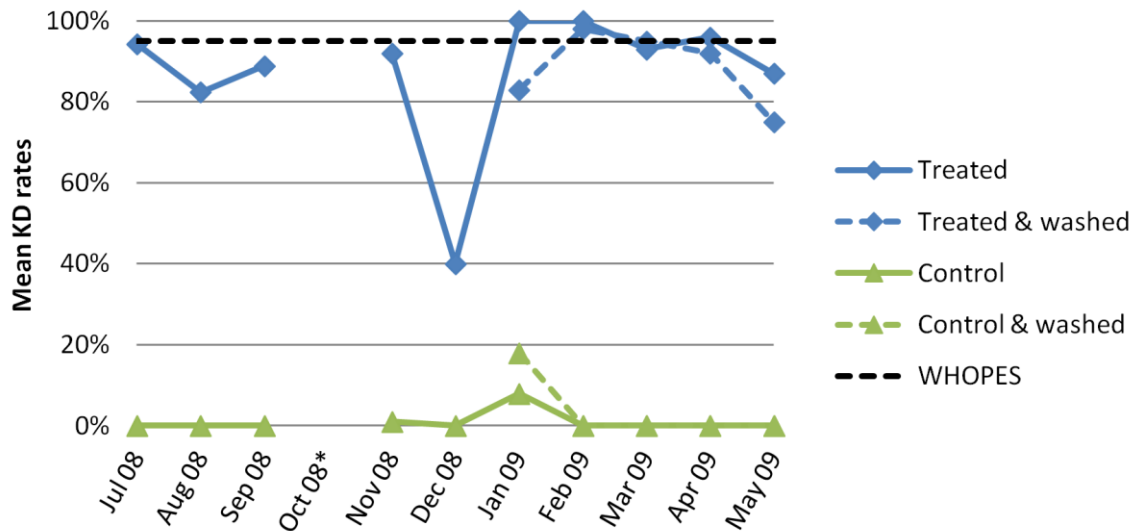


Figure 4.4 : Development of mean KD (60 min post-exposure) after 3 min bioassay test for *An. gambiae* Kisumu-susceptible strain over a 12-month experimental hut trial in the M’Bé station, central Côte d’Ivoire, including the effect of the washings on treated and control nets (* data omitted due to insufficient number of mosquitoes)

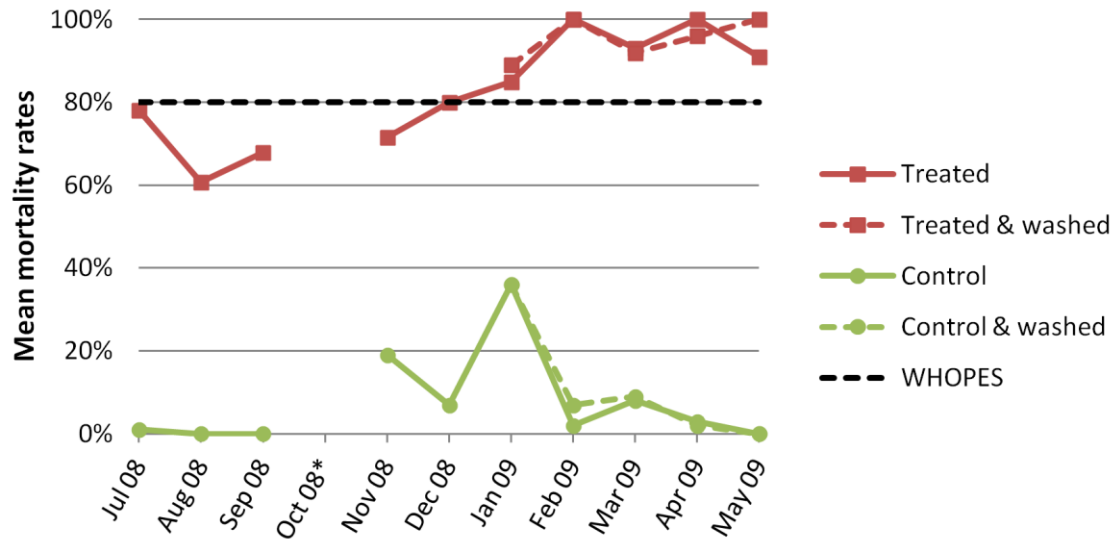


Figure 4.5 : Development of mean mortality rates (24 h post-exposure) after 3 min bioassay test for *An. gambiae* Kisumu-susceptible strain over a 12-month experimental hut trial in the M'Bé station, central Côte d'Ivoire, including the effect of the washings on treated and control nets (*data omitted due to insufficient number of mosquitoes)

4.5. Discussion

According to WHOPEs guidelines [18], a LLIN is expected to retain biological activity (i.e. KD \geq 95 % and/or mortality \geq 80 %) for at least 20 standard WHO washes under laboratory conditions using an *An. gambiae* Kisumu-susceptible strain. Laboratory investigations presented here with ICON[®] Maxx-treated nets (polyester and polyethylene) revealed considerably lower biological activity well before 20 washings. Indeed, only the impregnated polyethylene net was above the WHOPEs threshold with a mean KD of 98.0 % prior to the first washing. After five washings, however, the mean KD dropped below the 95 % benchmark. All other bioassays with the Kisumu-susceptible strain showed an efficacy below 95 % KD and below 80 % mortality. Efficacy gradually decreased with the number of washings. Interestingly though, the dynamics of mortality showed a slight recovery of efficacy, but after five and 10 washings, ICON[®] Maxx activity decreased continuously for both net types. The current results are in contrast to findings observed in previous WHO trials where ICON[®] Maxx met established efficacy criteria [16].

What are possible explanations for the low efficacy of ICON[®] Maxx observed in the laboratory in the present study? A first explanation could be variability in insecticide loading following net treatment. It is conceivable that squares of netting sampled for bioassay did not contain the full recommended dose of lambda-cyhalothrin and as such demonstrated reduced efficacy in the laboratory. Whilst the impact of this may be seen in the laboratory, it is unlikely to have an effect under field conditions where an effective dose may be acquired by a mosquito given that mosquitoes may search and contact large areas of a treated net in search of a host [29].

Another factor to be considered is the repellent effect of pyrethroids on mosquitoes, which is widely acknowledged and has previously been confirmed in a hut trial in which the total number of mosquitoes caught in control huts was much higher than in the test huts [30]. Indeed, the repellent effect is pronounced in the WHO cone test, as a large surface area within the cone is not covered by the net, and hence mosquitoes may not be in contact with the insecticides for the whole 3 min period. This hypothesis is supported by studies on another pyrethroid-treated netting material, PermaNet 2.0[®] (Vestergaard-Fraansen), where 20 standard washes revealed mortality of 100 % using WHO cylinders [16] but lower values (81.8-87.1 %) when using WHO cones [6,31]. In view of these results, data derived from multicentre trials comparing cones and cylinders for net bioassays may shed new light on this issue. While the use of cones is standard to WHOPES guidelines [18], the use of ball/wire frames or cylinders is a deviation of the recommended WHOPES phase I evaluation procedure. The current results call for a review of existing WHOPES evaluation procedures.

The subsequent 12-month experimental hut trial in central Côte d'Ivoire showed that, despite the high levels of pyrethroid resistance in the local malaria vectors [19,20], ICON[®] Maxx yielded high rates of mosquito deterrence, induced exophily and reduced blood-feeding against free-flying mosquito populations. Baseline cone bioassays showed KD and mortality rates close to the WHOPES cut-off values (94.3 % and 78.1 %, respectively). Although both KD and mortality rates somewhat decreased within the first six months of the trial, both measures were consistently above the WHOPES predefined

thresholds in the second half of the trial after half of the nets were washed once (to mimic the local context as nets are usually washed every six months). These entomological features are likely to have a positive impact in reducing malaria transmission [32].

A crucial point for consideration of reduced mortality in the experimental hut trial is pyrethroid resistance of the local *An. gambiae* mosquito population as confirmed in the bioassays, and further results from a recent study carried out in the same site [19] and another experimental hut setting in close proximity [20]. Additional studies have been launched to fully characterize this pyrethroid-resistant *An. gambiae* s.s. field population, by pursuing gene expression studies.

4.6. Conclusion

In the current study, ICON[®] Maxx-treated nets did not meet WHOPES cut-off criteria under laboratory conditions, and hence the findings reported here are in contrast to previous results [16]. However, under semi-natural conditions, nets treated with ICON[®] Maxx yielded high rates of mosquito deterrence, induced exophily and mortality, and reduced blood-feeding despite a high level of pyrethroid resistance in the local *An. gambiae* population. Hence, it is conceivable that nets treated with ICON[®] Maxx considerably impact on malaria transmission. The present findings highlight the need for field evaluations, including detailed insecticide resistance characterisation of the local mosquito fauna. Standardized laboratory test methods warrant continues monitoring and evaluation.

4.7. Conflict of interest statement

This study received financial support from Syngenta Crop Protection. The study design, data collection and analysis, decision to publish and preparation of the manuscript was under the responsibility of the scientists from the different research institutions. All authors declare that they have no conflict of interest. MSW, ET and JU are the guarantors of the paper.

4.8. Authors' contributions

MSW carried out the laboratory investigation and drafted the manuscript. ET and JD carried out the experimental hut trial, performed the pyrethroid resistance testing, conducted the statistical analysis and assisted in drafting the manuscript. BGK conceived the study design, coordinated the laboratory investigation and assisted with the statistical analysis. CN coordinated the experimental hut trial and assisted with the data analysis. PM analysed the field data and assisted with the manuscript revision. AMA coordinated the laboratory investigation and logistics for the experimental hut trial. JU was the overall study coordinator and contributed to the interpretation of the data and manuscript writing and revision. All authors read and approved the final manuscript.

4.9. Acknowledgements

We would like to thank Nestor Kesse Bli, Fidel Bassa Kouakou, Alou Ludovic Attoua, Abou Bacar Koné, Céline Yobo and Kabran Jean-Paul for their indispensable support and technical assistance during the laboratory investigation and the field work. Particular thanks are addressed to the village authorities of M'Bé and the volunteer sleepers. We also thank Sarah Barry and Paul Johnson for helpful discussions on the GLMM analysis.

4.10. References

1. Lengeler C: **Insecticide-treated bed nets and curtains for preventing malaria.** *Cochrane Database Syst Rev* 2004, CD000363.
2. Yukich JO, Lengeler C, Tediosi F, Brown N, Mulligan JA, Chavasse D, Stevens W, Justino J, Conteh L, Maharaj R, *et al*: **Costs and consequences of large-scale vector control for malaria.** *Malar J* 2008, **7**:258.
3. Yukich JO, Zerom M, Ghebremeskel T, Tediosi F, Lengeler C: **Costs and cost-effectiveness of vector control in Eritrea using insecticide-treated bed nets.** *Malar J* 2009, **8**:51.
4. Lines J: **Mosquito nets and insecticides for net treatment: a discussion of existing and potential distribution systems in Africa.** *Trop Med Int Health* 1996, **1**:616-632.
5. Tami A, Mubyazi G, Talbert A, Mshinda H, Duchon S, Lengeler C: **Evaluation of Olyset[™] insecticide-treated nets distributed seven years previously in Tanzania.** *Malar J* 2004, **3**:19.
6. Graham K, Kayedi MH, Maxwell C, Kaur H, Rehman H, Malima R, Curtis CF, Lines JD, Rowland MW: **Multi-country field trials comparing wash-resistance of PermaNet[™] and conventional insecticide-treated nets against anopheline and culicine mosquitoes.** *Med Vet Entomol* 2005, **19**:72-83.
7. Kayedi MH, Lines JD, Haghdoost AA, Behrahi A, Khamisabadi K: **Entomological evaluation of three brands of manufactured insecticidal nets and of nets conventionally treated with deltamethrin, after repeated washing.** *Ann Trop Med Parasitol* 2007, **101**:449-456.
8. Lindblade KA, Dotson E, Hawley WA, Bayoh N, Williamson J, Mount D, Olang G, Vulule J, Slutsker L, Gimnig J: **Evaluation of long-lasting insecticidal nets after 2 years of household use.** *Trop Med Int Health* 2005, **10**:1141-1150.
9. Gimnig JE, Lindblade KA, Mount DL, Atieli FK, Crawford S, Wolkon A, Hawley WA, Dotson EM: **Laboratory wash resistance of long-lasting insecticidal nets.** *Trop Med Int Health* 2005, **10**:1022-1029.
10. Malima R, Magesa S, Tungu P, Mwingira V, Magogo F, Sudi W, Mosha F, Curtis C, Maxwell C, Rowland M: **An experimental hut evaluation of Olyset[®] nets**

- against anopheline mosquitoes after seven years use in Tanzanian villages.**
Malar J 2008, **7**:38.
11. Roll Back Malaria Partnership: **The Global Malaria Action Plan: For a Malaria-Free World** (available at: <http://www.rollbackmalaria.org/gmap/gmap.pdf>; accessed: 26 February 2012).
 12. Enayati A, Hemingway J: **Malaria management: past, present, and future.** *Annu Rev Entomol* 2010, **55**:569-591.
 13. malERA Consultative Group on Vector Control: **A research agenda for malaria eradication: vector control.** *PLoS Med* 2011, **8**:e1000401
 14. Wise J: **Drive to produce more long-lasting insecticidal mosquito nets for malaria.** *Bull World Health Organ* 2004, **82**:884-886.
 15. Miller JM, Korenromp EL, Nahlen BL, Steketee RW: **Estimating the number of insecticide-treated nets required by African households to reach continent-wide malaria coverage targets.** *JAMA* 2007, **297**:2241-2250.
 16. WHO: **Report of the 11th WHOPES Working Group Meeting. Review of Spinosad 7.48 % DT, Netprotect[®], Duranet[®], Dawaplust[®], Icon[®] maxx.** Geneva, World Health Organization, 10-13 December 2007.
WHO/HTM/NTD/WHOPES/2008.1
 17. Syngenta: **ICON Maxx: Long-Lasting Treatment for Mosquito Nets and Curtains.** Available at: <http://www.syngenta.com/global/corporate/SiteCollectionDocuments/pdf/publications/products/broschure-icon-maxx.pdf>; accessed: 26 February 2012).
 18. WHO: **Guidelines for Laboratory and Field Testing of Long-Lasting Insecticidal Mosquito Nets.** Geneva: World Health Organization; 2005 (WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/200511).
 19. Koudou BG, Koffi AA, Malone D, Hemingway J: **Efficacy of PermaNet[®] 2.0 and PermaNet[®] 3.0 against insecticide-resistant *Anopheles gambiae* in experimental huts in Côte d'Ivoire.** *Malar J* 2011, **10**:172.
 20. Koffi AA, Alou LPA, Adja MA, Koné M, Chandre F, N'Guessan R: **Update on**

- resistance status of *Anopheles gambiae s.s.* to conventional insecticides at a previous WHOPEs field site, “Yaokoffikro”, 6 years after the political crisis in Côte d’Ivoire.** *Parasit Vectors* 2012, **5**:68.
21. Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson MS, Darriet F, Berge JB, Devonshire AL, Guillet P, Pasteur N, Pauron D: **Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in the major malaria vector *Anopheles gambiae s.s.*** *Insect Mol Biol* 1998, **7**:179-184.
 22. Darriet F, N’Guessan R, Koffi AA, Konan L, Doannio JMC, Chandre F, Carnevale P: **Impact of the resistance to pyrethroids on the efficacy of impregnated bednets used as a means of prevention against malaria: results of the evaluation carried out with deltamethrin SC in experimental huts.** *Bull Soc Pathol Exot* 2000, **93**:131-134.
 23. N’Guessan R, Darriet F, Guillet P, Carnevale P, Traore-Lamizana M, Corbel V, Koffi AA, Chandre F: **Resistance to carbosulfan in *Anopheles gambiae* from Ivory Coast, based on reduced sensitivity of acetylcholinesterase.** *Med Vet Entomol* 2003, **17**:19-25.
 24. Koudou BG, Malone D, Hemingway J: **Village scale testing of PermaNet® 2.0 and PermaNet® 3.0 to establish insecticide resistance breaking efficacy against *An. gambiae s.s.*** Liverpool: Liverpool School of Tropical Medicine; 2011 (Interim report, ESAC meeting).
 25. Fanello C, Petrarca V, della Torre A, Santolamazza F, Dolo G, Coulibaly M, Alloueche A, Curtis CF, Toure YT, Coluzzi M: **The pyrethroid knock-down resistance gene in the *Anopheles gambiae* complex in Mali and further indication of incipient speciation within *An. gambiae s.s.*** *Insect Mol Biol* 2003, **12**:241-245.
 26. Darriet F, N’Guessan R, Hougard JM, Traoré-Lamizana M, Carnevale P: **Un outil indispensable à l’évaluation des insecticides: les cases-pièges.** *Bull Soc Pathol Exot* 2002, **95**:299-303.
 27. Mattingly PF: **The Mosquitoes of Ethiopian Region.** London: Sutcliffe ED; 1971.

28. Bates DM, Sarkar D: **lme4: Linear Mixed-Effects Models Using Eigen and S4**. R Package Version 09975-12; 2007.
29. Oxborough RM, Mosha FW, Matowo J, Mndeme R, Feston E, Hemingway J and Rowland M. **Mosquitoes and bednets: testing the spatial positioning of insecticide on nets and the rationale behind combination insecticide treatments.** *Ann Trop Med Parasitol* 2008, **102**:717–727.
30. Debboun M, Frances SP, Strickman DA: **Insect repellents; principles, methods, and uses.** United States: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2006.
31. WHO: **Report of the Seventh WHOPES Working Group Meeting.** Geneva: World Health Organization; 2004 (WHO/CDS/WHOPES/2004.8).
32. Henry MC, Assi SB, Rogier C, Dossou-Yovo J, Chandre F, Guillet P, Carnevale P: **Protective efficacy of lambda-cyhalothrin treated nets in *Anopheles gambiae* pyrethroid resistance areas of Côte d'Ivoire.** *Am J Trop Med Hyg* 2005, **73**:859-864.

5. Micro-encapsulated pirimiphos-methyl shows high insecticidal efficacy and long residual activity against pyrethroid-resistant malaria vectors in central Côte d'Ivoire

Emile S. Tchicaya^{a,b}, Christian Nsanzabana^{c,d}, Thomas A. Smith^{e,f}, Jennifer Donzé^g, Yao Tano^b, Pie Müller^{e,f}, Olivier J. T. Briët^{e,f}, Jürg Utzinger^{e,f}, and Benjamin G. Koudou^{a,b,h1}

^aDépartement Environnement et Santé, Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, Abidjan 01, Côte d'Ivoire; ^bUnité de Formation et de Recherche Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan 22, Côte d'Ivoire; ^cCentre for Tropical Medicine, Nuffield Department of Clinical Medicine, University of Oxford, Oxford, UK; ^dWorld Wide Antimalarial Resistance Network (WWARN), Oxford, UK; ^eDepartment of Epidemiology and Public Health, Swiss Tropical and Public Health Institute, CH-4002 Basel, Switzerland; ^fUniversity of Basel, CH-4003 Basel, Switzerland; ^gDepartment of Parasitology, University of Neuchâtel, CH-2000 Neuchâtel, Switzerland; ^h Centre for Neglected Tropical Diseases, Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool L3 5QA, United Kingdom.

¹ To whom correspondence should be addressed: Benjamin G. Koudou, Centre for Neglected Tropical Diseases, Liverpool School of Tropical Medicine, Pembroke Place, Liverpool L3 5QA, United Kingdom, E-mail: G.B.Koudou@liv.ac.uk; Phone: +44 744 804-1814

This paper has been prepared for submission to Malaria Journal

5.1. Abstract

Background

The wide scale implementation of insecticide-treated bed nets and indoor residual spraying (IRS) has contributed to the dramatic decrease of malaria morbidity and mortality in sub-Saharan Africa over the last decade. Due to increasing resistance in *Anopheles gambiae* sensu lato mosquitoes to dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT) and pyrethroids, alternative insecticide formulations for IRS with long-lasting residual activity are required to sustain the gains obtained in most malaria endemic countries

Methods

Three experimental capsule suspension formulations (CS) of the organophosphate pirimiphos-methyl were evaluated together with Actellic 50 EC, an emulsifiable concentrate (EC) of pirimiphos-methyl, and the pyrethroid Icon 10 CS, a lambda-cyhalothrin CS formulation, in an experimental hut study. The formulations were tested on two types of surfaces: mud and cement. The 12-month long study was carried out in Bouaké, Central Côte d'Ivoire where *An. gambiae* shows high levels of resistance against pyrethroids, DDT and carbamates. Residual activity was also tested in cone bioassays.

Results

One of the CS formulations of pirimiphos-methyl CS BM outperformed all other formulations tested. On cement surfaces, the odds ratios of overall insecticidal effect on *An. gambiae* s.l. of pirimiphos-methyl CS BM compared to Actellic 50 EC were 1.4 (95%CI: 1.2 – 1.7), 5.6 (95%CI: 4.4 – 7.2), and 3.6 (95%CI: 3.0 – 4.4), for the first three month, second three months and last six months of follow-up, respectively. On mud surfaces, these odds ratios were 2.5 (95%CI: 1.9 – 3.3), 3.5 (95%CI: 2.7 – 4.5), and 1.7 (95%CI: 1.4 – 2.2). On cement, the residual activity in cone test of Actellic 300 CS was similar to that of lambda-cyhalothrin and for both treatments, mortality of susceptible KISUMU laboratory strain was not significantly below the WHO pre-set threshold of 80% for 30 weeks after spraying. Residual activity was shorter on mud surfaces, with mortality on pirimiphos-methyl CS BM and lambda-cyhalothrin treated surfaces first being below 80% 25 weeks post treatment.

Conclusion

Capsule suspension formulations of pirimiphos-methyl are promising alternatives for IRS that demonstrate shows prolonged insecticidal effect and residual activity against malaria mosquitoes.

Keywords: Malaria, insecticide resistance, indoor residual spraying, organophosphates, *Anopheles gambiae*, hut trial.

5.2. Background

Long-lasting insecticidal nets (LLINs) and indoor residual spraying (IRS) are the key interventions of current malaria vector control [1-3]. While IRS acts mainly by killing blood engorged mosquitoes that may be infected with the malaria parasite and thus provides protection to the wider community, LLINs primarily provide personal protection but do also show a community effect as they also kill host seeking mosquitoes. IRS using dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT) was the mainstay of the first global malaria eradication campaign in the 1950s and 1960s [4, 5] and is, among the WHO recommended insecticides for IRS [6]. However, due to concerns of its safety for the environment, alternatives are being sought to replace DDT [7]. Moreover, spread of insecticide resistance against DDT and pyrethroids across sub-Saharan Africa pose a threat to insecticide-based vector control interventions [8, 9]. Available alternatives to DDT are carbamates and organophosphates. However, these formulations that are short-lived. Therefore, new formulations with alternative active ingredients and prolonged activity are urgently needed. A promising strategy is the re-purposing of existing insecticides not used in public health together with the development of improved longer lasting formulations using microencapsulation. A prominent candidate resulting from this strategy is microencapsulation of pirimiphos-methyl [10-13]. Here, results from an experimental hut trial that compared the efficacy and residual activity of a lambda-cyhalothrin capsule suspension (CS) and four pirimiphos-methyl formulations, including an emulsifiable concentrate (EC) and three different CS formulations are reported. The study was carried out in central Côte d'Ivoire where *Anopheles* mosquitoes show high levels of resistance to DDT, pyrethroids and carbamates [14].

5.3. Methods

Study site

The study was conducted in central Côte d'Ivoire at the field station of the Institute Pierre Richet in the M'Bé valley near Bouaké (5.209963° W, 7.970241° N). The region is a climatic transition zone with two or four seasons depending on the year. The dry season, marked by the harmattan, extends from November to March. The rainy season is characterized by two rainfall maxima, one in June and another in September. The average annual rainfall is between 1,000 mm and 1,320 mm, and was 1,370 mm in 2008. The temperature varies little

throughout the year, with averages of 26 to 28 ° C. The annual average relative humidity is between 75 and 90%. The hydrographic network is dense, consisting of Bandama and N'Zi rivers. The M'Bé valley is a rice growing area providing suitable breeding sites for anthropophilic mosquitoes. The majority of the *An. gambiae* sensu lato mosquitoes found in the area are highly resistant to DDT, pyrethroids and carbamates [14, 15]. Insecticide resistance is likely through metabolic mechanisms and target-site insensitivity (i.e. L1014F *kdr*) [14].

Experimental huts

Twenty-four experimental huts were built following the design of typical West African-style experimental huts [6- 16] comprising a sleeping room, into which wild mosquitoes can enter through window slits that limit their escape and a veranda trap, into which mosquitoes could enter from the sleeping room. From 12 huts, the walls of the room were made of concrete bricks coated with cement, and for the other 12 huts, the walls were wood structures coated in dry mud (locally called “banco”) reflecting local housing constructions [17, 18]. These two wall types that have different porosity and alkaline characteristics. The huts were covered with corrugated iron roofs and the ceiling consisted of polyethylene sheeting covered in palm thatch.

Insecticide treatments

The insecticide formulations were produced and provided by Syngenta Crop Protection AG, and included Pirimithos-methyl 50% EC (Actellic 50 EC), Pirimithos-methyl AA 30% CS, Pirimithos-methyl B 30% CS, Pirimithos-methyl BM 30% CS, and Lambda-cyhalothrin 10% CS (ICON 10 CS). All pirimiphos-methyl treatments were applied at a target application rate of 1 g/m². Lambda-cyhalothrin CS, included as a positive control, was applied at the target application rate of 0.025 g/m². For each treatment arm (formulation combined with either mud or cement wall surface) two huts were treated. An additional four huts (two mud and two cement walled huts) served as negative controls, making a total of 24 huts.

The huts were randomly allocated to insecticide treatments and their wall surfaces and palm thatch ceilings sprayed at an application rate of 35 ml per m² with an aqueous solution of the above insecticides using a Hudson X-pert compression sprayer (HD Hudson Manufacturing Company, USA) without a control valve. Spraying was carried out by a single trained spray man in September 2008.

Experimental procedure

The experimental procedure followed the World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES) guidelines for testing mosquito adulticides for IRS and treatment of mosquito nets [19]. On trapping night, volunteer sleepers entered the experimental huts at 6 pm and remained inside until 6 am the next morning. The volunteers were rotated through the huts. Trapping nights were scheduled on night 1, 3, 5, 8, 10, 12, 15 and so on following this pattern. In order to measure the insecticidal efficacy of the IRS treatments, every morning at 6 am, mosquitoes were collected from the rooms and the verandas and transferred to an insectary in Bouaké where the mosquitoes were scored as either dead or alive, and fed or unfed. Survivors were placed in small plastic cups and provided with 10% honey solution, and mortality was recorded after a 24 hours holding period. All mosquitoes caught were identified to genus (and where possible to species) level using morphological identification keys [20]. A subsample of specimens identified as *An. gambiae* s.l. was further determined using the diagnostic polymerase chain reaction (PCR) developed by Santolamezza and colleagues [21]. Template deoxyribonucleic acid (DNA) was extracted from specimens dried over Silica gel following the Livak protocol [22].

Residual activity

The residual activity of the IRS treatments was monitored on weeks 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 39, 42, 45 and 49 post treatment using World Health Organization (WHO) plastic cones placed on treated surfaces, exposing female mosquitoes for 30 minutes and recording 24 hour mortality, according to WHO guidelines [19]. Replicate arms were tested on alternate testing rounds: e.g. one cement hut with Actellic 50 was tested on weeks 1, 10, 20, 30, 39, and 45 and the other cement hut with Actellic 50 was tested on weeks 5, 15, 25, 35, 42, and 49. Assays were run using susceptible KISUMU *An. gambiae* s.s. mosquitoes. In the insectary, the larvae were fed with Mikromin fish food (Tetra, Germany) and reared to imagines and used in the tests two to five days post eclosure from the pupae.

Volunteer perception of insecticide formulations

Volunteer sleepers were interviewed by social scientists using a pre-tested questionnaire about their perception of insecticide formulations, characteristics of the odor, and whether the product had an influence on their sleep quality. Questionnaires were filled in twice daily, once before volunteer sleepers entered the hut and then again the next morning after mosquito collection was completed.

Ethical considerations

This study received ethical approval from the Ministry of Health in Côte d'Ivoire through the national malaria control programme. As most volunteer sleepers were illiterate informed consent was received orally. Prior to enrolment to the study it was ensured that all volunteer sleepers were vaccinated against yellow fever. During the trial they were also treated with artesunate plus amodiaquine to prevent malaria and medically supervised throughout the study and six months after. The volunteers received a small financial compensation for their participation and had the right to withdraw from the study at any time without consequence.

Data analysis

All data were double-entered and cross-checked using EpiInfo version 6.4 (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA). The mosquito data from the experimental huts were summarized per treatment arm in terms of crude rates of standard primary outcomes (crude hut entry rate, crude exit rate, crude feeding rate and crude mortality rate) for three time periods: Period 1: months 1 – 3, corresponding to 40 trapping nights; Period 2: months 4 – 6, corresponding to 39 trapping nights; and Period 3: months 7 – 12, corresponding to 77 trapping nights.

A series of Bayesian statistical models were used to estimate the effect of the insecticide formulations on deterrence from hut entry, induced exophily, feeding inhibition, killing efficacy, personal protection and overall insecticidal effect [23]. This was done separately for each formulation, wall type, and time period. Details of the definitions of these efficacy measures and how they are calculated are given in Additional file 9. The Bayesian approach directly provided both point and interval estimates of the insecticide efficacy measures over time, appropriately allowing for day-to-day fluctuations in mosquito density and background mortality in controls. Since it is reasonable to presume that the insecticides' efficacies decay over time [Additional file 11], and that the size of the host-seeking mosquito populations fluctuates strongly over the year [Additional file 12], failure to allow for day-to-day variation in the mosquito population could potentially lead to strong biases (e.g. if the mosquito density peaked towards the end of the period of interest, due to the decayed insecticide, this would underestimate the efficacy estimate for that period). Prior distributions were defined that constrained these estimates to be between zero and unity and comparison between parameters was made by comparing the 95% credible intervals. Summaries of experimental hut data, crude analysis and Bayesian analysis are provided as supplementary information in

[Additional file 9 10]. Descriptive statistics, Bayesian statistical models and graphs were generated in the statistical software R version 2.14.1 [24].

5.4. Results

Mosquito species and abundance

From September 2008 to August 2009, a total of 77,948 mosquitoes were collected during 7,488 man-night catches by the human volunteer sleepers across all 24 experimental huts (Table 5.1). *Anopheles gambiae* s.l. was the predominant mosquito taxon (63.9%). Molecular diagnostics show that from 120 screened *An. gambiae* s.l. specimens 89% were *Anopheles gambiae* sensu stricto. The remaining *Anopheles* specimens were *Anopheles coluzzi* (11%). Other anopheline species collected were *Anopheles funestus* (3.3%) and other not further identified *Anopheles* species (2.7%). The remaining 30.2% of the mosquitoes caught were *Mansonia africana*, *Mansonia uniformis*, *Culex* spp. or *Aedes* spp.

Effects of insecticide on mosquitoes

Crude rates of standard primary outcomes for two huts per treatment arm pooled are depicted graphically in Figure 5.2. The entry rates (Figure 5.2a), the proportion that exited (Figure 5.2b), the proportion found to be fed (Figure 5.2c) and the proportion killed (Figure 5.2d) all varied considerably between time periods. Crude rates per hut are depicted graphically as supplementary information in Additional file 1, Additional file 2, Additional file 3, and Additional file 4 for *An. gambiae* s.s., *An. funestus*, other anophelines, and other genera, respectively. Of the primary outcomes, the entry rate showed the most variation between huts of the same treatment arm.

Effects of insecticide expressed in derived summary measures (deterrence from hut entering, induced exophily, blood feeding inhibition, killing, personal protection and insecticidal effect) on *An. gambiae* s.s. are shown in Figure 5.3. For *An. funestus*, and other *Anopheles*, similar figures are available as supplementary information (Additional file 5 and Additional file 6, respectively).

The deterrent effects of lambda-cyhalothrin and pirimiphos-methyl on hut entry of *An. gambiae* s.s. are shown in Figure 5.3a. Whereas lambda-cyhalothrin deterrence was very low and often not significantly different from zero, deterrence was much higher with pirimiphos-methyl, preventing up to 60% of *An. gambiae* s.s. mosquitoes from entering the huts.

Induced exophily showed an inverse relationship with insecticide type as compared to deterrence. Lambda-cyhalothrin induced up to 60% of mosquitoes that entered to exit. In

contrast, induced exophily with pirimiphos-methyl was very low and often not significantly different from zero (Figure 5.3b).

Neither pirimiphos-methyl nor lambda-cyhalothrin prevented many of the mosquitoes that entered from feeding. Lambda-cyhalothrin prevented 5 – 21 % of entered *An. gambiae* s.s. from feeding almost consistently during the year, whereas pirimiphos-methyl only prevented 0 – 12 % of entered *An. gambiae* s.s. from feeding after three months (Figure 5.3c).

However, pirimiphos-methyl showed the strongest lethal effects, with killing of entered *An. gambiae* s.s. being approximately double that of lambda-cyhalothrin (Figure 5.3d).

The proportion of mosquitoes killed in cement huts sprayed with pirimiphos-methyl CS BM was above the WHO pre-set threshold of 80% for the first three months (92%, 95%CI: 90 – 94), was above 70% for the second three month period (74%, 95%CI: 71 – 77) and above 50% for the last period of six months (55%, 95%CI: 52 – 57). In mud huts, the killing efficacy of pirimiphos-methyl CS BM was about 50% during the first three months (51%, 95%CI: 47 – 55) and about half of that during the second three month period (27%, 95%CI: 24 – 30). In contrast, the killing efficacy was much lower for lambda-cyhalothrin, being 58% (95%CI: 55 – 61), 26% (95%CI: 21 – 30) and 15% (95%CI: 13 – 17) in cement huts during Period 1, Period 2 and Period 3, respectively. Similarly, the efficacy was lower in mud huts sprayed with lambda-cyhalothrin. Overall, the decline in killing efficacy was faster in mud huts compared to cement huts, and varied between the different products, with pirimiphos-methyl formulations CS B and CS BM having the highest efficacy for the longest period in both hut types.

Results for personal protection against *An. gambiae* s.s. bites were variable. For example, during Period 1 and Period, personal protection was greater for pirimiphos-methyl formulation CS BM than for lambda-cyhalothrin (Figure 5.3e), but it was inverse during Period 2.

The overall insecticidal effect of CS formulations of pirimiphos-methyl on cement walls was relatively stable over time compared to on mud walls, where the effect was stronger during the first period but dropped faster in the two following periods (Figure 5.3f). On cement, the insecticidal effect of pirimiphos-methyl EC and of lambda-cyhalothrin dropped fast between the first and second three month periods compared to the drop in effect of pirimiphos-methyl CS. On mud, the insecticidal effect of all insecticide formulations was relatively fast.

Figure 5.4 provides a visualization of the overall insecticidal effect on *An. gambiae* s.s. of pirimiphos-methyl formulations relative to lambda-cyhalothrin. For the overall insecticidal effect on *An. gambiae* s.s. —with the exception of CS BM— pirimiphos-methyl was

significantly inferior to lambda-cyhalothrin during the first three months on cement surfaces (Figure 5.4). However, the results were inverse on mud surfaces, pirimiphos-methyl being significantly superior to lambda-cyhalothrin. For the other periods of follow-up, on cement, the overall insecticidal effect of Actellic 50 EC was not significantly different from the effect of lambda-cyhalothrin. However, on mud surfaces, it did outperform lambda-cyhalothrin (Figure 5.4). For the second trimester and last six months, all CS formulations of pirimiphos-methyl outperformed lambda-cyhalothrin (Figure 5.4). When ranking the different formulations the order is: Actellic 50 EC (least good), CS AA, CS B, and CS BM (best). The highest odds ratio relative to lambda-cyhalothrin was estimated for CS BM on mud for the second period, (four to six months) after application, with an odds ratio of 18.4 (95%CI: 10.6 – 48.4). For *An. funestus*, and other *Anopheles*, similar figures are available as supplementary information [Additional file 7 and Additional file 8, respectively].

Figure 5.5 provides a comparison of the overall insecticidal effect on *An. gambiae* s.s. of the CS formulations of pirimiphos-methyl compared to the EC formulation of pirimiphos-methyl. During the first three months on cement surfaces, formulations of CS AA and CS B were inferior to the EC formulation on cement, with the odds ratios being slightly but significantly below one. For the first three months and also for the last six months, on mud surfaces, the median odds ratio for CS AA was higher than one but this was not significant as the credible interval included one. For all other comparisons, the odds ratios for CS formulations were significantly higher than one. Formulation CS BM had generally the highest odds ratios, except on mud surfaces for the last six months, where formulation CS B was somewhat higher.

Residual activity

Residual activity of the insecticide formulations against the susceptible KISUMU strain, as measured by the WHO cone bioassays, did not vary much with surface, with 95% confidence intervals mostly overlapping for matching test rounds and insecticide formulations (Figure 5.6). However, the residual activity was longer on cement surfaces. The observed mortality of KISUMU on cement surfaces treated with lambda-cyhalothrin or the CS BM formulation of pirimiphos-methyl was not significantly below the WHO 80% threshold for the first 30 weeks after application. For pirimiphos-methyl CS A and CS B, this was for the first 20 weeks, and for Actellic 50 EC this was 10 weeks. On mud surfaces, the residual effect was shorter: for pirimiphos-methyl CS BM and lambda-cyhalothrin, mortality was not significantly below 80% for (only) the first 20 weeks. For mud surfaces treated with CS A, CS B and EC

formulations of pirimiphos-methyl, mortality was significantly below 80% 15 weeks after application.

Volunteer perception of insecticide formulations

Differences were found in the perceived strength and odour of the insecticides according to the variants of pirimiphos-methyl and depending on the wall type of the experimental huts [Additional file 13]. On huts constructed from cement bricks, formulations CS B and CS AA were considered the least dangerous, but somewhat less efficient and an odour which was less pleasant. On mud walled huts, formulation CS BM was considered to have the strongest odour and efficiency, but was perceived somewhat more dangerous than the other products.

5.5. Discussion

Currently four classes of insecticides targeting adult mosquitoes are endorsed by WHO for use in IRS: pyrethroids, organochlorines, carbamates and organophosphates [6]. Pyrethroids exhibit low mammalian toxicity in their application and a rapid knock-down effect [25] and the formulations for IRS are relatively long-lasting (over three months) [26]. DDT – the only available organochlorine for IRS – shows rapid knock-down effect and relative longevity but due to resistance and environmental concerns its use in vector control programs is minor [26]. Bendiocarb, representing the carbamates, is also used for IRS, is highly effective and shows little excito-repellency. Yet, bendiocarb has a short residuality and is not a favourable option in areas of long or perennial transmission seasons as multiple applications to cover the whole season. The last class is that of the organophosphates to which pirimiphos-methyl belongs. The organophosphates are similar to the carbamates in their mode of action and are generally also rather short-lived (as found for Actellic 50 EC in the study). While bendiocarb (carbamates) and organophosphates have the downside of showing a short residual life, they may become viable alternatives in areas with a short transmission season as resistance to pyrethroids – and cross-resistance to DDT – becomes wide-spread in *Anopheles* populations threatening the achieved success gained with pyrethroid-treated LLINs and IRS [9]. Microencapsulation of pirimiphos-methyl makes this active ingredient an alternative in areas with pyrethroid resistance where the malaria transmission season is long. On cement walls, both lambda-cyhalothrin and pirimiphos-methyl CS lasted for up to 30 weeks as compared to 10 weeks with the EC formulation, corroborating recent observations in Tanzania [10, 12]. On mud walls, however, residual activity of both lambda-cyhalothrin and pirimiphos-methyl was shorter, suggesting a strong influence of the substrate to which it is applied. It has been

documented before that the persistence of an insecticide depends on a number of factors, including the type of the surface and formulation type. On traditional mud walls, the approximate duration of the residual effect of two organophosphate insecticides (*i.e.*, malathion and fenitrothion) is three months and of DDT is six months [27]. Malathion sprayed on wood may last more than three months, whereas on some mud surfaces it may last for only three weeks [27]. Mud surfaces generally absorb some of the applied insecticide and certain types of mud may also break down insecticides chemically.

The numbers of mosquitoes entering the pirimiphos-methyl-treated huts were lower than with either control or pyrethroid-treated huts, suggesting that the latter deterred mosquitoes from entering. This apparent deterrence was the main driver of the estimated high personal protection effects of the insecticide. In general, organophosphate insecticides are considered to be non-irritant [28] so the observation of deterrence is somewhat surprising, given the low level of excito-repellency observed with pirimiphos-methyl [10] but consistent with hut studies in Benin [29]. Perhaps the make of the experimental hut may explain some of the observed variation.

As blank collections immediately prior to the study suggested little bias between huts, each treatment was randomly assigned to two huts, and data from the two huts that received the same treatment were pooled for the analysis. However, there was considerable variation between huts in numbers of mosquitoes entering (see Additional files 1–4), presumably because house entering depended on the locations of the huts relative to breeding sites and on external environmental features affecting mosquito movement. It would be recommendable for future hut studies to include more replications per arm, or to rotate sprayed panels, in order to reduce any bias in deterrence (from hut entry) estimates due to hut location. In contrast, the hut location did not appear to have had a notable effect on estimates of feeding inhibition, killing or repellency, for which variations between huts were reduced by standardizing hut design.

The effect of IRS on malaria transmission is measured by its overall insecticidal effect [23]. In the present analyses, we computed the overall insecticidal effect conservatively assuming that neither deterrence nor repellency affects mosquito viability.

Overall, taking into account estimated deterrence, repellency, and blood-feeding rates, as well as killing effects, pirimiphos-methyl provided both greater personal protection and a larger overall insecticidal effect against *An. gambiae* s.s. than did the pyrethroid control, on both tested surfaces.

The survival of mosquitoes in control huts showed temporal variation, making it essential to allow for a temporal dimension in the analysis, and to express the killing effect as the insecticidal efficacy (defined as the proportion of mosquitoes killed among those that would have survived in negative control huts). The temporal fluctuations in mortality rates were also observed in the control bioassays and might be explained by the desiccating effects of the harmattan (a dry wind that blows south from the Sahara between December and March). The positive control (lambda-cyhalothrin) also showed greater insecticidal effects on cement than on mud huts, but it killed a much lower proportion of the mosquitoes entering the huts than did pirimiphos-methyl, with a substantial proportion of them diverted into the veranda. Surviving, unfed, mosquitoes were found in pyrethroid-treated huts, indicating that pyrethroid inhibited feeding. Such mosquitoes were very infrequent in pirimiphos-methyl treated huts, where mosquitoes had high blood-feeding rates, in agreement with experimental hut trials when pirimiphos-methyl was applied to bed nets [30].

An alternative to the Bayesian approach applied in the current study would have been to use generalised linear mixed model (GLMM) approaches to calculate mortality and feeding, with only crude adjustment for temporal variations in mosquito densities and insecticidal effects. This would have required plug-in estimates from the GLMMs into the formulae for the insecticide efficacy measures, leading to potentially biased estimates and confidence intervals based on complex approximations.

Conclusions

Capsule suspension formulations of pirimiphos-methyl showed higher efficacy against pyrethroid resistant *Anopheles* mosquitoes than lambda-cyhalothrin CS and extended life span compared to the EC formulation. Pirimiphos-methyl CS is a valuable alternative IRS insecticide, both to replace pyrethroids in areas of pyrethroid resistance and to slow the development of pyrethroid resistance.

5.6. Authors' contributions

EST, AFB, JU and BGK designed experiments. EST, CN, JD, and BGK collected data. EST, CN, TAS, MdHL, CS, OJTB, PM, JU, and BGK analyzed and interpreted data. EST wrote the first draft of the manuscript. AFB, BGK, CN, CS, JU, OJTB, PM, TAS, YT, and revised the manuscript. All authors have read and agreed with the contents of the submitted manuscript.

5.7. Acknowledgements

Our thanks are addressed to researchers, supporting staff and administration from the Institute Pierre Richet for their commitment. Special thanks are addressed to the volunteer sleepers. We thank Syngenta Crop Protection AG for financial support and the Swiss Federal Commission for Fellowships for Foreign Students (CFBEE).

5.8. References

1. Wakabi W: **Africa counts greater successes against malaria.** *Lancet* 2007, **370**:1895-1896.
2. Kleinschmidt I, Schwabe C, Shiva M, Segura JL, Sima V: **Combining indoor residual spraying and insecticide-treated net interventions.** *Am J Trop Med Hyg* 2009, **81**:519-524.
3. Yukich J, D'Acremont V, Kahama J, Swai N, Lengeler C: **Cost savings with rapid diagnostic tests for malaria in low-transmission areas: evidence from Dar Es Salaam, Tanzania.** *Am J Trop Med Hyg* 2010, **83**:61-68.
4. Trigg P, Kondrachine P: **Malaria control in the 1990s.** *Bulletin of the World Health Organization* 1998, **76**:11-16.
5. Najera JA, Gonzalez-Silva M, Alonso PL: **Some lessons for the future from the Global Malaria Eradication Programme (1955-1969).** *PLoS Med* 2011, **8**:e1000412.
6. WHO: *WHO recommended insecticides for indoor residual spraying against malaria vectors.* 2013. http://www.who.int/whopes/Insecticides_IRS_Malaria_25_Oct_2013.pdf
7. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants: *Convention Text. Geneva: United Nations Environment Programme.* 2012. http://www.pops.int/documents/convtext/convtext_en.pdf.
8. Tia E, Akogbeto M, Koffi A, Toure M, Adja AM, Moussa K, Yao T, Carnevale P, Chandre E: **Pyrethroid and DDT resistance of *Anopheles gambiae s.s.* (Diptera:Culicidae) in five agricultural ecosystems from Côte d'Ivoire.** *Bull Soc Pathol Exot* 2006, **99**:278-282.
9. Ranson H, N'Guessan R, Lines J, Moiroux N, Nkuni Z, Corbel V: **Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control?** *Trends Parasitol* 2011, **27**:91-98.
10. Rowland M, Boko P, Odjo A, Asidi A, Akogbeto M, N'Guessan R: **A new long-lasting indoor residual formulation of the organophosphate insecticide pirimiphos methyl for prolonged control of pyrethroid-resistant mosquitoes: an experimental hut trial in Benin.** *PLoS One* 2013, **8**:e69516.
11. Tangena JA, Adiamoh M, D'Alessandro U, Jarju L, Jawara M, Jeffries D, Malik N, Nwakanma D, Kaur H, Takken W, Lindsay SW, Pinder M: **Alternative treatments**

- for indoor residual spraying for malaria control in a village with pyrethroid- and DDT-resistant vectors in the Gambia.** *PLoS One* 2013, **8**:e74351.
12. Oxborough RM, Kitau J, Jones R, Feston E, Matowo J, Mosha FW, Rowland MW: **Long-lasting control of *Anopheles arabiensis* by a single spray application of micro-encapsulated pirimiphos-methyl (Actellic(R) 300 CS).** *Malar J* 2014, **13**:37.
 13. WHOPEs: *Report of the sixteenth WHOPEs working group meeting: WHO/HQ, Geneva; Review of Pirimiphos-methyl 300 CS, Chlorfenapyr 240 SC, Deltamethrin 62.5 SC-PE, Duranet LN, Netprotect LN, Yahe LN, Spinosad 83.3 Monolayer DT, Spinosad 25 Extended release GR.* 2013
 14. Koffi AA, Ahoua Alou LP, Adja MA, Chandre F, Penetier C: **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 Cote d'Ivoire.** *Malar J* 2013, **12**:151.
 15. Winkler MS, Tchicaya E, Koudou BG, Donze J, Nsanzabana C, Muller P, Adja AM, Utzinger J: **Efficacy of ICON[®] Maxx in the laboratory and against insecticide-resistant *Anopheles gambiae* in central Cote d'Ivoire.** *Malar J* 2012, **11**:167.
 16. Koudou GB, Koffi AA, Malone D, Hemingway J: **Efficacy of PermaNet[®] 2.0 and PermaNet[®] 3.0 against insecticide-resistant *Anopheles gambiae* in experimental huts in Côte d'Ivoire.** *Malar J* 2011, **10**:172.
 17. Esse C, Utzinger J, Tschannen AB, Raso G, Pfeiffer C, Granado S, Koudou BG, N'Goran EK, Cisse G, Girardin O *et al*: **Social and cultural aspects of 'malaria' and its control in central Cote d'Ivoire.** *Malar J* 2008, **7**:224.
 18. Fürst T, Raso G, Acka CA, Tschannen AB, N'Goran EK, Utzinger J: **Dynamics of socioeconomic risk factors for neglected tropical diseases and malaria in an armed conflict.** *PLoS Negl Trop Dis* 2009, **3**:e513.
 19. WHO: *Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets.* Geneva, World Health Organisation. WHO/CDS/NTD/WHOPEs/GCDPP/2006.3.
 20. Detinova TS: **Age-grouping methods in Diptera of medical importance with special reference to some vectors of malaria.** *WHO Monogr Ser* 1962, **47**:220 p.
 21. Kornher JS, Livak KJ: **Mutation detection using nucleotide analogs that alter electrophoretic mobility.** *Nucleic Acids Res* 1989, **17**:7779-7784.

22. Livak KJ: **Organization and mapping of a sequence on the *Drosophila melanogaster* X and Y chromosomes that is transcribed during spermatogenesis.** *Genetics* 1984, **107**:611-634.
23. Briet OJ, Smith TA, Chitnis N: **Measurement of overall insecticidal effects in experimental hut trials.** *Parasit Vectors* 2012, **5**:256.
24. R: *A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. 2008. <http://www.R-project.org>.
25. Soderlund DM, Clark JM, Sheets LP, Mullin LS, Piccirillo VJ, Sargent D, Stevens JT, Weiner ML: **Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment.** *Toxicology* 2002, **171**:3-59.
26. Walker K: **Cost-comparison of DDT and alternative insecticides for malaria control.** *Med Vet Entomol* 2000, **14**:345-354.
27. Rozendaal JA: **Vector control. Methods for use by individuals and communities.** WHO Geneva. *World Health Org* 1997:412 p.
28. Guillet P, N'Guessan R, Darriet F, Traore-Lamizana M, Chandre F, Carnevale P: **Combined pyrethroid and carbamate 'two-in-one' treated mosquito nets: field efficacy against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*.** *Med Vet Entomol* 2001, **15**:105-112.
29. Agossa FR, Aikpon R, Azondekon R, Govoetchan R, Padonnou GG, Oussou O, Oke-Agbo F, Akogbeto MC: **Efficacy of various insecticides recommended for indoor residual spraying: pirimiphos methyl, potential alternative to bendiocarb for pyrethroid resistance management in Benin, West Africa.** *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2014, **108**:84-91.
30. Kolaczinski JH, Fanello C, Herve JP, Conway DJ, Carnevale P, Curtis CF: **Experimental and molecular genetic analysis of the impact of pyrethroid and non-pyrethroid insecticide impregnated bednets for mosquito control in an area of pyrethroid resistance.** *Bull Entomol Res* 2000, **90**:125-132.

Table 5.1: Number of mosquitoes collected, stratified by taxa and treatment arm over the 12-month study period (September 2008 to August 2009) in experimental huts at the M'Bé station, near Bouaké in Central Côte d'Ivoire.

Species	Untreated (negative control)		lambda-cyhalothrin ICON 10 CS (positive control)		Pirimiphos-methyl								Total (%)
					Actellic 50 EC		CS AA		CS B		CS BM		
	Brick	Banco	Brick	Banco	Brick	Banco	Brick	Banco	Brick	Banco	Brick	Banco	
<i>An. gambiae</i> s.l.	4,775	5,737	4,969	5,941	3,035	3,601	2,826	4,446	2,407	3,871	3,889	4,278	49,775 (63.9%)
<i>An. funestus</i>	324	300	132	170	116	145	100	223	78	170	114	204	2,076 (2.7%)
Other <i>Anopheles</i>	177	415	238	215	159	257	188	228	103	180	222	204	2,586 (3.3%)
Other genera (<i>Mansonia</i> , <i>Culex</i> , <i>Aedes</i>)	1,628	3,869	959	1,183	1,697	2,297	1,229	2,288	1,276	2,546	1,672	2,867	23,511 (30.2%)
Total	6,904	10,321	6,298	7,509	5,007	6,300	4,343	7,185	3,864	6,767	5,897	7,553	77,948

Figure legends



A



B

Figure 5.1: Experimental huts used in the study located in the M'Bé site, near Bouaké in central Côte d'Ivoire. The experimental huts comprised a sleeping room and a veranda. The walls of the room were either made of concrete bricks coated with cement (A) or wood structures coated in dry mud – locally called “banco” (B).

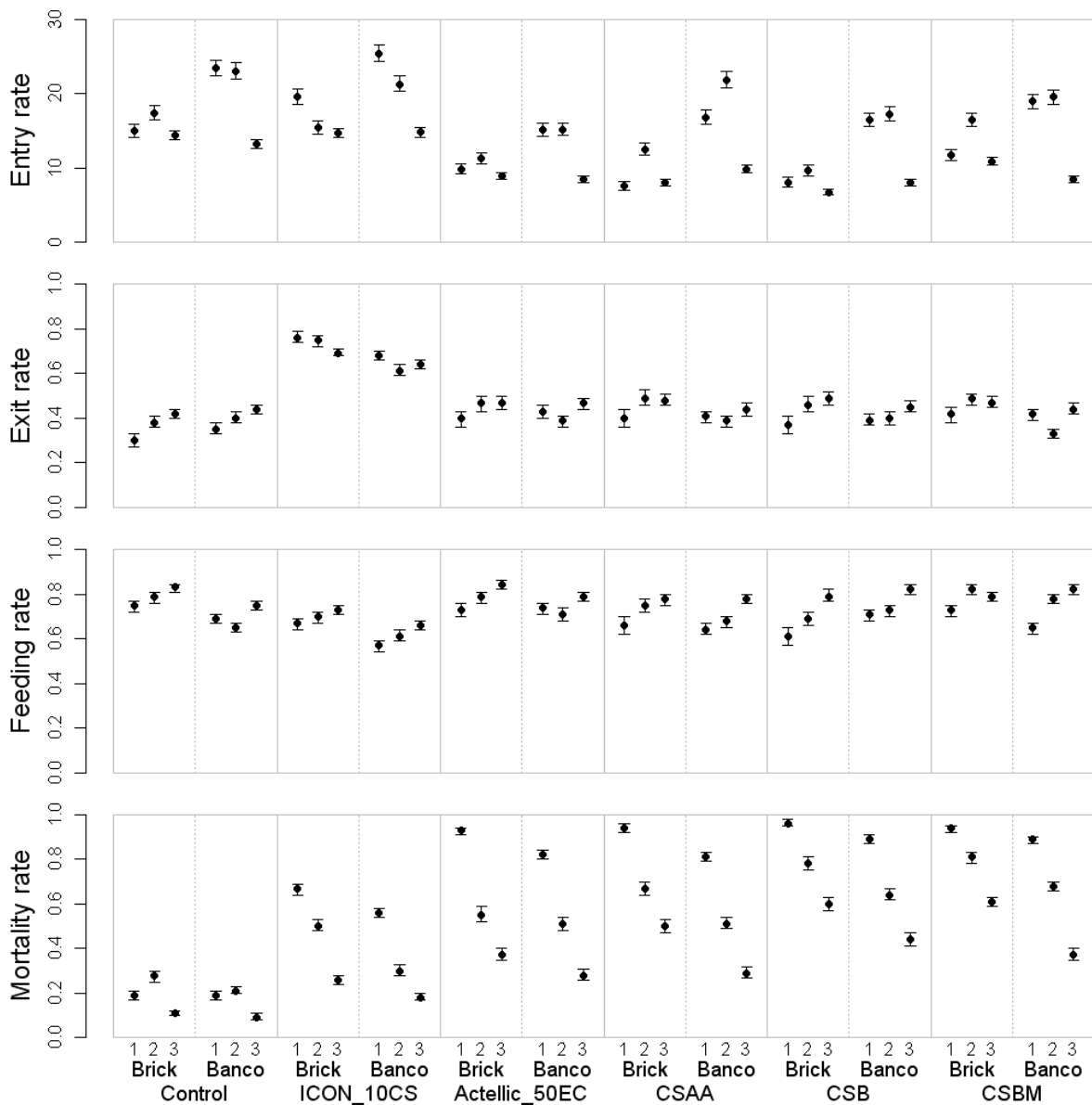


Figure 5.2 : Crude results from experimental hut trials of pirimiphos-methyl and lambda-cyhalothrin on *An. gambiae* s.s. Entry rate, number of mosquitoes per hut per night; exit rate, proportion of mosquitoes found in the veranda trap out of mosquitoes that entered; feeding rate, proportion of mosquitoes that were blood fed out of mosquitoes that entered; mortality rate, proportion of mosquitoes that were found dead or died after 24 hours post collection out of mosquitoes that entered. The first horizontal axis labels refer to the period after spraying, with period 1 (months 0 – 3, corresponding to 40 trapping nights), period 2 (months 4 – 6, corresponding to 39 trapping nights), and period 3 (months 7 – 12, corresponding to 77 trapping nights). The second horizontal axis labels refer to the material of the walls of the huts where ‘brick’ refers to walls from concrete bricks coated with cement and where ‘banco’ refers to wood structures coated in dry mud. The third (bottom) horizontal axis labels refer to the insecticide and formulation: a lambda-cyhalothrin (ICON 10 CS), and four different formulations of pirimiphos-methyl (Actellic 50 EC, CS AA, CS B, and CS BM).

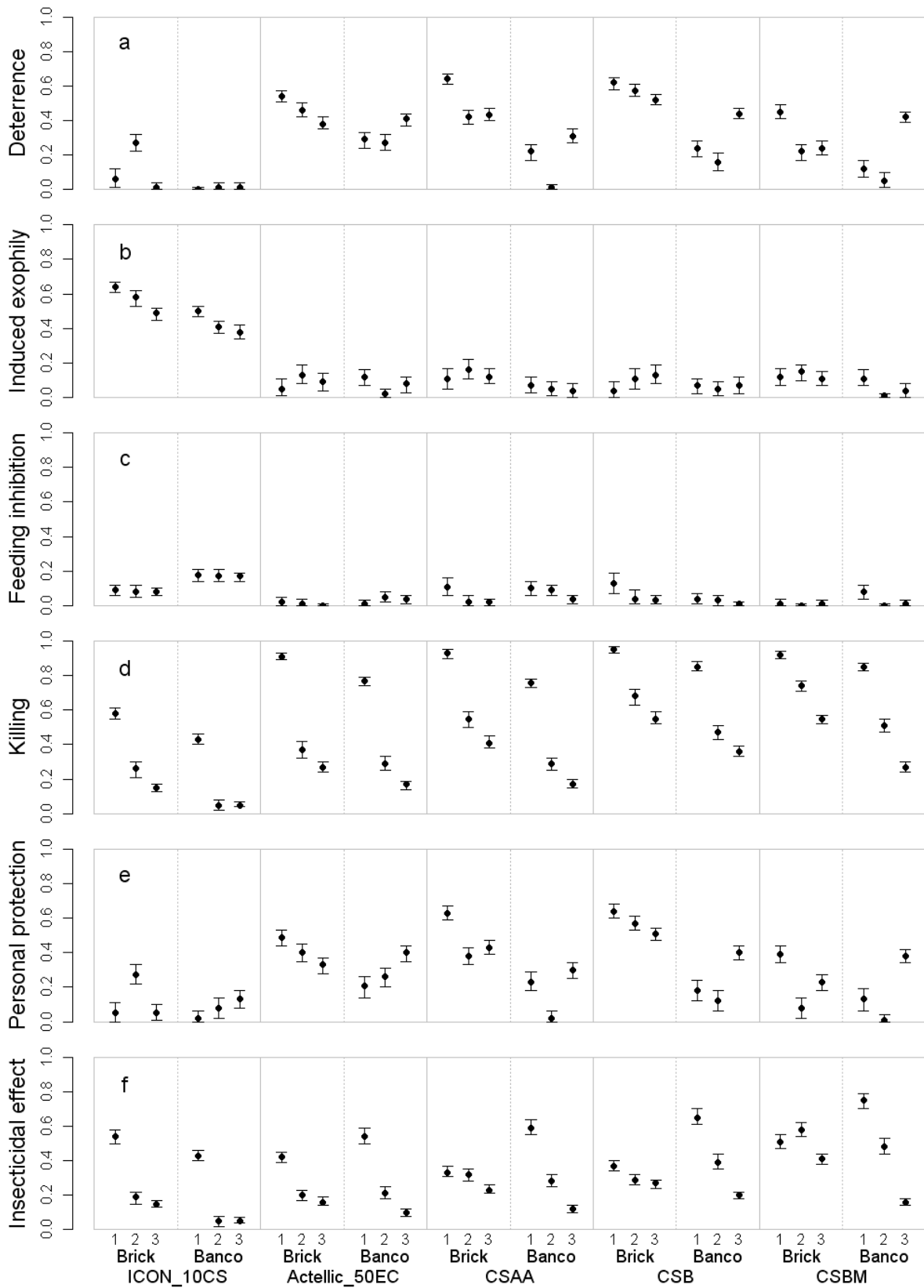


Figure 5.3 : Summary measures of the effects of pirimiphos-methyl and lambda-cyhalothrin on *An. gambiae* s.s.

Points indicated posterior means and error bars indicate 95% credible intervals. The first horizontal axis labels refer to the period after spraying, with period 1 (months 0 – 3, corresponding to 40 trapping nights), period 2 (months 4 – 6, corresponding to 39 trapping nights), and period 3 (months 7 – 12, corresponding to 77 trapping nights). The second

horizontal axis labels refer to the material of the walls of the huts where ‘brick’ refers to walls from concrete bricks coated with cement and where ‘banco’ refers to wood structures coated in dry mud. The third (bottom) horizontal axis labels refer to the insecticide and formulation: a lambda-cyhalothrin (ICON_10CS), and four different formulations of pirimiphos-methyl (Actellic 50 EC, CS AA, CS B, and CS BM).

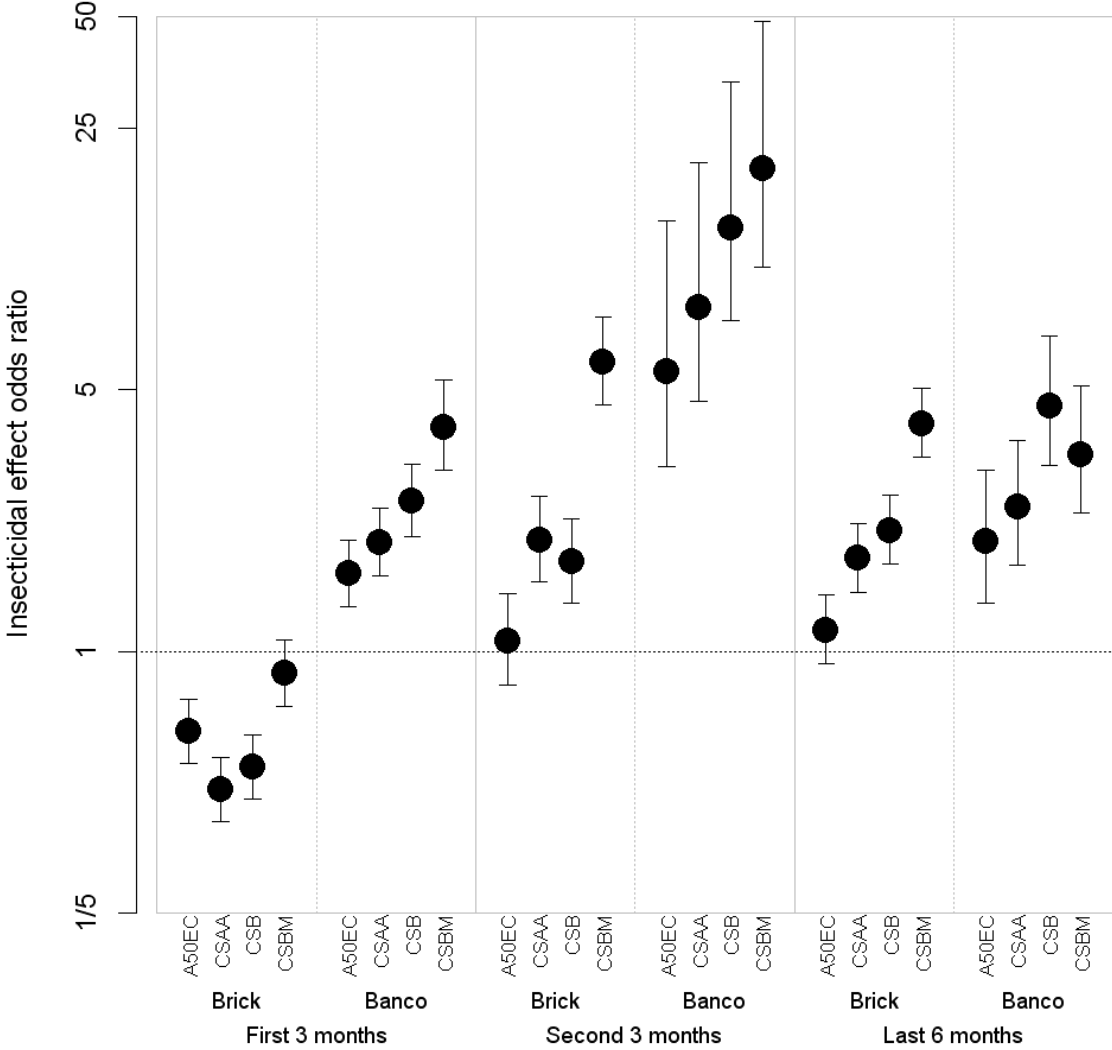


Figure 5.4 : Odds ratio of overall insecticidal effect of pirimiphos-methyl relative to lambda-cyhalothrin on *An. gambiae* s.s.

Points indicate posterior means and error bars indicate 95% credible intervals. The first horizontal axis labels refer to the four different formulations of pirimiphos-methyl (Actellic 50 EC, CS AA, CS B, and CS BM). The second horizontal axis labels refer to the material of the walls of the huts where ‘brick’ refers to walls from concrete bricks coated with cement and where ‘banco’ refers to wood structures coated in dry mud. The third (bottom) horizontal axis labels refer to the period after spraying, with Period 1 (months 1 – 3, corresponding to 40 trapping nights), Period 2 (months 4 – 6, corresponding to 39 trapping nights), and Period 3 (months 7 – 12, corresponding to 77 trapping nights).

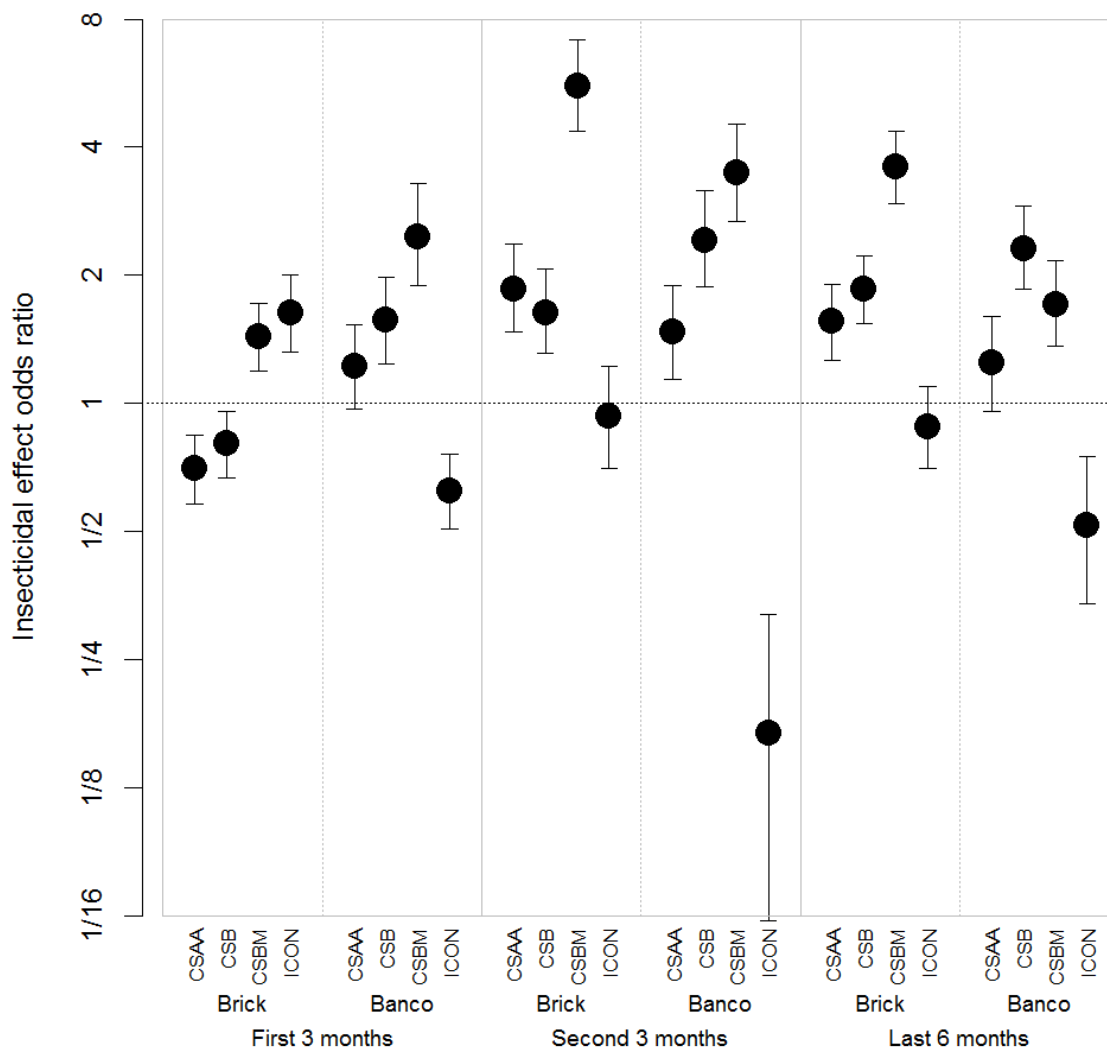


Figure 5.5 : Odds ratio of overall insecticidal effect of pirimiphos-methyl CS and lambda-cyhalothrin relative to pirimiphos-methyl EC (Actellic 50 EC) on *An. gambiae* s.s.

Points indicate posterior means and error bars indicate 95% credible intervals. The first horizontal axis labels refer to the three different CS formulations of pirimiphos-methyl (CS AA, CS B, and CS BM) and lambda-cyhalothrin (Actellic 50 EC). Legend further as in Figure 5.4.

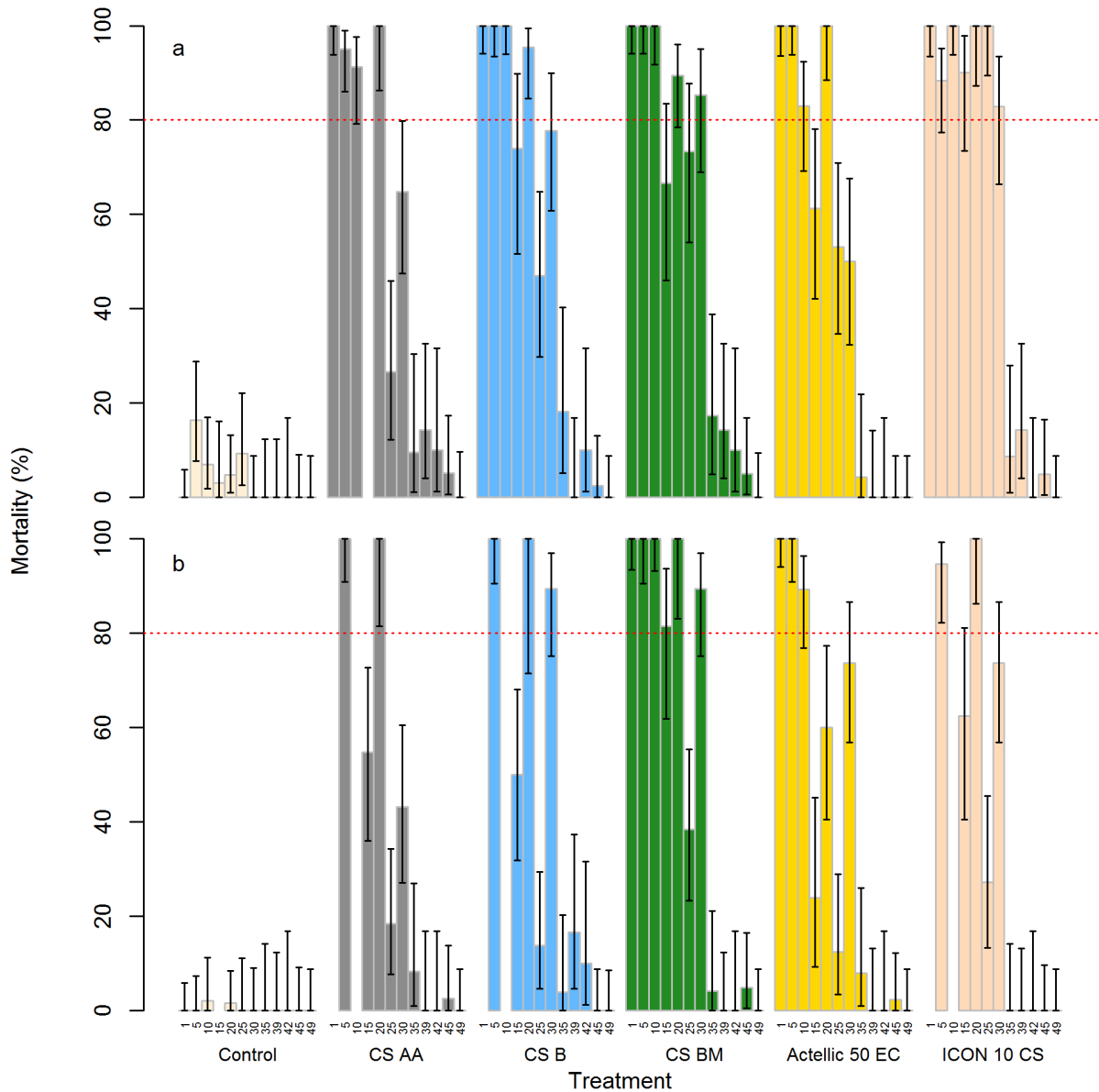
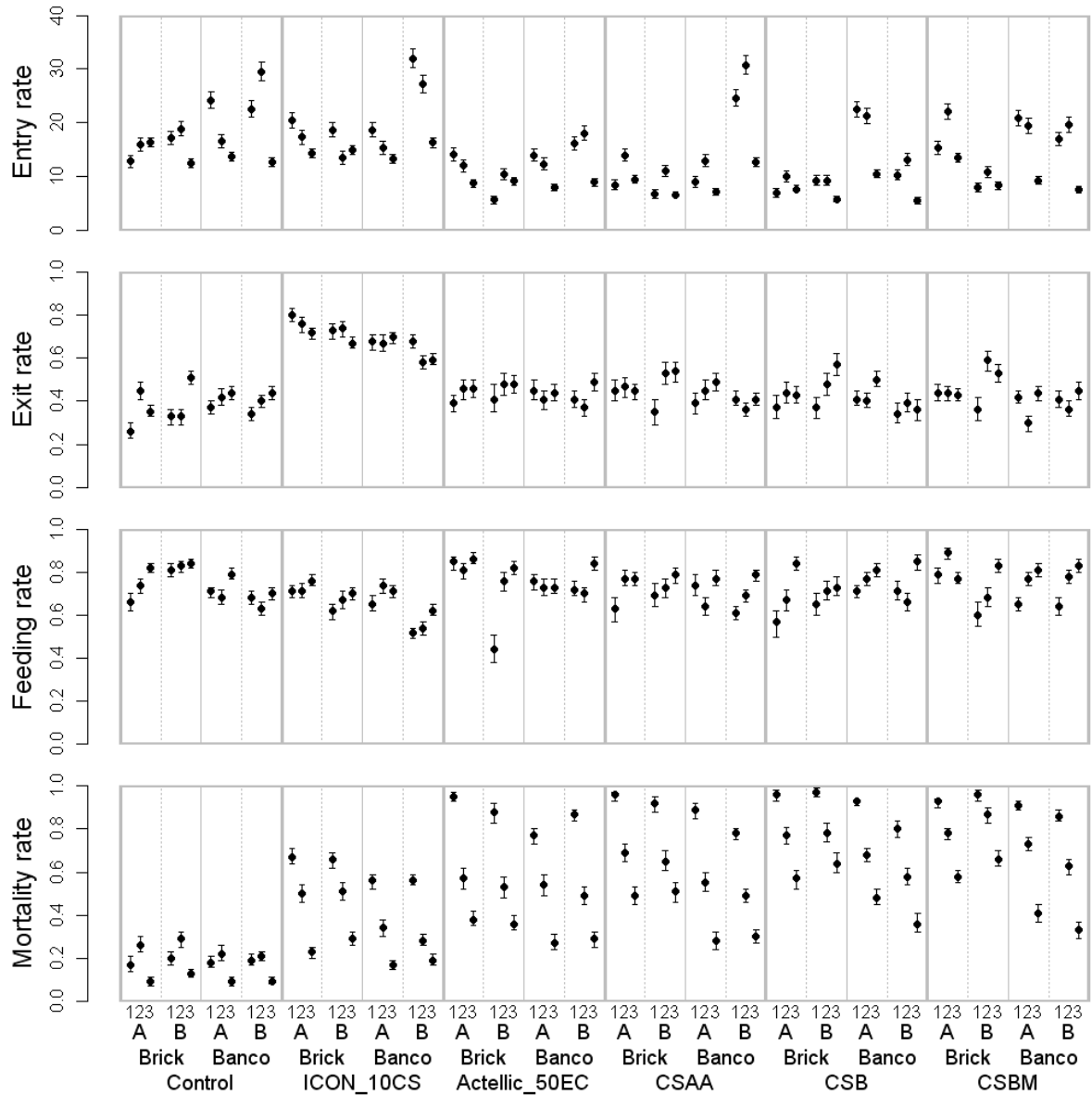


Figure 5.6 Residual activity of insecticide formulations against susceptible *An. gambiae*. Mortality in WHO cone tests after 24 hours of *An. gambiae* of the KISUMU strain **a** on cement surfaces, and **b** on mud surfaces. Error bars show 95% confidence intervals. The red dotted line shows the WHO threshold of 80%. The first horizontal axis labels refer to the week of testing post treatment.

Additional files

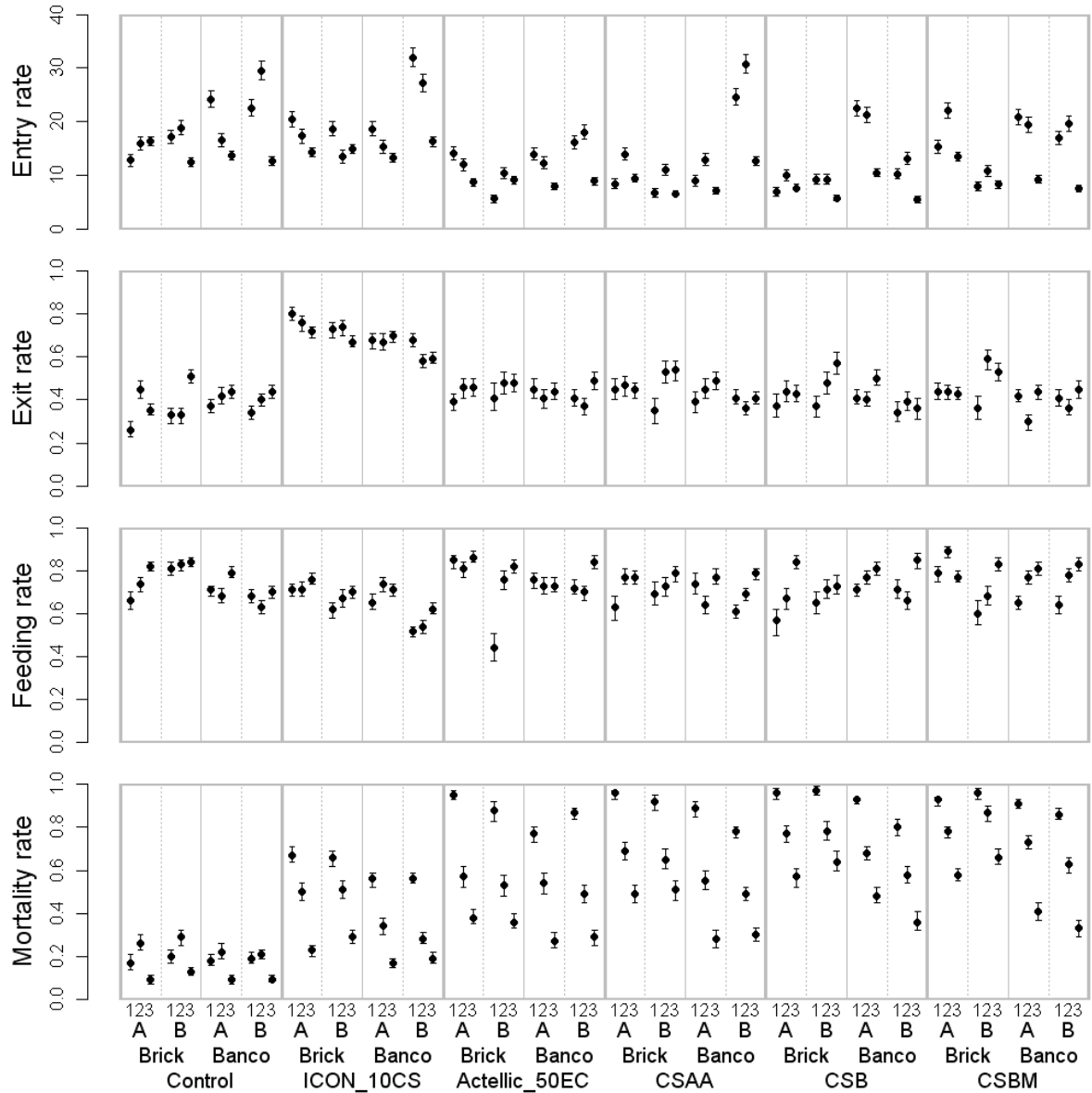
Additional file 1. Crude results from experimental hut trials of pirimiphos-methyl and lambda-cyhalothrin on *An. gambiae* s.s. by hut

Legend: See Figure 5.1.



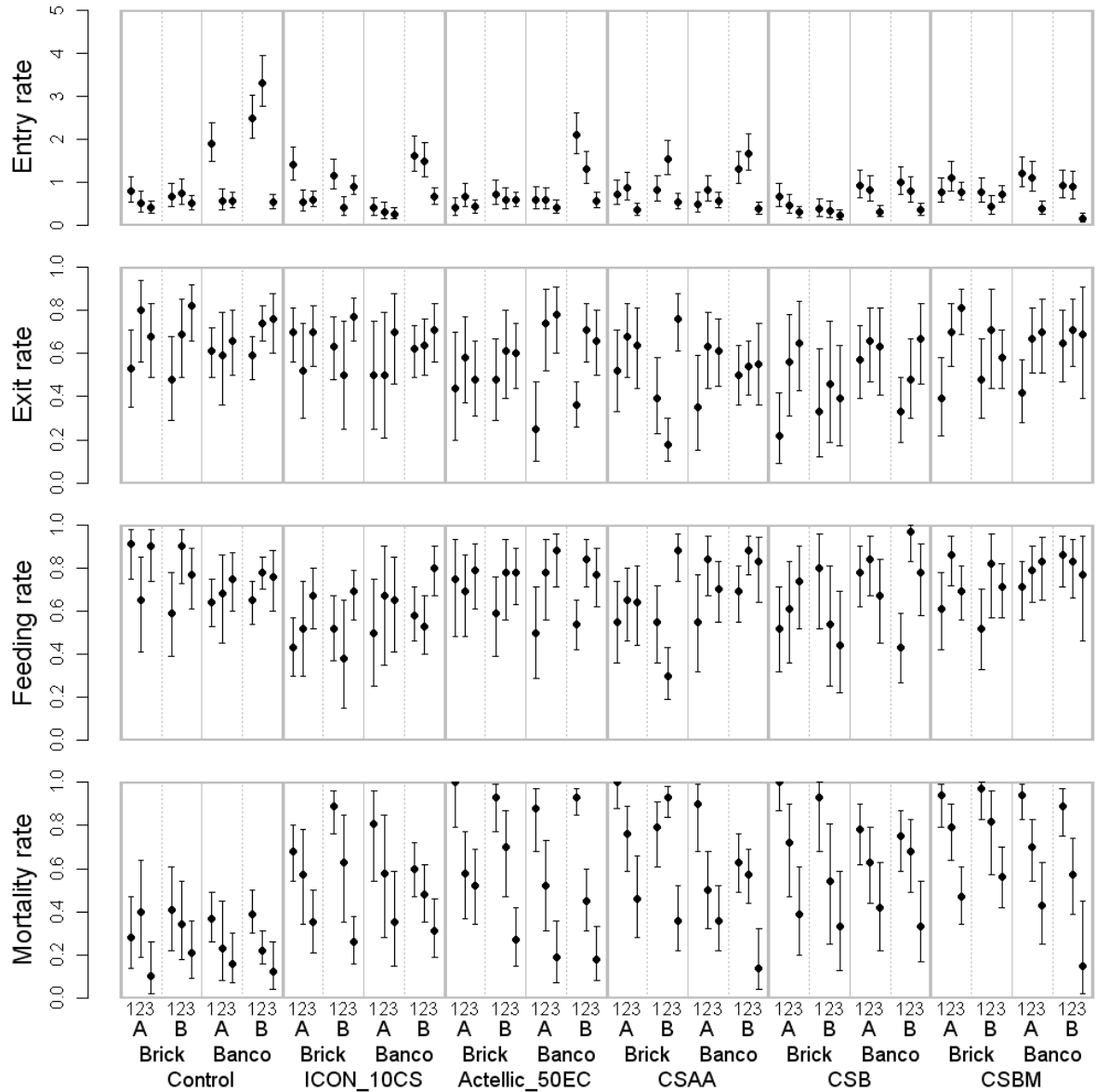
Additional file 2. Crude results from experimental hut trials of pirimiphos-methyl and lambda-cyhalothrin on *An. funestus* by hut

Legend: See Figure 5.1.



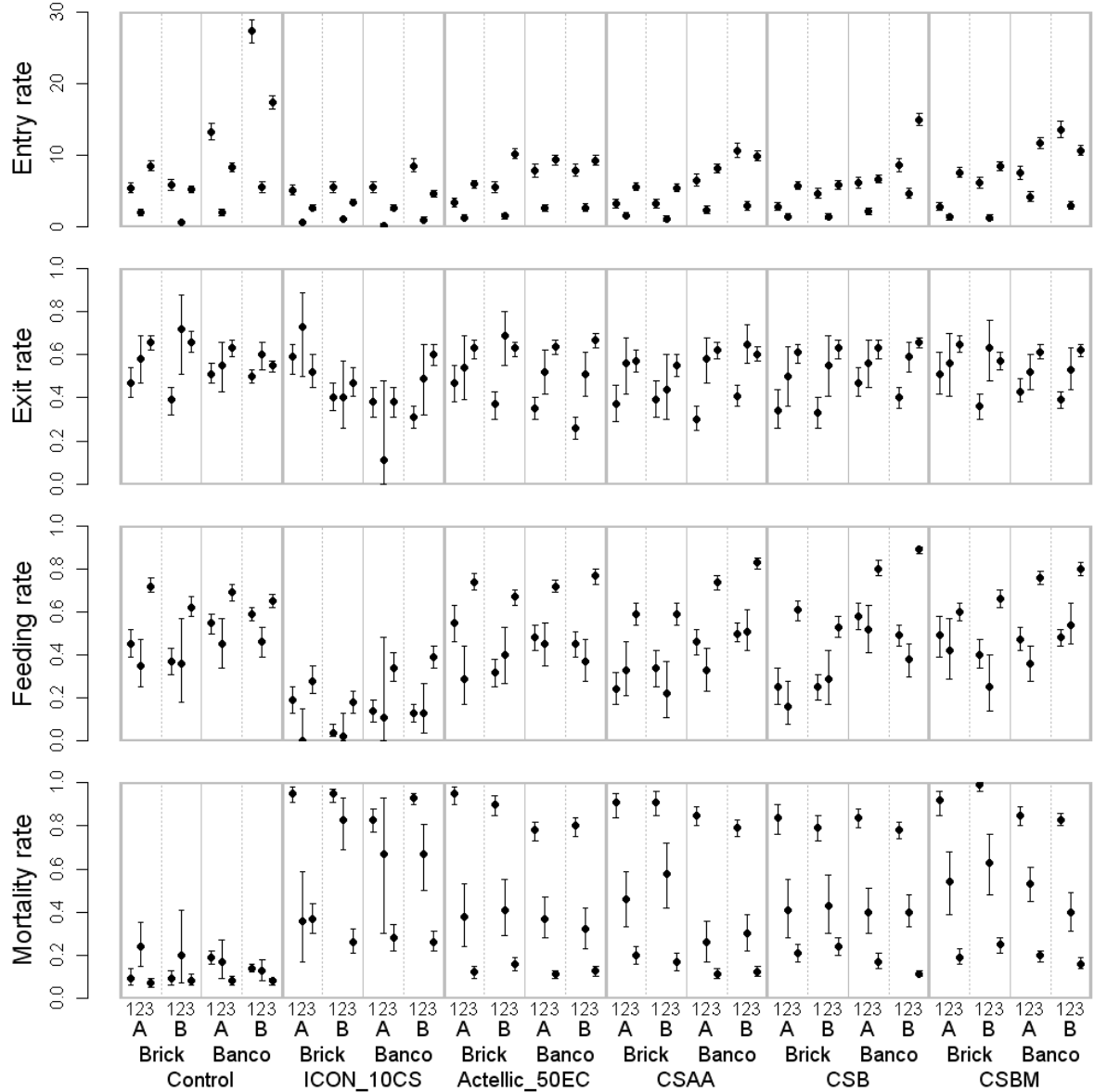
Additional file 3. Crude results from experimental hut trials of pirimiphos-methyl and lambda-cyhalothrin on other than *An. gambiae* s.l. and *An. funestus* by hut

Legend: See Figure 5.1.



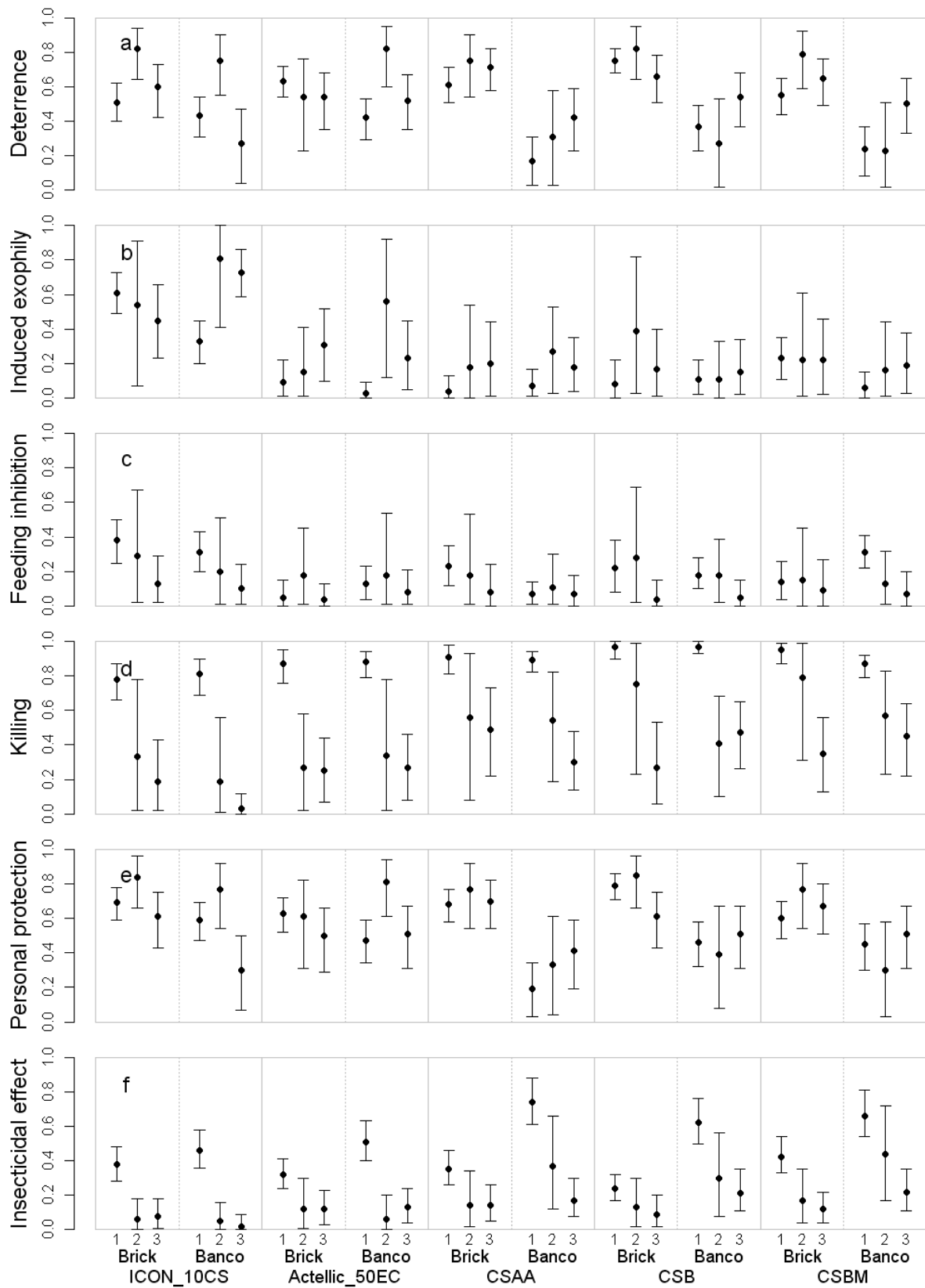
Additional file 4. Crude results from experimental hut trials of pirimiphos-methyl and lambda-cyhalothrin on other genera by hut

Legend: See Figure 5.1.



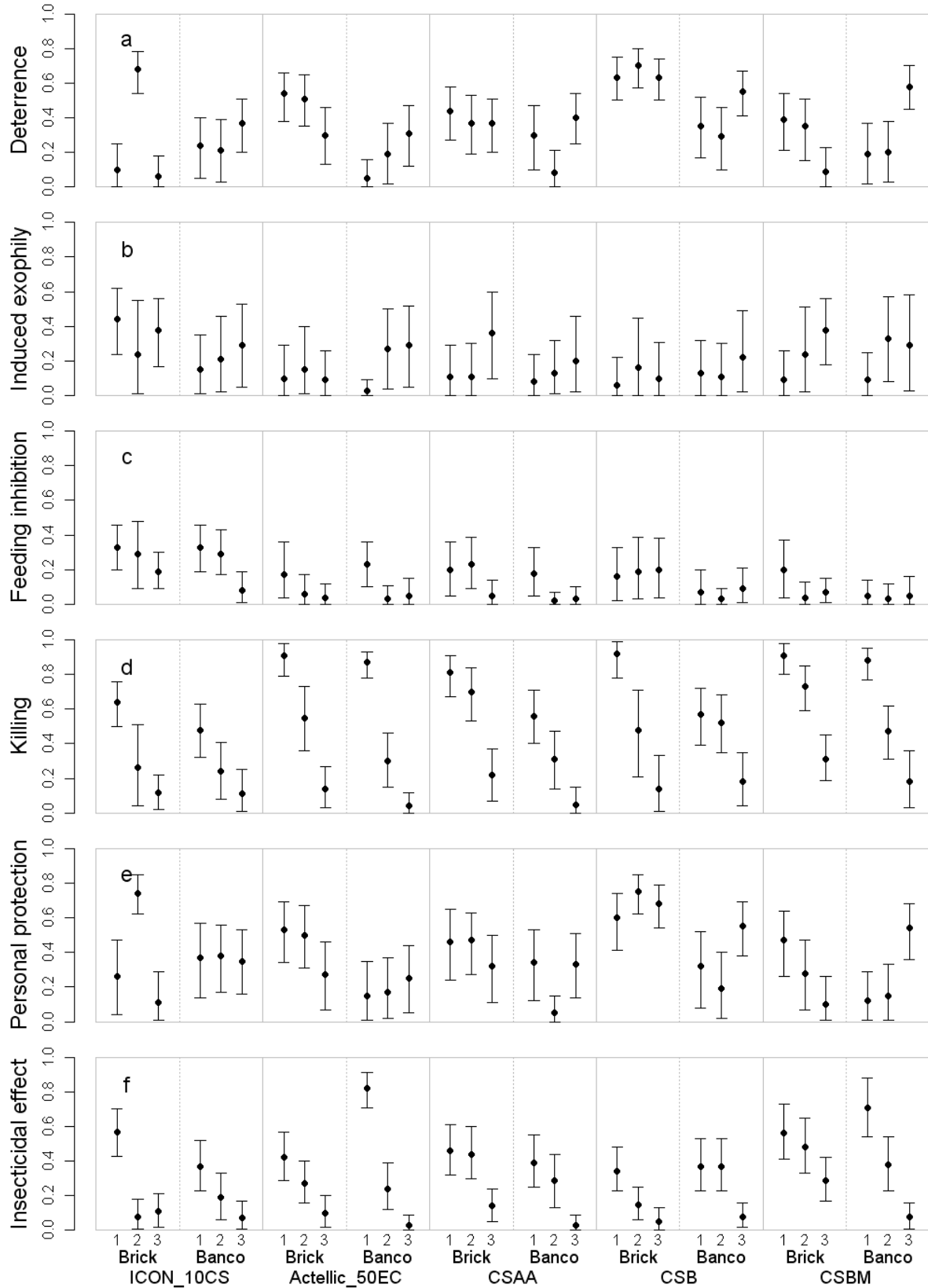
Additional file 5. Effects of pirimiphos-methyl and lambda-cyhalothrin on *An. funestus*

Legend: See Figure 5.3.



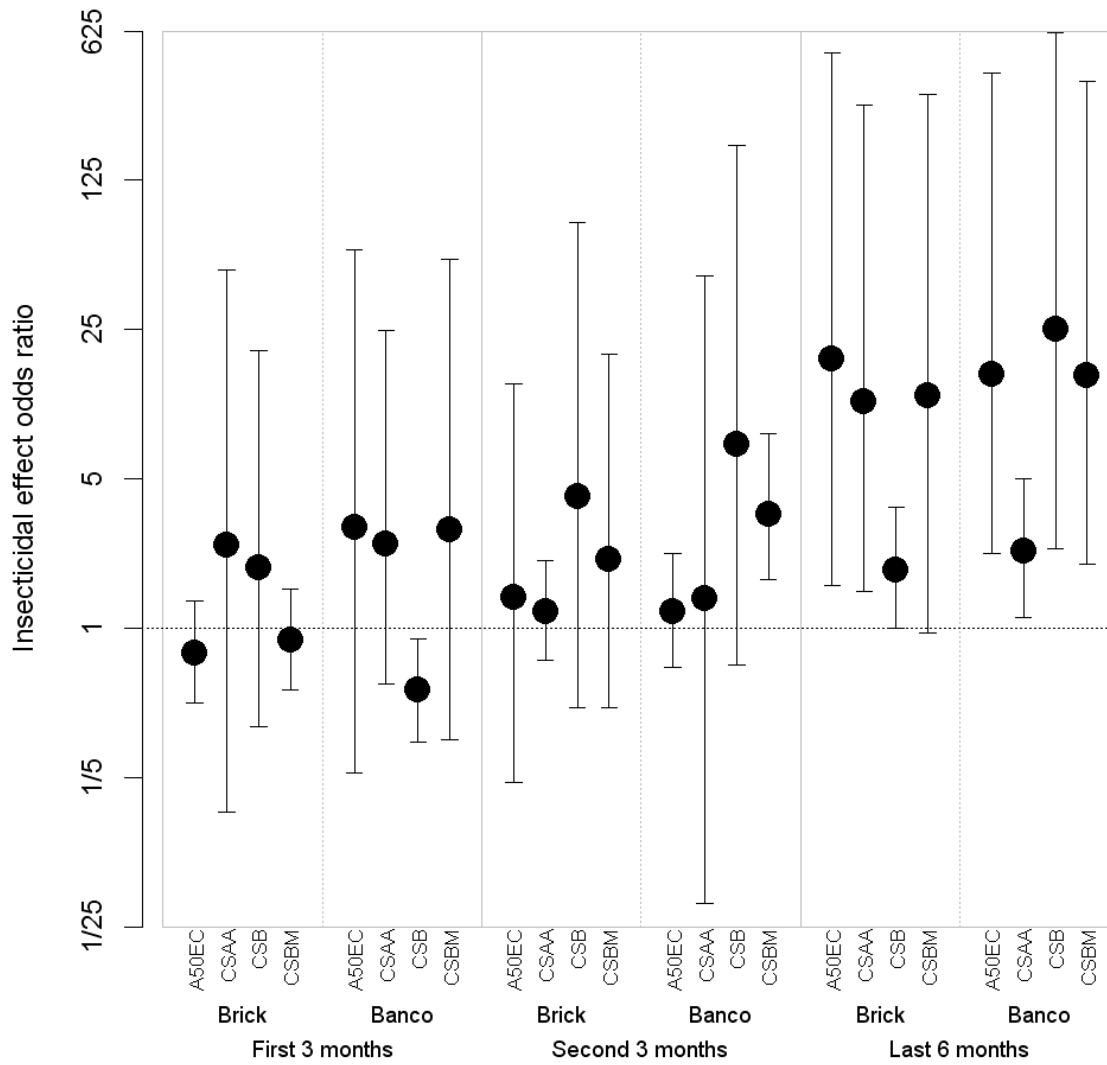
Additional file 6. Effects of pirimiphos-methyl and lambda-cyhalothrin on anophelines other than *An. gambiae* s.l. and *An. funestus*

Legend: See Figure 5.3.

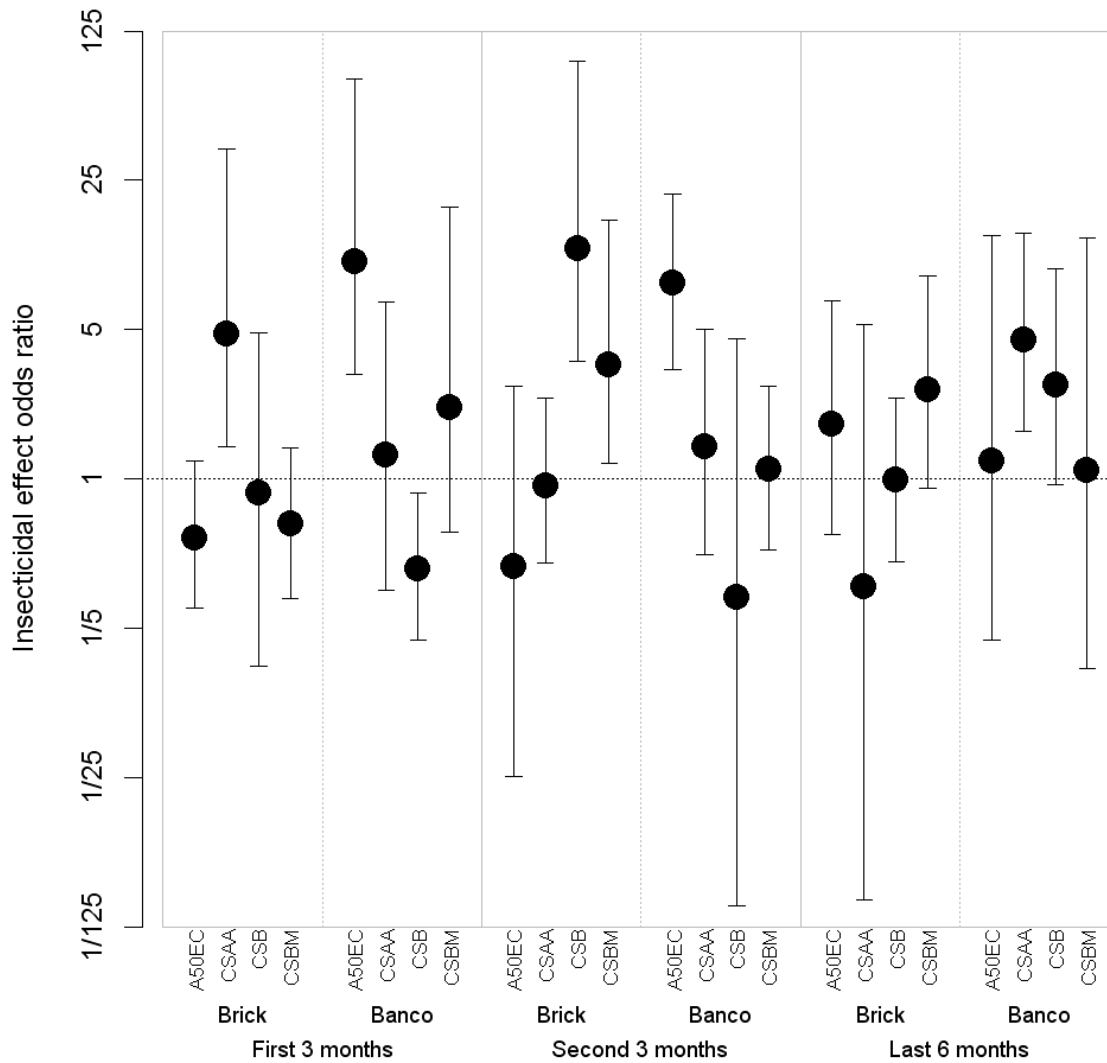


Additional file 7. Odds ratio of overall insecticidal effect of pirimiphos-methyl relative to lambda-cyhalothrin on *An. funestus*

Legend: See Figure 5.4.



Additional file 8. Odds ratio of overall insecticidal effect of pirimiphos-methyl relative to lambda-cyhalothrin on on anophelines other than *An. gambiae* s.l. and *An. funestus*
 Legend: See Figure 5.4.



Additional file 9. Details of statistical methods.

The deterrence at time t , $\delta(k,t)$ for treatment k , is defined as the proportionate reduction in the entry rate, as measured by:

$$\delta(k,t) = 1 - \frac{E(k,t)}{E(0,t)},$$

where $E(k,t)$ is the total number of female mosquitoes found in an experimental hut and veranda with treatment k , where $k = 0$ corresponds to control (untreated) huts at time t .

The repellence at time t , $\rho(k,t)$ for treatment k , is defined as the proportionate decrease in the proportion of female mosquitoes remaining in the hut, rather than in the veranda trap, as measured by:

$$\rho(k,t) = 1 - \frac{R(k,t)}{R(0,t)},$$

where $R(k,t)$ is the proportion of the female mosquitoes remaining in the hut (rather than exiting into the veranda trap) with treatment k . Similarly, feeding inhibition is defined as the reduction in the proportion of mosquitoes blood-fed, as measured by:

$$\phi(k,t) = 1 - \frac{F(k,t)}{F(0,t)},$$

where $F(k,t)$ is the expected proportion of female mosquitoes that are fed with treatment k and the killing effect is measured by $\omega(k,t)$, defined as:

$$\omega(k,t) = 1 - \frac{S(k,t)}{S(0,t)},$$

where $S(k,t)$ is the expected proportion of female mosquitoes that survive (among those entering the hut).

Statistical inferences about deterrence, repellence, feeding inhibition and mosquito survival were made using Bayesian hierarchical models. Specifically, $\delta(k,0)$ and β_D were estimated by assuming the observed numbers of mosquitoes in each experimental hut on each day to be Poisson distributed about the expectation defined by rearranging the equation given above, *i.e.*

$$e(h,t) \sim \text{Poisson}(E(k(h),t)),$$

where $k(h)$ denotes the treatment of hut h . To allow for day-to-day fluctuations in the density of host seeking mosquitoes, the expected numbers of mosquitoes entering the control huts were modeled as log-normally distributed, as follows:

$$\ln(E(0,t)) \sim \text{Normal}(\mu_D, \sigma_D^2),$$

where σ_D^2 and μ_D are hyperparameters with non-informative prior distributions.

Similar models were used for estimating $R(k,t)$, $F(k,t)$, and $S(k,t)$, but since these are proportions they were formulated as logistic, rather than Poisson models. In each case the Bayesian models were fitted using WinBUGS version 1.4 software and credible intervals calculated by sampling the posterior distributions. In addition the personal protection effect of IRS was estimated by a further Poisson model analogous to the model for house entry and deterrence but where the outcome was the number of blood fed mosquitoes found in the house, rather than the total number entering.

The effect of IRS on malaria transmission is measured by the overall insecticidal effect, which is the proportion of all host seeking mosquitoes that are killed. The overall insecticidal effect was calculated as:

$$K(k,t) = \omega(k,t)(1 - \delta(k,t)),$$

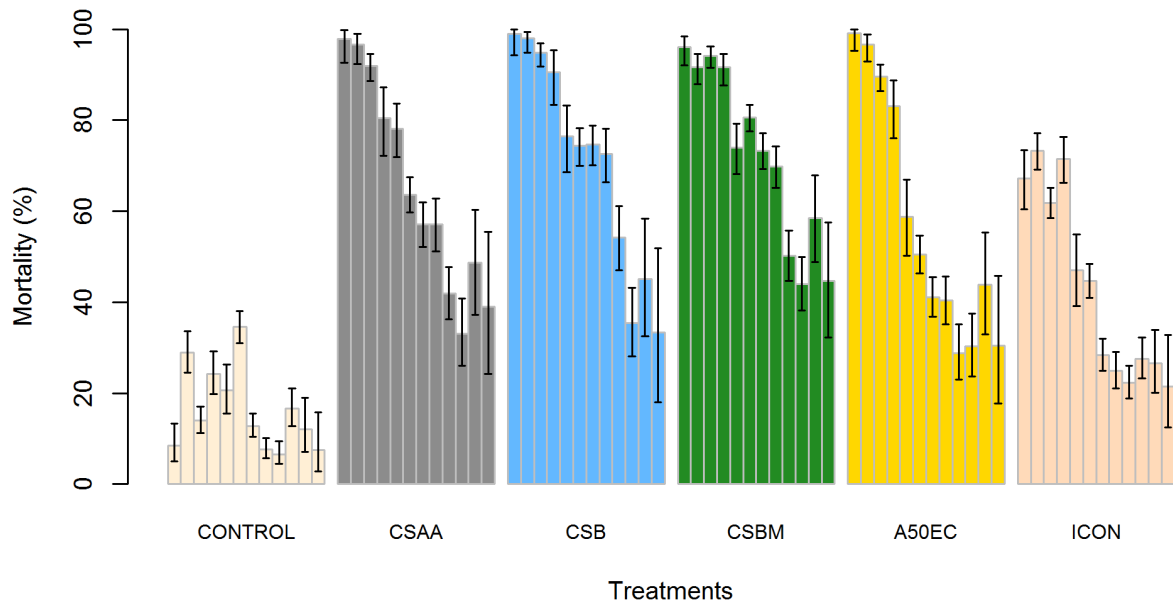
corresponding to the lower bound for the true overall effect, based on the assumption that deterred mosquitoes are find alternative hosts in houses without IRS and are not killed. The odds ratio measuring the effect of a given pirimiphos-methyl formulation relative to lambda-cyhalothrin (treatment 1) was defined as:

$$OR = \frac{K(k,t)(1 - K(1,t))}{K(1,t)(1 - K(k,t))}.$$

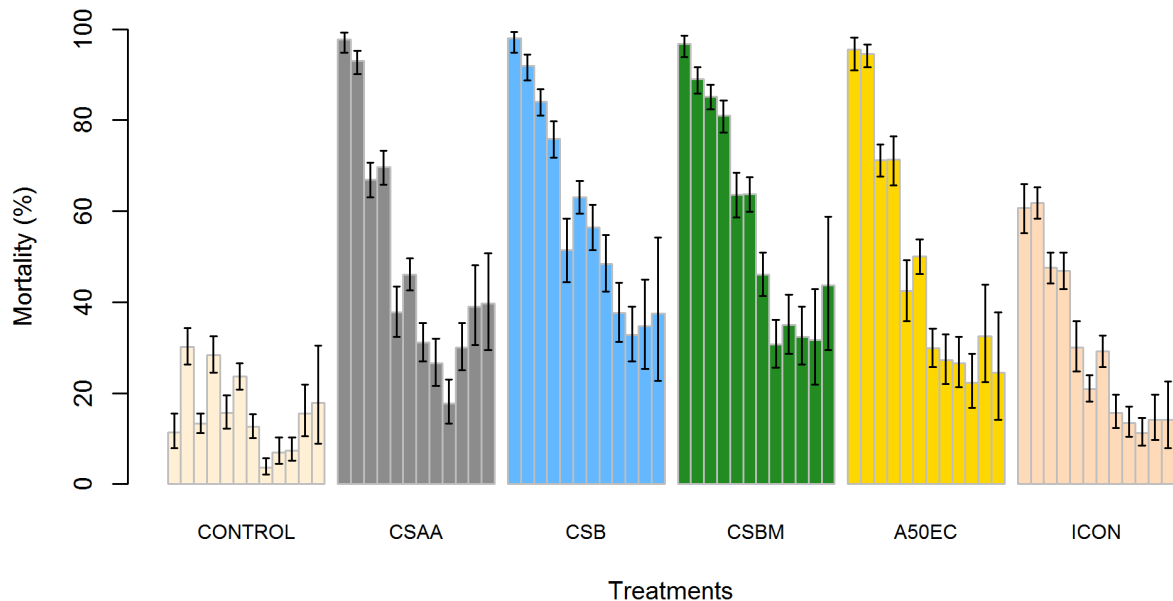
Additional file 10: Alternative presentation of experimental hut results.

Additional file 10.1: Summary table. Summary of results for *An. gambiae* s.l., *An. funestus* and non-anopheline genera of the experimental hut trial, following the analysis and analysis used in Tables 1 – 2 in (Rowland *et al.*, 2013).

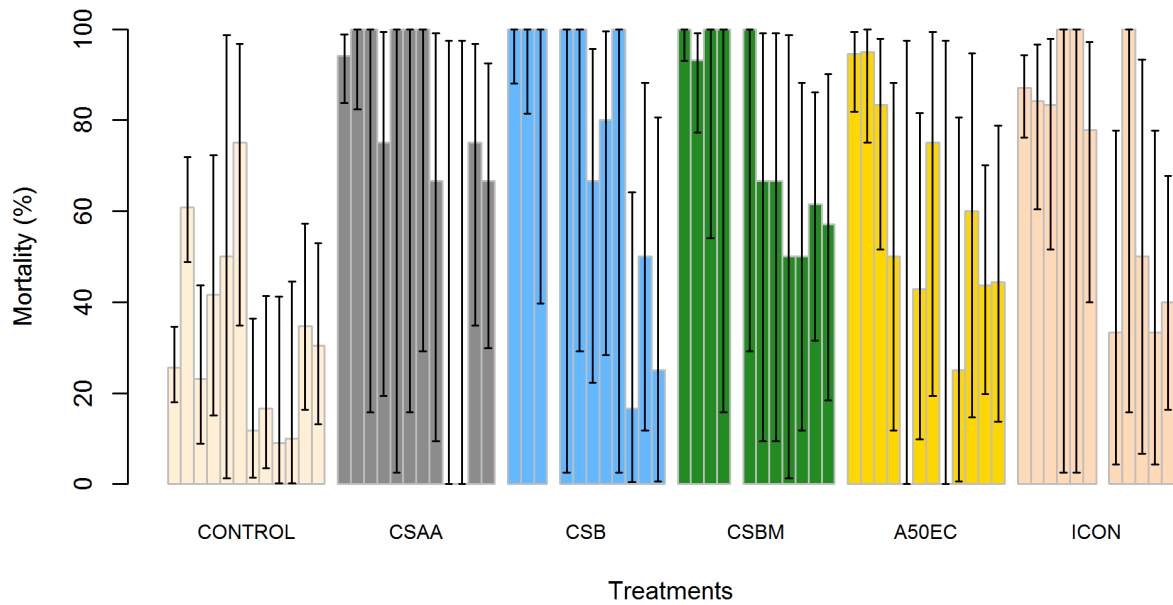
Species	Material	Treatment	Total collected	% Caught in veranda (95%CI)	% Bloodfed (95%CI)	% Mortality (95%CI)	% Corrected mortality (95%CI)		
<i>An. gambiae</i>	Cement	Untreated	4776	38a (37-39)	80a (78-81)	18a (17-19)	-		
		CS AA	2822	47b (45-49)	74b (73-76)	65b (64-67)	58 (56-60)		
		CS B	2434	45b (43-47)	71bc (70-73)	75c (73-77)	70 (68-72)		
		CS BM	3893	46b (45-48)	79a (77-80)	75c (74-77)	70 (68-72)		
		Actellic 50 EC	3041	45b (43-47)	80a (78-81)	57d (55-59)	48 (45-50)		
		ICON 10 CS	5019	73c (72-74)	70c (69-72)	44e (43-46)	33 (31-35)		
	Mud	Untreated	5710	40ab (39-41)	70a (69-71)	16a (15-17)	-		
		CS AA	4569	41ab (40-43)	70a (69-72)	53b (51-54)	43 (42-45)		
		CS B	3893	41ab (40-43)	75b (74-76)	66c (65-68)	60 (58-61)		
		CS BM	4337	39ab (38-41)	75b (73-76)	66c (65-67)	60 (58-61)		
		Actellic 50 EC	3694	43b (41-44)	75b (73-76)	53b (51-55)	44 (42-46)		
		ICON 10 CS	5959	65c (63-66)	62c (60-63)	34d (33-36)	22 (20-23)		
		<i>An. funestus</i>	Cement	Untreated	341	26a (22-31)	86a (82-90)	34a (29-39)	-
				CS AA	104	25a (17-34)	70bc (60-79)	88b (81-94) 83bc (73-90)	83 (73-91)
CS B	83			27a (17-37)	72bc (61-82)	90	75 (62-86)		
CS BM	125			36a (28-45)	70bc (62-78)	87b (80-93)	81 (71-89)		
Actellic 50 EC	122			32a (24-41)	82ab (74-88)	72c (63-80) 75bc (67-82)	58 (45-70)		
ICON 10 CS	137			64b (55-72)	55c (47-64)	82	62 (51-73)		
Mud	Untreated		306	31a (26-37)	77a (72-82)	33a (28-39)	-		
	CS AA		235	33a (27-39)	78a (72-83)	82b (77-87)	73 (65-80)		
Non-anopheline Genera	Cement	Untreated	1608	59a (57-62)	59a (56-61)	9a (7-10)	-		
		CS AA	1202	52b (49-55)	50b (47-53)	37b (34-39)	31 (27-34)		
		CS B	1301	54ab (52-57)	46b (44-49)	38b (35-40)	32 (29-35)		
		CS BM	1691	56ab (54-59)	57a (55-60)	40b (38-42)	34 (31-37)		
		Actellic 50 EC	1704	58a (56-60)	61a (59-64)	32c (30-34)	25 (23-28)		
		ICON 10 CS	959	49b (46-53)	16c (14-18)	62d (59-65)	58 (55-61)		
Mud	Untreated	3884	54a (53-56)	61a (60-63)	11a (10-12)	-			
	CS AA	2279	54a (52-56)	67b (65-68)	34b (32-36)	26 (23-28)			
	CS B	2519	59b (57-61)	74c (72-75)	32b (30-34)	23 (21-25)			
	CS BM	2843	55a (53-56)	66b (64-67)	41c (39-42)	33 (31-35)			
	Actellic 50 EC	2264	54a (52-56)	64ab (62-66)	32b (30-34)	24 (21-26)			
	ICON 10 CS	1170	43c (40-46)	25d (22-27)	58d (55-61)	53 (50-56)			



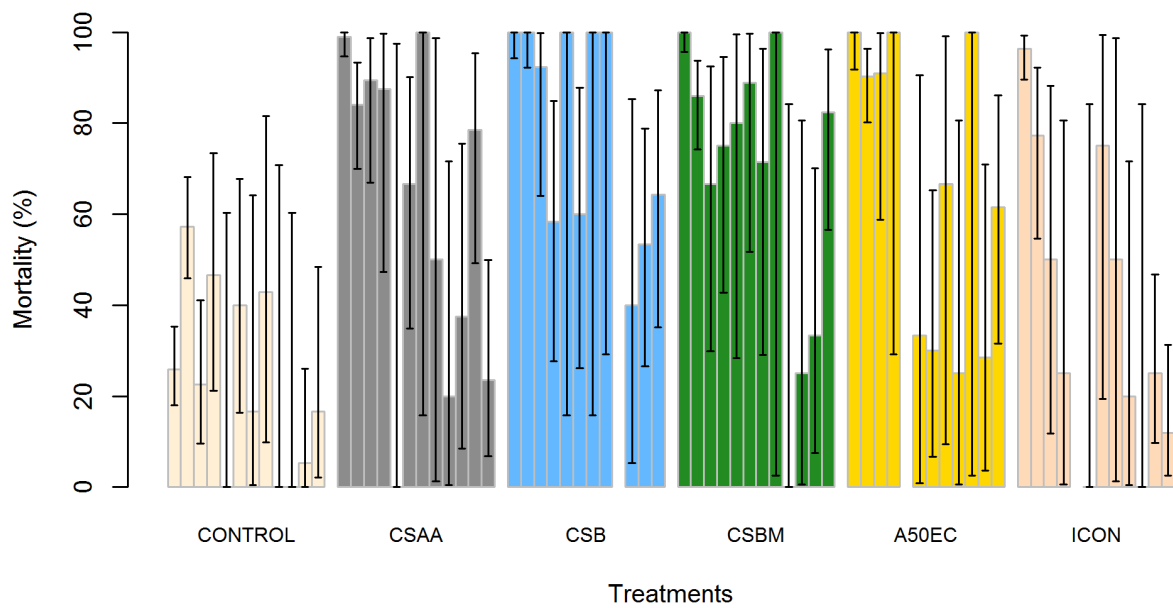
Additional file 10.2: Crude mortality of *An. gambiae* s.l. in cement huts by month post treatment. The first month is on the left. Error bars show 95% confidence intervals. This presentation allows comparison of the results of this trial with those presented in (Rowland *et al.*, 2013).



Additional file 10.3: Crude mortality of *An. gambiae* s.l. in mud huts by month post treatment. See Additional file 11.1 for legend.

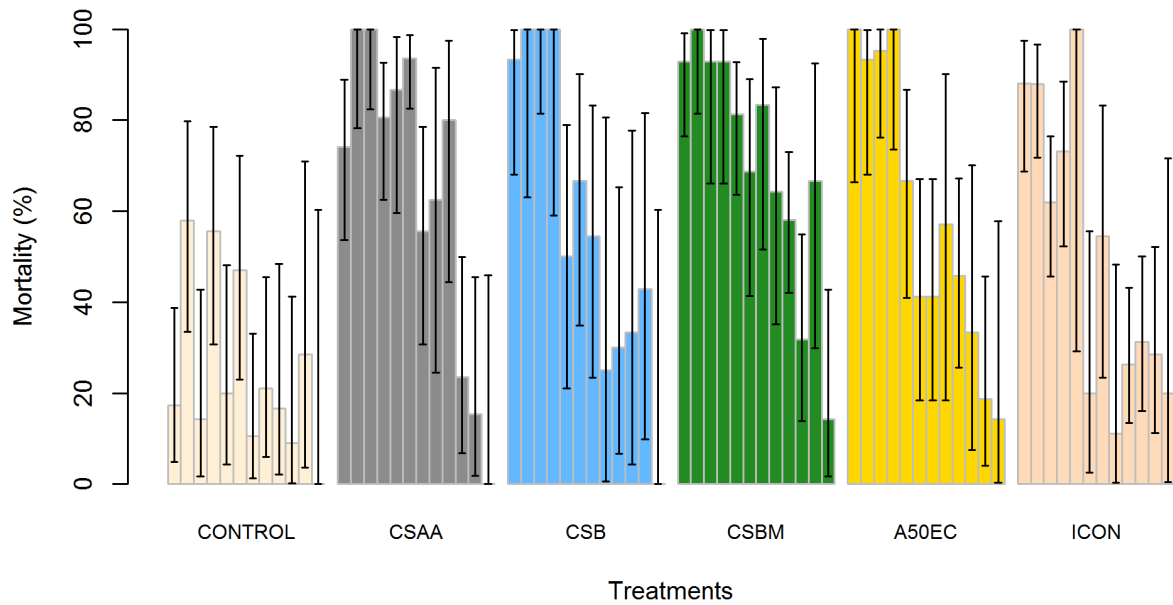


Additional file 10.4: Crude mortality of *An. funestus* in cement huts by month post treatment. See Additional file 11.1 for legend.

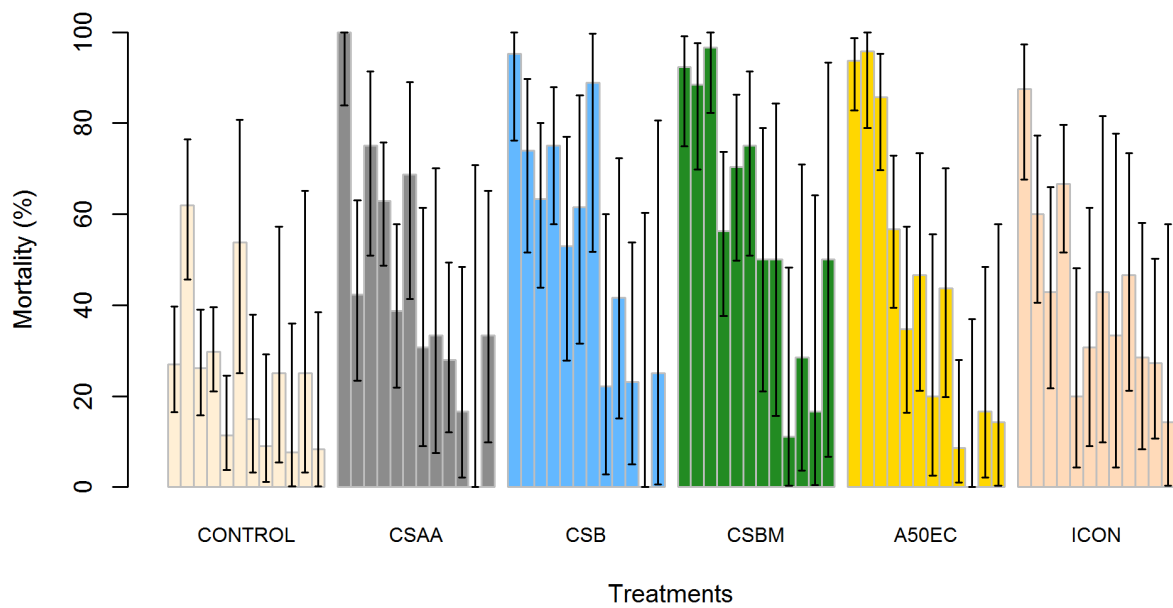


Additional file 10.5: Crude mortality of *An. funestus* in mud huts by month post treatment. See Additional file 11.1 for legend.

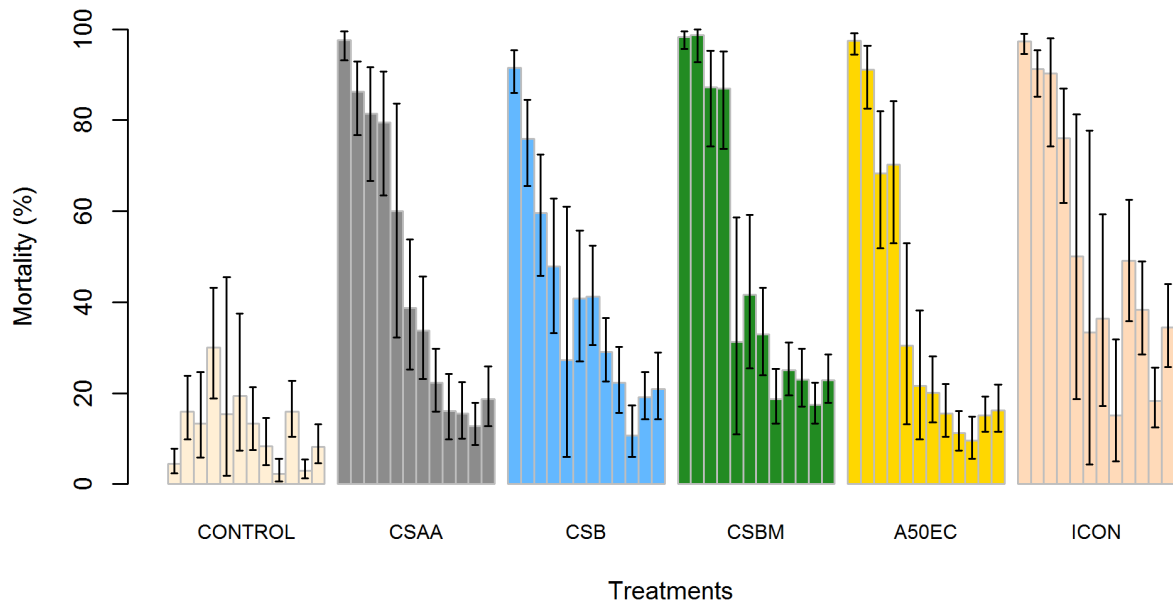
Mortality of *An. funestus* in mud huts



Additional file 10.6: Crude mortality of anophelines other than *An. gambiae* or *An. funestus* in cement huts by month post treatment. See Additional file 11.1 for legend.

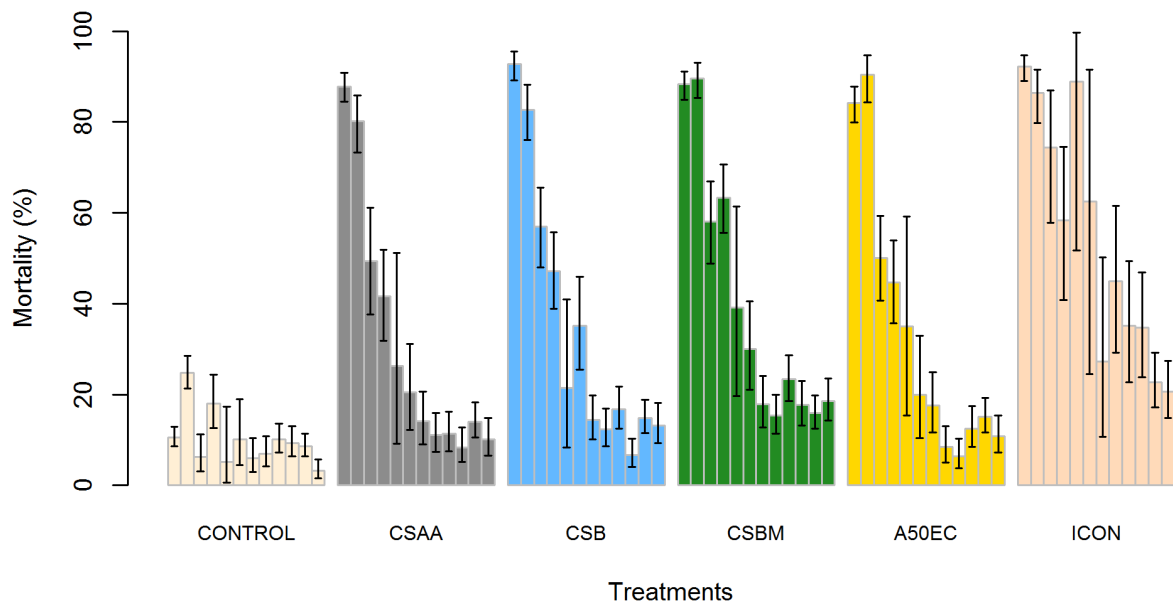


Additional file 10.7: Crude mortality of anophelines other than *An. gambiae* or *An. funestus* in mud huts by month post treatment. See Additional file 11.1 for legend.



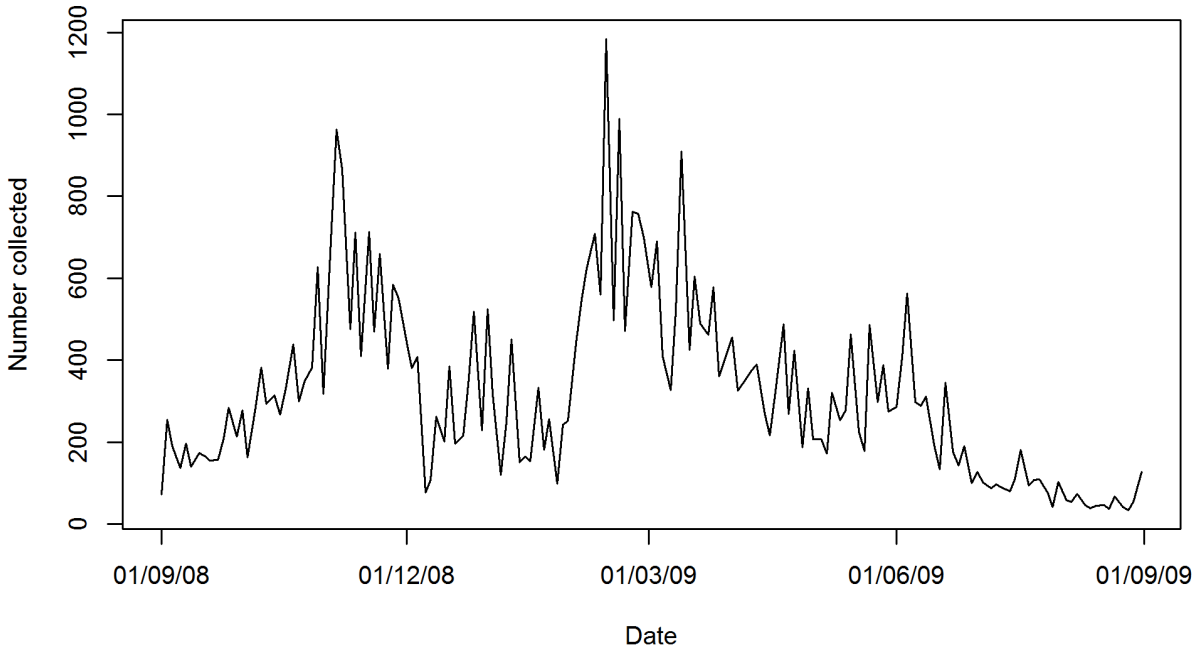
Mortality of non-anopheline genera in cement huts

Additional file 10.8: Crude mortality of non-anopheline taxa in cement huts by month post treatment. See Additional file 11.1 for legend.

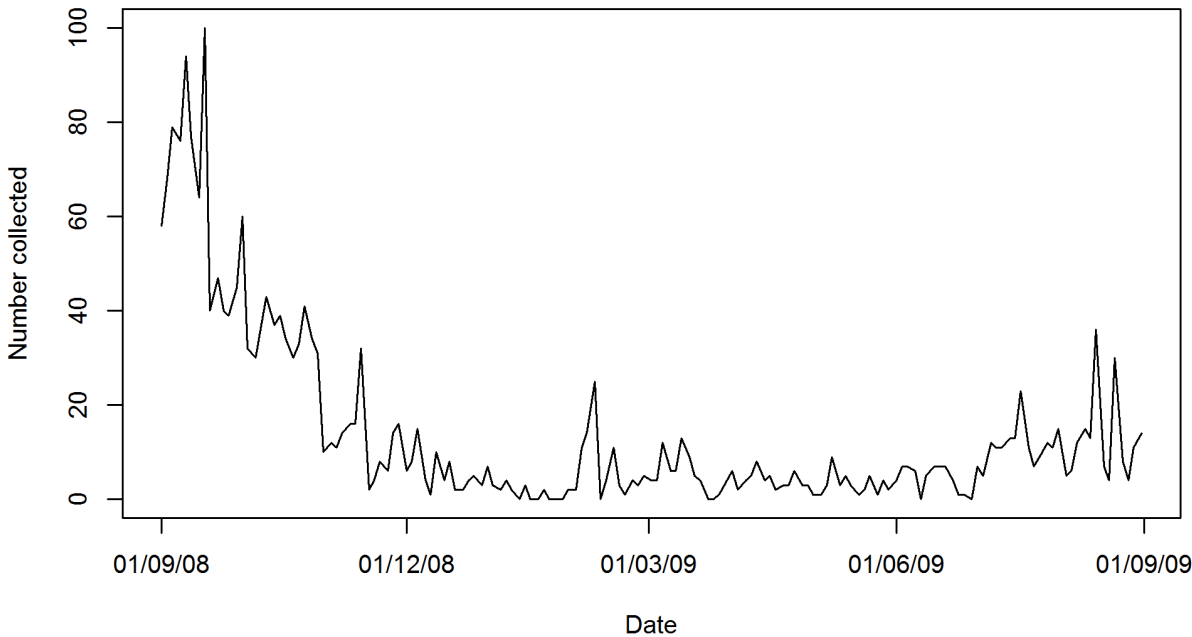


Additional file 10.9: Crude mortality of non-anopheline taxa in mud huts by month post treatment. See Additional file 11.1 for legend.

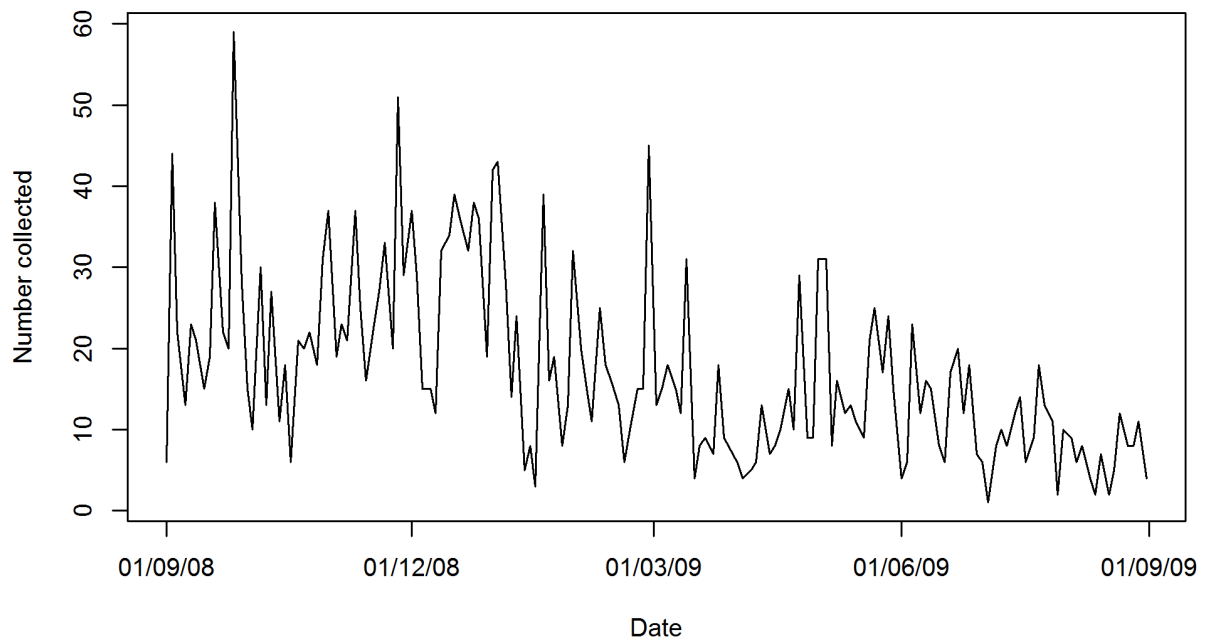
Additional file 11: Total numbers of nightly mosquito catches in experimental huts.



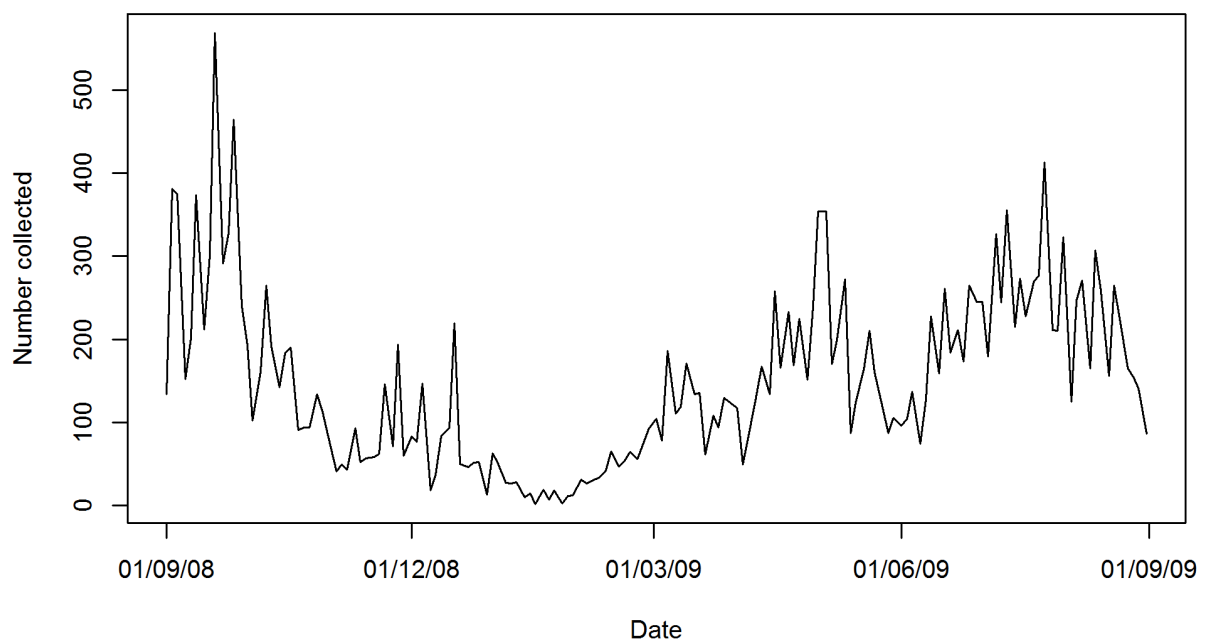
Additional file 11.1: Total number of *An. gambiae* s.l. collected in all 24 experimental huts per trapping night.



Additional file 11.2: Total number of *An. funestus* collected in all 24 experimental huts per trapping night.



Additional file 11.3: Total number of anophelines other than *An. gambiae* s.l. and *An. funestus* collected in all 24 experimental huts per trapping night.



Additional file 11.4: Total number of mosquito species other than anophelines collected in all 24 experimental huts per trapping night.

Additional file 12: Perceived strengths and weakness of different insecticide formulations in experimental huts.

Product	Wall type	Odor (1=very strong, 7=very weak)			Efficacy (1= very strong, 7=very weak)			Pleasant (1= very pleasant, 7=not pleasant)			Not dangerous (1= very dangerous, 7=not dangerous)			Used to (1= easily get used to, 7= trouble getting used to)		
		Mean	95% Conf. Int.		Mean	95% Conf. Int.		Mean	95% Conf. Int.		Mean	95% Conf. Int.		Mean	95% Conf. Int.	
Untreated	Mud	5.43	4.76	6.10	4.90	4.07	5.73	6.18	5.58	6.78	4.28	3.40	5.15	4.50	3.67	5.33
	Cement	5.89	4.89	6.90	6.05	5.23	6.88	5.57	3.98	7.16	3.00	1.86	4.14	3.26	2.01	4.52
CS B	Mud	5.61*	5.44	5.78	5.49 *	5.31	5.67	5.35	5.18	5.53	3.86	3.68	4.04	3.89	3.71	4.07
	Cement	5.05	4.81	5.28	5.06	4.82	5.30	4.48	4.18	4.79	2.63	2.41	2.85	2.77	2.54	3.00
ICON 10 CS	Mud	5.81	5.65	5.97	5.69	5.52	5.86	5.44	5.26	5.62	3.79	3.60	3.98	3.90	3.71	4.09
	Cement	5.16	4.92	5.40	5.19	4.95	5.43	4.22	3.90	4.53	2.86	2.62	3.10	2.84	2.60	3.08
CS BM	Mud	5.81	5.65	5.97	5.67	5.50	5.84	5.29	5.10	5.48	3.80	3.61	3.99	3.82	3.64	4.01
	Cement	4.76**	4.50	5.02	4.76**	4.50	5.02	3.98	3.65	4.31	2.55	2.33	2.78	2.52	2.29	2.75
Actellic 50 EC	Mud	5.75	5.59	5.92	5.61	5.44	5.79	5.24	5.04	5.44	3.73	3.54	3.92	3.74	3.56	3.93
	Cement	5.29	5.05	5.52	5.24	5.00	5.48	3.96	3.65	4.27	2.78	2.54	3.01	2.74	2.51	2.98
CS AA	Mud	5.81	5.66	5.97	5.59	5.41	5.77	5.29 *	5.09	5.48	3.73*	3.54	3.92	3.68*	3.49	3.87
	Cement	5.70	5.49	5.91	5.59	5.37	5.81	3.85**	3.51	4.19	2.28**	2.07	2.49	2.36**	2.15	2.58

* Best value for 'Mud'.

** Best value for 'Cement'

6. Discussion et conclusion

6.1. Influence de la riziculture sur la population d *An. gambiae*

Deux villages du centre de la Côte d'Ivoire, Abokro et Yaokoffikro, localisés en zones de rizicultures irriguées ont fait l'objet de cette présente étude. L'inventaire de la faune culicidienne luciphile et anthropophile montre une grande diversité et une forte abondance de moustiques adultes dans les deux villages. La richesse spécifique et l'abondance de moustiques sont dues à une variabilité et à la dynamique des gîtes larvaires naturels ou artificiels, très productifs, de nature et taille différentes (Doannio *et al.*, 2006). La diversification et la prédominance du genre *Anopheles*, en particulier la prépondérance d'*An. gambiae* dans les aménagements agricoles irrigués ont été démontrées par de nombreux travaux (Robert *et al.*, 1988; Doannio *et al.*, 2002; Briet *et al.*, 2003; Dolo *et al.*, 2004; Konan *et al.*, 2009; Betsi *et al.*, 2012). La riziculture irriguée, son exploitation interrompue et les chevauchements réguliers des cycles culturaux et de différents stades phénologiques des plants assurent une grande disponibilité et une pérennisation des biotopes propices au développement larvaire de cette espèce. Les casiers rizicoles offrent les points d'eau peu profonds (quelques centimètres de profondeur), calmes, bien ensoleillés et claires, conditions idéales au développement des larves d'*An. gambiae*. Ces observations concordent avec les résultats des travaux entrepris en zone savanicole en Côte d'Ivoire (Dossou-Yovo *et al.*, 1998; Doannio *et al.*, 2002; Koudou *et al.*, 2007), dans les zones de savanes arborées du Burkina-Faso (Robert, 1989), en Gambie (Lindsay *et al.*, 1991) et, à Madagascar (Marrama *et al.*, 1999).

Notre étude confirme le rôle de la riziculture dans la pullulation de la population d'*An. gambiae*. La mise en place de bassins rizicoles dans une zone doit être suivie de mesures d'accompagnement en vue de protéger la population locale des piqûres de moustiques et du paludisme.

6.2. Comparaison de deux méthodes de collecte des moustiques

Une grande diversité de *Culicidae* a été obtenue par les PL et CSH. Une différence notable au niveau du nombre d'individus capturés est à noter. Pour le cas particulier d'*An. gambiae*, le ratio CSH/PL a été de 7,0 et 30,0 respectivement à Abokro et à

Yaokoffikro. La haute performance des CSH pour *An. gambiae s.s.* se traduit par la supériorité de l'attraction olfactive et trophique à l'attraction lumineuse ou visuelle. L'avantage de cette méthode est qu'elle mesure directement le taux de piqûre des moustiques anthropophages responsables de la transmission du paludisme (Davis *et al.*, 1995). Malheureusement, cette méthode présente certains inconvénients majeurs. Tout d'abord, elle nécessite des personnes motivées et une surveillance étroite pour que les données soient fiables (WHO, 1995). Deuxièmement, elle soulève des questions éthiques, puisque que les captureurs sont exposés aux piqûres des moustiques parfois infectés (Service, 1977). Troisièmement, il se pose le problème de la subjectivité de la méthode en raison de la variabilité de l'attractivité de l'homme et des compétences dans la capture des moustiques.

Les PL ont présenté des résultats parfois inconstants avec des variations aléatoires et fortuites. Pour l'échantillonnage de la population de moustiques dans une zone, les pièges lumineux sont utiles du fait qu'ils attrapent une grande diversité de moustiques. Cependant, la quantité et la qualité des captures dépendent de la conception du piège, les conditions météorologiques et d'autres variables, telles que l'emplacement du piège (Service, 1993; Mboera *et al.*, 1998). Il apparaît clairement que les PL tout en étant utiles à certains égards, ne représentent pas la véritable population anthropophile. Toutefois, leur performance pourrait être améliorée par leur contact avec des maisons occupées par les dormeurs et leur installation à l'abri d'autres sources externes de lumière. Une incorporation d'un dispositif d'émission d'attractifs chimiques ou d'odeurs corporelles (Okumu *et al.*, 2010), les rendrait moins dépendants des contraintes du milieu.

Malgré le risque de contracter des infections transmises par les moustiques lors des captures, les CSH constituent l'un des meilleurs moyens d'estimation de l'activité de piqûre des vecteurs du paludisme sur l'homme. Cette méthode pourrait donc être utilisée comme une référence standard pour la validation de nouvelle méthode d'échantillonnage des vecteurs du paludisme.

6.3. Insecticide de réimprégnation des moustiquaires

La mortalité importante des anophèles, la diminution des taux de gorgement, ainsi que l'effet répulsif et l'effet dissuasif sont autant d'effets directs et indirects qui ont été

mesurés lors de nos travaux. L'évaluation en case expérimentale a été réalisée suite aux travaux menés au laboratoire sur le même produit. L'effet dissuasif et répulsif d'ICON[®] Maxx sur les moustiques, en particulier sur *An. gambiae* ont été très importants. Ces deux paramètres induisent en effet des modifications du comportement des moustiques sans nécessairement entraîner leur mort. Ces propriétés connues des pyréthrinoïdes sur les moustiques (Debboun *et al.*, 2006), agissent à l'encontre de leurs propriétés insecticides, en refoulant les moustiques vers l'extérieur des cases les empêchant ainsi ces derniers d'absorber une dose létale. La répulsion et la dissuasion diminuent de façon efficace le contact homme-vecteur à l'intérieur des cases, d'où l'augmentation de l'inhibition de la prise de repas sanguin par les moustiques enregistrée dans les cases traitées.

Le taux de mortalité des moustiques engendré par l'insecticide ICON[®] Maxx a été significativement élevé, particulièrement sur *An. gambiae*, principal vecteur du paludisme dans la zone (Mouchet *et al.*, 2004). Toutefois, ce taux pourrait être plus élevé dans les zones de résistance où le moustique reste plus longtemps en contact avec le support traité. En effet, dans les cases-pièges pourvues de moustiquaires traitées ou non, peu de moustiques arrivent à franchir la barrière physique de la moustiquaire. Les femelles d'*An. gambiae* se réfugient alors sur les murs de la case et de la véranda-piège qui ne sont pas traités (Darriet *et al.*, 2000). La mortalité immédiate des moustiques a été plus élevée que la mortalité différée, cela pourrait expliquer le faible taux de gorgement observé dans les cases pourvues de moustiquaires traitées.

En parallèle aux tests cités plus haut, des tests en cône ont été réalisés mensuellement, en utilisant des *An. gambiae* sensibles de la souche Kisumu. Le produit ne semble pas perdre son efficacité durant toute la période de l'étude. Le lavage des moustiquaires effectué la 32^e semaine de l'étude ne semble pas modifier le KD et le taux de mortalité. En effet, des études réalisées durant la phase I du WHOPES au laboratoire sur le même produit par, a montré que les moustiquaires imprégnées par ICON[®] Maxx ne commencent à perdre leur efficacité qu'après le cinquième lavage en ce qui concerne le KD, et uniquement à partir du dixième lavage pour le taux de mortalité.

Pour conclure, il faut noter l'évaluation au laboratoire du produit ICON[®] Maxx a révélé un KD et un taux de mortalité relativement moyen. Cependant, en case expérimentale, le

produit semble être efficace sur les moustiques résistants aux pyréthriinoïdes. Ce produit pourrait donc jouer un rôle important dans la réduction de la transmission du paludisme.

6.4. Résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides

Des études réalisées dans la zone de M'Bé indiquaient une fréquence allélique du gène *kdr* faible de 4 % (Chandre *et al.*, 1999; Darriet *et al.*, 2000). Les populations d'*An. gambiae* de la vallée de M'Bé ont donc été caractérisées comme sensibles aux pyréthriinoïdes. Cependant, le niveau de résistance de ces populations aurait considérablement augmenté ces dernières années pour atteindre 71 % de *kdr* (Koudou et collaborateurs; données non publiées). Ce phénomène a déjà été constaté et serait la résultante de l'utilisation intensive de pyréthriinoïdes. C'est le cas dans la vallée de Kou (Burkina Faso). Dans cette zone essentiellement rizicole, des études ont montré une forte augmentation de la fréquence allélique du gène *kdr*, de facteur 5, de 1999 à 2008 (Dabiré *et al.*, 2008). Cette augmentation s'explique par l'utilisation intensive de pyréthriinoïdes dans les cultures de coton qui entourent les rizières, ainsi qu'à la sympatrie avec la forme S, elle même résistante. La mise en place d'un système de surveillance de la résistance des vecteurs du paludisme s'impose pour une meilleure efficacité des outils de lutte utilisés, dans la mesure où de nombreux pays en Afrique ont basé leur programme de lutte contre les vecteurs du paludisme sur l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides (généralement à base de pyréthriinoïdes).

6.5. Pirimiphos-méthyl micro-encapsulé, alternative à la résistance aux pyréthriinoïdes

Les résultats obtenus après l'application de la formule originale et trois variantes d'un nouvel insecticide non-pyréthriinoïde (pirimiphos-méthyl) sur les murs intérieurs des cases expérimentales construites soit avec des parpaing, soit avec du «terre battue» au cours d'une période de 12 mois d'étude sont prometteurs. Les trois variantes du pirimiphos-méthyl testées lors de cet essai n'ont montré aucun effet répulsif contre *An. gambiae* et *An. funestus*, le nombre de moustiques collectés dans les cases témoins

positifs et négatifs n'est pas différent de ceux obtenus dans les cases traitées avec les différentes formulations de pirimiphos-méthyl.

L'effet répulsif des trois formulations de pirimiphos-méthyl était faible. Cette observation confirme les propriétés des insecticides appartenant à la famille des organophosphorés qui, en général, sont considérés comme non irritant (Guillet *et al.*, 2001). En effet, le faible effet répulsif du pirimiphos-méthyl pourrait constituer un avantage car il permet aux moustiques de rester pendant une période suffisamment longue sur les murs traités, ce qui induirait un taux de mortalité élevé (Curtis & Mnzava, 2000; Darriet *et al.*, 2000). Cependant, le faible effet répulsif pourrait augmenter le taux de gorgement, en particulier lorsque les moustiques sont non seulement résistants aux pyréthrinoïdes, mais aussi aux non-pyréthrinoïdes (Darriet *et al.*, 2005).

Le taux de gorgement est resté élevé dans les cases traitées avec les différentes variantes de pirimiphos-méthyl. Cette observation pourrait s'expliquer par le faible effet répulsif comme signalé plus haut. En effet, les moustiques entrant dans une case traitée ne sont pas repoussés vers la véranda-piège. Ainsi ils pourraient piquer l'hôte avant de se poser sur les murs. Ce comportement a été observé dans une étude réalisée dans des cases expérimentales en Afrique orientale. Elle a montré que les moustiquaires traitées avec un insecticide organophosphoré n'ont pas empêché efficacement les moustiques de se nourrir de sang (Kolaczinski *et al.*, 2000). Pour pallier à cette limite, il a été suggéré d'associer un répulsif aux insecticides organophosphorés en vue de renforcer leur efficacité contre les vecteurs du paludisme (Pennetier *et al.*, 2008). La différence de dose entre les différentes formulations de «pirimiphos-méthyl » n'a pas permis d'obtenir un effet significatif sur le taux de gorgement d'*An. gambiae*. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus dans une étude récente qui a montré que l'augmentation de la dose de chlopyrifos-méthyl (non-pyréthrinoïde) sur des moustiquaires, de 100 mg/m² à 250 mg/m², a entraîné l'annulation du taux de gorgement d'*An. gambiae* (0 %), alors qu'elle était de 14,6 % (Asidi *et al.*, 2005). En ce qui concerne les taux de mortalité, une efficacité élevée de toutes les formulations de Pirimiphos-méthyl a été observée contre *An. gambiae*. Cette observation est en accord avec une étude précédente, qui a montré que les moustiques restent sur les surfaces traitées, avant ou après avoir pris leur repas sanguin, puis entrent en contact avec le produit, qui les tue (Hansford, 1972). Des

observations similaires ont été faites dans un village en Afrique du Sud lors d'une intervention à grande échelle; les maisons traitées avec des insecticides résiduels ont permis de contrôler la population d'*An. gambiae s.s.* et de réduire considérablement la transmission du *Plasmodium* (Hansford, 1972).

Parmi les trois variantes du pirimiphos-methyl, pirimiphos-methyl CS BM est la formulation la plus prometteuse, suivie par pirimiphos-methyl CS B et pirimiphos-methyl CS AA. En effet, ces formulations ont montré une plus grande et stable efficacité et ont eu les plus faibles taux de dégénérescence. Comparé à d'autres insecticides qui ont été largement utilisées auparavant, il a été constaté que la durée approximative de l'effet résiduel sur la «terre battue» été de 3 mois pour les deux insecticides organo-phosphorés testés (malathion et le fénitrothion) et 6 mois pour le DDT (Rozendaal, 1997). Dans la présente étude, on a constaté que les variantes du pirimiphos-methyl ont été très efficaces contre *An. gambiae*, les données ont révélé une efficacité initiale élevée en comparaison avec les cases témoins positifs. De toute évidence, les différentes formulations de Pirimiphos-methyl ont été plus efficaces dans les cases en parpaing que dans les cases en terre battue. Les insecticides ont été plus efficaces sur les murs en parpaing comparés aux murs en terre battue. En effet, La persistance d'un insecticide pulvérisé sur une surface varie selon la nature de la surface. Les surfaces en terre battue absorbent l'insecticide, et certains types de boue peuvent également fractionner les insecticides chimiques. Par exemple, le malathion vaporisés sur les bois peut rester efficace plus de 3 mois, alors que sur certaines surfaces, comme le terre battue, il peut être efficace seulement 3 semaines (Rozendaal, 1997). Cependant, des résultats différents ont été trouvés en Inde, où l'impact entomologique de quatre doses de bifenthrine (25, 50, 100 et 200 mg/m²) a été comparé avec ceux de malathion (2 g/m²) et des maisons non traitées dans cinq villages. Les résultats ont révélé que l'efficacité du traitement sur les murs en parpaing a été moins élevée par rapport aux murs en terre battue. La dose de 50 mg/m² a causé une mortalité $\geq 80\%$ sur les murs en terre battue pendant 24 semaines et sur les murs en parpaing pendant 16 semaines. Bifenthrine vaporisé à une dose de 25 mg/m² a engendré une mortalité $\geq 80\%$ pendant 24 semaines sur les murs en terre battue, mais seulement 16 semaines sur les murs en parpaing (Yadav *et al.*, 2003).

Les tests en cône ont confirmé les résultats obtenus au cours des captures quotidiennes dans les cases expérimentales. Ces essais ont montré tout d'abord que les différentes formulations de pirimiphos-méthyl étaient les plus efficaces dans des cases construites en parpaing par rapport aux cases en terre battue. D'autre part, ces tests confirment que les différentes formulations de Pirimiphos-méthyl ont une efficacité plus élevée avec *An. gambiae* Kisimu qu'avec les souches sauvages d'*An. gambiae*. Toutefois, les fluctuations du taux de mortalité ont été observées et pourraient s'expliquer par l'harmattan, un vent chaud et sec venant du nord, qui survient au cours de la saison sèche (de Novembre à Mars). Il est concevable que ce vent affaiblisse la faune de moustiques soumis à ces tests.

Cette étude montre que face au développement et à la propagation de la résistance des vecteurs aux pyréthrinoïdes, qui constitue un obstacle majeur à de nombreuses campagnes de lutte contre le paludisme en Afrique, le pirimiphos-méthyl pourrait constituer une alternative en vue de la réduction significative la transmission du paludisme.

6.6. Conclusion

Cette étude a permis d'évaluer l'efficacité d'un traitement intradomiciliaire non pyréthrinoïde (organophosphoré) et d'un insecticide de réimprégnation longue durée de moustiquaire, et d'étudier quelques aspects bioécologiques des populations d'*Anopheles gambiae* de la zone d'étude

La lutte anti-vectorielle constitue le moyen le plus efficace pour prévenir la transmission du paludisme puisqu'elle permet d'éviter un contact entre le vecteur et l'hôte. Elle nécessite donc d'avoir des connaissances solides sur le vecteur. Ainsi, cette présente étude a permis d'avoir quelques données de bases sur les caractéristiques bioécologiques d'*An. gambiae*, principal vecteur du paludisme dans la zone d'étude, qui seront utiles dans l'application de méthodes de lutte adéquate.

L'évaluation de l'efficacité d'un insecticide non-pyréthrinoïde de traitement intradomiciliaire a été menée durant 12 mois sur différents types de murs en case expérimentale au centre de la Côte d'Ivoire. L'efficacité la plus élevée a été obtenue avec

la formulation pirimiphos-methyl CS BM. Les résultats obtenus sont très prometteurs, car la réintroduction du DDT comme insecticide de traitement intra domiciliaire ces dernières années était dû à la durée d'efficacité très faible des nouveaux insecticides fabriqués et au développement rapide de la résistance des moustiques vis-à-vis de ces produits. Ces tests montrent une efficacité du produit sur les vecteurs du paludisme.

L'insecticide de réimprégnation longue durée de moustiquaire ICON[®] Maxx , bien qu'en ayant eu des résultats modérés au laboratoire, a permis de réduire de façon significative le taux gorgement et le taux de mortalité en comparaison avec les moustiquaires non traitées en case expérimentale. Le lavage des moustiquaires n'a pas semblé avoir eu d'effet sur l'efficacité du produit.

Suite aux résultats obtenus au cours de notre étude, nous recommandons ce qui suit :

- La formulation pirimiphos-methyl CS BM ayant fourni des résultats prometteurs peuvent être testés en phase III dans un site à grande échelle, en surveillant son efficacité au niveau entomologique et parasitologique. Les villages d'Abokro et de Yaokoffikro où les densités agressives des vecteurs du paludisme sont très élevés, pourrait servir à cette étude.
- L'insecticide de traitement intradomiciliaire pirimiphos-methyl CS BM et le produit de réimprégnation des moustiquaires ICON[®] Maxx pourraient être utilisés concomitamment dans le cadre d'un programme de lutte intégrée. Cela permettrait d'avoir une efficacité maximale et pourrait considérablement retarder le développement de résistance chez les principaux vecteurs du paludisme.
- Le suivi entomologique doit être poursuivi en vue de déterminer avec plus d'exactitude les caractéristiques bioécologiques d'*An. gambiae*, l'intensité et les périodes de transmission du paludisme.
- Le niveau de résistance d'*An. gambiae* aux pyréthrinoïdes, les mécanisme de résistance, ainsi que la détermination des gènes impliqués dans la résistance sont autant d'informations qui doivent faire l'objet d'étude dans les villages d'Abokro et de Yaokoffikro.

- Une des limites de cette étude était liée à la disponibilité de moustiques pour les tests en cône. Le manque de matériel au niveau de l'insectarium pour faire face aux aléas climatiques (harmattan, chaleur...), a affecté la quantité de moustique produite. Ainsi, par moment nous sollicitons d'autres insectariums d'Abidjan pour avoir des moustiques. Le transport et le changement d'environnement ont sûrement influencé les résultats. Egaleme nt, nous ne pouvons pas nous assurer des potentialités génétiques (niveau résistance) des moustiques envoyés d'Abidjan. Pour cela, nous recommandons pour ce genre d'étude en case-piège la présence d'un insectarium à proximité de la station expérimentale.

6.7. Références

- Asidi, A.N., N'Guessan, R., Koffi, A.A., Curtis, C.F., Hougard, J.M., Chandre, F., Corbel, V., Darriet, F., Zaim, M., & Rowland, M.W. (2005) Experimental hut evaluation of bednets treated with an organophosphate (chlorpyrifos-methyl) or a pyrethroid (lambdacyhalothrin) alone and in combination against insecticide-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. *Malar J*, **4**, 25.
- Betsi, A.N., Tchicaya, E.S., & Koudou, B.G. (2012) [High proliferation of *An. gambiae* and *An. funestus* larvae in irrigated and non-irrigated rice fields in the Western forest region of Cote-d'Ivoire.]. *Bull Soc Pathol Exot*.
- Briet, O.J., Dossou-Yovo, J., Akodo, E., van de Giesen, N., & Teuscher, T.M. (2003) The relationship between *Anopheles gambiae* density and rice cultivation in the savannah zone and forest zone of Cote d'Ivoire. *Trop Med Int Health*, **8**, 439-48.
- Briet, O.J., Dossou-Yovo, J., Akodo, E., van de Giesen, N., & Teuscher, T.M. (2003) The relationship between *Anopheles gambiae* density and rice cultivation in the savannah zone and forest zone of Cote d'Ivoire. *Trop Med Int Health*, **8**, 439-448.
- Chandre, F., Manguin, S., Brengues, C., Dossou Yovo, J., Darriet, F., Diabate, A., Carnevale, P., & Guillet, P. (1999) Current distribution of a pyrethroid resistance gene (kdr) in *Anopheles gambiae* complex from west Africa and further evidence for reproductive isolation of the Mopti form. *Parassitologia*, **41**, 319-322.
- Curtis, C.F. & Mnzava, A.E. (2000) Comparison of house spraying and insecticide-treated nets for malaria control. *Bull. W.H.O.*, **78**, 1389-1400.
- Dabiré, K.R., Diabate, A., Agostinho, F., Alves, F., Manga, L., Faye, O., & Baldet, T. (2008) Distribution of the members of *Anopheles gambiae* and pyrethroid knock-down resistance gene (kdr) in Guinea-Bissau, West Africa. *Bull Soc Pathol Exot*, **101**, 119-123.
- Darriet, F., Hougard, J.M., & Corbel, V. (2005) [Effect of pyrethroid and organophosphate bi-treated nets on the behaviour of Kdr+ *Anopheles gambiae* mosquitoes]. *Bull Soc Pathol Exot*, **98**, 201-204.
- Darriet, F., N'Guessan, R., Koffi, A.A., Konan, L., Doannio, J.M., Chandre, F., & Carnevale, P. (2000) [Impact of pyrethrin resistance on the efficacy of

- impregnated mosquito nets in the prevention of malaria: results of tests in experimental cases with deltamethrin SC]. *Bull Soc Pathol Exot*, **93**, 131-134.
- Davis, J.R., Hall, T., Chee, E.M., Majala, A., Minjas, J., & Shiff, C.J. (1995) Comparison of sampling anopheline mosquitoes by light-trap and human-bait collections indoors at Bagamoyo, Tanzania. *Med Vet Entomol*, **9**, 249-55.
- Debboun, M., Frances, S.P., & Strickman, D.A. (2006) Insect repellents; principles, methods, and uses: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Doannio, J.M., Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Rakotondraibe, M.E., Chauvancy, G., Chandre, F., Riviere, F., & Carnevale, P. (2002) Dynamics of malaria transmission in Kafine, a rice growing village in a humid savannah area of Cote d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot*, **95**, 11-16.
- Doannio, J.M., Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Rakotondraibe, M.E., Chauvancy, G., Chandre, F., Riviere, F., & Carnevale, P. (2002) Dynamics of malaria transmission in Kafine, a rice growing village in a humid savannah area of Cote d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot*, **95**, 11-6.
- Doannio, J.M., Dossou-Yovo, J., Diarrassouba, S., Rakotondraibe, M.E., Chauvancy, G., & Riviere, F. (2006) Comparison of specific composition and mosquitoes population dynamics in two villages of the centre of Cote-d'Ivoire, with and without irrigated rice growing area. *Bull Soc Pathol Exot*, **99**, 204-206.
- Dolo, G., Briet, O.J., Dao, A., Traore, S.F., Bouare, M., Sogoba, N., Niare, O., Bagayogo, M., Sangare, D., Teuscher, T., & Toure, Y.T. (2004) Malaria transmission in relation to rice cultivation in the irrigated Sahel of Mali. *Acta Trop*, **89**, 147-59.
- Dossou-Yovo, J., Ouattara, A., Doannio, J.M., Diarrassouba, S., & Chauvancy, G. (1998) Malaria surveys in a humid savannah region in Cote d'Ivoire. *Med Trop (Mars)*, **58**, 51-56.
- Guillet, P., N'Guessan, R., Darriet, F., Traore-Lamizana, M., Chandre, F., & Carnevale, P. (2001) Combined pyrethroid and carbamate 'two-in-one' treated mosquito nets: field efficacy against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*. *Med Vet Entomol*, **15**, 105-112.

- Hansford, C.F. (1972) Recent trends in the control and treatment of malaria. *S Afr Med J*, **46**, 635-637.
- Kolaczinski, J.H., Fanello, C., Herve, J.P., Conway, D.J., Carnevale, P., & Curtis, C.F. (2000) Experimental and molecular genetic analysis of the impact of pyrethroid and non-pyrethroid insecticide impregnated bednets for mosquito control in an area of pyrethroid resistance. *Bull. Entomol. Res.*, **90**, 125-132.
- Konan, Y.L., Kone, A.B., Doannio, J.M., Fofana, D., & Odehoury-Koudou, P. (2009) Malaria transmission in Tiassalekro, a irrigated rice growing village situated in the South forest area of Cote d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot*, **102**, 26-30.
- Koudou, B.G., Adja, A.M., Matthys, B., Doumbia, M., Cisse, G., Kone, M., Tanner, M., & Utzinger, J. (2007) Pratiques agricoles et transmission du paludisme dans deux zones éco-épidémiologiques au centre de la Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **100**, 124-126.
- Lindsay, S.W., Wilkins, H.A., Zieler, H.A., Daly, R.J., Petrarca, V., & Byass, P. (1991) Ability of *Anopheles gambiae* mosquitoes to transmit malaria during the dry and wet seasons in an area of irrigated rice cultivation in The Gambia. *J Trop Med Hyg*, **94**, 313-324.
- Marrama, L., Laventure, S., Rabarison, P., & Roux, J. (1999) *Anopheles mascarensis* (De Meillon, 1947): main vector of malaria in the region of Fort-Dauphin (south-east of Madagascar). *Bull Soc Pathol Exot*, **92**, 136-138.
- Mboera, L.E., Kihonda, J., Braks, M.A., & Knols, B.G. (1998) Short report: Influence of centers for disease control light trap position, relative to a human-baited bed net, on catches of *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* in Tanzania. *Am J Trop Med Hyg*, **59**, 595-6.
- Mouchet, J., Carnevale, P., Coosemans, M., Julvez, J., Manguin, S., Richard-Lenoble, D., & Sircoulon, J. (2004) *Biodiversité du paludisme dans le monde* John Libbey Eurotext (éd), Paris.
- Okumu, F., Biswaro, L., Mbeleyela, E., Killeen, G.F., Mukabana, R., & Moore, S.J. (2010) Using nylon strips to dispense mosquito attractants for sampling the malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *J Med Entomol*, **47**, 274-82.

- Pennetier, C., Costantini, C., Corbel, V., Licciardi, S., Dabire, R.K., Lapied, B., Chandre, F., & Hougard, J.M. (2008) Mixture for controlling insecticide-resistant malaria vectors. *Emerg Infect Dis*, **14**, 1707-1714.
- Robert, V. (1989) La transmission du paludisme humain dans la zone de savanes d'Afrique de l'ouest. *Thèse de doctorat, Université de Paris VI*, 325 p.
- Robert, V., Ouari, B., Ouedraogo, V., & Carnevale, P. (1988) An ecologic study of adult and larval Culicidae in a rice field of Kou Valley, Burkino Faso. *Acta Trop*, **45**, 351-9.
- Rozendaal, J.A. (1997) Vector control. Methods for use by individuals and communities. WHO Geneva. *World Health Org*, 412 p.
- Service, M.W. (1977) A critical review of procedures for sampling populations of adult mosquitoes. *Bulletin of Entomological Research*, **67**, 343-382.
- Service, M.W. (1993) Mosquito Ecology. Field Sampling Methods. 2nd Ed. Elsevier Science Publishers, Essex, UK.
- WHO (1995) Vector Control for Malaria and other Mosquito-borne Disease. *Technical Report Series 857*.
- Yadav, R.S., Srivastava, H.C., Adak, T., Nanda, N., Thapar, B.R., Pant, C.S., Zaim, M., & Subbarao, S.K. (2003) House-scale evaluation of bifenthrin indoor residual spraying for malaria vector control in India. *J Med Entomol*, **40**, 58-63.

Curriculum Vitae

TCHICAYA EMILE FÉLICIEN STÉPHANE

Current position

09.2007 – 06.2012 PhD

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire,
Département Environnement et Santé

Swiss Tropical and Public Health Institut, Département
d'Epidémiologie et de Santé Publique

Thème Evaluation de l'efficacité d'insecticides de traitement intra
domiciliaire et de produit de réimprégnation de moustiquaires en milieu
semi-naturel au centre de la Côte d'Ivoire

Superviseurs: Prof. Dr. Jürg Utzinger (SwissTPH) and Prof. Tano Yao
(Université de Cocody)

Experience professionnelle

09.2011 – 11.2012: Coordination des activités de terrain dans le cadre du projet "Evaluation de l'efficacité d'outils nouveaux ou améliorés de contrôle des vecteurs du paludisme pour la réduction de la charge de cette maladie en Afrique"

Responsabilités:

- Collecte des données
- Analyse des données collectées sur le terrain
- Rédaction des rapports
- Suivi et évaluation du projet

05.2008 – 09.2009: Coordination des activités de terrain dans le cadre du projet "Evaluation de l'efficacité d'insecticides de traitement intra domiciliaire et de produit de réimprégnation de moustiquaires en milieu semi-naturel" financé par Syngenta Crop Protection.

Responsabilités:

- Direction d'une équipe de 28 personnes entrainées pour l'identification et la collecte des moustiques.
- Supervision de deux étudiants de DEA.
- Collecte des données sur le terrain
- Analyse des données collectées
- Rédaction des rapports d'activités
- Suivi et évaluation du projet

08.2009: Suivi des travaux de terrain dans le cadre du projet «Evaluation entomologique de l'efficacité de trois types de MILDA à Tiassalé, Côte d'Ivoire». Assistance pour:

- La formation de volontaires sur l'identification et la collecte des moustiques

- La collecte et l'analyse des données collectées sur le terrain.

09.2005 – 09.2007: Assistant de recherche au Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, dans le cadre du projet suivant "Evaluation de l'impact de l'utilisation des MILDA sur les indicateurs entomologiques et parasitologiques du paludisme en zone rurale au centre de la Côte d'Ivoire.". Contribution et assistance pour :

- La planification et la coordination des activités sur le terrain
- L'analyse des données issues des enquêtes cliniques et parasitologiques

Education

09.2005 – 09.2007 DEA en entomologie

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire,
Département Environnement et Santé

Université de Cocody, Département de Biologie et Zoologie

Thème Transmission du paludisme dans un contexte de traitements larvicides à Tiémélékro, centre de la Côte d'Ivoire.

Superviseurs: Prof. Dr. Jürg Utzinger (STI) and Prof. Tano Yao (University of Cocody), Dr Koudou Benjamin (CSRS)

8.1995 – 12.1998 Baccalaureat, série D

Lycée Municipal de Koumassi

Autres formations, Conférences et certificats

25.07.2011 - 29.07.2011: AVECNET health research ethics workshop 25-29 july 2011 giraffe oceanview hotel, dsm tz

20.10.2010 - 22.10.2010: Présentation de poster à la conférence sur "Parasite to prevention: Advances in the understanding of malaria", Edinburgh, UK

17.05.2010 - 21.05.2010: Formation organisée par Afrique One sur les méthodes quantitatives en écologie et épidémiologie au Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire.

04.02.2009 – 10.02.2009: NCCR north-South 2nd Joint African Regional Training Course (RTC) on data management, data analysis (qualitative and quantitative), scientific writing, dissemination of results, held at Grand-Bassam, Côte d'Ivoire.

Publications

Tchicaya, E.S., 2007. Transmission du *Plasmodium* dans un contexte de traitements larvicides au centre de la Côte d'Ivoire. *Mémoire de DEA d'Entomologie Générale, Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire*, 56 p

Tchicaya ES, Koudou BG, Keiser J, Adja AM, Cissé G, Tanner M, Utzinger J, 2009. Effect of repeated application of microbial larvicides on malaria transmission in central Cote d'Ivoire. *Journal of the American mosquito Control Association*, **25**: 382-385

Koudou BG, Ouattara FA, Edi AVC, Nsanzabana C, Tia E, **Tchicaya ES**, Tanner M, Bonfoh B., Dagnogo M., Utzinger J., 2010. Transmission du paludisme en zone de haute couverture en moustiquaires imprégnées d'insecticides de longue durée, au centre de la Côte d'Ivoire. *Med Trop* **70** : 479-484

Zahouli Z.B.J., **Tchicaya E.S.**, Nsanzabana C., Donzé J., Utzinger J., N'Goran E.K., Koudou B.G., 2011. Caractéristiques bioécologiques d'*Anopheles gambiae s.s.* en zones de riziculture irriguée au centre de la Côte d'Ivoire. *Med Trop*, **71**: 575-581

A.N. Betsi, **E.S. Tchicaya**, B.G. Koudou, 2012. Forte prolifération de larves d'*An. gambiae* et *An. funestus* en milieux rizicoles irrigués et non irrigués dans la région forestière ouest de la Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* DOI 10.1007/s13149-012-0219-z

Giovanna Raso, Nadine Schur, Jürg Utzinger, Benjamin G Koudou, **Emile S Tchicaya**, Fabian Rohner, Eliézer K N'Goran, Kigbafori D Silué, Barbara Matthys, Serge Assi, Marcel Tanner, Penelope Vounatsou, 2012. Mapping malaria risk among children in Cote d'Ivoire using Bayesian geo-statistical models *Malaria Journal*, **11**:160

Winkler M.S., **Tchicaya E.S**, Koudou B.G., Donzé J., Nsanzabana C., Müller P., Adja A.M., Utzinger J., 2012. Efficacy of ICON[®] Maxx in the laboratory and against insecticide-resistant *Anopheles gambiae* in central Côte d'Ivoire. *Malaria Journal*, **11** : 167