

Le complexe d'espèces *Anopheles gambiae* et le gène de résistance Kdr en périphérie de Douala, Cameroun

The *Anopheles gambiae* Species Complex and Kdr Resistance Gene at the Periphery of Douala, Cameroon

P. Ntonga Akono · A. Mbouangoro · A. Mbida Mbida · C. Ndo · M.F. Peka Nsangou · S. Kekeunou

Reçu le 8 octobre 2016 ; accepté le 13 décembre 2016
© Société de pathologie exotique et Lavoisier SAS 2017

Résumé L'étude a été menée en mai et juin 2015 dans deux quartiers péri-urbains de la ville de Douala, Yassa (industrialisé) et Logbessou (non industrialisé), afin d'étudier la distribution spatiale des membres du complexe *Anopheles gambiae*, de déterminer leur statut de résistance et de rechercher la présence et la distribution de la mutation Kdr. Les moustiques ont été collectés au stade larvaire par la méthode du « dipping », puis élevés jusqu'au stade adulte. La sensibilité des populations adultes d'*An. gambiae* s.l. aux DDT et pyréthrinoides a été évaluée selon le protocole recommandé par l'OMS. Les moustiques issus des tests ont été identifiés par la PCR SINE. Seuls les survivants aux tests ont été utilisés pour la recherche de la mutation Kdr par PCR. Dans les localités étudiées, le complexe *gambiae* était composé d'*An. coluzzii* et *An. gambiae* vivant en sympatrie dans leurs gîtes de ponte avec une prédominance d'*An. gambiae* à Logbessou (88 %) et d'*An. coluzzii* à Yassa (68 %). Les tests à la deltaméthrine, perméthrine et DDT ont révélé des taux de

mortalité inférieurs à 90 % quelle que soit la localité de provenance des anophèles. La PCR de diagnostic de la mutation Kdr a montré que plus de 95 % des survivants en étaient porteurs dans les deux sites, avec les fréquences de l'allèle résistant variant de 0,96 à 1,0 chez *An. gambiae* et 0,89 à 0,96 chez *An. coluzzii*. La forte résistance d'*An. coluzzii* et d'*An. gambiae* aux insecticides requiert une mise au point de nouvelles molécules insecticides.

Mots clés *Anopheles coluzzii* · *An. gambiae* · DDT · Perméthrine · Deltaméthrine · Insecticides · Mutation Kdr · Kisumu · Logbessou · Yassa · Douala · Cameroun · Afrique intertropicale

Abstract This study was conducted from May to June 2015 in Yassa (industrialized area) and Logbessou (non-industrialized area), two peri-urban areas of the city of Douala, Cameroon with the aim of an assessment of the spatial distribution of the *gambiae* complex, the determination of their resistance to insecticides and the distribution of the Kdr mutation. Mosquito larvae were collected by the dipping method and nursed to adult stage. The sensitivity of adult *Anopheles gambiae* s.l. populations to DDT and pyrethroids was assessed following WHO protocol. All tested mosquitoes were identified by PCR SINE. Only survivors were used to search for the Kdr mutation. In both areas, the *gambiae* complex included *An. coluzzii* and *An. gambiae* sympatric in their breeding sites. However, *An. gambiae* was predominant in Logbessou (88%) and *An. coluzzii* in Yassa (68%). Tests with deltamethrin, permethrin and DDT revealed mortality rates below 90% regardless of the area of origin of the mosquitoes. PCR diagnosis of Kdr mutation showed that over 95% of survivors harbored the Kdr gene in both sites, with resistant allele frequencies ranging from 0.96 to 1.0 in *An. gambiae* and from 0.89 to 0.96 in *An. coluzzii*. The strong resistance of *An. coluzzii* and

P. Ntonga Akono (✉) · A. Mbida Mbida
Laboratoire de biologie et physiologie animale,
Département de biologie animale, Faculté des sciences,
Université de Douala,
BP. 24 157 Douala, Cameroun
e-mail : patakono2000@yahoo.fr

A. Mbouangoro · M.F. Peka Nsangou
Laboratoire d'écologie et de parasitologie,
Département de biologie et physiologie animale,
Faculté des sciences,
Université de Yaounde I, BP. 812 Yaoundé, Cameroun

C. Ndo
Organisation de coordination pour la lutte contre les endémies
en Afrique Centrale, BP 15665 Yaoundé, Cameroun

S. Kekeunou
Laboratoire de zoologie,
Département de biologie et physiologie animale,
Faculté des sciences, Université de Yaoundé I,
BP. 812 Yaoundé, Cameroun

An. gambiae to insecticides highlights the need for developing new mosquito insecticides.

Keywords *Anopheles coluzzii* · *An. gambiae* · Insecticides · Kdr mutation · Kisumu · Logbessou · Yassa · Douala · Sub-Saharan Africa

Introduction

Depuis les décennies, la lutte contre le paludisme a été une priorité pour les pays endémiques et de nombreuses organisations internationales [27]. Au Cameroun, dans le souci d'impliquer à cette lutte les couches sociales même les plus défavorisées, les pouvoirs publics appuyés par de nombreuses organisations internationales ont pris des mesures parmi lesquelles la prise en charge gratuite des enfants de moins de 5 ans atteints du paludisme simple par toutes les formations sanitaires et la distribution gratuite de plusieurs millions de moustiquaires imprégnées à longue durée d'action (MILDA). L'utilisation de masse des MILDA semble entraîner une baisse significative du taux de piqûres et de la transmission du paludisme. Les phénomènes de résistance des populations de vecteurs vis-à-vis des insecticides en général, et des pyrèthrinoides en particulier, sont une expansion en Afrique, notamment dans les villes où les pesticides sont utilisés en agriculture et les déchets toxiques émis dans la nature [2,6,8,9,11,24]. Il est important de déterminer le profil de sensibilité des vecteurs vis-à-vis des insecticides utilisés pour imprégner les moustiquaires et les mécanismes de résistance existant dans les populations de vecteurs. À Douala, ces informations sont parcellaires et souvent obsolètes. La ville de Douala présente un visage éco-climatique hétérogène. À chaque faciès éco-climatique correspond probablement des mécanismes particuliers de résistance développés par les vecteurs. La réussite des opérations de lutte anti-vectorielle dans un tel contexte devrait prendre en compte des spécificités propres aux différents faciès éco-climatiques.

Les études entomologiques menées dans les quartiers Ndogpassi, Ndogbong Youpwe et Manoka ont montré que les vecteurs du paludisme dans la ville de Douala sont majoritairement *An. coluzzii* dans les quartiers centraux. Ce vecteur est devenu résistant au DDT, à la deltaméthrine et à la perméthrine. Cette résistance serait due à l'usage intempestif des pesticides en agriculture urbaine, à l'utilisation de masse des MILDA et à des émissions toxiques de certaines industries locales [6,15,22,35]. Les mécanismes de résistance impliqués sont soit une augmentation de l'activité des enzymes de détoxification, soit la présence des mutations L1014F et L1014S impliquées dans la résistance de type *knockdown resistance*. Dans les quartiers périphériques, peu de travaux relatifs à la distribution des vecteurs et à la détermination de leurs mécanismes de résistance aux insecticides ont été menés.

La présente étude fait le point sur la distribution des membres du complexe *An. gambiae*, leur résistance aux insecticides et la distribution de la mutation Kdr dans deux quartiers péri-urbains industrialisé (Yassa) et non industrialisé (Logbessou) de la ville de Douala.

Méthodologie

Site d'étude

L'étude a été menée à Douala (03°48'N, 10°08'E), ville portuaire d'environ 2,5 millions d'habitants (Fig. 1). Le climat est caractérisé par deux saisons pluvieuses (mars-juin et septembre-novembre) qui alternent avec deux saisons sèches (décembre-février et juillet-août). La température annuelle moyenne varie de 22 °C à 34 °C. L'humidité relative moyenne annuelle est de 80 % [36]. La pluviométrie annuelle moyenne est de 3 500 mm. Le réseau hydrographique est dense, comprenant des zones marécageuses, l'estuaire du Wouri et de nombreux petits affluents [16].

La collecte des larves a eu lieu à Logbessou et Yassa. Logbessou (04°05' N, 009°46' E), est un quartier péri-urbain avec une végétation progressivement dégradée par l'action anthropique. Des îlots de forêt persistent. Un chantier de construction de maisons est présent. La MILDA est le principal outil de protection contre les nuisances culicidiennes utilisé par les réfugiés centrafricains qui vivent temporairement dans les maisons en construction. Les égouts, les caniveaux, les fûts, les fosses, les puisards et les traces de pneus de camions peuvent constituer des gîtes de ponte [3].

Yassa (3°58' N, 9°49' E) est un quartier péri-urbain à l'est de la ville. Les activités principales sont l'agriculture, l'élevage et le commerce. Ce quartier est en outre caractérisé par l'implantation de sociétés industrielles de savonnerie et pétrolières. Les flaques d'eau et des traces de pneus de véhicules particulièrement visibles en saison pluvieuse constituent des gîtes de ponte.

Collecte et traitement des moustiques

Les populations d'anophèles destinés aux tests ont été collectées à l'état larvaire dans les gîtes naturels (égouts, caniveaux, fûts, fosses, puisards et traces de pneus de camions, flaques d'eau) suivant la méthode du *dipping* [32]. La collecte s'est déroulée pendant la petite saison des pluies, de mai à juin 2015 au rythme de cinq jours consécutifs par mois, simultanément dans les quartiers Logbessou et Yassa. Les larves d'anophèles collectées étaient élevées dans de l'eau provenant des gîtes et nourries avec du *Tetrababy fish food* [12]. Les adultes obtenus ont été morphologiquement identifiés [17,18] et les femelles adultes d'*An. gambiae* s.l. ont été soumises aux tests insecticides.

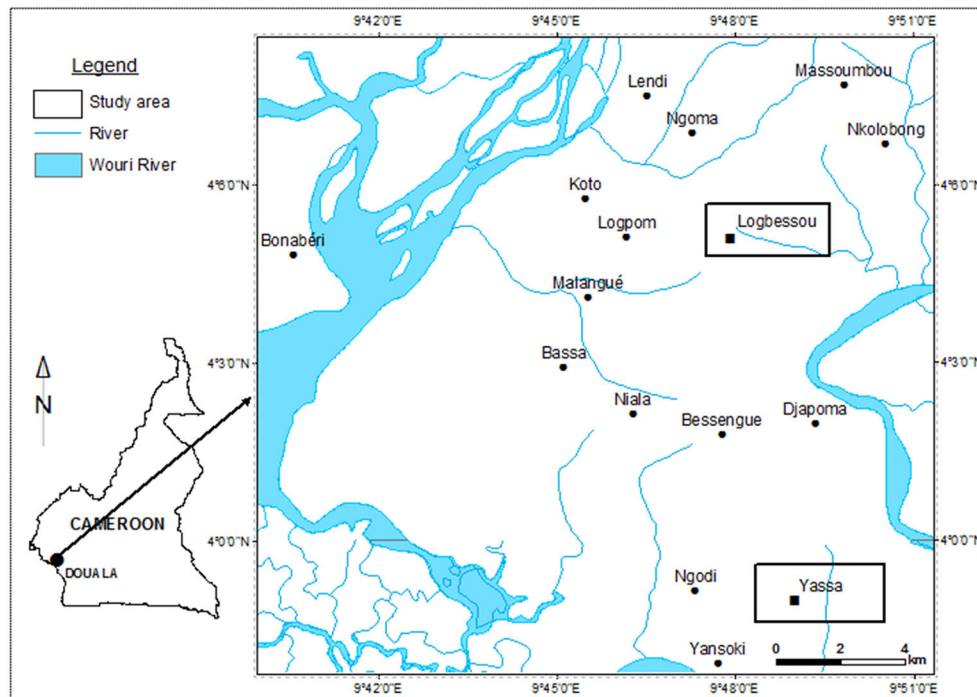


Fig. 1 Localisation des sites d'étude / *Location of study sites*

Tests de sensibilité aux insecticides

Les tests de sensibilité aux insecticides ont été effectués en utilisant des femelles adultes d'*An. gambiae* s.l. âgées de 2 à 4 jours, issues de l'élevage des larves collectées sur le terrain. La souche sensible de référence (souche Kisumu) domestiquée à l'OCEAC a été utilisée pour tester la qualité des papiers imprégnés. Le protocole était conforme à celui recommandé par l'OMS [26]. Les paramètres mesurés étaient les temps de *knock-down* ou temps nécessaire pour assommer 50 % (tkd_{50}) et 95 % (tkd_{95}) de moustiques après une heure de contact avec un insecticide de concentration létale pour une souche sensible ainsi que la mortalité au bout de 24 heures d'observation. Les concentrations suivantes ont été testées : DDT 4 %, perméthrine 0,75 % et deltaméthrine 0,05 %. Dans les tubes d'exposition, les moustiques assommés ont été dénombrés à intervalles de temps réguliers de 5 mn pendant 60 mn. Remis dans les tubes d'observation, les anophèles ont été nourris de solution de glucose à 10 %, puis la mortalité a été enregistrée au bout de 24 heures d'observation. Des tests utilisant des papiers non traités ont servi de témoins. Les taux de mortalité étaient corrigés lorsque celui des témoins était compris entre 5 et 20 % [1]. Les statuts de résistance et de susceptibilité des moustiques testés étaient évalués selon les critères suivants : taux de mortalité (< 90 %) = population résistante ; (90 % à 98 %) = résistance probable ; (> 98 %) = population sensible.

Les moustiques issus des tests de sensibilité repartis en trois lots (sensibles/résistants/témoins) ont été conservés

individuellement dans les tubes Eppendorf de 1,5 ml contenant du silicagel tapissé de coton et stockés à -20°C pour l'identification moléculaire des membres du complexe *An. gambiae* et la détection de la mutation Kdr.

Identification moléculaire des espèces du complexe *An. gambiae*

L'ADN génomique des moustiques a été extrait suivant un protocole utilisant le CTAB 2 % comme tampon de broyage. Les espèces du complexe *An. gambiae* s.l. ont été identifiées par la PCR SINE 200 [31]. La recherche de la présence de la mutation Kdr dans les échantillons d'anophèles résistants aux insecticides a été faite d'après le protocole de Martinez-Torres et al [21].

Résultats

Identification et distribution spatiale des espèces du complexe *An. gambiae* dans les sites d'étude

Au total, l'ADN génomique de 410 moustiques a été extrait en vue de procéder à l'identification moléculaire des espèces du complexe *An. gambiae*. Les populations d'*An. gambiae* s.l. des deux sites d'étude étaient constituées d'*An. coluzzii* et *An. gambiae*. À Logbessou sur 223 moustiques identifiés, *An. gambiae* représentait 87,5 % et *An. coluzzii* 12,0 %. À Yassa, sur 187 moustiques analysés, 68,5 % appartenait à

l'espèce *An. coluzzii* et 29,5 % à *An. gambiae* (Fig. 2) (différence significative, $p < 0,05$).

Tests de sensibilité aux insecticides

Au total, 871 femelles d'*An. gambiae* s.l. âgées de 2 à 4 jours ont été soumises à trois insecticides soit 296 moustiques provenant de Logbessou ; 275 provenant de Yassa et 300 moustiques de la souche témoin d'*An. gambiae*.

Temps de knock-down (tkd₅₀ et tkd₉₅)

À Logbessou, les tkd₅₀ ont été de 34,4 mn avec la deltaméthrine et supérieurs à 1 heure pour le DDT et la perméthrine. Les tkd₉₅ ont été supérieurs à 1 heure pour tous les trois insecticides. A Yassa, les tkd₅₀ ont été de 29,7 mn pour la deltaméthrine et supérieurs à 1 heure pour le DDT et la perméthrine. Les tkd₉₅ ont été supérieurs à 1 heure pour tous les trois insecticides.

Pour la souche Kisumu, les tkd₅₀ ont été de 9,5 mn ; de 10,7 mn et de 19,1 mn respectivement pour la deltaméthrine, la perméthrine et le DDT. Les tkd₉₅ ont été de 18,4 mn ; 17,2 mn et 31 mn respectivement pour la deltaméthrine, la perméthrine et le DDT (Tableau 1).

Taux de mortalité des femelles adultes d'*Anopheles gambiae* s.l.

Les taux de mortalité des populations d'*An. gambiae* s.l. obtenus 24 h après exposition aux doses discriminantes des trois insecticides étaient inférieurs à 90 % dans les deux sites d'étude (Tableau 2).

L'étude comparative des taux de mortalité entre les populations naturelles d'*An. Gambiae* s. l. de Logbessou et celles de Yassa est résumée dans la figure 3. Il n'y a pas de différence significative entre les mortalités moyennes d'*An. gambiae* s.l. provenant des deux sites d'étude quels que soient les insecticides testés ($P > 0,05$) (Tableau 3).

Distribution de la mutation Kdr

La fréquence de la mutation Kdr était élevée dans les deux sites d'étude. A Logbessou, sur 66 spécimens d'*An. gambiae* analysés, la totalité était porteuse de l'allèle (R) pour une fréquence allélique de 1 et sur les 12 spécimens d'*An. coluzzii*, 11 se sont révélés porteurs de l'allèle (R), soit une fréquence allélique de 0,96 (Tableau 4). À Yassa sur les 14 spécimens d'*An. gambiae* analysés, 13 sont porteurs de l'allèle (R) soit une fréquence allélique de 0,96 et sur les 57 spécimens d'*An. coluzzii* analysés, 47 étaient porteurs de l'allèle (R), soit une fréquence allélique de 0,89 (Tableau 4).

Discussion

L'identification moléculaire a révélé la présence de deux espèces du complexe *An. gambiae* s.l dans les sites prospectés : *An. gambiae* et *An. coluzzii*. Ces résultats sont conformes à ceux observés dans la ville de Douala [3,6,10]. Les travaux menés par ces auteurs ont signalé d'une part la prédominance de l'espèce *An. gambiae* dans les milieux périphériques peu anthropisés et d'autre part la prédominance d'*An. coluzzii* dans les centres urbains. Les larves d'*An. coluzzii* sont aptes à proliférer dans les gîtes contaminés par les polluants urbains [34]. Ce constat cadre bien avec

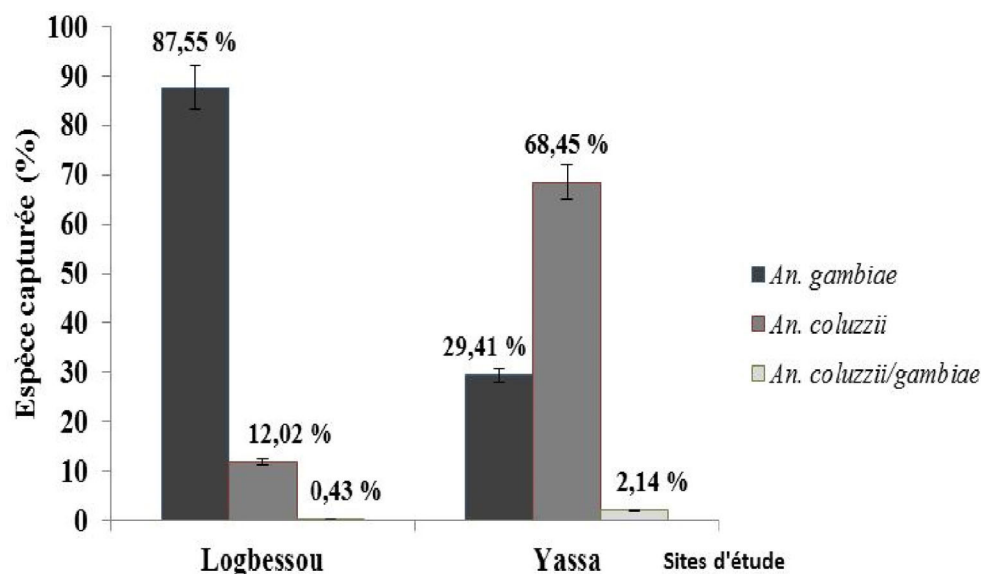


Fig. 2 Répartition des espèces d'*An. gambiae* s.l. dans les sites de collecte / *Repartition of An. gambiae species in the collection sites*

Tableau 1 Temps de knockdown observé chez trois souches d'*An. gambiae* s.l. durant l'exposition aux insecticides / *Knockdown time observed for three strains of An. gambiae s.l. during exposure to insecticides*

Souches	Insecticides %	N	tkd ₅₀ (min)[IC ₉₅]	tkd ₉₅ (min)[IC ₉₅]	Rtkd ₅₀
Kisumu	DDT 4 %	100	19,1 [17,8-21,1]	31,0 [17,2-20,4]	-
	Perm. 0,75 %	100	10,7 [7-11, 5]	17,2 [16,1-20,6]	-
	Delta. 0,05 %	100	9,5 [8,4-10,8]	18,4 [28,2-33,4]	-
Logbessou	DDT 4 %	100	> 60	> 60	-
	Perm. 0,75 %	99	> 60	> 60	-
	Delta. 0,05 %	97	34,4 [31-37]	> 60	3,62
Yassa	DDT 4 %	91	> 60	> 60	-
	Perm. 0,75 %	88	> 60	> 60	-
	Delta. 0,05 %	96	29,7 [27,8-31,6]	> 60	3,13

N : effectif testé ; IC₉₅ : intervalle de confiance à 95 % ; min : minute ; Delta. : deltaméthrine ; Perm. : perméthrine ; tkd₅₀ : temps nécessaire pour assommer 50 % de moustiques ; tkd₉₅ : temps nécessaire pour assommer 95 % de moustiques ; Rtkd₅₀ : ratio du tkd₅₀ de la souche sauvage sur celui de la souche Kisumu

Tableau 2 Mortalité des femelles d'*An. gambiae* s.l. obtenue après 24h d'observation / *Mortality of An. gambiae s.l. obtained after 24 hours of observation*

Souches	Insecticides (%)	N	Mortalité (%)	Témoins (%)	Statut
Kisumu	DDT 4 %	100	98 %	0	Sensible
	Perm. 0,75 %	100	100 %	0	Sensible
	Delta. 0,05 %	100	100 %	0	Sensible
Logbessou	DDT 4 %	100	27 %	0	Résistante
	Perm. 0,75 %	99	33,3 %	0	Résistante
	Delta. 0,05 %	97	82,50 %	0	Résistante
Yassa	DDT 4 %	91	17,60 %	0	Résistante
	Perm. 0,75 %	88	58 %	0	Résistante
	Delta. 0,05 %	96	83,30 %	0	Résistante

N : effectif testé ; Delta. : deltaméthrine ; Perm. : perméthrine

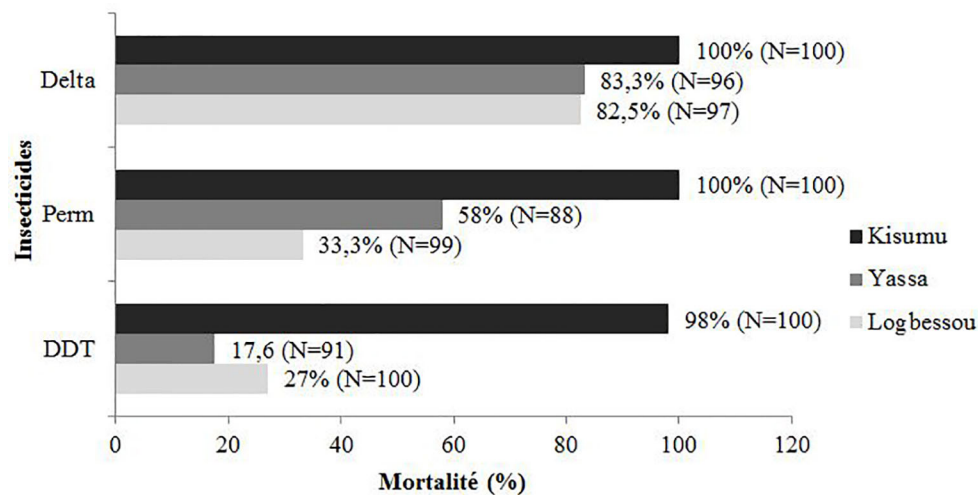


Fig. 3 Taux de mortalité de la souche Kisumu et des populations naturelles d'*An. gambiae* s.l. 24 h après expositions aux trois insecticides / *Mortality rate of the Kisumu strain and the natural populations of An. gambiae s.l. 24 hours after exposure to three insecticides*

Tableau 3 Comparaison des mortalités moyennes des populations d'*An. gambiae* s.l. de Logbessou et de Yassa (test H de Kruskal Wallis, $P < 0,05$) / *Comparison of the mean mortalities of An. gambiae s.l. of Logbessou and Yassa (Kruskal Wallis H test, $P < 0.05$)*

Insecticides testés	Origine de la souche		H	P
	Logbessou	Yassa		
DDT (4 %)	5,4±2,9*	3,52±4,69	18,78	0,21
Perméthrine (0,75 %)	6,66±1	11,60±5,56	2,61	0,11
Deltaméthrine (0,05 %)	18,5±2,2	16,65±0,82	0,02	0,82

* = $X \pm$ écart type

Tableau 4 Fréquences alléliques des mutations Kdr au sein des populations d'*An. gambiae* s.s. / *Allelic frequencies of Kdr mutations within populations of An. gambiae s.s.*

Sites	Espèces	N	Fréquences alléliques	
			R	S
Logbessou	<i>An. coluzzii</i>	12	0,96	0,04
	<i>An. gambiae</i>	66	1	0
Yassa	<i>An. coluzzii</i>	57	0,89	0,11
	<i>An. gambiae</i>	14	0,96	0,04
Total	<i>An. coluzzii</i>	69	0,91	0,09
	<i>An. gambiae</i>	80	0,99	0,01

S : allèle Kdr sensible ; R : allèle résistant ; N : nombre d'individus analysés

le mode de distribution d'*An. coluzzii* et *An. gambiae* observé à Logbessou et Yassa. En effet, Logbessou est une zone péri-urbaine qui connaît encore peu d'activités anthropiques tandis que le quartier Yassa est caractérisé par une anthropisation intense, en particulier industrielle. Des gîtes similaires d'*An. coluzzii* ont été signalés à Youpwé et Manoka (Douala) [15]. *An. coluzzii* et *An. gambiae* coexistent avec une prédominance d'*An. coluzzii* en zone urbaine et *An. gambiae* en zone rurale. Le mode de distribution de ces deux espèces du complexe *gambiae* a été décrit dans certaines villes africaines [19,33,37]. Nous n'avons pas observé *An. melas*, espèce dont les larves se développent préférentiellement dans les eaux saumâtres des milieux côtiers et insulaires d'Afrique [7,13]. Pourtant, Douala est une ville côtière et des enquêtes récentes ont rapporté la présence de cette espèce à Manoka, une localité insulaire de cette ville [15]. L'une des explications est l'éloignement des gîtes prospectés par rapport à la mer. Logbessou, situé à environ 15 km de la mer présente plutôt un visage forestier avec des gîtes favorables à *An. gambiae*. Yassa situé à 18 km de la mer est plus anthropisé et apparaît plus favorable à *An. coluzzii*. A signaler que notre enquête n'a porté que sur deux mois de capture.

L'étude a mis en évidence la large distribution de la résistance d'*An. gambiae* et *An. coluzzii* au DDT 4 %, à la perméthrine 0,75 % et à la deltaméthrine 0,05 %. L'utilisation massive des insecticides en agriculture urbaine et en santé publique peut être à l'origine des pressions conduisant à la sélection de la résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme [5,14,25]. A cela s'ajoutent les pollutions urbaines d'origine industrielle et domestique, l'utilisation régulière par la population d'insecticides et les distributions massives des MILDA ayant eu lieu au Cameroun en 2011 et 2015 [6,23]. Les taux de mortalité enregistrés dans les sites d'étude ont été tous inférieurs à 90 %. Les tests de sensibilité similaires menés en 2013 particulièrement sur les spécimens d'*An. gambiae* provenant de Logbessou avaient montré une sensibilité de cette espèce à la deltaméthrine [3]. En 2011, cette sensibilité avait été également significative sur la souche d'*An. gambiae* provenant de Ndogpassi, un quartier périphérique peuplé de la ville [4]. Une perte graduelle de la sensibilité des anophèles aux insecticides est observée. Des travaux menés dans d'autres villes tropicales ont abouti à la même conclusion [20,38]. Cette situation constitue une réelle menace à la réussite des stratégies de lutte antivectorielle en vigueur.

Nos résultats ont montré des fréquences très élevées (supérieures à 0,9) de l'allèle Kdr aussi bien chez *An. gambiae* que chez *An. coluzzii* dans les sites d'étude. Ces fréquences alléliques se sont avérées plus élevées que celles rapportées dans la ville de Douala [5], suggérant une tendance à la fixation de l'allèle Kdr au sein des populations du complexe *gambiae* dans cette ville. Des études similaires en Afrique centrale montrent que les moustiques examinés étaient tous porteurs de l'allèle Kdr ouest L1014F [28,30]. Cette mutation a également été trouvée dans les quartiers Youpwé et Manoka (Douala) [15]. La mutation de type Kdr L1014S n'est observée actuellement qu'en Afrique de l'Est. Au-delà de la résistance par mutation génique identifiée au sein des échantillons d'*An. gambiae* et *An. coluzzii*, il convient d'évoquer aussi la résistance métabolique impliquant les enzymes de détoxification (estérases). Les tests de sensibilité aux pyréthrinoides et DDT menés récemment sur les anophèles de Ndogbong (Douala) ont montré une augmentation des taux de mortalité des anophèles après une pré-exposition des moustiques au pypéronyl butoxide (PBO). Ce résultat suggère un autre mécanisme de résistance basé sur l'augmentation de l'activité des enzymes de détoxification qui inhibent la toxicité des insecticides en cause.

Conclusion

L'étude a montré une distribution hétérogène des membres du complexe *An. gambiae* dans les sites d'étude avec une forte concentration de l'espèce *An. gambiae* à Logbessou (quartier péri-urbain non industrialisé) et de l'espèce *An. coluzzii* à Yassa (quartier péri-urbain industrialisé). Les populations de ces deux espèces ont présenté un niveau de résistance élevé à la fois au DDT et aux pyréthrinoides. La grande fréquence de la mutation Kdr dans ces populations indique que ce mécanisme serait le principal impliqué sans exclure d'autres mécanismes de type métabolique. Ces informations devraient être prises en compte par le Programme national de lutte contre le paludisme (PNLP) lors de l'élaboration de stratégies de lutte anti-vectorielle intégrée dans la ville de Douala.

Remerciements Les auteurs remercient les populations de Yassa et Logbessou pour leur collaboration

Liens d'intérêts Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

1. Abott WS (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econom Entomol* 18:265–267
2. Akogbéto M, Yakoubou S (1999) Résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des pyréthrinoides utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires au Bénin, Afrique de l'Ouest. *Bull Soc Pathol Exot* 92(2):123–30 [<http://www.pathexo.fr/documents/articles-bull/T92-2-1913.pdf>]
3. Akono Ntonga P, Tonga C, Mbida Mbida JA, et al (2015) *Anopheles gambiae*, vecteur majeur du paludisme à Logbessou, zone péri-urbaine de Douala (Cameroun). *Bull Soc Pathol Exot* 108(5):360–8
4. Antonio-Nkondjio C, Defo-Talom B, Tagne-Fotso R, et al (2012) High mosquito burden and malaria transmission in a district of the city of Douala, Cameroon. *BMC Infect Dis* 12:275
5. Antonio-Nkondjio C, Demanou M, Etang J, Bouchite B (2013) Impact of cyfluthrin (Solfac EW050) impregnated bed nets on malaria transmission in the city of Mbandjock: lessons for the nationwide distribution of long-lasting insecticidal nets (LLINs) in Cameroon. *Parasit Vectors* 6(1):10
6. Antonio-Nkondjio C, Fossog BT, Ndo C, et al (2011) *Anopheles gambiae* distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): influence of urban agriculture and pollution. *Malar J* 10:154
7. Berzosa PJ, Cano J, Roche J, et al (2002) Malaria vectors in Bioko Island (Equatorial Guinea): PCR determination of the members of *Anopheles gambiae* Giles complex (Diptera: Culicidae) and pyrethroid knockdown resistance (Kdr) in *An. gambiae* sensu stricto. *J Vect Ecol* 27:102–6
8. Chandre F, Darrier F, Manga L, et al (1999) Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* sensu lato. *Bull World Health Organ* 77(3):230–4
9. Chouaïbou M, Etang J, Brévault T, et al (2008) Dynamics of insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae* s.l. from an area of extensive cotton cultivation in Northern Cameroon. *Trop Med Int Health* 13(4):476–86
10. Coetzee M, Hunt RH, Wilkerson R, et al (2013) *Anopheles coluzzii* and *Anopheles amharicus*, new members of the *Anopheles gambiae* complex. *Zootaxa* 3619:246–74
11. Coetzee M, van Wyk P, Booman M, et al (2006) Insecticides resistance in malaria vector mosquitoes in a gold mining town in Ghana and implications for malaria control. *Bull Soc Pathol Exot* 99(5):400–3 [<http://www.pathexo.fr/documents/articles-bull/T99-5-2857-b-4p.pdf>]
12. Desfontaine MA, Tchikangwa I, Le Goff G, et al (1991) Influence de l'alimentation des larves d'*Anopheles gambiae* (Diptera, Culicidae) sur le développement préimaginal en insectarium. *Bulletin de Liaison et de Documentation-OCEAC*. 98:12–14
13. Diop A, Molez JF, Konaté L, et al (2002) Rôle d'*Anopheles melas* Theobald (1903) dans la transmission du paludisme dans la mangrove du Saloum (Sénégal). *Parasite* 9(3):239–46
14. Etang J, Fondjo E, Chandre F, et al (2006) First report of knock-down mutations in the malaria vector *Anopheles gambiae* from Cameroon. *Am J Trop Med Hyg* 74(5):795–7
15. Etang J, Mbida Mbida A, Akono Ntonga P, et al (2016) *Anopheles coluzzii* larval habitat and insecticide resistance in the island area of Manoka, Cameroon. *BMC Infect Dis* 16:217
16. Fogwé NZ, Tchotsoua M (2007) Evaluation géographique de deux décennies de lutte contre les inondations dans la ville de Douala (Cameroun). Rapport, Université de Douala. Actes des JSIRAU, 6 p
17. Gillies MT, Coetzee M (1987) A Supplement to the *Anophelinae* of Africa South of the Sahara. (Afrotropical Region) Publications of the South African Institute for Medical Research No. 55. 146 p
18. Gillies MT, De Meillon B (1968) The *Anophelinae* of Africa south of the Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). Publications of the South African Institute for Medical Research No. 54. 343 p

19. Kamdem C, Tene Fossog B, Simard F, et al (2012) Anthropogenic Habitat Disturbance and Ecological Divergence between Incipient Species of the Malaria Mosquito *Anopheles gambiae*. PLOS ONE 7(6):e39453
20. Keïta M, Traoré S, Sogoba N, et al (2016) Susceptibilité d'*Anopheles gambiae* sensu lato aux insecticides communément utilisés dans la lutte antivectorielle au Mali. Bull Soc Pathol Exot 109 (1):39–45
21. Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson MS, et al (1998) Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (Kdr) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. Insect Mol Biol 7(2):179–84
22. Mbida Mbida A, Etang J, Akono Ntonga P, et al (2016) Preliminary investigation on aggressive culicidae fauna and malaria transmission in two wetlands of the Wouri river estuary, Littoral-Cameroon. Journal of Entomology and Zoology Studies 105(46):105–110
23. MINSANTE (2013) Enquête post campagne sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées a longue durée d'action. 109 p
24. Nwane P, Etang J, Chouaïbou M, et al (2011) Kdr-based insecticide resistance in *Anopheles gambiae* s.s populations in Cameroon: spread of the L1014F and L1014S mutations. BMC Res Notes 4:463
25. Nwane P, Etang J, Costantini C, et al (2009) Field evaluation of three commercial repellent formulations against afro tropical Vectors mosquitoes in Cameroon. Sciences et Médecine d'Afrique 1:21–2
26. OMS (2013) Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors. Geneva, Switzerland, 30 p
27. OMS (2015) Stratégie technique mondiale de lutte contre le paludisme 2016–2030, Genève, Suisse, 33 p
28. Pinto J, Lynd A, Elissa N, et al (2006) Co-occurrence of East and West African kdr mutations suggests high levels of resistance to pyrethroid insecticides in *Anopheles gambiae* from Libreville, Gabon. Med Vet Entomol 20(1):27–32
29. Ranson H, Jensen B, Wang X, et al (2000) Genetic mapping of two loci affecting DDT resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae*. Insect Mol Biol (5):499–507
30. Reimer LG, Tripet F, Slotman M, et al (2005) An unusual distribution of the kdr gene among populations of *Anopheles gambiae* on the island of Bioko, Equatorial Guinea. Insect Mol Biol 14 (6):683–8
31. Santolamazza F, Mancini E, Simard F, et al (2008) Insertion polymorphisms of SINE200 retrotransposons within speciation islands of *Anopheles gambiae* molecular forms. Malar J 7:163
32. Service MW (1993) Mosquito ecology: Field Sampling Methods, Vector biology and control, Elsevier Applied Science; 2nd edition. 988 p
33. Slotman MA, Reimer LJ, Thiemann T, et al (2006) Reduced recombination rate and genetic differentiation between the M and S forms of *Anopheles gambiae* s.s. Genetics 174(4):2081–93
34. Tene Fossog B, Ayala D, Acevedo P, et al (2015) Habitat segregation and ecological character displacement in cryptic African malaria mosquitoes. Evolutionary applications 8(4):326–45
35. Tene Fossog B, Poupardin R, Costantini C, et al (2013) Resistance to DDT in an urban setting: common mechanisms implicated in both M and S forms of *Anopheles gambiae* in the city of Yaoundé Cameroon. PLoS ONE 8(4):e61408
36. Voelckel J, Mouchet J (1959) Quelques aspects de la désinsectisation systématique en milieu urbain tropical. Méd Trop 3:19
37. Wondji CI, Frédéric S, Petrarca V, et al (2005) Species and populations of the *Anopheles gambiae* complex in Cameroon with special emphasis on chromosomal and molecular forms of *Anopheles gambiae* s.s. J Med Entomol 42(6):998–1005
38. Yadouleton AW, Padonou G, Asidi A, et al (2010) Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin. Malar J 9:83