

Contribution de L'agriculture dans la Sélection et la Distribution de la Résistance d'Anopheles Gambiae (Diptera, Culicidae) aux Insecticides le Long du Transect Sud-Nord en République du Beninn.

[Role of Agriculture in the Selection and Spread of Resistance of Anopheles Gambiae S.L (Diptera, Culicidae) to Insecticides Along the South-North Transect in Benin Republic]

YADOULETON Anges^{1,2*}, AGBANRIN Ramziyath², CHABI Christophe³, TCHIBOZO Carine, AHISSOU Fabrice², HOUNDETON Geraldo², SIDICK Aboubacar², AKOGBETO Martin².

¹Ecole Normale Supérieure de Natitingou; Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques

²Centre de Recherche Entomologique de Cotonou

³Faculté d'Agronomie - Université de Parakou



Résumé — Une étude réalisée sur le transect Sud-Nord du Benin a permis de montrer l'impact de l'utilisation des pesticides chimiques en zone agricole sur le niveau de résistance d'*Anopheles. gambiae*.

En effet, la fréquence de mutation *knock down Resistance* observée au sein des populations d'*An. gambiae*, en provenance des zones cotonnières et maraîchères à forte utilisation de pesticides chimiques est significativement plus importante que celle en provenance des zones à faible utilisation ou non de pesticides (zones de cultures vivrières et rizicole).

La mutation acétylcholinestérase a été retrouvée aussi, mais seulement au sein des populations de *An. gambiae* en provenance des zones de cultures à forte utilisation de pesticides chimiques.

Cette étude confirme une fois encore la contribution de l'agriculture dans la sélection de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides.

Abstract — A study carried out along the South-North transect in Benin has shown the impacts of the use of chemical pesticides in agricultural for crop protection in the selection and spread of resistance of *Anopheles gambiae* s.l. to insecticides

Indeed, the knock-down resistance frequency found in *An. gambiae* populations from the cotton and vegetable farming fields where farmers used a high dose of chemical pesticides, is significantly higher than the one from areas with low or no use of pesticides (food crop and rice growing areas).

The acetylcholinesterase mutation was also found, but only in *An. gambiae* populations from the areas where high dose of pesticides were used for pests control

These findings confirm once again the role of agriculture in the selection and spread of resistance of *Anopheles gambiae* s.l. to insecticides

Keywords --- agriculture; Insecticides; Resistance; *Anopheles gambiae*; Benin.

I. INTRODUCTION

Le paludisme est l'une des principales causes de mortalité et de morbidité chez les nourrissons et les femmes enceintes [1]. Dans l'attente d'un vaccin efficace, plusieurs initiatives ont été développées pour lutter contre cette pandémie dont la plus importante est la lutte anti-vectorielle à travers l'utilisation des Moustiquaires Imprégnées à longue Durée d'action (MILD) [1]. Dans la décennie 1990-2000, l'introduction des MILDs comme prévention contre les piqûres de moustiques a entraîné une réduction de la morbidité palustre allant de 40% à 63% chez les enfants au Kenya, en Tanzanie, en Guinée Bissau et en Gambie et a permis de sauver 5.500 vies sur 1000 en Gambie, au Kenya, au Ghana et au Burkina [2]. Selon Akogbéto *et al* [3], le poids du paludisme est en nette régression en Afrique au sud du Sahara grâce à une combinaison de plusieurs mesures de lutte. Cependant, un problème majeur limitant leur efficacité se pose: l'émergence de la résistance des vecteurs du paludisme aux pyréthrinoïdes, principaux insecticides utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires et les pulvérisations intra-domiciliaires [4].

Pour étudier l'impact des pesticides sur le développement de la résistance d'*An. gambiae* aux insecticides agricoles, nous avons déterminé le niveau de sensibilité d'*An. gambiae* à différents insecticides dans les zones à forte utilisation de pesticides (zones cotonnières à programme calendaire et à Lutte Etagée Ciblée et les zones maraîchères d'une part, et d'autre part dans les zones à faible utilisation (zones rizicoles). Les résultats obtenus ont été comparés à ceux d'une zone témoin (zones céréalières) où la nécessité d'utilisation d'insecticide n'est pas de règle à cause de l'importance des ravageurs.

Par ailleurs, en admettant que le type de mécanisme de résistance développé est fonction de la pression insecticide sur les moustiques, nous avons recherché chaque la mutation knock down resistance (*Kdr*) et celle

d'acétylcholinestérase (*Ace-1R*) dans les différentes zones sélectionnées.

II. MATERIEL ET METHODES

2-1.1- Zones d'études

Dans le but de connaître l'impact des pesticides agricoles sur la sensibilité d'*An. gambiae* s.l., des zones à forte et à faible utilisation des pesticides par les paysans pour lutter contre les ravageurs des cultures ont été choisies du sud au nord du Bénin.

Dans ce travail, les zones à forte utilisation de pesticides sont les sites cotonniers à programme calendaire, à Lutte Etagée Ciblée (LEC) et les périmètres maraîchers où les paysans font entre 4 et 6 traitements de cyfluthrine et d'alpha- cyperméthrine à 250 g/ha/an avant la récolte. A cet effet, trois sites maraîchers ont été choisis dont deux au sud du Bénin (Houeyiho à Cotonou, Acron à Porto-Novo) et un au nord (Azèrèkè à Parakou) (figure 1), avec quatre sites de culture de coton (Parakou ; N'dali ; Kandi et Banikoara) dans les départements du Borgou et de l'Alibori. Ce choix a pris en compte les diverses stratégies de protection phytosanitaire contre les ravageurs des cultures (figure 1). En effet, dans les zones cotonnières de Parakou, Kandi et Banikoara, un champ de coton à traitement calendaire (traitement qui se fait suivant un calendrier bien fixe où les paysans pratiquent 6 traitements insecticides à forte dose pendant le cycle du coton) a été choisi dans chacune de ces localités. De plus, à Kandi et à Banikoara, un champ de coton à traitement biologique (sans traitement insecticide et sans engrais chimique) a été choisi. Les champs cotonniers à LEC ont été choisis à N'dali, Kandi et à Banikoara. La méthode LEC consiste à ne traiter avec une faible dose d'insecticide les champs que lorsque le seuil d'attaque du cotonnier par les ravageurs est atteint (5 larves d'*Helicoverpa armigera* échantillonnés sur 50 plants de coton).

En plus des zones ci-dessus citées, une zone à faible utilisation de pesticides agricoles et qui se définit comme

les zones où les paysans font au plus deux traitements avant la récolte à une dose de 10g/ha/an a été prise en compte. Dans le présent travail, la zone rizicole de Malan ville au nord du Bénin dans le département de l'Alibori a été choisie pour investigation. Cette zone rizicole est un périmètre de 70 hectares. Deux cultures de riz sont pratiquées par an dont une en contre saison. L'utilisation d'insecticide reste faible dans cette localité.

Les zones céréalières ont été choisies comme zones témoins. Le choix des milieux de culture de céréales s'explique par le fait que ces produits se développent sans apport d'engrais et de pesticides chimiques ; par conséquent,

la pression sélective due à l'utilisation des insecticides est très faible, d'où la possibilité que les moustiques de ces milieux soient sensibles aux insecticides. Trois localités (Comè, Kétou et Séhouè) au sud du Bénin ont été choisies.

Le choix des localités prospectées a tenu compte des conditions climatiques, des pratiques habituelles de la population en matière de protection contre les piqûres des moustiques et des pratiques paysannes pour lutter contre les ravageurs des cultures.

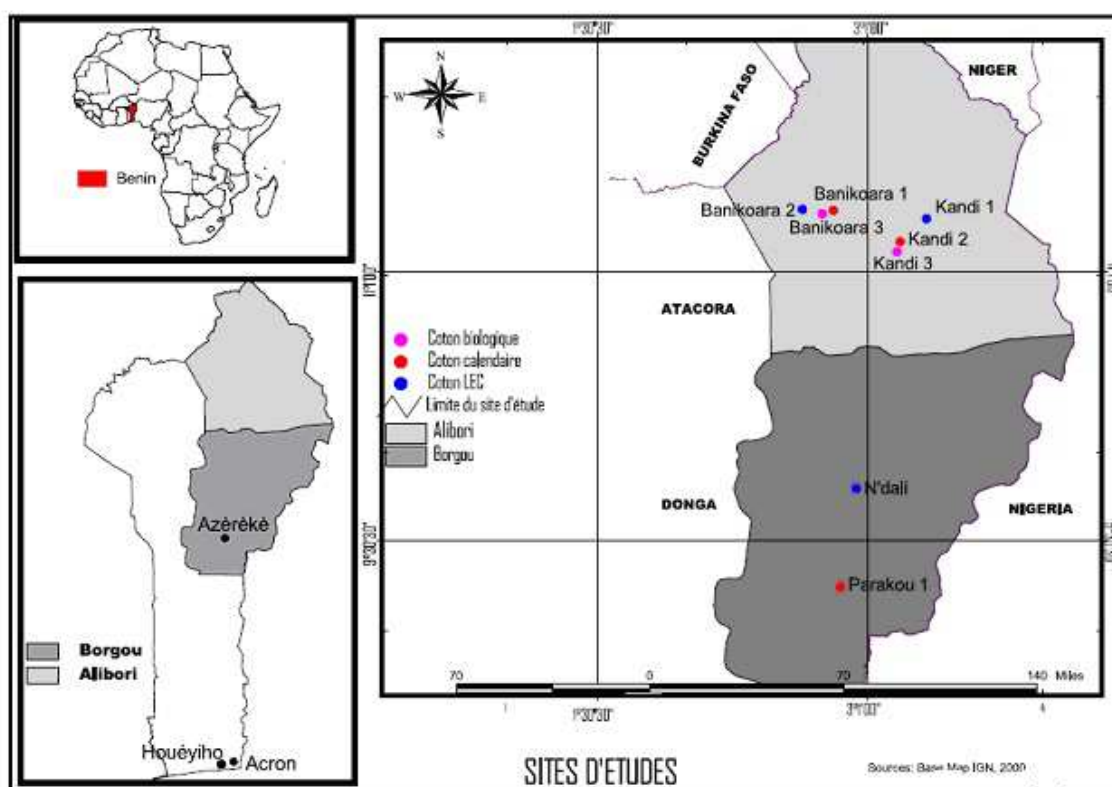


Figure 1: Carte du Bénin indiquant les sites d'étude

2.1-2- Enquêtes CAP.

L'enquête CAP (Connaissance, Attitude, Pratique) a pris en compte les paysans des périmètres maraîchers, rizicoles, cotonniers et céréalières précédemment cités. Ces paysans ont été soumis à un questionnaire quantitatif et qualitatif. La

taille de l'échantillon a été déterminée suivant la méthode d'Anderson [5] et l'orientation du choix des paysans à interviewer a été faite suivant la technique de bouteille [6]. Cette technique consiste à jeter la bouteille de façon

quelconque. Le bout de la bouteille indique donc le sens qu'il faut utiliser pour aller interroger les paysans.

Les questionnaires ont porté, entre autres, a) sur l'utilisation ou non de pesticides chimiques par les paysans, b) le devenir des emballages de pesticides, c) les doses d'application et les fréquences de traitement des cultures, d) les lieux d'achat.

Les outils de recueil des données qualitatives ont également porté sur l'observation directe sur le terrain et sur des entretiens individuels et collectifs (groupes de parade).

2.1.3 Sensibilité des anophèles aux insecticides

2.1.3-1. Echantillonnage et élevage des larves

Des prospections larvaires ont été organisées dans les diverses zones d'études tant en saison sèche qu'en saison pluvieuse de janvier 2015 à décembre 2016. Les larves récoltées ont été ramenées à l'insectarium du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) pour élevage. Les adultes issus de l'émergence des larves collectées sur le terrain et mis en cage sont nourris à une solution à 20% de saccharose. Les femelles adultes de 2 à 5 jours sont isolées pour être soumises au test de sensibilité/résistance.

2.1.3-2. Tests de sensibilité

Les tests sont réalisés avec des papiers imprégnés de deltaméthrine à la dose diagnostique de 0,05% Le choix des doses diagnostiques des papiers imprégnés repose sur les recommandations de l'OMS en matière de ces tests [1]. La sensibilité des moustiques à ce produit (delthamétrine) est comparée à celle d'un autre pyréthrianoïde : la perméthrine à 0,75% et d'un organochloré, le DDT à 4% (dose diagnostique). Nous avons testé le DDT pour vérifier s'il existe une résistance croisée entre les pyréthrianoïdes et les organochlorés. Les moustiques ont été aussi soumis aux papiers imprégnés de bendiocarb à 0,1% et les tests ont été réalisés selon le protocole OMS en tube cylindrique [1]. Le temps d'exposition des moustiques aux papiers imprégnés

est de 60 minutes et le temps d'observation avant la lecture des résultats est de 24 heures. Dès l'exposition des moustiques à l'insecticide, le nombre de moustiques "knocked-down" (*kd*), c'est-à-dire qui tombent inanimés au fond des tubes OMS est noté après 10, 15, 20, 30, 45, 60 minutes. Après les tests, les moustiques morts et vivants sont conservés séparément sur du silicagel dans des tubes eppendorf et stockés à -20°C (congélateur) pour la recherche des mécanismes de résistance.

Dans le cadre de notre étude, nous avons considéré comme population sensible toute population dont la mortalité est supérieure ou égale à 97%. Lorsque la mortalité est inférieure à 80% la population est considérée comme résistante. Entre les deux valeurs, nous considérons qu'il s'agit d'une suspicion de résistance (baisse de sensibilité).

2.2. Identification des espèces et mécanismes de résistance des anophèles issus des tests de sensibilité.

Identification des espèces des anophèles issues des tests de sensibilité. (Annexe 1)

Les moustiques issus des tests réalisés avec la perméthrine et le DDT ont été soumis aux tests de biologie. Environ 25 à 35 femelles d'anophèles de chaque site d'étude ont été analysées à la PCR pour la détermination des différentes espèces d'*An. gambiae* s.l.

Les mutations *Kdr* et *Ace-1* ont été déterminées respectivement grâce aux protocoles de Martinez [4] et de Weill [7].

III. RESULTATS

3.1. Enquête sur l'utilisation des insecticides et fertilisants au Bénin

Les résultats de nos investigations ont montré que 97% des paysans interrogés font recours à plusieurs familles d'insecticides chimiques (Tableau I) pour traiter les champs de cultures de légumes et de coton.

Au cours de nos investigations, 67% des paysans déclarent se procurer des pesticides dans des structures illégales de vente de pesticides ("marché noir ") contre 33% dans les structures agréées par l'Etat

Dans les sites cotonniers à programme à LEC et calendaire, la plupart des paysans utilisent des herbicides juste après les semis. La quasi-totalité de ces paysans (cotonculteurs et jardiniers) déclarent appliquer l'engrais NPK (azote-phosphate-potassium) sur leurs parcelles 20 jours environ après la germination à la dose de 150 à 200 kg/ha, puis l'urée trois semaines plus tard à la dose de 1,5 kg/ ha. Par contre, dans les sites cotonniers à programme biologique, les paysans utilisent de l'engrais organique et du compost à base de déjections d'animaux (bovins et/ou caprins).

Cependant, dans les sites cotonniers à traitement biologique, aucun insecticide n'est utilisé. Les planteurs utilisent un mélange composé de feuilles de Neem ou de papayer auquel ils ajoutent du piment et du savon local communément appelé "Koto".

. 3.2. Sensibilité d'*Anopheles gambiae* aux insecticides

3.2.1. Niveau de résistance des populations d'anophèles aux insecticides

Plus de 8.800 moustiques ont été mis au contact des papiers imprégnés d'insecticide de perméthrine à 0,75%, de deltaméthrine à 0,05%, de DDT à 4%, et de bendiocarb à 0,1%. Il ressort que :

a)avec la perméthrine

- En milieu maraîcher (Houéyiho, Acron et Azèrèkè), 600 femelles d'*An. gambiae* ont été testées (200 par site) aux papiers imprégnés de perméthrine. Le pourcentage de mortalité observé a été respectivement de 32%, 33% et 35% à Houeyiho, Acron et à Azèrèkè. Ces pourcentages indiquent une forte résistance des populations d'*An. gambiae* issues des milieux maraîchers à la perméthrine (Figure 2).

- En zone cotonnière (Parakou, N'dali, Kandi, et Banikoara) à traitement calendaire, sur 200 moustiques testés dans chaque localité à la perméthrine, un pourcentage de mortalité de 22% en moyenne dans chacune de ces trois localités a été obtenu. Ces pourcentages indiquent une forte résistance des populations d'*An. gambiae* s.l issues des milieux cotonniers à traitement calendaire (Figure 2). Le même constat a été fait dans les champs cotonniers à traitement LEC en ce qui concerne le taux de mortalité observé. En effet, on note une résistance à la perméthrine avec une moyenne de 25% de mortalité sur tous les sites. Par contre, les populations d'*An. gambiae* issues des zones cotonnières à programme biologique ont développé une suspicion de résistance avec une moyenne de 94% de mortalité.
- En zone rizicole, les populations d'*An. gambiae* s.l issues du périmètre rizicole de Malanville ont été résistantes à la perméthrine. En effet sur 200 femelles d'*An. gambiae* s.l soumises à la perméthrine, on observe un taux de mortalité 85% à la perméthrine.
- Les populations d'*An. gambiae* s.l issues des zones céréalières ont été aussi résistantes (79% de mortalité) à la perméthrine

Tableau I : Insecticides régulièrement utilisés sur les sites maraîchers, cotonniers et rizicoles.

Nom commercial	Nom de la matière active	Famille
Cyhalone	Deltaméthrine	Pyréthriinoïde
Decis	Deltaméthrine	Pyréthriinoïde
Kinikini	Mélange Cyfluthrine+Malathion	Pyréthriinoïde + organophosphoré
Cytoate 335ec	Mélange Cyperméthrine 35 G/L +Diméthoate 300 G/L	Pyréthriinoïde + organophosphoré
Cypercal D335	Cyperméthrine	Pyréthriinoïde
Dursban B18/300	Mélange Cyfluthrine 18 G/L – Chlopyriphos Ethyle 300 G/L	Pyréthriinoïde + organophosphoré
Malathion	Malathion 500 G/L	organophosphoré
Nurelle D35/300	Mélange Cyperméthrine 35 G/L +Chlorpyriphos Méthyl 300 G/L	Pyréthriinoïde + organophosphoré
Furadan	Carbofuran	Carbamate
Orthène 50	Acéphate	Carbamate
Callisulfan 350ec	Endosulfan 350g/L	Cyclodiène

Source : MAEP, 2016

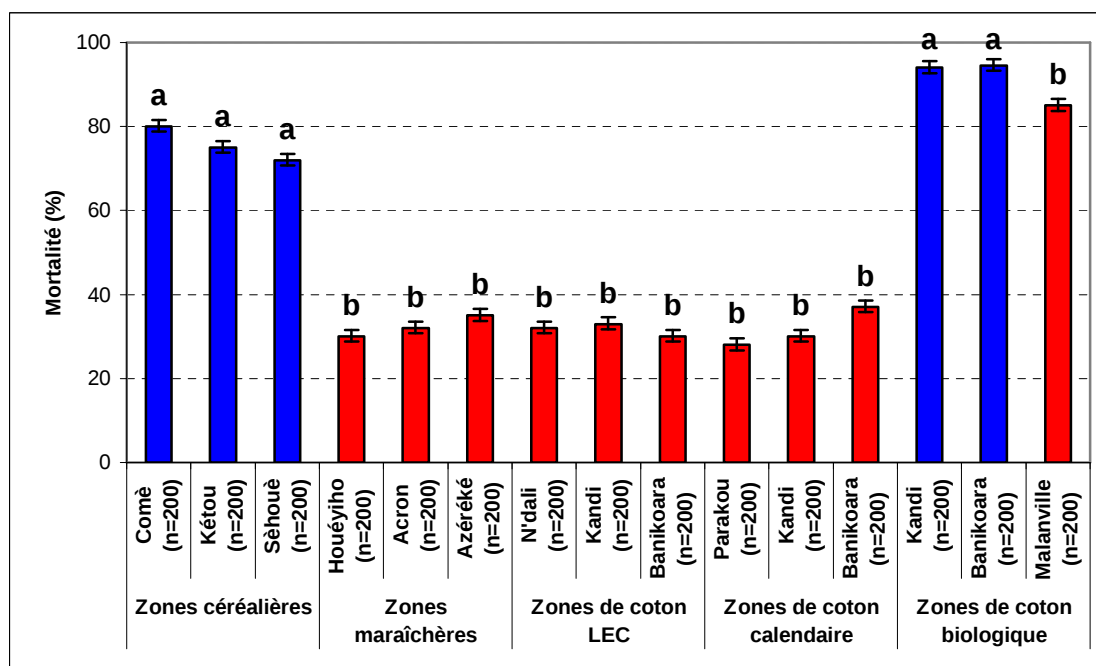


Figure 2: Mortalité observée après exposition des populations d'*An. gambiae* à la perméthrine à 0,75% selon le milieu et la zone de culture de provenance des anophèles. (Les taux de mortalité portant la même lettre en exposant ne sont pas significativement différents $P > 0,05$)

b) avec le DDT

- Concernant le DDT à 4%, le niveau de résistance est plus élevé. A peine 20% des spécimens testés (l'ensemble des trois sites maraîchers) sont morts (Figure 3).
- Dans les sites cotonniers calendaires, le niveau de résistance est plus élevé. A peine 13% des spécimens testés sont aussi morts (Figure 3). Le même constat a été fait dans les champs cotonniers à traitement LEC en ce qui concerne le taux de mortalité observé avec cet insecticide. La résistance au DDT a été observée dans les populations des moustiques issues des sites cotonniers à traitement biologique mais moindre que ceux des programmes LEC et calendaires.
- On note aussi une résistance dans la zone rizicole et céréalière, avec 54% et 48% de mortalité respectivement.

c) avec le bendiocarb et la delthaméthrine

Les populations d'*Anopheles gambiae* s.l issues des divers sites d'étude ont fait preuve d'une grande sensibilité au bendiocarb et à la deltaméthrine (figure 6 & figure 7). Sur 600 femelles d'*An. gambiae* s.l testées par insecticide, à peine 4 moustiques ont survécu.

3.2.2. Mécanisme de résistance : PCR espèces, formes, *Kdr* et *Ace-1*

Dans chaque localité, 200 moustiques ont été analysés pour la recherche des différentes formes d'*An. gambiae* s.l et des mécanismes de résistance *Kdr* et *Ace-1*.

- Dans les sites maraîchers (Acron, Houeyiho et Azèrèkè), céréalières (Kétou ; Comè et Sèhouè) et rizicole (Malanville), la quasi-totalité des moustiques analysés à la Polymerase Chain Reaction (PCR) appartiennent à l'espèce *An.*

gambiae s.s. La PCR espèce révèle 65% d'*An. gambiae* s.s contre 35% d'*An. arabiensis*.

- Dans les sites cotonniers, *An. gambiae* s.s représentait en moyenne 75% contre 25% d'*An. arabiensis* (Tableau II)
- ❖ Le gène *Kdr* semble être le principal mécanisme de résistance observée au sein de ces populations d'*An. gambiae* avec une forte fréquence (Tableau 2) dans les moustiques issus des sites cotonniers à traitement Calendaire (0,9 en moyenne), LEC (0,85) et dans les sites maraîchers (0,9). Les faibles fréquences de cette mutation (0,45 en moyenne) ont été observées au sein des populations de

moustiques issus des sites de cultures rizicoles, céréalières et de coton biologique ne nécessitant pas l'utilisation d'insecticide.

- ❖ La mutation *Ace-1* a été également mise en évidence mais en de très faibles fréquences variant entre 0,00 à 0,06. Les quelques rares moustiques qui ont développé cette mutation ont été retrouvés dans les sites cotonniers à traitement calendaire, LEC et dans les sites maraîchers.

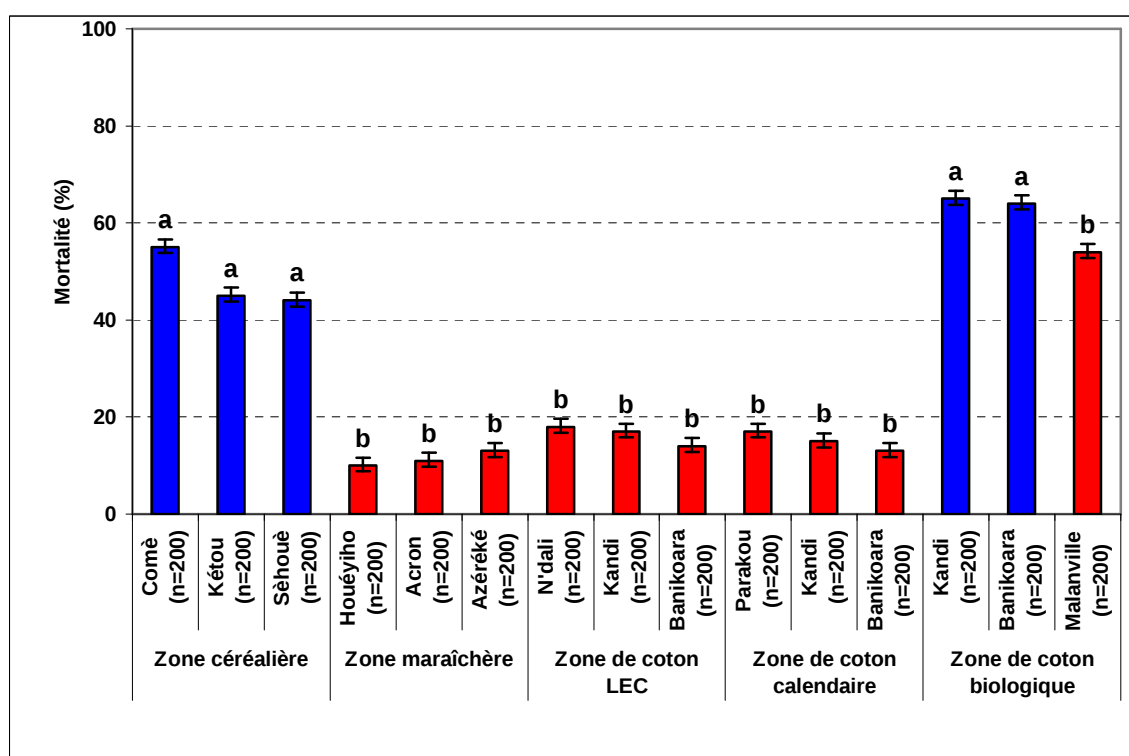


Figure 3 : Mortalité observée après exposition des populations d'*An. gambiae* au DDT 4% selon le milieu et la zone de culture de provenance des anophèles.

Tableau II : Répartition des formes, des espèces et des fréquences *Kdr* et *Ace-1* d'*An. gambiae* s.l'issue des zones d'études

	PCR_Espèces		Pcr_Kdr	Pcr Ace-1	
	Localités	%Aa	%Ag	fréquence	fréquence
Zones de cultures maraîchères	Houeyiho	0	100	0,85**	0,002
	Acron	0	100	0,84**	0,002
	Azèrèkè	35	65	0,90**	0,004
Zones de coton calendaire	Parakou	22	78	0,93**	0
	Banikoara	3	97	0,93**	0,06
	Kandi	5	95	0,94**	0,06
Zones de coton LEC	N'dali	30	70	0,85**	0,03
	Kandi	4	96	0,88**	0,03
	Banikoara	2	98	0,87**	0,03
Zones de coton Biologique	Kandi	5	95	0,58*	0
	Banikoara	8	92	0,54*	0
Zones rizicoles	Malanville	0	100	0,45*	0
Zones céréalières	Comè	0	100	0,54*	0
	Sèhouè	0	100	0,56*	0
	Kétou	0	100	0,55*	0

Aa = *An. arabiensis*; Ag = *An. gambiae* s.s. (**) La fréquence du gène *Kdr* et *Ace-1* des zones de culture cotonnières et maraîchères est significativement plus importante par rapport à celle (*) des zones de culture sans insecticides (P <0,05).

IV. DISCUSSION ET CONCLUSION.

Anopheles gambiae, principal vecteur du paludisme en Afrique, a développé une forte résistance vis-à-vis des insecticides dans les zones à forte et à faible utilisation d'insecticides agricoles (zones cotonnières, maraîchères, rizicoles et céréalières) au Bénin. Cette résistance est observée essentiellement avec la perméthrine et le DDT. Contrairement à ce à quoi nous nous attendions, cette résistance a été observée non seulement dans les zones urbaines et dans les zones rurales caractérisées par la culture de coton et du maraîchage, mais aussi dans les milieux ruraux où l'on distingue une agriculture traditionnelle de céréales qui ne nécessite ni l'usage d'insecticides agricoles, ni d'engrais. Cette résistance croisée aux Pyréthrinoides et au DDT observée dans les zones agricoles cotonnières (exceptées les zones à traitement biologique), zones maraîchères, céréalières et rizicoles est due à la forte utilisation d'insecticides agricoles contre les ravageurs de cultures. En effet, les pratiques paysannes en matière d'utilisation d'insecticides dans les zones maraîchères et surtout cotonnières pour lutter contre *Helicoverpa armigera* (principal ravageur du coton) et *plutella xylostella* (principal ravageur du chou) constituent un facteur de sélection d'insectes résistants non seulement au niveau des ravageurs des cultures mais aussi chez les vecteurs du paludisme [8]. Après les traitements insecticides, des particules de pesticides entrent en contact avec les gîtes larvaires. Ces particules exercent soit une action létale sur les larves de certaines populations d'insectes soit une pression sélective et qui conduit progressivement à la sélection de la résistance aux insecticides chez certaines populations de moustiques notamment chez *An. gambiae*.

Les travaux de Yadouléon et al. [9] et de Akogbéto et al. [10] ont montré que de nombreux produits chimiques sont utilisés contre les ravageurs dans les zones agricoles précédemment citées. Ces auteurs pensent que cette utilisation massive de pesticides dans le monde agricole au

Bénin serait due à la libéralisation du secteur d'intrant au Bénin. Par ailleurs, les pratiques paysannes en matière d'utilisation de ces insecticides constituent un facteur de sélection d'insectes résistants non seulement au niveau des ravageurs des cultures mais aussi chez les vecteurs du paludisme [8]. Or il est admis que les pyréthrinoides sont les seuls insecticides recommandés par l'OMS dans le cadre de l'imprégnation des moustiquaires et qui se trouvent utilisés aussi en agriculture pour le contrôle des ravageurs des cultures ce qui fait naître des problèmes de résistance chez les ravageurs et vecteurs du paludisme et complique la lutte palustre.

Au Bénin, les pyréthrinoides ont été introduits en agriculture depuis 1980. On ne peut donc pas exclure qu'après 30 ans d'utilisation, on n'observe pas de signes de résistance chez certaines populations d'insectes notamment *Helicoverpa armigera*. En effet, la résistance d'*Helicoverpa armigera* aux insecticides s'est accrue depuis les 1990 du fait que 2,5 millions de litres d'insecticides sont appliqués annuellement au Burkina-Faso par exemple dans les champs cotonniers [11] pour lutter contre ce ravageur afin de limiter les pertes de production liées au parasitisme. L'augmentation du niveau de résistance des populations d'*An. gambiae* issues des zones sous traitement insecticides par rapport à celles issues des zones sans traitement insecticide serait la preuve que l'utilisation d'insecticide pour contrôler les ravageurs des cultures est un des facteurs qui contribue à la sélection de la résistance des vecteurs du paludisme. Ce résultat rappelle les travaux de Fanello [12] et de Djogbénou [13] qui ont montré que la résistance aux pyréthrinoides et au DDT est beaucoup plus élevée dans les zones cotonnières que dans les zones de cultures vivrières.

La suspicion de résistance à la perméthrine au niveau des populations d'*An. gambiae* du programme biologique pourrait être due au fait que les sites actuels de ce programme biologique étaient, il y a dix ans des parcelles de coton à programme calendaire où d'importantes quantités

d'insecticides étaient déversées pour lutter contre les ravageurs du coton.

Si la résistance au DDT a été observée dans tous les programmes, certains auteurs [14-16] pensent que cette résistance pourrait s'expliquer par les pulvérisations massives au DDT faites dans les années 1950s dans le cadre de l'élimination du ver de Guinée et des vecteurs du paludisme en Afrique sub-sahélienne [17]. Le DDT ayant une forte persistance dans le sol et dans la chaîne alimentaire, il serait évident qu'après plus de 50 années d'utilisation, cet insecticide aurait sélectionné la résistance chez les vecteurs du paludisme.

La forte fréquence du gène *Kdr* dans les sites sous traitements insecticides par rapport au témoin rappelle les résultats de Diabaté [11]. Cet auteur a montré que la fréquence des gènes de résistance *Kdr* chez *An. gambiae* est plus élevée dans les zones cotonnières habituellement soumises à des traitements insecticides que les zones rurales où les paysans ne pratiquent que les cultures vivrières. La mutation *Kdr* serait responsable de la sélection de la résistance d'*An. gambiae* au DDT et aux pyréthrinoïdes en Afrique de l'Ouest. Ces quelques exemples sont la preuve que l'hypothèse émise par plusieurs auteurs sur la contribution de l'agriculture dans la sélection de la résistance des vecteurs aux insecticides semble être vérifiée.

La résistance *Kdr* n'est seulement pas le seul mécanisme de résistance au sud du Bénin. Les travaux de Corbel [18] et de Yadouleton [19] au sud du Bénin ont montré l'existence de la mutation *Ace-1*. Même si les auteurs cités l'affirment, elle existe en de très faibles fréquences et concorde avec les travaux de Djènontin [20] au Bénin sur l'existence en faible fréquence de cette mutation.

L'absence de résistance phénotypique au bendiocarb qui s'est manifestée par des fréquences insignifiantes voire nulles de *Ace-1* est un espoir pour le Bénin qui s'investit

dans la recherche des alternatives aux pyréthrinoïdes dans la lutte anti-vectorielle basée sur les aspersions intra domiciliaires de bendiocarb [21]. Toutefois, il est souhaitable que périodiquement, l'évolution de la situation soit suivie pour détecter le moindre changement.

REFERENCES

- [1] WHO (1998) : Evaluation de la santé. Rapport sur la Santé dans le monde. La vie au 21^e siècle, une perspective pour tous, éd. *World Health Organisation*, Genève, Suisse, pp. 43-65.
- [2] Lengeler c, Cattani J. and De Savigny D (1996): Net gain. A new method for preventing malaria deaths. IDRC Ottawa OMS Genève, 189 p.
- [3] Akogbéto M, Padonou GG, Gbénou D, Irish S, Yadouleton A. (2010): Bendiocarb : a potential alternative against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* in Benin, West Africa in *Malaria Journal*, (9) p. 204.
- [4] Martinez TD, 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
- [5] Anderson N, Hobo L (1993): Sociologie des sans-abris. Paris, Nathan.
- [6] Snedecor GW, Cochran WG : Méthodes statistiques. *Association de Coordination Technique Agricole* (Ed.), 1971 ; 649 p.
- [7] Weill M, Malcolm C, Chandre, Mogensen K, Berthomieu A, Marquine M, Raymond M: The unique mutation in *ace-1* giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect Mol* 2004, 9:1–7.
- [8] Martin T, Assogba-Komlan F, Sidick I, Ahle V, Chandre F: An acaricide-treated net to control phytophagous mites. *Crop Protection* 2010, 5: 470-475.
- [9] Yadouleton AW M, Asidi A, Rousseau FD, Braïma J, Agossou CD, and Akogbeto MC: Development of vegetable farming: a cause of the emergence of insecticide resistance in populations of *Anopheles gambiae* in urban areas of Benin. *Malar J.* 2009, 8: 103.

- [10] Akogbeto M C, Djouaka, Noukpo H (2005): Use of agricultural insecticides in Benin. In *Bull Soc Path Exo*, (98) pp 400-405.
- [11] Diabate A, Baldet T, Chandre F, Akogbéto M, Guiguemde RT, Darriet F, Brengues C, Guillet P, Hemingway J, Graham JS, Hougard JM: The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae* s.l. in Burkina Faso. *Am J Trop Med Hyg* 2002c, 67: 617–622.
- [12] Fanello C, Petrarca V, Torre D, Santolamazza A, Dolo F, Coulibaly G, Allouche MA, Curtis CG, 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.
- [13] Djogbénou L, Dabire R, Diabate A, Kengne P, Akogbeto M, Hougard JM, Chandre F: Identification and Geographic Distribution of the ACE-1R Mutation in the Malaria Vector *Anopheles gambiae* in South-Western Burkina Faso, West Africa. *Am J Trop Med Hyg* 2008, 78: 298–302.
- [14] Wondji C, Simard, F, and Fontenille D (2002): Evidence for genetic differentiation between the molecular forms M and S within the Forest chromosomal form of *Anopheles gambiae* in an area of sympatry. *Insect Mol Biol*, (11) pp. 11-19
- [15] Tripet F, Toure Y T, Dolo G, and Lanzaro GC (2003): Frequency of multiple inseminations in field-collected *Anopheles gambiae* females revealed by DNA analysis of transferred sperm. *Am J Trop Med Hyg*, (68) pp. 1-5.
- [16] Vulule JM, Beach RF, Atieli FK, McAllister JC, Brogdon WG, Roberts JM, Mwangi RW, and Hawley WA: Elevated oxidase and esterase levels associated with permethrin tolerance in *Anopheles gambiae* from Kenyan villages using permethrin-impregnated nets. *Med Vet Entomol* 1999, 13: 239-244.
- [17] Hougard JM, Duchon S, Darriet F, Zaim M, Rogier C. and Guillet P: Comparative performances, under laboratory conditions, of seven pyrethroid insecticides used for impregnation of mosquito nets. *Bulletin of the World Health Organization* 2003, 81:324-333.
- [18] Corbel V, N'Guessan R, Brengues C, Chandre F, Djogbenou L, Martin T, Akogbeto M, Hougard JM, Rowland M: Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. *Acta Trop* 2007,101(3):207-216.
- [19] Yadouleton AW, Padonou G, Asidi A, Moiroux N, Sahabi B, Corbel V, N'guessan R, Gbenou D, Yacoubou I, Kinde G, Akogbeto MC: Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin. *Malar J* 2010a, 9: 83.
- [20] Djènontin A, Sahabi B, Moiroux N, Henry MC, Bousari O, Chabi J, Ossè R, Koudénoukpo S, Corbel V, Akogbéto M, Chandre F: Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasit Vectors* 2010, 3:83
- [21] Akogbéto M, Padonou GG, Gbénou D, Irish S, Yadouleton A. Bendiocarb, a potential alternative against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* in Benin, West Africa. *Malar J*. 2010, 9: 204