

UNIVERSITE DE YAOUNDE 1

UNIVERSITY OF YAOUNDE 1



FACULTE DES SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

Dynamique des populations de moustiques et de la transmission du paludisme au cours d'un programme de lutte anti-larvaire dans la ville de Yaoundé, Cameroun

THESE

Présentée en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D en Biologie des Organismes Animaux

Option : Parasitologie et Ecologie

Par :

DOUMBE BELISSE Patricia Lucie Vanessa

Matricule : 10Q0157

Master ès-Sciences



Soutenue publiquement le 20 Décembre 2022 devant le jury composé de :

Président : FOMENA Abraham, Professeur, Université de Yaoundé I ;

Rapporteurs : NJIOKOU Flobert, Professeur, Université de Yaoundé I ;

NKONDJIO Antonio Christophe, Maître de Recherche, OCEAC ;

Membres : NJANG NLOGA Alexandre, Professeur, Université de Ngaoundéré ;

KEKENOU Sévilor, Professeur, Université de Yaoundé I

TOMBI Jeanette, Maître de conférence, Université de Yaoundé I

Année 2022

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET
PHYSIOLOGIE ANIMALES
BP 812 – Tél : (237) 222-56-59
Fax : (237) 233-46-96
CAMEROUN

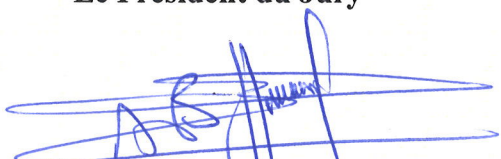
ATTESTATION DE CORRECTION

Conformément à l'autorisation de soutenance de la thèse de Doctorat/Ph.D N°094-2022/ UYI/CRFD_SVSE /URFD-SV/Ad du 11 octobre 2022 de Monsieur le Recteur de l'Université de Yaoundé I, la thèse intitulée « **Dynamique des populations de moustiques et de la transmission du paludisme au cours d'un programme de lutte anti-larvaire dans la ville de Yaoundé, Cameroun** » a été présentée et soutenue publiquement le **mardi 20 Décembre 2022** par l'étudiante **DOUMBE BELISSE Patricia Lucie Vanessa**, Matricule **10Q0157**. Le document final a été corrigé suivant les recommandations du jury.

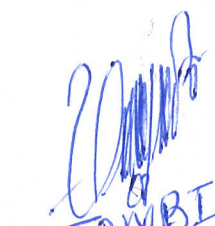
En foi de quoi la présente attestation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.


Fait à Yaoundé, le

Le Président du Jury


A. FONENA

Les Examineurs


J. TOMBI



Sévilar KEKEUNOU, Ph.D
Professor
University of Yaounde 1

Le Chef de Département




Charles Félix
Bilong Bilong
Professeur

23 FEV 2023

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

LISTE DES ENSEIGNANTS

ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 31 OCTOBRE 2022

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA: ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO ANGUE Monique, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (39)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	BOUDJEKO Thaddée	Professeur	En poste
3.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
4.	FOKOU Elie	Professeur	En poste
5.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
6.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
7.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
8.	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9.	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10.	ATOGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
11.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12.	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
14.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
15.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
16.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
17.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Doyen FS / UDs
18.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20.	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21.	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

23.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25.	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
26.	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
27.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
28.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
30.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
31.	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32.	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
35.	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
36.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
37.	WILFRED ANGIE Abia	Chargé de Cours	En poste

38.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Assistant	En poste
39.	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Chargée de Cours	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (51)

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2.	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5.	DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/Uyi</i>
7.	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8.	KEKEUNOU Sévior	Professeur	En poste
9.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
10.	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
11.	NOLA Moïse	Professeur	En poste
12.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
13.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
14.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

15.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ MINESUP</i>
16.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épouse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
19.	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
20.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste

21.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
22.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
23.	MONY Ruth épse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
24.	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
25.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
26.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

27.	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
28.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
29.	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
30.	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Chargée de Cours	En poste
31.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
32.	FEUGANG YOUNSSI François	Chargé de Cours	En poste
33.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
34.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
35.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
36.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
37.	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
38.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
39.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
40.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
41.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
42.	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
43.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
44.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
45.	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
46.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
47.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

48.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Assistante	En poste
49.	FOKAM Alvine Christelle Epse KEGNE	Assistante	En poste
50.	MAPON NSANGO Indou	Assistant	En poste
51.	NWANE Philippe Bienvenu	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (33)

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de département</i>
2.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
3.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
4.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5.	YOUNBI Emmanuel	Professeur	En poste
6.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

7.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8.	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste

9.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
10.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	DAAC /UDla
11.	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	CE / MINRESI
12.	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
13.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	CT / MINRESI
14.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
15.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
16.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste

17.	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18.	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19.	GONMADGE CHRISTELLE	Chargée de Cours	En poste
20.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
21.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
22.	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
23.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
24.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
25.	NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE	Chargé de Cours	En détachement/UNESCO MALI
26.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
27.	KABELONG BANAHOU Louis-Paul- Roger	Chargé de Cours	En poste
28.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
29.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
30.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
31.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
32.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
33.	MANGA NDJAGA JUDE	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (31)

1.	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
3.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss.PR</i>
4.	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
5.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	CT MINRESI
6.	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
7.	NENWA Justin	Professeur	En poste
8.	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS Univ.Ngaoundere</i>
9.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancelor/UB</i>

10.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
11.	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
12.	KAMGANG YOUNBI Georges	Maître de Conférences	En poste
13.	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste

14.	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
15.	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
16.	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
17.	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18.	NEBAH Née NDO SIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>CT/ MINPROFF</i>
19.	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
20.	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
21.	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
22.	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
23.	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste

24.	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
25.	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
26.	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
27.	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
28.	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
29.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
30.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
31.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (38)

1.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UIYI</i>
2.	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
3.	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
5.	WANDJI Jean	Professeur	En poste
6.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste

7.	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
8.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10.	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12.	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
13.	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14.	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
15.	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
16.	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17.	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
18.	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
19.	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
20.	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>DAAC/Uté Bertoua</i>
21.	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22.	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23.	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24.	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>

25.	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
26.	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

27.	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
28.	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
29.	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30.	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
31.	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
32.	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
33.	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
34.	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste

35.	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
36.	NONO NONO Éric Carly	Assistant	En poste
37.	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Assistante	En poste
38.	TSAFFACK Maurice	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>

3.	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste
5.	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Sous-Directeur/MINFOPRA</i>
6.	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13.	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14.	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
15.	OLE OLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	<i>Directeur adjoint ENSET. Ebolowa</i>
16.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

17.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
19.	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
20.	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
21.	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste
22.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef Service des Programmes & Diplômes/FS/UIYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

10.	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11.	BOGSO ANTOINE MARIE	Chargé de Cours	En poste
12.	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13.	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14.	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15.	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
16.	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
17.	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Uté Bertoua</i>
18.	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
19.	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
20.	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
21.	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
22.	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
23.	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste

24.	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
25.	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
26.	LOUMNGAM KAMGA Victor	Assistant	En poste
27.	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
28.	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
29.	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30.	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (22)

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE/FS/UIYI</i>
3.	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste

4.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
6.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
8.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
9.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

10.	BODA Maurice	Chargé de Cours	En position d'absence irrégulière
11.	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13.	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
14.	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
15.	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
16.	MEYIN A EBONG Solange	Chargée de Cours	En poste
17.	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
18.	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargée de Cours	En poste
19.	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste

20.	MONI NDEDI Esther Del Florence	Assistante	En poste
21.	NKOUÉ TONG ABRAHAM	Assistant	En poste
22.	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (43)

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3.	EKOBENA FOUA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
4.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
6.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
7.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
8.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
9.	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
10.	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
11.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
12.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
13.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

16.	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
-----	---------------------	-----------------------	-----------------------

17.	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18.	BOYOMO Marthe	Maître de Conférences	DA / ENSPY
19.	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
20.	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
21.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
22.	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
23.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
25.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
26.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27.	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28.	VONDOU DerbetiniAppolinaire	Maître de Conférences	En poste
29.	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	Directeur/ENS/UIYI

30.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33.	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
34.	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
35.	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
36.	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	<i>Absente depuis Janvier 2022</i>
37.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
38.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
39.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	En poste
40.	TEYOU NGOUPOU Ariel	Chargé de Cours	En poste

41.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Assistant	En poste
42.	LAMARA Maurice	Assistant	En poste
43.	NGA ONGODO Dieudonné	Assistant	En poste
44.	WANDJI NYAMSI William	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

1.	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2.	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3.	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4.	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
5.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7.	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

8.	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10.	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
12.	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste

13.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Département /Uté Maroua</i>
14.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	CT/ MINIMDT
15.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
16.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
17.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
18.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19.	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel/UYII</i>
20.	TCHAKOUNTE J. épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
21.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
22.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
23.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
24.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

25.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
26.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
27.	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
28.	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
29.	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
30.	MAMDEM TAMTO LIONELLE ESTELLE	Chargé de Cours	En poste
31.	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
32.	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
33.	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
34.	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>CD/ Uté Maroua</i>
35.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
36.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38.	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
41.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste

42.	NGO'O ZE ARNAUD	Assistant	En poste
-----	-----------------	-----------	----------

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (00)	14 (10)	15 (05)	02 (01)	39 (16)
BPA	14 (01)	12 (08)	21 (06)	04 (02)	51 (17)
BPV	06 (01)	10(01)	16 (09)	01 (00)	33 (11)
CI	09(01)	14(04)	08 (01)	00 (00)	31 (06)
CO	06 (01)	20 (04)	08 (03)	04 (01)	38(09)
IN	02 (00)	02 (00)	12 (01)	06 (00)	22 (01)
MAT	01 (00)	08 (00)	14 (01)	07 (01)	30 (02)
MIB	03 (01)	06 (02)	10 (03)	03 (02)	22 (08)

PHY	15 (01)	13 (02)	11 (03)	04 (00)	43 (06)
ST	07 (01)	16 (03)	18 (04)	01 (00)	42(08)
Total	71 (07)	115 (34)	133 (36)	32 (07)	351 (84)

Soit un total de **351 (84)** dont :

- Professeurs **71 (07)**
- Maîtres de Conférences **115 (34)**
- Chargés de Cours **133 (36)**
- Assistants **32 (07)**

() = Nombre de Femmes **84**



Au Dieu Tout Puissant...

« Je veux me rejouir en l'Eternel,

Je veux être dans l'allégresse grâce à Dieu de mon salut,

L'Eternel, le Seigneur est ma force,

Il rend mes pieds semblables à ceux des biches,

Il me fait marcher sur mes hauteurs. »

Habakuk 3 V18-19

Remerciements

Les travaux de cette thèse sont le fruit d'une collaboration entre l'Université de Yaoundé I et l'Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC). Ce travail a bénéficié du soutien financier du projet *Wellcome Trust Senior Fellowship in Biomedical Sciences* (202687/Z/16/Z) accordé au Dr ANTONIO-NKONDJIO Christophe. Avant de restituer les principaux résultats de ces travaux, j'exprime ma profonde gratitude à tous ceux qui de près ou de loin l'ont rendu possible particulièrement au/aux/à :

- **Dr ANTONIO-NKONDJIO Christophe**, directeur de cette thèse ; je le remercie de m'avoir accordé sa confiance et de m'avoir accueillie chaleureusement dans son équipe de recherche. Sans lui ce travail n'aurait pas vu le jour. Durant ces 04 années de travail, sa personnalité, ses potentialités, sa rigueur scientifique, son désir d'exceller en toute chose ont été une source d'inspiration pour moi et ont toujours forcé mon admiration. Avec lui j'ai appris à donner la meilleure version de moi, à travailler sous pression ; à gérer plusieurs tâches simultanément ; à développer mon côté managérial dans mon travail, mes relations professionnelles et personnelles. J'espère qu'en ce jour je fais sa fierté, je lui exprime ma profonde reconnaissance ;
- **Pr NJIOKOU Flobert**, superviseur de cette thèse pour les orientations, les conseils, les multiples encouragements qu'il témoigne à mon égard et l'intérêt particulier qu'il porte à ce travail. Il a bien voulu me recommander pour un stage pratique à l'OCEAC, c'est à lui que je dois tout ce que j'ai appris depuis mon cycle Master. Pour cela qu'il reçoive mes remerciements les plus sincères ;
- **Dr AWONO AMBENE Parfait** pour m'avoir initié à la recherche pendant mon cycle de Master. Il a été l'une des pierres angulaires de toutes les connaissances acquises jusqu'à ce jour. J'ai eu le privilège de travailler dans les locaux de l'Institut de Recherche de Yaoundé à l'OCEAC dont il a la responsabilité. Je tiens à le remercier pour sa disponibilité, ses orientations et ses multiples conseils. Qu'il trouve ici le témoignage de ma gratitude ;

- Membres du Jury de cette thèse pour avoir pris le temps de juger ce travail et d'avoir accepté de siéger dans ce jury de thèse ;
- enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, pour la formation, les conseils et la qualité des enseignements reçus ;
- Secrétaire Exécutif de l'OCEAC, le **Dr OBIANG ADA Manuel-Nso** qui m'a accordé le privilège d'effectuer un stage académique dans l'institution dont il a la charge ;
- **M. AGBOR Jean Pierre** pour l'assistance au laboratoire;
- **Mme WONDJI Murielle** pour l'initiation aux techniques de biologie moléculaire et aux bonnes pratiques de laboratoire ;
- **M. YOUANI TAMOU Michel**, "tonton mich'" qui a toujours été disponible lors des multiples descentes de terrain pour collecter les échantillons quelles que soient les intempéries. Qu'il reçoive mes sincères remerciements ;
- "Team ANTONIO" particulièrement les **Docteurs BAMOU Roland, Feu KOPYA Edmond** et **DJAMOUKO Landre**, **Mlle NGADJEU Sandra**, **M. TALIPOUO Abdou**, **Mlle NINA Ghislaine Yensii**, **Mlle SOUHAFUO Nadège**, **Mlle NANA stella**, **Mlle NKAHE Leslie**, **Mlle KALA Nelly**, **M. TCHAMEN Borel**, **Mlle BEMBA Irina** pour les échanges scientifiques, leur collaboration, les moments de convivialité au laboratoire et en dehors. C'est un bonheur de travailler avec vous. Même si parfois nos personnalités différentes rendent les discussions « animées » et « passionnées » mais toujours sympathiques et constructives ;
- **Dr NCHOUTPOUEN Elysée** pour la révision du manuscrit de la thèse et **Dr MAYI Paule Audrey** pour sa contribution dans les analyses statistiques et la révision du manuscrit ;
- tous les aînés et camarades de l'institut de recherche de Yaoundé à l'OCEAC particulièrement **Dr EKOKO Wolfgang**, **Dr MBAKOP Lili Ranaise**, **M. Michael PIAMEU**, **M. CHI CHAMPO** pour leur collaboration ;

- tous les autres chercheurs de l'institut de recherche de Yaoundé à l'OCEAC pour leurs conseils particulièrement **Pr ETANG Josiane, Dr OKOKO Aline** ;
- tous les membres du laboratoire de Parasitologie et Ecologie de l'Université de Yaoundé I particulièrement les **Docteurs NANA Hugues, MELATCHIO Tresor, TCHOUAKUI Magellan et KAME NGASSE Ginette, Mme TCHAMI Carole, M. FEUDJIO Steve**, pour les conseils, l'assistance et l'orientation ;
- la population de la ville de Yaoundé et le personnel d'appui pour l'accueil, la convivialité dans les domiciles ce qui nous a permis de mener à bien le travail sur le terrain ;
- mes parents **EPITIYE DOUMBE Florent Serge** et **NGOH Cathérine Marie-Noel**: Vous avez toujours été à l'écoute et présents tout le temps par votre amour, votre attention, vos conseils, votre soutien inconditionnel, permanent tant spirituel que financier, recevez le témoignage de ma profonde gratitude ; cette thèse est le fruit de vos multiples sacrifices ;
- mon fiancé **MBOUGNI François** pour la confiance qu'il a eue en moi, l'amour qu'il me porte et la patience en tout temps. Merci de me soutenir au quotidien ;
- ma fille **DOUMBE MBOUGNI Hanna Jeanne-d'arc**, ma fierté, ma source de motivation tu es une grâce divine ;
- mes frères et sœurs **DOUMBE Amélie merveille, Adolphe, Junior et Reine** pour leur enthousiasme et leur affection ;
- les groupes de « mentoring » notamment les « Higher women », les « WIVC », « Caprown Women » pour les conseils et les multiples orientations ;
- toute ma famille, belle-famille et amis pour les moments de partage, de bonheur et de décompression.



Sommaire

LISTE DES ENSEIGNANTS	i
Dédicace	xii
Remerciements.....	xiii
Liste des figures	xix
Liste des tableaux.....	xxi
Résumé	xxv
Abstract	xxvii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE.....	6
I.1. Historique du paludisme	7
I.2. Épidémiologie	7
I.2.1. Situation du paludisme dans le monde	7
I.2.2. Paludisme en Afrique	8
I.3. Agent causal : <i>Plasmodium</i>	11
I.3.1. Systématique.....	11
I.3.2. Espèces plasmodiales responsables du paludisme chez l'homme	12
I.3.3. Cycle de développement	14
I.3.4. Techniques d'identification du plasmodium chez les différents hôtes.....	17
I.4. Vecteurs	20
I.4.1. Systématique des anophèles	20
I.4.2. Biologie et cycle de développement des anophèles	21
I.4.3. Diversité de la faune anophélienne dans les zones urbaines d'Afrique	24
I.4.4. Vecteurs impliqués dans la transmission du paludisme au Cameroun	25
I.5. Mesure de la transmission du paludisme	28
I.5.1. Marqueurs sérologiques	28
I.5.2. Capacité et compétence vectorielle.....	29
I.5.3. Autres indices entomologiques de mesure de la transmission	30
I.6. Déterminants de la transmission du paludisme	31
I.6.1. Facteurs environnementaux.....	31
I.6.2. Facteurs liés à l'homme.....	32
I.6.3. Facteurs liés au parasite.....	32
I.6.4. Facteurs liés au moustique vecteur	34

I.7. Méthodes de contrôle du paludisme	34
I.7.1. Lutte antiparasitaire.....	34
I.7.2. Lutte antivectorielle	36
I.8. Défis de la lutte contre le paludisme	42
I.8.1. Impact climatique.....	42
I.8.2. Résistances	43
CHAPITRE II : CADRE D'ETUDE, MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	44
II.1. CADRE D'ETUDE.....	45
II.1.1. Géographie du cadre d'étude.....	45
II.1.2. Choix des sites d'étude	46
II.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	52
II.2.1. Protocoles de terrain	52
II.2.2. Protocoles de laboratoire.....	56
II.2.3. Gestion et analyse des données	69
II.2.4. Considérations éthiques	71
CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	73
III.1. RÉSULTATS	74
III.1.1. Composition de la faune culicidienne avant et pendant l'intervention	74
III.1.2. Densités anophéliennes avant et pendant l'intervention.....	79
III.1.3. Transmission du paludisme avant et pendant l'intervention.....	84
III.1.4. Impact de l'intervention sur la prévalence palustre.....	89
III.2. DISCUSSION.....	96
III.2.1. Distribution spatiale et temporelle des espèces d' <i>Anopheles</i> spp. dans la ville de Yaoundé.....	96
III.2.2. Impact de la lutte antilarvaire sur les densités des anophèles	98
III.2.3. Impact de la lutte antilarvaire sur les indicateurs entomologiques de la transmission	99
III.2.4. Impact de la lutte antilarvaire sur les indicateurs parasitologiques de la transmission	100
III.2.5. Influence d'autres facteurs sur la transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé.....	101
CONCLUSION, RECOMMANDATIONS	104
ET PERSPECTIVES.....	104
RECOMMANDATIONS	106
PERSPECTIVES.....	107

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	108
ANNEXES.....	108
ARTICLES ISSUS DE LA THESE.....	108
AUTRES ARTICLES PUBLIES.....	108

Liste des figures

Figure 1 : Carte présentant le nombre de cas de paludisme pour 1000 habitants par pays	8
Figure 2 : Carte présentant les faciès épidémiologiques du paludisme au Cameroun	10
Figure 3 : Cycle évolutif du <i>Plasmodium</i>	17
Figure 4 : Cycle de développement des anophèles	22
Figure 5 : Mode d'action simplifié des cristaux de <i>Bacillus</i> sur une larve de moustique.....	41
Figure 6 : Schéma illustrant les mécanismes impliqués dans la résistance des insectes aux insecticides.....	43
Figure 7 : Carte présentant la ville de Yaoundé et les sites d'étude	47
Figure 8 : Différentes méthodes d'échantillonnage des moustiques adultes.....	53
Figure 9 : Epanchage manuel du Vectomax à la surface des gîtes larvaires.....	54
Figure 10 : Prélèvement sanguin sur papier buvard et lame.	56
Figure 11 : Caractérisation morphologique de l'imago	57
Figure 12 : Technique d'amplification de l'ADN par PCR.	59
Figure 13 : Profil thermique et cycle d'amplification de l'ADN.....	61
Figure 14 : Profil thermique et cycle d'amplification de l'ADN.....	63
Figure 15 : Electrophorégramme présentant les fronts de migration de l'ADN des espèces <i>Anopheles coluzzii</i> et <i>Anopheles gambiae</i>	64
Figure 16 : Principe de l'ELISA sandwich	65
Figure 17 : Protocole du test ELISA en sandwich.....	66
Figure 18 : Profil thermique et cycle d'amplification de l'ADN.....	69
Figure 19 : Profil de diversité des différentes communautés d'anophèles pendant et avant l'intervention.....	77
Figure 20 : Distribution spatiale des espèces d'anophèles dans les sites d'étude avant et pendant l'intervention	78
Figure 21 : Variation bimestrielle des densités obtenues par pièges lumineux dans les sites d'étude.....	79
Figure 22 : Variation bimestrielle des densités obtenues par appât humain dans les sites d'étude.....	80
Figure 23 : Variation temporelle du risque de transmission du paludisme	87

Figure 24 : Niveau de transmission du paludisme avant et pendant l'intervention dans la ville de Yaoundé.	89
Figure 25 : Prévalence palustre en fonction des méthodes de diagnostic dans la ville de Yaoundé.....	92
Figure 26 : Impact du traitement sur la prévalence palustre.	93

Liste des tableaux

Tableau I : Position taxonomique du genre <i>Plasmodium</i> , Marchiafava et Celli, 1895	12
Tableau II : Position systématique du genre <i>Anopheles</i>	20
Tableau III : Caractéristiques des espèces impliquées dans la transmission du paludisme au Cameroun	26
Tableau IV : Mesures de lutte contre les vecteurs du paludisme	36
Tableau V : Caractéristiques des sites d'étude.	48
Tableau VI : Séquence des amorces utilisées pour l'identification des espèces du complexe <i>Anopheles gambiae</i> s.l.	60
Tableau VII : Composition du milieu réactionnel pour l'identification moléculaire des espèces du complexe <i>Anopheles gambiae</i> s.l. pour un volume final de 15 µL.	60
Tableau VIII : Séquence des amorces utilisées pour l'identification des espèces du groupe <i>Anopheles funestus</i> s.l.	61
Tableau IX : Composition du milieu réactionnel pour l'identification moléculaire des espèces du groupe <i>Anopheles funestus</i> s.l. pour un volume final de 15 µL.	62
Tableau X : Séquence des amorces utilisées pour l'identification des espèces de <i>Plasmodium</i>	68
Tableau XI : Composition du milieu réactionnel pour l'identification moléculaire des espèces de <i>Plasmodium</i> pour un volume final de 15 µL.	68
Tableau XII : Composition de la faune culicidienne	75
Tableau XIII : Richesse spécifique de la faune anophélienne avant et pendant l'intervention	76
Tableau XIV : Densités anophéliennes enregistrées à l'intérieur et à l'extérieur avant et pendant intervention	82
Tableau XV : Taux de réduction (TR) des densités anophéliennes dans les zones d'intervention en comparaison aux zones témoins correspondants	83
Tableau XVI : Taux d'infection avant et pendant l'intervention en fonction des méthodes de collecte	84
Tableau XVII : Estimation de la transmission avant et pendant le traitement à l'intérieur et à l'extérieur des habitations.	86

Tableau XVIII : Impact du larvicide sur les densités anophéliennes et la transmission du paludisme avant et pendant l'intervention.....	88
Tableau XIX : Caractéristiques générales de la population et prévalence palustre	91
Tableau XX : Influence des caractéristiques de la population sur l'infection palustre au début et pendant l'intervention	94

Liste des abréviations

ACM : AntiCorps Monoclonal

ACT : Artemisinin-based Combination Therapy

AL : Artemether-Lumefantrine

An/p/n : Anophèles par piège par nuit

ARN : Acide Ribonucléique

AS-AQ : Artesunate-Amodiaquine

AS-MQ : ArteSunate-Mefloquine

IC : Intervalle de Confiance

AS-SP : ArteSunate-Sulfadoxine-Pyrimethamine

BB : Blocking Beffer

BET : Bromure d’Ethidium

Bs : *Bacillus sphaericus*

Bti : *Bacillus thuringiensis israelensis*

CDC-LTs : Centres for Disease Control and Prevention Light Traps

CNERSH : Comité National d’Ethique pour la Recherche en Santé Publique

CRISPR/Cas9 : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/associated protein 9

CSP : Circumsporozoite Protein

CUY : Commune Urbaine de Yaoundé

CVH : Capture sur Volontaire Humain

Cyt B : Cytochrome b

D.O. : Densité Optique

ddH20 : Distilled water

DDT : DichloroDiphenylTrichloroethane

DHA-PPQ : DihydroArtemisinin-Piperaquine

dNTPs : Deoxyribonucleotide triphosphates

EDTA : Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid

HBI : Human Blood Index

HRP : Histidine Rich Protein

IC : Intervalle de Confiance

IPTp : Intermittent Preventive Treatment for malaria during pregnancy

IS : Indice Sporozoïtique

ma : taux d'agressivité

MILDA : Moustiquaire Imprégnée d'insecticides à Longue Durée d'Action

OCEAC : Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale

OR : Odd ratio

P/h/n : Piqûre par homme par nuit

PaST : Paleontological Statistics Software

PBO : Piperonylbutoxide

PBS : Phosphate Buffered Saline

Pi/h/a : Piqûre infestante par homme par an

PID : Pulvérisation Intradomiciliaire

PNLP : Programme national de lutte contre le paludisme

SINE : Short Interspersed Element

TAE : Tris Acetate EDTA

TBE : Tris-Borate- EDTA

TDR : Test de diagnostic rapide

TIE : Taux d'Inoculation Entomologique

TPI : Traitement Préventif Intermittent

TR : Taux de Reduction

WHO : World Health Organization

Résumé

Au Cameroun, le paludisme représente un important problème de santé publique en zone urbaine où vit plus de 50 % de la population. La prévention de cette affection repose presque exclusivement sur la lutte antivectorielle à l'aide de Moustiquaires Imprégnées à Longue Durée d'Action (MILDA). Cependant, cet outil fait face à de nombreux défis dont les plus importants sont la montée rapide de la résistance des vecteurs aux insecticides, le changement de comportement de piqûre des moustiques vecteurs et l'utilisation irrégulière des MILDA par les populations. La lutte antilarvaire pourrait constituer une mesure de lutte complémentaire pouvant améliorer le contrôle du paludisme, mais jusqu'à présent très peu de données sur son efficacité sont disponibles. Dans le cadre d'une étude pilote de lutte antilarvaire menée dans la ville de Yaoundé, nous avons évalué son impact sur la densité des vecteurs, la transmission et la prévalence du paludisme chez les habitants.

La présente étude a été menée dans 26 quartiers de la ville de Yaoundé. Le larvicide biologique Vectomax G combinant en un seul granule deux bactéries *Bacillus thuringiensis var israelensis* (Bti) et *Bacillus sphaericus* (Bs) a été appliqué deux fois par mois dans tous les points d'eau prospectés dans la ville. Les enquêtes préliminaires ont été conduites de mars 2017 à juillet 2018 et l'intervention de septembre 2018 à novembre 2020. Les enquêtes entomologiques ont été réalisées une fois tous les deux mois pour capturer les moustiques adultes en utilisant les pièges lumineux de type CDC (Centre for Disease Control and Prevention) et les captures sur volontaire humain. Les moustiques ont été identifiés jusqu'au niveau de l'espèce en utilisant les clés d'identification morphologique et la technique de polymérisation en chaîne. Ces moustiques ont également été analysés par la technique ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) pour la détection de l'infection par *Plasmodium falciparum*. Des enquêtes parasitologiques et les tests de diagnostic rapide ont été effectués dans les ménages en mai 2019 et octobre 2020. Au cours de ces enquêtes, le sang a été prélevé sur des individus asymptomatiques puis déposé sur des lames et papiers-filtres pour une identification ultérieure des *Plasmodium* en utilisant la goutte épaisse et la PCR. Ces lames ont été colorées avec du Giemsa et examinées au microscope pour la détection des parasites. Les densités des moustiques ont été comparées entre les périodes de capture, le lieu de capture et les zones d'étude. Les tests t de Student et ANOVA ont été utilisés pour comparer les densités dans l'espace et dans le temps. Un modèle de régression linéaire mixte généralisé a été utilisé pour évaluer l'effet de l'intervention sur les densités des moustiques, le taux d'infection et le

taux d'inoculation entomologique. Ces analyses ont été effectuées en utilisant le logiciel statistique R.

La mise en œuvre de la lutte antilarvaire a permis de réduire les densités des espèces *An. gambiae* et *An. funestus* de 55,52 % et 5 % respectivement pendant l'intervention. La composition des espèces du complexe *An. gambiae* s.l. avant et pendant l'intervention n'a pas significativement varié ($P > 0,20$). Le taux de piqûre des anophèles a été réduit de 76,99 % à l'intérieur contre 63,47 % à l'extérieur. Concernant l'impact de la lutte antilarvaire sur les indicateurs entomologiques, l'analyse logistique binaire du taux d'infection a montré une réduction significative du taux d'infection des anophèles pendant l'intervention soit des taux de réduction de 35,74 % et 63,51 % enregistrés avec les pièges lumineux et les captures sur volontaire humain respectivement (OR = 0,29 ; 95 % IC = 0,10 – 0,80, P = 0,017). Également, le taux d'inoculation entomologique a été réduit de 79 % et de 88,69 % pour les pièges lumineux et les captures sur volontaire humain respectivement (OR = 0,21 ; 95% CI = 0,14 – 0,30, P < 0,0001). L'évaluation de l'impact du larvicide sur les indicateurs parasitologiques révèle une diminution de la prévalence palustre pendant l'intervention. La prévalence palustre enregistrée dans les zones d'intervention a diminué de 24% en début d'intervention à 19,14% en mai 2019 contrairement aux zones témoins où elle était en hausse. Également, la prévalence palustre enregistrée avec les différentes méthodes de diagnostic était plus élevée dans les zones témoins allant de 19,79 % à 54,26 % par rapport aux zones d'intervention (14,08 % à 41,25 %) quelle que soit la méthode de diagnostic.

Cette étude fait état de la réduction des densités des espèces d'anophèles, de l'intensité de la transmission et de la prévalence du paludisme pendant le programme de lutte antilarvaire à base de Vectomax G dans la ville de Yaoundé. Ceci suggère la nécessité de l'introduire en complément aux outils de lutte existants pour contrôler les moustiques vecteurs en zone urbaine.

Mots clés : lutte anti-larvaire, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sphaericus*, Vectomax-G, *Anopheles*, paludisme, Yaoundé, Cameroun.

Abstract

Malaria is an important public health problem in Cameroon where more than half of the population is leaving. Malaria control mainly relies on vector control using long-lasting insecticidal nets (LLINs). However, this measure faces some challenge namely the increasing insecticide resistance, change in vector biting behaviours and the non-regular use of long-lasting insecticidal nets (LLINs). Larval control could be an additional measure to improve malaria control but evidence of its efficacy remains scarce until now. In the course of a pilot larval control trial conducted in the city of Yaoundé, a study was carried out to assess its impact on vectors' density, transmission and prevalence of malaria among inhabitants.

This study was conducted in 26 districts of Yaoundé. The microbial larvicide VectoMax combining *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* (Bti) and *Bacillus sphaericus* (Bs) in a single granule was applied twice per month in all standing water collection points in the city. Baseline entomological studies were conducted from March 2017 to July 2018 and the intervention from September 2018 to November 2020. Entomological surveys were carried out once every two months to collect adult mosquitoes using CDC (Centre for Disease Control and Prevention) light traps and Human Landing Catches. Mosquitoes were identified up to the species level using morphological identification keys and a molecular test via PCR then analysed for *Plasmodium falciparum* infectivity via ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Parasitological surveys and rapid diagnostic tests were conducted in households in May 2019 and October 2020. During the survey, blood samples were collected on slides and filter papers for further *Plasmodium* identification after microscopic examination and PCR. Statistical Student and ANOVA tests were used to compare density according to the place and time of collection. Linear generalised mixed models were used to assess the effect of larviciding treatment on adult anopheline density, infection rate and entomological inoculation rate using R statistical software.

The application of the larvicide was associated with a reduction of 55.52% and 5% of *An. gambiae* and *An. funestus* densities respectively. There was no significant variation in the composition of *An. gambiae* and *An. coluzzii* before and during the intervention ($P > 0.20$). A reduction of 76.99% was recorded for indoor biting anophelines and 63.47% for outdoor biting anophelines. As far as larviciding impact on entomological outcomes is concerned, crude

analysis of infection rate estimates showed a significant reduction of the infection rate (35.74% with CDC and 63.51% with human landing catches) when binary logistic regression adjusting for years and group was applied (OR = 0.29; 95% CI = 0.10 – 0.80, P = 0.017). The entomological inoculation rate was also reduced to 79% and 88.69% for CDC and human landing catches respectively (OR = 0.21; 95% CI = 0.14-0.30, P<0.0001). Assessing larviciding impact on parasitological outcomes reveals a decrease on malaria prevalence during the intervention. Malaria prevalence in the intervention areas was reduced from 24% in 2018 to 19.14% in May 2019 unlike the control areas where it was increasing. Reduction of malaria prevalence was more significant in October 2020 (14.78%). Also, it was found that whatever the diagnosis tool, malaria prevalence was higher in control areas ranging from 19.79% to 54.26% than intervention areas (14.08% to 41.25%).

This study highlights a reduction of mosquito density, malaria transmission intensity and malaria prevalence in the city of Yaoundé during a larviciding trial using Vectomax G in the city of Yaoundé. It suggests that larviciding should be introduced as complement to existing tools for controlling mosquito vectors in the urban environment.

Keywords: Larviciding, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sphaericus*, Vectomax, *Anopheles*, malaria, Yaoundé, Cameroon.



INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie parasitaire causée par un protozoaire du genre *Plasmodium* Marchiafava et Celli, 1895, et transmise à l'homme par la piqûre d'un moustique hématophage du genre *Anopheles* Meigen, 1818. Bien qu'elle soit une maladie préventive et curative, le paludisme demeure un problème majeur de santé publique dans le monde. En 2019, l'OMS a estimé à 229 millions le nombre de cas reportés dans le monde ayant conduit à 409 000 décès (WHO, 2020). La grande partie des cas provient de l'Afrique soit 94 % de la charge mondiale correspondant à 215 millions de cas et 384 000 décès enregistrés en 2019 faisant de ce continent la zone la plus touchée dans le monde (WHO, 2020). Les personnes les plus affectées sont les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans à cause de leur faible niveau d'immunité (Steketee *et al.*, 2005). De nombreux facteurs tels que la pratique de l'agriculture, l'urbanisation anarchique et la non-mise en œuvre, des mesures d'hygiène et d'assainissement modifient l'environnement et favorisent le développement des vecteurs et la transmission des parasites du genre *Plasmodium* en Afrique (Killeen *et al.*, 2000). L'urbanisation croissante des villes africaines reste jusqu'ici un des facteurs très peu explorés pourtant la population africaine est l'une des plus dynamiques dans le monde. En 2000, cette population était estimée à environ 665 millions d'habitants et de nos jours on compte plus de 1,1 milliard de personnes qui vivent sur ce continent avec plus de 50% de cette population localisée en zone urbaine (Guengant *et al.*, 2013 ; WHO, 2020). La forte croissance démographique de la population en zone urbaine est la résultante d'un exode massif des populations des zones rurales vers les grandes métropoles. Cette croissance démographique incontrôlée et non planifiée que connaît les villes a pour conséquence l'occupation anarchique de l'espace avec l'installation des populations nouvellement arrivées dans les bas fonds et marécages, ce qui crée des conditions favorables au développement des moustiques vecteurs par conséquent affecte l'épidémiologie des maladies à transmission vectorielle tel que le paludisme (Keiser *et al.*, 2004 ; Neiderud, 2015 ; Eder *et al.*, 2018). Le paludisme en zone urbaine apparaît de plus en plus comme un important problème de santé publique en Afrique (Donnelly *et al.*, 2005 ; Klinkenberg *et al.*, 2008 ; Mourou *et al.*, 2012).

Au Cameroun où plus du quart de la population vit dans les principales villes du pays, la situation du paludisme est très critique malgré les progrès réalisés dans le passé pour contrôler la maladie (Minsanté, 2018). Cette parasitose demeure endémique avec plus de 2 millions de cas enregistrés chaque année dans les formations sanitaires. Les cas suspects de paludisme constituent 30% des consultations médicales et 19% des décès enregistrés dans les formations sanitaires sont imputables au paludisme (INS, 2020). De même la transmission du paludisme

se fait de manière hétérogène à travers les différentes villes du pays avec des risques de transmission faibles à modérés (Barbazan *et al.*, 1997 ; Van-Der-Kolk *et al.*, 2003 ; Tchuinkam *et al.*, 2010 ; Djamouko-Djomkam *et al.*, 2020).

La prévention de cette maladie repose presque exclusivement sur la lutte antivectorielle (LAV) par l'utilisation des Moustiquaires Impregnées d'insecticides à Longue Durée d'Action (MILDA) et/ou les Pulvérisations IntraDomiciliaires (PID) (WHO, 2020). Selon l'OMS, la diminution des cas enregistrés de 2010 à 2015 serait attribuable à la distribution massive de MILDA dans les ménages et à l'intensification des pulvérisations intradomiciliaires. En 2019, il a été rapporté que 68 % des ménages en Afrique subsaharienne possèdent au moins une MILDA et le pourcentage de la population dormant sous MILDA a augmenté de 2 % en 2000 à 46 % en 2019 (WHO, 2020). Malheureusement l'utilisation de ces outils de lutte fait face à de nombreux défis qui peuvent à terme compromettre les progrès enregistrés au cours de cette dernière décennie si rien n'est fait. Les défis de la LAV sont l'expansion de la résistance aux insecticides, la transmission du paludisme à l'extérieur des habitations, le changement de comportement de piqûre et de repos des vecteurs, la transmission grandissante du paludisme en zone urbaine (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2019).

En effet, plusieurs pays en Afrique ont reporté une résistance à la plupart des familles d'insecticides utilisés dans la lutte antivectorielle. Cette résistance est plus prononcée aux pyréthrinoïdes, insecticides utilisés pour l'imprégnation des MILDA (Ranson *et al.*, 2016 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2017 ; Moyes *et al.*, 2020). Pour pallier à ces défis, il devient urgent de penser à de nouvelles stratégies telles que la mise en place de nouvelles générations de MILDA qui utilisent de nouveaux composés ou les pyréthrinoïdes combinés aux synergistes (Gleave *et al.*, 2021) ou la mise en œuvre d'une lutte intégrée (WHO, 2013a ; Chanda *et al.*, 2016). La lutte anti-larvaire pourrait être utilisée en complément aux outils déjà existants. L'OMS préconise son implémentation dans les sites où les gîtes larvaires sont peu nombreux, fixes et accessibles ; ayant un niveau de transmission palustre faible à modéré ou dans les zones où les MILDA et la PID ont atteint leur capacité maximale d'action (WHO, 2013b). La lutte anti-larvaire pourrait être un complément de choix, car elle cible les vecteurs exophiles et exophages qui ne sont pas affectés par l'utilisation des MILDA et PID, ainsi que les vecteurs résistants aux insecticides et pourrait être particulièrement indiquée dans les zones urbaines.

La lutte anti-larvaire a déjà prouvé son efficacité dans différents contextes épidémiologiques en réduisant les densités des vecteurs, la transmission et la prévalence

parasitaire (Derua *et al.*, 2019) dans plusieurs pays d'Afrique notamment au Kenya (Fillinger *et al.*, 2009, Kahindi *et al.*, 2018 ;), en Tanzanie (Geissbühler *et al.*, 2009, Maheu-Giroux *et al.*, 2014), en Égypte (Shousha *et al.*, 1948), en Zambie (Utzinger *et al.*, 2001). Cependant, malgré ces évidences de l'efficacité de la lutte anti-larvaire, à ce jour il n'y a que très peu d'études qui ont été déployées à grande échelle en Afrique subsaharienne. La lutte antilarvaire peut être un très bon complément aux mesures de lutte actuelles particulièrement dans les grands centres urbains. Il est donc important de rassembler des données sur son efficacité dans des études d'évaluation à large échelle de phase III qui permettront de guider la mise en œuvre de cette intervention dans différents centres urbains. C'est ainsi que nous nous sommes posés la question de savoir si la lutte antilarvaire a un impact sur la transmission du paludisme et les densités des vecteurs. Dans le cadre de la mise en œuvre d'un programme de lutte antilarvaire au moyen d'un larvicide biologique Vectomax combinaison de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) et *Bacillus sphaericus* (Bs) dans l'ensemble de la ville de Yaoundé, nous avons évalué l'impact de cette intervention sur différents indicateurs. Ainsi, nous avons émis de nombreuses hypothèses de travail :

Etant donné que la lutte antilarvaire réduit la densité des moustiques, la mise en œuvre de cette intervention affecte :

- (i) la composition spécifique et la distribution spatio-temporelle de la faune anophélienne;
- (ii) les indicateurs entomologiques de la transmission palustre ;
- (iii) les indicateurs parasitologiques de la transmission palustre dans la population ;

Afin de vérifier ces hypothèses, nous avons entrepris cette étude avec pour objectif général d'évaluer l'impact d'un programme de lutte antilarvaire (LAL) à base d'un larvicide biologique (Vectomax^G) sur les indicateurs entomologiques et parasitologiques de la transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé. Plus spécifiquement il s'est agi de/d' :

- évaluer l'impact de la lutte anti-larvaire sur la composition spécifique et la distribution spatio-temporelle de la faune anophélienne ;
- déterminer l'impact de la LAL sur les indicateurs entomologiques de la transmission du paludisme ;
- analyser l'impact de la lutte antilarvaire sur les indicateurs parasitologiques de la transmission palustre.

Ce travail est organisé en trois chapitres encadrés par une introduction et une conclusion. Le premier chapitre présente une revue de littérature sur le paludisme. Le second chapitre décrit le cadre d'étude et la méthodologie utilisée. Le troisième chapitre présente les principaux résultats obtenus et la discussion de ces résultats.



CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE

I.1. Historique du paludisme

Le terme paludisme ou malaria provient du latin *palus* qui signifie « marais ». Le paludisme était longtemps considéré comme une maladie provenant des zones marécageuses d'où sa caractéristique de « fièvre des marais ». Hippocrate, puis Galien, ont également alerté sur l'existence d'un lien entre la maladie et la présence d'eau stagnante des marais. Galien a contribué à l'origine de la théorie miasmatique, attribuant aux « miasmes » des marais c'est-à-dire le « mauvais air » la responsabilité de la propagation de la maladie (Ambroise-Thomas, 2007). En 1880, Laveran un médecin français découvre la véritable cause de l'infection chez l'homme, un protozoaire hématozoaire du genre *Plasmodium* Marchiafava et Celli, 1895. En 1897, Ross découvre ce parasite chez des moustiques sauvages (Bruce-Chwatt, 1988 ; Gilles et Lucas, 1998). En 1900, Masson confirme le rôle des moustiques femelles du genre *Anopheles* Meigen, 1818 dans la transmission du paludisme (Mouchet *et al.*, 2004). Ces découvertes significatives dans la compréhension du paludisme et de ses causes ont entraîné des avancées considérables. Avant cela, vers 1832, Maillot, un autre médecin de l'armée française posté en Algérie, perfectionne un traitement avec du sulfate de quinine, un composé actif issu de l'écorce de *quinquina* isolé par les pharmaciens français Pelletier et Caventou en 1820. La quinine a permis de faire chuter de manière spectaculaire la mortalité liée au paludisme (Ambroise-Thomas, 2007).

En 1939, Müller montre les propriétés insecticides du DDT qui devient rapidement l'insecticide chimique le plus couramment utilisé à cette époque pour lutter contre divers vecteurs de maladies notamment les vecteurs du paludisme, du typhus et de la peste bubonique. Ce fut également la base des campagnes de lutte antivectorielle dirigées par l'OMS en 1955. En 1972, Tu Youyou et son équipe isolent l'artémisinine, un médicament antipaludique sur lequel reposent de nombreux espoirs de nos jours (Ambroise-Thomas, 2007).

I.2. Épidémiologie

I.2.1. Situation du paludisme dans le monde

Le paludisme est une parasitose largement répandue dans le monde. Elle sévit dans les régions d'Afrique subsaharienne, d'Asie du Sud-Est, de la Méditerranée orientale, du Pacifique occidental et des Amériques avec des incidences fluctuant d'une région à une autre (Figure 1). En 2018, l'Organisation mondiale de la Santé a fait état de 228 millions de cas dans le monde ayant conduit à 405 000 décès. Le groupe le plus exposé à la mortalité palustre est celui des

enfants de moins de cinq ans qui représentent 67 % de l'ensemble des décès enregistrés dans le monde. À ce groupe s'ajoutent les femmes enceintes et les voyageurs non immunisés provenant des régions exemptes de paludisme (WHO, 2019).

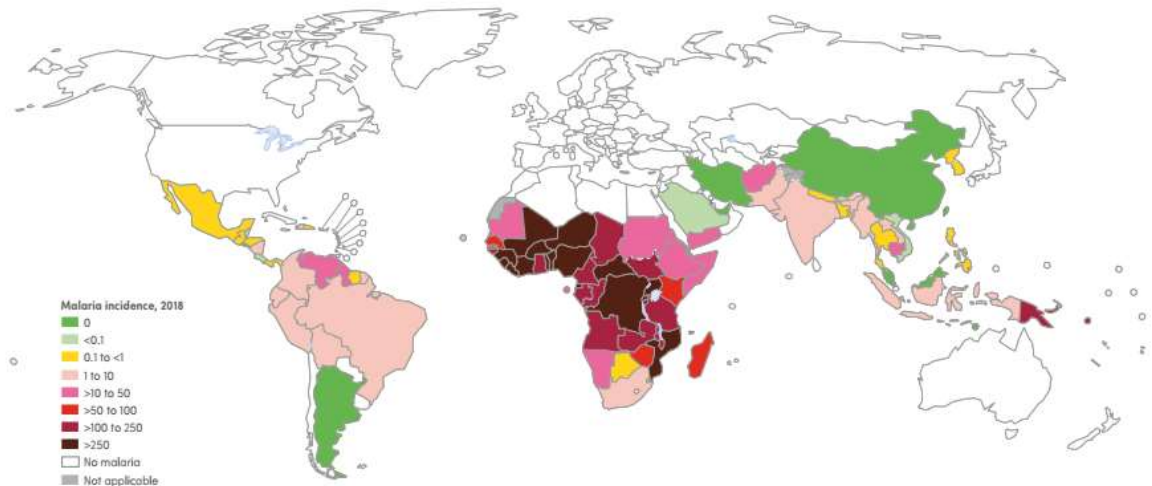


Figure 1 : Carte présentant le nombre de cas de paludisme pour 1000 habitants par pays (WHO, 2019)

I.2.2. Paludisme en Afrique

Des données récentes de l'OMS ont fait état de 215 millions de cas de paludisme et de 384 000 décès liés au cours de l'année 2019 en Afrique subsaharienne ; un enfant de moins de 5 ans sur vingt meurt chaque année suite à un accès palustre ; environ 5 à 40% des malades atteints de formes graves de paludisme décèdent. En 2019, six pays de la Région africaine concentraient 50 % des cas de paludisme dans le monde : le Nigéria (23 %), la République démocratique du Congo (11 %), la République-Unie de Tanzanie (5 %), le Niger (4 %), le Mozambique (4 %) et le Burkina Faso (4 %) (WHO, 2020).

Dans les zones urbaines d'Afrique, il a été rapporté une extrême hétérogénéité du taux d'inoculation entomologique, indice de transmission du paludisme. L'exploration de 90 études menées dans 136 sites provenant de 23 pays d'Afrique a fait état d'une augmentation de la transmission du paludisme dans les zones urbaines depuis 2003 probablement attribuable à une urbanisation accélérée et mal contrôlée (Ishengoma *et al.*, 2011 ; De Silva *et al.*, 2012) et à l'adaptation des vecteurs à la pollution des zones urbaines (Matthys *et al.*, 2006 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011).

I.2.3. Paludisme au Cameroun

Le Cameroun englobe 3 % de tous les cas de paludisme recensés dans le monde et 3 % des décès liés en 2019 ; cela en fait le troisième pays le plus touché d'Afrique centrale (WHO, 2020). En effet, l'incidence palustre est de 116 cas pour 1000 habitants largement au-dessus de celle des pays voisins comme la République centrafricaine (WHO, 2019). Selon les rapports actualisés du Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), la prévalence moyenne palustre est de 24 % (INS, 2020). Cette parasitose est également à l'origine de 30 % des motifs de consultations médicales, 19 % de mortalité dans les formations sanitaires et 48 % des motifs d'hospitalisations. La majorité de la population est sans cesse exposée aux piqûres de moustiques, ce qui leur confère un certain degré de prémunition contre le paludisme. Les couches les plus vulnérables sont les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes dont la prémunition est faible (PMI, 2020).

Le climat et la végétation influencent considérablement l'épidémiologie du paludisme au Cameroun (Massoda *et al.*, 2018). Si les niveaux d'endémicité palustre dans les centres urbains sont plus faibles comparé à la périphérie urbaine (Nimpaye *et al.*, 2001), la croissance de la population et l'hétérogénéité spatiale des régions du Cameroun sont telles que le risque d'infection palustre et tout ce qu'il entraîne (morbidité, mortalité) diffèrent selon les faciès épidémiologiques et les périodes de l'année. Les variations géoclimatiques permettent de diviser le Cameroun en trois principaux faciès épidémiologiques de paludisme (Figure 2) :

- le faciès sahélien dans le nord du Cameroun : il se situe dans la région de l'Extrême Nord et une grande partie de la région du Nord. La transmission du paludisme dans cette zone est saisonnière et courte s'effectuant principalement de septembre à novembre pendant la saison des pluies (Serafini *et al.*, 2011). La prévalence palustre varie de 8,5 % en saison sèche à 40,8 % en saison pluvieuse (Couprié *et al.*, 1985 ; Same-Ekobo *et al.*, 2001) ;
- le faciès tropical des plateaux intérieurs de savane localisé dans les régions de l'Adamaoua et une petite partie du Nord correspond à la zone de savane boisée de l'Adamaoua et de la Bénoué. La transmission du paludisme dans cette zone est saisonnière et longue s'étalant sur 4 à 6 mois. Elle est intense pendant la période pluvieuse fluctuant de 2,7 à 36,5 Piqûres infestantes/homme/nuit (Robert *et al.*, 1992 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2008). Dans la région de l'Adamaoua, la transmission atteint

jusqu'à 100 Piqûres infestantes/homme/an (Pi/h/an) (Domfang *et al.*, 2006 ; Ndo *et al.*, 2016) ;

- le Faciès équatorial forestier du Sud Cameroun localisé dans tout le grand Sud Cameroun. La transmission du paludisme dure 7 à 12 mois. La pluviométrie y est abondante (jusqu'à 5 000 mm). On y distingue quatre saisons : deux saisons de pluies et deux saisons sèches. Le réseau hydrographique est dense et les principaux fleuves sont : le Wouri, la Sanaga, le Nyong, le Ntem, la Ngoko et le Kadeï. Le paludisme y est endémique. La transmission est pérenne avec des niveaux de transmission élevés atteignant 350 Pi/h/an (Bigoga *et al.*, 2012 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2012 ; Ntonga *et al.*, 2015 ; Ndo *et al.*, 2018).

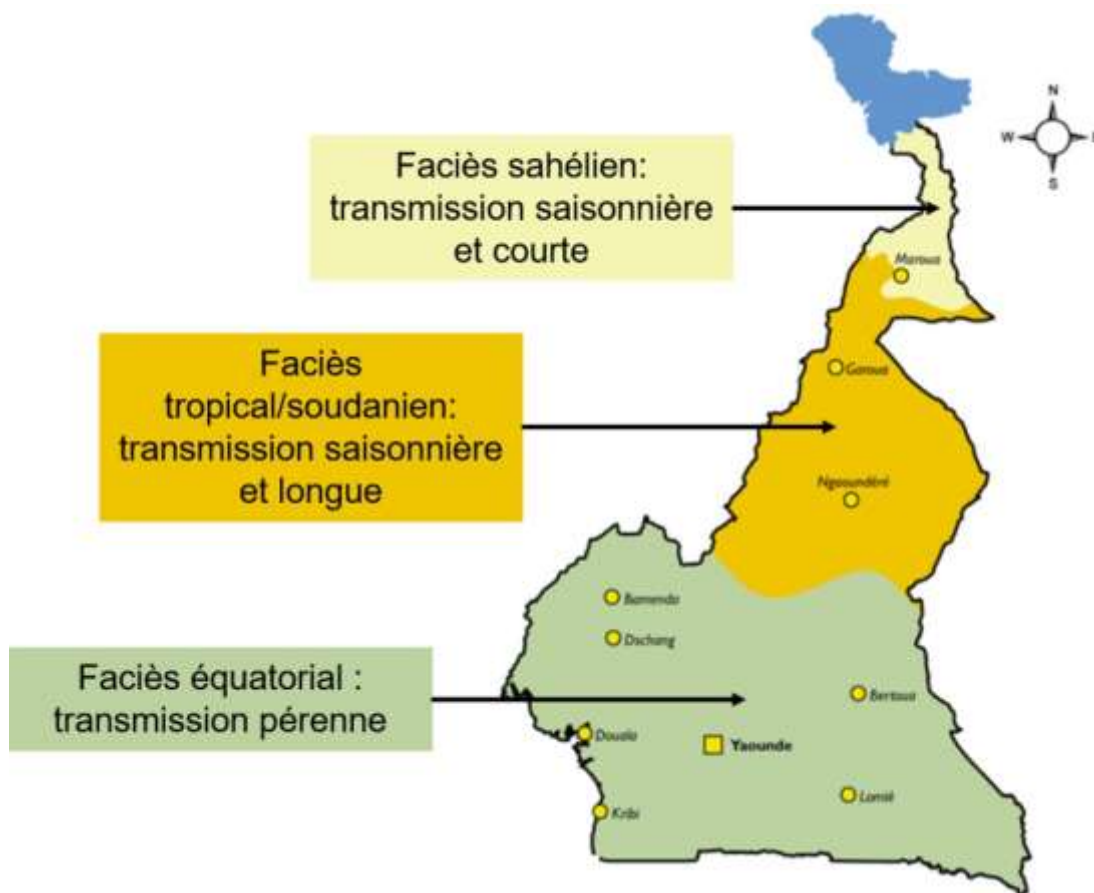


Figure 2 : Carte présentant les faciès épidémiologiques du paludisme au Cameroun (PMI, 2020 modifié)

Il existe également des biotopes particuliers donnant lieu à des faciès épidémiologiques spécifiques tels que les hauts plateaux de l'Ouest, la zone de transition savane-forêt, la zone littorale, les zones urbaines, les abords des barrages et les zones de riziculture.

I.2.3.1. Cas des zones urbaines

Le paludisme dans les principales villes du pays à l'instar de Yaoundé et Douala constitue un cas particulier. Ces villes abritent plus du quart de la population camerounaise. L'urbanisation anarchique que connaît ces villes a engendré la prolifération des moustiques vecteurs dans les quartiers centraux et périphériques, ce qui constitue un challenge pour le contrôle du paludisme (Keiser *et al.*, 2004 ; Hay *et al.*, 2005). Le relief de la ville de Yaoundé en particulier se caractérise par l'alternance de collines et de bas-fonds. La transmission du paludisme y est hétérogène et varie de la périphérie au centre de la ville. En 1950, le niveau de transmission du paludisme était quasi nul dans la ville de Yaoundé (Carnevale et Mouchet, 2001) ; les pulvérisations intradomiciliaires étaient la première mesure de lutte déployée contre le paludisme à cette période (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002). Des années plus tard, après l'interruption des campagnes de pulvérisations intradomiciliaires, certains auteurs ont rapporté des niveaux de transmission modérés allant de 3 à 33 Pi/h/a dans les quartiers centraux de la ville (Manga *et al.*, 1992 ; Fondjo *et al.*, 1992 ; Nimpaye *et al.*, 2001) et élevés dans les quartiers périphériques allant de 277 Pi/h/an à 350 Pi/h/an (Quackyi *et al.*, 2000 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002). En 2003, une étude parasitologique a révélé une prévalence palustre de 35 % (Van der Kolk *et al.*, 2003) chez les enfants de 0 à 15 ans. De nos jours, le taux de couverture des ménages en MILDA dans la ville de Yaoundé est important avec 75 % de la population urbaine de Yaoundé qui détient une MILDA (INS, 2020). Suite à l'urbanisation exponentielle des centres urbains résultant de l'exode rural ou des échanges avec le milieu rural, la transmission du paludisme devient de plus en plus intense dans ces centres urbains. Une étude menée à Yaoundé en 2011 a fait état de l'adaptation des anophèles vecteurs du paludisme dans les gîtes pollués et artificiels qui pullulent dans les quartiers (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011). En 2018, la prévalence du paludisme chez les enfants de 6 à 59 mois a été estimée à 14% dans la ville de Yaoundé (INS, 2020).

I.3. Agent causal : *Plasmodium*

I.3.1. Systématique

Les parasites du genre *Plasmodium* sont des protozoaires appartenant à l'embranchement des Apicomplexa. Le germe infectieux, le sporozoïte est caractérisé par la présence d'un complexe apical généralement constitué d'un conoïde qui aide à la pénétration dans la cellule hôte, d'un anneau polaire et de rhoptries qui sécrètent probablement une enzyme protéolytique ainsi que des microtubules sous membranaires qui assurent la mobilité de la

cellule. *Plasmodium* est un parasite intracellulaire, amiboïde, colonisant les hématies et produisant un pigment hémozoïne produit de la dégradation de l'hémoglobine. Il appartient à l'embranchement des Apicomplexa, à la classe des Coccidia, à l'ordre des Haemosporida, au sous-ordre des Haemosporina, à la famille des Plasmodiidae, et au genre *Plasmodium* Marchiafava et Celli, 1895 (Tableau I).

Tableau I : Position taxonomique du genre *Plasmodium*, Marchiafava et Celli, 1895 (ANOFEL, 2014)

Classification		Caractéristiques
Règne	Animalia	Animaux
Sous-règne	Protozoa	Unicellulaire eucaryote et microscopique.
Embranchement	Apicomplexa	- Absence d'un organite locomoteur à l'exception du gamète mâle - Présence d'un complexe apical
Classe	Coccidea	- existence de schizogonie, gamogonie et sporogonie dans le cycle biologique - Sporozoïtes formés dans un kyste par plusieurs multiplications asexuées.
Ordre	Haemosporida	- zygote se différenciant en un oocinète - cycle biologique hétéroxène avec schizogonie intracellulaire chez un vertébré et sporogonie chez un vecteur invertébré.
Sous-ordre	Haemosporina	- parasites se multipliant dans les globules rouges - présence de pigment hémozoïne produit de la dégradation de l'hémoglobine qui s'accumule dans le cytoplasme du parasite
Famille	Plasmodiidae	
Genre	<i>Plasmodium</i>	

I.3.2. Espèces plasmodiales responsables du paludisme chez l'homme

Il existe plus de 200 espèces de *Plasmodium* qui parasitent diverses espèces animales, mais seules six (06) sont responsables du paludisme chez l'homme (ANOFEL, 2014). Les six espèces diffèrent par des caractéristiques biologiques, cliniques, par leur répartition géographique et par leur capacité à développer des résistances aux antimalariques.

➤ *Plasmodium falciparum* Welch, 1897

La plus pathogène de toutes les espèces de *Plasmodium*, cette espèce est fortement implantée en Afrique subsaharienne où elle sévit de façon permanente. Au Cameroun, cette espèce est responsable de plus de 95% des cas d'infection palustre (Kwenti *et al.*, 2017 ; Sandeu

et al., 2017). Sa durée d'incubation est de 7 à 12 jours et les accès thermiques se présentent sous forme de fièvre tierce maligne. Dans les régions équatoriales, l'espèce *Plasmodium falciparum* est transmise toute l'année avec des recrudescences saisonnières. Dans les régions subtropicales, la transmission de *Plasmodium falciparum* ne survient qu'en période chaude et humide et s'interrompt lorsque la température tombe en dessous de 18°C. Cela explique aussi le fait que le paludisme ne soit plus transmis en altitude (au-dessus de 1500 mètres en Afrique et 2500 mètres en Amérique et en Asie) (ANOFEL, 2016). On n'observe pas de rechute tardive comme avec les autres espèces. *Plasmodium falciparum* est responsable des formes cliniques graves, notamment du neuropaludisme (Mouchet *et al.*, 2004).

➤ ***Plasmodium malariae* Grassi et Feletti, 1890**

Ce parasite se retrouve dans toute la région afrotropicale de manière sporadique, en Asie, en Amérique centrale et du Sud. Il est responsable de 1% des cas d'infection au Cameroun (PNLP, 2012). *Plasmodium malariae* a été découvert par Laveran en 1880. Dix ans plus tard, Grassi et Feletti l'ont nommée après l'avoir distinguée de *Plasmodium vivax* (Collins et Jeffery, 2007). Cette espèce se différencie des autres espèces par une incubation plus longue allant de 15 à 21 jours et est à l'origine de la fièvre quarte bénigne à recrudescence tardive avec une périodicité de 72 heures.

➤ ***Plasmodium vivax* Grassi et Feletti, 1890**

Cette espèce est répandue en Asie, Asie du Sud-Est, Amérique du Sud et dans la région du Pacifique occidental. Elle a été reportée dans la région de l'Ouest-Cameroun (Russo *et al.*, 2017). Bien qu'elle puisse être retrouvée sur tout le continent africain, le risque d'infection est bas en Afrique de l'Ouest. Les érythrocytes du groupe sanguin Duffy négatif observés chez la plupart des sujets de cette zone ne possèdent pas le récepteur membranaire nécessaire à l'infection par *Plasmodium vivax* (Allgower *et al.*, 2016). Sa transmission s'arrête en dessous de 15°. Sa période d'incubation est de 11 à 15 jours, mais des rechutes (accès de reviviscence) peuvent être observées pendant 3 à 4 ans par réactivation de formes érythrocytaires latentes malgré l'absence d'hypnozoïtes (Baudon *et al.*, 1987). L'affection par *Plasmodium vivax* est classiquement considérée comme bénigne (fièvre tierce bénigne, c'est-à-dire due à un cycle érythrocytaire de 48 heures).

➤ ***Plasmodium ovale* Stephens, 1922**

Cette espèce sévit en Afrique intertropicale du Centre et de l'Ouest (et dans certaines régions du Pacifique) et provoque une fièvre tierce bénigne comme *Plasmodium vivax* dont il est très proche. Ce parasite est responsable de 3 % des infections palustres au Cameroun (PNLP, 2012). Son incubation est de 15 jours au minimum, mais peut-être beaucoup plus longue, jusqu'à 4 ans. Son évolution est bénigne, mais on peut observer, comme avec *Plasmodium vivax*, des rechutes tardives (5 ans) (ANOFEL, 2016).

➤ ***Plasmodium knowlesi* Knowles, 1932**

Ce parasite sévit en Asie du Sud-Est (particulièrement en Malaisie, à Bornéo) en zone forestière (Lee *et al.*, 2009) car il est étroitement lié à la répartition des singes macaques, son hôte habituel, et de son vecteur piquant l'homme et le singe. Il est morphologiquement proche de *P. malariae* et génétiquement proche de *P. vivax*. Il se différencie des autres espèces par un cycle érythrocytaire de 24 heures responsable d'une fièvre quotidienne. Il existe de rares formes graves, voire mortelles, avec de fortes parasitémies. À ce jour, aucune chimiorésistance n'a été observée pour cette espèce (ANOFEL, 2016).

➤ ***Plasmodium cynomolgi***

Plasmodium cynomolgi se trouve généralement chez les macaques en Asie du Sud-Est et infecte rarement l'homme. Le premier cas chez l'homme a été décrit en 2014. C'est la deuxième espèce de parasite du paludisme connue pour infecter les singes et les humains à l'état sauvage, à la suite de la découverte de l'infection humaine à *Plasmodium knowlesi* en 2004. Le diagnostic de cette espèce étant difficile, des techniques de détection et d'identification avancées doivent être appliquées pour garantir la prise en compte de *Plasmodium cynomolgi* dans le diagnostic différentiel lorsque tous les autres tests reviennent négatifs.

I.3.3. Cycle de développement

Le cycle de développement du *Plasmodium* est hétéroxène car fait intervenir deux hôtes : un hôte définitif, un moustique du genre *Anopheles* et un hôte intermédiaire, l'homme.

➤ Chez l'homme

Chez l'homme, le cycle est constitué de deux phases, une phase exoérythrocytaire (schizogonie exoérythrocytaire ou pré-érythrocytaire ou hépatique) et une phase érythrocytaire comprenant la schizogonie érythrocytaire et la gamétocytogenèse (Figure 3). La gamétocytogenèse est le processus de formation des gamétocytes qui marque l'initiation de l'étape sexuelle du *Plasmodium*.

Au cours d'un repas de sang sur l'homme, le moustique femelle lui injecte de la salive pour empêcher la coagulation du sang. Les sporozoïtes contenus dans les glandes salivaires du moustique restent moins de 30 min dans le derme, la lymphe et le sang avant de gagner le foie : la phase exoérythrocytaire débute (Figure 3.1). Dans l'hépatocyte, le noyau du sporozoïte subit plusieurs divisions pour donner un schizonte et chaque noyau fils s'entoure d'une portion de cytoplasme pour devenir un mérozoïte (Figure 3.2). Après 7 à 15 jours de maturation, les schizontes éclatent et libèrent les mérozoïtes qui gagnent la circulation sanguine (Figure 3.3). Pour les espèces *Plasmodium ovale* et *Plasmodium vivax*, ces mérozoïtes vont persister dans les hépatocytes sous forme dormante, les hypnozoïtes responsables des reviviscences tardives.

Une fois dans la circulation sanguine, les mérozoïtes pénètrent très rapidement les hématies, c'est la phase érythrocytaire (Figure 3.4). Par la suite, ces derniers augmentent de volume pour devenir des trophozoïtes. Le trophozoïte se nourrit de l'hémoglobine et son produit de digestion est l'hémozoiné ou pigment malarique. Les trophozoïtes divisent leurs noyaux plusieurs fois pour devenir des schizontes (érythrocytaires) (Figure 3.5). Les schizontes devenus matures, ou corps en rosace éclatent et libèrent les mérozoïtes dont certains vont parasiter de nouveaux globules rouges et débiter un nouveau cycle schizogonique. La libération des mérozoïtes se fait de manière synchronisée (accès palustre intermittent chez les sujets immunisés) en entraînant les symptômes caractéristiques des accès palustres (frissons, chaleur et sueurs). Les cellules libérées peuvent alors participer à un nouveau cycle érythrocytaire entraînant des épisodes de fièvre avec une périodicité de 48 h.

Après plusieurs cycles, certains mérozoïtes vont subir une maturation accompagnée d'une différenciation sexuée et se transformer en gamétocytes mâle ou femelle dont les stades matures, bloqués, restent dans le sang périphérique de l'homme. C'est la première étape de la phase sexuée (Figure 3.6).

➤ **Chez le moustique**

En prenant son repas de sang sur un homme infecté, l'anophèle femelle ingère avec les globules rouges, tous les stades parasitaires présents dans le sang capillaire (Figure 3.7). Les parasites asexués sont digérés et seuls les gamétocytes assurent la poursuite du cycle. Une fois dans l'intestin de l'animal, les gamétocytes se transforment en gamètes (Figure 3.8). Ces gamètes vont fusionner pour donner un zygote mobile appelé oocinète (ou ookinète) (Sinden et Hartley, 1985). Ce dernier quitte la lumière du tube digestif du moustique et va se loger sous l'assise basale de la paroi externe de l'estomac où il s'enkyste et se transforme en oocyste (Figure 3.9). C'est à l'intérieur de l'oocyste que se déroule la sporogonie (divisions nucléaires rapides, suivies d'une division du cytoplasme), qui donne naissance aux sporozoïtes (Figure 3.10).

L'éclatement de l'oocyste libère les sporozoïtes qui migrent jusqu'aux glandes salivaires du moustique prêts à être inoculés à un nouvel hôte vertébré lors du prochain repas sanguin.

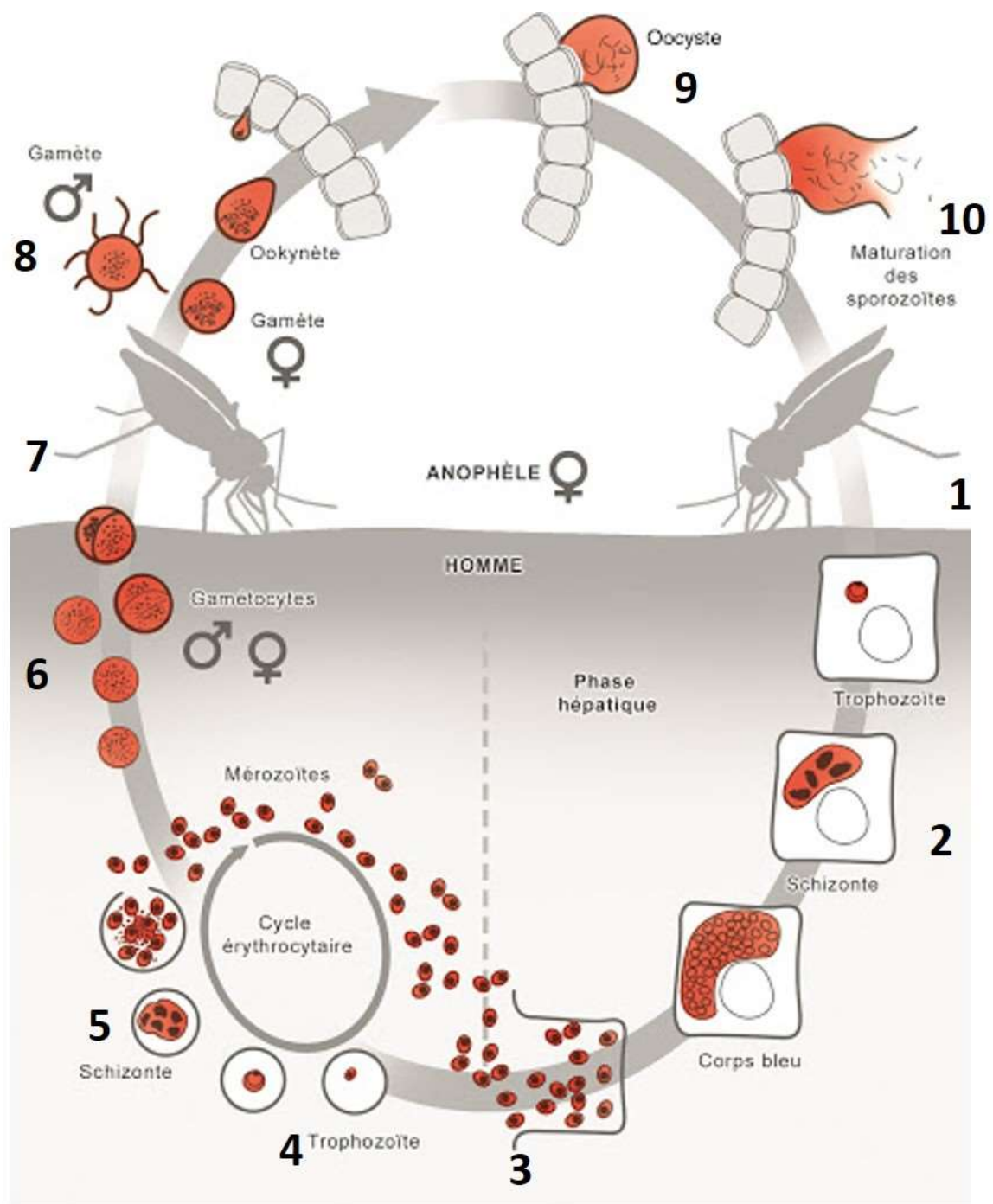


Figure 3 : Cycle évolutif du *Plasmodium* (ANOFEL, 2016).

I.3.4. Techniques d'identification du plasmodium chez les différents hôtes

L'identification du parasite se fait de manière directe à partir du sang de l'homme ou à partir du moustique.

I.3.4.1. Techniques d'identification du plasmodium chez l'homme

➤ Goutte épaisse

Cette technique, très ancienne, réalise une microconcentration et reste la méthode de référence. Elle consiste à examiner quelques microlitres de sang après hémolyse des globules rouges et coloration au Giemsa. C'est une technique extrêmement sensible ; elle permet de détecter les parasites et l'espèce en présence. Le nombre de parasites pour 200, 500 ou 1000 leucocytes peut être compté. Le seuil de détection de la technique est de 10 à 20 parasites par microlitre de sang (environ 0,000 2 à 0,000 4 %) (ANOFEL, 2016).

➤ Frottis mince

L'examen d'un frottis ne se fait pas en routine pour le diagnostic du paludisme. On a recours à ce dernier lorsque la goutte épaisse est trop petite, la densité parasitaire est élevée ou lorsque la confirmation de l'espèce est difficile ou incertaine dans la goutte épaisse. La lame est colorée avec du Giemsa. Les parasites, colorés en rouge (noyau) et bleu (cytoplasme), sont retrouvés à l'intérieur des globules rouges (pas d'hémolyse dans cette technique). En revanche, la quantité de sang examinée est plus faible que sur une goutte épaisse et cette méthode peut être mise en défaut en cas de parasitémie faible. Elle est dix à vingt fois moins sensible comparé à la goutte épaisse. La parasitémie en pourcentage d'hématies parasitées doit être mesurée. Le seuil de détection de la technique est de 100 à 200 parasites par microlitre (environ 0,002 à 0,004 %) (ANOFEL, 2016).

➤ Tests de diagnostic rapide par immuno-chromatographie (TDR)

Le principe de ces tests est la détection en chromatographie sur un support solide des antigènes spécifiques produits par les *Plasmodium* présents dans le sang des personnes infectées. Il repose également sur la capture d'anticorps marqués avec un colorant afin de produire une bande visible sur un film de nitrocellulose. L'anticorps marqué se lie à l'antigène du parasite et le complexe résultant est capturé sur un film par une bande d'anticorps lié qui formera une ligne visible par précipitation. Une ligne de contrôle donne des informations sur l'intégrité du conjugué d'anticorps marqué par un colorant c'est-à-dire permet de savoir si le test est fonctionnel. Certains de ces tests permettent de détecter les infections monospécifiques, d'autres détectent des infections mixtes. Ils ciblent la protéine-2 riche en histidine (HRP2) de *Plasmodium falciparum*, la lactate déshydrogénase de plasmodium (pLDH) et/ou l'aldolase (commun à toutes les espèces de *Plasmodium*) (OMS, 2014a).

Ces tests rapides, très simples d'utilisation et conditionnés en emballages unitaires, ont une excellente spécificité pour toutes les espèces et une bonne sensibilité pour *P. falciparum* et *P. vivax* (Aubry et Gauzère, 2018). Aucun de ces tests ne permet de mesurer la parasitémie ; l'antigène HRP-2 reste détectable plusieurs jours à plusieurs semaines après la disparition de *P. falciparum* du sang.

➤ **Analyses biomoléculaires : tests PCR**

Cette technique qui permet de détecter les espèces de parasites à travers l'amplification de l'ADN ribosomal représente une technique de référence pour la détection des espèces de *Plasmodium* (Taylor *et al.*, 2010). À ce jour plusieurs protocoles ont été décrits (Snounou *et al.*, 1993 ; Snounou *et al.*, 2002 ; Padley *et al.*, 2003 ; Lucchi *et al.*, 2012). Des amorces spécifiques sont disponibles pour chaque espèce. Cette technique peut être utilisée dans des situations particulières notamment pour identifier des espèces morphologiquement identiques (*P. malariae* et *P. knowlesi*) ou pour tester l'efficacité à distinguer les primo-infections des rechutes et des recrudescences (OMS, 2014a).

Le diagnostic parasitaire chez l'homme par utilisation de la microscopie, des Tests de Diagnostic Rapide (TDR) et même par analyse moléculaire en utilisant la « Polymerase chain reaction » (PCR) manque parfois de sensibilité en raison du faible nombre de sujets infectés et ne fournit qu'une vision ponctuelle de l'exposition au paludisme.

I.3.4.2. Techniques d'identification du *Plasmodium* chez le moustique

L'identification du parasite chez le moustique peut se faire après dissection, Tests ELISA et analyses biomoléculaires.

➤ **Dissection de moustiques**

La dissection des moustiques permet de mettre en évidence certains organes renfermant le parasite comme l'estomac où se trouvent les oocystes du *Plasmodium*, les glandes salivaires renfermant les sporozoïtes du *Plasmodium* (Beier *et al.*, 1988). Lorsque les sporozoïtes sont identifiés, ils sont colorés au Giemsa puis examinés au microscope avec un fort grossissement.

➤ **Tests ELISA**

Dans cette technique, le thorax et la tête du moustique sont broyés dans une solution spécifique. Cette méthode permet de détecter la protéine circumsporozoïtique qui recouvre la

surface externe du sporozoïte du paludisme. Elle est plus rapide que la dissection et permet également d'identifier l'espèce de *Plasmodium* en cause (Wirtz *et al.*, 1987).

➤ Tests PCR

Cette technique utilise l'ADN extrait de la tête-thorax du moustique. Des protocoles de PCR quantitative ont été également mis sur pied à cet effet (Bass *et al.*, 2008).

I.4. Vecteurs

I.4.1. Systématique des anophèles

Les vecteurs des plasmodies sont des diptères holométaboles appartenant tous au genre *Anopheles* dont la position systématique est résumée dans le tableau II. Le genre *Anopheles* a été décrit pour la première fois en 1818 par l'entomologiste allemand Meigen. Il appartient à l'embranchement des Arthropodes, sous-embranchement de Hexapodes, classe des Ectognathes, sous-classe des Ptérygotes, ordre des Diptères, sous-ordre des Nématocères, famille des Culicidae, sous-famille des Anophelinae (Knight et Stone, 1977).

Tableau II : Position systématique du genre *Anopheles* (ANOFEL, 2014)

Classification	Caractéristiques
Embranchement des Arthropodes	- Présence d'une carapace de nature chitineuse - Présence d'une symétrie bilatérale, - Présence d'appendices articulés.
Sous-embranchement des Hexapodes	-Corps divisé en 3 tagmes (tête-thorax-abdomen), -Présence de 3 paires de pattes thoraciques.
Classe des Ectognathes	-Pièces buccales visibles à l'extérieur, -Présence de l'organe de Johnston sur le scape antennaire.
Sous-classe des Ptérygotes	-Présence d'ailes au moins à un stade de leur développement post-embryonnaire.
Ordre des Diptères	-Présence d'une paire d'ailes, -Ailes postérieures transformées en balanciers ;
Sous-ordre des Nématocères	-Antennes rondes et longues
Famille des Culicidae	-Corps recouvert d'écailles filiformes, bord postérieur des ailes frangé d'écailles.
Sous-famille des Anophelinae	-Trompe dressée en avant, beaucoup plus longue que le reste de la tête, -Scutellum régulièrement courbé au bord postérieur.
Genre <i>Anopheles</i> Meigen, 1818	Taches formées par les écailles claires et sombres sur la costa.

On dénombre environ 528 espèces d'anophèles parmi lesquels 41 sont impliquées dans la transmission du paludisme à travers le monde (Harbach, 2011, Sinka *et al.*, 2012). Leur distribution et leur capacité vectorielle varient selon les régions géographiques. La faune anophélienne d'Afrique est estimée à environ 160 espèces, mais seules 20 sont des vecteurs (Mouchet *et al.*, 2004). Trois espèces à savoir *Anopheles gambiae*, Giles 1902, *Anopheles arabiensis* et *Anopheles funestus* s.s. sont considérées comme vecteurs majeurs et appartiennent à des complexes ou groupes d'espèces (Fontenille *et al.*, 2003, Fontenille et Simard, 2004). D'autres espèces notamment *Anopheles nili* s.s. Theobald, 1904, *Anopheles moucheti* s.s Evans, 1925, *Anopheles carnevalei* Brunhes *et al.*, 1999, *Anopheles coustani* Laveran, 1900, *Anopheles flavicosta* Edwards, 1911 , *Anopheles hancocki* Edwards, 1929, *Anopheles melas* Theobald, 1903 , *Anopheles merus* Doenitz, 1902 , *Anopheles ovengensis* Awono-Ambene, 2004 , *Anopheles paludis* Theobald, 1900, *Anopheles pharoensis* Theobald, 1901, *Anopheles rufipes* Gough, 1910 et *Anopheles ziemanni* Grünberg, 1902 sont considérées comme des vecteurs secondaires ou d'importance locale. Ces derniers ont un faible rôle dans l'épidémiologie de la transmission (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006; Kerah *et al.*, 2009; Antonio-Nkondjio et Simard, 2013; Tabue *et al.*, 2014).

I.4.2. Biologie et cycle de développement des anophèles

Les anophèles présentent un cycle de vie à métamorphose complète, les larves ont une morphologie et un mode de vie différents de ceux de l'adulte d'où la caractéristique d'holométabole. Leur développement est caractérisé par la succession de deux phases : une phase aquatique (œuf, larve et nymphe) et une phase aérienne (adulte) (Figure 4).

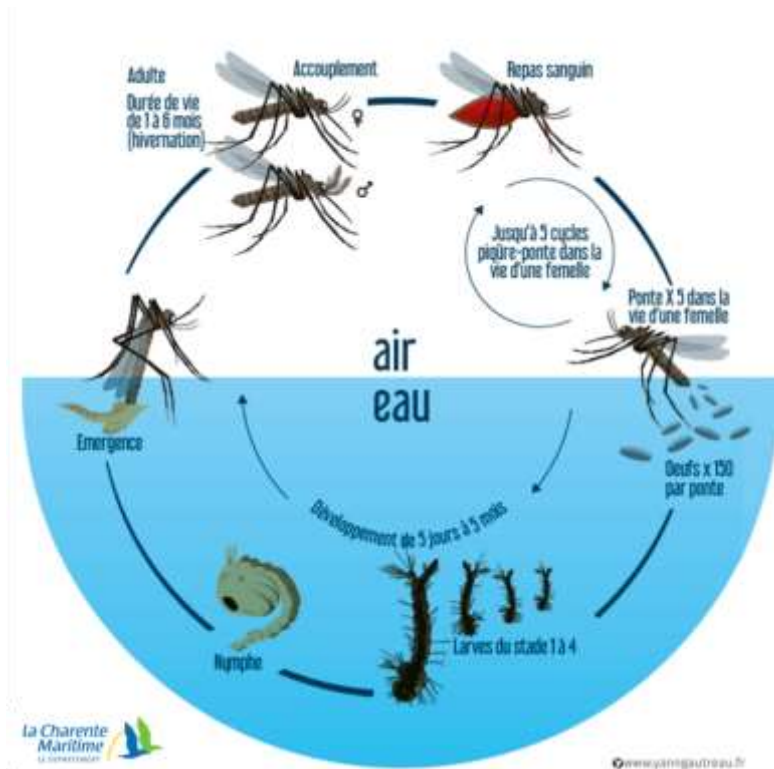


Figure 4 : Cycle de développement des anophèles (source : eidalantique, la Charente Maritime).

➤ **Phase aquatique ou préimaginale**

Les œufs d’anophèles pondus séparément sont munis de flotteurs qui leur permettent de rester à la surface de l’eau durant l’embryogenèse. Sous des conditions favorables de température, l’incubation des œufs dure deux à trois jours. Après éclosion (au bout de 36 à 48h), les œufs donnent naissance aux larves de stade 1 (L1) mesurant environ 1 mm qui vont évoluer par des mues successives pour donner des larves de stades 2 (L2), 3 (L3) et 4 (L4) mesurant de 5 mm à 1 cm. Comme tous les autres culicidés, les larves d’anophèles se nourrissent en filtrant les débris organiques et les micro-organismes de l’eau, ce sont des détritivores. La durée totale de la vie larvaire est de 8 à 12 jours (Danis et Mouchet, 1991). Au terme de leur développement, elles subissent une mue particulière appelée la nymphose pour donner des nymphes mobiles qui ne se nourrissent pas mais subiront d’importantes transformations morphologiques et physiologiques pour devenir des adultes mâles ou femelles. L’émergence a lieu à la surface du plan d’eau et dure quelques minutes. Sous l’effet de la pression interne, la cuticule nymphale se sectionne suivant une ligne médiodorsale du céphalothorax, l’adulte se dégage rapidement de l’exuvie et s’envole dès que ses ailes ont séché (Danis et Mouchet, 1991).

➤ **Phase aérienne : émergence, accouplement et cycle gonotrophique**

Après l'émergence, les femelles ont besoin de douze à vingt-quatre heures pour que leur cuticule durcisse. Les mâles ont besoin de soixante-douze heures pour le durcissement de la cuticule et la mise en place de leur organe de reproduction. Cette maturation se fait par une rotation de 180 degrés de l'appareil génital et de l'extrémité abdominale chez les mâles (Clements, 1992).

Les moustiques mâles ont des antennes plumeuses qui ont un rôle olfactif, intervenant dans la recherche des femelles. Ce caractère permet de distinguer à l'œil nu les deux sexes. Ils ne sont pas hématophages et de ce fait ne se déplacent pas très loin de leurs gîtes. Leur vie est principalement axée sur leur fonction reproductive et ils ont une longévité relativement faible allant de 7 à 10 jours (Rodhain et Perez, 1985). Environ trois jours après émergence, les moustiques mâles essaient au crépuscule puis s'accouplent (Diabate *et al.*, 2006 ; Manoukis *et al.*, 2009). La copulation d'une durée de quelques secondes peut se dérouler entièrement en vol ou bien commencer en vol et se poursuivre lorsque le couple (la femelle accrochée par les claspers du mâle) est au sol (Charlwood *et al.*, 2002 ; Carnevale *et al.*, 2009).

Les anophèles femelles ont des antennes glabres et ne s'accouplent le plus souvent qu'une seule fois dans la vie. Elles conservent les spermatozoïdes fonctionnels dans un réceptacle, la spermathèque, d'où ils sortent pour féconder les ovocytes au moment de la ponte. Ces spermatozoïdes conservent leur pouvoir fécondant durant toute la vie du moustique. La femelle les utilisera tout au long de sa vie (Detinova *et al.*, 1962). Contrairement aux individus mâles, les femelles sont hématophages, se nourrissant de sang d'animaux vertébrés ou d'humains qu'elles prélèvent par piqûre. Les substances alimentaires résultant de la digestion du sang absorbé sont utilisées en partie pour la nutrition, la régulation thermique, mais principalement pour la maturation des œufs.

La succession des phénomènes physiologiques qui se produisent chez la femelle entre deux repas de sang successifs constitue le cycle gonotrophique (Robert, 2001 ; Carnevale *et al.*, 2009). Il est composé de trois phases notamment la recherche de l'hôte intermédiaire et prise du repas de sang ; la digestion du sang et maturation ovarienne ; et la recherche du lieu de ponte et la ponte. La durée du cycle gonotrophique varie entre deux à trois jours pour les femelles pares (c'est-à-dire ayant effectué au moins une ponte) et jusqu'à cinq jours pour les femelles nullipares (n'ayant pas encore effectué de ponte). Deux à trois jours après la prise du repas de

sang, l'anophèle femelle pond des œufs sur l'eau. La fécondité varie selon les espèces et d'autres facteurs comme l'âge et la saison.

I.4.3. Diversité de la faune anophélienne dans les zones urbaines d'Afrique

La distribution de la faune anophélienne en milieu urbain d'Afrique révèle la présence de dix vecteurs majeurs et au moins treize vecteurs secondaires (Kyalo *et al.*, 2017). Certaines espèces du complexe *An. gambiae* comme *An. gambiae* s.s. ; *An. coluzzii* et *An. arabiensis* sont prédominantes dans les villes africaines représentant 90 % du total des espèces recensées. L'espèce *An. funestus* s.s. appartenant au groupe *An. funestus* s.l. se joint à ces espèces prédominantes. D'autres espèces bien qu'étant minoritaires sont retrouvées en zones urbaines. Ce sont entre autres *An. pharoensis*, *An. rufipes*, *An. ziemanni*, *An. paludis*, *An. nili*, *An. moucheti*, *An. melas*, *An. coustani* et *An. parensis* (Kyalo *et al.*, 2017).

I.4.4. Vecteurs impliqués dans la transmission du paludisme au Cameroun

La faune anophélienne du Cameroun regorge une grande diversité d'espèces avec plus de 50 espèces reportées (Hervy *et al.*, 1998). Parmi ces dernières, seize espèces sont impliquées dans la transmission du paludisme de façon permanente (vecteurs majeurs) ou occasionnelle (vecteurs secondaires) (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006 ; Tabue *et al.*, 2014 ; Awono-Ambene *et al.*, 2018). Les principales espèces vectrices sont *An. gambiae* s.s., *An. coluzzii*, *An. arabiensis*, *An. funestus*, *An. nili* et *An. moucheti*. Des études menées à travers le pays ont permis de ressortir la distribution et la bioécologie de ces vecteurs (Wondji *et al.*, 2005 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2009 ; Ayala *et al.*, 2009 ; Simard *et al.*, 2009) (Tableau III). Parmi les vecteurs secondaires, nous comptons 11 espèces notamment *An. ovengensis*, *An. paludis*, *An. ziemanni*, *An. coustani*, *An. pharoensis*, *An. marshallii*, *An. rufipes*, *An. carnevalei*, *An. hancocki*, *An. lesoni* and *An. wellcomei* (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006 ; Tabue *et al.*, 2014 ; Tabue *et al.*, 2017 ; Awono-Ambene *et al.*, 2018).

Depuis les années 1950, la description et l'identification des espèces ont évolué sur la base de critères comportementaux et des différences morphologiques à un stade donné du cycle de développement (Carnevale *et al.*, 2009).

Ces critères ont permis de classer les espèces en complexe et en groupes. Ainsi un complexe d'espèces représente des espèces morphologiquement identiques à tous les stades, mais différentes sur le plan génétique (Carnevale *et al.*, 2009) tandis qu'un groupe d'espèces représente des espèces très proches morphologiquement mais qui présentent de petites différences à un stade au moins de leur développement. Cependant, une partie d'un groupe peut être constituée d'un complexe (Harbach, 1994 ; Harbach, 2004). Presque tous les vecteurs majeurs de *Plasmodium* (une vingtaine) appartiennent à des groupes (Harbach, 1994) ou complexes d'espèces (Reid et Knight, 1961). Ces vecteurs regroupent également en leur sein des espèces dites jumelles c'est-à-dire des espèces qui présentent des caractéristiques morphologiques identiques, mais isolées du point de vue reproductif (Mayr, 1942) (Tableau III).

Tableau III : Caractéristiques des espèces impliquées dans la transmission du paludisme au Cameroun (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2019)

Complexe ou groupe d'espèces	Nombre d'espèces dans le groupe/complexe	Espèces présentes au Cameroun	Comportement de piqûre	Comportement trophique	Niveau de transmission au Cameroun	Distribution géographique
Complexe <i>An. gambiae</i> s.l.	9	<i>An. gambiae</i> s.s.	Endo/exophile	anthropophile	élevé	Dans tout le pays
		<i>An. coluzzii</i>	Endo/exophile	anthropophile	élevé	Dans tout le pays
		<i>An. arabiensis</i>	Exophile	anthropozoophile	élevé	sahel/savane
		<i>An. melas</i>	Exophile	anthropophile	pas connu	Zone côtière
Groupe <i>An. funestus</i> s.l.	11	<i>An. funestus</i> s.s.	Endophile	anthropophile	élevé	Dans tout le pays
		<i>An. lesoni</i>	Exophile	anthropophile	mineur	Dans tout le pays
		<i>An. rivulorum</i>	Exophile	zoophile	pas connu	Savane sèche
		<i>An. rivulorum like</i>	Exophile	zoophile	pas connu	Savane sèche
Groupe <i>An. nili</i>	4	<i>An. nili</i>	Exophile	anthropozoophile	élevé	Dans tout le pays
		<i>An. ovengensis</i>	Exophile	anthropozoophile	modéré	Zone de forêt
		<i>An. carnevalei</i>	Exophile	plus zoophile	mineur	Zone de forêt
		<i>An. somalicus</i>	Exophile	zoophile	aucun	Zone de forêt
Groupe <i>An. moucheti</i>	3	<i>An. moucheti</i>	Endo/exophile	anthropophile	élevé	Zone de forêt
Groupe <i>An. coustani</i>	8	<i>An. coustani</i>	Exophile	plus zoophile	modéré	Dans tout le pays
		<i>An. ziemanni</i>	Exophile	plus zoophile	modéré	Dans tout le pays
		<i>An. paludis</i>	Exophile	anthropophile	modéré	Zone de forêt
		<i>An. namibiensis</i>	Exophile	anthropophile	pas connu	Zone de forêt

		<i>An. obscurus</i>	Exophile	zoophile	pas connu	Zone de forêt
Groupe <i>An. marshalli-hancocki</i>	12	<i>An. marshalli</i>	Exophile	plus zoophile	mineur	Forêt
		<i>An. hancocki</i>	Exophile	anthropophile	mineur	Zone de forêt
		<i>An. brohieri</i>	Exophile	zoophile	pas déterminé	Savanne
		<i>An. wellcomei</i>	Exophile	plus zoophile	mineur	Zone de forêt
		<i>An. njombiensis</i>	Exophile	zoophile	aucun	Zone de forêt
		<i>An. hargreavsi</i>	Exophile	zoophile	aucun	Zone de forêt
Groupe <i>An. pharoensis</i>	1	<i>An. pharoensis</i>	Exophile	anthropozoophile	modéré	Sahel et savane
Groupe <i>An. rufipes</i>	2	<i>An. rufipes</i>	Exophile	anthropozoophile	modéré	Sahel et savane

I.5. Mesure de la transmission du paludisme

La transmission du paludisme résulte de la rencontre et de la compatibilité du *Plasmodium* avec ses hôtes respectifs notamment l'anophèle femelle, hôte définitif et l'hôte intermédiaire, l'homme. L'effectivité de la transmission dépend de plusieurs facteurs, notamment la susceptibilité de la population d'hôtes vertébrés et de la capacité et compétence vectorielles (Fontenille *et al.*, 2013). La mesure de la transmission du paludisme se fait donc à deux niveaux notamment au niveau de l'homme par des analyses parasitologiques pour calculer la prévalence et/ou des analyses de marqueurs sérologiques d'exposition au parasite et au niveau de la population d'anophèles par mesure des indices entomologiques permettant d'incriminer les vecteurs.

I.5.1. Marqueurs sérologiques

L'analyse des marqueurs sérologiques d'exposition au parasite est de plus en plus effectuée pour mesurer les niveaux de transmission du paludisme en zone d'endémie et l'impact des stratégies de lutte déployées à grandes échelles. Ils se sont révélés utiles dans les zones de faible transmission où les mesures traditionnelles telles que le taux d'inoculation entomologique et la prévalence parasitaire sont limitées (Cook *et al.*, 2010 ; Pothin *et al.*, 2016). L'utilisation des marqueurs sérologiques présente l'avantage d'être une technique simple et sensible, fournissant une image plus globale de la transmission sur une période prolongée. Elle est considérée comme une des meilleures approches pour déterminer une exposition en cours, récente ou passée du paludisme (Corran *et al.*, 2007 ; Drakeley *et al.*, 2009 ; Kerkhof *et al.*, 2015). En effet, certains anticorps anti*Plasmodium* ont une demi-vie longue (White *et al.*, 2014) et peuvent être détectés plusieurs semaines, voire plusieurs années après la guérison : c'est le cas des anticorps anti-MSP1, anti-AMA1, ou anti-PfEMP1. D'autres antigènes, comme la protéine CSP entraînent des réponses immunes humorales de courte durée, de trois à douze mois (Moncunill *et al.*, 2013) et offrent de ce fait l'avantage d'identifier des infections plasmodiales beaucoup plus récentes.

Pour augmenter la probabilité de mesurer de fins changements dans les réponses anticorps (prévalence et taux des anticorps circulants) en combinant différents marqueurs sérologiques, plusieurs essais ont été récemment développés par la technologie MagpixLuminex. Cette technique sérologique permet de mesurer en simultanée différents marqueurs sérologiques dans un même échantillon de sérum (Kerkhof *et al.*, 2015 ; Perraut *et al.*, 2017).

I.5.2. Capacité et compétence vectorielle

Au niveau du vecteur, la mesure de la transmission du paludisme s'appuie sur l'analyse de la capacité vectorielle, c'est-à-dire l'aptitude d'un vecteur à transmettre le parasite à travers les piqûres infectantes distribuées quotidiennement à un sujet humain, à un endroit donné et à un moment précis (Garrett-Jones, 1964). La capacité vectorielle inclut la compétence vectorielle qui est définie comme étant l'aptitude d'un vecteur à ingérer le pathogène, permettre son développement et à le transmettre à un hôte vertébré. La capacité vectorielle est conditionnée par la densité vectorielle, la préférence trophique, la durée du cycle gonotrophique, le taux de survie et la durée du cycle d'incubation extrinsèque du pathogène.

Elle est souvent mesurée par la formule suivante (Reisen, 1989) :

$$C = ma \times a \times p^n / -\ln p$$

C = capacité vectorielle qui s'exprime en nombre de piqûres infectantes que peut recevoir un homme par l'intermédiaire d'une population anophélienne par unité de temps. ma = densité anophélienne agressive pour l'homme estimée en nombre de piqûres par homme et par unité de temps. ma peut aussi s'écrire « $m \times a$ », avec m désignant la densité des vecteurs par rapport à l'homme.

a = nombre de repas de sang pris sur homme par un anophèle par unité de temps.

p = probabilité quotidienne de survie de la population anophélienne considérée (calculée à partir du taux de parturité). p^n est la proportion de spécimens qui dépassent l'âge épidémiologiquement dangereux, $1/-\ln p$ est l'espérance de vie et $p^n / -\ln p$ désigne l'espérance de vie infectante. « \ln » désigne le logarithme népérien. n = nombre de jours du cycle extrinsèque (ou sporogonique) de l'espèce plasmodiale étudiée dans la zone et pendant la période considérée.

Les paramètres pour le calcul de la capacité vectorielle ne sont pas toujours précis et faciles à obtenir, comme la détermination du taux de parturité qui requiert une expertise spécifique et l'estimation réelle de la durée du cycle sporogonique d'une espèce si on n'a pas les données de température au moment des captures. C'est la raison pour laquelle la mesure de la transmission se fait généralement en estimant d'autres indices entomologiques spécifiques.

I.5.3. Autres indices entomologiques de mesure de la transmission

Les paramètres entomologiques qui permettent de mesurer la transmission du paludisme incluent le taux d'agressivité, le taux d'endophilie/exophilie (habitudes de repos), le taux d'endophagie/exophagie (habitude trophique), le taux d'anthropophilie (préférence d'hôte), le taux d'infection et le taux d'inoculation entomologique (Williams et Pinto, 2012 ; OMS, 2014b).

➤ **Taux d'agressivité ou densité aggressive (*ma*)**

C'est le rapport du nombre de moustiques capturés sur un homme par le nombre de captureurs en une nuit et pour chaque espèce. Il s'exprime en nombre de piqûres/homme/nuit. Pour estimer ce paramètre, il faut réaliser des captures sur volontaire humain.

➤ **Taux d'endophagie/exophagie**

C'est la proportion de moustiques femelles d'une espèce donnée qui se nourrit à l'intérieur (endophagie) ou à l'extérieur (exophagie) des habitations.

➤ **Taux d'anthropophilie (HBI, « Human blood index »)**

C'est la proportion de moustiques femelles d'une espèce donnée, portant du sang humain dans leur estomac. Cet indice est obtenu par analyse des repas de sang, généralement par la technique « Enzyme linked immunosorbent assay » (ELISA) (Beier *et al.*, 1988) et aussi par la technique PCR ciblant le gène Cyt B codant pour le cytochrome b oxydase mitochondriale (Kent et Norris, 2005) qui permettent de distinguer l'origine du repas sanguin entre divers hôtes comme l'homme, le poulet, le bœuf et le porc. Il sert à définir le taux d'agressivité lorsque les captures sur volontaire humain ne peuvent pas être effectuées principalement dans les pays où cette technique de capture n'est pas acceptée par le comité d'éthique.

➤ **Taux d'infection ou Indice sporozoïtique (IS)**

C'est la proportion de moustiques d'une espèce donnée, porteurs de sporozoïtes dans leurs glandes salivaires. Cet indice peut être obtenu par plusieurs techniques notamment la dissection des glandes salivaires, la détection des sporozoïtes par microscopie, la détection de la protéine CSP par analyses ELISA (Wirtz *et al.*, 1985 ; Wirtz *et al.*, 1987) et les analyses moléculaires en utilisant une PCR (Snounou *et al.*, 1993 ; Bass *et al.*, 2008).

➤ Taux d'inoculation entomologique (TIE)

Le TIE représente le produit du taux d'agressivité *ma* par le taux d'infection *IS*. Il est exprimé en nombre de piquûres infectantes par homme et par unité de temps (nuit, mois ou année) en zone de transmission. Cet indice permet d'évaluer la contribution d'une espèce vectrice dans la transmission du paludisme dans une région donnée, de comparer les niveaux de transmission selon les régions et les faciès épidémiologiques et d'évaluer l'impact des méthodes de contrôle.

I.6. Déterminants de la transmission du paludisme

Les facteurs environnementaux affectent l'intensité de la transmission, la périodicité, la distribution géographique du paludisme ; couplés à certains facteurs liés aux vecteurs, aux parasites et à l'homme, ils constituent les déterminants du paludisme (Castro, 2017).

I.6.1. Facteurs environnementaux

Certains facteurs de l'environnement influencent la transmission du paludisme. Ils peuvent affecter la survie et le fitness des stades aquatiques, la reproduction et la fécondité des adultes ainsi que leur compétence vectorielle. Ce sont la température, l'humidité de l'air et les précipitations (Gubler *et al.*, 2001 ; Koenraadt *et al.*, 2004).

I.6.1.1. Température

La température est un facteur déterminant de la transmission du paludisme (Blanford *et al.*, 2013), car elle impacte le développement des vecteurs et des parasites (Gething *et al.*, 2011). Des études indiquent que la transmission du paludisme se fait entre 16°C et 34°C avec un optimum de transmission à 25°C (Mordecai *et al.*, 2013) correspondant à la température propice au développement de la plupart des parasites.

Par ailleurs, une gamme de températures allant de 20°C à 30°C favorise le développement des principaux vecteurs du paludisme (Molineaux, 1988). Des températures élevées ont tendance à accélérer la croissance de certains vecteurs en réduisant le temps de génération. Chez *An. gambiae* s.l. par exemple, le temps de génération en présence des températures élevées est de 10-11 jours tandis qu'il est prolongé jusqu'à 21 jours en condition de basses températures (Gilles et De Meillon, 1968).

I.6.1.2. Humidité de l'air

L'humidité affecte la survie des moustiques parce que le moustique est incapable de réguler sa température interne. Une humidité relative d'au moins 60 % augmente l'espérance de vie des moustiques adultes (Molineaux, 1988) par conséquent favorise le risque de transmission à autant d'hôtes que possible.

I.6.1.3. Précipitations

La fréquence, la durée et l'intensité des précipitations contribuent à la formation des points d'eau favorables au développement des moustiques vecteurs (Paaijmans *et al.*, 2007). Ces précipitations peuvent également être à l'origine des niveaux élevés de transmission (Gao *et al.*, 2012).

I.6.2. Facteurs liés à l'homme

Certains facteurs biologiques et génétiques qui sont inhérents à l'homme affectent la transmission d'une manière ou d'une autre. Ce sont :

- Facteurs biologiques : la différenciation et le développement des gamétocytes qui est un processus qui garantit la maintenance et la transmission du paludisme surviennent chez l'homme (Bradley *et al.*, 2018) ;
- Facteurs génétiques : Parmi ces facteurs, on évoque des facteurs érythrocytaires notamment les traits drépanocytaires (sujet hétérozygote AS), le groupe sanguin Duffy négatif qui résiste à l'invasion de l'espèce *Plasmodium vivax* et des facteurs non érythrocytaires : groupe HLA, polymorphisme de la réponse immune, facteurs ethniques (Kwiatkowski, 2005).

L'invasion des globules rouges par certains parasites est dépendant de la présence de certains antigènes à la surface des érythrocytes. Un homme ayant un génotype Duffy négatif résiste à l'invasion de l'espèce *Plasmodium vivax*. Dans les régions où le génotype est présent dans la population, le parasite est absent. C'est par exemple le cas en Afrique de l'Ouest (Allgower *et al.*, 2016).

I.6.3. Facteurs liés au parasite

La poursuite du cycle de *Plasmodium* chez l'homme dépend de trois facteurs liés aux gamétocytes notamment la densité, le sex-ratio mâle/femelle et l'âge (Bousema et Drakeley,

2011 ; Okell *et al.*, 2012 ; Churcher *et al.*, 2013 ; Wampfler *et al.*, 2013 ; Bousema *et al.*, 2014 ; Bradley *et al.*, 2018).

➤ **Gamétogenèse**

Chez les parasites du genre *Plasmodium*, la gamétogenèse implique l'activation simultanée de diverses séquences d'évènements cellulaires indépendants (Aikawa *et al.*, 1984). Ce sont la rupture de la vacuole parasitophore et de la membrane érythrocytaire suivie de la libération du parasite d'une part ; d'autre part la réorganisation des structures cytoplasmiques impliquées dans la formation des microgamètes. L'activation des gamétocytes femelles se résume à une simple modification morphologique qui aboutit à la formation d'un volumineux macrogamète d'aspect globulaire. La gamétogenèse est modulée à plusieurs niveaux. Chez plusieurs espèces de *Plasmodium*, les gamétocytes issus de l'hôte vertébré s'activent spontanément chez le moustique. Ce processus serait contrôlé par deux principaux facteurs notamment la température et le pH du milieu (Carter et Nijhout, 1977). De plus, des facteurs liés au moustique sont probablement essentiels à la formation des gamètes au cours de la transmission du parasite.

➤ **Densité gamétocytaire**

La densité gamétocytaire dans le repas de sang est un facteur clé pour le succès de l'infection chez le moustique. En effet, l'intensité de l'infection dépend de la gamétocytemie ; plus la charge en gamétocytes est élevée plus le nombre d'oocystes par moustique infecté est important (Boudin *et al.*, 2005 ; Schneider *et al.*, 2007 ; Mendes *et al.*, 2011 ; Bousema *et al.*, 2012). L'implication de la densité gamétocytaire dans l'infectivité est complexe et varie selon des seuils (Churcher *et al.*, 2013).

➤ **Sex Ratio**

Il existe une extrême hétérogénéité liée au rapport entre les sexes des parasites. En effet, la sex-ratio présente une prédominance de femelles sur les mâles. Il a été montré que le plasmodium est capable d'ajuster sa sex-ratio pour optimiser sa transmission (Paul *et al.*, 2000 ; Reece *et al.*, 2008). La sex-ratio varie également en fonction de l'état hématologique de l'hôte intermédiaire (Gbotosho *et al.*, 2011).

I.6.4. Facteurs liés au moustique vecteur

Tous les moustiques ne sont pas aptes à transmettre le paludisme. Certaines espèces sont biologiquement incompétentes à développer une espèce plasmodiale donnée. Lors de son développement chez le moustique, le parasite se heurte à un certain nombre de barrières faisant intervenir des composantes physiques, cellulaires et humorales. Les moustiques ont un système immunitaire inné, efficace leur permettant de combattre les infections bactériennes et parasitaires auxquelles ils sont exposés ; ce dernier joue un rôle important dans la régulation des infections par des parasites. Plusieurs autres facteurs tels que l'âge du moustique, le choix de l'hôte, la vitesse de digestion du sang et la quantité de sang absorbée sont susceptibles d'influencer la transmission (Lyimo et Koella, 1992). Ces facteurs affectent l'aptitude du moustique à transmettre le parasite et permettent de définir la notion de « compétence vectorielle » du moustique.

I.7. Méthodes de contrôle du paludisme

La lutte contre le paludisme consiste à réduire sa transmission à un niveau qui ne constitue plus un problème de santé publique. Bien que cela soit difficile à mettre en œuvre, surtout en Afrique qui abrite le plus gros fardeau du paludisme, la plupart des programmes nationaux de lutte contre le paludisme visent à éliminer cette maladie. Les méthodes actuelles de contrôle du paludisme ciblent le parasite et le vecteur.

I.7.1. Lutte antiparasitaire

I.7.1.1. Prise des antipaludiques

La prise des médicaments a pour objectif premier de guérir le sujet infecté en éliminant les plasmodies de son sang afin d'éviter des complications pouvant conduire à une infection chronique et potentiellement à la mort. Du point de vue de la santé publique, un traitement efficace a aussi pour but de réduire la transmission du paludisme en réduisant la charge parasitaire chez les porteurs de gamétocytes, hôtes réservoirs (WHO, 2018b).

La chloroquine, premier antipaludique de synthèse, a connu un grand succès au vingtième siècle dans la lutte contre le paludisme. Cependant, une résistance chez *P. falciparum* à ce médicament a été enregistrée dès les années cinquante puis chez *P. vivax* (Wellems et Plowe, 2001 ; Sidhu *et al.*, 2002 ; Howes *et al.*, 2016). La découverte de l'artémisinine a ouvert de nouvelles perspectives dans la recherche pour le développement de nouvelles molécules (Su et Miller, 2015). De nos jours, le traitement de première ligne recommandé par l'OMS pour la

majorité des cas de paludisme est l'utilisation de combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine, les ACT « Artemisinin-based combination therapy » (WHO, 2015). Ainsi, les ACT recommandés par l'OMS pour le traitement de *P. falciparum* sont : artemether-lumefantrine (AL), artesunate-amodiaquine (AS-AQ), dihydroartémisinine-piperaquine (DHA-PPQ), artesunate-mefloquine (AS-MQ), artesunate-sulfadoxine pyriméthamine (AS-SP) (WHO, 2020). Le traitement du paludisme dépend de l'espèce de parasite en cause, de la gravité de l'infection, de l'âge de la personne atteinte et de la zone de transmission.

Ainsi, pour un paludisme simple c'est-à-dire sans signe de gravité, le traitement se fait avec une combinaison d'artésunate et amodiaquine (AS-AQ) ou artémether et lumefantrine (AL). Elles sont administrées par voie orale avec un antipyrétique en cas de température supérieure ou égale à 38,5°C (Minsanté, 2013). Tandis que le traitement du paludisme grave se fait avec une injection intramusculaire ou intraveineuse d'artésunate, de quinine ou d'artémether pendant au moins vingt-quatre heures, suivi d'un relais par voie orale pendant trois jours. Ce traitement est applicable chez tous les groupes de patients, aussi bien chez la femme enceinte à tous les trimestres de grossesse que chez les enfants de moins de cinq ans (Minsanté, 2013).

Chez la femme enceinte, on parle de traitement préventif intermittent (TPI) qui consiste à la prise d'un antipaludéen à dose curative de façon périodique à partir du deuxième trimestre de grossesse dans le but de prévenir l'infestation palustre. Au Cameroun, après le retrait de la chloroquine de la liste des médicaments antipaludiques, la sulfadoxine-pyriméthamine (SP) a été retenue comme le médicament du TPI du paludisme chez la femme enceinte. Pour une meilleure efficacité, quatre doses de la SP sont recommandées dans toutes les régions où la séroprévalence au VIH est supérieure à 10 % tout en respectant l'âge de la grossesse et l'intervalle minimal entre les doses (Minsanté, 2013).

Pendant les périodes de forte transmission palustre dans certaines zones endémiques, la chimioprévention saisonnière est préconisée. Elle se fait par l'administration mensuelle de l'amodiaquine et la SP à des enfants de 3 à 59 mois. C'est le cas dans les régions du Nord et de l'extrême Nord au Cameroun (Minsanté, 2019).

I.7.1.2. Quête d'un vaccin efficace

L'un des candidats vaccins ayant des avancées considérables dans les essais cliniques est le vaccin antipaludique RTS, S/AS01 (RTS, S) connu sous le nom de Mosquirix™ (Malaria Vaccine Initiative, 2016). Ce dernier est dirigé contre les stades exoérythrocytaires et cible la

protéine CSP spécifique de *P. falciparum*. Il agit soit en empêchant la pénétration des sporozoïtes dans les hépatocytes, soit en inhibant complètement ou partiellement le développement des stades hépatiques. Des études de phase 3 sur l'efficacité et l'innocuité du RTS, S ont montré que ce vaccin pourrait apporter un bénéfice significatif pour la santé publique en réduisant le fardeau du paludisme lorsqu'il est utilisé avec les autres moyens de lutte tels les MILDA et les pulvérisations intradomiciliaires (Leach *et al.*, 2011, RTS, S Clinical Trials Partnership, 2015 ; Sauboin *et al.*, 2015). Ce vaccin a été introduit en 2018 dans trois pays d'Afrique à travers le « Malaria vaccine implementation programme » (WHO, 2018a) notamment le Ghana, le Kenya et le Malawi.

I.7.2. Lutte antivectorielle

La lutte anti-vectorielle (LAV) est la principale stratégie préventive contre le paludisme. Les méthodes de LAV ne sont efficaces que si certaines conditions sont réunies, en fonction du stade de développement ciblé et de la situation locale (Tableau IV). La lutte contre les maladies à transmission vectorielle et le paludisme en particulier s'oriente vers les méthodes visant non plus à éradiquer les populations d'insectes nuisibles mais à réduire et à contrôler leur densité en dessous d'un seuil épidémiologique tolérable (WHO, 2006). Ainsi, en fonction de la cible, nous avons les méthodes de lutte dirigées contre les larves et celles dirigées contre les adultes.

Tableau IV: Mesures de lutte contre les vecteurs du paludisme (WHO, 2006)

Méthode	Mesure	Pour la protection individuelle et familiale	Pour la protection communautaire
Lutte contre les adultes	Réduction du contact homme-moustique	Moustiquaires imprégnées d'insecticide, anti moustiques, vêtement de protection, pose de grillage-moustiquaire dans les maisons et autres améliorations intérieures	Moustiquaires imprégnées d'insecticide,
	Élimination des moustiques adultes		Moustiquaires imprégnées d'insecticide, Aspersion intra domiciliaires, pulvérisation spatiales, vaporisations à volume extrêmement réduit
Lutte contre les larves (gestion des sources larvaires)	Élimination des larves de moustique	Assainissement péri domestique	Aspersion de larvicides sur les gîtes en eau, irrigation intermittente, drainage, lutte biologique

	Réduction des sources	Drainage à petite échelle	Assainissement de l'environnement, gestion des eaux, drainage
--	-----------------------	---------------------------	---

I.7.2.1. Lutte contre les adultes

Les méthodes de lutte contre les moustiques adultes peuvent être chimiques, physiques ou génétiques.

I.7.2.1.1. Lutte chimique

Cette lutte se fait à travers l'utilisation de certaines classes d'insecticides en aspersions intradomiciliaires comme les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthri-noïdes et les néonicotinoïdes ou en imprégnation sur des moustiquaires (pyréthri-noïdes ou pyréthri-noïdes+ PBO (WHO, 2019).

- **Organochlorés** regroupent le Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane (DDT), les cyclodiènes et les hexachlorocyclohexanes. Le DDT a été l'insecticide le plus utilisé en pulvérisation intradomiciliaire pendant la campagne d'éradication du paludisme en 1950. Les organochlorés ont pour cible principale les canaux sodiques du moustique dont ils entraînent l'ouverture des canaux, ce qui entraîne un déséquilibre ionique entre l'intérieur et l'extérieur de la membrane nerveuse.
- **Organophosphorés** sont des dérivés de l'acide phosphorique. Le malathion, le fénitrothion, et le pirimiphos-méthyl sont les plus utilisés en santé publique, en particulier dans le cadre des aspersions intradomiciliaires ; ils ont pour cible principale l'acétylcholinestérase dont ils inhibent l'activité.
- **Carbamates** sont les dérivés de l'acide carbamique. Les plus utilisés en aspersions intradomiciliaires sont le bendiocarb et le propoxur ; ce sont également des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Les carbamates prennent la place de l'acétylcholine en se fixant sur son site d'interaction avec l'acétylcholinestérase ; il en résulte un blocage des sites d'action suivi d'une accumulation de l'acétylcholine jusqu'à 260 % de la normale.
- **Pyréthri-noïdes** sont les dérivés synthétiques des pyréthrines, insecticides naturels extraits des fleurs de chrysantème : *Chrysanthemum cinerariaefolium* ; ils constituent la seule classe d'insecticides recommandée pour l'imprégnation des moustiquaires du fait de leur « effet knockdown » et de leur faible toxicité pour les animaux à sang chaud (Hemingway *et al.*, 2004). Les pyréthri-noïdes regroupent entre autres la perméthrine, la bifenthrine, la deltaméthrine, la Lambda-cyhalothrine et l'Alpha-cyperméthrine.

Ils agissent sur le canal sodium en augmentant la fréquence des décharges nerveuses ou le temps d'ouverture des canaux. Cette action neurotoxique provoque une transmission répétée ou continue de l'influx nerveux qui aboutit à des convulsions puis à la tétanie de l'insecte (effet « Knock Down »). L'action de ces insecticides entraîne également une perturbation des échanges en ions calcium et magnésium qui circulent normalement à travers la membrane cellulaire. L'atteinte de la circulation de ces ions entraîne la libération massive de neurohormones qui déséquilibrent l'organisme tout entier ; l'insecte passe alors par les phases d'incoordination, de convulsions et de tétanisation, puis la mort survient plus ou moins rapidement suivant la dose et la puissance de l'insecticide.

- **Néonicotinoïdes** sont une classe d'insecticide agissant sur le système nerveux central des insectes en ciblant dans le cerveau les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, provoquant la paralysie et la mort. On compte parmi les néonicotinoïdes actuels la clothianidine, l'imidaclopride, l'acétamipride.

I.7.2.1.2. Lutte physique

Elle a pour objectif principal de limiter le contact entre l'homme et le vecteur. Ce sont entre autres le port des vêtements longs, l'utilisation des grillages sur les fenêtres, l'amélioration des habitats en protégeant les points d'entrée des moustiques dans les maisons d'habitation (Ngadjeu *et al.*, 2020).

I.7.2.1.3. Lutte génétique

Cette méthode de lutte est basée sur la manipulation du patrimoine génétique des moustiques afin d'obtenir des individus transgéniques qui peuvent être soit stériles (Technique de l'insecte stérile), soit réfractaires aux parasites qu'ils transmettent habituellement (Tabachnick, 2003). Des essais de contrôle des maladies à transmission vectorielle à base des moustiques transgéniques ont donné des résultats intéressants au laboratoire (Cattarrucia *et al.*, 2003), mais leur utilisation en condition naturelle reste controversée. La méthode de forçage génétique (*gene drive* en anglais) est de plus en plus utilisée comme moyen de lutte génétique contre les vecteurs. C'est une technique du génie génétique qui permet à un gène d'être transmis par reproduction sexuée bien qu'allant à l'encontre des lois de Mendel.

I.7.2.2. Lutte anti-larvaire

Cette lutte vise à éliminer tous les stades préimaginaux des moustiques vecteurs (œufs, larves et nymphes). En fonction des techniques utilisées, on distingue la lutte physique et la lutte biologique (Zogo, 2019).

I.7.2.2.1. Lutte physique

Elle consiste à drainer les eaux, assécher les marais, éliminer les petits points d'eau qui constituent des gîtes potentiels (WHO, 2013a) ; nettoyer régulièrement les alentours des habitations en se débarrassant de tous les objets susceptibles de contenir de l'eau notamment les pneus et petits récipients ouverts; nettoyer régulièrement les caniveaux, les canaux et gouttières, les abreuvoirs des animaux.

I.7.2.2.2. Lutte biologique

Cette technique consiste à introduire dans les gîtes larvaires des organismes prédateurs ou pathogènes pour les larves de moustiques. Elle fait appel à l'utilisation des poissons larvivores (*Gambusia affinis*, *Poecilia reticulata*) et autres prédateurs, des parasites (nématodes, protozoaires, champignons) ou des bactéries pathogènes comme *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* (*Bti*) et *Bacillus sphaericus* (*Bs*) (Mouchet *et al.*, 2004).

Cas de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* (*Bti*) et *Bacillus sphaericus* (*Bs*)

I.7.2.2.2.1. Classification

Ces bacilles appartiennent au Règne des Bacteria, à l'Embranchement des Firmicutes, à la Classe des Bacilli, à l'Ordre des Bacillales, à la Famille des Bacillaceae (en forme de bâtonnet) et au Genre *Bacillus* (Denis, 2007).

I.7.2.2.2.2. Description

Bacillus sphaericus (*Bs*) est une bactérie à Gram positive, strictement aérobie incapable d'utiliser des sucres comme source de carbone et d'énergie. Elle est largement distribuée dans l'environnement. Son spectre d'activité est restreint aux larves de moustiques et, d'une manière générale, ses toxines sont reconnues comme étant hautement pathogènes pour les espèces des genres *Anopheles* et *Culex* mais un peu moins actives sur les larves du genre *Aedes*. Cette bactérie a de plus l'avantage d'être efficace en eau polluée (Charles et Nielsen-

LeRoux, 1996). *Bacillus thuringiensis* (Bti) est une bactérie aérobie facultative, ubiquiste, à Gram positive, caractérisée par l'activité entomopathogène des corps d'inclusion qu'elle produit lors de sa sporulation. Elle fait partie d'un groupe de six bacilles, rassemblés sous le terme « groupe *Bacillus cereus* » : *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides*, *Bacillus weihenstephanensis* et *Bacillus thuringiensis*. À l'état végétatif, *Bti* se présente sous la forme d'un bâtonnet de 5 µm de long sur 1 µm de large pourvu de flagelles. Elle se distingue des autres bacilles du groupe par sa capacité à synthétiser des cristaux protéiques (Sellami *et al.*, 2015). Les toxines de *Bti* sont actives contre les larves de moustiques appartenant aux genres *Culex* et *Aedes* (mais peu contre *Anopheles*) et les larves des simulies (Balaraman *et al.*, 1983 ; Charles et Nielsen-LeRoux, 1996).

I.7.2.2.3. Mode d'action

Les bactéries doivent être ingérées par la larve pour être actives. Plusieurs étapes sont nécessaires à l'obtention d'un effet toxique dû aux cristaux de *Bacillus* produits lors de la sporulation (Figure 5). Dans les conditions naturelles, c'est-à-dire dans son habitat aquatique, l'efficacité des bactéries sur un insecte est fonction de plusieurs facteurs (Dadd, 1975) notamment l'ingestion du cristal de la bactérie par l'insecte, la présence d'un tube digestif à pH hautement alcalin, la présence des enzymes protéolytiques capables de transformer les protoxines en molécules toxiques et des récepteurs membranaires compatibles avec les toxines libérées par les enzymes.

La larve doit d'abord ingérer les cristaux et les spores en suspension dans l'eau (Figure 5, I). Une fois ingéré, le cristal se dissout dans l'intestin de la larve sous l'action conjuguée d'un pH alcalin et d'enzymes protéolytiques intestinales, les protoxines contenues dans les cristaux sont solubilisées et activées (Figure 5, II, III). Les toxines ainsi produites vont alors se fixer sur les microvillosités de la membrane apicale des cellules intestinales (Figure 5, IV). Une fois les toxines fixées il va y avoir mort de la cellule due au choc osmotique provoquant une déstabilisation de la paroi intestinale. Cela permet à ces toxines de passer dans l'hémolymphe de l'insecte où elles vont proliférer et entraîner la mort de la larve (Figure 5, V, VI, VII).

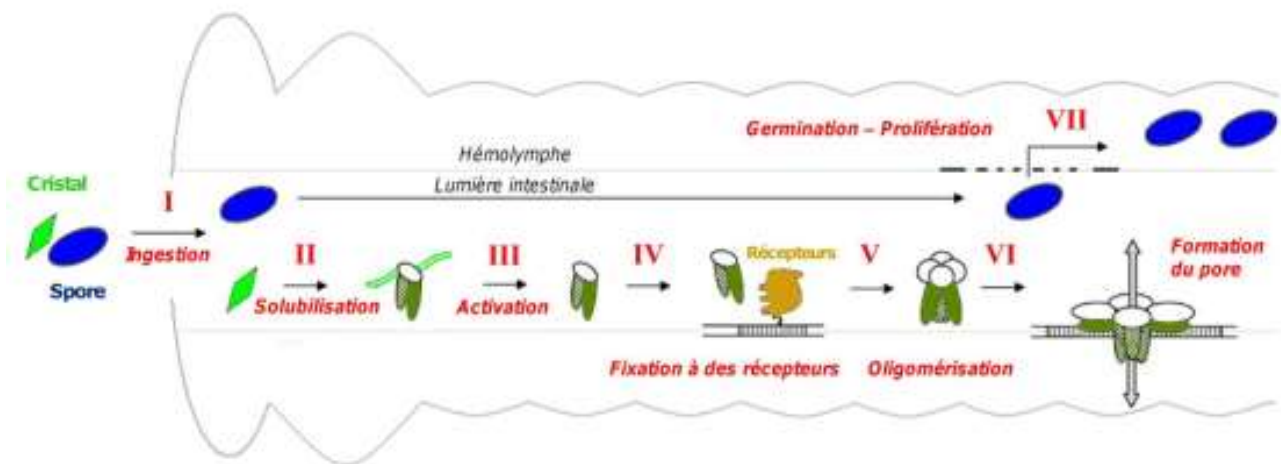


Figure 5 : Mode d'action simplifié des cristaux de *Bacillus* sur une larve de moustique (Tetreau, 2012). Les toxines sont représentées en vert, les spores en bleu.

I.7.2.2.4. Application

Parmi toutes les bactéries ayant des propriétés larvicides, seules les bactéries *Bti* et *Bs* sont utilisées dans la lutte antivectorielle du fait de leur toxicité élevée et de leur large spectre d'action (WHO, 2013a). L'impact de ces dernières sur les densités des moustiques a été évalué dans cette étude.

I.7.2.2.5. Paramètres influençant l'efficacité des bacilles

De nombreux paramètres entravent l'efficacité des bacilles. Ce sont entre autres :

- **Stades larvaires** : les larves les plus jeunes (L1, L2, L3) sont généralement les plus susceptibles chez la plupart des espèces étudiées. Les larves de stade 4 ne se nourrissent que très peu, car elles commencent la nymphose. Une fois devenues des nymphes, elles ne s'alimentent plus (Mulla *et al.*, 1990).
- **Présence de particules et de polluants organiques** : les larves exposées à des concentrations élevées de particules nutritives peuvent avoir des taux d'ingestion réduits, ce qui suggère qu'elles auraient atteint leurs taux de satiété ; par conséquent, elles ingéreront moins de cristaux causant ainsi une diminution de la mortalité (Mulla *et al.*, 1990).
- **Couvert végétal** : La présence de végétation autour et au-dessus d'une mare peut réduire la quantité de produits atteignant la surface réduisant ainsi la disponibilité du produit pour les larves.

- **Présence de courant** : dans une mare, la présence d'un apport d'eau substantiel diminue la disponibilité des cristaux en induisant une dilution (réduction du nombre de cristaux par volume d'eau) et en déplaçant la masse d'insecticide hors de la zone traitée.

I.7.2.2.2.6. Quelques études pilotes de lutte antilarvaire menées au Cameroun

Malgré le potentiel de la lutte anti-larvaire et son efficacité mise en évidence dans les études antérieures (Fillinger *et al.*, 2009 ; Maheu-Giroux *et al.*, 2014), son déploiement dans tout le continent reste limité à cause du nombre d'études sans biais peu élevé (Tusting *et al.*, 2013 ; Choi *et al.*, 2019). Au Cameroun, deux études pilotes ont été conduites dans le passé. En 1990, la première a été conduite dans la ville de Maroua et consistait en l'aspersion de deux traitements par an à base de *Bacillus sphaericus* (Barbazan *et al.*, 1997). Cette application de *B. sphaericus* a permis de réduire de 93,7% les densités de l'espèce *Culex quinquefasciatus*, source de nuisance dans la zone d'étude. Pendant les trois mois qui suivaient le traitement, le nombre moyen de gîtes positifs à *C. quinquefasciatus* a été réduit comparé à la période avant le traitement mettant en évidence l'efficacité des traitements dans la ville de Maroua. Toujours pendant la même période une campagne pilote de lutte antilarvaire contre *Culex quinquefasciatus* dans la ville de Yaoundé a été menée. Elle consistait à l'aspersion du larvicide à base de *Bacillus sphaericus* en formulation liquide à la surface de tous les points d'eau, ce de manière trimestrielle (Hougard *et al.*, 1993). Les résultats de l'étude ont montré une réduction de 52,7% des densités de l'espèce *Culex quinquefasciatus*. Le taux de réduction était élevé pendant la période où ces moustiques pullulaient.

I.8. Défis de la lutte contre le paludisme

I.8.1. Impact climatique

Le changement climatique auquel la terre fait face depuis quelques décennies suscite des interrogations sur le risque d'émergence, de réémergence ou de modification de la distribution de maladies infectieuses comme le paludisme. Ces changements climatiques peuvent, en théorie, dans certaines zones où le paludisme est instable et dans des régions où il a été récemment éradiqué, avoir des conséquences sur la distribution, la densité des anophèles vecteurs, le comportement, la capacité vectorielle des anophèles à transmettre des parasites, mais aussi sur la durée du cycle sporogonique. En effet, de nombreux travaux ont montré que les vecteurs de plasmodium pouvaient s'adapter aux changements climatiques et environnementaux (Ayala *et al.*, 2009 ; West, 2012).

I.8.2. Résistances

La résistance se définit comme l'apparition dans une population d'individus ayant la faculté de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet léthal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce (WHO, 2013b).

L'évolution par la sélection naturelle représente le principal mécanisme qui façonne les populations de vecteurs et de parasites par conséquent l'épidémiologie des maladies. La théorie Darwinienne de l'évolution prédit en effet que les variantes génétiques ou « souches », qui sont les mieux adaptées à leur environnement sont mieux transmises que les autres et envahissent ainsi la population. Il a été montré que face à la forte pression médicamenteuse *Plasmodium falciparum* développe des mécanismes de résistance (White *et al.*, 2014) rendant la lutte contre le paludisme plus complexe (Pages *et al.*, 2007).

Autant les parasites développent des résistances aux antimalariques, les vecteurs le font face aux insecticides suite à leur forte utilisation en santé publique et en agriculture. La résistance aux insecticides observée chez les moustiques du genre *Anopheles* touche 64 pays où le paludisme continue de se transmettre. La résistance peut prendre diverses formes. Pour être efficaces, les stratégies locales doivent être adaptées au type de résistance rencontré. Ainsi, on distingue la résistance métabolique, la résistance par modification de la cible, la résistance comportementale ou éthologique, la résistance cuticulaire. Ces mécanismes se caractérisent soit par une excrétion ou détoxification accrue de l'insecticide ou par un durcissement de la cuticule qui réduit la pénétration de l'insecticide (Figure 6).

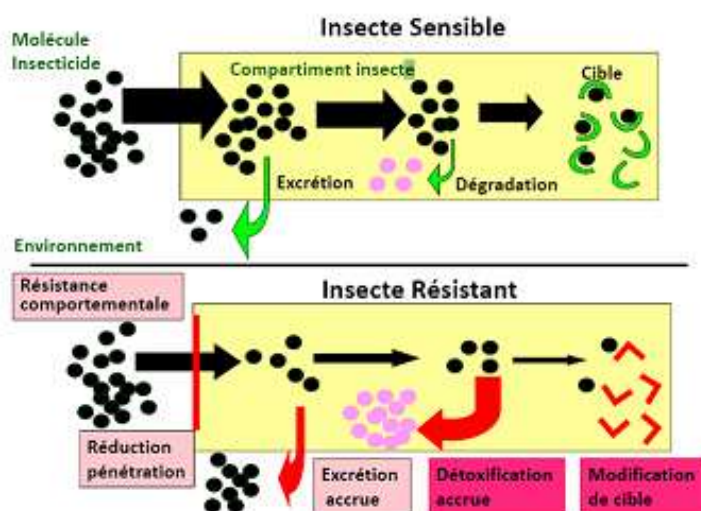


Figure 6: Schéma illustrant les mécanismes impliqués dans la résistance des insectes aux insecticides



CHAPITRE II : CADRE D'ETUDE, MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. CADRE D'ETUDE

II.1.1. Géographie du cadre d'étude

L'étude a été menée dans la ville de Yaoundé, capitale politique du Cameroun (Longitude : 3° 42' 60'' - 3°58'00''N et latitude : 11° 24'30'' - 11°34'60''E). Située entre 700 et 750 m au dessus de la mer et éloignée de 250 km des côtes de la baie de Biafra, la ville de Yaoundé se caractérise par un climat équatorial de type guinéen dit « climat Yaoundéen » qui se distingue par l'alternance de deux saisons sèches et deux saisons de pluies. Les deux saisons de pluies s'étendent de mi-mars à juin et de septembre à mi-novembre tandis que les saisons sèches vont de mi-novembre à mi-mars et de juillet à août (Suchel, 1987). Les précipitations sont abondantes dans la ville soit une moyenne de 1600 mm par an (Wethe *et al.*, 2003).

Le relief de la ville de Yaoundé est formé par l'alternance des monts et des bas-fonds où sont localisés 90 % des gîtes larvaires à moustiques. Ce relief est dominé au Nord-Ouest par les monts Mbam Minkom (1 295 m) et le Mont Nkolodom (1 221 m) et au Sud-Ouest avec le mont Eloumden (1 159 m) ; des collines de 600 à 700 m d'altitude, de plateaux et de vallées. Les différents quartiers s'ordonnent en fonction du relief accidenté du site de la ville. Les routes et les bâtiments se développent principalement sur les hauteurs des différentes collines tandis que les bas-fonds marécageux sont souvent exploités pour l'agriculture vivrière pendant la saison sèche. La ville est traversée par de nombreuses rivières telles que le Mfoundi, Ékozoa, Biyeme et Mefou dans la zone phytogéographique Guinéo-congolaise (Letouzey, 1985).

Au regard de sa population estimée à 3 millions d'habitants en 2018, la ville de Yaoundé expérimente une urbanisation accélérée avec une croissance démographique de 2,37 % par an (PopulationData.net, 2020). Cette urbanisation accélérée entraîne une occupation anarchique des bas-fonds par les populations conduisant à un mauvais système de drainage des eaux usées, la prolifération des déchets ménagers et la pratique de l'agriculture qui mis ensemble favorisent la prolifération des moustiques vecteurs (Djamouko-Djomkam *et al.*, 2020) et la transmission de nombreuses parasitoses. Il a été également rapporté que 84,4 % des ménages de la ville détiennent une moustiquaire (Talipouo *et al.*, 2019) et des études antérieures font état d'une résistance prononcée des vecteurs aux insecticides et d'un niveau bas de transmission du paludisme (Fondjo *et al.*, 1992 ; Manga *et al.*, 1992). Tous ces paramètres font de la ville de Yaoundé un environnement adéquat pour la mise en œuvre de la lutte antilarvaire.

II.1.2. Choix des sites d'étude

L'étude a été réalisée de mars 2017 à novembre 2020 dans 26 quartiers de la ville de Yaoundé « ou clusters » couvrant les 7 arrondissements (Figure 7 et Tableau V). Chaque cluster est une zone de 2 à 4 Km² comprenant un bas-fond très souvent traversé par un cours d'eau et la zone d'altitude environnante. Des enquêtes entomologiques dites préliminaires ont été effectuées dans tous les quartiers de mars 2017 à août 2018 et ont permis d'enregistrer les densités des moustiques. À la fin de ces enquêtes préliminaires, les quartiers ont été classés en fonction des densités croissantes. Les quartiers ayant des densités similaires ont été groupés en paires et dans chaque paire (N=13), un tirage aléatoire a été fait à l'aide d'un logiciel adapté pour distinguer les zones d'intervention des zones témoins. Ces quartiers étaient séparés de 500m minimum pour minimiser la contamination des zones d'intervention par les moustiques provenant des zones témoins. Cette phase a été suivie des enquêtes entomologiques et parasitologiques pendant la période de septembre 2018 à novembre 2020.

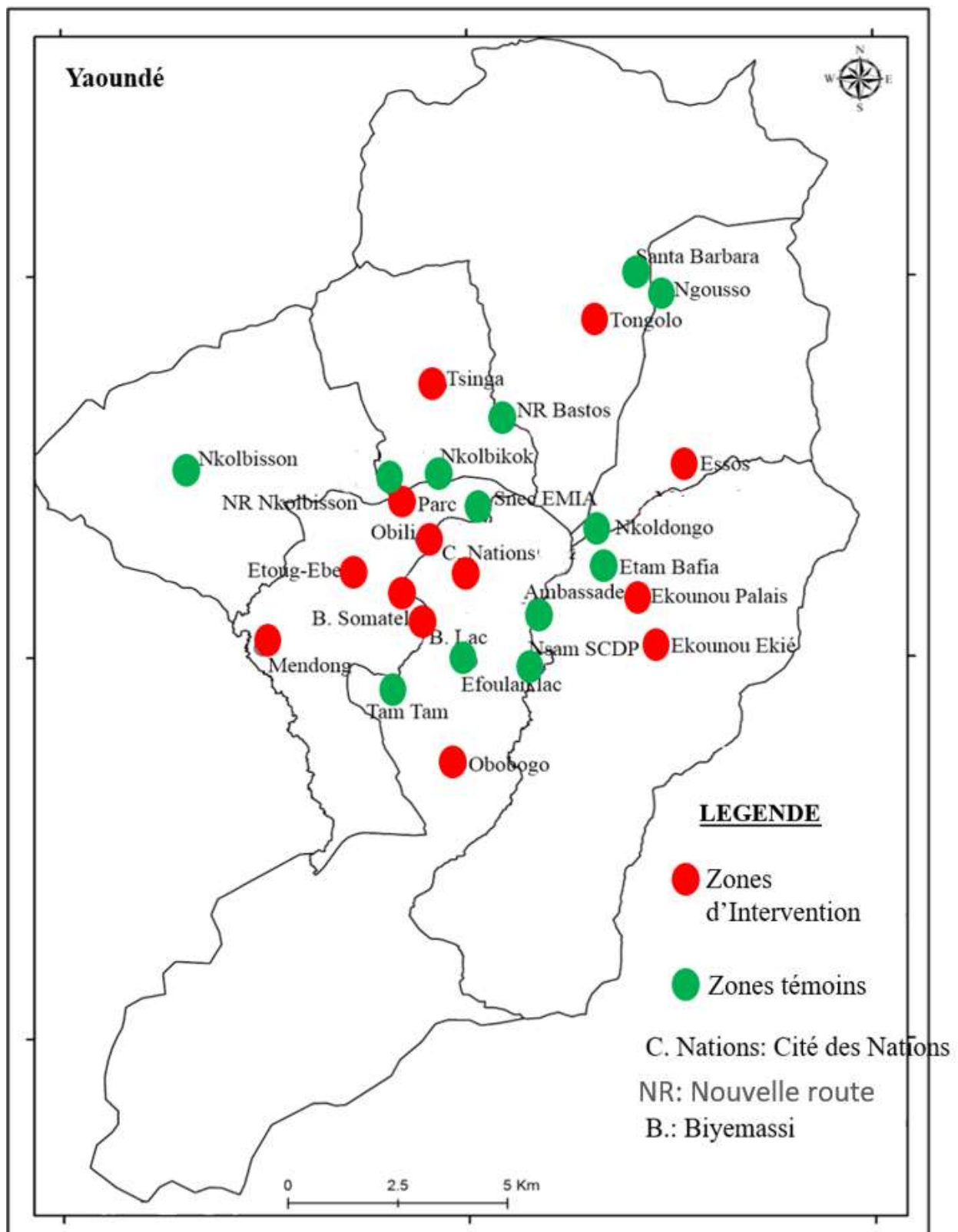


Figure 7 : Carte présentant la ville de Yaoundé et les sites d'étude

Tableau V : Caractéristiques des sites d'étude. Source : CUY (Communauté urbaine de Yaoundé) 2020 modifié,

N°	Nom du quartier	Coordonnées géographiques	Commune	Standing	Caractéristiques
1	Nsam	3°49'30''-3° 50'00''N ; 11°30'40''-11° 31'20''E	Yaoundé 3	Spontané	-construction des drains pour la canalisation des eaux du Mfoundi.
2	Efoulan	3°49'40''-3° 50'20''N ; 11°30'00''-11° 30'20''E	Yaoundé 3	Spontané	-pratique des activités agricoles par les populations locales ; - présence des cours d'eau, insalubrité qui obstrue le lit du cours d'eau entraînant les inondations.
3	Obobogo	3°48'20''-3° 48'40''N ; 11°29'00''-11° 30'10''E	Yaoundé 3	spontané	-relief plat ; -insalubrité ; -présence de nombreux maraichages ; - cultures maraichères toute l'année.
4	Nkolndongo	3°51'30''-3° 52'00''N ; 11°31'20''-11° 31'60''E	Yaoundé 4	moyen standing	- présence des chantiers de construction de drains.
5	NR Nkolbisson	3°52'00''-3°52'40''N ; 11°28'20''-11°28'60''E	Yaoundé 7	périurbain	-présence des cultures maraichères ; - traversé par les eaux de la Mefou dont la remontée crée des gîtes favorables au développement des vecteurs.
6	Mvog-beti	3°51'40''-3° 52'10''N ; 11°29'10''-11° 29'40''E	Yaoundé 6	périurbain	-activité principale : commerce ; -inondations régulières :
7	Etoug-ebe	3°51'40''-3° 52'10''N ; 11°51'00''-11° 51'30''E	Yaoundé 6	périurbain	-activités principales des populations : commerce et l'agriculture maraichère ; -présence des étangs piscicoles.
8	Nkolbisson	3°52'10''-3° 52'40''N ; 11°26'10''-11° 27'00''E	Yaoundé 7	périurbain	- présence des cultures maraichères ; - traversé par les eaux de la Mefou dont la remontée crée des gîtes favorables au développement des vecteurs.

9	Mendong	3°49'40''-3° 50'20''N ; 11°27'10''-11° 27'60''E	Yaoundé 6	moyen standing	-pratique de l'agriculture en zone urbaine.
10	Biyemassi lac	3°50'00''-3° 50'30''N ; 11°29'40''-11° 28'60''E	Yaoundé 6	moyen- standing	-présence de nombreuses laveries automobiles ; -rigoles non aménagées ; -inondations multiples.
11	NR Tam-tam	3°49'20''-3° 49'60''N ; 11°28'60''-11° 29'20''E	Yaoundé 6	Spontané	- présence de nombreuses laveries automobiles ; -rigoles non aménagées ; -inondations multiples.
12	Ekounou palais	3°50'30"-3°51'00"N; 11°31'40"-11°32'20"E	Yaoundé 4	Spontané	- pratique intense de l'agriculture maraîchère dans les zones marécageuses ; - création des puits et des rigoles nécessaires à la pratique agricole pendant la saison sèche et pluvieuse ; - prolifération des sites de développement des larves de moustiques.
13	Ekounou Ekié	3°50'00"-3°50'20"N; 11°31'60"-11°32'30"E	Yaoundé 4	Spontané	- pratique intense de l'agriculture maraîchère dans les zones marécageuses ; - création des puits et des rigoles nécessaires à la pratique agricole pendant la saison sèche et pluvieuse ; - prolifération des sites de développement des larves de moustiques.
14	Tsinga	(3°53'10"-3°53'60"N; 11°29'30"-11°29'70"E)	Yaoundé 2	moyen standing	- l'activité la plus pratiquée dans cette zone est le commerce ; -présence des marécages et des rivières dans les bas-fonds.
15	Obili	(3°51'10"-3°51'30"N; 11°29'00"-11°29'35"E)	Yaoundé 3	Spontané	-la principale activité est le commerce ;

					- présence d'un bas-fond tapis d'habitations mal-structurées .
16	Tongolo	(3°53'50"-3°54'20"N; 11°51'25"-11°51'50"E)	Yaoundé 1	Spontané	- présence d'un bas fond marécageux traversé par un cours d'eau qui déborde pendant les pluies et inonde tout le quartier couplé à l'insalubrité créant ainsi des gîtes favorables au bon développement des moustiques.
17	Santa barbara	(3°54'25"-3°55'00"N; 11°31'40"-11°32'15"E)	Yaoundé 1	périurbain	- présence d'un bas fond marécageux entouré de végétation et traversé par un cours d'eau qui déborde pendant les pluies et inonde tout le quartier.
18	Ngouso	3°54'0''-3°54'30"N; 11°32'30"-11°32'20"E	Yaoundé 5	haut-standing	-présence des chantiers de construction ; - marres d'eau couverts de végétation ; - inondations quasi-régulières .
19	Etam-bafia	3°50'50"-3°51'30"N; 11°31'20"-11°31'45"E	Yaoundé 4	spontané à structurer	-présence des étangs piscicoles ; - présence des puits abandonnés ; - mauvaise gestion des déchets.
20	Nkolbikok	3°52'10"-3°52'60"N; 11°29'20"-11°29'60"E	Yaoundé 2	spontané à structurer	-inondations fréquentes ; -bas fond marécageux avec des habitations spontanées et mal structurées ; -Mauvaise gestion des déchets ; - activité des populations : commerce.
21	SNEC Emia	3°51'40"-3°52'20"N; 11°29'60"-11°30'20"E	Yaoundé 6	spontané à structurer	- pratique de l'agriculture maraîchère ; - présence des rigoles et puits mal entretenus.
22	Ngoa-Ekelle lieu dit cité des nations	3°50'40"-3°51'10"N; 11°29'40"-11°30'00"E	Yaoundé 3	spontané à structurer	-présence d'un cours d'eau qui inonde durant les fortes pluies ; -sites de construction des logements universitaires.
23	Oledzoa lieu dit ambassade de France	3°50'30"-3°51'07"N; 11°30'30"-11°31'00"E	Yaoundé 3	moyen standing	-présence d'un cours d'eau traversant le bas-fond ; - présence de nombreuses activités de construction.

24	NR Bastos -tsinga	3°53'10"-3°53'60"N; 11°29'30"-11°29'70"E	Yaoundé 2	moyen standing	-présence de marécages, marre d'eau couverte ou non de végétation ; -présence de cultures maraîchères ; -activité de lavage des automobiles permanente ; -présence d'un cours d'eau qui traverse le quartier ; -insalubrité permanente.
25	Biyemassi somatel	3°50'20"-3°50'60"N; 11°30'10"-11°29'00"E	Yaoundé 6	moyen standing	-Présence de nombreuses laveries automobiles ; -rigoles non aménagées ; -inondations multiples.
26	Essos	3°51'65"-3°52'20"N; 11°31'64"- 11°32'40"E	Yaoundé 5	moyen standing	-mauvaise gestion des déchets ; -présence des marécages et points d'eau recouverts ou pas de végétation ; - Pratique des cultures maraîchères.

NR : Nouvelle route

II.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.2.1. Protocoles de terrain

II.2.1.1. Capture des moustiques adultes

Les anophèles adultes ont été principalement capturés en utilisant des pièges lumineux de type CDC (Centre for Disease Control and Prevention) et les captures nocturnes sur volontaires (« Landing catches » : LC) à l'intérieur et à l'extérieur des maisons d'habitations une fois tous les deux mois, de mars 2017 à novembre 2020.

➤ Capture par pièges lumineux de type CDC

Au total, 16 à 20 pièges ont été placés dans 10 à 15 maisons par quartier. Les captures s'effectuaient de 19 h à 06h pendant trois jours consécutifs par quartier et par mois. Pour ce faire, un piège lumineux CDC pourvu d'une lampe à incandescence (Figure 8, A) a été installé dans la chambre ou au salon et/ou à l'extérieur. Les moustiques entrant pour piquer étaient attirés par la lumière du piège, capturés et recueillis le lendemain matin.

➤ Capture directe de moustiques sur volontaire

Cette méthode permet d'évaluer des interactions entre le vecteur et l'homme. Le nombre de vecteurs qui piquent les hommes est un important paramètre dans l'estimation du niveau de la transmission du paludisme, car il permet de savoir quelles sont les espèces anthropophiles et vectrices du paludisme, le nombre de fois qu'une personne est piquée par un vecteur, les comportements trophiques et de repos des vecteurs.

Pour effectuer ces captures, quatre volontaires soit deux équipes de deux volontaires chacune ont été entraînés à collecter les moustiques se posant sur eux. Les captures se sont déroulées à l'intérieur et à l'extérieur des maisons pendant une nuit par quartier entre 19h et 06h du matin pour suivre le cycle d'agressivité des anophèles. Ainsi, le captureur muni d'une lampe torche, se découvre les jambes jusqu'au genou et reste assis en essayant de ne pas bouger. Lorsqu'il sent le moustique se poser sur la partie découverte, il allume la torche et le capture à l'aide d'un tube à hémolyse (Figure 8, B). Une fois le moustique capturé, le tube est bouché avec du coton et placé dans un sac.

Les sacs ont été changés à la fin de chaque période de la nuit et étiquetés en conséquence. Cela permet de compter le nombre de moustiques capturés durant une demi-nuit à l'intérieur ou à l'extérieur. Les moustiques ainsi capturés ont été ensuite triés au cours de la

matinée suivante en fonction de l'espèce. Une rotation des collecteurs était effectuée dans la nuit pour éviter qu'ils ne dorment et maximiser leurs efforts.



A) Piège lumineux de type CDC B) Capture sur volontaire humain

Figure 8 : Différentes méthodes d'échantillonnage des moustiques adultes

II.2.1.2. Traitement : Application du larvicide dans les gîtes larvaires

Le larvicide utilisé dans l'étude est un larvicide biologique de nom commercial Vectomax[®] G fait à base de deux bactéries entomopathogènes *Bacillus thuringiensis var. israelensis*, Berliner, 1915 et *Bacillus sphaericus*, Strain, 1593 se présentant sous la forme de petites granules (Figure 9, A). Le traitement consistait à répandre le produit à la surface de tous les points d'eaux recensés dans les zones d'intervention. La quantité de produit aspergé a varié de 500-1500 mg/m² en fonction de la taille du gîte potentiel. L'aspersion a été faite manuellement (Figure 9, B) dans les différents gîtes larvaires prospectés (Figure 9, C). Ces traitements ont été effectués tous les 14 jours selon les recommandations de l'OMS (WHO, 2016).

Afin d'évaluer l'efficacité du biolarvicide utilisé, le contrôle des gîtes traités se déroulait 48h après le traitement. L'évaluation proprement dite consistait à parcourir tous les gîtes traités principalement au centre de la zone afin de voir si les larves étaient absentes ou présentes.



Figure 9 : Epannage manuel du Vectomax à la surface des gîtes larvaires A) formulation du Vectomax G, B) Epannage manuel du Vectomax G à la surface d'un gîte larvaire, C) Photographies de quatre gîtes larvaires.

II.2.1.3. Prélèvement de sang dans la communauté

Le prélèvement des échantillons de sang a été fait par un personnel de santé expérimenté pendant les enquêtes parasitologiques sur les personnes asymptomatiques résidant dans les quartiers où les moustiques ont été échantillonnés. Un ou deux jours avant le prélèvement, une sensibilisation a été faite dans les ménages accompagnée des guides locaux leur expliquant l'intérêt de prélever leur sang d'une part et de diagnostiquer le paludisme d'autre part. Un questionnaire a été soumis à chaque participant afin d'enregistrer les informations telles que le nom, l'âge, le sexe, l'état de santé, les connaissances, attitudes et pratiques sur le paludisme (Annexe 1). Le sang a été prélevé majoritairement sur les enfants et les adolescents dits asymptomatiques, c'est-à-dire ne présentant aucun signe clinique au moment de l'enquête (Figure 10, A). Par la suite des Tests de Diagnostic Rapide (TDR) ont été effectués (Figure 10, B) sur ces échantillons. Ce sont des tests de type *SD Bioline malaria Ag pf/pan*. Le principe repose sur la recherche d'antigène du *Plasmodium* dans le sang de l'homme par immunochromatographie sur membrane. Ces TDR, très sensibles pour détecter les espèces

Plasmodium falciparum et *Plasmodium vivax* dans une moindre mesure permettent la recherche de l'antigène HRPII et de la lacticoeshydrogénase. La sensibilité est d'environ 100 parasites/ μ l de sang soit une parasitémie de 0,002 % (Dupeyron, 2013).

Pour la réalisation du test, une goutte de sang a été déposée à l'extrémité d'une membrane de nitrocellulose fixée sur un support. Lorsque l'antigène recherché est présent dans le sang, il y a fixation de l'anticorps spécifique présent sur la membrane et formation d'un complexe antigène-anticorps. Celui-ci va migrer par capillarité et être arrêté par des anticorps de capture fixés sur la membrane. Un résultat positif se traduit par une ligne colorée. Un autre système antigène-anticorps est fixé sur la membrane pour réaliser un contrôle interne témoin du bon fonctionnement du TDR se traduisant par l'apparition d'une autre ligne colorée plus éloignée (Figure 10, B). Un code était attribué à chaque patient en fonction de la maison de collecte et du quartier correspondant pour faciliter l'analyse des données.

Le sang prélevé sur chaque individu a permis d'effectuer une goutte épaisse et un étalement sur papier buvard (Figure 10, C). Pour cela, l'annulaire de la main gauche (pour un droitier) ou de la main droite (pour un gaucher) a été préalablement nettoyé avec du coton imbibé d'alcool pour enlever la saleté de la pulpe. Ensuite à l'aide d'un vaccinostyle stérile, la pulpe a été piquée en faisant un mouvement de rotation rapide. La première goutte de sang a été essuyée avec du coton sec de telle sorte que les fibres ne se mélangent pas avec le sang. Ensuite le sang a été déposé tour à tour sur le TDR, sur la lame et sur le papier buvard où le code du patient a été préalablement reporté. Il est à noter que le sang déposé sur le papier buvard a été placé à égale distance. Pour réaliser la goutte épaisse, le sang déposé au milieu de la lame (Figure 10, C) a été étalé avec le coin d'une autre lame pour former une couche épaisse uniforme d'environ 1 cm de diamètre. Une fois la lame complètement sèche, elle a été rangée dans une boîte appropriée.

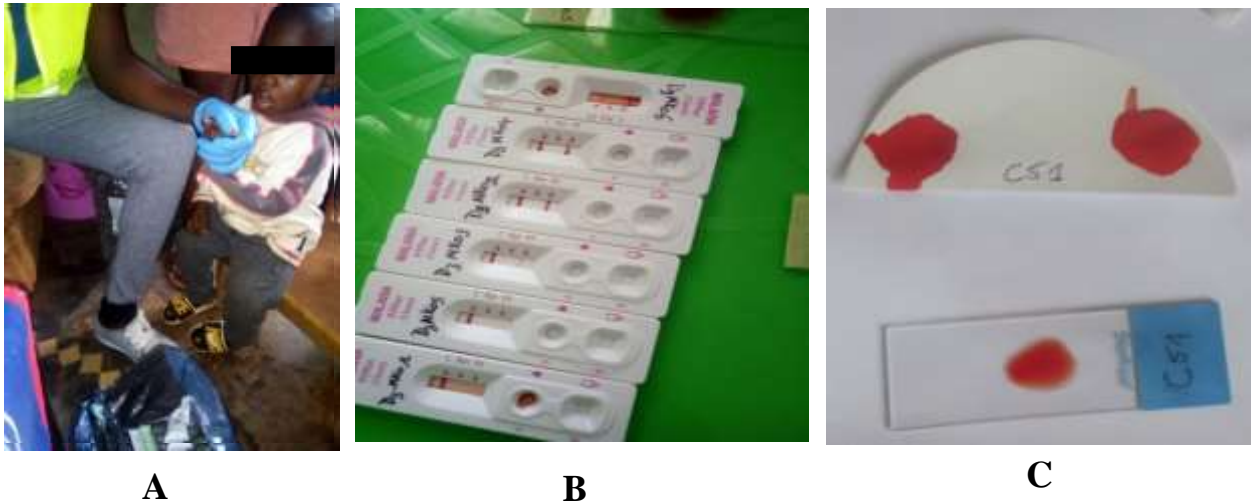


Figure 10 : Prélèvement sanguin sur papier buvard et lame. A) Prélèvement sur un enfant B) Test de diagnostic rapide C) du haut vers le bas papier buvard et lame en verre.

II.2.2. Protocoles de laboratoire

II.2.2.1. Identification morphologique et conservation des moustiques échantillonnés

Après la capture, les anophèles ont été triés et séparés des autres culicidés puis identifiés morphologiquement à l'aide de clés spécifiques d'identification (Gillies et De Meillon, 1968 ; Gillies et Coetzee, 1987) sous une loupe binoculaire afin de déterminer l'espèce.

Les moustiques adultes possèdent comme tous les diptères une seule paire d'ailes membraneuses, longues et étroites repliées horizontalement au repos (Figure 11 A). Le corps est subdivisé en trois parties : la tête ou tagme sensoriel qui porte les yeux, les antennes et les pièces buccales ; le thorax ou tagme locomoteur qui porte 3 paires de pattes et une paire d'ailes ; l'abdomen ou tagme viscéral constitue l'essentiel des organes du moustique (Rodhain et Perez, 1985 ; Carnevale *et al.*, 2009). Les femelles se distinguent des mâles par la présence des antennes glabres (Figure 11 B).

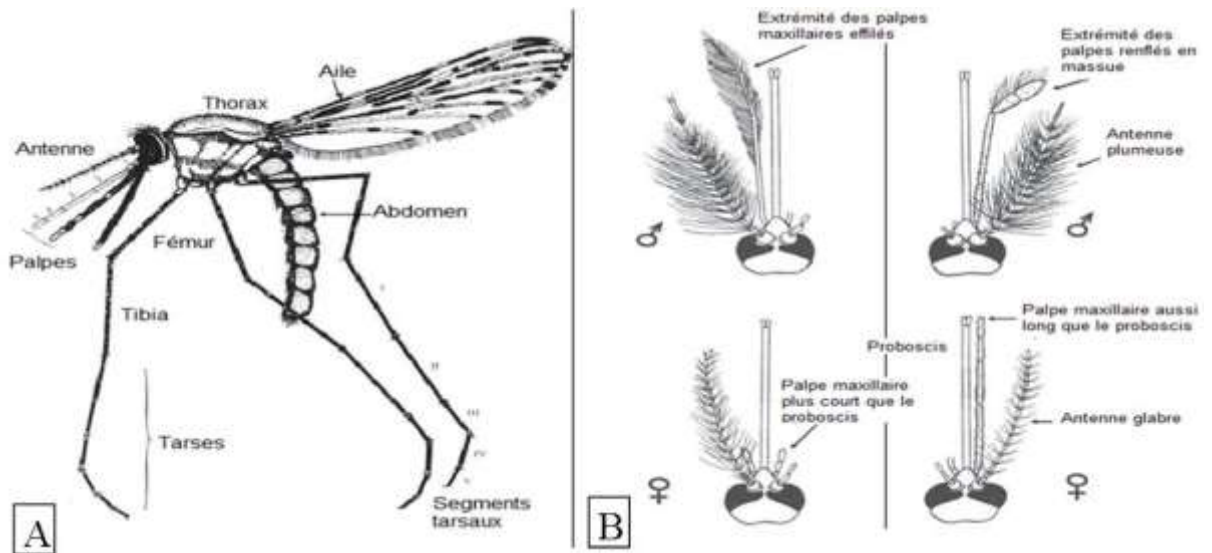


Figure 11 : Caractérisation morphologique de l'imago ; A : structure générale d'une adulte femelle d'Anophèles ; B : vue schématique dorsale des têtes de mâles et de femelles de Culicinae (à gauche) et d'Anophelinae (à droite) (Rodhain et Perez, 1985)

Chaque moustique identifié a été placé dans un tube individuel contenant du silicagel (dessiccateur) portant un numéro. Toutes les informations relatives à la date, au lieu, à la méthode de capture et à l'espèce ont été reportées sur une fiche de terrain puis saisies dans une base de données en utilisant le logiciel Microsoft Excel.

II.2.2.2. Identification moléculaire des espèces du complexe *An. gambiae* s.l. et du groupe *An. funestus* s.l.

Une extraction de l'ADN a été faite préalablement puis s'en est suivie l'identification moléculaire des espèces du complexe *An. gambiae* s.l. et du groupe *An. funestus* suivant deux protocoles distincts.

II.2.2.2.1. Extraction de l'ADN des anophèles

II.2.2.2.1.1. Principe

L'extraction de l'ADN (Acide désoxyribonucléique) d'un matériel biologique est une technique qui isole de l'ADN à partir d'une cellule en quantité et en qualité suffisantes pour permettre son analyse. Elle requiert la lyse cellulaire, la dénaturation des protéines, l'inactivation des nucléases cellulaires et la purification de l'acide nucléique :

- la lyse cellulaire se fait par broyage dans un tampon contenant des détergents qui favorisent la dissolution des lipides des membranes cellulaires et leur solubilisation ;

une enzyme qui hydrolyse les protéines en particulier celles qui sont associées à l'ADN dans la chromatine ;

- l'élimination des protéines et des peptides faite au moyen de solvants organiques. Les protéines dénaturées forment un précipité à l'interface phénol-eau tandis que l'ADN en solution dans la phase aqueuse supérieure est récupéré par décantation ou par centrifugation ;
- précipitation de l'ADN et purification : l'alcool pur (Éthanol à 100 %) est ajouté à la phase aqueuse obtenue. Ce dernier favorise la précipitation de l'ADN qui est ensuite lavé à plusieurs reprises à l'aide de l'alcool à 70 % qui solubilise les impuretés indésirables.

II.2.2.2.1.2. Protocole de l'extraction

L'extraction de l'ADN a été faite sur les carcasses (abdomen, pattes et ailes) d'anophèles selon le protocole décrit par Livak (1984). Pour ce faire, le tampon de broyage a été chauffé à 65°C avant utilisation pour solubiliser le sodium dodecyl sulfate (SDS).

Les moustiques ont été transférés individuellement dans des tubes stériles de 1,5ml puis broyés dans 100 µl de tampon Livak à l'aide d'un piston et d'un broyeur. Le broyat obtenu a été incubé pendant 30 minutes à 65 °C (bain-marie) pour dénaturer les ADNases puis 14µL d'acétate de potassium ont été ajoutés à chaque tube en vue de digérer les protéines. À la suite, le broyat a été mélangé puis incubé dans la glace pendant 30 min et centrifugé à 4°C à 13 500 tours/minute afin de faire précipiter les protéines dénaturées et les débris cellulaires. Le surnageant de chaque tube a été transféré dans un nouveau tube portant les mêmes indications que le précédent en évitant de disloquer le culot. À ce surnageant, 200µL d'éthanol à 100 % ont été ajoutés puis l'ensemble a été mélangé et centrifugé de nouveau à 13 500 tours/minute à 4°C pendant 15 minutes. Après avoir vidé le tube délicatement, le culot a été rincé avec 100µL d'éthanol à 70 % en évitant de le décrocher au fond du tube.

Le culot a ensuite été séché à l'air libre pendant au moins 01 heure de temps. À la fin du séchage, 100µL d'eau distillée stérile ont été ajoutées au culot d'ADN. La concentration de la solution a été vérifiée par lecture au spectrophotomètre de marque Labtech International, à une longueur d'onde de 220 à 280nm, sur 1 µL d'ADN + 99 µL ddH₂O. Le mélange a ensuite été directement utilisé pour amplification ou conservé à -20°C.

II.2.2.2. Amplification par la « Polymerase Chain Reaction » (PCR)

II.2.2.2.1. Principe de la PCR

La PCR (Polymerase Chain Reaction) est une technique d'amplification génétique "in vitro" conçue par un chercheur américain Kary Mullis en 1985. Son principe est basé sur le mécanisme de la réplication de l'ADN in vivo (Figure 12) selon des cycles répétitifs comprenant les trois étapes suivantes :

- **La dénaturation** de l'ADN par fusion à haute température pour convertir l'ADN bicaténaire en ADN monocaténaire. Cette étape est réalisée à une température comprise entre 93 et 96°C.
- **L'hybridation** de l'ADN cible de deux oligonucléotides utilisés comme amorces. Cette hybridation a lieu à une température comprise entre 55 et 65°C.
- **L'extension** de la chaîne d'ADN par addition de nucléotides à partir des amorces en utilisant l'ADN polymérase comme catalyseur en présence d'ions Mg^{2+} . La température optimale de travail de l'ADN polymérase est de 72°C.

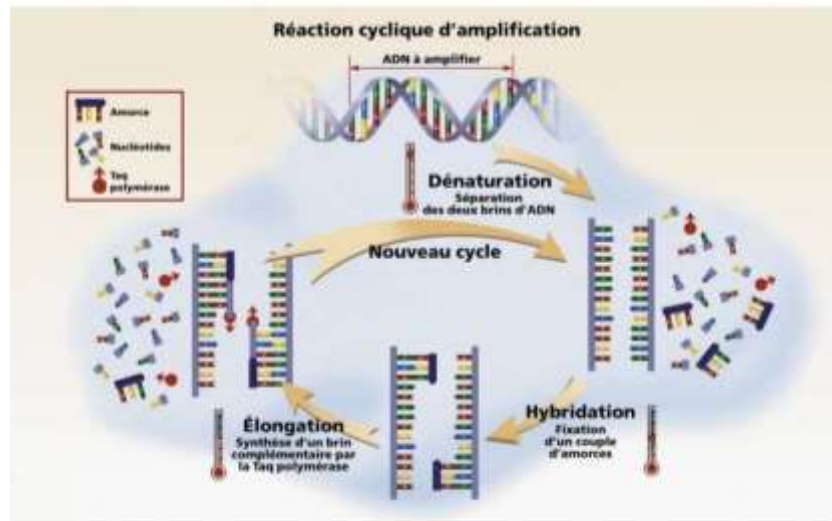


Figure 12 : Technique d'amplification de l'ADN par PCR (Source : gnis-pedagogie.org).

II.2.2.2.2. Identification moléculaire des espèces du complexe *Anopheles gambiae* s.l.

L'identification des espèces du complexe *An. gambiae* s.l. est basée sur le polymorphisme observé au niveau des régions ITS1 et ITS2 de l'ADN ribosomal (rDNA)

(Fontenille *et al.*, 2003). Ces régions dont on connaît les séquences nucléotidiques sont amplifiées en utilisant les amorces spécifiques (Tableau VI) tel que décrit par Santolamazza *et al.* (2008).

Tableau VI : Séquence des amorces utilisées pour l'identification des espèces du complexe *Anopheles gambiae* s.l.

Amorces	Séquences	Espèce identifiée	Taille du fragment
UV (SINE F et R)	5' -GTGCCCCTTCCTCGATGGC GC AACGAACC ATCTTGGTCTG-3'	<i>An. gambiae</i> s.s.	249
UV (SINE F et R)	5' -GTGCCCCTTCCTCGATGGC AT AACGAACC ATCTTGGTCTG-3'	<i>An. coluzzii</i>	479

Le milieu réactionnel constitué pour un volume final de 15 µL contient l'ADN à amplifier, les amorces oligonucléotidiques spécifiques (S200 X6F et S200 X6R), les dinucléotides triphosphates (dNTPs) et le chlorure de magnésium (MgCl₂) qui est indispensable au fonctionnement de l'ADN polymérase thermorésistante (Taq ADN polymérase) (Tableau VII).

Tableau VII : Composition du milieu réactionnel pour l'identification moléculaire des espèces du complexe *Anopheles gambiae* s.l. pour un volume final de 15 µL.

Réactifs	Pour 1 réaction à 15µl
ddH ₂ O	10,49µL
dNTPs 10Mm	0,12µL
MgCl ₂	0,75µL
SINE-F (S200F)	0,51µL
SINE-R (S200R)	0,51µL
Taq A	0,12µL
Buffer A (10X)	1,5µL
ADN	1,0µL
Total	15,0µL

ddH₂O : eau bi distillée, **dNTP** : désoxyribonucléotides triphosphates, **MgCl₂** : chlorure de magnésium, **Taq** : *Thermus aquaticus*, **ADN** : acide désoxyribonucleique, **Mm** : millimolaire, **µL** : microlitre, **U** : unité, **SINE200** : nom des locus, **F** : Forward, **R** : Reverse.

Après une dénaturation initiale de 5 minutes à 95°C, 35 cycles d'amplification ont été réalisés (30 secondes à 95°C, 30 secondes à 54°C, 1 minute à 72°C) suivis d'une élongation finale de 10 minutes à 72°C dans un thermocycleur (Figure 13).

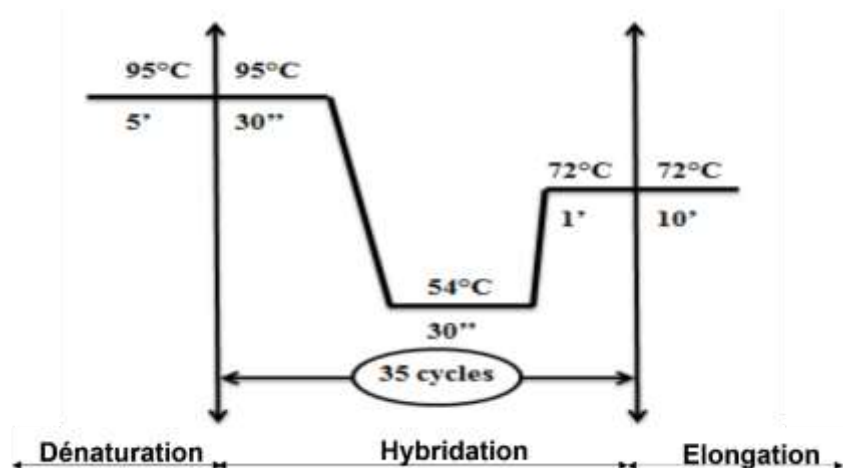


Figure 13 : Profil thermique et cycle d'amplification de l'ADN (PCR Complexe *Anopheles gambiae* s.l.).

II.2.2.2.3. Identification moléculaire des espèces du groupe *Anopheles funestus* s.l.

L'identification des espèces du groupe *An. funestus* a été faite sur la base d'une PCR multiplex ciblant la région ITS2 de l'ADN ribosomal (Koekemoer *et al.*, 2002 ; Cohuet *et al.*, 2003). Ces régions ont été amplifiées par des amorces spécifiques (Tableau VIII) tel que décrit par Koekemoer *et al.* (2002).

Tableau VIII : Séquence des amorces utilisées pour l'identification des espèces du groupe *Anopheles funestus* s.l.

Nom des amorces	Séquence (3 min à 5min)	Tm (°C)	Espèce identifiée	Taille du fragment
UV	5' -TGT GAA CTG CAG GAC ACA T-3'	55,34	-	-
FUN	5'-GCA TCG ATG GGT TAA TCA TG-3'	52,4	<i>An. funestus</i> s.s.	505
VAN	5'-TGT CGA CTT GGT AGC CGA AC-3'	58	<i>An. vaneedeni</i>	587
RIV	5'-CAA GCC GTT CGA CCC TGA TT-3'	58,8	<i>An. rivulorum</i>	411
PAR	5'-TGC GGT CCC AAG CTA GGT TC-3'	60,5	<i>An. parensis</i>	252
LEES	5'-TAC ACG GGC GCC ATG TAG TT-3'	60,2	<i>An. lesoni</i>	146
RIV Like	5'-CCG CCT CCC GTG GAG TGG GGG-3'	60,7	<i>An. rivulorum like</i>	313

UV : universelle, FUN : funestus, VAN : vaneedeni, RIV : rivulorum, PAR : parensis, LEES : lesoni, RIV LIKE : rivulorum like, Tm : température, min : minutes

Le milieu réactionnel constitué pour un volume final de 15 µL contient l'ADN à amplifier, les amorces oligonucléotidiques spécifiques, les dinucléotides triphosphates

(dNTPs), le chlorure de magnésium (MgCl₂), une enzyme (*Kappa Taq* polymérase), de l'eau stérile, une solution tampon (Tableau IX).

Tableau IX : Composition du milieu réactionnel pour l'identification moléculaire des espèces du groupe *Anopheles funestus* s.l. pour un volume final de 15 µL.

Réactifs	Pour 1 réaction à 15µL
ddH ₂ O	7,79µL
dNTPs 25Mm	0,12µL
25mM MgCl ₂	0,72µL
UV F 10Mm	0,51µL
Fun R 10Mm	0,51µL
VAN 10Mm	0,51µL
RIV 10Mm	0,51µL
PAR 10Mm	0,51µL
RIVLIKE 10Mm	0,51µL
LEES 10Mm	0,51µL
Kapa Taq	0,12µL
Buffer A	1,5µL
ADN	1,0µL
Total	15,0µL

ddH₂O : eau bi distillée, **dNTP** : désoxyribonucléotides triphosphates, **MgCl₂** : chlorure de magnésium, **Taq** : *Thermus aquaticus*, **ADN** : acide désoxyribonucleique, **Mm** : millimolaire, **µL** : microlitre, **U** : unité, **UV** : universelle, **FUN** : funestus, **VAN** : vaneedeni, **RIV** : rivulorum, **PAR** : parensis, **LEES** : lesoni, **RIV LIKE** : rivulorum like.

Après une dénaturation initiale de 2 minutes à 94°C, 35 cycles d'amplification ont été réalisés (30 secondes à 94°C, 30 secondes à 45°C, 40 secondes à 72°C) suivis d'une élongation finale de 5 minutes à 72°C dans un thermocycleur.

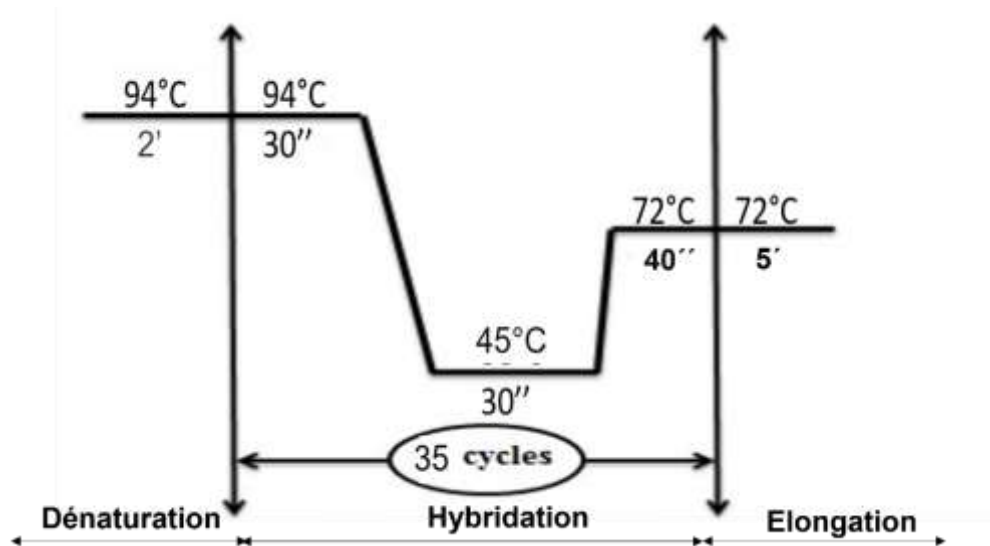


Figure 14 : Profil thermique et cycle d'amplification de l'ADN (PCR groupe *Anopheles funestus* s.l.).

II.2.2.2.3. Préparation du gel d'agarose, migration et révélation électrophorétique de l'ADN amplifié

L'électrophorèse a été réalisée sur un gel d'agarose à 2 %. Pour la préparation du gel, 2g d'agarose ont été pesés et introduits dans un erlenmeyer en verre, ensuite 100ml de tampon TBE 1X a été ajouté. Le mélange a été homogénéisé et porté à ébullition dans un four à micro-onde chauffant à 250°C pendant trois minutes. La solution obtenue a été refroidie progressivement dans un bac contenant de l'eau froide puis 5µl de bromure d'éthidium (BET) y a été ajouté ; le mélange a été ensuite agité. Le gel issu du refroidissement du mélange a été versé dans une cuve à électrophorèse sur laquelle des peignes ont été préalablement suspendus. Après polymérisation du gel à température ambiante pendant 45min, les peignes ont été enlevés et des puits formés. Le gel ainsi préparé a été immergé dans une cuve à électrophorèse contenant du TBE 1X. Par la suite, le produit issu de l'amplification a été déposé dans les puits à l'aide d'une micropipette soit 3µL d'ADN amplifié et 7µL de bleu de bromophéno. Sur chaque ligne de gel ont été déposés un témoin positif représentant l'individu dont le génotype est connu au locus étudié, un témoin négatif qui est l'eau et un marqueur de taille. Ensuite la cuve a été refermée et reliée à un générateur de courant continu (stabilisé à 140 volts) pour une migration de 45 minutes.

Après migration électrophorétique, le gel a été placé dans un transilluminateur pour visualiser les bandes caractéristiques de chaque espèce du complexe. Le front de migration de

l'ADN a été rendu possible grâce à la fluorescence du BET. La photographie du gel a été réalisée et l'électrophorégramme obtenu a été interprété (Figure 15).

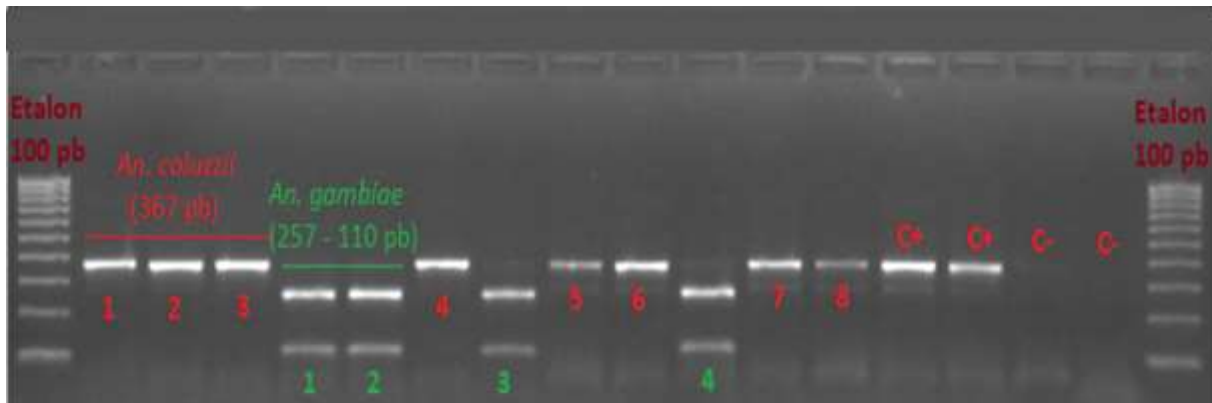


Figure 15 : Electrophorégramme présentant les fronts de migration de l'ADN des espèces *Anopheles coluzzii* et *Anopheles gambiae*. Etalon 100 pb : marqueur de taille ; pb : Nombre de paires de bases ; C+ : témoin positif ; C - : témoin négatif. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 en rouge : *Anopheles coluzzii* ; 1, 2, 3, 4 en vert : *Anopheles gambiae*

II.2.2.3. Détection de l'infection par *Plasmodium falciparum* chez les anophèles

Elle se fait par la méthode ELISA indirect acronyme d'Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay « dosage d'immunoabsorption par enzyme liée ». Cette méthode permet de détecter la protéine circumsporozoïtique (CS) recouvrant la surface externe du sporozoïte de *Plasmodium falciparum*. Cette protéine constitue un indicateur de l'état infectieux du parasite du paludisme.

II.2.2.3.1. Principe

Il repose sur la détection de la CSP grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux (Acm) anti-CSP (Figure 16). La CSP est prise en sandwich entre un Acm anti-CSP de capture et un anticorps anti-CSP conjugué à la peroxydase, ces deux anticorps étant spécifiques de la même espèce plasmodiale. À la fin de la réaction, le complexe formé par l'Acm de capture, l'antigène (CSP) et l'anticorps conjugué est révélé par une réaction colorée en présence du substrat de l'enzyme.

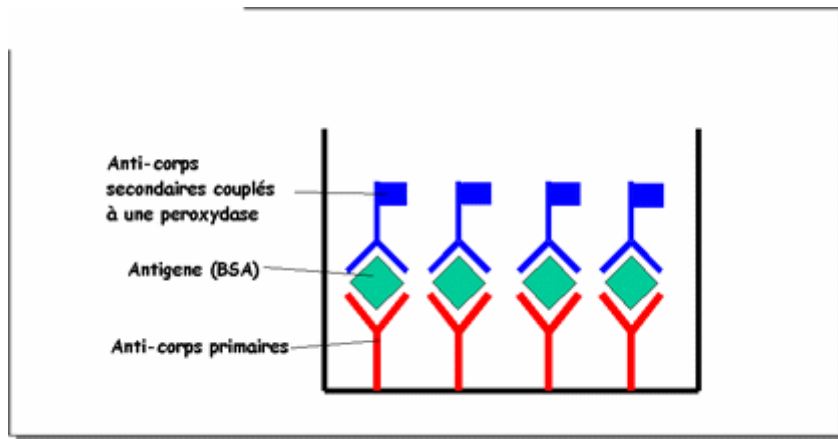


Figure 16 : Principe de l'ELISA sandwich source : <http://s.briquet.free.fr/spip.php?article37>

II.2.2.3.2. Protocole

La protéine circumsporozoïte (Circumsporozoïte Protein, CSP) de *P. falciparum*, welch a été recherchée dans la tête et le thorax des femelles d'anophèles, en utilisant les protocoles décrits par Beier et *al.* (1990) et Wirtz et *al.* (1987). L'ensemble tête-thorax de chaque moustique a été coupé et placé individuellement dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml. Pour faciliter le broyage, 20 µl d'une solution de Nonidet P40 (NP40) ont été ajoutés dans chaque tube. Cette solution est un détergent qui facilite la destruction des cellules par hydrolyse des protéines membranaires. Après 1h d'incubation à température ambiante ou toute la nuit au réfrigérateur (+4°C), le broyage a été fait dans 300 µl de tampon « Blocking Buffer » (tampon BB). L'Acm de capture de *P. falciparum* a été reconstitué et conservé à -20°C. Chaque plaque a été sensibilisée en ajoutant 50 µl de cette solution d'Acm diluée au 1/300 dans chaque puits (Figure 17, A) et incubée toute la nuit à température ambiante. Le lendemain, chaque plaque a été vidée sans être lavée puis 200 µl de solution tampon BB ont été déposés dans chaque puits pour saturer les sites de fixation de l'Acm (Figure 17, B).

La plaque a été ensuite incubée pendant 1h à température ambiante. Après ce temps, la plaque a été vidée puis 50 µl de broyat de moustique ont été introduits dans chaque puits (Figure 17, C). De même, 50 µl de tampon BB déposés dans chaque puits de la colonne réservée aux témoins négatifs, 50 µl d'un broyat positif à *P. falciparum* ont été déposés dans le puits correspondant au témoin positif. Chaque plaque a été incubée à température ambiante pendant 2h au cours de laquelle l'antigène se fixe sur l'anticorps de capture anti-CSP (Figure 17, D). Au bout de ce temps, les plaques ont été lavées deux fois au PBS/Tween 20. Avant de procéder au lavage, une solution d'Acm conjugué à la peroxydase a été préparée en mélangeant l'Acm

conjugué à la peroxydase de *P. falciparum* avec le tampon BB. Après plusieurs lavages, 50 μ l de cette solution ont été déposés dans chaque puits (Figure 17, E). Après 1h d'incubation à température ambiante, la plaque a été lavée 4 fois au PBS/Tween 20 (Figure 17, F). La révélation a été faite en déposant 100 μ l de substrat de la peroxydase dans chaque puits (Figure 17, F) et en incubant la plaque pendant 30 min à température ambiante et à l'obscurité. La réaction a été stoppée par addition de 50 μ l d'acide sulfurique 4N dans chaque puits avant de procéder à la lecture au spectrophotomètre (Figure 17, G, H). Les puits présentant une densité optique (D.O) deux fois supérieure à celle de la D.O. des témoins négatifs sont considérés comme positifs.

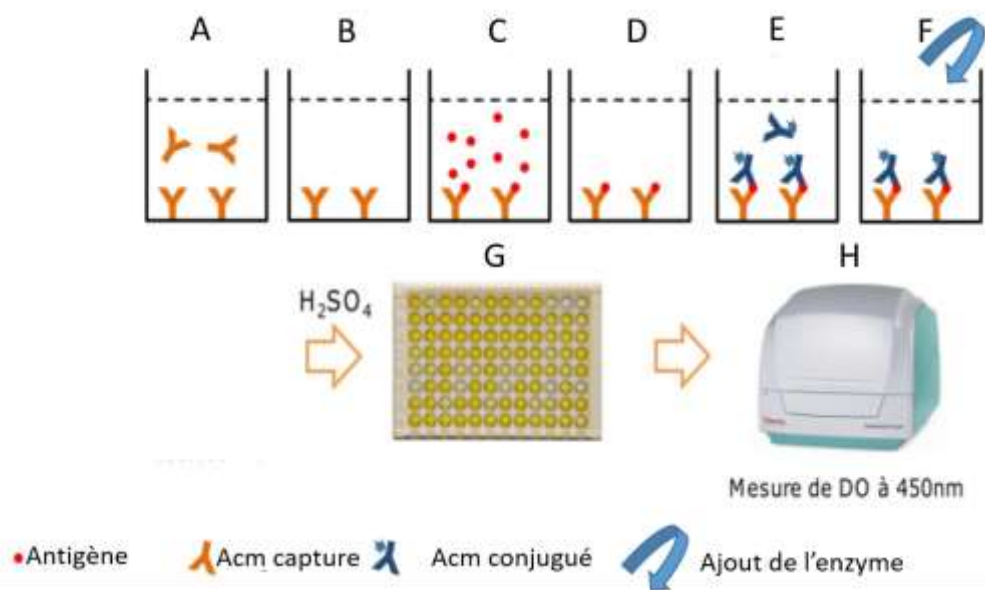


Figure 17 : Protocole du test ELISA en sandwich (Tetreau 2012, modifié). Les étapes de A à F représentent ce qui se passe dans un puits d'une plaque de 96 puits. L'antigène est symbolisé par un point rouge, l'anticorps de capture par un « Y » orange, l'anticorps conjugué à la peroxydase par un « Y » en bleu avec une étoile.

II.2.2.4. Coloration des lames et lecture au microscope

La coloration des lames a été faite avec le colorant de Giemsa à 10 %. C'est un mélange d'éosine (qui colore la chromatine du parasite et les granulations dans des teintes de rouge ou de rose) et d'azur de méthylène (qui colore le cytoplasme parasitaire en bleu). Les noyaux des leucocytes prennent une teinte bleue à presque noire selon le type de leucocyte (OMS, 2014 a).

La solution de Giemsa 10 % a été préparée en diluant 10ml de la solution mère dans 90 ml d'eau distillée. Ensuite la solution de colorant diluée a été versée délicatement sur les

lames à colorer en utilisant une pipette Pasteur. Puis les étalements ont été laissés en contact avec le colorant pendant 8 à 10 minutes. Une fois le temps écoulé, les lames ont été rincées avec de l'eau propre puis rangées sur un râtelier pour les égoutter et les sécher. Pour la lecture au microscope, une goutte d'huile à immersion a été déposée sur chaque lame.

II.2.2.5. Extraction d'ADN sur papier buvard

L'ADN a été extrait du papier buvard en utilisant la méthode chelex (Plowe *et al.*, 1995). Pour ce faire un morceau de papier buvard préalablement découpé a été introduit dans un tube eppendorf de 1,5mL contenant une solution de PBS/Saponine puis le tube a été refermé puis secoué pendant 30 secondes et incubé à 4°C toute la nuit. Le lendemain, chaque tube a été centrifugé pendant 3 min à 12 000g puis à l'aide d'une pipette, toute la solution de PBS/saponine a été retirée du tube en y laissant le papier buvard. Par la suite 1ml de PBS 1x a été ajouté ; l'ensemble a été secoué et centrifugé. Le PBS a été retiré à l'aide d'une pipette. Tout cela constituait le 1^{er} lavage ; des lavages successifs ont été effectués jusqu'à ce que le papier soit dépourvu de sang. Après ces lavages, 100µl d'eau stérile puis 50µl de chelex ont été ajoutés dans le tube. Le chelex ici a pour rôle de protéger l'ADN de la dégradation. Les tubes ont été ensuite chauffés à 100°C dans un bloc chauffant après un mélange énergétique. Cette température correspond à la température optimale d'action du chelex. Après refroidissement, chaque tube a été secoué à grande vitesse pendant 30s puis centrifugé à 12 000g pendant 5 min. Au terme du processus le surnageant contenant l'ADN a été récupéré délicatement et transféré dans un nouveau tube préalablement étiqueté et gardé à -20°C pour les analyses ultérieures.

II.2.2.6. Identification moléculaire des espèces de *Plasmodium*

L'ADN extrait des papiers buvards a été utilisé pour l'identification des espèces de *Plasmodium*. Le protocole utilisé est la technique de PCR multiplex (Padley *et al.*, 2003) dans laquelle un ensemble d'amorces (Tableau X) ciblant des séquences spécifiques de la petite sous-unité de l'ARN ribosomal des 4 espèces de *Plasmodium* infectant l'homme.

Tableau X : Séquence des amorces utilisées pour l'identification des espèces de *Plasmodium*

Nom des amorces	Séquence (5min à 3min)	Espèce identifiée	Taille du fragment
UV	5' -GTA TCT GAT CGT CTT CAC TCC C -3'	-	-
F	5'-AAC AGA CGG GTA GTC ATG ATT GAG -3'	<i>P. falciparum</i>	276 pb
O	5' -CTG TTC TTT GCA TTC CTT ATG -3'	<i>P. ovale</i>	375 pb
M	5'-CGT TAA GAA TAA ACG CCA AGC G-3'	<i>P. malariae</i>	412 pb
V	5' -CGG CTT GGA AGT CCT TGT-3'	<i>P. vivax</i>	300 pb

UV : universelle, F : falciparum, O : ovale, M : malariae, V : vivax,

Le milieu réactionnel constitué pour un volume final de 15 µL est composé du kit HotStarTaq Master mix contenant les dinucléotides triphosphates (dNTPs), du magnésium (MgCl₂) , de l'ADN polymérase de type HotStarTaq ; des amorces oligonucléotidiques spécifiques, de l'eau stérile et de l'ADN à amplifier (Tableau XI).

Tableau XI : Composition du milieu réactionnel pour l'identification moléculaire des espèces de Plasmodium pour un volume final de 15 µL

Réactifs	Pour 1 réaction à 15µL
Hot Star Taq Master Mix Kit (3,0 mM MgCl ₂ , 400µM dNTP, 2,5 U Hot Start Taq)	7,5µL
UVPLAS (10 µM)	0,9µL
PLASF (10 µM)	0,9µL
PLASO (10 µM)	1,05µL
PLASM (10 µM)	1,05µL
PLASV (10 µM)	0,45µL
ADN	3µL
H ₂ O	0,15µL
Total	15,0µL

H₂O : eau stérile, **dNTP** : désoxyribonucléotides triphosphates, **MgCl₂** : chlorure de magnésium, **Taq** : *Thermus aquaticus*, **ADN** : acide désoxyribonucleique, **µM** : micromolaire, **µL** : microlitre, **U** : unité, **UVPlas** : universelle, **PlasF** : *P. falciparum*, **PlasO** : *P. ovale*, **PlasM** : *P. malariae*, **PlasV** : *P. vivax*

Après une dénaturation initiale de 15 minutes à 95°C, 43 cycles d'amplification ont été réalisés (45 secondes à 94°C, 90 minutes à 45°C, 1 minute à 72°C) suivis d'une élongation finale de 5 minutes à 72°C dans un thermocycleur.

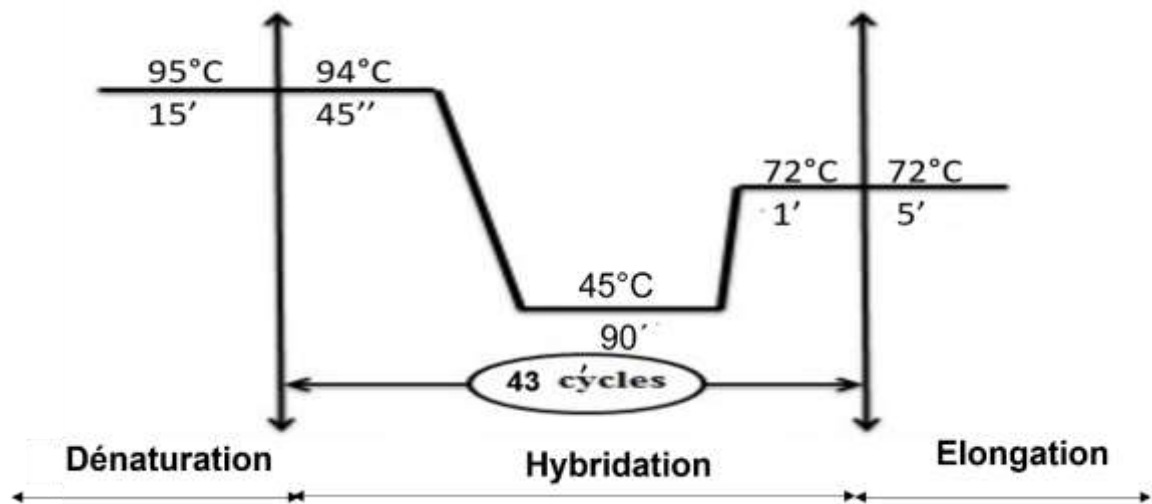


Figure 18 : Profil thermique et cycle d'amplification de l'ADN (PCR *Plasmodium*)

II.2.3. Gestion et analyse des données

Toutes les données préalablement reportées sur des fiches de terrain ont été saisies dans le logiciel Excel version 2013. Le calcul des variables et les différentes analyses statistiques ont été effectués à l'aide des logiciels R version 3.5.2, MedCalc statistical software version 15.8, et PAST version 3.22.

De nombreux indicateurs entomologiques (Williams *et al.*, 2012) ont été calculés notamment :

- La densité moyenne des moustiques par piège (nombre d'anophèles par pièges par nuit, $An/p/n$) obtenue en divisant le nombre total d'anophèles (N) par le nombre de pièges (n) selon la formule $An/p/n = N \text{ anophèles}/n \text{ pièges}$;
- L'agressivité des moustique (ma) (nombre de piqûres d'anophèles par homme par nuit, $p/h/n$) représente le nombre d'anophèles capturés en une nuit sur le nombre de captureurs selon la formule : $P/h/n = N \text{ anophèles}/n \text{ captureurs}$;
- Le taux d'infection des moustiques ou indice circumsporozoïtique (ICSP) quant à lui représente le rapport du nombre de moustiques infectés (n) sur le nombre total de moustiques testés (N) selon la formule $IS/ICSP = n \text{ infectés}/N \text{ testés}$;
- Le taux d'inoculation entomologique (nombre de piqûres infestantes par homme par nuit, $pi/h/n$) se traduit par le produit du taux d'agressivité et du taux d'infection selon la formule : $Pi/h/n = P/h/n * IS$;

- la richesse spécifique (Magurran et McGill, 2011), celle observée (S) représente le nombre total d'espèces collectées dans une communauté ;
- L'abondance relative (Pi) est le rapport du nombre d'individus d'une espèce i (xi), sur le nombre total d'individus toutes espèces confondues (N), multiplié par cent. Elle est traduite par la formule suivante : $P_i = (x_i / N) \times 100$;
- l'indice de Shannon-Wiener (« H' ») (Magurran et McGill, 2011) ou l'indice d'entropie de Shannon donné par la formule :

$$H' = - \sum_{i=1}^S (p_i \log_2 p_i), \text{ avec } p_i = \frac{n_i}{n} \text{ et } n = \sum_{i=1}^S n_i$$

Où ni est le nombre d'individus de l'espèce i, pi est la proportion de l'espèce i dans la communauté. L'indice de Shannon varie de 0 (diversité nulle) à $\log_2 S$ (diversité maximale) donc $0 \leq H \leq \log_2 S$.

- L'indice d'équitabilité (régularité) de Piélou E (Magurran et McGill, 2011) calculé par la formule :

$E = H'/H_{\max}$ où H' représente l'indice de diversité de Shannon,

$H_{\max} = \log_2 S$ est la diversité maximale d'un peuplement de même richesse spécifique. L'indice d'Equitabilité de Piélou varie de 0 à 1. Il tend vers 0 lorsque la quasi-totalité des effectifs se concentre sur une seule espèce et vers 1 lorsque la plupart des espèces de la communauté étudiée ont presque la même abondance (Magurran et McGill, 2011) ;

- L'indice de Dominance spécifique de Berger-parker *ID* (Magurran et McGill, 2011) qui est le rapport de l'abondance relative de l'espèce dominante (n_{\max}) sur l'abondance de toutes les espèces du milieu (N).

Il est donné par la relation

$$ID_{\text{Berger-Parker}} = \frac{n_{\max}}{N}$$

tel que $0 < ID < 1$. $ID = 0$ traduit une absence de dominance où tous les taxa sont présents en abondances égales ; $ID = 1$ traduit la situation où un taxon ou quelques taxa sont numériquement les plus abondants dans la communauté (Magurran et McGill, 2011).

Les densités des moustiques ont été comparées entre les périodes de capture, le lieu de capture et les sites d'étude. Les test T de Student et ANOVA ont été utilisés pour comparer les densités dans l'espace (lieu de capture c'est-à-dire à l'intérieur et à l'extérieur des maisons ; site d'étude c'est-à-dire zones d'intervention et zones témoins) et dans le temps (en fonction des saisons et/ou périodes de collecte).

Le calcul des indices de diversité et la comparaison entre les richesses spécifiques des sites d'étude ont été réalisés grâce au logiciel PAST.

La diversité des espèces a été estimée en utilisant les indices de Shannon (H), de Simpson (1-D) et le test de Chi² a permis de comparer les abondances relatives.

Le seuil de signification pour toutes les analyses était $\alpha < 0,05$.

Des modèles de régression linéaire généralisée à effet mixte ont été utilisés pour évaluer l'effet de l'intervention sur les densités des moustiques, le taux d'infection et le taux d'inoculation entomologique en ajustant les données avant et pendant le traitement. Ces analyses ont été effectuées en utilisant certains packages du logiciel R comme nlme, ggplot2, plyr, lattice, car.

Les odd-ratios et risk-ratios ont été calculés et ajustés en fonction de l'année, du type de la zone d'étude, de la période de collecte et des caractéristiques de la population. Les taux de réductions (TR) des densités, du taux d'infection et du taux d'inoculation entomologique ont été calculés en utilisant la formule :

$$TR = 100 - (C_1/T_1) * (T_2/C_2) * 100. \text{ Où}$$

C_1 = Proportion/densité des zones témoins avant la période d'intervention ;

T_1 = Proportion/densité des zones d'intervention avant la période d'intervention ;

C_2 = Proportion/densité des zones témoins après la période d'intervention ;

T_2 = Proportion/densité des zones d'intervention après la période d'intervention.

II.2.4. Considérations éthiques

L'étude a reçu l'approbation du Comité National d'éthique pour la recherche en santé humaine Ref N° D30-172/L/MINSANTE/SG/DROS/TMC du 4 Avril 2017 sous la clairance No 2018/06/1039/CE/CNERSH/SP. Toutes les personnes ayant effectué les captures sur volontaires humains ont signé un formulaire de consentement éclairé témoignant de leur

volonté à participer à l'étude et recevaient un traitement prophylactique après chaque séance de travail.

Quant aux enquêtes parasitologiques, elles ont été effectuées sous la clairance N° 2019/0/763/ CE/CNERSH délivrée par ce même comité. Les formulaires de consentement signés ont été obtenus des parents et tuteurs des enfants impliqués dans l'étude après qu'ils aient reçu des informations sur l'étude et les bénéfices ultérieurs à l'échelle individuelle et communautaire. Les enfants présentant un TDR positif recevaient un antimalarique pour le traitement.

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. RÉSULTATS

III.1.1. Composition de la faune culicidienne avant et pendant l'intervention

III.1.1.1. Abondance de la faune culicidienne avant et pendant l'intervention

Un total de 347 138 moustiques a été collecté au moyen de 23 404 pièges lumineux et 884 hommes-nuit. Les espèces collectées appartenaient à deux sous-familles : Anophelinae et Culicinae et étaient réparties en 05 genres : *Anopheles* Meigen, 1818, *Culex* Linné, 1758, *Aedes* Meigen, 1818, *Mansonia* Blanchar, 1901 et *Coquillettidia* Richiardi, 1896 (Tableau XII). Les culicinés prédominaient largement sur les anophelinés avec le genre *Culex* qui a représenté plus de 90 % du total de moustique enregistré (95,99 % ; n=333219). Parmi les 10 763 anophelinés collectés, l'espèce *An. gambiae* s.l. (2,81% ; n=9748) était la plus abondante suivie des espèces *An. funestus* s.l., *An. ziemanni* et *An. marshalli* (Tableau XII).

En analysant l'impact du larvicide sur les espèces de moustiques collectées, il apparaît que les proportions des espèces *An. gambiae* s.l. et *An. funestus* s.l., principaux vecteurs du paludisme dans la ville de Yaoundé ont été réduites de 55,52 % et 5 % respectivement pendant l'intervention. La réduction a été plus prononcée chez l'espèce *An. gambiae* s.l. . De manière générale, les abondances absolues de ces deux espèces obtenues avant l'intervention étaient significativement plus élevées que celles obtenues pendant l'intervention ($P < 0,001$, Df=1, $\chi^2=7,87$). Le larvicide n'a pas affecté les densités des culicinés (Tableau XII).

Tableau XII : Composition de la faune culicidienne avant et pendant l'intervention dans les sites d'étude.

Taxons de moustiques	Préintervention		Intervention		Total (%)	Taux de réduction
	ZT	ZI	ZT	ZI		
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)		
Anophelinae	3472 (3,52)	3860 (3,57)	2553 (3,14)	878 (1,48)	10763 (3,1)	53,53
<i>An. funestus</i> s.l.	183 (0,19)	536 (0,5)	85 (0,1)	145 (0,25)	949 (0,27)	5
<i>An. gambiae</i> s.l.	3276 (3,32)	3301 (3,05)	2446 (3,01)	725 (1,23)	9748 (2,81)	55,52
<i>An. marshallii</i>	0 (0,00)	3 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	3 (0,00)	0
<i>An. ziemanni</i>	13 (0,01)	20 (0,02)	22 (0,03)	8 (0,01)	63 (0,02)	0
Culicinae	95122 (96,48)	104206 (96,43)	78785 (96,86)	58262 (98,52)	336375 (96,09)	35,85
<i>Aedes</i> spp.	134 (0,14)	109 (0,10)	108 (0,13)	87 (0,15)	438 (0,13)	6,06
<i>Coquillettidia</i>	9 (0,01)	5 (0,00)	8 (0,01)	3 (0,01)	25 (0,01)	0
<i>Culex</i> spp.	94003 (95,34)	103755 (96,01)	77334 (95,08)	58127 (98,29)	333219 (95,99)	33,90
<i>Mansonia</i> spp.	976 (0,99)	337 (0,31)	1335 (1,64)	45 (0,08)	2693 (0,78)	86,56
Total	98594 (28,4)	108066 (31,13)	81338 (23,43)	59140 (17,04)	347138 (100)	

ZT : zones témoins ; ZI : zones d'intervention ; N : nombre collecté ; % : abondance relative

III.1.1.2. Diversité spécifique des anophèles avant et pendant l'intervention

L'identification moléculaire d'un échantillon de 2762 spécimens appartenant au complexe *An. gambiae* s.l. a révélé la présence de deux espèces *An. coluzzii* (88, 41 %) et *An. gambiae* s.s. (11,59 %). Concernant le groupe *An. funestus* s.l., parmi les 298 spécimens analysés, 279 (93,6 %) représentaient l'espèce *An. funestus* s.s. et 19 (6,4 %) l'espèce *An. lesoni*.

L'identification morphologique et moléculaire a montré que la richesse spécifique n'a pas varié dans les zones d'intervention avant et pendant intervention contrairement aux zones témoins. En effet, avant intervention cinq et six espèces d'anophèles ont été recensées dans les zones témoins et d'intervention respectivement contre six espèces recensées dans les deux types de zones pendant l'intervention (Tableau XIII). La différence observée entre les deux types de zones avant intervention n'était pas significative ($P=0,86$). L'analyse du profil de diversité révèle la même tendance : les courbes qui ne se chevauchent pas pendant la phase de pré-intervention traduisent la diversité spécifique élevée d'une zone comparée à l'autre contrairement à la période pendant intervention où la diversité spécifique était la même dans les deux types de zones (Figure 19). D'autre part, l'indice de Berger-parker qui se rapproche de 1 quelle que soit la période et le type de zones, traduit la prédominance d'une espèce sur les autres. C'est le cas de l'espèce *An. coluzzii* qui prédomine sur l'ensemble des espèces d'anophèles collectées quelle que soit la période d'échantillonnage et le type de zones.

Tableau XIII: Diversité spécifique de la faune anophélienne dans les sites d'étude avant et pendant l'intervention

Paramètres	Préintervention		Intervention	
	ZT	ZI	ZT	ZI
Taille de l'échantillon (N)	3472	3680	2553	878
Richesse spécifique	5	6	6	6
Shannon_H	0,55	0,76	0,63	0,79
Equitabilité_J	0,34	0,43	0,35	0,44
Berger-parker (ID)	0,85	0,76	0,81	0,76

ZT : zones témoins ; ZI : zones d'intervention

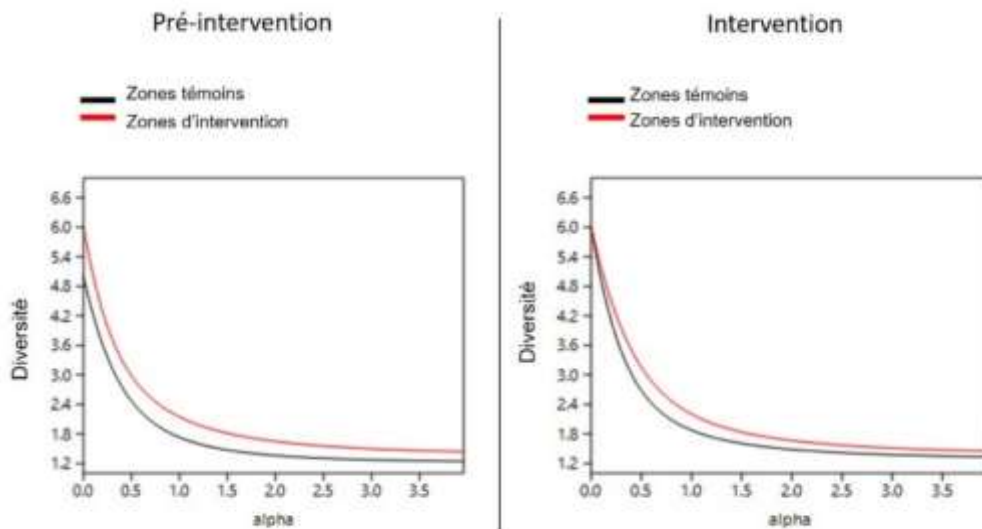


Figure 19 : Profil de diversité des différentes communautés d’anophèles pendant et avant l’intervention

III.1.1.3. Distribution spatiale des espèces d’anophèles dans la ville de Yaoundé

L’espèce *An. coluzzii* était présente et prédominante dans la quasi-totalité des quartiers suivie de l’espèce *An. gambiae* s.s. Aucune variation significative n’a été observée dans la composition spécifique du complexe *An. gambiae* s.l. avant et pendant l’intervention dans les deux types de zones ($p > 0,20$) (Figure 20).

L’espèce *An. funestus* s.s. a été enregistrée dans quelques sites et était plus abondante dans le quartier Mendong situé en périphérie urbaine. Certains quartiers comme mendong, Efoulan, Nkolbisson, NR Nkolbisson, Tsinga se sont démarqués des autres par la diversité spécifique importante soit 3 à 5 espèces recensées que ce soit avant ou pendant l’intervention (Figure 20).

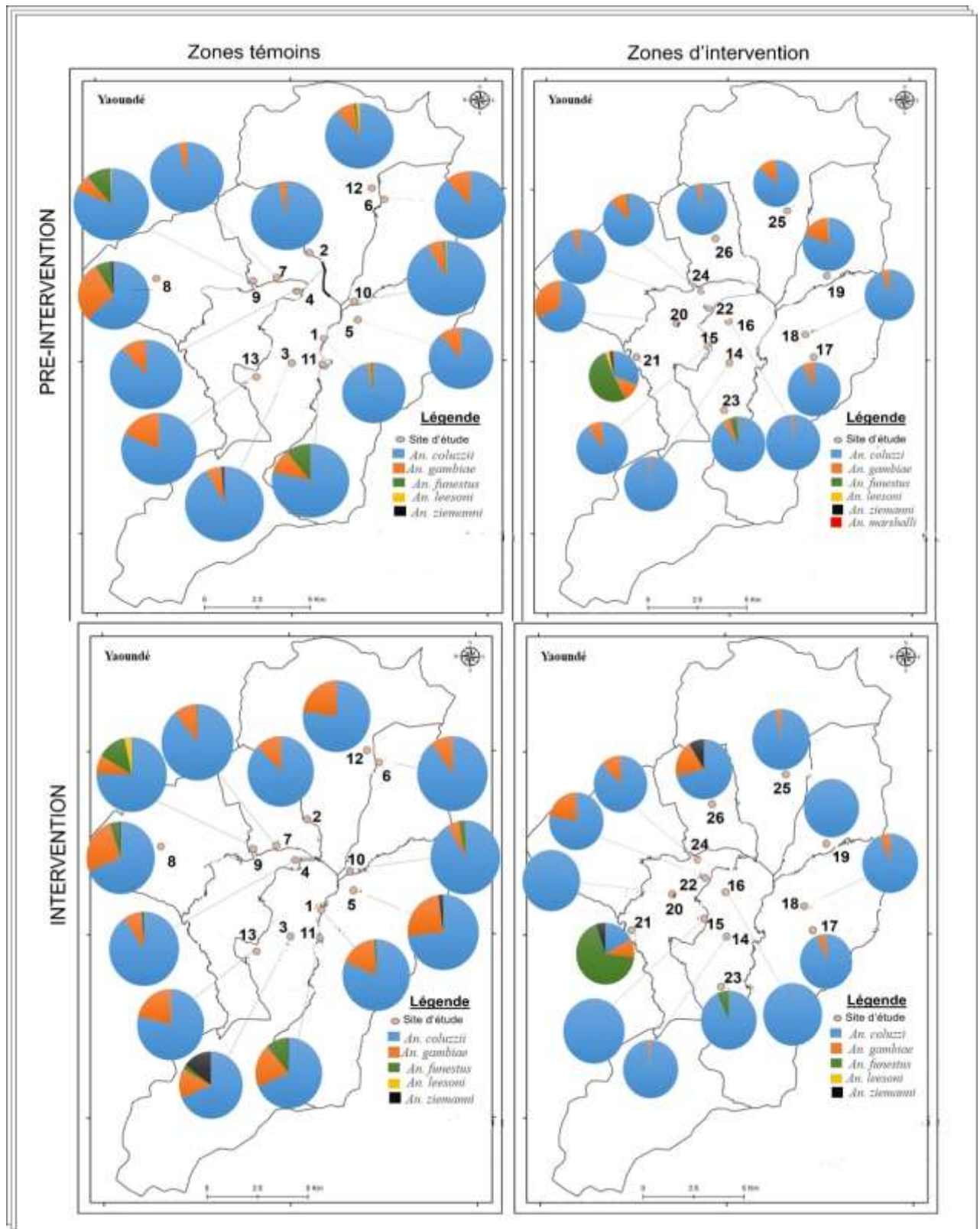


Figure 20 : Distribution spatiale des espèces d’anophèles dans les sites d’étude avant et pendant l’intervention

Légende : 1 : ambassade de France ; 2 : Bastos nouvelle route ; 3 : Efulan ; 4 : Emia ; 5 : Etam-bafia ; 6 : Nguosso ; 7 : Nkolbikok ; 8 : Nkolbisson ; 9 : Nkolbisson nouvelle route ; 10 : Nkolndongo ; 11 : Nsam ; 12 : Santa barbara ; 13 : Tam-tam nouvelle route ; 14 : Biyemassi lac ; 15 : Biyemassi somatel ; 16 : Cité des nations ; 17 : Ekounou ekié ; 18 : Ekounou_palais ; 19 : Essos ; 20 : Etoug-ebe ; 21 : Mendong ; 22 : Obili ; 23 : Obobogo ; 24 : Parclabogenie ; 25 : Tongolo ; 26 : Tsinga.

III.1.2. Densités anophéliennes avant et pendant l'intervention

III.1.2.1. Variation bimestrielle des densités anophéliennes obtenues avec les pièges lumineux de type CDC

Avant l'application du larvicide, c'est-à-dire pendant la période de préintervention, aucune différence significative ($t = -1,14$, $df = 6$, $p = 0,29$) n'a été enregistrée dans les densités obtenues avec les pièges lumineux entre les zones témoins et zones d'intervention. Les densités étaient pratiquement semblables dans les deux types de quartiers allant de 0,12 anophèles par piège par nuit (An/p/n) à 1,14 An/p/n dans les zones témoins et de 0,08 An/p/n à 1,18 An/p/n dans les zones d'intervention (Figure 21). Pendant l'intervention, la tendance change avec une réduction significative des densités dans les zones d'intervention ($t = 4,72$, $df = 9$, $p = 0,0005$) oscillant entre 0,04 An/p/n et 0,15 An/p/n contre 0,10 An/p/n et 0,46 An/p/n dans les zones témoins. Bien qu'il ait été observé une baisse des densités d'anophèles dans les zones témoins, la réduction enregistrée n'était pas significative ($t = 0,88$; $df = 6$; $p = 0,41$).

Les valeurs élevées des densités d'anophèles ont été enregistrées pendant la petite saison pluvieuse de mars à juin 2017 puis ces dernières ont diminué pendant la petite saison sèche allant de juin 2017 à septembre 2017. Cette réduction était également observable lorsque les précipitations atteignaient leur pic pendant les périodes de mars à avril 2019 et de septembre à novembre 2019 (Figure 21). Les fluctuations des densités dans les zones témoins et d'intervention seraient donc fonction des variations des précipitations.

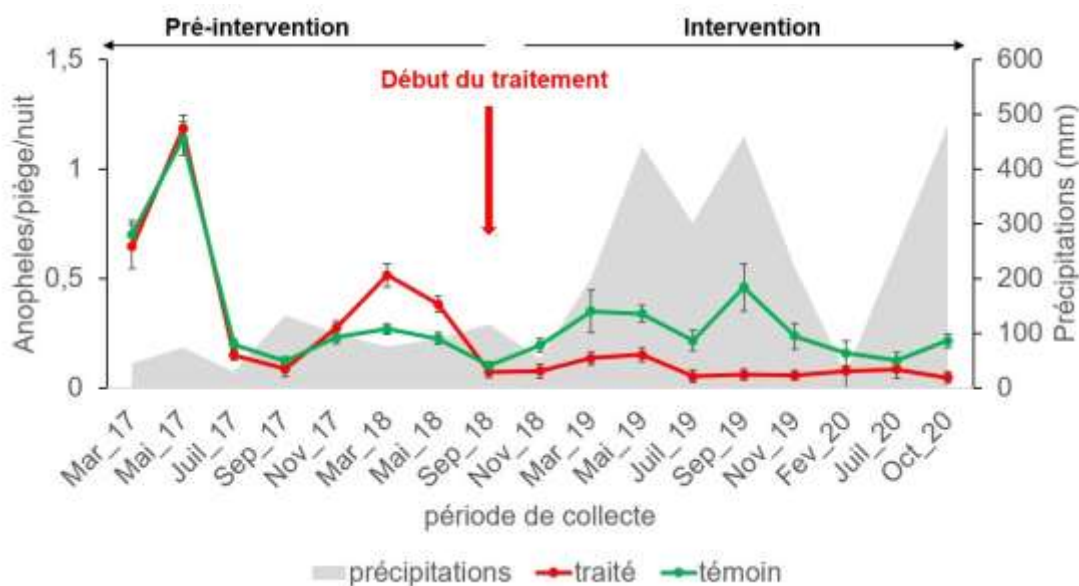


Figure 21 : Variation bimestrielle des densités obtenues par pièges lumineux dans les sites d'étude.

III.1.2.2. Variation bimestrielle des densités anophéliennes obtenues par capture sur volontaire humain

Les fluctuations observées au niveau des densités obtenues par capture sur volontaire humain suivent la même tendance que celles enregistrées avec les pièges lumineux. En effet, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les deux types de zones avant l'intervention ($t = -0,43$; $df = 6$; $p = 0,68$). Pendant l'intervention la comparaison faite a permis de ressortir une différence significative entre les zones témoins et les zones d'intervention ($t = 3,64$; $df = 9$, $p = 0,0027$) (Figure 22). En analysant les variations obtenues dans chaque quartier de manière indépendante avant et pendant l'intervention, nous avons observé que la réduction est plus marquée et significative dans les zones d'intervention ($t = 2,157$, $df = 6$; $p = 0,04$) avec des densités allant de 1,81 Piqûre/homme/nuite (P/h/n) à 23,35 P/h/n avant l'intervention à 0,35 à 1,92 P/h/n pendant l'intervention comparé aux zones témoins. La différence observée dans ces zones témoins avant et pendant intervention n'était pas significative ($t = 1,08$; $df = 6$; $p = 0,32$). En effet, les densités variaient de 3,38 à 16,58 P/h/n avant l'intervention à 1,77 à 7,81 P/h/n pendant l'intervention (Figure 22). Ces densités ont également varié en fonction des précipitations. Les valeurs élevées de densités ont été enregistrées pendant la petite saison pluvieuse de mars à mai 2017, ces dernières ont diminué lorsque les précipitations étaient abondantes et atteignaient leur pic (Figure 22).

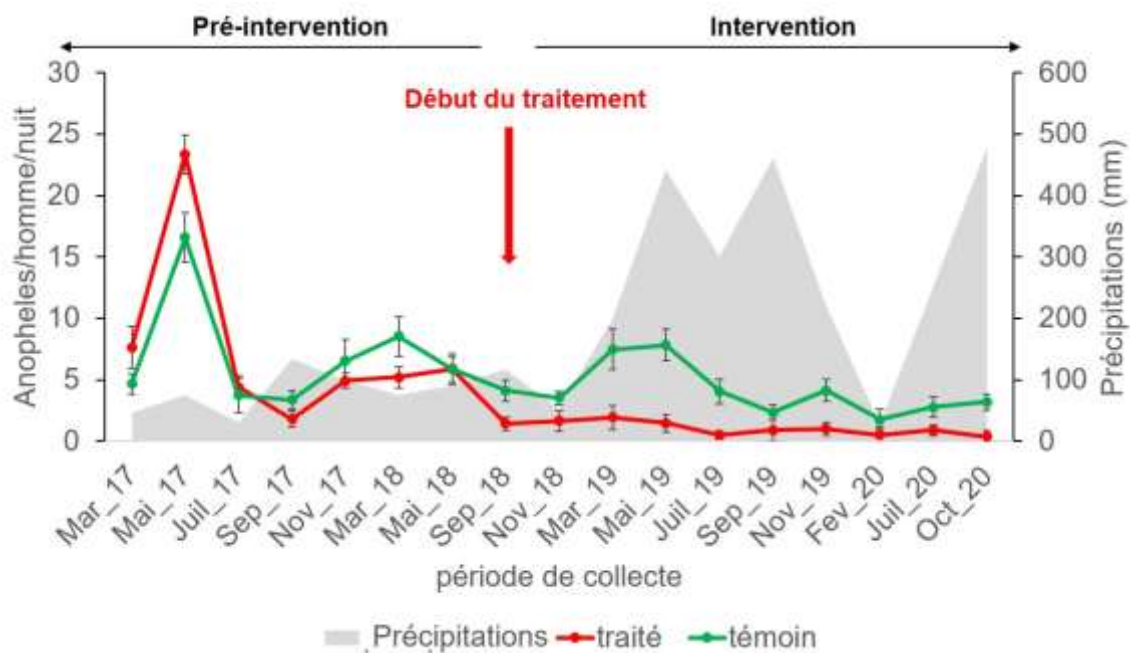


Figure 22 : Variation bimestrielle des densités obtenues par appât humain dans les sites d'étude.

III.1.2.3. Estimation des densités anophéliennes à l'intérieur et à l'extérieur des habitations

De manière générale, avant l'intervention les densités enregistrées à l'intérieur et à l'extérieur étaient semblables entre les zones témoins et les zones d'intervention, quelle que soit la méthode de capture. En effet, aucune différence significative n'a été enregistrée à l'intérieur ($t = -0,35$; $df = 6$; $P = 0,74$) et à l'extérieur ($t = -0,44$; $df = 6$; $P = 0,67$). Concernant les captures par pièges lumineux par exemple, à l'intérieur, les densités allaient de 0,62 An/p/n (Anophèles par piège par nuit) dans les zones témoins à 0,67 An/p/n dans les zones d'intervention contre 0,12 An/p/n à l'extérieur dans les deux types de zones (Tableau XIV). Pendant l'intervention, la tendance change avec une réduction significative des densités dans les zones d'intervention comparées aux zones témoins que ce soit à l'intérieur ($t = 5,24$; $df = 9$; $P = 0,00027$) ou à l'extérieur ($t = 2,69$; $df = 9$; $P = 0,012$). Nous avons par exemple enregistré des densités fluctuant de 0,12 An/p/n dans les zones d'intervention à 0,35 An/p/n dans les zones témoins à l'intérieur ; et de 0,03 An/p/n à 0,071 An/p/n à l'extérieur (Tableau XIV).

En analysant les taux de réduction des densités d'anophèles en fonction des techniques de capture, de manière générale, 68,14 % de réduction a été enregistré avec les pièges lumineux et 68,88 % avec les captures nocturnes. En fonction du lieu de collecte, les densités obtenues avec les pièges lumineux étaient plus élevées à l'intérieur comparé à l'extérieur. Par contre avec les captures nocturnes sur volontaires humains, les densités de moustiques collectés à l'extérieur étaient plus élevées. Également les taux de réduction enregistrés étaient plus élevés à l'intérieur comparé à l'extérieur soit 69,95 % pour les pièges lumineux et 76,99 % pour les captures sur volontaire humain (Tableau XIV).

Tableau XIV : Densités anophéliennes enregistrées à l'intérieur et à l'extérieur avant et pendant intervention dans les sites d'étude.

Densités par méthode de capture	Préintervention		Intervention		Taux de réduction (%)
	ZT	ZI	ZT	ZI	
An/p/n 95 % IC (min, max)	0,42 (0,40-0,44)	0,47 (0,45-0,49)	0,23 (0,22-0,25)	0,082 (0,075-0,09)	68,14
*In	0,62 (0,59-0,65)	0,67 (0,64-0,70)	0,35 (0,33-0,37)	0,12 (0,11-0,13)	69,95
*ext	0,12 (0,11-0,134)	0,12 (0,10-0,13)	0,071 (0,061-0,081)	0,03 (0,021-0,034)	60,1
P/h/n 95 % IC (min, max)	7,04 (6,66-7,43)	7,59 (7,20-8,01)	3,98 (3,74-4,23)	1,34 (1,20-1,49)	68,88
*In	4,37 (3,95-4,83)	4,93 (4,49-5,41)	3,33 (3,02-3,66)	0,88 (0,73-1,06)	76,99
*Ext	9,70 (9,07-10,365)	10,26 (9,61-10,94)	4,64 (4,28-5,02)	1,79 (1,57-2,03)	63,47

Légende : An/p/n : Nombre moyen d'anophèles par piège par nuit ; P/h/n : Nombre moyen d'anophèles par homme-nuit ; 95 % IC : intervalle de confiance à 95 % ; In : intérieur ; Ext : Extérieur ; ZT : zones témoins ; ZI : zones d'intervention

III.1.2.4. Taux de réduction des densités anophéliennes dans les zones d'intervention et dans leurs zones témoins correspondants

Des réductions de densités anophéliennes ont été enregistrées dans toutes les paires formées quelle que soit la méthode de capture. Concernant les densités obtenues avec les pièges lumineux, les taux de réduction variaient de 0,02 à 100 %. Le taux de réduction le plus élevé a été observé dans la paire constituée par les quartiers Etoug ébé et Santa barbara (100 %) tandis que le plus faible taux de réduction a été observé dans la paire Ekounou Ekié et Nouvelle route Nkolbisson (38,85 %) probablement due à la prolifération des gîtes larvaires recouverts de végétation dans ces zones ce qui limiterait la dispersion du larvicide (Tableau XV).

Tableau XV : Taux de réduction (TR) des densités anophéliennes dans les zones d'intervention en comparaison aux zones témoins correspondants

Paires	Sites	Statut	An/p/n avant intervention	An/p/n après intervention	TR (%)
1	Biyemassi Lac	ZI	0,25	0,08	45,83
	Efoulan Lac	ZT	0,25	0,15	
2	Biyemassi Somatel	ZI	0,10	0,01	76,28
	Tam tam	ZT	0,07	0,04	
3	Cité des nations	ZI	0,15	0,05	52,38
	Nkolbikok	ZT	0,18	0,13	
4	Ekounou Ekié	ZI	1,12	0,17	38,85
	NR Nkolbisson	ZT	0,73	0,18	
5	Ekounou Palais	ZI	0,54	0,05	71,69
	Nsam SCDP	ZT	0,67	0,23	
6	Essos	ZI	0,40	0,03	90,45
	NR Nkoldongo	ZT	0,33	0,26	
7	Etougebe	ZI	0,10	0	100
	Santa Barbara	ZT	0,11	0,06	
8	Mendong	ZI	1,11	0,32	64,09
	Nkolbisson	ZT	1,24	0,99	
9	Obili	ZI	0,20	0,02	66,25
	Etam Bafia	ZT	0,25	0,07	
10	Obobogo	ZI	0,58	0,08	69,77
	SNEC EMIA	ZT	0,35	0,17	
11	Parc Labogenie	ZI	0,62	0,18	69,51
	NR Bastos	ZT	0,47	0,14	
12	Tongolo	ZI	0,75	0,13	86,12
	Amba-France	ZT	0,60	0,78	
13	Tsinga	ZI	0,23	0,04	78,66
	Ngousso	ZT	0,14	0,11	

An/p/n : Nombre moyen d'anophèles par piège par nuit ; P/h/n : Nombre moyen d'anophèles par homme-nuit ; ZT : zones témoins ; ZI : zones d'intervention.

III.1.3. Transmission du paludisme avant et pendant l'intervention

III.1.3.1. Taux d'infection des espèces d'anophèles avant et pendant l'intervention

Les analyses effectuées pour déterminer l'infection des moustiques par *P. falciparum* ont montré que, quelle que soit la méthode de capture (pièges lumineux de type CDC ou captures sur volontaire humain-CVH), le taux d'infection était comparable entre les zones témoins et les zones d'intervention avant l'intervention. Tandis que pendant l'intervention, ce taux était plus élevé dans les zones témoins que dans les zones d'intervention. Ainsi, de manière générale, les taux d'infection ont diminué de 2,23 % et 2,62 % avant intervention à 0,93% et 0,63% pendant intervention respectivement dans les zones témoins et dans les zones d'intervention (Tableau XVI).

Tableau XVI : Taux d'infection avant et pendant l'intervention en fonction des méthodes de collecte

Méthodes de collecte	Préintervention				Intervention			
	ZT		ZI		ZT		ZI	
	N	Inf (%)	N	Inf (%)	N	Inf (%)	N	Inf (%)
CDC	1779	40 (2,25)	2133	53(2,48)	1333	14 (1,05)	530	4 (0,75)
CVH	994	22 (2,21)	1029	30 (2,92)	1029	8 (0,78)	268	1 (0,37)
Total	2773	62 (2,23)	3162	83(2,62)	2362	22 (0,93)	798	5 (0,63)

CVH : Capture sur volontaire humain ; CDC : piège lumineux de type CDC ; N : Nombre testé ; Inf : Nombre de spécimens infectés ; % : Taux d'infection = rapport du nombre de moustiques infectés sur le nombre de moustiques testés, ZT : zones témoins ; ZI : zones d'intervention.

Une analyse logistique binaire du taux d'infection effectuée en ajustant les périodes de collecte et le type de zones a montré une diminution de l'infection pendant l'intervention soit des taux de réduction de 63,51 % et de 35,74 % enregistrés avec les captures sur volontaire humain et les pièges lumineux respectivement (OR = 0,29 ; 95 % CI = 0,10 – 0,80, p = 0,017) (Tableau XVII). Quelle que soit la méthode de collecte, avant l'intervention aucune différence significative n'a été observée entre les taux d'infection enregistrés dans les zones témoins et ceux enregistrés dans les zones d'intervention (t = -0,19, df = 6, p = 0,85). Pendant l'intervention, les taux d'infection dans les zones d'intervention étaient moins élevés comparé à ceux enregistrés dans les zones témoins bien que la différence observée ne fut pas significative (t = 0,91, df = 9, p = 0,19). C'est ainsi qu'en ce qui concerne les captures sur volontaire par

exemple, avant l'intervention les taux d'infection étaient de 2,21 % et de 2,91 % dans les zones témoins et d'intervention respectivement contre 0,77 % dans les zones témoins et 0,37 % dans les zones d'intervention pendant l'intervention (Tableau XVII).

III.1.3.2. Taux d'inoculation entomologique avant et pendant l'intervention

Le taux d'inoculation entomologique (TIE) enregistré avec les pièges lumineux dans les zones témoins a varié de 5,50 piqûres infectantes/homme/an (pi/h/a) avant l'intervention à 1,47 pi/h/a pendant l'intervention. Dans les zones d'intervention, ce taux a varié de 6,85 pi/h/a avant l'intervention à 0,37 pi/h/a pendant l'intervention. Lorsque ce taux était estimé avec les captures sur volontaires humains, il était en moyenne de 56,85 pi/h/a avant l'intervention et de 11,32 pi/h/a pendant l'intervention dans les zones témoins. Dans les zones d'intervention, il était de 80,85 pi/h/a avant l'intervention et de 1,82 pi/h/a pendant l'intervention.

Ces variations correspondent à des taux de réduction du risque de transmission du paludisme de 79% et de 88,69% respectivement pour les deux types de méthodes de capture (OR= 0,21 ; 95 % CI : 0,14 – 0,30, P<0,0001) (Tableau XVII). De manière générale le risque de transmission du paludisme a été réduit de 84 % en moyenne dans les zones d'intervention. Également, pendant l'intervention, le taux d'inoculation entomologique était plus élevé à l'intérieur par rapport à l'extérieur, quelle que soit la technique de collecte (CVH, CDC) et le type de zones (zones d'intervention et zones témoins) (Tableau XVII).

Tableau XVII : Estimation de la transmission avant et pendant le traitement à l'intérieur et à l'extérieur des habitations.

Paramètres	Préintervention		Intervention		Taux de réduction (%)
	ZT	ZI	ZT	ZI	
Taux d'infection CVH (%)	2,21 (1,40-3,35)	2,91 (1,96-4,16)	0,77 (0,34-1,53)	0,37 (0,009-2,10)	63,51
Nombre moyen de moustiques infectés 95 % IC					
*In	2,08 (0,84-4,42)	4,52 (2,6-7,3)	1,18 (0,39-3)	0,87 (0,02-0,45)	66,07
*Ext	2,28 (1,3-3,7)	2,07 (1,13-3,5)	0,49 (0,10-1,45)	0	100
Taux d'infection CDC (%)	2,25 (1,60-3,00)	2,49 (1,86-3,25)	1,05 (0,57-1,76)	0,75 (0,20-1,93)	35,74
Nombre moyen de moustiques infectés 95 % IC					
*In	2,45 (1,73-3,36)	2,52 (1,86-3,33)	1,10 (0,58-1,9)	0,65 (0,13-1,9)	42,55
*Ext	0,88 (0,11-3,17)	2,10 (0,57-5,39)	0,67 (0,017-3,8)	1,47 (0,03-8,2)	8,49
*TIE annuel CVH	56,85 (33,72-90,88)	80,85 (51,7-121,68)	11,32 (4,59-23,67)	1,82 (0,04-11,31)	88,69
Nombre moyen de piqûres infectantes par homme par nuit 95 % IC					
*In	33,16 (12,11-77,92)	81,40 (42,61-144,15)	14,34 (4,30-40,08)	2,81 (0,053-1,74)	92,02
*Ext	80,86 (43,04-139,97)	77,70 (39,64-139,76)	8,30 (1,56-26,57)	0	100
*TIE annuel CDC	5,50 (3,75-7,86)	6,85 (4,89-9,30)	1,47 (0,74-2,57)	0,37 (0,09-1,02)	79,79
Nombre moyen de piqûres infectantes par homme par nuit 95 % IC					
*In	8,85 (5,97-12,76)	9,82 (6,97-13,63)	2,27 (1,13-4,05)	0,45 (0,08-1,44)	68,97
*Ext	0,61 (0,068-2,48)	1,44 (0,34-4,09)	0,28 (0,01-1,78)	0,23 (0,01-1,63)	61,77

95 % IC : intervalle de confiance à 95 % ; In : intérieur ; Ext : Extérieur ; ZT : zones témoins ; ZI : zones d'intervention ; TIE : Taux d'inoculation entomologique

III.1.3.3. Evolution temporelle du risque de transmission du paludisme avant et pendant l'intervention

Avant l'intervention le taux d'inoculation entomologique suivait la même courbe d'évolution entre les deux types de zones sans différence significative ($t = -1,93$, $df = 6$, $P = 0,10$). Les valeurs fluctuaient de 0,15 à 1,71 piqûres infestantes par homme par nuit (pi/h/n) dans les zones d'intervention et de 0,08 à 0,98 pi/h/n dans les zones témoins. Pendant l'intervention ce taux a diminué dans les zones d'intervention avec une valeur maximale de 0,18 pi/h/n mais la différence observée n'était pas significative ($t = 1,8$; $df = 6$; $P = 0,05$). Il en est de même dans les zones témoins où la réduction observée était moins marquée et non-significative ($t = 1,89$; $df = 6$; $P = 0,107$) (Figure 23).

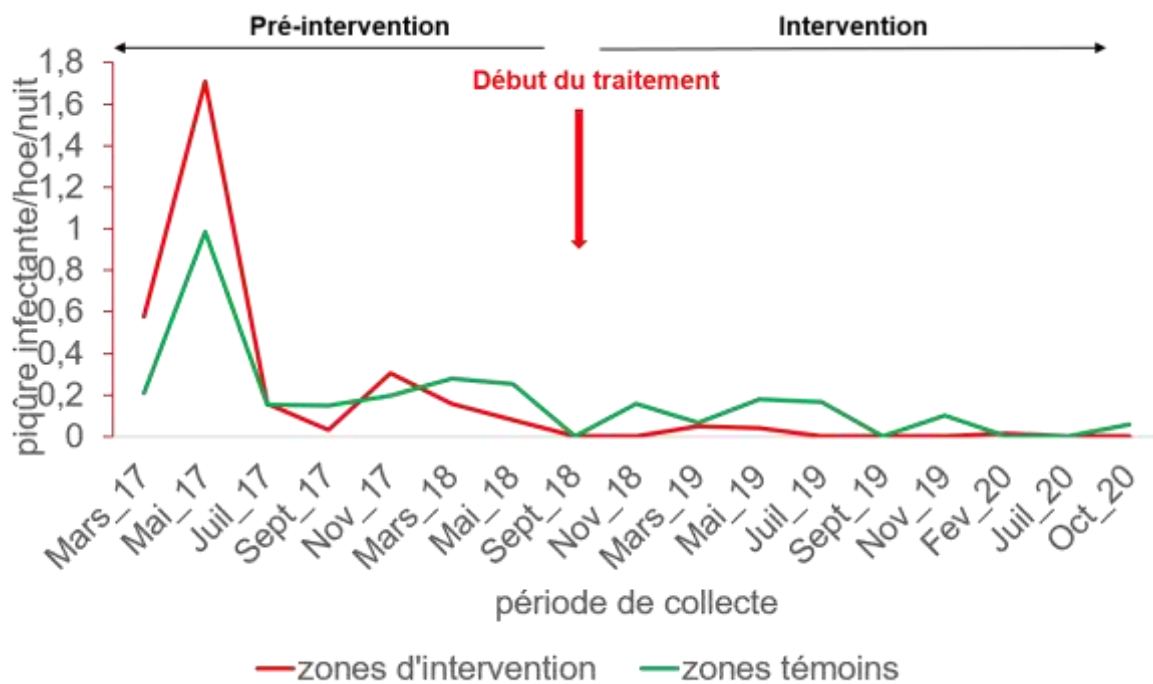


Figure 23 : Variation temporelle du risque de transmission du paludisme

III.1.3.4. Impact du larvicide sur les densités anophéliennes et la transmission du paludisme

L'analyse de l'impact du larvicide sur les densités anophéliennes et la transmission du paludisme s'est faite en utilisant le modèle linéaire généralisé. Pour cela certaines variables comme le type de quartier, les taux de piqûre et les périodes de collecte ont été ajustés. Il en est ressorti de cette analyse que les densités des moustiques et les indices de transmission du paludisme dans les zones témoins et les zones d'intervention étaient comparables avant

l'intervention. Pendant l'intervention, le risque d'être piqué a significativement diminué ($P < 0,05$) ceci au début de l'intervention (2018) et pendant l'intervention (2019 et 2020) (Tableau XVIII).

Tableau XVIII : Impact du larvicide sur les densités anophéliennes et la transmission du paludisme avant et pendant l'intervention

	Période	TIE (95 % IC)	Valeur de P
Préintervention	Mars 2017 - juillet 2018	0,16 (0,09-0,4)	0,1898
Intervention	Septembre-décembre 2018	0,10 (0,06-0,14)	0,0203
	2019	0,08 (0,05- 0,11)	0,0006
	2020	0,06 (0,01-0,11)	0,0065
	Total	0,000944 (1,795 e-05, 0,001 871)	0,038

TIE : Taux d'inoculation entomologique

III.1.3.5. Evolution du risque de transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé

Autant la transmission du paludisme a diminué pendant l'intervention d'une saison à une autre autant elle a diminué à travers la ville. En effet, avant l'intervention, une estimation du risque de transmission du paludisme à travers la ville a révélé une hétérogénéité entre les différents sites d'étude. Des niveaux de risque de transmission très bas c'est-à-dire des taux d'inoculation entomologique (TIE) allant de 0 à 5 pi/h/an ont été enregistrés dans 08 quartiers (Tam-tam, Efoulan, Etougebe, Ngouso, Obobogo, Parc labogénie, Santa Barbara, Obili). Des risques de transmission bas avec des taux d'inoculation entomologique variant de 5 à 15 pi/h/an ont été enregistrés dans 06 quartiers notamment Nkolndongo, Ambassade de France, Biyemassi Somatel, Cité des nations, Etam-Bafia, Emia. Des risques de transmission modérés (15-40 pi/h/an) ont été enregistrés dans 05 quartiers (Biyemassi lac, Ekounou palais, Nkolbikok, Nkolbisson, NR Nkolbisson). Les risques de transmission palustre élevés excédant 40 pi/h/an ont été observés dans 05 quartiers (Essos, Ekounou Ekié, NR Bastos, Tongolo, Tsinga). Le quartier Ekounou Ekié est le quartier présentant le risque de transmission palustre le plus élevé soit 92 pi/h/an (Figure 24). Pendant l'intervention, le risque de transmission palustre n'excédait pas 10 pi/h/an. Des risques de transmission palustre très bas allant de 0 à 1 Pi/h/an ont été enregistrés dans certains quartiers comme Ekounou palais, Ekounou Ekié, Mvog-Ada et Essos qui présentaient un risque de transmission palustre élevé avant l'intervention (Figure 24).

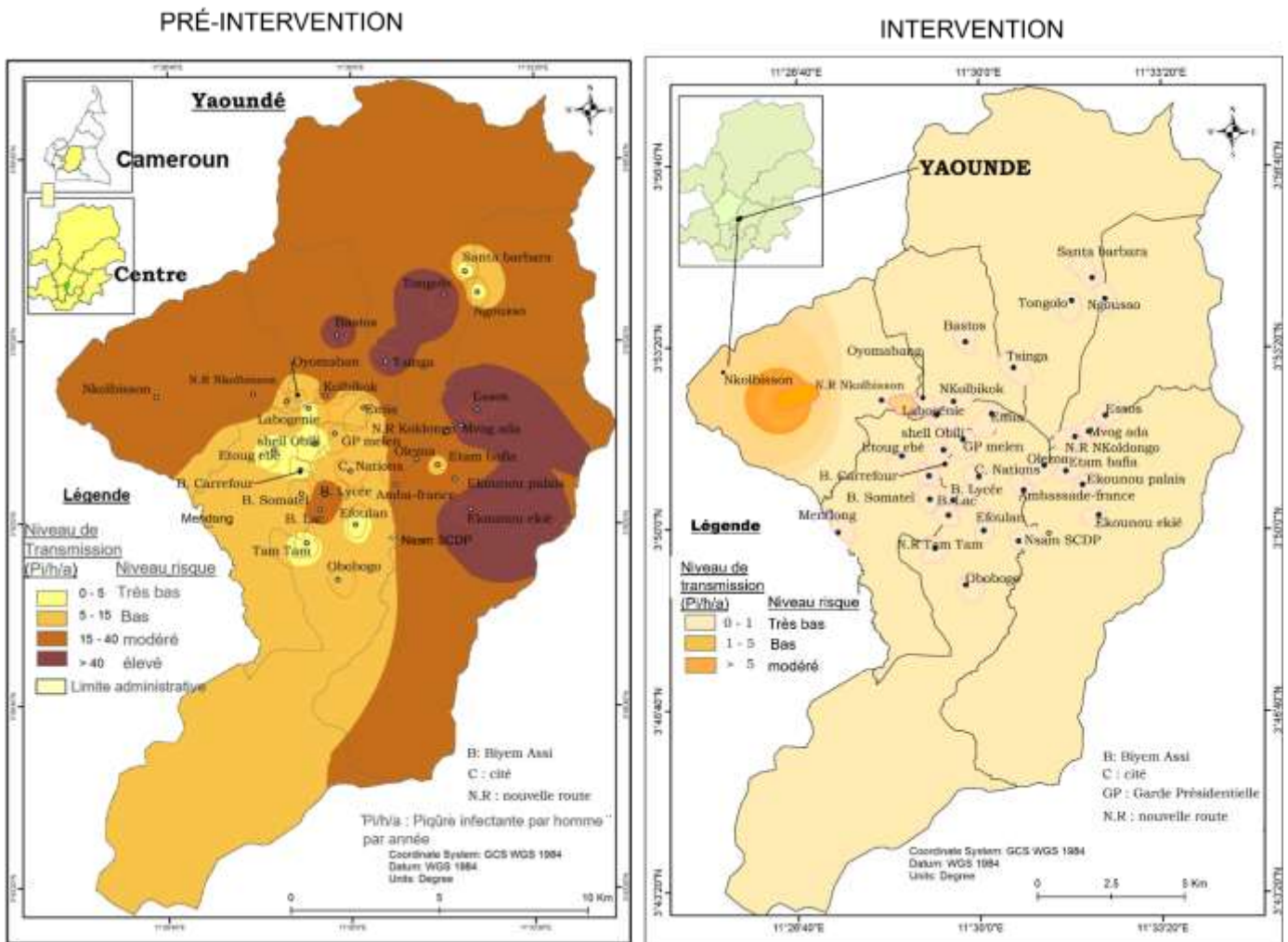


Figure 24 : Niveau de transmission du paludisme avant et pendant l'intervention dans la ville de Yaoundé.

III.1.4. Impact de l'intervention sur la prévalence palustre

III.1.4.1. Caractéristiques générales de la population et intensité de la prévalence palustre

Les enquêtes parasitologiques se sont déroulées en deux temps en mai 2019 (09 mois après le début de l'intervention) et en octobre 2020 (24 mois après). Ces enquêtes ont pris en compte 2068 individus dont la tranche d'âge variait de 1 à 84 ans soit 1052 interviewés en mai 2019 et 1016 en octobre 2020 dans 26 quartiers de la ville de Yaoundé (Tableau XIX). Des tests de diagnostic rapide (TDRs) ont été effectués sur 2055 individus consentants révélant une proportion de 17,08 % (n = 351) individus infectés. Parmi ces échantillons, 1742 ont été analysés en microscopie soit une proportion de 18,03 % (n=314) individus infectés et 209 analysés en utilisant PCR soit 49,28 % (n = 103) individus porteurs de *Plasmodium falciparum*.

Dans les zones d'intervention, la prévalence palustre chez les enfants de moins de 5 ans a diminué de 13,48 % en mai 2019, 9 mois après le début de l'intervention à 7,69 % en octobre 2020, 24 mois après l'intervention bien que la différence ne fut pas significative entre les deux périodes ($P=0,67$; $\chi^2=0,17$). Il en est de même pour la tranche d'âge allant de 5 à 10 ans (Tableau XIX). La plupart des individus testés étaient asymptomatiques quelle que soit la période d'étude et le statut de la zone. Une réduction de la prévalence palustre de ces individus asymptomatiques a été enregistrée dans les zones d'intervention allant de 15,11 % en mai 2019 à 12,68 % en octobre 2020. La différence enregistrée entre les deux périodes n'était pas significative ($P=0,93$; $\chi^2=0,007$). Également, la prévalence enregistrée chez les individus utilisant régulièrement la moustiquaire est moindre comparée à celle enregistrée chez ceux qui ne l'utilisent jamais. Dans les zones d'intervention, elle a diminué de 12,69 % en mai 2019 à 11,29 % en octobre 2020 bien que la différence ne fut pas significative ($P=0,92$; $\chi^2=0,009$) (Tableau XIX).

Tableau XIX : Caractéristiques générales de la population et prévalence palustre dans les sites d'étude.

Paramètres	Variables	Mai 2019						Octobre 2020					
		Zones témoins			Zones d'intervention			Zones témoins			Zones d'intervention		
		N	Positif	%	N	Positif	%	N	Positif	%	N	Positif	%
Age	<5	108	16	9,82	101	12	13,48	101	18	17,82	84	6	7,69
	[5-10 [157	28	25,93	138	26	23,21	133	32	24,06	103	12	13,19
	[10-15 [111	29	18,47	97	20	25,97	116	36	31,03	97	21	27,63
	≥15	163	34	6,31	177	20	12,74	180	18	10,00	202	25	14,12
Sexe	féminin	235	50	21,28	240	50	20,83	247	54	21,86	238	34	14,29
	masculin	304	57	18,75	273	28	10,26	283	50	17,67	247	30	12,15
Symptômes	non	496	94	18,95	483	73	15,11	434	87	20,05	339	43	12,68
	oui	43	13	30,23	30	5	16,67	96	17	17,71	147	21	14,29
	Jamais	35	13	37,14	68	16	48,48	80	29	36,25	79	16	20,25
Utilisation MILDA	parfois	24	5	20,83	47	4	17,39	31	9	29,03	26	5	19,23
	régulièrement	480	89	18,54	937	58	12,69	419	66	15,75	381	43	11,29
Intégrité physique MILDA	mauvais	402	12	11,88	330	11	7,48	261	33	17,37	220	14	8,33
	Bon	101	82	20,40	147	52	15,76	190	42	16,09	154	40	15,38

N : total examiné ; % : prevalence

III.1.4.2. Prévalence palustre pendant le traitement en fonction de la méthode de diagnostic et du statut de la zone

La prévalence palustre enregistrée avec les différentes méthodes de diagnostic est plus élevée dans les zones témoins allant de 19,79 % à 54,26 % par rapport aux zones d'intervention (14,08 % à 41,25 %) quelle que soit la méthode de diagnostic. La comparaison des méthodes de diagnostic faite individuellement montre que la différence n'est pas significative entre les zones témoins et les zones d'intervention que ce soit pour les tests de diagnostic rapide ($P=0,23$, $\chi^2 =1,43$), pour la microscopie ($P=0,18$, $\chi^2 =1,79$) que pour la PCR ($P=0,31$, $\chi^2 = 1,043$) (Figure 25).

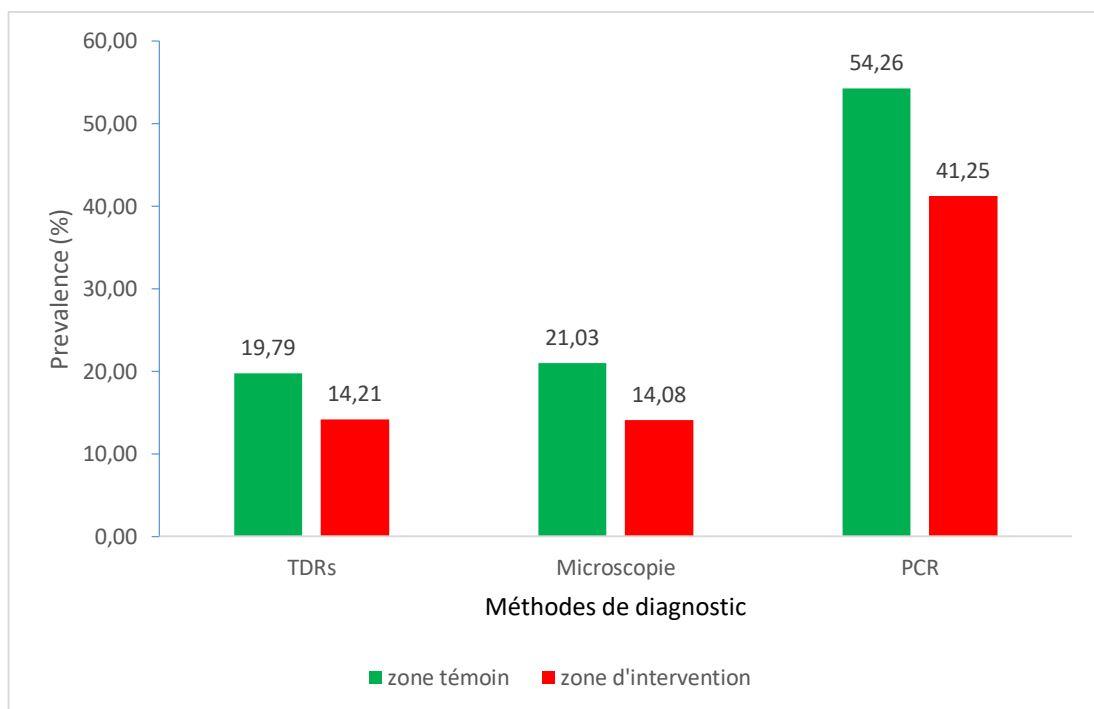


Figure 25 : Prévalence palustre en fonction des méthodes de diagnostic dans la ville de Yaoundé.

III.1.4.3. Prévalence du paludisme avant et pendant l'intervention

L'analyse de la prévalence palustre au début et pendant l'intervention montre une nette réduction dans les zones d'intervention en 2019 et 2020. Pendant l'intervention, la prévalence était plus élevée dans les zones témoins comparé aux zones d'intervention, bien que la différence observée entre les deux types de zones n'était pas significative ($P>0,05$) (Figure 26).

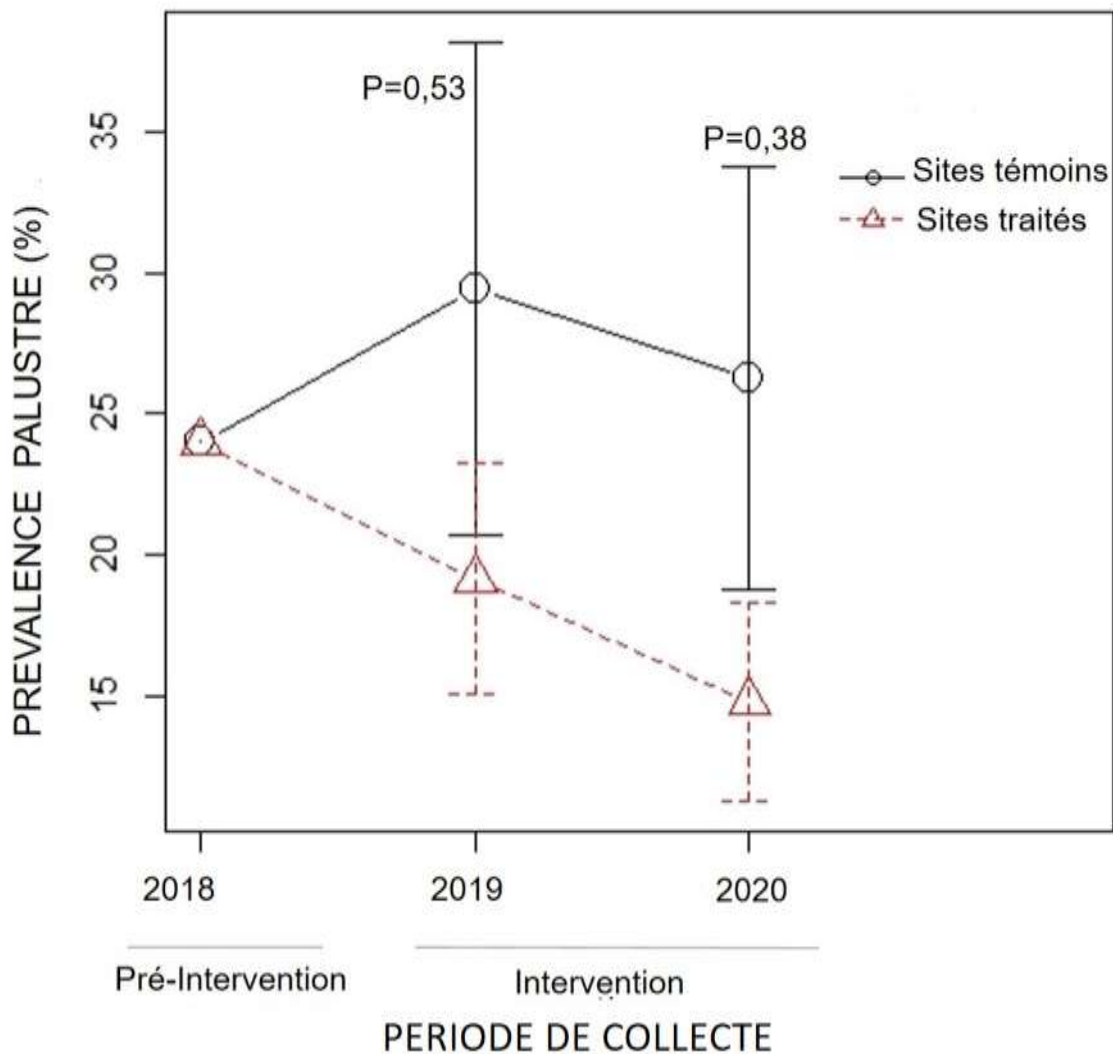


Figure 26 : Impact du traitement sur la prévalence palustre.

L'influence de certaines caractéristiques de la population sur la prévalence palustre a été analysée en utilisant un modèle logistique de régression à effet mixte (Tableau XX). L'analyse montre que les individus vivant dans les zones d'intervention ont moins de chance d'être infectés comparé à ceux vivant dans les quartiers témoins (OR = 0,74). Ainsi, les autres paramètres fixes mis ensemble (sexe, âge, état symptomatique, fréquence d'utilisation, état des moustiquaires, prise des antimalariques avant le prélèvement), nous observons que la prévalence décroît de 26 % dans les zones d'intervention par rapport aux zones témoins en mai 2019. Le risque d'infection était également moindre dans les zones d'intervention par rapport aux zones témoins en octobre 2020 (OR=0,66 ; P=0,28) (Tableau XX).

Tableau XX : Influence des caractéristiques de la population sur l'infection palustre au début et pendant l'intervention

Paramètre	Mai 2019			Valeur de P	Octobre-Novembre 2020			Valeur de P
	Estimate	Err Std.	OR (IC95 %)		Estimate	Err Std.	OR (IC95 %)	
<i>Variables fixes</i>								
Intercept	-0,4525	0,6549	0,6360 (0,1716 ; 2,286)	0,4896	-1,56	0,6151	0,2101 (0,06184 ; 0,7109)	0,0112
Groupe (ref = zones témoins)								
Zones d'intervention	-0,2999	0,404 3	0,7409 (0,3180 ; 1,710)	0,458 3	-0,413 9	0,3887	0,6610 (0,3046 ; 1,429)	0,2869
Sexe (ref = Féminin)								
Masculin	-0,5683	0,194 5	0,5665 (0,3858 ; 0,828)	0,003 5	-0,170 8	0,2076	0,8430 (0,5579 ; 1,273)	0,4107
Intervalles d'âge (ref ≤ 5 ans)								
> 5 ans	0,143	0,225 1	1,154 (0,747 ; 1,811)	0,525 2	0,477	0,2697	1,611 (0,944 ; 2, 758)	0,0769
Symptômes (ref=Non)								
Oui	0,666 2	0,322 8	1,947 (1,014 ; 3,617)	0,039	0,0103	0,260 8	1,010 (0,6022 ; 1,695)	0,9685
Fréquence d'utilisation MILDA (ref=Jamais)								
Souvent	-2 083	0,936 6	0,1246 (0,01525 ; 0,6844)	0,0262	-0,028 6	0,604 4	0,9718 (0,293 ; 1,3215)	0,9622
Régulièrement	-1 165	0,554	0,3119 (0,1046 ; 0,9412)	0,0355	-0,640 4	0,4969	0,5271 (0,196 ; 1,411)	0,1974

Etat MILDA (ref = mauvais)

Bon	-0,8605	0,2786	0,4230 (0,2391 ; 0,7160)	0,002	-0,4042	0,2271	0,6675 (0,4244 ; 1,047)	0,0752
-----	---------	--------	--------------------------	-------	---------	--------	-------------------------	--------

Prise traitement (ref=Non)

Oui	0,7024	0,232 9	2,019 (1,271 ; 3,175)	0,0026	0,511	0,2689	1,667 (0,978 ; 2, 2848)	0,0574
-----	--------	---------	-----------------------	--------	-------	--------	-------------------------	--------

Variables aléatoires

Equart type	0,8682				0,7729			
-------------	--------	--	--	--	--------	--	--	--

Err Std. Erreur standard ; OR (IC 95 %) : Odd Ratio, Intervalle de confiance à 95 % ; Ref : variable de reference

III.2. DISCUSSION

III.2.1. Distribution spatiale et temporelle des espèces d'*Anopheles* spp. dans la ville de Yaoundé

L'enquête entomologique longitudinale menée dans 26 quartiers de la ville de Yaoundé a permis de mieux comprendre la distribution spatiale et temporelle des espèces d'anophèles. Les espèces d'anophèles majoritairement rencontrées dans la ville au cours de cette étude et impliquées dans la transmission du paludisme sont *An. coluzzii*, *An. gambiae* s.s. et *An. funestus* s.s. Cependant, *An. coluzzii*, l'espèce prédominante dans la plupart des quartiers de la ville de Yaoundé est plus abondante dans les quartiers centraux que dans les quartiers situés en périphérie. Ces observations sont similaires à celles rapportées dans la ville de Yaoundé (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011 ; Tene-Fossog *et al.*, 2012 ; Kamdem *et al.*, 2012 ; Tene-fossog *et al.*, 2015). Ces auteurs ont révélé une forte capacité d'adaptation de cette espèce en milieu urbain et dans les gîtes pollués. L'espèce *An. funestus* s.l. bien qu'étant rare dans le centre urbain prédominait en périphérie urbaine. Sa présence était associée à la présence dans les quartiers urbains des gîtes larvaires propices à son développement. Ses gîtes de prédilection sont les points d'eau permanents ou semi-permanents avec une végétation émergente (Gillies et Demeillon, 1968). L'espèce pourrait aussi bénéficier de la pratique de l'agriculture urbaine dans les marécages pour étendre son aire de distribution. Les gîtes de prédilection de cette espèce ont été retrouvées dans les quartiers Mendong et Ekounou traversés par les rivières Mfoundi et Mefou. L'adaptation de l'espèce *An. funestus* s.l. à l'environnement urbain aux côtés des espèces *An. gambiae* s.s. et *An. coluzzii* nécessite une évaluation approfondie des principaux déterminants du paludisme afin de faire face aux challenges affectant l'efficacité des mesures de contrôle dans la ville. L'espèce *An. funestus* s.s. appartient à un groupe de 09 espèces (Coetzee *et al.*, 2004) qui peuvent être identifiées par des analyses moléculaires (Koekemoer *et al.*, 2002, Cohuet *et al.*, 2003). L'identification moléculaire des spécimens collectés au cours de cette étude a révélé la présence en faible proportion de l'espèce *An. lesoni* principalement dans les quartiers situés en périphérie de la ville –Mendong, Ekounou Palais, Ekounou Ekié- (Djamouko-Djomkam *et al.*, 2020). Cette espèce avait déjà été signalée antérieurement au Cameroun aux côtés des espèces *An. funestus* s.s. et *An. rivulorum* (Cohuet *et al.*, 2003).

L'analyse de la distribution spatiale des espèces d'anophèles à travers la ville a permis de ressortir les quartiers présentant une grande diversité comparée à d'autres. En effet, il a été trouvé que les quartiers situés en périphérie urbaine présentaient une grande diversité d'espèces

comparé à ceux situés en plein centre urbain. La diversité élevée enregistrée serait la résultante de la grande variété de gîtes observés dans ces quartiers notamment les lacs, les rivières, les marécages et les flaques d'eau propices au développement des moustiques vecteurs (Djamouko-Djonkam *et al.*, 2019). Alors que la dynamique spatiale des vecteurs était associée aux différentes caractéristiques des sites d'étude, la dynamique temporelle des vecteurs était associée au climat.

Ces espèces d'anophèles restent présentes toute l'année avec des densités fluctuant d'une saison à une autre malgré leur distribution hétérogène dans la ville de Yaoundé suggérant un maintien des conditions adéquates à leur survie le long de l'année telle que rapporté antérieurement (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011). En effet, pendant la saison pluvieuse, les précipitations favorisent la création des points d'eau et augmentent l'humidité. Ces deux facteurs sont propices au développement et à la survie des vecteurs (Protopopoff *et al.*, 2009 ; Coulibaly *et al.*, 2013 ; Sissoko *et al.*, 2017) ce qui justifierait les densités élevées en petite saison pluvieuse (mai-juin). Des travaux menés antérieurement (Castro *et al.*, 2017) montrant que la fréquence, la durée et l'intensité des précipitations contribuent à la formation des points d'eau potentiels pour le développement des vecteurs corrobore ce résultat. Tout en étant un facteur déterminant pour la prolifération des moustiques vecteurs, les précipitations peuvent être un frein lorsqu'elles sont intenses et régulières en lessivant les gîtes potentiels entraînant la mort des stades préimaginaux (Paaijmans *et al.*, 2007). Cette situation expliquerait les faibles densités observées pendant le pic de la grande saison pluvieuse (septembre-octobre). La présence des espèces d'anophèles pendant la saison sèche en dépit des faibles densités serait due à la pratique du maraîchage dans les bas-fonds marécageux, la présence des cours d'eau permanents (lacs, rivières) et de certains gîtes pollués qui favoriseraient le développement des larves tel que rapporté précédemment dans les villes de Yaoundé et Douala (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011 ; Djamouko-Djomkam *et al.*, 2020).

Bien que le larvicide utilisé ait eu un impact sur les densités anophéliennes, la transmission et la prévalence du paludisme dans la ville de Yaoundé, la composition de la faune anophélienne particulièrement *An. gambiae* et *An. coluzzii* est restée la même avant et pendant l'intervention. Ceci suggérerait un même niveau de sensibilité de ces moustiques au larvicide tel que signalé antérieurement pour les insecticides (Tene-Fossog *et al.*, 2013).

III.2.2. Impact de la lutte antilarvaire sur les densités des anophèles

Des réductions considérables des densités anophéliennes ont été observées pendant l'intervention suggérant que la résistance aux insecticides rapportée dans la ville de Yaoundé (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2015 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2016 ; Bamou *et al.*, 2020) n'aurait pas affecté l'efficacité du larvicide. La réduction des densités anophéliennes était plus élevée chez *An. gambiae* s.l. comparé à *An. funestus* s.l. Ceci peut se justifier par le type de gîte colonisé. En effet, *An. funestus* s.l. se développe dans des gîtes larvaires de grande étendue (lacs, rivières) couverts de végétation qui pourrait réduire la quantité de larvicide à la surface du gîte et disponible pour les larves contrairement à *An. gambiae* s.l. qui se développe dans des gîtes larvaires temporaires découverts et exposés au soleil (Gillies et Coetzee, 1987). Une étude similaire menée en Gambie a également présenté le couvert végétal comme un facteur limitant l'efficacité du larvicide sur les larves d'anophèles (Majambere *et al.*, 2010). La réduction évidente des densités anophéliennes serait également attribuable à la diminution des densités larvaires sous l'action du larvicide tel que rapporté dans d'autres pays africains ayant mis en œuvre la lutte antilarvaire à l'aide du larvicide biologique (Geissbuhler *et al.*, 2009 ; Fillinger *et al.*, 2009). En effet, au cours de cette étude des aspersion régulières et continues du larvicide ont été effectuées à la surface de chaque gîte prospecté contrairement à d'autres études qui ont effectué une aspersion saisonnière (Fillinger *et al.*, 2009). Cette application régulière du larvicide a conduit à une réduction des gîtes larvaires positifs à anophèles et des densités larvaires dans la ville de Yaoundé. Cette situation justifierait donc la réduction des densités des moustiques adultes dans les maisons d'habitation.

Les densités de moustiques collectées ont varié avant et pendant l'intervention en fonction de la méthode de collecte. En effet, les collectes de moustiques par capture sur volontaire humain ont permis de collecter de fortes densités de moustiques en comparaison aux pièges lumineux. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus dans des études antérieures qui ont indiqué la forte efficacité de cette technique d'échantillonnage comparé à la collecte par les pièges CDC. Malgré l'efficacité relativement faible des pièges lumineux comparé aux captures sur volontaire humain, cette méthode est moins sujette à des biais comme ceux liés à la performance du collecteur avec la capture sur volontaire humain et est de ce fait importante pour l'évaluation de l'efficacité des interventions (Kenea *et al.*, 2017).

Une réduction considérable des densités anophéliennes a été observée tant à l'intérieur qu'à l'extérieur des habitations quelle que soit la technique de capture. Ces réductions observées

font de la lutte antilarvaire à base de Vectomax G une méthode de lutte alternative prometteuse pour contrôler la faune des vecteurs exophages et la transmission à l'extérieur des habitations sans cesse croissantes en zone urbaine.

Pendant l'intervention, il a été observé une faible réduction des densités des culicinés dans les sites d'étude. Les espèces *Culex* spp. et *Aedes* spp. sont les culicinés dont les densités n'ont pas été fortement affectées par le larvicide dans cette étude. Cela traduirait le fait que le larvicide n'aurait pas eu un impact sur leur population car certains de leurs gîtes de prédilection comme les latrines, pneus, pots de fleurs et les égouts n'étaient pas la cible pendant le traitement. Bien que les larves de ces espèces puissent être souvent trouvées en sympatrie dans les collections d'eau, il est possible que la présence des ordures et des déchets ménagers dans certains de ces gîtes préférentiels pourrait avoir limité la dispersion du larvicide et le rendre peu accessible pour les larves présentes (Djamouko-Djonkam *et al.*, 2019) expliquant le faible impact de l'intervention observé.

III.2.3. Impact de la lutte antilarvaire sur les indicateurs entomologiques de la transmission

Le taux d'inoculation entomologique, paramètre traduisant le risque de transmission du paludisme est un indicateur primaire pour mesurer l'impact des traitements antilarvaires sur la transmission du paludisme. Les collectes effectuées avant l'intervention ont permis d'observer la dynamique de la transmission palustre dans la ville. En effet, un risque de transmission élevé et permanent du paludisme a été enregistré dans la ville de Yaoundé avant l'intervention. Cette observation est en accord avec la plupart des études réalisées en Afrique subsaharienne qui présentent le paludisme comme une menace de santé publique dans les villes africaines (Hay *et al.*, 2005 ; Wang *et al.*, 2006 ; Mourou *et al.*, 2012 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2012). Contrairement aux études antérieures menées dans la ville de Yaoundé qui indiquaient un risque de transmission du paludisme faible variant de 0 à 33 Pi/h/an (Fondjo *et al.*, 1992 ; Nimpaye *et al.*, 2001), cette étude a révélé des niveaux de risque de transmission palustre très élevés avant l'intervention atteignant jusqu'à 92 Pi/h/an dans certains quartiers et mettant en évidence un changement dans la dynamique de la transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé. L'analyse du paysage de cette ville et du risque d'infection palustre indique un risque de transmission hétérogène avec des quartiers plus affectés que d'autres. Ce résultat corrobore ceux présentés en Afrique Subsaharienne mettant en exergue un gradient croissant de l'intensité de la transmission palustre des centres urbains avec un taux d'inoculation entomologique de

7,1 Pi/h/an vers la périphérie urbaine avec 45, 8 Pi/h/an (Robert *et al.*, 2003). Une hétérogénéité de la transmission palustre a été également rapportée dans la ville de Libreville avec des risques de transmission élevés en plein centre urbain et bas en périphérie (Mourou *et al.*, 2012). Selon ces auteurs, ce schéma de transmission du paludisme pourrait résulter de l'urbanisation anarchique dans les quartiers situés au centre de la ville comparé aux quartiers situés en périphérie qui sont mieux bâtis avec des plans d'aménagement bien réalisés. Pendant l'intervention un taux moyen de réduction de 84 % du risque de transmission du paludisme a été enregistré dans la ville, ce qui corrobore les observations faites antérieurement à travers l'Afrique relevant un impact élevé de la lutte antilarvaire sur les indicateurs entomologiques et épidémiologiques (Dambach *et al.*, 2019 ; Fillinger *et al.*, 2009 ; Choi *et al.*, 2019).

L'analyse du risque de transmission palustre a révélé un risque élevé à l'extérieur par rapport à l'intérieur confortant l'hypothèse d'un risque grandissant de la transmission du paludisme à l'extérieur des habitations. Des études similaires ont été rapportées dans d'autres contextes urbains à travers l'Afrique (Afrane *et al.*, 2006 ; Klinkenberg *et al.*, 2008 ; Reddy *et al.*, 2011). Le risque grandissant de la transmission du paludisme à l'extérieur des maisons d'habitation des sites d'étude serait lié au développement des activités commerciales et loisirs qui pourraient maintenir les populations à l'extérieur très tard. Ces habitudes pourraient compromettre la performance des outils de contrôle à base d'insecticide utilisés dans la prévention du paludisme (Djamouko-Djomkam *et al.*, 2020). Les taux de réduction élevés du taux d'inoculation entomologique enregistrés à l'intérieur et à l'extérieur pendant l'intervention font de la lutte antilarvaire un outil de lutte pouvant être utilisé pour contrôler la transmission du paludisme sans cesse grandissante à l'extérieur des habitations dans les zones urbaines.

III.2.4. Impact de la lutte antilarvaire sur les indicateurs parasitologiques de la transmission

La prévalence, indicateur secondaire pour mesurer l'efficacité du larvicide, a été utilisée car permet une bonne évaluation de l'efficacité de l'intervention au sein de la population humaine (Majambere *et al.*, 2010 ; Wilson *et al.*, 2015). Autant le larvicide a affecté les densités anophéliennes et la transmission du paludisme autant il a affecté la prévalence palustre. En effet, la prévalence générale du paludisme au sein de la population a diminué de 24 % en 2018 (INS, 2020) à 14,21 % en 2020. Cette réduction serait attribuable au traitement et corroborerait les résultats publiés à travers l'Afrique (Fillinger *et al.*, 2009 ; Geissbühler *et al.*, 2009 ;

Majambere *et al.*, 2010 ; Maheu-Giroux *et al.*, 2014 ; Kahindi *et al.*, 2018) mettant en évidence l'impact élevé de la lutte anti-larvaire sur les indicateurs entomologiques et épidémiologiques.

Cette étude révèle une prévalence élevée des parasites chez les sujets asymptomatiques que ce soit dans les zones d'intervention que dans les zones témoins. En effet, ces personnes porteuses du parasite, mais ne présentant aucun signe clinique constituent des réservoirs de la maladie car favorise le développement des gamétocytes. Ces gamétocytes prélevés par le moustique pour maintenir le cycle du *Plasmodium*, augmenteraient ainsi la transmission d'un sujet à un autre et seraient à l'origine de l'endémicité de la transmission tel que rapporté antérieurement (Hien *et al.*, 2017). Également, il a été observé que la prévalence palustre est plus élevée chez les enfants de 0 à 5 ans et de 05 à 10 ans par rapport aux plus âgés confirmant la vulnérabilité de ces sujets face à l'infection palustre (WHO, 2020). Dans tous les cas, elle est moindre dans les zones d'intervention pendant le traitement. Au cours de cette période, la prévalence palustre chez les individus utilisant la moustiquaire dans les zones d'intervention est moins importante que celle utilisant la moustiquaire dans les zones témoins. Ce résultat suggérerait que l'utilisation de la moustiquaire imprégnée combinée à l'application du larvicide réduirait les cas de paludisme dans les villes affectées tel que rapporté dans d'autres contextes en Afrique (Geissbuhler *et al.*, 2009 ; Fillinger *et al.*, 2009). Il a été également observé que la plupart des moustiquaires utilisées étaient endommagées probablement due à la fréquente ou à la mauvaise utilisation pour se prémunir contre les piqûres. Bien que les moustiquaires imprégnées constituent la 1^{ère} ligne d'intervention dans le contrôle du paludisme, son efficacité n'est pas maximale contre les moustiques résistants aux insecticides et ceux piquant à l'extérieur (Talipouo *et al.*, 2019).

Dans cette étude, les résultats présentent une réduction de la prévalence palustre pendant l'intervention ; il a été trouvé que le risque d'infection est moindre dans les zones d'intervention comparé aux zones témoins. La lutte antilarvaire constituerait donc une composante importante pour le contrôle et l'élimination du paludisme dans la ville de Yaoundé.

III.2.5. Influence d'autres facteurs sur la transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé

Cette étude a permis de réduire les densités des anophèles et la transmission du paludisme dans les zones d'intervention. Il a été trouvé que de nombreux facteurs affectent la dynamique des vecteurs et la transmission du paludisme dans la ville notamment la pratique de

l'agriculture, la pollution, l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action et la résistance des vecteurs aux insecticides.

En effet, le maintien de la transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé tout au long de l'année serait due à la présence des zones abritant des gîtes larvaires où les moustiques se multiplient en tout temps (Djamouko-Djomkam *et al.*, 2019). La ville de Yaoundé présente un relief formé d'une alternance des collines et des bas-fonds irrigués par des cours d'eau permanents. C'est dans ces bas-fonds que se pratiquent les activités agricoles qui favorisent la multiplication et la pullulation des moustiques vecteurs. En effet, pendant la saison des pluies, les fréquentes inondations résultant d'un mauvais système de drainage, observées dans ces bas-fonds créent des points d'eau ou gîtes favorables au développement des moustiques vecteurs. Ces gîtes larvaires seraient maintenus en saison sèche par les sillons créés pour la pratique des cultures maraîchères.

D'autres facteurs liés à l'activité anthropique en milieu urbain (laveries de voitures, chantiers de construction) créent également des gîtes potentiels au développement des moustiques tel que reportés dans d'autres zones urbaines d'Afrique (Keiser *et al.*, 2004 ; Klinkenberg *et al.*, 2008 ; Fournet *et al.*, 2010 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011 ; Labbo *et al.*, 2016 ; Mattah *et al.*, 2017). Il a été également rapporté que la mauvaise gestion des déchets et l'absence d'un système de drainage des eaux usées dans les bas fonds des zones urbaines contribuent à créer des gîtes propices au développement des vecteurs et à maintenir la transmission du paludisme dans les centres urbains par rapport à la périphérie urbaine (Mourou *et al.*, 2012) ; ce qui expliquerait l'adaptation des vecteurs du paludisme aux gîtes pollués des zones urbaines (Tene-Fossog *et al.*, 2015).

Au Cameroun, les moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action représentent la 1^{ère} ligne d'intervention préconisée pour la protection contre le paludisme. Il a été rapporté qu'environ 77 % de la population possède une moustiquaire et 58 % l'utilisent régulièrement (Minsanté, 2018). À Yaoundé, plus de 90 % des ménages possèdent au moins une moustiquaire et plus de 70 % de la population l'utilise régulièrement (Talipouo *et al.*, 2019). Depuis 2004 que les campagnes de distribution des MILDA ont été initiées, une réduction des cas de paludisme et de mortalité a été enregistrée au Cameroun. L'utilisation des MILDA par les populations serait donc à l'origine de la réduction de la transmission (Bamou *et al.*, 2018). Cependant, cette réduction est statique depuis 2016 (Minsanté, 2018). La même tendance a été observée dans les régions OMS Amérique, Asie du Sud-Est, Pacifique et Afrique (WHO, 2015).

Cette réduction serait due au fait que la couverture en MILDA n'est pas maximale. Une enquête menée dans la ville de Yaoundé en 2018 a montré que plus de 38% de la population qui n'utilise pas la moustiquaire n'en possède pas (Talipouo *et al.*, 2019). A cela s'ajoute le problème de résistance des vecteurs aux insecticides qui est largement répandue dans la ville de Yaoundé (Tene-Fossog *et al.*, 2013 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2016). La résistance des vecteurs pourrait affecter l'efficacité des MILDA par conséquent contribuerait à maintenir la transmission dans la zone. Il a été également rapporté que la résistance est très élevée dans les zones urbaines et rurales où la pratique de l'agriculture est importante (Chouaibou *et al.*, 2008 ; Nwane *et al.*, 2009 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011). Dans cette étude, les résultats ont montré des risques de transmission élevés du paludisme avant l'intervention dans les quartiers où la pratique de l'agriculture est permanente. Pendant l'intervention, ce risque a diminué. La lutte antilarvaire pourrait donc être appropriée pour pallier à ces problèmes de résistance des vecteurs et de transmission du paludisme.



**CONCLUSION, RECOMMANDATIONS
ET PERSPECTIVES**

CONCLUSION

Cette étude avait pour objectif général d'évaluer l'impact d'un programme de lutte antilarvaire (LAL) à base d'un larvicide biologique (Vectomax^G) sur les indicateurs entomologiques et parasitologiques de la transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé.

Les résultats obtenus ont mis en évidence une grande diversité anophélienne dans la ville de Yaoundé. Une prédominance des espèces *An. gambiae* s.s. et *An. coluzzii* a été observée dans l'ensemble des quartiers d'étude. À côté de ces dernières, un autre vecteur *An. funestus* s.s. a été retrouvée dans certains quartiers. L'identification précise des espèces peut être un atout pour le succès des interventions de lutte antilarvaire car les sites colonisés par l'espèce *An. gambiae* s.l. seraient plus faciles à traiter que ceux colonisés par l'espèce *An. funestus* s.l. dont les larves ont l'habitude de se développer sous la végétation et dans des sites d'accès difficile. Des densités élevées de ces espèces ont été enregistré avant l'intervention. Une réduction significative des densités anophéliennes a fait suite à l'application de la lutte antilarvaire. Les densités des culicinés ont été également réduites mais la réduction observée n'était pas prononcée comme celle des anophélinés.

Ces travaux présentent une distribution hétérogène des anophèles vecteurs à travers la ville et au fil des périodes de collecte. Cette distribution spatiale et temporelle serait liée aux caractéristiques des quartiers (paysage, environnement), à la disponibilité des gîtes propices, à l'activité anthropique notamment les pratiques agricoles et à l'intensité des précipitations. La distribution hétérogène des moustiques et de la transmission du paludisme pourraient permettre l'élaboration d'une cartographie du risque de transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé.

En plus des réductions observées au niveau des densités en fonction des quartiers et des périodes de collecte, les résultats obtenus font état d'une réduction significative de la transmission et de la prévalence du paludisme par la lutte antilarvaire. Ces réductions observées font de la lutte antilarvaire à base de biolarvicide un outil prometteur pour le contrôle du paludisme et des arboviroses en milieu urbain. Mais il demeure de nombreux défis qui doivent être pris en compte au moment de la mise en œuvre de cette intervention en condition de terrain afin d'atteindre un impact maximal sur les vecteurs et la maladie.

RECOMMANDATIONS

Au terme de ce travail, nous recommandons :

À la communauté scientifique

- d'évaluer la lutte antilarvaire dans différents contextes épidémiologiques du pays afin de réduire la transmission du paludisme sur toute l'étendue du territoire ;
- de multiplier des études mesurant la faisabilité mais également la pérennité de la lutte antilarvaire en associant les communautés locales et en les impliquant dans le processus dès la conception jusqu'à sa mise en œuvre.

Aux populations

- d'aménager leur environnement de manière continue en éliminant tous les gîtes potentiels autour des maisons;
- de cultiver une utilisation correcte des moustiquaires imprégnées pour une bonne efficacité.

Aux pouvoirs publics

- de promouvoir l'utilisation de la lutte antilarvaire en complément aux moustiquaires imprégnées dans les villes ayant un risque de transmission élevé ;
- d'évaluer le coût de la lutte antilarvaire et promouvoir son utilisation à grande échelle face à la montée croissante de la résistance aux vecteurs et au changement de comportement des vecteurs ;

PERSPECTIVES

Dans des études ultérieures, nous planifions d' :

- évaluer l'impact de l'intervention sur les indicateurs épidémiologiques notamment l'incidence palustre ;
- évaluer le coût du déploiement à grande échelle d'un programme de lutte anti-larvaire qui constitue une information importante pour les décideurs.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afrane YA, Zhou G, Lawson BW, Andrew K, Githeko & Guiyun Yan (2006). Effects of microclimatic changes caused by deforestation on the survivorship and reproductive fitness of *Anopheles gambiae* in western Kenya highlands. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 74(5): 772–8.
- Aikawa M, Carter R, Ito Y & Nijhout MM (1984). New Observations on Gametogenesis, Fertilization, and Zygote Transformation in *Plasmodium gallinaceum* 1. *The Journal of protozoology*, 31(3): 403-413.
- Allgower A, Taylor WR, Chappuis F & Eperon G (2016). *Plasmodium vivax*, un parasite qui sort de l'ombre : *Plasmodium vivax*, a parasite coming out of the shadows. *Revue Médicale Suisse*, 12(517).
- Ambroise-Thomas P (2007). La petite et la grande histoire du paludisme. *Bulletin de l'académie nationale de Médecine*, 191(9) : 1849-1858.
- ANOFEL (2014). Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). Paludisme. *UMVF - Université Médicale Virtuelle Francophone*, 1-27.
- ANOFEL (2016). Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). Paludisme. *UMVF - Université Médicale Virtuelle Francophone*. <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/parasitologie/site/html/2.html#21>
- Antonio-Nkondjio C, Atangana J, Ndo C, Awono-Ambene P, Fondjo E, Fontenille D (2008). Malaria transmission and rice cultivation in Lagdo, north-ern Cameroon. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*; 102: 52–359.
- Antonio-Nkondjio C, Awono-Ambene P, Toto JC, Meunier JY, Zebaze-Kemleu S, Nyambam R & Fontenille D (2002). High malaria transmission intensity in a village close to Yaounde, the capital city of Cameroon. *Journal of medical entomology*, 39(2): 350-355.
- Antonio-Nkondjio C, Cyrille N, Flobert N, Jude DB, Parfait AA, Josiane EA, Same E & Charles SW (2019). Review of malaria situation in Cameroon: technical viewpoint on challenges and prospects for disease elimination. *Parasites & Vectors*, 12(1): 1-23.
- Antonio-Nkondjio C, Defo-Talom B, Tagne-Fotso R, Tene-Fossog B, Ndo C, Lehman L (2012). High mosquito burden and malaria transmission in a district of the city of Douala, Cameroon. *BMC Infectious Diseases*, 12: 275.
- Antonio-Nkondjio C, Fossog BT, Ndo C, Djantio BM, Togouet SZ, Awono-Ambene P, Costantini C, Wondji CS & Ranson H (2011): *Anopheles gambiae* distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): influence of urban agriculture and pollution. *Malaria Journal*, 10(1): 154.

- Antonio-Nkondjio C, Kera H, Simard F, Awono-Ambene P, Chouaibou M, Tchuinkam T, Fontenille D (2006). Complexity of malaria vectorial system in Cameroon: contribution of secondary vectors to malaria transmission. *Journal of Medical Entomology*, 43(6): 1215–1221.
- Antonio-Nkondjio C, Ndo C, Costantini C, Awono-Ambene H, Fontenille D, Simard F, (2009). Distribution and larval habitat characterization of *Anopheles nili* and *A. moucheti* along river networks in south Cameroon. *Acta Tropica*, 112: 270–276.
- Antonio-Nkondjio C, Poupardin R, Tene BF, Kopya E, Costantini C, Awono-Ambene P & Wondji S (2016). Investigation of mechanisms of bendiocarb resistance in *Anopheles gambiae* populations from the city of Yaoundé, Cameroon. *Malaria Journal*, 15.
- Antonio-Nkondjio C & Simard F (2013). Highlights on *Anopheles nili* and *Anopheles moucheti*, Malaria Vectors in Africa. In I. T. Manguin S (Ed.), *Anopheles Mosquitoes: New Insights into Malaria Vectors*.
- Antonio-Nkondjio C, Tene Fossog B, Kopya E, Poumachu Y, Menze-Djantio B (2015). Rapid evolution of pyrethroid resistance prevalence in *Anopheles gambiae* populations from the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon). *Malaria Journal*, 14.
- Aubry P & Gauzère B (2018). Tests de diagnostic rapide par immunochromatographie en zones tropicales. *Actualités 2017. Médecine tropicale*, 8.
- Amplification de l'ADN in vitro disponible sur <https://www.gnis-pedagogie.org/sujet/coeur-adn/>
- Awono-Ambene P, Etang J, Antonio-Nkondjio C, Ndo C, Eyisap W, Piameu M, Mandeng S., Mbakop L, Toto J, Patchoke S, Mnzava A, Knox T, Donnelly M, Fondjo E & Bigoga J (2018). The bionomics of the malaria vector *Anopheles rufipes*, 1910 and its susceptibility to deltamethrin insecticide in North Cameroon. *Parasites & Vectors*, 11: 253.
- Ayala D, Carlo C, Ose K, Kamdem G, Antonio-Nkondjio C, Agbor JP (2009). Habitat suitability and ecological niche profile of major malaria vectors in Cameroon. *Malaria Journal*, 8(307): 1-15.
- Balaraman K, Balasubramanian M & Manonmani LM (1983). *Bacillus thuringiensis* H-14 (VCRC B-17) formulation as mosquito larvicide. *Indian Journal of Medical Research*, 77: 33–37.
- Bamou R, Kopya E, Djamouko-Djonkam L, Awono-Ambene P, Tchuinkam T, Njiokou F & Antonio-Nkondjio C (2020). Assessment of the Anophelinae blood seeking bionomic and pyrethroids resistance of local malaria vectors in the forest region of Southern Cameroon. *Journal of entomology and zoology studies*, 8(1): 1054-1062.
- Bamou R, Mbakop LR, Kopya E, Ndo C, Awono-Ambene P, Tchuinkam T & Antonio-Nkondjio C (2018). Changes in malaria vector bionomics and transmission patterns in the

- equatorial forest region of Cameroon between 2000 and 2017. *Parasites & vectors*, 11(1) : 1-13.
- Barbazan P, Baldet T, Darriet F, Escaffre H, Djoda DH & Hougard JM (1997). Control of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) with *Bacillus sphaericus* in Maroua, Cameroon. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 13(3): 263-269.
- Bass C, Nikou D, Blagborough M, Vontas J, Sinden E, Williamson S & Field M (2008). PCR-based detection of *Plasmodium* in *Anopheles* mosquitoes: a comparison of a new high throughput assay with existing methods. *Malaria Journal*, 7: 177.
- Baudon D, Carnevale P, Ambroise-Thomas P & Roux J (1987). La lutte antipaludique en Afrique: de l'éradication du paludisme au contrôle des paludismes. *Revue épidémiologique et santé publique*, 401-415.
- Beier JC, Perkins PV, Koros JK, Onyango FK, Gargan TP, Wirtz RA (1990). Malaria sporozoite detection by dissection and ELISA to assess infectivity of afro tropical *Anopheles* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 27: 377–384.
- Beier MS, Schwartz IK, Beier JC, Perkins PV, Onyango F, Koros JK, Brandling Bennett AD (1988). Identification of malaria species by ELISA in sporozoite and oocyst infected *Anopheles* from western kenya. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 39(4): 323-327.
- Bigoga D, Nanfack F, Awono-Ambene P, Patchoke S, Atangana J, Otia V (2012). Seasonal prevalence of malaria vectors and entomological inoculation rates in the rubber cultivated area of Niete, South Region of Cameroon. *Parasites & vectors*, 5: 197.
- Blanford JI, Blanford S, Crane RG, Mann ME, Paaajmans KP, Schreiber KV & Thomas MB (2013). Implications of temperature variation for malaria parasite development across Africa. *Scientific Reports*, 3: 13001311.
- Boudin C, Diop A, Gaye A, Gadiaga L, Gouagna C, Safeukui I & Bonnet S (2005). *Plasmodium falciparum* transmission blocking immunity in three areas with perennial or seasonal endemicity and different levels of transmission. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 73(6): 1090-1095.
- Bousema T & Drakeley C (2011). Epidemiology and infectivity of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* gametocytes in relation to malaria control and elimination. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(2): 377–410.
- Bousema T, Di nglasan RR, Morlais I, Gouagna LC, van Warmerdam T, Awono-Ambene PH & Churcher TS (2012). Mosquito feeding assays to determine the infectiousness of naturally infected *Plasmodium falciparum* gametocyte carriers. *Plos One*, 7: e 42821.

- Bousema T, Okell L, Felger I, Drakeley C (2014). Asymptomatic malaria infections: detectability, transmissibility and public health relevance. *Nature Reviews Microbiology*, 12(12): 833-840.
- Bradley J, Stone W, Da DF, Morlais I, Dicko A, Cohuet A, Bousema T (2018). Predicting the likelihood and intensity of mosquito infection from sex specific *Plasmodium falciparum* gametocyte density. *eLife*, 7 (e34463).
- Bruce-Chwatt L (1988). History of malaria from prehistory to eradication. *Malaria: Principles and Practice of Malariology*, 1988: 1-59.
- Carnevale P & Mouchet J (2001). Malaria vector control in Cameroon : past, present, future. Reflections. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 94(2 Pt 2): 202-209.
- Carnevale P, Robert V, Manguin S, Corbel V, Fontenille D, Garros C & Rogier C (2009). Les anophèles-Biologie, transmission du *Plasmodium* et lutte antivectorielle. *Marseille:IRD Editions*.
- Carter R, Nijhout MM (1977). Control of gamete formation (exflagellation) in malaria parasites. *Science*, 195: 407-409.
- Castro MC (2017). Malaria Transmission and Prospects for Malaria Eradication: The Role of the Environment. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 7(10): a025601. doi:10.1101/cshperspect.a025601.
- Catherine Dupeyron (2013). Tests de diagnostic rapide en pathologie infectieuse, intérêt en zone tropicale *Institut Alfred Fournier, Paris* Octobre 2013.
- Catteruccia F, Godfray H & Crisanti A (2003). Impact of genetic manipulation on the fitness of *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Science*, 299 (5610): 1225-1227.
- Charles JF & Nielsen-LeRoux C (1996). Les bactéries entomopathogènes : mode d'action sur les larves de moustiques et phénomènes de résistance. *Annales de l'Institut Pasteur*, 7: 233-245.
- Charlwood JD, Pinto J, Sousa CA, Madsen H, Ferreira C (2002). The swarming and mating behaviour of *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae) from São Tomé Island. *Journal of Vector Ecology*, 27(2): 178-183.
- Choi L, Majambere S & Wilson AL (2019). Larviciding to prevent malaria transmission. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Chouaibou M, Etang J, Brevault T, Nwane P, Hinzoumbe C, Mimpfoundi R. Dynamics of insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae* s.l. from an area of extensive cotton cultivation in northern Cameroon. *Tropical Med Int Health*. 2008;13:476-86

- Churcher TS, Bousema T, Walker M, Drakeley C, Schneider P, Ouédraogo AL, Basáñez MG (2013). Predicting mosquito infection from *Plasmodium falciparum* gametocyte density and estimating the reservoir of infection. *eLife*, 2 (e00626).
- Clements AN (1992). Biology of mosquitoes: development nutrition and reproduction. [Biology of Mosquitoes]. *Springer Netherlands*.
- Coetzee M, Fontenille D (2004): Advances in the study of *Anopheles funestus*, a major vector of malaria in Africa. *Insect Molecular Biology*, 34: 599 - 605.
- Cohuet A, Simard F, Toto J, Kengne P, Coetzee M (2003): Species identification within the *Anopheles funestus* group of malaria vectors in Cameroon and evidence for a new species. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 69: 200 - 205.
- Collins WE & Jeffery GM (2007). *Plasmodium malariae*: parasite and disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(4): 579-592. doi:10.1128/CMR.00027-07
- Cook J, Reid H, Iavro J, Kuwahata M, Taleo G, Clements A, Drakeley C (2010). Using serological measures to monitor changes in malaria transmission in Vanuatu. *Malaria Journal*, 9 (169).
- Corran P, Coleman P, Riley E, Drakeley C (2007). Serology: a robust indicator of malaria transmission intensity *Trends in Parasitology*, 23(12): 575-582.
- Coulibaly D, Rebaudet S, Travassos M, Tolo Y, Laurens M, Kone AK, Traore K, Guindo A Diarra I, Niangaly A, Daou M & Doumbo, O. K. (2013). Spatio-temporal analysis of malaria within a transmission season in Bandiagara, Mali. *Malaria journal*, 12(1) : 1-9.
- Coupré B, Claudot Y, Same-Ekobo A, Issoufa H, Léger-Debruyne M, Tribouley J (1985). Epidemiologic study of malaria in the rice-growing regions of Yagoua and Maga (North Cameroon). *Bulletin de la société de pathologie exotique et de ses filiales*, 78(2): 191-204.
- CUY (2020) disponible sur <http://yaounde.cm/wpsite/2020/10/28/quartiers-de-la-ville-de-yaounde/>
- Dadd RH (1975). Alkalinity within the midgut of mosquito larvae with alkaline- active digestive enzymes. *Journal Insect Physiology*, 21: 1847-1853.
- Dambach P, Baernighausen T, Traoré I, Ouedraogo S, Sié A, Sauerborn R & Louis VR (2019). Reduction of malaria vector mosquitoes in a large-scale intervention trial in rural Burkina Faso using Bti based larval source management. *Malaria journal*, 18(1) : 1-9.
- Danis M & Mouchet J (1991). *Paludisme*.

- De Silva PM et Marshall JM (2012). Factors contributing to urban malaria transmission in sub-Saharan Africa : a systématique review. *Journal of tropical medicine*, 2012.
- Denis F (2007). Bactériologie médicale : technique usuelles. Ed : Elsevier Masson. France, 22-26
- Derua YA, Kweka EJ, Kisinza WN, Githeko AK, Mosha FW (2019). Bacterial larvicides used for malaria vector control in sub-Saharan Africa: review of their effectiveness and operational feasibility. *Parasites & vectors*, 12: 1-18.
- Detinova TS, Bertram D & Organization WH (1962). *Age-grouping methods in Diptera of medical importance, with special reference to some vectors of malaria*: World Health Organization.
- Diabate A, Dabiré RK, Kengne P, Brengues C, Baldet T, Ouari A, Lehmann T (2006). Mixed swarms of the molecular M and S forms of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in sympatric area from Burkina Faso. *Population and Community Ecology*, 480-483.
- Djamouko-Djonkam L, Mouchili-Ndam S, Kala-Chouakeu N, Nana-Ndjangwo SM, Kopya E, Sonhafouo-Chiana N, Talipouo A, Ngadjeu CS, Doumbe-Belisse P, Bamou R, Toto JC, Tchuinkam T, Wondji SC, Antonio-Nkondjio C (2019). Spatial distribution of *Anopheles gambiae* sensu lato larvae in the urban environment of Yaoundé, Cameroon. *Infectious Diseases of Poverty*, 8(1): 84. doi:10.1186/s40249-019-0597-6.
- Djamouko-Djonkam L, Nkahe DL, Kopya E, Talipouo A, Ngadjeu CS, Doumbe-Belisse P, Antonio-Nkondjio C (2020). Implication of *Anopheles funestus* in malaria transmission in the city of Yaoundé, Cameroon. [Implication d'*Anopheles funestus* dans la transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé au Cameroun]. *Parasite (Paris, France)*, 27: 10-10. doi:10.1051/parasite/2020005.
- Domfang J (2006). Etude de la transmission du paludisme dans la ville de Tibati (Adamaoua Cameroun). Yaoundé: Rapport OCEAC.
- Donnelly MJ, McCall P, Lengeler C, Bates I, D'Alessandro U, Barnish G, Trape JF (2005). Malaria and urbanization in sub-Saharan Africa. *Malaria Journal*, 4(1): 1-5.
- Drakeley C & Cook J (2009). Potential contribution of sero-epidemiological analysis for monitoring malaria control and elimination: historical and current perspectives. *Advances in Parasitology*, 69: 299-352.
- Eder M, Cortes F, de Siqueira Filha NT, de França GVA, Degroote S, Braga C, Ridde V, Turchi Martelli C (2018). Scoping review on vector-borne diseases in urban areas: transmission dynamics, vectorial capacity and co-infection. *Infectious diseases of poverty*, 7: 1-24.

- Fillinger U, Ndenga B, Githeko A & Lindsay SW (2009). Integrated malaria vector control with microbial larvicides and insecticide-treated nets in western Kenya: a controlled trial. *Bulletin of the World Health Organization*, 87 : 655-665.
- Fondjo E, Robert V, Le Goff G, Toto J, Carnevale P (1992). Urban malaria transmission in Yaounde (Cameroon). 2. Entomologic study in 2 semi urban districts. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 85(1): 57–63.
- Fontenille D, Cohuet A, Awono-Ambene PH, Antonio-Nkondjio C, Wondji C, Kengne P, Dia I, Boccolini D, Duchemin JB, Rajaonarivelo V, Dabire R, Adja-Akre M, Ceainu C, Le Goff G and Simard F (2003). Systématique et biologie des anophèles vecteurs de *plasmodium* en Afrique, données récentes. *Médecine Tropicale*, 63(3): 247-253.
- Fontenille D, Lagnea C, Lecollinet S, Lefait Robin R, Setbon M, Tirel B, Yébakima A (2013). Quelle est la contribution de l'évaluation des risques vectoriels à l'évaluation du risque épidémique? *La lutte antivectorielle en France Marseille:IRD Éditions*, 501-564.
- Fontenille D & Simard F (2004). Unravelling complexities in human malaria transmission dynamics in Africa through a comprehensive knowledge of vector populations. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 27(5): 357-375.
- Fournet F, Cussac M, Ouari A, Meyer PE, Toé H, Gouagna LC & Dabiré RK (2010). Diversity in anopheline larval habitats and adult composition during the dry and wet seasons in Ouagadougou (Burkina Faso). *Malaria Journal*, 9(1): 78.
- Gao HW, Wang LP, Liang S, Liu YX, Tong SL, Wang JJ, Li YP, Wang XF, Yang H, Ma JQ, Fang LQ & Cao WC (2012). Change in rainfall drives malaria re-emergence in Anhui Province, China. *PLoS One*, 7(8): 43686.
- Garrett-Jones C (1964). The human blood index of malaria vectors in relation to epidemiological assessment. *Bulletin of the World Health Organization*, 30(2): 241-261.
- Gbotosho GO, Sowunmi A, Happi CT & Okuboyejo TM (2011). Plasmodium falciparum gametocyte carriage, sex ratios and asexual parasite rates in Nigerian children before and after a treatment protocol policy change instituting the use of artemisinin-based combination therapies. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106: 685-690.
- Geissbuhler Y, Kannady K, Chaki PP, Emidi B, Govella NJ, Mayagaya V, Kiama M, Mtasiwa D, Mshinda H, Lindsay SW, Tanner M, Fillinger U, De Castro MC & Killeen GF (2009). Microbial larvicide application by a large-scale, community-based program reduces malaria infection prevalence in urban Dar es Salaam, Tanzania. *PLoS One*, 4 (3): e5107.
- Gething PW, Van Boeckel TP, Smith DL, Guerra CA, Patil AP, Snow RW & Hay SI (2011) Modelling the global constraints of temperature on transmission of Plasmodium falciparum and P. vivax. *Parasites & Vectors*, 4(1): 1-11.

- Gilles HM, Lucas AO, 1998. Tropical medicine: 100 years of progress. *British Medical Bulletin*, 54: 269-280
- Gillies M & 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*, 55.
- Gillies M & De Meillon B (1968). The Anophelinae of Africa South of the Sahara. *South Africa Institute of Medical Research*, 343.
- Gleave K, Lissenden N, Chaplin M, Choi L, Ranson H (2021). Piperonyl butoxide (PBO) combined with pyrethroids in insecticide-treated nets to prevent malaria in Africa. *Cochrane Database of Systematic Reviews, Issue 5*. Art. No.: CD012776.
- Gubler DJ, Reiter P, Ebi KL, Yap W, Nasci R and Patz JA (2001). Climate variability and change in the United States: potential impacts on vector and rodent borne diseases. *Environmental Health Perspectives*, 109: 223–233.
- Guengant JP & May JF(2013). African demography. *Global Journal of Emerging Market Economies*, 5: 215-267.
- Harbach R (2004). The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bulletin of Entomological Research*, 94(6): 537-553.
- Harbach RE (1994). Review of the internal classification of the genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): the foundation for comparative systematics and phylogenetic research. *Bulletin of Entomological Research*, 84(3): 331-342.
- Harbach RE (2011). Genus *Anopheles* Meigen, 1818. *Mosquito Taxonomic Inventory. Book Genus ANOPHELES Meigen, 1818 Mosquito Taxonomic Inventory City*.
- Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, Atkinson PM & Snow RW (2005). Urbanization, malaria transmission and disease burden in Africa. *Nature Reviews Microbiology*, 3(1): 81-90.
- Hemingway J, Hawkes NJ, McCarroll L & Ranson H (2004). The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect biochemistry and molecular biology*, 34(7) : 653-665.
- Hervy JF, Goff G, Geoffroy B, Herve JP, Manga L, Brunhes J (1998). Les Anophèles de la région afrotropicale : logiciel d'identification et d'enseignement, CD-ROM. Paris : ORSTOM.
- Hien AS, Sangaré I, Coulibaly S, Namountougou M, Paré-Toé L, Ouédraogo AG & Dabiré RK (2017). Parasitological indices of malaria transmission in children under fifteen years in two ecoepidemiological zones in southwestern burkina faso. *Journal of tropical medicine*.

- Hougard JM, Mbentengam R, Lochouarn L, Escaffre H, Darriet F, Barbazan P & Quillévéré D (1993). Lutte contre *Culex quinquefasciatus* par *Bacillus sphaericus*: résultats d'une campagne pilote dans une grande agglomération urbaine d'Afrique équatoriale. *Bulletin of the World Health Organization*, 71(3-4): 367.
- Howes RE, Battle KE, Mendis KN, Smith DL, Cibulskis RE, Baird JK & Hay SI (2016). Global Epidemiology of *Plasmodium vivax*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 95:15-34. doi:10.4269/ajtmh.16-0141.
- Eidatlantique disponible sur <https://www.eidatlantique.eu/page.php?P=144>
- Institut National de la Statistique (INS) & ICF (2020). Enquête Démographique et de Santé du Cameroun . Yaoundé, Cameroun et Rockville, Maryland, USA : INS et ICF.
- Ishengoma DS, Francis F, Mmbando BP, Lusingu JP, Magistrado P, Alifrangis M & Lemnge MM (2011). Accuracy of malaria rapid diagnostic tests in community studies and their impact on treatment of malaria in an area with declining malaria burden in north-eastern Tanzania. *Malaria Journal*, 10(1) : 1-13.
- Kahindi SC, Muriu S, Derua YA, Wang X, Zhou G, Lee MC & Yan G (2018). Efficacy and persistence of long-lasting microbial larvicides against malaria vectors in western Kenya highlands. *Parasites & vectors*, 11(1), 1-10.
- Kamdem C, Tene Fossog B, Simard F, Etouna J, Ndo C, Kengne P, Boussès P, François-Xavier E, Awono-Ambene P, Fontenille D, Antonio-Nkondjio C, Nora Besansky J, Costantini C (2012). Anthropogenic habitat disturbance and ecological divergence between incipient species of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *PLoS One*, 7(6): e39453.
- Keiser J, Utzinger J, De Castro MC, Smith TA, Tanner M & Singer BH (2004). Urbanization in sub-saharan Africa and implication for malaria control. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 71 (2): 118-127.
- Kenea O, Balkew M, Tekie H, Gebre-Michael T, Deressa W, Loha E & Overgaard HJ (2017). Comparison of two adult mosquito sampling methods with human landing catches in south-central Ethiopia. *Malaria journal*, 16(1), 1-15.
- Kent RJ & Norris DE (2005). Identification of mammalian blood meals in mosquitoes by a multiplexed polymerase chain reaction targeting cytochrome b. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(2): 336–342.
- Kerah-Hinzoumbé C, Péka M, Antonio-Nkondjio C, Donan-Gouni I, Awono-Ambene P, Samè-Ekobo, A & Simard F (2009). Malaria vectors and transmission dynamics in Goulmoun, a rural city in south-western Chad. *BMC infectious diseases*, 9(1): 1-11.
- Kerkhof K, Canier L, Kim S, Heng S, Sochantha T, Sovannaroth S & Durnez L (2015). Implementation and application of a multiplex assay to detect malaria-specific antibodies:

a promising tool for assessing malaria transmission in Southeast Asian preelimination areas. *Malaria Journal*, 14(1): 1-14.

- Killeen GF, McKenzie FE, Foy BD, Schieffelin C, Billingsley PF & Beier JC (2000). A simplified model for predicting malaria entomologic inoculation rates based on entomologic and parasitologic parameters relevant to control. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 62(5): 535-544.
- Klinkenberg E, McCall P, Wilson MD, Amerasinghe FP, & Donnelly MJ (2008): Impact of urban agriculture on malaria vectors in Accra, Ghana. *Malaria Journal* 7: 151.
- Knight K & Stone A (1977). *A catalog of the Mosquitoes of the World (Diptera : Culicidae)*. Washington.
- Koekemoer L, Kamau L, Hunt R, Coetzee M (2002): A cocktail polymerase chain reaction assay to identify members of the *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) group. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 66: 804 – 811.
- Koenraadt CJM, Githeko AK and Takken W (2004). The effects of rainfall and evapotranspiration on the temporal dynamics of *Anopheles gambiaes. s.* and *Anopheles arabiensis* in a Kenyan village. *Acta Tropica*, 90(2): 141–153.
- Kwenti TE, Kwenti TDB, Njunda LA, Latz A, Tufon KA & Nkuo-Akenji T (2017). Identification of the Plasmodium species in clinical samples from children residing in five epidemiological strata of malaria in Cameroon. *Tropical medicine and health*, 45(1) : 1-8.
- Kwiatkowski DP (2005). How malaria has affected the human genome and what human genetics can teach us about malaria. *American Journal of Human Genetics*, 77(2): 171–192.
- Kyalo, D., Amratia, P., Mundia, C. W., Mbogo, C. M., Coetzee, M., & Snow, R. W. (2017). A geo-coded inventory of anophelines in the Afrotropical Region south of the Sahara: 1898-2016. *Wellcome open research*, 2.
- Labbo R, Fandeur T, Jeanne I, Czeher C, Williams E, Arzika I, Soumana A, Lazoumar R, & Duchemin J (2016). Ecology of urban malaria vectors in Niamey, Republic of Niger. *Malaria Journal*, 15.
- Leach A, Vekemans J, Lievens M, Ofori-Anyinam O, Cahill C, Owusu-Agyei S, Abdulla S, Macete E, Njuguna P, Savarese B, Loucq C, Ripley BW (2011). Design of a phase III multicentre trial to evaluate the efficacy of the RTS, S/AS01 malaria vaccine in children

- across diverse transmission settings in Africa. *Malaria Journal*, 10 (224): 1-12. doi:10.1186/1475-2875-10-224.
- Lee KS, Cox-Singh J, Brooke G, Matusop A & Singh B (2009). *Plasmodium knowlesi* from archival blood films: further evidence that human infections are widely distributed and not newly emergent in Malaysian Borneo. *International journal for parasitology*, 39: 1125-1128.
- Letouzey R. 1985. Notice de la carte phytogéographique du Cameroun au 1/500 000. Institut de la carte internationale de la végétation. *Fascicule* ; 79 : 3-4.
- Livak KJ (1984). Organization and mapping of a sequence on the *Drosophila melanogaster* X and Y chromosomes that is transcribed during spermatogenesis. *Genetics*, 107 : 611–634.
- Lucchi NW, Poorak M, Oberstaller J, DeBarry J, Srinivasamoorthy G, Goldman I & Udhayakumar (2012). A new single-step PCR assay for the detection of the zoonotic malaria parasite *Plasmodium knowlesi*. *PloS ONE*, 7(2) : e31848.
- Lyimo EO & Koella JC (1992). Relationship between body size of adult *Anopheles gambiae* sl and infection with the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Parasitology*, 104(2): 233-237.
- Magurran AE & McGill BJ (2011). Biological biodiversity: frontiers in measurement and assessment. *Oxford University Press Inc*, New York, United States. ISBN 978-0-19958067-5, 359p.
- Maheu-Giroux M & Castro MC (2014). Cost-effectiveness of larviciding for urban malaria control in Tanzania. *Malaria journal*, 13(1), 1-12.
- Majambere S, Pinder M, Fillinger U, Ameh D, Conway DJ, Green C, Jeffries D, Jawara M, Milligan PJ, Hutchinson R & Lindsay SW (2010). Is mosquito larval source management appropriate for reducing malaria in areas of extensive flooding in The Gambia? A cross-over intervention trial. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(2): 176-184.
- Malaria Vaccine Initiative (2016). Fact sheet : RTS,S malaria vaccine candidate.
- Manga L, Robert V, Messi J, Desfontaine M & Carnevale P (1992). Le paludisme urbain à Yaoundé, Cameroun : 1. Etude entomologique dans deux quartiers centraux. *Mémoires de la Société Royale d'Entomologie de Belgique*, 35: 155-162.
- Manoukis NC, Diabate A, Abdoulaye A, Diallo M, Dao A, Yaro AS, Lehmann T (2009). Structure and dynamics of male swarms of *Anopheles gambiae*. *Journal of medical entomology*, 46(2): 227-235.
- Massoda Tonye SG, Kouambeng C, Wounang R, Vounatsou P (2018). Challenges of DHS and MIS to capture the entire pattern of malaria parasite risk and intervention effects in

- countries with different ecological zones: the case of Cameroon. *Malaria Journal*, 17: 156.
- Mattah PA, Futagbi G, Amekudzi LK, Mattah MM, de Souza DK, Kartey-Attipoe WD, Bimi L, Wilson MD (2017). Diversity in breeding sites and distribution of Anopheles mosquitoes in selected urban areas of southern Ghana. *Parasite Vectors*, 10(1): 25.
- Matthys B, Vounatsou P, Raso G, Tschannen AB, Becket EG, Gosoni L, Cisse G, Tanner M, N’Goran EK & Utzinger J (2006). Urban farming and malaria risk factors in a medium-sized town in Cote d’Ivoire. *American Journal of tropical medicine and hygiene*, 75: 1223-1231.
- Mayr E (1942). *Systematics and the origin of species, from the viewpoint of a zoologist*: Harvard University Press.
- Mendes AM, Awono-Ambene PH, Nsango SE, Cohuet A, Fontenille D, Kafatos FC & Vlachou D (2011). Infection intensity-dependent responses of Anopheles gambiae to the African malaria parasite Plasmodium falciparum. *Infection and immunity*, 79(11): 4708-4715.
- Minsanté (2013). Guide de prise en charge du paludisme au cameroun à l’usage du personnel de santé.
- Minsante (2018). XI^{ème} Journée mondiale de lutte contre le paludisme “prêt à vaincre le paludisme” Nous sommes la génération qui peut éliminer le paludisme. Dossier de Presse. *Minsante bulletin de presse*, 1–20.
- Minsanté (2019). Prévention du paludisme saisonnier chez les enfants de 03 à 59 mois <https://www.minsante.cm/site/?q=fr/content/4%C3%A8me-campagne-de-chimiopr%C3%A9vention-du-paludisme-saisonnier-cps-chez-les-enfants-de-03-%C3%A0-59> .
- Molineaux L (1988). The Epidemiology of Human Malaria as an Explanation of Its Distribution, Including Some Implications for Its Control. *Malaria, Principles and Practice of Malariology*, Churchill Livingstone, New York, 913-998.
- Moncunill G, Mayor A, Bardají A, Puyol L, Nhabomba A, Barrios D, Dobaño C (2013). Cytokine profiling in immigrants with clinical malaria after extended periods of interrupted exposure to *Plasmodium falciparum*. *PLoS ONE*, 8(8). doi:10.1371/journal.pone.0073360
- Mordecai EA, Paaijmans KP, Johnson LR, Balzer C, Ben-Horin T, de Moor E, McNally A, Pawar S, Ryan S & Lafferty KD (2013). Optimal temperature for malaria transmission is dramatically lower than previously predicted. *Ecology letters*, 16(1) : 22-30.
- 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 Paris*.

- Mourou JR, Coffinet T, Jarjaval F, Cotteaux C, Pradines E, Godefroy L & Pagès F (2012). Malaria transmission in Libreville: results of a one year survey. *Malaria Journal*, 11(1): 40.
- Moyes CL, Athinya DK, Seethaler T, Battle KE, Sinka M, Hadi MP, Hemingway J, Coleman M, & Hancock PA (2020). Evaluating insecticide resistance across African districts to aid malaria control decisions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117 (36): 22042–22050.
- Mulla MS (1990). Activity, Field Efficacy, and Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against Mosquitoes. *Bacterial Control of Mosquitoes & Black Flies*. Springer, Dordrecht.
- Ndo C, Kopya E, Donbou MA, Njiokou F, Awono-Ambene P, Wondji C (2018). Elevated *Plasmodium* infection rates and high pyrethroid resistance in major malaria vectors in a forested area of Cameroon highlight challenges of malaria control. *Parasites & vectors*, 11: 157.
- Ndo C, Kopya E, Menze-Djantio B, Toto JC, Awono-Ambene P, Lycett G (2016). High susceptibility of wild *Anopheles funestus* to infection with natural *Plasmodium falciparum* gametocytes using membrane feeding assays. *Parasite & Vectors*, 9: 341
- Neiderud CJ (2015). How urbanization affects the epidemiology of emerging infectious diseases. *Infection ecology & epidemiology* 5: 27060.
- Ngadjeu CS, Doumbe-Belisse P, Talipouo A, Djamouko-Djonkam1 L, Awono-Ambene P, Kekeunou S, Toussile W, Wondji CS & Antonio-Nkondjio C (2020). Influence of house characteristics on mosquito distribution and malaria transmission in the city of Yaoundé, Cameroon. *Malaria Journal*, 9: 53.
- Nimpaye H, Van Der Kolk M, Fontenille D & Boudin C (2001). Le paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun) en 2000 : étude entomologique dans le quartier central » Dakar ». *Bulletin de Liaison et de Documentation-OCEAC*, 34 (2): 11–14.
- Ntonga Akono P, Tonga C, Mbida Mbida J, Ngo Hondt O, Awono- Ambene H, Ndo C (2015). *Anopheles gambiae*, vecteur majeur du paludisme à Logbessou, zone péri-urbaine de Douala (Cameroun). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 108: 360–368.
- Nwane P, Etang J, Chouaibou M, Toto JC, Keraf-Hinzoumbé C, Mimpfoundi R & Simard F (2009). Trends in DDT and pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* ss populations from urban and agro-industrial settings in southern Cameroon. *BMC infectious diseases*, 9(1) : 1-10.
- Okell LC, Bousema T, Griffin JT, Ouédraogo AL, Ghani AC & Drakeley CJ (2012). Factors determining the occurrence of sub microscopic malaria infections and their relevance for control. *Nature Communications*, 3(1). doi:10.1038/ncomms2241

- OMS (2014a). Guide du stagiaire Techniques de base pour le diagnostic microscopique du paludisme: Partie I, Guide du stagiaire ; Partie II, Guide de l'instructeur. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2014.
- OMS (2014b). *Module de formation à la lutte contre le paludisme : Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle. Guide du participant*. Geneva: World Health Organization. ISBN 978 92 4 250 581 8.
- Paaijmans KP, Wandago MO, Githeko AK, Takken W (2007). Unexpected high losses of *Anopheles gambiae* larvae due to rainfall. *PLoS ONE*, 2 : e1146.
- Padley D, Moody AH, Chiodini PL, Saldanha J (2003). Use of a rapid, single-round, multiplex PCR to detect malarial parasites and identify the species present. *Annual Tropical Medicine Parasitology*, 97: 131–7.
- Pages F, Orlandi-Pradines E, Corbel V (2007). Vecteurs du paludisme : biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *Médecine et maladies infectieuses*, 37: 153-161.
- Paul RE, Coulson TN, Raibaud A & Brey PT (2000). Sex determination in malaria parasites. *Science*, 287(5450): 128-131.
- Perraut R, Varela ML, Loucoubar C, Niass O, Sidibé A, Tall A & Mercereau Puijalon O (2017). Serological signatures of declining exposure following intensification of integrated malaria control in two rural Senegalese communities. *Plos One*, 12(6). doi:10.1371/journal.pone .0 179 146.
- Plowe CV, Wellems TE (1995). Molecular Approaches to the Spreading Problem of Drug Resistant Malaria. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 390: 197-209.
- PMI (2020).U.S. President’s Malaria Initiative Cameroon Malaria Operational Plan FY.
- PNLP. Plan Strategique nationale de lutte contre le paludisme 2011–2015. Rapport Minsante Cameroun; 2012. p. 1–82.
- Protopopoff N, Van Bortel W, Speybroeck N, Van Geertruyden JP, Baza D, D'Alessandro, U & Coosemans M (2009). Ranking malaria risk factors to guide malaria control efforts in African highlands. *PloS one*, 4(11) : e8022.
- PopulationData.net, 17 mars 2020 disponible sur <http://www.populationdata.net/?option=pays&pid=38&nom=cameroun>
- Pothin E, Ferguson NM, Drakeley CJ & Ghani A C (2016). Estimating malaria transmission intensity from *Plasmodium falciparum* serological data using antibody density models. *Malaria Journal*, 15(79). doi:10.1186/s12936-016-1121-0.
- Principe Elisa Sandwich disponible sur <http://s.briquet.free.fr/spip.php?article37>
- Quakyi IA, Leke RG, Befidi-Mengue R, Tsafack M, Bomba-Nkolo D, Manga L & Taylor DW (2000). The epidemiology of *Plasmodium falciparum* malaria in two Cameroonian villages: Simbock and Etoa. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 63(5-6): 222-230.

- Ranson H & Lissenden N (2016). Insecticide Resistance in African Anopheles Mosquitoes: A Worsening Situation that Needs Urgent Action to Maintain Malaria Control. *Trends in parasitology*, 32(3): 187-196. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.11.010>
- Reddy, MR, Overgaard HJ, Abaga S, Reddy VP, Caccone A, Kiszewski AE & Slotman MA (2011). Outdoor host seeking behaviour of *Anopheles gambiae* mosquitoes following initiation of malaria vector control on Bioko Island, Equatorial Guinea. *Malaria journal*, 10(1): 1.
- Reece SE, Drew DR & Gardner A (2008). Sex ratio adjustment and kin discrimination in malaria parasites. *Nature*, 453(7195), 609-614.
- Reid JA & Knight KL (1961). Classification within the subgenus *Anopheles* (Diptera, Culicidae). *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 55(4): 474-488.
- Reisen WK (1989). Estimation of vectorial capacity : introduction. *Bulletin of society for Vector Ecology*, 14 : 39-40.
- Robert V (2001). *Les vecteurs*. <http://asmt.louis.free.fr/anopheles.html#ano-hom>.
- Robert V, Broek A, Stevens P, Sloomweg R, Petrarca V, Coluzzi M (1992). Mosquitoes and malaria transmission in irrigated rice-fields in the Benoue Valley of northern Cameroon. *Acta Tropica Journal*, 52: 201–204.
- Robert V, Macintyre K, Keating J, Trape JF, Duchemin JB, Warren M & Beier JC (2003). Malaria transmission in urban sub-Saharan Africa. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 68(2) : 169-176.
- Rodhain F & Perez C (1985). *Precis d'entomologie medicale et veterinaire; notions d'epidemiologie des maladies à vecteurs*.
- RTS, S Clinical Trials Partnership (2015). Efficacy and safety of RTS, S/AS01 malaria vaccine with or without a booster dose in infants and children in Africa: final results of a phase 3, individually randomised, controlled trial. *Lancet*, 386 (9988): 31-45. doi:10.1016/S0140-6736 (15)60721-8.
- Russo G, Faggioni G, Paganotti GM, Dongho GBD, Pomponi A, De Santis R & Lista FR (2017). Molecular evidence of *Plasmodium vivax* infection in Duffy negative symptomatic individuals from Dschang, West Cameroon. *Malaria journal*, 16(1) :1-9.
- Same Ekobo A, Fondjo E, Eouzan JP (2001). *Grands travaux et maladies à vecteurs au Cameroun Impact des aménagements ruraux et urbains sur le paludisme et autres maladies à vecteurs. Paris: IRD Editions, Collection expertise collégiale*.
- Sandeu MM, Bayibéki AN, Tchioffo MT, Abate L, Gimonneau G, Awono-Ambéné PH & Morlais I (2017). Do the venous blood samples replicate malaria parasite densities found in capillary blood? A field study performed in naturally-infected asymptomatic children in Cameroon. *Malaria journal*, 16(1) : 1-9.

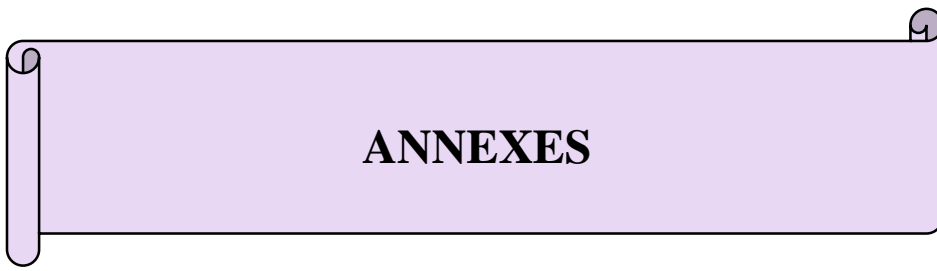
- Santolamazza F, Mancini E, Simard F (2008). Insertion polymorphisms of SI retrotransposons within speciation islands of *Anopheles gambiae* molecular forms. *Malaria Journal* 7: 163.
- Sauboin CJ, Van Bellinghen LA, Van De Velde N & Van Vlaenderen I (2015). Potential public health impact of RTS, S malaria candidate vaccine in sub-Saharan Africa: a modelling study. *Malaria Journal*, 14(1): 1-17. doi:10.1186/s12936-015-1046-z.
- Schneider P, Bousema JT, Gouagna LC, Otieno S, Van De Vegte-Bolmer M, Omar SA & Sauerwein, RW (2007). Submicroscopic *Plasmodium falciparum* gametocyte densities frequently result in mosquito infection. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 76(3): 470-474.
- Sellami S, Tounsis & Jamoussi K (2015). *Bacillus thuringiensis*: un biopesticide environnemental (Synthèse Bibliographique). *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, 7: 25-42.
- Serafini S, Regard S, Mahoude Bakari I, Massenet D (2011). Presumptive clinical diagnosis of malaria in children in a hospital in the north region (Cameroon). *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 104: 271–373.
- Shousha AT (1948). Species-eradication: The Eradication of *Anopheles gambiae* from Upper Egypt, 1942-1945. *Bulletin of the World Health Organization*, 1: 309.
- Sidhu ABS, Verdier-Pinard D & Fidock DA (2002). Chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* malaria parasites conferred by *pfcr* mutations. *Science*, 298 (5591): 210-213. doi:10.1126/science.1074045.
- Simard F, Ayala D, Kamdem G, Pombi M, Etouna J, Ose K (2009). Ecological niche partitioning between *Anopheles gambiae* molecular forms in Cameroon: the ecological side of speciation. *BioMed Central Ecology*, 9:17.
- Sinden RE & Hartley RH (1985). Identification of the meiotic division of malarial parasites. *The Journal of Protozoology*, 32(4): 742-744. doi:10.1111/j.1550-7408.1985.tb03113.x.
- Sinka M, Bangs M, Manguin S, Rubio-Palis Y, Chareonviriyaphap T, Coetzee M & Hay S (2012). A global map of dominant malaria vectors. *Parasites & Vectors*, 5: 69.
- Sissoko M S, Sissoko K, Kamate B, Samake Y, Goita S, Dabo A, Yena M, Dessay N, Piarroux R & Gaudart, J. (2017). Temporal dynamic of malaria in a suburban area along the Niger River. *Malaria journal*, 16(1) : 1-10.
- Snounou G & Singh B (2002). Nested PCR analysis of *Plasmodium* parasites. *Malaria methods and protocols*. Springer.
- Snounou G, Viriyakosol S, Xin Ping Zhu, Jarra W, Pinheiro L, do Rosario VE & Brown KN (1993). High sensitivity of detection of human malaria parasites by the

- use of nested polymerase chain reaction. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 61(2): 315-320. doi:10.1016/0166-6851(93)90077-B.
- Steketee WR, Nahlem LB, Parise EM, Menendez C (2005). The burden of malaria in pregnancy in malaria-endemic areas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 64: 28-35.
- Su X & Miller LH (2015). The discovery of artemisinin and Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Science China. Life sciences*, 58(11): 1175-1179. doi:10.1007/s11427-015-4948-7.
- Suchel J (1987). Les climats du Cameroun. 1186p
- Tabachnick WJ (2003). Reflections on the *Anopheles gambiae* genome sequence, transgenic mosquitoes and the prospect for controlling malaria and other vector borne diseases. *Journal of Medical Entomology*, 40: 597-606.
- Tabue R, Nem T, Atangana J, Bigoga J, Patchoke S, Tchouine F, Barrière Y Fodjo, Rose GF Leke & Fondjo E (2014). *Anopheles ziemanni* a locally important malaria vector in Ndop health district, north west region of Cameroon. *Parasites and Vectors*, 7: 262.
- Tabue RN, Awono-Ambene P, Etang J, Atangana JC, Toto JC & Bigoga JD (2017). Role of *Anopheles (Cellia) rufipes* (Gough, 1910) and other local anophelines in human malaria transmission in the northern savannah of Cameroon: a cross-sectional survey. *Parasites & Vectors*, 10(1): 22-22. doi:10.1186/s13071-016-1933-3
- Talipouo A, Ngadjeu CS, Doumbe-Belisse P, Djamouko-Djonkam L, Sonhafouo-Chiana N, Kopya E, Bamou R, Awono-Ambene P, Woromogo S, Kekeunou S, Wondji CS & Antonio-Nkondjio C (2019). Malaria prevention in the city of Yaoundé: knowledge and practices of urban dwellers. *Malaria Journal*, 18: 167.
- Taylor SM, Juliano JJ, Trottman PA, Griffin JB, Landis SH (2010). High throughput pooling and real-time PCR-based strategy for malaria detection. *Journal Clinical Microbiology* 48: 512.
- Tchuinkam T, Simard F, Lélé-Defo E, Téné-Fossog B, Tateng-Ngouateu A, Antonio-Nkondjio C & Awono-Ambéné HP (2010). Bionomics of Anopheline species and malaria transmission dynamics along an altitudinal transect in Western Cameroon. *BMC infectious diseases*, 10(1): 119. doi:10.1186/1471-2334-10-119.
- Tene Fossog B, Ayala D, Acevedo P, Kengne P, Ngomo Abeso Mebuy I, Makanga B, Magnus J, Awono-Ambene P, Njiokou F, Pombi M, Antonio-Nkondjio C, Paupy C, Besansky NJ & Costantini C (2015). Habitat segregation and ecological character displacement in cryptic African malaria mosquitoes. *Evolutionary Applications* 8(4) : 326–345.
- Tene Fossog B, Kopya E, Ndo C, Menze-Djantio B, Costantini C, Njiokou F, Awono-Ambene P, Antonio-Nkondjio C (2012). Water Quality and *Anopheles gambiae* Larval Tolerance to Pyrethroids in the Cities of Douala and Yaoundé (Cameroon). *Journal Tropical Medecine*, 429817.

- Tene-Fossog B, Poupardin R, Costantini C, Awono-Ambene P, Wondji CS, Ranson H, & Antonio-Nkondjio C (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.
- Tetreau G. Devenir du bioinsecticide Bti dans l'environnement et impact sur le développement de résistances chez le moustique (2012). *Biodiversité*, Université de Grenoble, fftel00813611v1.
- Tusting LS, Thwing J, Sinclair D, Fillinger U, Gimnig J & Bonner KE (2013). Mosquito larval source management for controlling malaria. *Cochrane Database Systematic Review*, 8: CD008923.
- Utzinger J, Tozan Y, Singer BH (2001) Efficacy and cost-effectiveness of environmental management for malaria control. *Tropical Medicine and International Health*, 6(9): 677-687.
- Van der Kolk M, Tebo AE, Nimpaye H, Ndongbol DN, Sauerwein RW & Eling WM (2003). Transmission of *Plasmodium falciparum* in urban Yaoundé, Cameroon, is seasonal and age-dependent. *Transactions of the Royal Society of tropical Medicine and Hygiene*, 97(4): 375-379.
- Wampfler R, Mwingira F, Javati S, Robinson L, Betuela I, Siba P & Felger I (2013). Strategies for Detection of *Plasmodium* species Gametocytes. *Plos One*, 8(9). doi:10.1371/journal.pone.0076316.
- Wang SJ, Lengeler C, Smith TA, Vounatsou P, Akogbeto M & Tanner M (2006). Rapid urban malaria appraisal (RUMA) IV: Epidemiology of urban malaria in Cotonou (Benin). *Malaria Journal*, 5(1): 45.
- Wellems TE & Plowe CV (2001). Chloroquine-resistant malaria. *The Journal of Infectious Diseases*, 184: 770-776.
- West Nile (2012). Vaincre le paludisme : les systèmes vectoriels. *Institut de Recherche pour le Développement (SUDS), Les dossiers thématiques de l'IRD*, 3 : 25.
- Wethe J, Radoux M & Tanawa E (2003). Assainissement des eaux usées et risques socio-sanitaires et environnementaux en zones d'habitat planifié de Yaoundé (Cameroun). *VertigO-la revue électronique en sciences de l'environnement*, 4 (1)
- White MT, Griffin JT, Akpogheneta O, Conway DJ, Koram KA, Riley EM & Ghani AC (2014). Dynamics of the antibody response to *Plasmodium falciparum* infection in african children. *The Journal of Infectious Diseases*, 210(7): 1115-1122. doi:10.1093/infdis/jiu219.
- WHO (2006). Lutte antivectorielle contre le paludisme et protection personnelle. Série de rapports techniques de l'organisation mondiale de la santé, n°936, Genève, Suisse.62 pp.

- WHO (2013a). Larval source management – a supplementary measure for malaria vector control. An operational manual. Geneva: World Health Organization.
- WHO (2013b). Recommendations for achieving universal coverage with long-lasting insecticidal nets in malaria control. Geneva: World Health Organization. *WHO/HTM/GMP/2016*, 2-32p.
- WHO (2015). *Guidelines for the treatment of malaria. Third Edition*. Geneva: World Health Organization. ISBN 978 92 4 154912 7.
- WHO (2016). World malaria report Summary. Geneva: World Health Organization.
- WHO (2018a). First malaria vaccine in Africa: A potential new tool for child health and improved malaria control.
<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272456/WHO-CDS-GMP-2018.05-eng.pdf?ua=1>
- WHO (2018b). *WHO / Overview of malaria treatment*.
<http://www.who.int/malaria/areas/treatment/overview/en/>
- WHO (2019). World malaria report . Geneva: World Health Organization.
- WHO (2020). World malaria report Geneva: World Health Organization.
- Williams J & Pinto J (2012). *Manuel de formation à l'entomologie du paludisme. A l'intention des techniciens en entomologie et lutte anti-vectorielle (Niveau de base)*. RTI International. 2.
- Wilson ML, Krogstad DJ, Arinaitwe E, Arevalo-Herrera M, Chery L, Ferreira MU & Eapen A. (2015). Urban malaria: understanding its epidemiology, ecology, and transmission across seven diverse ICEMR network sites. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 93: 110-123.
- Wirtz R, Burkot TR, Andre RG, Rosenberg R, Collins WE & Roberts DR (1985). Identification of *Plasmodium Vivax* Sporozoites in Mosquitoes using an Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 34(6): 1048-1054. doi:10.4269/ajtmh.1985.34.1048.
- Wirtz RA, Zavala F, Charoenvit Y, Campbell GH, Burkot TR, Schneider I, Esser KM, Beaudoin RL & Andre RG (1987). Comparative testing of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* sporozoites for ELISA development. *Bulletin of the World Human Organisation*, 65: 39-45.
- Wondji C, Frederic S, Petrarca V, Etang J, Santolamazza F, Della TA (2005). Species and populations of the *Anopheles gambiae* complex in Cameroon with special emphasis on chromosomal and molecular forms of *Anopheles gambiae s.s.* *Journal of Medical Entomology*, 42: 998–1005.
- Zogo Mahugnon B (2019). Impact entomologique de stratégies complémentaires de lutte intégrée contre le paludisme dans un contexte de résistance des vecteurs aux insecticides

au nord de la Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat PhD, l'Université de Montpellier (UM) et de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC), 213p.



ANNEXES

Annexe 1 : Formulaire enquêtes parasitologiques

ORGANISATION DE COORDINATION POUR LA LUTTE CONTRE
LES ENDEMIES EN AFRIQUE CENTRALE

BP 15665, Yaoundé Cameroun
Tel : + 237 22 23 22 32
Fax : + 237 22 23 00 61
Web : [http:// www.oceac.org](http://www.oceac.org)



Contacts :
-Dr N. Antonio : 699 53 86 56
- Dr A. Parfait : 699 836 111

Enquêtes parasitologiques sur le paludisme à Yaoundé

Les informations collectées au cours de cette enquête sont strictement confidentielles au terme de la Loi N° 91/023 du 16 Décembre 1991 sur les Recensements et Enquêtes Statistiques qui stipule en son article 5 que « les renseignements individuels d'ordre économique ou financier figurant sur tout questionnaire d'enquête statistique ne peuvent en aucun cas être utilisés à des fins de contrôle ou de répression économique »

Fiche de collecte des informations

0. IDENTIFICATION DU PATIENT		
0,1	Date	_ _ / _ _ /2020
0,2	code du patient	_
0,3	Enquêteur	
0,4	Quartier	
0,5	Sexe du patient	1= Masculin 2= Féminin
0,6	Age du patient	
0,7	Nom du patient	_____
0,8	Température corporelle	
0,9	Symptômes observés	1 = Fièvre ; 2 = Anémie (Pâleur chez les jeunes) ; 3 = Fatigue ; 4= Céphalées 5= Anorexie 6= Autres
1. MESURES DE PROTECTION INDIVIDUELLE		
1,1	Le patient a-t-il dormi sous une moustiquaire la nuit dernière ?	_____
1,2	Si vous utilisez une moustiquaire, à quelle période l'utilisez-vous le plus ?	1 = Saison des pluies ; 2. = Saison sèche ; 3 = Régulièrement 4= Autre (à préciser) _____
1,3	Comment l'avez-vous obtenu ?	1= Achat ; 2 = Don ; 3 = Minsanté ; 4=Autre. Précisez.....
1,4	La moustiquaire est-elle en bon état ?	1= Oui ; 2= Non
1,5	À quand remonte le dernier épisode palustre ?	1= un mois ; 2= trois mois ; 3= un an ; 4= deux ans et plus
1,6	Prise d'un traitement antipaludique avant le prélèvement sanguin	1= Oui 2= Non
1,7	Si oui, lequel ?	
2. DIAGNOSTIC PARASITOLOGIQUE		
2,1	Test de diagnostic rapide	1 = Positif Falcip ; 2 = Positif PAN ; 3= Négatif

Annexe 2 : Accord de principe

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix – Travail – Patrie

MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE

SECRETARIAT GÉNÉRAL

DÉLÉGATION RÉGIONALE DE LA SANTÉ
PUBLIQUE DU CENTRE

COMITÉ RÉGIONAL D'ÉTHIQUE DE LA
RECHERCHE POUR LA SANTÉ HUMAINE DU
CENTRE

REPUBLIC OF CAMEROON
Peace – Work – Fatherland

MINISTRY OF PUBLIC HEALTH

SECRETARIAT GENERAL

CENTRE REGIONAL DELEGATION FOR
PUBLIC HEALTH

CENTRE REGIONAL ETHICS COMMITTEE
FOR HUMAN HEALTH RESEARCH

0 - 7 6 7 7 AP/MINSANTE/SG/DRSPC/CRERSH

Yaoundé, le 2.7. MAI 2019

Accord de principe

A

Mademoiselle DOUMBE Belisse Patricia Lucie.

- Etudiante à l'Université de Yaoundé I -

Suite à votre correspondance datée du 10 avril 2019 et relative à la demande d'une Autorisation Administrative de Recherche pour la collecte des données auprès des populations de la ville de Yaoundé, dans le cadre de vos travaux de fin d'études pour l'obtention du Doctorat/ph.D de biologie des organismes animaux option parasitologie et écologie,

J'ai l'honneur de vous signifier mon accord pour la réalisation de cette étude dans la région du Centre, en collaboration avec les responsables des localités ciblées.

Veuillez agréer, Mademoiselle, l'expression de ma parfaite collaboration.



Dr MOUSSI Charlotte
MD - MPH MIVA

www.minsante.gov.cm/www.minsante.cm

Annexe 3 : Clairance éthique

<p>REPUBLIQUE DU CAMEROUN <i>Paix – Travail – Patrie</i></p> <p>MINISTRE DE LA SANTE PUBLIQUE</p> <p>SECRETARIAT GENERAL</p> <p>COMITE REGIONAL D'ETHIQUE DE LA RECHERCHE POUR LA SANTE HUMAINE DU CENTRE</p> <p>Tél : 222 21 20 87/ 677 94 48 89/ 677 75 73 30 Mail : crersh_centre@yahoo.com</p>		<p>REPUBLIC OF CAMEROON <i>Peace – Work – Fatherland</i></p> <p>MINISTRY OF PUBLIC HEALTH</p> <p>SECRETARIAT GENERAL</p> <p>CENTRE REGIONAL ETHICS COMMITTEE FOR HUMAN HEALTH RESEARCH</p>
<p>CE N° - 7 6 3 / CRERSHC / 2019</p>		<p>Yaoundé, le 21 MAI 2019</p>

CLAIRANCE ETHIQUE

Le Comité Régional d'Ethique de la Recherche pour la Santé Humaine du Centre (CRERSH/C) a reçu la demande de clairance éthique pour le projet de recherche intitulé : « **Evolution de la dynamique des populations de moustiques et de la transmission du paludisme au cours d'un programme de lutte intégrée dans la ville de Ydé- Cameroun** » soumis par Mademoiselle **DOUMBE Belisse Patricia Lucie**.

Après son évaluation, il ressort que le sujet est digne d'intérêt, les objectifs sont bien définis et la procédure de recherche ne comporte pas de méthodes invasives préjudiciables aux participants. Par ailleurs, le formulaire de consentement éclairé destiné aux participants est acceptable.

Pour ces raisons, le Comité Régional d'éthique approuve pour une période de six (06) mois, la mise en œuvre de la présente version du protocole.

L'intéressée est responsable du respect scrupuleux du protocole et ne devra y apporter aucun amendement aussi mineur soit-il sans l'avis favorable du Comité Régional d'Ethique. En outre, elle est tenue de:

- collaborer pour toute descente du Comité Régional d'éthique pour le suivi de la mise en œuvre du protocole approuvé ;
- et soumettre le rapport final de l'étude au Comité Régional d'éthique et aux autorités compétentes concernées par l'étude.

La présente clairance peut être retirée en cas de non-respect de la réglementation en vigueur et des directives sus mentionnées.

En foi de quoi la présente Clairance Ethique est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Ampliation:
- CNERSH

**LE PRESIDENT**
X. Dobo Boye Casimir
Pharmacien

Annexe 4 : Autorisation du Ministre de la Santé Publique

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie
MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE
SECRETARIAT GENERAL
DIVISION DE LA RECHERCHE
OPERATIONNELLE EN SANTE

N° 030-122 /L/MINSANTE/SG/DRS/TMC

REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-Work-Fatherland
MINISTRY OF PUBLIC HEALTH
SECRETARIAT GENERAL
DIVISION OF HEALTH
OPERATIONS RESEARCH

Yaoundé, le 04 AVR 2017

LE MINISTRE

Au
Dr. ANTONIO NKONJIO Christopher,
Coordonnateur du projet de lutte antilarvaire
OCEAC Yaoundé, Cameroun
Tel: 237 223 00 61/699 53 86 26
E-mail: antonio_nk@ynhoo.fr

Objet: *Autorisation Administrative de Recherche*

N° 631-06-17

Docteur,

Vous avez bien voulu solliciter de mes services, en qualité d'Investigateur Principal, une Autorisation Administrative de Recherche pour mener sur une durée de 05 ans, une étude intitulée : « *Assessment of larviciding efficacy for integrated vector control in the city of Yaoundé, Cameroon* »; introduite en votre nom, et celui du Dr. AWONO AMBENE P. OCEAC Yaoundé, Cameroun et Dr WONDJI Charles S., LSTM Liverpool Pembroke Place; comme co-investigateurs. Y faisant suite,

J'ai l'honneur de vous signifier la présente Autorisation Administrative de Recherche qui vous permettra de démarrer vos travaux. Vous voudrez bien noter que la Division de la Recherche Opérationnelle en Santé est chargée du suivi de la conformité aux principes de bioéthique de ce projet et devra être informée de vos activités, ainsi que des conclusions de votre étude.

Le Ministère de la Santé Publique se réserve par ailleurs le droit d'effectuer des missions de suivi de la mise en œuvre de ladite recherche et d'arrêter celle-ci en cas de non respect du protocole approuvé et pour lequel cette autorisation vous est accordée.

Toute découverte au cours de vos travaux devra être signalée à la Division sus mentionnée avant publication et les deux parties à savoir, l'Investigateur Principal et le Ministère de la Santé Publique détiendront les droits de propriété intellectuelle.

Toute modification du présent protocole devra être signalée par écrit à l'Administration après une nouvelle approbation par le Comité National d'Éthique. Le numéro de votre Autorisation Administrative de Recherche sus référencée devra être cité dans vos courriers ultérieurs.

Veillez croire, **Docteur**, à l'assurance de ma considération distinguée.

Copie:
- MINSANTE
- CAMINSANTE/ESP
- SOMINSANTE/DRS
- MINS
- Archives/Class



André MAMA ECUIDA

Annexe 5 : Autorisation du Prefet du Mfoundi

REGION DU CENTRE

DEPARTEMENT DU MFOUNDI

PREFECTURE DE YAOUNDE

SERVICE DES AFFAIRES
ADMINISTRATIVES, JURIDIQUES
ET POLITIQUES

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
PAIX-TRAVAIL-PATRIE

N° 00000278 /L/JO6/A2/SAAJP

YAOUNDE, le 09 JUIL 2018

Le Préfet du Département du Mfoundi

A

Messieurs les Sous-préfets de Yaoundé
-YAOUNDE-

Objet: Demande d'une autorisation pour conduire les activités prévues dans le cadre du projet de lutte anti larvaire dans la ville de Yaoundé.

Comme suite la lettre qui m'a été adressée en date du 07 juin 2018 par le Dr ANTONIO NKONDJIO Christophe, relativement à l'objet repris en marge,

J'ai l'honneur de vous faire tenir ci-joint, pour suivi, ladite correspondance.

P.J: un (01) dossier



Csifu Jean Claude
Administrateur Civil Principal

Annexe 6 : Valorisation scientifique

Articles issus de la thèse

Antonio-Nkondjio, C., **Doumbe-Belisse P**, Djamouko-Djonkam, L., Ngadjeu, C.S, Talipouo, A., Kopya, E., Bamou, R., Mayi, M.P.A., Sonhafouo-Chiana, N., Nkahe, L., Tabue, R., Achu Fosah, D., Awono-Ambene, P., Wondji, C.S. (2021). High efficacy of microbial larvicides for malaria vectors control in the city of Yaounde Cameroon following a cluster randomized trial. *Scientific reports*, 11(1), 1-15.

Doumbe-Belisse, P., Ngadjeu, C. S., Sonhafouo-Chiana, N., Talipouo, A., Djamouko-Djonkam, L., Kopya, E., Bamou, R., Toto, J.C., Mouchili, S., Tabue, R., Awono-Ambene, P. Wondji, C.S., Njiokou, F. & Antonio-Nkondjio, C. (2018). High malaria transmission sustained by *Anopheles gambiae* s.l. occurring both indoors and outdoors in the city of Yaoundé, Cameroon. Wellcome Open Research, 3.

Autres articles publiés

Doumbe-Belisse, P., Kopya, E., Ngadjeu, C. S., Sonhafouo-Chiana, N., Talipouo, A., Djamouko-Djonkam, L., Awono-Ambene, P., Wondji, C.S., Njiokou, F. & Antonio-Nkondjio, C. (2021). Urban malaria in sub-Saharan Africa: dynamic of the vectorial system and the entomological inoculation rate. *Malaria Journal*, 20(1), 1-18.

Talipouo, A., Ngadjeu, C. S., **Doumbe-Belisse, P.**, Djamouko-Djonkam, L., Sonhafouo-Chiana, N., Kopya, E., Bamou, R., Awono-Ambene, P., Woromogo, S., Kekeunou, S., Wondji, C. S. & Antonio-Nkondjio, C. (2019). Malaria prevention in the city of Yaoundé: knowledge and practices of urban dwellers. *Malaria journal*, 18(1), 167.

Djamouko-Djonkam, L., Nkahe, D.L., Kopya, E., Talipouo, A., Ngadjeu, C.S., **Doumbe-Belisse, P.**, Bamou, R., Awono-Ambene, H.P., Tchuinkam, T., Wondji, C.S. & Antonio- Nkondjio, C. (2020). Implication of *Anopheles funestus* in malaria transmission in the city of Yaoundé, Cameroon. *Parasite*; 27, 10.

Article en préparation

Doumbe-Belisse, P., Ngadjeu, C. S., Sonhafouo-Chiana, N., Talipouo, A., Djamouko-Djonkam, L., Kopya, E., Bamou, R., Awono-Ambene, P., Wondji, C.S., Njiokou, F. Antonio-Nkondjio, C. Malaria prevalence in asymptomatic carriers in the city of Yaoundé, Cameroon following large scale household parasitological surveys.

Annexe 7 : Liste des présentations orales à différentes conférences.

Doumbe-Belisse P, Ngadjeu C. S, Sonhafouo-Chiana N, Talipouo A, Djamouko-Djonkam L, Awono-Ambene P, Wondji C.S., Njiokou F, Antonio-Nkondjio C. 2021. Assessing malaria transmission and vector dynamic in a context of larviciding trial in the city of Yaoundé, Cameroon [Oral presentation] – *Virtual annual PAMCA Conference & Exhibition*, September 20-22, 2021.

Doumbe-Belisse P, Ngadjeu C. S, Sonhafouo-Chiana N, Talipouo A, Djamouko-Djonkam L, Awono-Ambene P, Wondji C.S., Njiokou F, Antonio-Nkondjio C. 2021. Assessing malaria transmission and vector dynamic in a context of larviciding trial in the city of Yaoundé, Cameroon [Oral presentation] – *Second annual conference of PAMCA-CAMEROON-Yaoundé, Cameroon*, 06th - 07th July 2021.

Doumbe-Belisse P, Ngadjeu C. S, Talipouo A, Djamouko-Djonkam L, Kopya E, Bamou R, Sonhafouo-Chiana N, Charles S. Wondji, Flobert Njiokou, Christophe Antonio - Nkondjio. **2018**. High malaria transmission sustained by *Anopheles gambiae* s.l. in the city of Yaoundé Cameroon; [Oral presentation] - *6th Life science conference-Cameroon Forum for Biosciences “Life science, new technologies and Multiculturalism”-Dschang, Cameroon*, 08th -10th August, 2018.


Doumbe-Belisse P, Ngadjeu C. S, Talipouo A, Djamouko-Djonkam L, Kopya E, Bamou R, Sonhafouo-Chiana N, Charles S. Wondji, Flobert Njiokou, Christophe Antonio - Nkondjio. **2018**. High malaria transmission vectored by *Anopheles gambiae* s.l. in the city of Yaoundé Cameroon; [Oral presentation] – *first annual conference of PAMCA-CAMEROON-Yaoundé, Cameroon*, January 12th, 2018.

Doumbe-Belisse P, Ngadjeu C. S, Talipouo A, Djamouko-Djonkam L, Kopya E, Bamou R, Sonhafouo-Chiana N, Charles S. Wondji, Flobert Njiokou, Christophe Antonio-Nkondjio. **2017**. High malaria transmission vectored by *Anopheles gambiae* s.l. in the city of Yaoundé Cameroon; [Oral presentation] – *24th annual conference of Cameroon Biosciences Society “Bioscience Research for Cameroon’s Emergence”- Buea, Cameroon*, 30th November – 02nd December 2017.

Annexe 7 : Posters présentés en conférences.

Assessing malaria transmission and vector dynamic in a context of larviciding trial in the city of Yaoundé, Cameroon.
 Doumbe-Belisse P., Ngadjieu C. S., Sonhafouo-Chiana N., Talipouo A., Djamouko-Djonkam L., Bamou R., Awono-Ambene P., Wondji C.S., Njikou F., Antonio -Nkondjo C.

Research Institute Yaoundé, OCEAC, P.O. Box 288, Yaoundé, Cameroon Email : lucie.doumbe@yahoo.fr



1. BACKGROUND


- Malaria prevention in Cameroon is slowing down by insecticide resistance, mosquito changing behaviour and the fast demographic growth of urban population.
- This study is designed as part of the assessment of larviciding on anopheline densities in the city of Yaoundé, Cameroon
- It also sought the larviciding impact on malaria transmission dynamic and malaria prevalence.

2. QUESTIONS/ KNOWLEDGE GAP

- Does larviciding has an impact in mosquito densities, distribution and malaria transmission?
- Does larviciding reduce parasite prevalence in population living in Yaoundé?

3. METHODS

STUDY SITE



Entomological and parasitological surveys were carried out once every two months in 26 clusters to collect adult mosquitoes before and during the intervention

TREATMENT

Composition:
 -Bacillus thuringiensis var israelensis(Bt) et Bacillus sphaericus (Bs)

Veotomax hand application on breeding sites

STUDY DESIGN

MOQUITO SAMPLING METHODS

- HLC: Human landing catches
- CDC light traps

PARASITOLOGICAL SURVEY

- Blood spot / thick blood smear
- Rapid diagnostic tests

LAB ANALYSIS

- Morphological Identification (Edwards et al.,1941; Gillies and De Meillon 1968)
- Molecular Identification (Polymerase Chain Reaction) (Santolucito et al., 2008, Koekemoer et al., 2002)
- Looking for infectivity to plasmodium ELISA CSP (Wirtz 1987)
- DNA Extraction from blood spot on filter paper using Chelex (Antoine,2007)
- PCR for Plasmodium species detection (Padley et al.,2013)

4.RESULTS

ANOPHELINE SURVEY

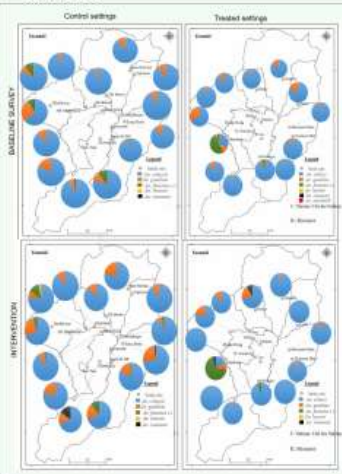


Figure 1: Distribution of anopheline species before and during the treatment

ANOPHELINE DENSITY

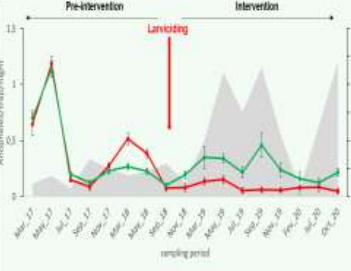


Figure 2 : Seasonal variation of anopheline densities using CDC light trap

- Results also show that the spatio-temporal distribution of anopheline species in the city was affected by the treatment.
- Indoor and outdoor anopheline densities recorded with CDC declined by 68.13% and 61.55% respectively during the larviciding treatment. The same trend was observed with HLC densities regarding the reduction rate of 79.99% and 63.47% recorded
- In the same way, larviciding reduced indoor and outdoor transmission by 68.97% and 61.77% respectively.

MALARIA PREVALENCE

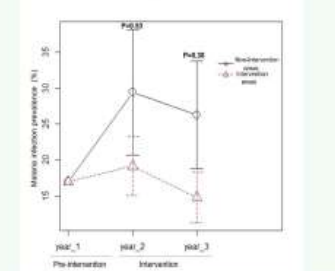


Figure 3 : Variation of malaria prevalence before and during the intervention

- malaria prevalence decrease during the intervention in treated areas


5. CONCLUSION

- The study highlights the efficacy of larviciding in reducing anopheline density, malaria transmission and malaria prevalence in the city of Yaoundé Cameroon.
- This approach could be undertaken to sustain the efficacy of existing tools.

6. REFERENCES

- Antonio-Nkondjo, C., N. N. Sando, et al. (2018). Implementing a larviciding efficacy or effectiveness control intervention against malaria vectors: key parameters for success. Parasites & vectors 11(1): 57.
- Doumbe-Belisse, P., Ngadjieu, C. S., et al. (2016). High malaria transmission sustained by Anopheles gambiae of cooccurring both indoors and outdoors in the city of Yaoundé, Cameroon. Wellcome open research, 3.

ACKNOWLEDGEMENTS/FUNDING



1st virtual women in malaria conference- 22nd-24th March 2021

Malaria parasite prevalence and assessment of performance of diagnostic tools used during a parasitological survey in Yaoundé, Cameroon.

Doumbe-Belisse P, Ngadjieu C. S., Sonhafouo-Chiana N., Talipouo A., Djamouko-Djonkam L., Kopya E., Bamou R., Awono-Ambene P., Wondjo C.S., Njikou F., Antonio -Nkondjio C

Malaria research Unit, OCEAC, P.O. Box 288, Yaoundé, Cameroon Email : lucie.doumbe@yahoo.fr



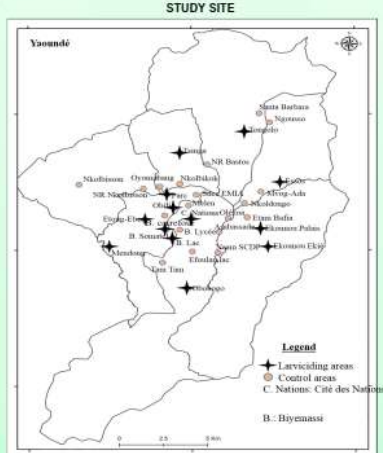
1. BACKGROUND

- Accurate diagnosis of malaria cases is suitable to manage cases and control the disease.
- This study is designed as part of the assessment of larviciding on malaria prevalence in the city of Yaoundé, Cameroon
- It also sought the discriminatory and predictive accuracy of diagnostic tests for *Plasmodium falciparum*.

2. QUESTIONS/ KNOWLEDGE GAP

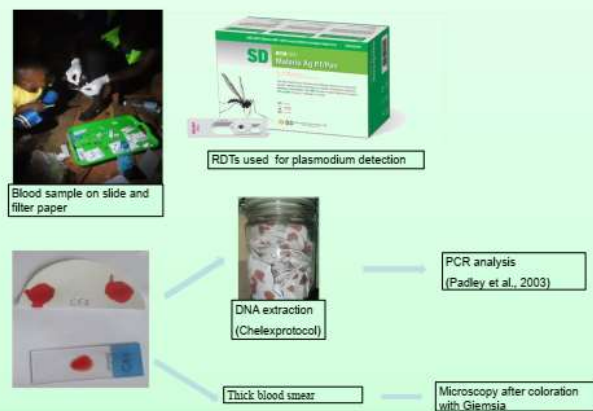
- Does larviciding has an impact in reducing parasite prevalence in population living in Yaoundé?
- What is the suitable diagnostic control tool for a better and reliable estimation of malaria morbidity, prevalence and incidence between RDTs, microscopy and PCR?

3. METHODS



Parasitological as well as household survey conducted from 6th -31th May 2019 in 72 households of 26 clusters

STUDY DESIGN



4. RESULTS

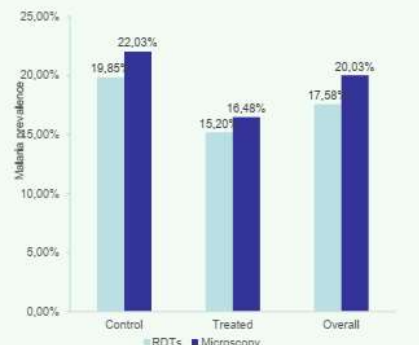


Figure 1: Prevalence of malaria among the participants by diagnostic tools and cluster status

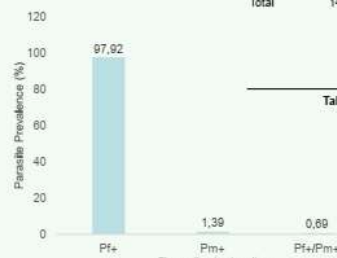


Figure 2 : Diagnostic of malaria parasites with microscopy
The parasite density recorded varied from 40 to 82720 parasites/µl of blood.

RDT	Microscopy		Total	Se = 54.05% (CI 45.88-62.27) Sp = 89.17 % (CI 88.38-91.58) Ppv = 55.56% (CI 48.71-62.20) Npv = 88.57% (CI 86.65-90.24)
	Positive	Negative		
Positive	80	64	144	
Negative	68	527	595	
Total	148	591	735	

Table 1: Performance of RDTs compared with microscopy results

5. CONCLUSION

- RDTs had a relatively low PPV (< 90%), meaning that many positives were not infected, which in turn could affects malaria prevalence estimate
- There is a evidence of malaria transmission in the population of Yaoundé which is more expressed for children aged 1 to 15 years;

ACKNOWLEDGEMENTS/FUNDING



6. REFERENCES

- Antonio-Nkondjio, C., N. N. Sandjo, et al. (2018). Implementing a larviciding efficacy or effectiveness control intervention against malaria vectors: key parameters for success. Parasites & vectors 11(1): 57.
- Doumbe-Belisse, P., Ngadjieu, C. S., et al. (2018). High malaria transmission, sustained by Anopheles gambiae s.l occurring both indoors and outdoors in the city of Yaoundé, Cameroon. Wellcome open research, 3.

-Symposium Scientifique Pour les 60 ans du Centre Pasteur du Cameroun « Les avancées scientifiques au service des maladies infectieuses » -Yaoundé, Cameroon 14 – 15 November 2019

- workshop “Women in STEM, contribution in research and innovative technology for the sustainable Development of Cameroon” Yaoundé, Cameroon 17-18 December 2019



High malaria transmission sustained by *Anopheles gambiae* s.l. occurring both indoor and outdoor in the city of Yaoundé, Cameroon



Dombe-Belisse P^{1,2}, Ngadjou C. S.^{1,2}, Sonhafouo-Chiana N.^{1,4}, Talipouo A.^{1,2}, Djamouko-Djonkam I.^{1,3}, Kopya E.^{1,2}, Bamou R.^{1,2}, Toto J. C.¹, Mounchili S., Tabue R., Awono-Ambene P¹, Wondji C. S.¹, Njikou F., Antonio -Nkondjo C.^{1,2*}

Environ Biol Health
ABS-19-0023

¹Laboratoire de Recherche sur le Paludisme, Organisation de Coordination pour la lutte Contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC), P.O. Box 288, Yaoundé, Cameroon; ²Faculty of Sciences, University of Yaoundé I, P.O. Box 337, Yaoundé, Cameroon; ³Faculty of Sciences, University of Dschang, P.O. Box 67, Dschang, Cameroon; ⁴Faculty of Health Sciences University of Buea, P.O. Box 63, Buea, Cameroon; ⁵Faculty of Arts, Letters and human sciences, University of Yaoundé I, P.O. Box 337, Yaoundé, Cameroon; ⁶Ministry of Public Health, National Malaria Control Programme, P.O. Box 14386, Yaoundé, Cameroon; ⁷Vector Group Liverpool School of Tropical medicine Pembroke Place, Liverpool L3 5QA, UK



AUTHOR SUMMARY

This study aims to collect baseline data in a context of a larval control trial in the city of Yaoundé. Collections were performed in 32 districts of the city to assess the trend of malaria transmission and capture spatial and temporal variation of mosquito densities. Mosquitoes were collected once every two months using CDC-LTs and human landing catches then were subjected to analysis at the laboratory. High and permanent malaria transmission was recorded in the city of Yaoundé and was consistent with studies conducted so far suggesting urban malaria as a public health threat in most Sub-Saharan Africa cities.

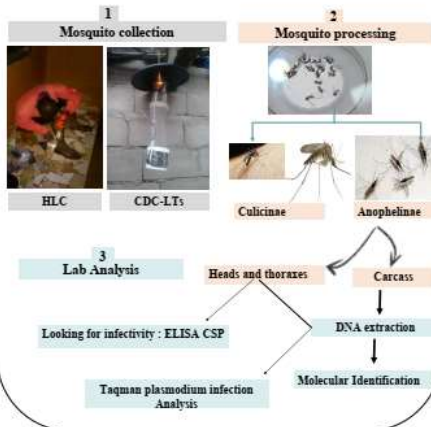
INTRODUCTION

Malaria remains a major public health problem in Cameroon. Despite reports on the adaptation of Anopheline species to urban habitats, there is still not enough information on malaria transmission pattern in urban settings. In the frame of a larval control trial in the city of Yaoundé [1], we conducted baseline surveys to assess malaria transmission dynamics in this city [2].



METHODS

Adult mosquitoes were collected using CDC light traps (CDC-LTs) and human landing catches (HLC) from March 2017 to March 2019 in 32 districts of Yaoundé, Cameroon. Mosquitoes were identified up to the species level using PCR. The TruGene method and ELISA were used to determine mosquito infection status to Plasmodium. Bioassays were conducted to assess female *Anopheles gambiae* susceptibility to insecticides.



CONCLUSION

The study suggests high malaria transmission occurring in the city of Yaoundé and call for immediate actions to improve control strategies.

REFERENCES

1. Antonio-Nkondjo, C., N. N. Sandjo, et al. (2018). Implementing a larviciding efficacy or effectiveness control intervention against malaria vectors: Key parameters for success. Parasites & vectors 11(1): 57.
2. Dombe-Belisse, P., Ngadjou, C. S., et al. (2018). High malaria transmission sustained by *Anopheles gambiae* s.l. occurring both indoors and outdoors in the city of Yaoundé, Cameroon. *Wellcome open research*, 3.

ACKNOWLEDGEMENTS: We are grateful to mosquito collectors and the population of Yaoundé for their participation to the study

FUNDING :

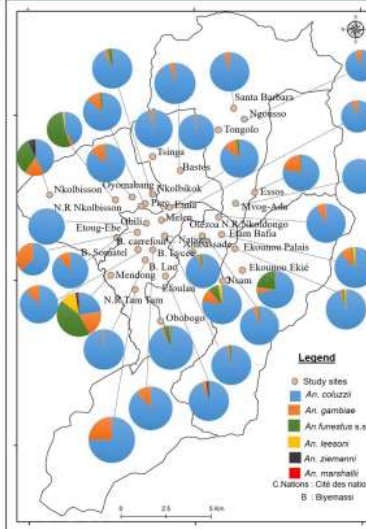
This work received financial support from Wellcome Trust senior Fellowship in Public Health and Tropical Medicine (202657/Z/16/Z) to C.A.N



6th Annual conference and exhibition of PAMCA "Strengthening surveillance systems for vector-borne disease elimination in Africa" - Yaoundé, Cameroon, 23rd - 25th September 2019.

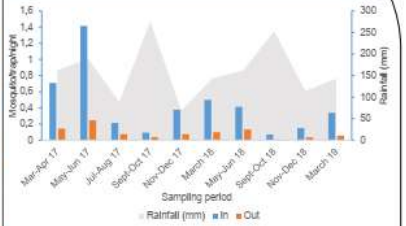
RESULTS AND DISCUSSION

ANOPELES' SPATIAL DISTRIBUTION IN THE CITY OF YAOUNDE

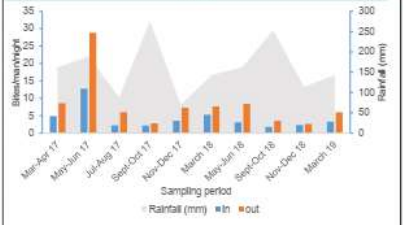


Significant variation in species densities was recorded between districts (P=0.005). *An. coluzzii* was highly predominant across the city.

Seasonal variation of *An. gambiae* s.l. densities using CDC-LTs

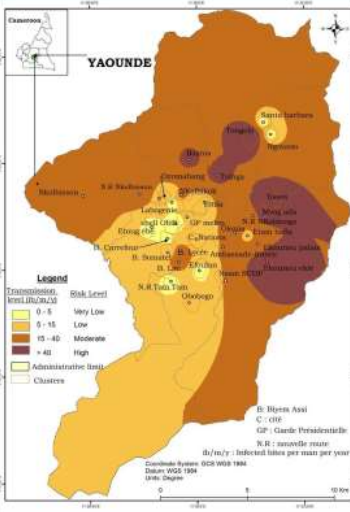


Seasonal variation of *An. gambiae* s.l. densities after human landing catches



Densities using CDC-LTs were high indoor compared to outdoor whatever the season whereas biting rates were higher outdoor than indoor

HETEROGENEOUS PATTERN OF MALARIA TRANSMISSION



Different intensities levels were recorded varying from very low transmission to high transmission risk.

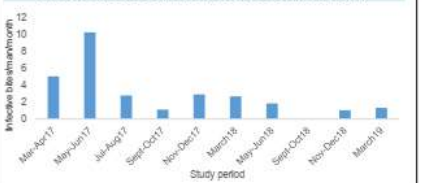
SPOROZOITE RATES FOR ANOPHELES MOSQUITOES FROM INDOOR AND OUTDOOR COLLECTIONS IN YAOUNDE

Species	Indoor	Outdoor	Total
<i>An. gambiae</i> s.l.	3,278 (76, 2.3 (2-3))	1,383 (27, 2 (1.3-3))	4,661 (103, 2.2 (1.8-2.7))
<i>An. funestus</i> s.l.	199 (1, 0.5 (0.01-33))	34 (0, 0 (0-15))	233 (1, 0.4 (0.01-2.5))
<i>An. ziemanni</i>	3 (0, 0 (0-123))	6 (0, 0 (0-61.5))	9 (0, 0 (0-41))
Total	3,480 (77, 2.2 (1.7-3))	1,413 (27, 1.9 (1.3-3))	4,893 (104, 2.1 (1.7-2.6))

Inf. infected; % infection rate; 95% CI 95% confidence interval

An. gambiae s.l. infection rate was 2.3% indoor and 2% outdoor. The circumsporozoite rate for *An. funestus* was 0.4%.

SEASONAL VARIATION OF THE ENTOMOLOGICAL INOCULATION RATE IN YAOUNDE FROM MARCH 2017 TO MARCH 2019



Malaria transmission was recorded all year long with the intensity varying from one season to the other.

- 6th Annual conference and exhibition of PAMCA "Strengthening surveillance systems for vector-borne disease elimination in Africa" - Yaoundé, Cameroon 23 - 25 September 2019

- 24th Annual Conference CAMEROON BIOSCIENCES SOCIETY "Efficient management of Bioresources for Human Wellbeing"- Yaoundé, Cameroon 1st-5th Dec. 2020



HIGH MALARIA TRANSMISSION VECTORED BY *An. gambiae* IN THE CITY OF YAOUNDE CAMEROON

DOUMBE-BELISSE P^{1,2}, NGADJEU C.S², TALIPOUO A², DJAMOUKO-DJONKAM L³, KOPYA E², BAMOU R², Charles S. WONDJI⁴, Flobert NJOKOU¹, Christophe ANTONIO-NKONDJO^{1,4*}

¹Laboratoire de Recherche sur le Paludisme, Organisation de Coordination pour la lutte Contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC), P.O. Box 288, Yaoundé, Cameroon
²Faculty of Sciences, University of Yaoundé I, P.O. Box 337, Yaoundé, Cameroon,
³Faculty of Sciences, University of Dschang Cameroon, ⁴Vector Group Liverpool School of Tropical medicine Pembroke Place, Liverpool L3 5QA, UK



ABSTRACT

Urban malaria is becoming a major public health problem in Cameroon with rapid unplanned urbanization taking place in main urban settings. In the frame of a larval control study due to be implemented in the city of Yaoundé, we conducted baseline surveys in order to characterize malaria transmission dynamic in the city of Yaoundé. Adult mosquitoes were collected inside and outside of human dwellings using CDC Light Traps from January to December 2017 in 32 clusters of the city. Mosquitoes were sorted by genus using the morphological characteristics and identify up to the species level using PCR. After identification and dissection, the heads and thoraces of Anopheline mosquitoes were analyzed to determine their infection status using Taqman Plasmodium infection analysis and ELISA CSP analysis. A total of 169,627 mosquitoes were collected. *Culex* were the most abundant (96.77%) followed by *Anopheles* (2.54%), *Mansonia* (0.54%) and *Aedes* (0.14%). *Culex* was mainly represented by *Culex quinquefasciatus*. Out of Anopheline species collected *An. gambiae* was the most predominant (37894310) followed by *An. funestus* (4984310) and *An. ziemanni* (1444310). The average number of mosquito collected indoor with a CDC light trap was significantly higher ($P < 0.0001$) than that recorded outdoors. Seasonal variation in mosquito abundance was recorded as well as variation according to districts. Of *An. gambiae* s.l. identified to molecular form, 83.73% were *An. coluzzii* and 16.27% were *An. gambiae*. In addition, 2.10% of the mosquitoes tested were recorded infected with *Plasmodium falciparum*, 0.62% belong to either *Plasmodium malariae* or *Plasmodium ovale* and 0.62% were mix-infections. The results provide evidence of increasing malaria risk in the city of Yaoundé and call for more actions in order to improve control strategies in this city.

Keywords: *An. gambiae*, burden, malaria, risk, Yaoundé, Cameroon.

BACKGROUND

In order to manage insecticide resistance and change in mosquito behavior, larval source management could be established as supplement to existing control measures. This study aims to assess larviciding impact on malaria transmission and vectors dynamics in the city of Yaoundé.



Fig. 1: Study area

METHODS

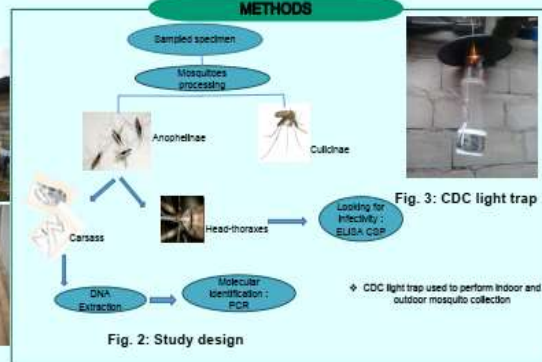
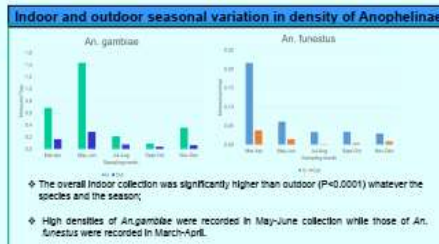


Fig. 2: Study design

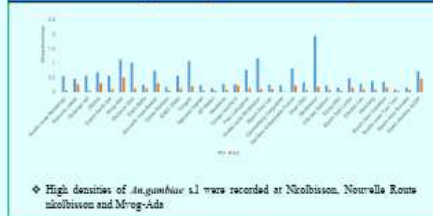
RESULTS

Diversity of mosquito species						
Species	Indoor		Outdoor		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>An. gambiae</i>	3372	2.46	417	0.18	3789	2.23
<i>An. funestus</i>	454	0.33	44	0.14	498	0.29
<i>An. ziemanni</i>	8	0.01	15	0.05	23	0.01
<i>Coolittetidia</i>	6	0.00	8	0.02	14	0.01
<i>Culex</i> sp.	132,635	96.64	31516	97.33	164,151	96.77
<i>Aedes</i> sp.	173	0.13	59	0.18	232	0.14
<i>Mansonia</i> sp.	597	0.43	323	1.00	920	0.54
Total	197,246	80.91	32,382	18.09	169,627	100%

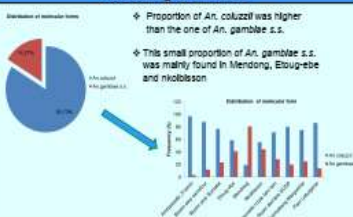
- ♦ A total of 169,627 mosquitoes were sampled;
- ♦ Out of the malaria vectors collected, *An. gambiae* was the predominant (37894310) followed by *An. funestus* (4984310);
- ♦ *Culex* was the most abundant genera followed by *Anopheles*, *Mansonia* and *Aedes*;
- ♦ 80.91% of the overall collection were collected indoor.



Variation in density of *An. gambiae* s.l. according to clusters



Distribution of molecular forms of *An. gambiae* according to districts



Infectivity of anophelinae to *P. falciparum*



REFERENCE

- ♦ Antonio-Nkondjo, C., Sonhatou-Oriana, N., Ngadjeu, C. S., Doumbe-Belisse, P., Talpouo, A., Djamouko-Djonkam, L., ... & Wondji, C. S. (2017). Review of the evolution of insecticide resistance in main malaria vectors in Cameroon from 1980 to 2017. *Parasites & Vectors*, 10(1), 472.
- ♦ Fillinger, U., Ndenge, B., Githeko, A., & Lindsay, S. W. (2009). Integrated malaria vector control with microbial larvicides and insecticide-treated nets in western Kenya: a controlled trial. *Bulletin of the World Health Organization*, 87(9), 655-665.

CONCLUSION

- ♦ Our data presents a high variation in malaria vectors density regardless the season and the clusters.
- ♦ The results provide evidence of increasing malaria risk in the city of Yaoundé and call for more actions in order to improve control strategies in this city;

Funding : This work is supported by a Senior Wellcome Trust Fellowship in PHTM to ANC

7th conference of Multilateral Initiative on Malaria ‘‘Two decades of progress, challenges and perspectives in ending malaria’’ - Dakar, Senegal 15-20 April 2018



ARTICLES ISSUS DE LA THESE

1. Antonio-Nkondjio, C., **Doumbe-Belisse P**, Djamouko-Djonkam, L., Ngadjeu, C.S, Talipouo, A., Kopya, E., Bamou, R., Mayi, M.P.A., Sonhafouo-Chiana, N., Nkahe, L., Tabue, R., Achu Fosah, D., Awono-Ambene, P., Wondji, C.S. (2021). High efficacy of microbial larvicides for malaria vectors control in the city of Yaounde Cameroon following a cluster randomized trial. *Scientific reports*, 11(1), 1-15.



OPEN

High efficacy of microbial larvicides for malaria vectors control in the city of Yaounde Cameroon following a cluster randomized trial

Christophe Antonio-Nkondjio^{1,5✉}, P. Doumbe-Belisse^{1,3}, L. Djamouko-Djonkam^{1,4}, C. S. Ngadjeu^{1,3}, A. Talipouo^{1,3}, E. Kopya^{1,3}, R. Bamou^{1,4}, M. P. Audrey Mayi⁴, N. Sonhafouo-Chiana^{1,2}, D. L. Nkahe³, R. Tabue⁶, D. Achu Fosah⁶, Jude D. Bigoga^{7,8}, P. Awono-Ambene¹ & Charles S. Wondji^{5,9}

The rapid expansion of insecticide resistance and outdoor malaria transmission are affecting the efficacy of current malaria control measures. In urban settings, where malaria transmission is focal and breeding habitats are few, fixed and findable, the addition of anti-larval control measures could be efficient for malaria vector control. But field evidences for this approach remains scarce. Here we provide findings of a randomized-control larviciding trial conducted in the city of Yaoundé that support the efficacy of this approach. A two arms random control trial design including 26 clusters of 2 to 4 km² each (13 clusters in the intervention area and 13 in the non-intervention area) was used to assess larviciding efficacy. The microbial larvicide VectoMax combining *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* (Bti) and *Bacillus sphaericus* in a single granule was applied every 2 weeks in all standing water collection points. The anopheline density collected using CDC light traps was used as the primary outcome, secondary outcomes included the entomological inoculation rate, breeding habitats with anopheline larvae, and larval density. Baseline entomological data collection was conducted for 17 months from March 2017 to July 2018 and the intervention lasted 26 months from September 2018 to November 2020. The intervention was associated with a reduction of 68% of adult anopheline biting density and of 79% of the entomological inoculation rate (OR 0.21; 95% CI 0.14–0.30, $P < 0.0001$). A reduction of 68.27% was recorded for indoor biting anophelines and 57.74% for outdoor biting anophelines. No impact on the composition of anopheline species was recorded. A reduction of over 35% of adult *Culex* biting densities was recorded. The study indicated high efficacy of larviciding for reducing malaria transmission intensity in the city of Yaoundé. Larviciding could be part of an integrated control approach for controlling malaria vectors and other mosquito species in the urban environment.

Africa's population almost doubled during the last two decades, from about 665 million in 2000 to 1.1 billion in 2019¹. This rapid demographic growth has resulted in a massive migration of the population from rural to urban areas. The rapid demographic changes in major sub-Saharan Africa cities which are also associated to large-scale unplanned urbanization including poor housing, poor drainage, inadequate waste management, multiplication of slums and environmental changes have significantly influenced the epidemiology of vector-borne diseases such as malaria and arboviruses and population health^{2–5}. Malaria remains an important public health problem

¹Laboratoire de Recherche Sur Le Paludisme, Organisation de Coordination Pour La Lutte Contre Les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC), P.O. Box 288, Yaoundé, Cameroun. ²Faculty of Sciences, University of Buea, P.O. Box 63, Buea, Cameroon. ³Faculty of Sciences, University of Yaoundé I, P.O. Box 337, Yaoundé, Cameroon. ⁴Vector Borne Diseases Laboratory of the Biology and Applied Ecology Research Unit (VBID-URBEA), Department of Animal Biology, Faculty of Science of the University of Dschang, Dschang, Cameroon. ⁵Department of Vector Biology, Liverpool School of Tropical Medicine Pembroke Place, Liverpool L3 5QA, UK. ⁶Ministry of Public Health, National Malaria Control Programme, Yaoundé, Cameroon. ⁷Laboratory for Vector Biology and Control, National Reference Unit for Vector Control, The Biotechnology Center, Nkolbisson-University of Yaounde I, P.O. Box 3851, Messa, Yaoundé, Cameroon. ⁸Department of Biochemistry, Faculty of Science, University of Yaounde I, Yaoundé, Cameroon. ⁹Centre for Research in Infectious Diseases, Yaoundé, Cameroon. ✉email: antonio_nk@yahoo.fr

across the world affecting both rural and urban areas^{6–9}. According to the latest world malaria report, 229 million malaria cases were reported in 2019¹⁰. Long-lasting insecticidal nets (LLINs) and indoor residual spraying (IRS) are considered as the cornerstone for malaria prevention¹¹.

The large-scale deployment of these tools permitted to avoid about 1.5 billion malaria cases and 7.6 million malaria deaths between 2000 and 2019¹². Roughly 1.9 billion LLINs have been distributed in sub-Saharan Africa between 2004 and 2019¹⁰. It is estimated that about 68% of households in sub-Saharan Africa had at least one LLIN in 2019 this suggesting a terrific increase compared to 5% in 2000¹⁰. However, control efforts are still affected by the rapid expansion of insecticide resistance. Almost all sub-Saharan countries have reported resistance to all four of the most commonly used insecticide classes^{13,14}. Resistance to pyrethroids the compound used for impregnating bed nets is widespread^{13,15,16}. Based on insecticide resistance monitoring data, many countries are now adopting new strategies to manage insecticide resistance and improve malaria control. These include switching to new control tools such as the deployment of pyrethroid-piperonyl butoxide (PBO) nets¹⁷ or the combination of different control tools or interventions^{18,19}.

Larval source management (LSM) has proven in the past to be highly effective for lowering malaria transmission and even eliminating malaria vectors and disease transmission^{20–22}. Historical literature reveals that the use of anti-larval mosquito control measures contributed to all successful eradication efforts^{23–25}. Several studies reporting significant impact of larval control on malaria transmission or malaria morbidity have been registered across the continent^{20,26,27}. However, despite historical facts and new evidences on larviciding efficacy this intervention is still not largely implemented for malaria control in sub-Saharan Africa due to the limited number of unbiased studies on its efficacy or effectiveness^{27,28}. Systematic reviews produced in the recent years^{27,29,30}, indicated low certainty evidences due to poor study design for many studies^{27,30}. The World Health Organization (WHO) issued an interim position on larviciding recommending its use in moderate to low transmission settings as a supplement to core interventions (LLINs and IRS) in areas where aquatic habitats are few fixed and findable¹¹. The intervention could be particularly indicated in urban settings or in highland areas where aquatic habitats are less important and malaria transmission moderate^{31–33}. According to the WHO guidelines³⁴, LSM could be integrated into malaria control or general mosquito abatement programmes once transmission has been reduced to low or moderate levels after the use of LLINs or IRS, or once these interventions have reached their maximum practical impact.

In Cameroon malaria remains an important public health problem. Between 2015 and 2018, the incidence of malaria cases increased across the country highlighting the need to intensify malaria control efforts^{35,36}. Treated nets are the main measure implemented by the government to prevent malaria attacks. It is estimated that about 80% of households own a bed net and that close to 60% use treated nets regularly³⁶. Apart from LLINs which were introduced in the country in the 1990s, there have been two pilot larval control trials initiated in the country to control *Culex quinquefasciatus* populations. The first one conducted in the 1990s in the city of Maroua which consisted of two treatments per year of all breeding habitats with *Bacillus sphaericus* as larvicide had a limited impact on the biting densities of *C. quinquefasciatus* mosquito populations³⁶. The second pilot study conducted in Yaounde registered a 64% reduction of *C. quinquefasciatus* biting densities. However, because the authors did not include any control cluster the interpretation of their findings was limited³⁷.

The city of Yaounde has a landscape with an alternation of both highland and lowland areas with over 90% of aquatic habitats located in lowland settings and could be an excellent environment to practice larviciding^{38,39}. The population is approximately 3 million inhabitants and is characterised by a low malaria transmission pattern^{40,41}. There have been so far not enough attempts to control malaria vectors using interventions suited to the landscape and ecological situation of the environment. We hypothesized that the implementation of larviciding in the city of Yaounde could result in over 40% reduction of mosquito biting densities and subsequently the entomological inoculation rate compare to sites where this intervention is not implemented. Generating evidences on the efficacy of larviciding in different epidemiological context could improve malaria control across Africa. In the course of the present study, a cluster randomised trial including 26 clusters of 2 to 4 km² each divided into 2 groups 13 in the intervention area and 13 in the non-intervention area was conducted to assess the impact of larviciding on malaria transmission in the city of Yaounde.

Results

Household characteristics. Baseline community and entomological surveys were conducted from February 2017 to July 2018. Some data deriving from these studies have been published previously^{42–49}. Household characteristics were almost similar across the two study groups. Modern houses built up with cement (50% and 62.77%) and traditional houses constructed with mud, plank, and mix material (50% and 37.23%) were recorded. Most households (> 84%) owned at least a LLIN, 47% and 48% of households in the control and intervention area respectively had one LLIN for two people (Table 1). The majority of households had an average of 6 to 10 persons per household. Close to 20% of houses had screens on windows. The number of houses with ceilings was also similar between the two groups.

Monthly distribution of anopheline larvae. Anopheline larval abundance was seasonal with high density during the short and long rainy seasons. The annual rainfall estimates was 761.4 mm in 2017, 845.4 mm in 2018, 3011.3 mm in 2019 and 2726.2 mm in 2020⁵⁰. This pattern influenced breeding habitats availability and distribution in the city (Table 2).

The proportion of habitats found with early or late instar anopheles larvae at baseline was 13.32% (1150/8633) in intervention area and 18.66% (1551/8313) in non-intervention area. During the intervention period, only 0.80% of sites (1102/137,120) were found with anopheline larvae after larviciding treatments whereas, in non-intervention areas, 7.52% of sites (1934/25,729) were found with anopheline larvae. Taking into account the

Characteristics	Factors	Non-intervention areas		Intervention areas	
		N houses	%	N houses	%
Type of house	Modern	94	50.00	118	62.77
	Traditional	94	50.00	70	37.23
Occupants	[1–5]	72	39.13	78	43.33
	[6–10]	89	48.37	88	48.89
	≥ 11	23	12.50	14	7.78
Holes on walls	No	116	63.74	134	72.04
	Yes	66	36.26	52	27.96
Eaves	No	65	36.52	78	43.58
	Yes	113	63.48	101	56.42
Ceiling	No	124	67.03	102	55.74
	Yes	61	32.97	81	44.26
Screened windows	No	158	85.87	144	80.00
	Yes	26	14.13	36	20.00
At least one LLIN Per household	No	28	15.05	15	8.47
	Yes	158	84.95	162	91.53
Use of LLINs	No	24	13.04	15	8.47
	Yes	160	86.96	162	91.53
owning one LLIN for 2 people	No	99	52.38	98	51.65
	Yes	90	47.62	91	48.35
Vegetation close to the house	No	41	21.69	37	19.58
	Yes	148	78.31	152	80.42
Aquatic habitats close to the house	No	32	16.93	35	18.52
	Yes	157	83.07	154	81.48

Table 1. House characteristics in the non-intervention and intervention areas. N houses = Number of houses selected for interview and house characterisation; % percentage of houses, LLINs = Long Lasting Insecticidal Nets; Traditional house: houses with mud or plank walls (poorly constructed); Modern house: houses constructed with bricks or cement walls.

	Baseline		Intervention		Percent reduction +
	Non-intervention area	Intervention area	Non-intervention area	Intervention area	
Total of aquatic habitats					
Checked	8313	8633	25,729	137,120	
Total number of water bodies with anopheline larvae (%) (95% CI)	1551 (18.66%) (17.74–19.61)	1150 (13.32%) (12.56–14.11)	1934 (7.52%) (7.18–7.85)	1102 (0.80%) (0.76–0.85)	85.46*
Total number with late instar anopheline larvae (%) (95% CI)	1096 (70.66%) (66.54–74.97)	772 (67.13%) (62.48–72.04)	1155 (59.72%) (56.33–63.27)	168 (15.24%) (13.03–17.73)	73.13*
Total number of water bodies with culicine larvae (%) (95% CI)	1528 (18.38%) (17.47–19.33)	1773 (20.54%) (19.59–21.52)	2523 (9.80%) (9.42–10.19)	5538 (4.03%) (3.93–4.14)	69.24*

Table 2. Distribution of anopheline and culicine larvae in breeding habitats at baseline and during the larviciding intervention. + Percent reduction = $100 - (\text{Non LCI at baseline} / \text{LCI at baseline} \times \text{LCI during intervention} / \text{non-LCI during intervention}) \times 100$. (Non-larviciding intervention area (Non LCI), Larviciding Intervention area (LCI)): * $P \leq 0.001$.

clustering by treatment group and by period, it appeared that larviciding treatment significantly reduced the chances of water bodies being colonised by anopheline larvae (OR = 0.15 95% CI = 0.07–0.32; $P < 0.0001$). The number of breeding habitats with late instar anopheline larvae was also reduced by over 73%. When was considered the effect of larviciding treatments on culicine larvae, a significant reduction of breeding habitats with culicine larvae could also be noticed (OR = 0.37 95% CI = 0.32–0.42; $P < 0.0001$). High fluctuation in the monthly distribution of breeding habitats with anopheline larvae closely associated with the rainfall pattern was recorded (Fig. 1).

Changes in the presence of Anopheles larvae in aquatic habitats. In addition to unadjusted data analysis, a mixed linear modelling approach was used to better assess the impact of larviciding treatments. A total of 1131 measurements in both the intervention and non-intervention areas were taken into considera-

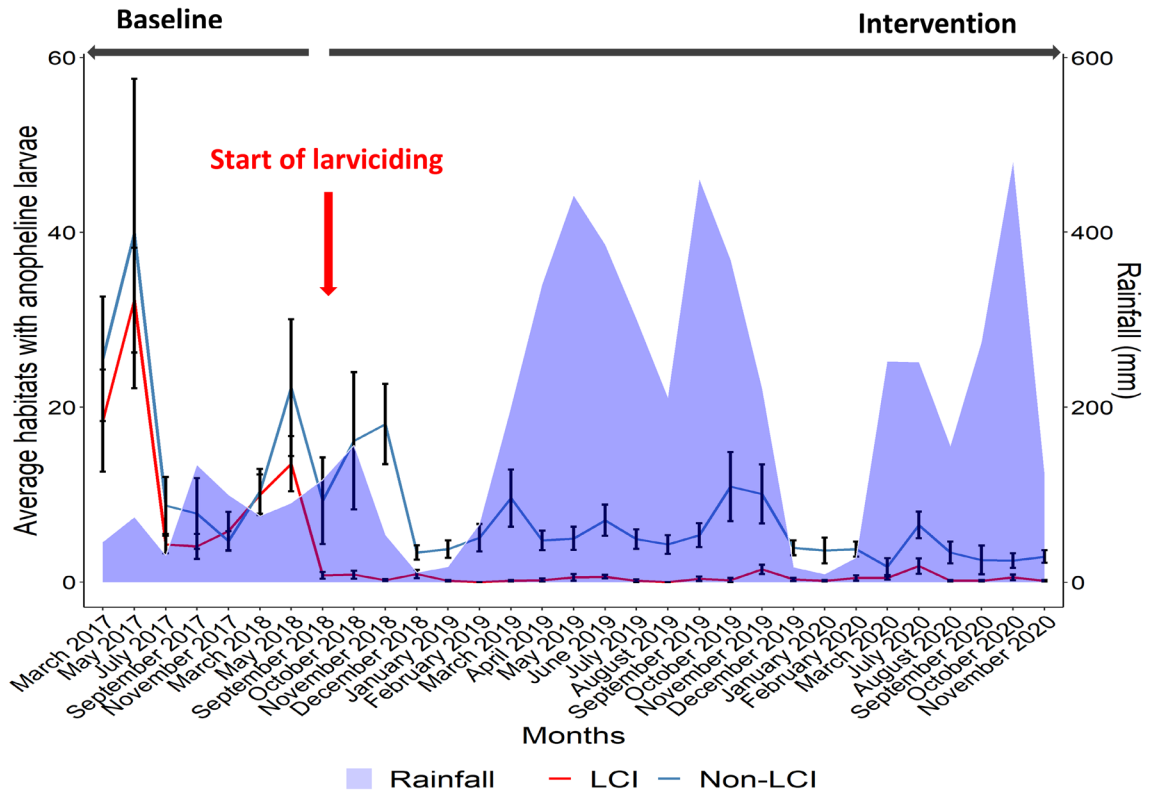


Figure 1. Distribution of aquatic habitats with anopheline larvae before and during the larviciding intervention ((Non-larviciding intervention area (Non LCI), Larviciding Intervention area (LCI)).

Parameters	Baseline		Intervention	
	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value
Study group				
Non-intervention	1			1
Intervention	1.17 (0.69, 1.97)	0.56	0.02 (0.01, 0.03)	<0.0001
Season				
Dry	1			1
Rainy	Excluded		1.65 (1.44, 1.90)	<0.0001
Public works				
No	1			1
Yes	Excluded		0.90 (0.58, 1.40)	0.63
Flooding				
No	1			1
Yes	0.37 (0.20, 0.67)	0.001	0.74 (0.61, 0.89)	0.001
Agricultural activities				
No	1			1
Yes	0.71 (0.40, 1.25)	0.24	0.47 (0.28, 0.79)	0.004

Table 3. Mixed effects logistic regression models of the impact of larviciding on the distribution of Anopheline larvae, and influence of other parameters during baseline and intervention periods. Public works; refer to construction of roads or buildings, Agricultural activities: refer to the exploitation of land surface for the practice of agriculture; Flooding: refer to inundated areas. OR: odd ratio; 95% CI: 95% confidence interval.

tion for the modelling analysis. Results confirmed a significant reduction ($P < 0.001$) of breeding habitats with anopheline larvae in the intervention area compared to the non-intervention area, though a significant decline in the proportion of breeding habitats with *Anopheles* larvae for both non-intervention and intervention areas was generally observed with time (Table 3). Different factors including season, flooding, agricultural activities were found associated with a significant impact on the OR of the model ($P < 0.005$).

	Pre-intervention		Intervention		Total (%)
	Non LCI N(%)	LCI N(%)	Non LCI N(%)	LCI N(%)	
<i>An. funestus s.l</i>	152 (7.10)	462 (18.65)	72 (4.75)	131 (24.72)	817 (12.26)
<i>An. gambiae s.l</i>	1976 (92.29)	1998 (80.66)	1422 (93.80)	392 (73.96)	5788 (86.8)
<i>An. ziemanni</i>	13 (0.61)	17 (0.69)	22 (1.45)	7 (1.32)	59 (0.89)
Total	2141 (34.98)	2477 (32.35)	1516 (24.21)	530 (8.46)	6664

Table 4. Composition of anopheline mosquito fauna in Yaounde. Non-larviciding intervention area (Non LCI), Larviciding Intervention area (LCI).

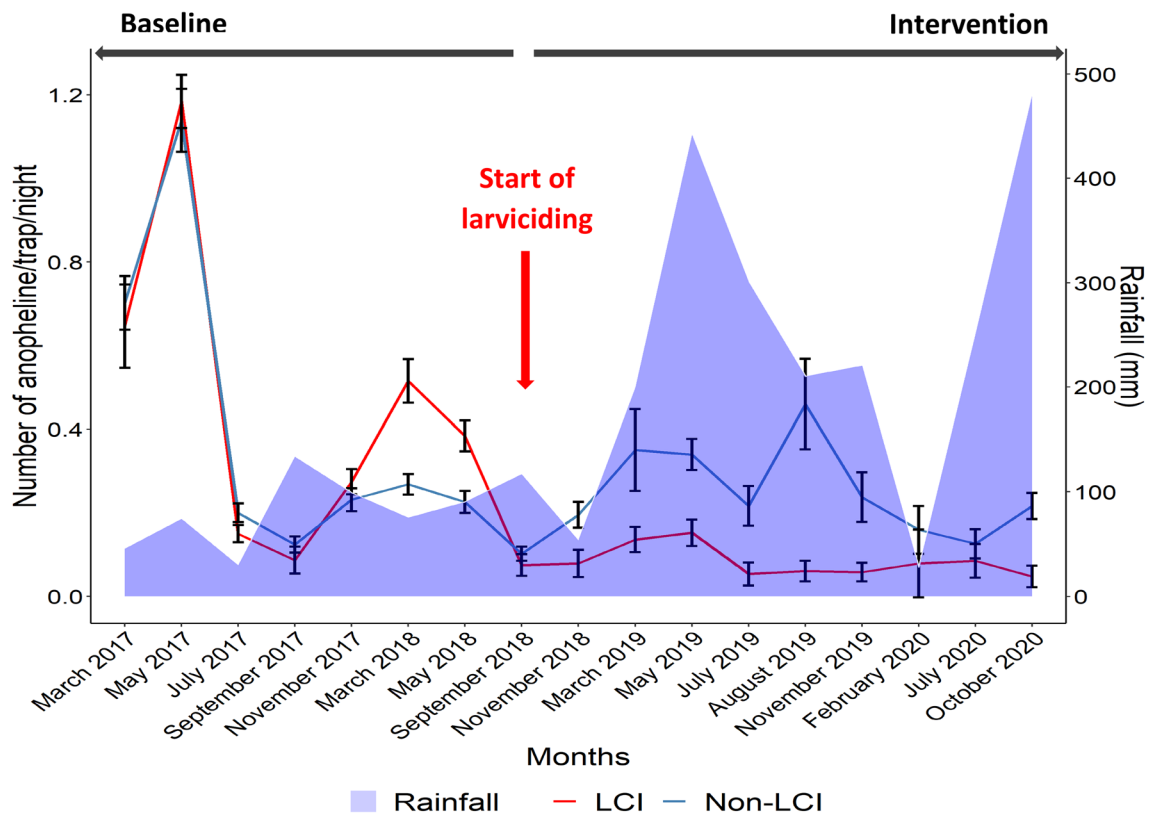


Figure 2. Fluctuation of anopheline biting density before and during larviciding intervention (Non-larviciding intervention area (Non LCI), Larviciding Intervention area (LCI)).

The influence of physicochemical factors on anopheline larvae presence in aquatic habitats before and during the intervention could be found as Supplementary Table S1. Analysis conducted indicated low influence of these factors.

Adult mosquito abundance. A total of 6664 anophelines were collected in the course of the study. Species collected included *An. gambiae s.l.*, *An. funestus* and *An. ziemanni* (Table 4). A subsample of 2762 *An. gambiae s.l.*, was processed by PCR and both *An. coluzzii* (88.42%) and *An. gambiae* (11.58%) were recorded. Within the *An. funestus* group, out of 299 mosquitoes processed, 280 (93.65%) were *An. funestus s.s.*, and 19 (6.35%) were *An. leesoni*. In almost all districts *An. coluzzii* was the predominant species; followed by *An. gambiae*. No significant variation in the composition of *An. gambiae* and *An. coluzzii* before and during the intervention was recorded in both the intervention and non-intervention areas ($P > 0.20$) (The distribution of species before and during larviciding could be found in the Supplementary Figure S1). *An. funestus* was recorded in few sites and was particularly abundant in the site of Mendong located close to the periphery with large swamps.

Adult vector density was higher at baseline than for subsequent years throughout intervention in both the intervention and non-intervention areas (Fig. 2). After launching the intervention, a steady decrease in vector density was recorded in the intervention area. The average density of anopheline collected in the non-intervention clusters varied from 0.42 anopheline/trap/night at baseline to 0.23 anopheline/trap/night during the intervention. In the intervention clusters the average density of anopheline collected by CDC light traps varied from 0.47 anopheline/trap/night at baseline to 0.082 anopheline/trap/night during intervention. Larviciding was associated

Parameters	Baseline		Intervention		Percent reduction*
	Non-intervention area (95% CI)	Intervention area (95% CI)	Non-intervention area (95% CI)	Intervention area (95% CI)	
Mean number of Anopheles per trap per night 95% CI	0.42 (0.40–0.44)	0.47 (0.45–0.49)	0.23 (0.22–0.25)	0.082(0.075–0.09)	68.14
Indoor	0.62 (0.59–0.65)	0.67 (0.64–0.70)	0.35 (0.33–0.37)	0.12 (0.11–0.13)	68.27
Outdoor	0.12 (0.11–0.134)	0.12 (0.10–0.13)	0.071(0.06–0.08)	0.03 (0.02–0.03)	57.74
Mean number of Culicine per trap per night 95% CI	15.67 (15.56–15.77)	17.20 (17.09–17.31)	10.89 (10.82–10.98)	7.58 (7.51–7.64)	36.59
Indoor	20.82 (20.66–20.98)	22.04 (21.89–22.20)	15.7 (15.57–15.83)	10.76 (10.66–10.9)	35.26
Outdoor	7.91 (7.79–8.03)	8.40 (8.27–8.54)	4.33 (4.25–4.41)	2.65 (2.59–2.71)	42.37
Average sporozoite rate (%) Mean number of infected anopheles 95% CI	2.24 (1.60–3.00)	2.49 (1.86–3.25)	1.05 (0.57–1.76)	0.75 (0.20–1.93)	35.74
Indoor	2.45 (1.7–3.4)	2.52 (1.9–3.3)	1.10 (0.58–1.9)	0.65 (0.13–1.9)	42.55
Outdoor	0.88 (0.17–3.1)	2.11 (0.57–5.39)	0.67 (0.017–3.8)	1.47 (0.04–8.2)	8.49
Annual entomological inoculation rate^a Mean number of infectious bites per person per year 95% CI	5.50 (3.75–7.86)	6.83 (4.89–9.30)	1.41 (0.74–2.57)	0.36 (0.09–1.02)	79.53
Indoor	8.87 (5.97–12.76)	9.86 (6.97–13.63)	2.25 (1.13–4.05)	0.45 (0.08–1.44)	81.77
Outdoor	0.62 (0.068–2.48)	1.48 (0.34–4.09)	0.28 (0.01–1.78)	0.26 (0.01–1.63)	61.34

Table 5. Crude entomological estimates of mosquito density and malaria transmission in Yaounde during the larviciding control trial. *Percent reduction = $100 - (\text{Non LCI at baseline/LCI at baseline} \times \text{LCI during intervention/non-LCI during intervention}) \times 100$. Non-larviciding intervention area (Non LCI), Larviciding Intervention area (LCI). ^aEstimated biting rate * 365 days per year * mean sporozoite prevalence * 1.6.

Species	Baseline		Intervention		Percentage reduction ^a
	Non-intervention area (95% CI)	Intervention area (95% CI)	Non-intervention area (95% CI)	Intervention area (95% CI)	
<i>An. gambiae</i> s.l	0.39 (0.37–0.40)	0.38 (0.36–0.40)	0.22 (0.21–0.23)	0.061 (0.05–0.068)	71.54
<i>An. funestus</i> s.l	0.029 (0.025–0.034)	0.088 (0.08–0.096)	0.011 (0.009–0.014)	0.020 (0.017–0.024)	40.08

Table 6. Impact of larviciding treatments on biting *An. gambiae* s.l. and *An. funestus* densities in Yaounde. ^aPercent reduction = $100 - (\text{Non LCI at baseline/LCI at baseline} \times \text{LCI during intervention/non-LCI during intervention}) \times 100$; Non-larviciding intervention area (Non LCI), Larviciding Intervention area (LCI).

with 68% reduction of adult anopheline biting density. The density of mosquitoes collected indoor and outdoor in control and intervention area also varied significantly. The highest reduction was recorded with mosquitoes biting indoor 68.27% versus 57.74% outdoor (Table 5). When was compared the impact of the intervention on *An. gambiae* s.l., and *An. funestus* the two main vectors species in Yaounde, it appeared that *An. gambiae* s.l., biting density was reduced by over 71% whereas *An. funestus* density was reduced by 40% (Table 6).

Crude analysis of sporozoites positive mosquitoes rate estimate showed a significant reduction of the sporozoite rate when binary logistic regression adjusting for years and group was applied (OR = 0.29; 95% CI = 0.10–0.80, $P = 0.017$). The entomological inoculation rate varied in the non-intervention area from 5.50 infected bites/person/year at the baseline to 1.41 infected bites/person/year during intervention. In the intervention area, the entomological inoculation rate dropped from 6.83 infected bites/person/year at the baseline to 0.36 infected bites/person/year during intervention. This accounted for 79% (OR 0.21; 95% CI 0.14–0.30, $P < 0.0001$) reduction of EIR.

Modeling the effect of larviciding intervention using general estimating equations after adjusting for clusters, years and seasons it appeared that at baseline, vector density and EIR in intervention and non-intervention area were readily comparable while the implementation of larviciding treatment significantly reduced the risk of being bitten by anopheline ($P < 0.05$), all this during the entire intervention period [beginning (2018), midway (2019) and end of the study (2020)] (Table 7).

The influence of house characteristics on mosquito distribution in the intervention and non-intervention areas at baseline and during the intervention is presented in Supplementary Table S2. Parameters of the house (holes on the wall, absence of ceiling, absence of screens on windows) known to increase exposure to mosquito bites were found as contributing to a less important exposure risk in intervention area compared to non-intervention area.

Evolution of *An. gambiae* s.l. susceptibility to pyrethroids and DDT. Studies conducted indicated a slight increase in the susceptibility status of *An. gambiae* females to both permethrin (mortality rates 34.16%

Parameters	Estimated means (95% CI)	P value
Baseline		
Mar 2017–July 2018	0.1576 (–0.08759, 0.4027)	0.1898
Intervention		
Sep–Dec 2018	0.09859 (0.05815, 0.1388)	0.0203
2019	0.08299 (0.05436, 0.1116)	0.0006
2020	0.06197 (0.009455, 0.1145)	0.0065
EIR (total)	0.0009444 (1.795e–05, 0.001871)	0.038

Table 7. Impact of larviciding on biting anopheline densities and malaria transmission intensity estimated using generalized estimating equations (adjusting for years and periods).

	Mortality rates/1014F allele frequency			
	Pre-intervention		Intervention	
	2017	2018	2019	2020
Permethrin 0.75%	34.16% (166/486)	7.71% (34/441)	2.07% (10/484)	39.26% (106/270)
Deltamethrin 0.05%	35.19% (411/1168)	12.30% (199/1618)	22.40% (97/433)	44.20% (80/181)
DDT 4%	1.33% (2/150)	3.05% (35/1146)	1.46% (5/342)	2% (4/200)
1014F Kdr allele frequency	60%	75%	67%	73%

Table 8. Evolution of *An. gambiae* sl susceptibility to permethrin, deltamethrin and DDT during preintervention and intervention period in the city of Yaounde.

at beginning to 39.26% at the end of the intervention) and deltamethrin (mortality rates 35.19% at beginning to 44.20% at the end of the intervention) during the trial (Table 8).

The effect of larviciding with VectoMax G on non-target organisms could be found in supplementary Table S3. The study indicated no effect of larviciding treatments on non-target species diversity.

Discussion

This study's main objective was to assess the impact of larviciding on biting anopheline densities and malaria transmission intensity in the city of Yaounde. The present study used entomological outcomes as primary endpoint rather than epidemiological outcomes because of limited financial means. In Yaounde, over 90% of households own at least a net and over 70% of the population report using net regularly⁴³. A high reduction of vector density and malaria transmission intensity was recorded with over 68% reduction of Anopheline densities collected using CDC-LT and 79% reduction of entomological inoculation rate. These figures are consistent with previous studies conducted across the continent supporting the high impact of antilarval measures on both entomological and epidemiological indicators^{22,26,27,51}. The fact that a high number of clusters (including intervention and non-intervention areas) were used and monitored before and during the intervention, mosquito collection was undertaken using the Center for Disease Control Light trap (CDC LT) and the use of different teams involved in the treatment and the monitoring of field sites as recommended by WHO^{21,52}, permitted to minimize the inclusion of bias (performance bias, selection bias, low sample size ...) and further strengthen the quality of evidences deriving from the study. Well-conducted vector control field trials are essential to inform policy making and for evidence-based decision-making⁵². Important reduction of both indoor and outdoor biting anopheline densities was recorded confirming larviciding as a promising tool for controlling outdoor malaria transmission in urban settings.

During the study, continual application of larvicide was conducted rather than seasonal (during the rainy season) as done elsewhere²⁶. This regular application of the larvicide led to a high reduction of breeding habitats with anopheline larvae, the density of anopheline larvae and late instar stages. These figures are consistent with previous findings^{33,54}. Although studies conducted so far in Yaounde suggested seasonal malaria transmission pattern^{40,42,44}, it is possible that transmission could be occurring at an undetectable rate at some periods of the year due to the permanent presence of *An. gambiae* sl in the city and gametocyte carriers. This observation supports regular application of larvicide all year long at least during the first years of the intervention. Analysis of the landscape of the city of Yaounde and transmission risk pattern also indicated a heterogeneous malaria risk with some districts more affected than others^{42,45} and is in favor for emphasizing larviciding intervention in high risk zone. *An. funestus* was less intensely affected by the intervention compared to *An. gambiae* sl and could derive from the fact that *An. funestus* breed in water bodies covered by emerging vegetation which could reduce the quantity of larvicide granules getting to water surface and available for larvae whereas, *An. gambiae* s.l. is mainly found in water bodies without vegetation⁵⁵. Limited impact of larviciding due to vegetation cover was reported in previous studies⁵⁶.

Several physico-chemical parameters were monitored in the course of the study to assess their influence on mosquito distribution or larviciding treatments efficacy. Some of them including organophosphate, sulphate, conductivity and TDS were found to display different correlation patterns with larval density in intervention compared to non-intervention areas and could translate possible interaction with the larvicide. The possible influence of physico-chemical parameters on microbial larvicide efficacy deserves further assessment.

The composition of the anopheline fauna (particularly *An. gambiae* and *An. coluzzii*) did not change significantly in the intervention and non-intervention areas before and during the intervention, which could suggest similar susceptibility status to larvicide of the two species as earlier suggested for insecticides⁵⁷. Yet, studies conducted so far also indicated different insecticide resistance mechanisms in both *An. gambiae* and *An. coluzzii* in the city of Yaounde⁴⁷. Insecticide resistance is largely spread across Yaounde^{58–60} but this seems to have had no impact on the effectiveness of larviciding treatments, since high reduction in anopheline density was recorded. A recent study in the city of Yaounde indicated longer larval development time for resistant mosquitoes compare to susceptible⁴⁹. This specific characteristic could increase the exposure of resistant mosquitoes to larvicide and increase mortality rate among insecticide resistant larvae. The following further supports the additional benefit of larviciding which could act as a complementary tool for insecticide resistance management⁶¹. Anti-larval measures could induce a reversal of resistance to pyrethroids and extend the efficacy of pyrethroid LLINs⁶². Microbial larvicides are also known to be highly efficient, specific and safe to use²¹. Moreover, the risk that resistance could emerge is very low due to the complex mode of action of these larvicides particularly *Bacillus thuringiensis* which has up to four different endotoxins²¹. Following up the susceptibility profile of anopheline mosquitoes suggested no significant evolution of pyrethroid resistance and kdr alleles. However at this stage, it is not clear whether this pattern could be associated to the implementation of larviciding activities or reflect seasonal or temporal variations in Yaounde.

A moderate reduction of adult *Culex* species biting density was recorded. The limited impact of larviciding treatments on this species could be due to the fact that these mosquitoes breed in different types of habitats such as pit latrines, which were not specifically targeted during larviciding treatments. It may also be possible that the impact of larviciding treatments in drains which are also preferential breeding habitats for *Culex* could have been limited due to the presence of solid wastes and many hiding places which could have limited the distribution of larvicide in the water⁴⁵. *Culex* mosquitoes in Yaounde have also been reported to display a high insecticide resistance profile^{46,63}.

As for houses, various factors allow mosquitoes to easily get in, including holes in walls, presence of opened eaves or absence of ceiling, which were proven to have a limited influence on indoor biting mosquito's density during intervention, compared to the baseline period in intervention areas. Also, factors preventing mosquitoes from entering houses, such as presence of screens on windows or use of LLINs were found to induce better protection in areas where larviciding intervention was implemented compared to non-intervention areas. Better housing has always been regarded as a factor that could improve protection against mosquito bites in urban settings^{48,64–66}.

The impact of the use of the microbial larvicide VectoMax on non-target organisms was also monitored and no significant impact on the non-target microfauna (*Cladocerans*, *Rotifers*, *Ostracods* and *Copepods*) was recorded. A high diversity of the microfauna was instead recorded in intervention areas. Further studies are needed to assess the effect of this larvicide on the aquatic macrofauna.

This study had some limitations. (1) Due to limited financial resources, the study mainly focused on entomological outcomes as primary endpoints rather than epidemiological outcomes as generally done. However, it provided a proof of concept that larviciding could be a suitable measure for reducing malaria transmission intensity in Yaounde. (2) The study relied on self-report assessment to measure LLIN coverage and use. This could have biased the interpretation of the added effect of larviciding on LLINs. (3) The study did not assess the cost-effectiveness of larviciding which is very important for policymakers.

Conclusion

This study sets out to advocate the fact that the use of larviciding as a complement to LLINs could be a viable solution for controlling malaria transmission in Yaounde, in a context of rapid expansion of insecticide resistance across Africa and outdoor malaria transmission. The study provided strong evidence supporting the use of larviciding as a main intervention in urban settings. Results obtained should be considered by national control programmes and local Government to implement tailored control approaches to improve the fight against vector-borne diseases in urban settings. Further studies should be carried out to assess the impact of larviciding on epidemiological outcomes in Yaounde, the cost-effectiveness of larviciding with microbial larvicide and ways to involve community in vector control activities to ensure the sustainability of such interventions.

Materials and methods

Study area. The study was conducted in Yaounde the capital of Cameroon (3° 52' 12 N; 11° 31' 12 E) (Fig. 3). Yaounde is located 726 m above sea level and receives up to 1700 mm of rainfall annually. It displays an equatorial climate with two rainy seasons extending from March to June and from September to November lasting 7 to 8 months. Despite its geographical location in the equatorial forest domain, the extension of settlements has significantly reduced the forest cover mainly found in nearby rural areas. The city extends 20 km wide and about 25 km long. Yaounde landscape comprises highlands and lowlands areas crossed by several rivers. Lowland areas are exploited during the dry season for agriculture. Houses are built on both hill slopes and in lowlands. Main rivers crossing the city include rivers Mfoundi, Ekozoa, Biyeme and Mefou.

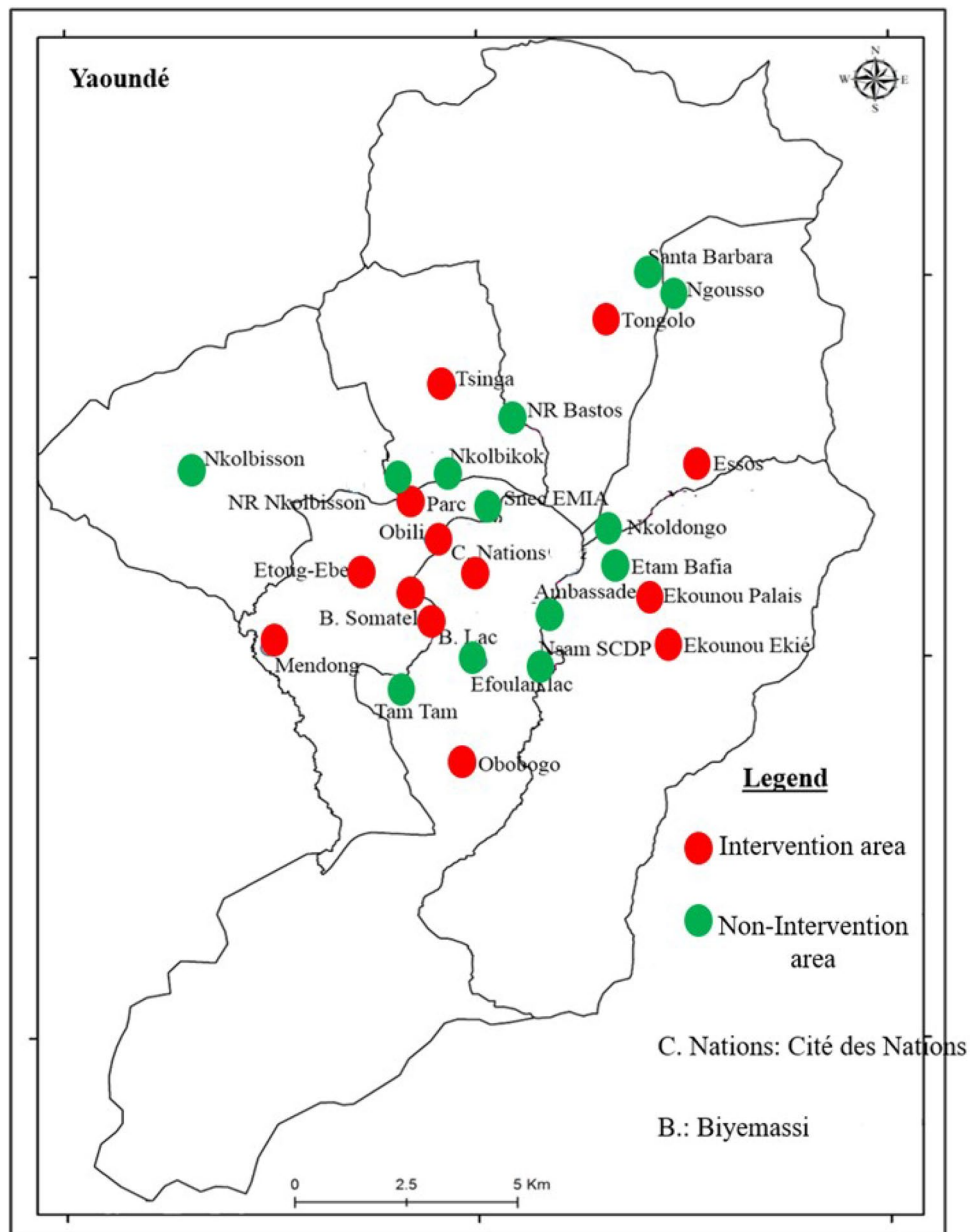


Figure 3. A map of the city of Yaoundé presenting intervention and non-intervention sites. The administrative division of Cameroon is available in open access on the OpenStreetMap platform (<https://www.openstreetmap.org/search?query=cameroon#map=6/7.406/12.283>). ArcGIS version 10.2.2 software (ESRI, Redland, CA, USA; <https://www.esri.com/enus/arcgis/about-arcgis/overview>) was used to generate the map showing study sites in Yaoundé.

Sample size justification. Assuming a baseline density of 1 anopheline/CDC-trap/night $k=0.3$ with collection conducted in 10 houses/cluster using 13 clusters/arm, it was estimated that the study will have over 80% power to detect up to 33% reduction of the density of anopheline collected using CDC-LT at the 5% significance level.

Study design and larviciding activities. The primary objective of the trial was to assess the effect of larviciding on anopheline mosquito densities and malaria transmission rate in Yaoundé. A parallel cluster randomised trial was conducted in twenty-six districts referred to as clusters (Fig. 4). Thirteen clusters served as control whereas the thirteen remaining were the intervention areas. Each cluster was an area of 2 to 4 km² crossed by a river system encompassing both lowland and highland areas. The lowland part for the majority of clusters was sparsely populated and exploited for agriculture or with human constructions. The evaluation zone was situated at the center of each cluster always in the lowland area. Clusters were separated from one another by a distance of 500 m to 1 km to minimize mosquito spillover from non-intervention to intervention sites. Administra-

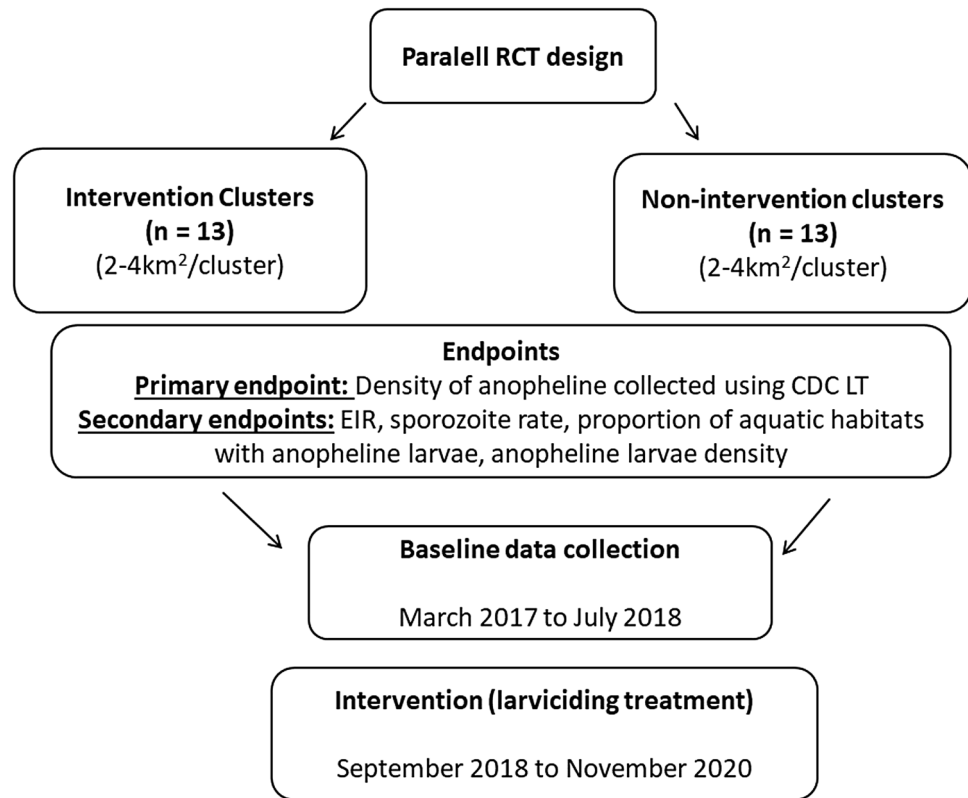


Figure 4. Trial profile design (RCT: Random Control Trial).

Activities	Baseline data collection period												Intervention Period																					
	2017						2018						2019						2020															
	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O
Baseline entomological surveys																																		
Cross sectional household surveys																																		
Routine surveillance of larval stages																																		
Larviciding treatments (twice/month)																																		
Evaluation of larviciding treatments (48h after each treatment)																																		
Adult mosquito collection (during 3 consecutive days every 2 months)																																		
Susceptibility to insecticides																																		

Figure 5. Duration of activities planned during the larviciding trial in the city of Yaounde.

tive boundaries (including roads, railways) were used to determine the limit of clusters. Baseline entomological data were collected from all clusters for 17 months, from March 2017 to July 2018. After this period microbial larvicide was applied in 13 clusters for 27 months (September 2018 to November 2020) (Fig. 4). Adult biting densities collected using CDC light traps were used as the primary outcome. At the baseline, it was noticed that >90% of households owned at least one LLIN, but only 58.5% had one LLIN for two people as requested by the WHO³⁶. At the end of the baseline sampling period, all clusters were ranked according to adult anopheline biting density. Clusters with similar biting density were grouped into pairs and from each pair, one cluster was randomly selected as the intervention site and the other as control using a computer-assisted programme.

Intervention. In intervention clusters, all aquatic habitats which could serve as potential breeding sites for mosquitoes were treated from September 2018 to November 2020 (Fig. 5). It was assumed that when larvicide

was applied to the entire cluster, the buffer zone and the fact that the evaluation was conducted at the centre of the cluster, could reduce mosquito spillover from non-intervention sites to intervention areas. Treatments were conducted using the larvicide VectoMax (Valent Biosciences Corporation, USA) a granule formulation (CG) containing as active ingredients both *B. thuringiensis israelensis* (Bti), strain AM65-52 (45 g/kg) and *B. sphaericus* (Bsph) strain ABTS-1743 (27 g/kg). VectoMax contains 50Bs international toxic units per mg of the product. According to WHO recommendations⁶⁷ this larvicide should be used at the dosage of 500 to 1500 mg/m² in open water bodies (pools, temporary puddles and artificial containers) with an effect lasting for 2 to 3 weeks. During the trial aquatic habitats were treated once every two weeks by hand application of the larvicide. Field applicators were recruited from local communities. They were supervised during each field trip by one field supervisor in each zone and trained for one month before starting larviciding activities. Application of larvicide was conducted early in the morning between 7 and 11 AM to avoid the hottest time of the day. Teams of three to four male adult applicators conducted the application of larvicide across each cluster. A minimum of 200 aquatic habitats/cluster were treated per day by a team (there were more breeding habitats in the rainy season compare to the dry season). Each team performing larviciding treatments used about 15 to 50 kg of larvicide/cluster/day depending on the size of the cluster and the availability of aquatic habitats.

Endpoints. To assess the impact of the LSM intervention we used as primary outcome adult anopheline biting density collected using CDC light traps. Secondary outcomes included the entomological inoculation rate, the sporozoite rate, the presence of anopheline larvae in breeding habitats and larval density.

Larval vector abundance. During the study, all aquatic habitats (with or without larvae) were identified and characterised. Their size, physico-chemical characteristics and the presence or absence of anopheline and culicine larvae were recorded every month.

During the intervention, water collection points were checked every week in the intervention area to find out the number of habitats containing early and late instar larvae, to determine the effectiveness of larvicide application. Surveillance of treated aquatic habitats was conducted 48 h after the treatment by a team of two people (different from those who undertook the treatment) who visited at least 50% of the treated area and all breeding habitats found with larvae were retreated. Checking larvae in aquatic habitats was also conducted in non-intervention sites once every month to capture the progression of mosquitoes in these sites. All water bodies encountered were geo-located using a Garmin eTrex GPS and recorded in a GIS database for analysis.

Water bodies were analysed to check the presence of mosquito larvae. Aquatic habitats with or without anopheline larvae were all described and registered. The immature stages of mosquitoes were collected using standard dipping technique⁶⁸. Using a 350 ml deeper, three to five dips were performed for small aquatic habitats of less than 1 m²; and five to ten dips for aquatic habitats of more than 1 m². For some habitats such as tyres or footprints which could be too shallow during certain periods, larval collection was conducted using a pipette. The average larval density (N) was estimated by calculating the ratio of the number of larvae collected per dip (using a dipper with a volume of 350 ml). Once collected larvae were classified according to their stages: early instars larvae (L1 and L2), late instars (L3, L4) and pupae. Anopheline larvae were separated from the culicines using morphologically identification keys^{69,70}. Each anopheline larvae specimen was stored individually at -20 °C and molecularly identified.

Physico-chemical characterization of aquatic habitats. Parameters recorded in each breeding site included habitats type, size, depth, exposure to sunlight, presence/absence of vegetation, distance between each water point and the nearest human dwellings, the presence/absence of predators, organic pollution status, proportion of water surface covered by vegetation or algae, aquatic habitats type (stagnant water pools, gutters, well, tire print, footprint, pit latrine....). In addition to these, the following parameters were also recorded: Total Dissolved Solids (TDS), pH, temperature, conductivity using a Jenway multiparametric probe. The concentrations of sulphates, organophosphates, hydrogen peroxide (H₂O₂), turbidity, iron and calcium were analyzed using a Wagtech spectrophotometer⁷¹.

Adult mosquitoes sampling. Adult mosquitoes were sampled using the Centre for Disease Control and Prevention Light Traps (CDC-LTs) both indoor and outdoor. Collections were performed once every two months from March 2017 to November 2020. CDC-LTs were placed indoor and outdoor in 10 homes per district. Houses used for adult mosquito collection were selected randomly. Every 50 to 100 m one house was selected randomly. If consent was not obtained from house owners the house situated next was chosen. The same houses were used for mosquito collection throughout the study. Mosquito collection were undertaken at the center of each cluster. Collections were undertaken from 7 pm to 6 am during 3 consecutive days per district per month in each district.

Mosquito processing. Once collected, anophelines were separated from culicines using morphological identification keys of Edwards et al.⁷². Anopheline species were identified using morphological identification keys of Gillies and De Meillon⁷³ and Gillies and Coetzee⁷⁴. Mosquitoes belonging to the *Anopheles gambiae* complex were further processed by PCR⁷⁵ to identify between *An. coluzzii* and *An. gambiae* the two members of the complex found in Yaoundé. Molecular identification of members of *Anopheles funestus* group was conducted according to Koekemoer et al.⁷⁶. Both adult and larvae were molecularly identified. DNA extracted from wings and legs or the whole larvae according to Livak method⁷⁷ was used for analysis. Each anopheline specimen was stored individually in a numbered Eppendorf tube containing desiccant, archived and kept in the freezer

at -20°C . Heads and thoraxes of female anophelines were tested to check the presence of circumsporozoite protein (CSP) of *Plasmodium falciparum* by ELISA, as described by Wirtz et al.⁷⁸ or using TaqMan method⁷⁹.

Insecticide bioassay. Adult females *An. gambiae* s.l. reared from larval collections in different collection sites were tested using three insecticides (deltamethrin 0.05%, permethrin 0.75% and DDT 4%) following WHO guidelines⁸⁰. *An. gambiae* s.l. females aged 3–4 days reared from larvae collected on site were placed in batches of 20 to 25 mosquitoes per tube. The mosquitoes were then transferred into tubes with insecticide-impregnated papers and exposed for 1 h. The insecticide susceptible strains *An. gambiae* s.l. Kisumu and Ngousso strains were used as control to assess the quality of impregnated papers. The number of mosquitoes knocked down by the insecticide was recorded after 1 h exposure; then, mosquitoes were fed with a 10% sugar solution and the number of dead mosquitoes recorded 24 h post-exposure. Mosquitoes subjected to untreated papers were systematically included as controls. To detect the presence of the *kdr* alleles (L1014F and L1014S) conferring resistance to DDT and pyrethroids, DNA extracted from a sub-sample of *An. gambiae* s.l. females were screened using the TaqMan assay⁸¹.

Household surveys. Household surveys were conducted using a questionnaire. The following information was recorded: house characteristics (building material), geographical coordinates of the house, features to prevent mosquitoes from entering (screen, ceiling, close eaves) or those allowing mosquito to enter (holes on the wall, absence of ceiling, open eaves), presence and usage of LLINs, or other antimalarial measures, socio-demographic information of each household (occupation, education level, number of inhabitants per house).

Blinding. Entomological data collection was not blinded to the assignment of mosquito larval control interventions in the different clusters. Field applicators were blinded to the sites selected for larval surveys. Residents were aware of the implementation of the intervention. Adult mosquito collection was conducted using CDC light traps to avoid performance bias. Collections were conducted each month for three consecutive days to lessen variation due to rainfall or temperature. Laboratory technicians processing samples or conducting laboratory analysis were blinded to the identity of the cluster.

Ethical clearance and authorizations. The study was conducted under the ethical clearance N° 2016/11/832/CE/CNERSH/SP delivered by Cameroon National Ethics Committee on Human Health. Further informed consent was obtained from the senior division administrator of the city of Yaoundé and each local District Medical Officer. Verbal and written informed consents were obtained from all respondents and the study purpose was explained to them. Permission to carry the trial was given by the Ministry of Public Health of Cameroon (Reference: 631-06-17). All experiments were performed in accordance with relevant guidelines and regulations.

Research and import permit for the use of VectoMax in Cameroon was granted by the Minister of Trade (Reference IF014167; IF021096; IF031126).

Data analysis. Data were collected on forms, checked first to ensure they were filled comprehensively, then recorded in excel databases. Linear mixed models with random intercepts and Generalized Estimating Equations were used to assess the effect of larviciding treatment on the presence of anopheline larvae (early and late instars) in water collection points as well as adult anopheline density, infection rate and Entomological Inoculation Rate (EIR) respectively. In a preliminary analysis, follow-up curves for the non-intervention and intervention areas were constructed to visualize differences in the responses between the two sites. Average trends and local polynomial regressions of the presence of anopheline larvae (early and late instars) in water collections, *anopheline* density, infection rate and EIR with date of evaluation were also constructed separately for the different groups to further visualize these differences. We also estimated a null model with random intercept and calculated the intraclass correlation coefficient (ICC) associated with the presence of anopheline larvae, *anopheline* density, infection rate and EIR respectively. Generalized Estimating Equations were further used to assess the impact of larviciding on anopheline larvae presence in aquatic habitats with clustering by water bodies and zone included as random effects. GEE analyses were also used to assess the impact of larviciding on adult *Anopheline* density, infection rate and EIR by treating larviciding as a categorical independent factor in the model. Comparisons were adjusted for survey periods (months), years, baseline densities and clustering by traps and cluster. In all these cases, the identity link function with a Gaussian distribution was used, and we resorted to model with independent correlation structures. Clusters were treated as the geographic location, year as the indicator of time, larval presence in aquatic habitats, anopheline densities and EIR estimated as means for each cluster over the full year or the duration of the intervention. Although in the present analysis Clusters were used as the experimental units for the analysis which allowed the impact of larviciding to be estimated, some individual factors operating at the house level were also assessed. We control for individual level factors such as houses by treating individual houses as experimental units and preventing cluster larviciding covariance by restricting our analysis to the 466 houses used for mosquito collection surveyed during both the baseline and intervention period. A first order autoregressive relationship was applied for all repeated measurements. All analyses were carried out with the R 4.0.2 software using the R packages nlme, ggplot2, plyr, lattice, car, effects, emmeans and data.table. Odds ratios and risk ratio were calculated and adjusted for the year of intervention, cluster and season. Binary logistic regression was used to assess the distribution between species and physicochemical parameters in intervention and non-intervention areas. The Entomological inoculation rate was calculated by multiplying the mean density of mosquitoes collected in light traps in each cluster by the proportion of infected mosquitoes, by the number of days in the year and by 1.6 (the coefficient of underestimation of light trap compare to human landing

catches after preliminary studies). The percentage reduction of mosquito densities and EIR following larviciding intervention were estimated using Mulla formula⁸².

Data availability

The datasets supporting the findings of this paper are included in this paper.

Received: 27 April 2021; Accepted: 3 August 2021

Published online: 24 August 2021

References

- Guengant, J.-P. & May, J. F. African demography. *Glob. J. Emerg. Mark. Econ.* **5**, 215–267 (2013).
- Neiderud, C.-J. How urbanization affects the epidemiology of emerging infectious diseases. *Infect. Ecol. Epidemiol.* **5**, 27060 (2015).
- Eder, M. *et al.* Scoping review on vector-borne diseases in urban areas: Transmission dynamics, vectorial capacity and co-infection. *Infect. Dis. Poverty* **7**, 1–24 (2018).
- Keiser, J. *et al.* Urbanization in sub-Saharan Africa and implication for malaria control. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **71**, 118–127 (2004).
- Tusting, L. S. *et al.* Environmental temperature and growth faltering in African children: A cross-sectional study. *Lancet Planet. Health* **4**, e116–e123. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(20\)30037-1](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(20)30037-1) (2020).
- Hay, S. I. *et al.* Climate variability and malaria epidemics in the highlands of East Africa. *Trends Parasitol.* **21**, 52–53 (2005).
- Bhatt, S. *et al.* The effect of malaria control on *Plasmodium falciparum* in Africa between 2000 and 2015. *Nature* **526**, 207–211. <https://doi.org/10.1038/nature15535> (2015).
- Kamau, A., Mogeni, P., Okiro, E. A., Snow, R. W. & Bejon, P. A systematic review of changing malaria disease burden in sub-Saharan Africa since 2000: Comparing model predictions and empirical observations. *BMC Med.* **18**, 1–11 (2020).
- Nkumama, I. N., O'Meara, W. P. & Osier, F. H. Changes in malaria epidemiology in Africa and new challenges for elimination. *Trends Parasitol.* **33**, 128–140 (2017).
- World Health Organization. *World Malaria Report 2020: 20 Years of Global Progress and Challenges* (WHO, 2020).
- World Health Organization. *World Malaria Report 2012* (World Health Organization, 2012).
- Report, W. M. *. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO* (World Health Organization, 2019).
- Ranson, H. & Lissenden, N. Insecticide resistance in African Anopheles mosquitoes: A worsening situation that needs urgent action to maintain malaria control. *Trends Parasitol.* **32**, 187–196 (2016).
- Ranson, H. *et al.* Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: What are the implications for malaria control?. *Trends Parasitol.* **27**, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.08.004> (2011).
- Moyes, C. L. *et al.* Evaluating insecticide resistance across African districts to aid malaria control decisions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **117**, 22042–22050 (2020).
- Moyes, C. L. *et al.* Contemporary status of insecticide resistance in the major Aedes vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **11**, e0005625 (2017).
- Staedke, S. G. *et al.* LLIN evaluation in Uganda Project (LLINEUP)—Impact of long-lasting insecticidal nets with, and without, piperonyl butoxide on malaria indicators in Uganda: Study protocol for a cluster-randomised trial. *Trials* **20**, 1–13 (2019).
- Hemingway, J. *et al.* Country-level operational implementation of the global plan for insecticide resistance management. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 9397–9402. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307656110> (2013).
- Chanda, E. *et al.* Scale-up of integrated malaria vector control: Lessons from Malawi. *Bull. World Health Organ.* **94**, 475 (2016).
- Derua, Y. A., Kweka, E. J., Kisinza, W. N., Githeko, A. K. & Mosha, F. W. Bacterial larvicides used for malaria vector control in sub-Saharan Africa: Review of their effectiveness and operational feasibility. *Parasit. Vectors* **12**, 1–18 (2019).
- WHO. *Larval Source Management: A Supplementary Measure for Malaria Vector Control* (World Health Organization, 2013).
- Dambach, P. *et al.* Reduction of malaria vector mosquitoes in a large-scale intervention trial in rural Burkina Faso using Bti based larval source management. *Malar. J.* **18**, 1–9 (2019).
- Fillinger, U. & Lindsay, S. W. Larval source management for malaria control in Africa: Myths and reality. *Malar. J.* <https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-353> (2011).
- Shousha, A. T. Species-eradication: The eradication of Anopheles gambiae from Upper Egypt, 1942–1945. *Bull. World Health Organ.* **1**, 309 (1948).
- Utzing, J., Tozan, Y. & Singer, B. H. Efficacy and cost-effectiveness of environmental management for malaria control. *Trop. Med. Int. Health* **6**, 677–687. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2001.00769.x> (2001).
- Fillinger, U., Ndenga, B., Githeko, A. & Lindsay, S. W. Integrated malaria vector control with microbial larvicides and insecticide-treated nets in western Kenya: A controlled trial. *Bull. World Health Organ.* **87**, 655–665 (2009).
- Choi, L., Majambere, S. & Wilson, A. L. Larviciding to prevent malaria transmission. *Cochrane Database Syst. Rev.* **8**, CD012736 (2019).
- Tusting, L. S. *et al.* Socioeconomic development as an intervention against malaria: A systematic review and meta-analysis. *Lancet* **382**, 963–972. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)60851-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(13)60851-x) (2013).
- Choi, L. & Wilson, A. Larviciding to control malaria. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2017**, CD012736. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012736> (2017).
- Tusting, L. S. *et al.* Mosquito larval source management for controlling malaria. *Cochrane Database Syst. Rev.* **8**, CD008923 (2013).
- Geissbuhler, Y. *et al.* Microbial larvicide application by a large-scale, community-based program reduces malaria infection prevalence in urban Dar es Salaam. *Tanzania. PLoS One.* **4**, e5107. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005107> (2009).
- Castro C. M. *et al.* Community-based environmental management for malaria control: evidence from a small-scale intervention in Dar es Salaam, Tanzania. *Malar. J.* **8**, 57 (2009).
- Maheu-Giroux, M. & Castro, M. C. Impact of community-based larviciding on the prevalence of malaria infection in Dar es Salaam, Tanzania. *PLoS ONE* **8**, e71638. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071638> (2013).
- World Health Organization. *A Framework for Malaria Elimination* (World Health Organization, 2017).
- World Health Organization. 11th World Malaria Day “Ready to Beat Malaria” We are the Generation that can End Malaria (ed. World Health Organization). (World Health Organization, 2018).
- Institut National de Statistiques and IFC. *Enquête Démographique et de Santé du Cameroun* (ed. INS. ICF) 1–515 (INS, 2020).
- Barbazan, P. *et al.* Control of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) with *Bacillus sphaericus* in Maroua, Cameroon. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **13**, 263–269 (1997).
- Hougard, J.-M. *et al.* Lutte contre *Culex quinquefasciatus* par *Bacillus sphaericus*: résultats d'une campagne pilote dans une agglomération urbaine d'Afrique équatoriale. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé* **71**, 367–375 (1994).
- Antonio-Nkondjio, C. *et al.* Anopheles gambiae distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): Influence of urban agriculture and pollution. *Malar. J.* <https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-154> (2011).
- Tene Fossog, B. *et al.* Water quality and Anopheles gambiae larval tolerance to pyrethroids in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon). *J. Trop. Med.* **2012**, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2012/429817> (2012).

41. Fondjo, E., Robert, V., Le Goff, G., Toto, J. & Carnevale, P. Urban malaria transmission in Yaounde (Cameroon). 2. Entomologic study in 2 semi urban districts. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* **85**, 57–63 (1992).
42. Manga, L., Robert, V., Messi, J., Desfontaines, M. & Le Carnevale, P. paludisme urbain à Yaoundé, Cameroun. 1-Etude entomologique dans deux quartiers centraux. *Mém. Soc. R Belge Entomol.* **35**, 155–162 (1992).
43. Doumbe-Belisse, P. *et al.* High malaria transmission sustained by *Anopheles gambiae* sl occurring both indoors and outdoors in the city of Yaoundé, Cameroon. *Wellcome Open Res.* **3**, 164 (2018).
44. Talipouo, A. *et al.* Malaria prevention in the city of Yaoundé: Knowledge and practices of urban dwellers. *Malar. J.* **18**, 167. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2799-6> (2019).
45. Djamouko-Djonkam, L. *et al.* Implication of *Anopheles funestus* in malaria transmission in the city of Yaoundé, Cameroon. *Parasite* **27**, 10 (2020).
46. Djamouko-Djonkam, L. *et al.* Spatial distribution of *Anopheles gambiae* sensu lato larvae in the urban environment of Yaoundé, Cameroon. *Infect. Dis. Poverty* **8**, 1–15 (2019).
47. Nchoutpouen, E. *et al.* *Culex* species diversity, susceptibility to insecticides and role as potential vector of Lymphatic filariasis in the city of Yaoundé, Cameroon. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **13**, e0007229 (2019).
48. Bamou, R. *et al.* Status of insecticide resistance and its mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Anopheles coluzzii* populations from forest settings in south Cameroon. *Genes* **10**, 741 (2019).
49. Ngadjeu, C. S. *et al.* Influence of house characteristics on mosquito distribution and malaria transmission in the city of Yaoundé, Cameroon. *Malar. J.* **19**, 53 (2020).
50. Nkahe, D. L. *et al.* Fitness cost of insecticide resistance on the life-traits of a *Anopheles coluzzii* population from the city of Yaoundé, Cameroon. *Wellcome Open Res.* **5**, 171 (2020).
51. Historique-Meteo. <https://www.historique-meteo.net/afrique/cameroun/> (2020).
52. Govella, N. *et al.* A new tent trap for sampling exophagic and endophagic members of the *Anopheles gambiae* complex. *Malar. J.* **8**, 157. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-8-157> (2009).
53. Wilson, A. L. *et al.* Evidence-based vector control? Improving the quality of vector control trials. *Trends Parasitol.* **31**, 380–390 (2015).
54. Fillinger, U., Sonye, G., Killeen, G. F., Knols, B. G. & Becker, N. The practical importance of permanent and semipermanent habitats for controlling aquatic stages of *Anopheles gambiae* sensu lato mosquitoes: Operational observations from a rural town in western Kenya. *Trop. Med. Int. Health* **9**, 1274–1289 (2004).
55. Majambere, S., Lindsay, S. W., Green, C., Kandeh, B. & Fillinger, U. Microbial larvicides for malaria control in The Gambia. *Malar. J.* **6**, 1–14 (2007).
56. Gillies, M. T. & Coetzee, M. *A Supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara (Afrotropical Region)* (South African Institute for Medical Research, 1987).
57. Majambere, S. *et al.* Is mosquito larval source management appropriate for reducing malaria in areas of extensive flooding in The Gambia? A cross-over intervention trial. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **82**, 176–184 (2010).
58. Fossog Tene, B. *et al.* 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**, e61408. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061408> (2013).
59. Antonio-Nkondjio, C. *et al.* Investigation of mechanisms of bendiocarb resistance in *Anopheles gambiae* populations from the city of Yaoundé, Cameroon. *Malar. J.* **15**, 424. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1483-3> (2016).
60. Antonio-Nkondjio, C. *et al.* Rapid evolution of pyrethroid resistance prevalence in *Anopheles gambiae* populations from the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon). *Malar. J.* **14**, 155. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0675-6> (2015).
61. Bamou, R. *et al.* Assessment of the Anophelinae blood seeking bionomic and pyrethroids resistance of local malaria vectors in the forest region of Southern Cameroon. *JEZS* **8**, 1054–1062 (2020).
62. World Health Organization. *The Role of Larviciding for Malaria Control in Sub-Saharan Africa: Interim Position Statement* (World Health Organization, 2012).
63. Talipouo, A. *et al.* High insecticide resistance mediated by different mechanisms in *Culex quinquefasciatus* populations from the city of Yaoundé, Cameroon. *Sci. Rep.* **11**, 1–11 (2021).
64. Haines, A. *et al.* Promoting health and advancing development through improved housing in low-income settings. *J. Urban Health* **90**, 810–831 (2013).
65. Tusting, L. S. *et al.* Housing improvements and malaria risk in sub-Saharan Africa: A multi-country analysis of survey data. *PLoS Med.* **14**, e1002234. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002234> (2017).
66. Tusting, L. S. *et al.* The evidence for improving housing to reduce malaria: A systematic review and meta-analysis. *Malar. J.* **14**, 209. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0724-1> (2015).
67. Organization, W. H. *Report of the Nineteenth WHOPEs Working Group Meeting: WHO/HQ, Geneva, 8–11 February 2016: Review of Veeralin LN, VectoMax GR, Bactivec SC.* (World Health Organization, 2016).
68. Service M. *Mosquito Ecology. Field Sampling Methods* (Elsevier Applied Science, 1993).
69. Edwards, F. W. Mosquitoes of the Ethiopian Region. HI.-Culicine Adults and Pupae. *Mosquitoes of the Ethiopian Region. HI.-Culicine Adults and Pupae* (1941).
70. Edwards, F. W. *Mosquitoes of the Ethiopian region. III, Culicine adults and pupae* (Brit. Mus. Nat. Hist., 1941).
71. Gillies, M. & Coetzee, M. A supplement to the Anophelinae of Africa south of the Sahara (Afrotropical region). *Pub South Afr Inst Med Res* **55**, 143 (1987).
72. Wagtech, P. Water Quality Testing 1–139. <https://www.palintest.com/product-categories/wagtech/> (Wagtech, 2012).
73. Gillies, M. T. & DeMeillon, B. *The Anopheline of Africa, south of the Sahara (Ethiopian zoogeographical region)* Johannesburg: publication of south African Institute of Medical Research no. 54. (SAIMR, 1968).
74. Gillies, T. & Coetzee, M. *Supplement of the Anopheles of Africa south of Sahara (Afrotropical region)* (Publication of the South African Institute of Medical Research, 1987).
75. Santolamazza, F. *et al.* Distribution of knock-down resistance mutations in *Anopheles gambiae* molecular forms in west and west-central Africa. *Malar. J.* **7**, 74 (2008).
76. Koekemoer, L., Kamau, L., Hunt, R. & Coetzee, M. A cocktail polymerase chain reaction assay to identify members of the *Anopheles funestus* (Diptera: culicidae) group. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **66**, 804–811 (2002).
77. Livak, K. J. Organization and mapping of a sequence on the *Drosophila melanogaster* X and Y chromosomes that is transcribed during spermatogenesis. *Genetics* **107**, 611–634 (1984).
78. Wirtz, R., Burkot, T., Graves, P. & Andre, R. Field evaluation of enzymelinked immunosorbent assays for *P. falciparum* and *P. vivax* sporozoites in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from Papua, new Guinea. *J. Med. Entomol.* **24**, 433–437. <https://doi.org/10.1093/jmedent/24.4.433> (1987).
79. Bass, C. *et al.* PCR-based detection of Plasmodium in Anopheles mosquitoes: A comparison of a new high-throughput assay with existing methods. *Malar. J.* **7**, 177 (2008).
80. WHO. *Test Procedures for Insecticide Resistance Monitoring in Malaria Vector Mosquitoes* (WHO, 2013). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013140>.
81. Bass, C. *et al.* Detection of knockdown resistance (kdr) mutations in *Anopheles gambiae*: A comparison of two new high-throughput assays with existing methods. *Malar. J.* **6**, 1–14. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-6-111> (2007).

82. Mulla, M. S., Norland, L. R., Fanara, D. M., Darwazeh, H. A. & McKean, D. W. Control of chironomid midges in recreational lakes. *J. Econ. Entomol.* **64**, 300–307 (1971).

Acknowledgements

This work received financial support from Wellcome Trust senior Fellowship in Public Health and Tropical Medicine (202687/Z/16/Z) to CAN. The funding body did not had any role in the design, data collection, analysis and interpretation of data and in writing the manuscript. We thank Mr. Fessuh Bertrand for his assistance on statistical analysis. We thank the authorities and the population of selected study sites in Yaounde.

Author contributions

Conceived and designed the study protocol: C.W., C.A.N., Conducted field and laboratory analysis: D.B.P., N.C.S., T.A., K.E., B.R., D.D.L., N.L., S.C.N., T.R., M.P.A., P.A.A. critically revised the manuscript: A.F.D., T.R., B.D.J., P.A.A., C.W.; Interpreted, analysed data and wrote the paper: C.A.N. with contribution of other authors. All the authors read and approved the final version.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96362-z>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to C.A.-N.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.






© The Author(s) 2021

2. Doumbe-Belisse, P., Ngadjeu, C. S., Sonhafouo-Chiana, N., Talipouo, A., Djamouko-Djonkam, L., Kopya, E., Bamou, R., Toto, J.C., Mouchili, S., Tabue, R., Awono-Ambene, P., Wondji C.S., Njiokou, F. & Antonio-Nkondjio, C. (2018). High malaria transmission sustained by *Anopheles gambiae* s.l. occurring both indoors and outdoors in the city of Yaoundé, Cameroon. Wellcome Open Research, 3.



RESEARCH ARTICLE

High malaria transmission sustained by *Anopheles gambiae* s.l. occurring both indoors and outdoors in the city of Yaoundé, Cameroon [version 1; referees: awaiting peer review]

Patricia Doumbe-Belisse ^{1,2}, Carmene Sandra Ngadjou^{1,2},
Nadege Sonhafouo-Chiana^{1,3}, Abdou Talipouo^{1,2}, Landre Djamouko-Djonkam ^{1,4},
Edmond Kopya^{1,2}, Roland Bamou^{1,4}, Jean Claude Toto¹, Souleyman Mouchili²,
Raymond Tabue ⁵, Parfait Awono-Ambene¹, Charles Sinclair Wondji ⁶,
Flobert Njiokou², Christophe Antonio-Nkondjio ^{1,6}

¹Malaria Research Laboratory, OCEAC, Yaoundé, Cameroon

²University of Yaoundé 1, Yaoundé, Cameroon

³University of Buea, Buea, Cameroon

⁴University of Dschang, Dschang, Cameroon

⁵National Malaria Control Programme, Yaoundé, Cameroon

⁶Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, L3 5QA, UK

v1 First published: 23 Dec 2018, 3:164 (<https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14963.1>)

Latest published: 23 Dec 2018, 3:164 (<https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14963.1>)

Abstract

Background: Malaria remains a major public health problem in Cameroon; however, despite reports on the adaptation of anopheline species to urban habitats, there is still not enough information on malaria transmission pattern in urban settings. In the frame of a larval control trial in the city of Yaoundé, we conducted baseline surveys to assess malaria transmission dynamics in this city.

Methods: Adult mosquitoes were collected indoors and outdoors using CDC light traps and human landing catches from March 2017 to March 2018 in 30 districts of Yaoundé, Cameroon. Mosquitoes were sorted by genus and identified to the species level using PCR. The TaqMan method and ELISA were used to determine mosquito infection status to *Plasmodium*. Bioassays were conducted to assess female *Anopheles gambiae* susceptibility to insecticides.

Results: A total of 218,991 mosquitoes were collected. The main malaria vectors were *An. gambiae* s.l. (n=6154) and *An. funestus* s.l. (n=229). Of the 1476 *An. gambiae* s.l. processed by PCR, 92.19% were *An. coluzzii* and 7.81% *An. gambiae*. *An. funestus* s.l. was composed of 93.01% (173/186) *An. funestus* and 4.84% (13/186) *An. leesonii*. The average biting rate of anopheline was significantly high outdoor than indoor (P=0.013). Seasonal variation in mosquito abundance and biting rate was recorded. The infection rate by *Plasmodium falciparum* was 2.13% (104/4893 mosquitoes processed). The annual entomological inoculation rate was found to vary from 0 to 92 infective bites/man/year (ib/m/y). Malaria transmission risk was high outdoor (66.65

Open Peer Review

Referee Status: AWAITING PEER

REVIEW

Discuss this article

Comments (0)

ib/m/y) compared to indoor (31.14 ib/m/y). *An. gambiae* s.l. was found highly resistant to DDT, permethrin and deltamethrin. High prevalence of the West Africa *kdir* allele 1014F was recorded and this was not found to influence *An. gambiae* s.l. infection status.

Conclusion: The study suggests high malaria transmission occurring in the city of Yaoundé and call for immediate actions to improve control strategies.

Keywords

Malaria, urbanization, Anopheles, transmission, Yaoundé, Cameroon

Corresponding author: Christophe Antonio-Nkondjio (antonio_nk@yahoo.fr)

Author roles: **Doumbe-Belisse P:** Data Curation, Formal Analysis, Investigation, Methodology, Visualization, Writing – Original Draft Preparation; **Ngadjeu CS:** Data Curation, Investigation; **Sonhafouo-Chiana N:** Data Curation, Investigation; **Talipouo A:** Data Curation, Investigation; **Djamouko-Djonkam L:** Data Curation, Investigation; **Kopya E:** Investigation; **Bamou R:** Formal Analysis, Investigation; **Toto JC:** Investigation; **Mouchili S:** Formal Analysis; **Tabue R:** Writing – Review & Editing; **Awono-Ambene P:** Writing – Review & Editing; **Wondji CS:** Supervision, Writing – Review & Editing; **Njiokou F:** Writing – Review & Editing; **Antonio-Nkondjio C:** Conceptualization, Funding Acquisition, Project Administration, Supervision, Validation, Visualization, Writing – Original Draft Preparation, Writing – Review & Editing

Competing interests: No competing interests were disclosed.

Grant information: This work received financial support from Wellcome Trust senior Fellowship in Public Health and Tropical Medicine (202687/Z/16/Z) to CAN.

The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Copyright: © 2018 Doumbe-Belisse P *et al.* This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution Licence](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

How to cite this article: Doumbe-Belisse P, Ngadjeu CS, Sonhafouo-Chiana N *et al.* **High malaria transmission sustained by *Anopheles gambiae* s.l. occurring both indoors and outdoors in the city of Yaoundé, Cameroon [version 1; referees: awaiting peer review]** Wellcome Open Research 2018, 3:164 (<https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14963.1>)

First published: 23 Dec 2018, 3:164 (<https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14963.1>)

Introduction

The world population has registered unprecedented growth during the last decades with Africa and Asia displaying the most important rates¹. The fast demographic growth registered so far has increased the path of urbanization across Africa. There are more and more cities with over a million inhabitants and megacities with 5 to 10 million inhabitants². Because in most parts of Africa the rapid development of cities is often associated with unplanned urbanization, this could have important public health implications for vector-borne diseases such as malaria^{1,3}. Urban malaria is now considered as an emerging health problem in Africa and is receiving further consideration in many countries⁴⁻⁷. In Cameroon the population is estimated at 25 million inhabitants and over ¼ of this population is considered to live in the two main cities of the country, Yaoundé and Douala⁸. Yaoundé, the capital city of Cameroon has seen its population multiplied by 6 over the two last decades and now has a population estimated at about 3 million inhabitants⁸. The city is situated at the heart of the equatorial forest region and irrigated by numerous rivers. In the 1950s, indoor spraying campaigns conducted in Yaoundé and its surroundings, resulted in a decrease transmission level and Plasmodium prevalence in the population to near to zero⁹. At 30 years after interruption of these campaigns, very limited transmission level was still recorded in the city centre. In the 1990s, in the districts of Obili and Essos, Manga *et al.*¹⁰ reported no infected mosquitos, whereas moderate level of transmission varying from 14 to 30 infected bites per man per year was recorded in the districts of Nkolbikok and Nkolbisson¹¹. Similar transmission levels (3–33 infected bites per man per year) were recorded few years later in the central district of Dakar^{12,13}. Contrasting pattern was, however, recorded at the city periphery or nearby rural settings where transmission levels varying from 277 to 350 infected bites per man per year were recorded¹⁴⁻¹⁶.

Bionomic studies conducted from 2000 onwards indicated important changes on vector populations. In the cities of Douala and Yaoundé, increased distribution of mosquito in polluted habitats and artificial breeding sites was reported¹⁷. Moreover, mosquitoes breeding in polluted areas or cultivated sites were found to be more resistant to insecticides compared to those breeding in unpolluted sites^{17,18}. Rapid evolution of insecticide resistance was also recorded in vector populations and an increase in the prevalence of resistance genes such as *kdr* was observed^{19,20}. The exposition of mosquito to xenobiotics was found to shape the distribution of *Anopheles gambiae* and *Anopheles coluzzii* in the cities of Douala and Yaoundé with *Anopheles coluzzii* more tolerant to pollutants being predominant in the urban centre whereas *Anopheles gambiae* less tolerant to pollutants being prevalent in rural settings^{21,22}. Laboratory experiments provided evidence supporting a possible influence of this adaptation on the vectorial competence of these two species, with *An. coluzzii* being more competent to transmit malaria parasite compare to *An. gambiae*²³.

In addition to the rapid demographic growth of the city, important physical changes have occurred during the last decade with the construction of new roads and buildings, creation of

parks and the drainage of rivers. Yet it is still unknown whether the current adaptation of malaria vectors to the urban environment and physical changes occurring in the city are affecting malaria transmission pattern and vector biting behavior. The present study was conducted in 30 districts of the city of Yaoundé to assess the trend of malaria transmission and to capture spatial and temporal variations.

Methods

Study site

The study was conducted in Yaoundé, the capital city of Cameroon (3° 52' 12 N; 11° 31' 12 E). Yaoundé is situated 726 meters above sea level and receives over 1700 mm of rainfall annually. Yaoundé features an equatorial climate with two raining seasons extending from March to June and from September to November lasting 7 to 8 months. Although Yaoundé is situated in the equatorial forest domain, the extension of settlements has significantly reduced the forest cover which is now restricted to the nearby rural area. The city extends on 20 km wide and about 25 km long. Yaoundé landscape comprises highland and lowland areas, which are irrigated by several rivers. Lowland areas are exploited during the dry season for agriculture. Main rivers present in the city are rivers Mfoundi, Ekooza, Biyeme and Mefou, Adult mosquitoes' collections were performed in thirty districts (Figure 1).

Mosquitoes sampling

Adult mosquitoes were sampled using Human Landing Catches (HLC) and the Centres for Disease Control and Prevention Light Traps (CDC-LTs) both indoors and outdoors. Collections were performed once every 2 months from March 2017 to March 2018.

There were four HLC volunteers trained to collect mosquitoes landing on their legs. Collections were performed from 19:00 to 06:00 AM indoors and outdoors. During each night two teams of collectors were used to avoid bias due to sleep and tiredness.

A total of 16 to 20 CDC- LTs were placed indoors and outdoors in 10 to 15 houses per district. Collections were undertaken from 19:00 to 06:00 during 3 consecutive days per district per month.

The study was conducted under the ethical clearance No. 2018/06/1039/CE/CNERSH/SP delivered by the Cameroon National Ethics (CNE) Committee for Research on Human Health Ref N°D30-172/L/MINSANTE/SG/DROS/TMC of 4 April 2017. All volunteers participating to human landing catches signed a written inform consent form indicating their willingness to take part to the study and received free malaria prophylaxis.

Mosquito processing

Once collected, anophelines were separated from culicines using the morphological identification keys of Edwards *et al.*²⁴. Anopheline species were identified using morphological identification keys of Gillies and De Meillon²⁵ and Gillies and Coetzee²⁶. Mosquitoes belonging to the *Anopheles gambiae*

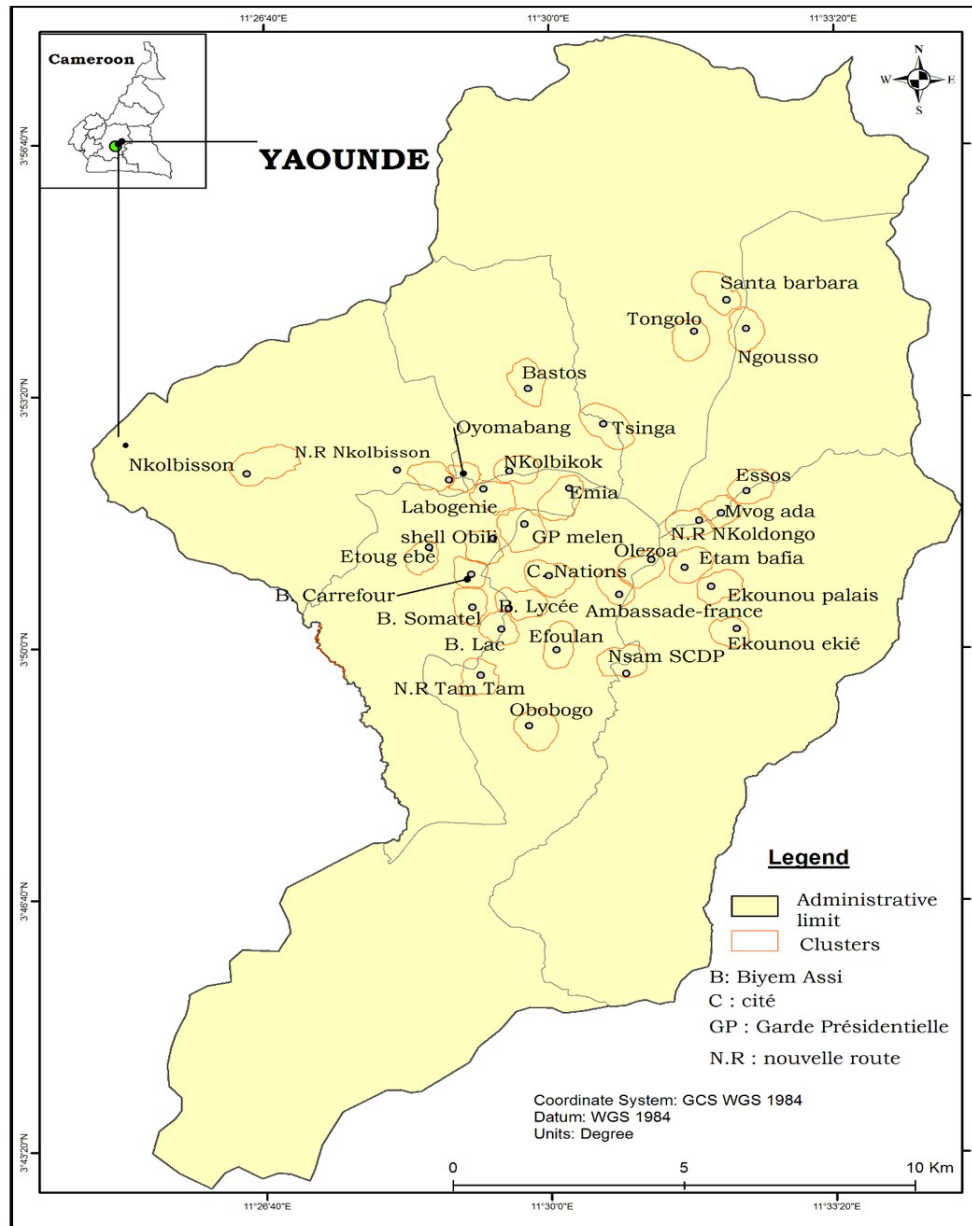


Figure 1. Map of Yaoundé city showing study sites. Source: National Institute of Cartography, Cameroon.

complex were further processed by PCR²⁷ to identify between *Anopheles coluzzii* and *Anopheles gambiae*, the two members of the complex found in Yaoundé. Molecular identification of members of the *Anopheles funestus* was conducted using the protocol of Koekemoer *et al.*²⁸. DNA extracted from the wings and legs according to the Livak method²⁹ was used for the analysis. Each anopheline specimen was stored individually in a numbered Eppendorf tube containing dessicant, archived and kept in a freezer at -20°C . The heads and thoraxes of female anophelines were tested for the presence of circumsporozoite protein (CSP) of *Plasmodium falciparum* by ELISA, as described by Wirtz *et al.*³⁰ or using the Taqman method³¹.

Insecticide susceptibility tests

Susceptibility of *An. gambiae* s.l. to 0.75% permethrin, 0.05% deltamethrin, 0.1% bendiocarb and 4% DDT was assessed using the WHO guidelines³² at temperatures of $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ and 70–80% relative humidity. Insecticide susceptibility tests were performed with 2- to 4-day-old unfed females. Batches of 20 to 25 mosquitoes per tube were exposed to impregnated papers for 1 hour. The number of mosquitoes knocked down by the insecticide was recorded every 10 minutes during exposure. After exposure, mosquitoes were fed with a 10% glucose solution and the number of dead mosquitoes was recorded 24 hours post-exposure. Tests using untreated papers were conducted as well (controls).

The mortality rates were corrected using the Abbot formula³³ whenever the mortality rate of the controls was between 5 and 20%. Susceptibility and resistance levels were assessed according to the World Health Organization criteria³². Mosquito were classified into these three groups: insecticide resistant (<90%), possible insecticide resistant (90–97%) and insecticide susceptible (>98%).

To detect the presence of the *kdr* alleles (L1014F and L1014S) conferring resistance to DDT and pyrethroids, DNA extracted from a sub sample of *An. gambiae* s.l. females was screened using the TaqMan assay³⁴.

Data analysis

Mosquito densities were compared between seasons, collection sites and districts. Biting rate (number of bites per person per night, b/p/n) was calculated as the number of mosquitoes caught in one night divided by the number of collectors. The infection rate was calculated as the number of infected mosquitoes divided by the total number of *Anopheles* processed. The entomological inoculation rate (EIR) (the number of infected bites per person per night, ib/p/n) was calculated by multiplying the infection rate by the biting rate/night. To assess linear correlations between the two collection methods, the Pearson correlation coefficient was used to calculate the average number of mosquitoes collected nightly by the CDC-LT and HLC methods. Prior to analysis, the average number for each catch (x) was transformed to $Y = \log(x+1)$. To compare methods and determine if mosquito abundance was affected by the sampling efficiency of each method used, the ratio of the number of mosquitoes in LT to the number of mosquitoes in HLC [$\text{Log}(\text{HLC}+1) - \text{Log}(\text{LT}+1)$] was plotted against the average abundance [$\text{Log}(\text{HLC}+1) + \text{Log}(\text{LT}+1)$]/2 as described by Overgaard *et al.*³⁵.

The knock down time for 50% of mosquitoes (Kd_{50}) and 95% of mosquitoes (Kd_{95}) representing the time when 50% or 95% of the mosquitoes exposed are knocked down, was calculated using the WINDL32 version 2.0 software. Chi-square test was used to

compare proportions, student tests and one way ANOVA were used to compare averages. All these tests were performed using SPSS software (SPSS version 20.0) and R software version 3.4.0. The level of significance of each test was set at $\alpha < 0.05$. The coefficient r of Pearson was used to assess correlation between CDC-LT and HLC.

Results

All raw data associated with this study are available on [OSF](#)³⁶.

Mosquito collection

Mosquito diversity and abundance. Among the 218,991 specimens identified morphologically, *Culex* spp. was the most abundant (96.48%; $n=211,993$) followed by *An. gambiae* s.l. (2.81%; $n=6154$) and *Mansonia* spp. (0.47%; $n=1026$). *An. funestus* s.l. was less abundant (0.10%; $n=229$) (Table 1). Overall, 187,404 (85.58%) mosquitoes were collected using a total of 9968 CDC-LTs placed per night per house and 31,587 (14.42%) were collected using a total of 348 human-night collectors. The average density of mosquitoes collected using CDC-LTs, was high indoors than outdoors ($t = 8.28$, $d=29.6$, $P < 0.0001$) while the trend was not significantly different between outdoor and indoor catches using HLC ($t = -0.68$, $df = 58$, $P = 0.2508$).

Correlation analysis between CDC-LT and HLC catches using the Pearson correlation coefficient, indicated that when all mosquitoes were considered, CDC-LTs catches were positively and significantly correlated with those of HLC ($r = 0.408$, $P = 0.025$). When mosquitoes were separated into the two most common genera (*Culex* and *Anopheles*), the correlation was positive but not significant for *Culex* ($r = 0.324$, $P = 0.081$) whereas it was negative for *Anopheles* ($r = -0.013$, $P = 0.94$). Comparing the relative sampling efficiencies of the two methods against mosquito abundance (Figure 2), it appears that there was a significant tendency for increased mosquito abundance with the ratio of LT to HLC ($P < 2.2 \times 10^{-16}$).

Table 1. Mosquitoes sampled in Yaoundé using CDC-LTs and HLC from March 2017 to March 2018.

Species	CDC-LT				HLC				Total	
	Indoor		Outdoor		Indoor		Outdoor		N	%
	N	%	N	%	N	%	N	%		
<i>An. funestus</i>	199	0.13	15	0.05	5	0.30	10	0.06	229	0.10
<i>An.gambiae</i> s.l.	3,542	2.29	414	1.26	772	5.08	1,426	8.71	6,154	2.81
<i>An. ziemanni</i>	4	0.00	8	0.02	0	0.00	0	0.00	12	0.01
Total anopheline	3,745	2.42	437	1.33	777	5.11	1,436	8.77	6,395	2.92
<i>Aedes</i> spp.	182	0.12	52	0.16	14	0.09	15	0.09	263	0.12
<i>Culex</i> spp.	150,020	97.09	32,054	97.46	14,381	94.56	14,838	90.59	211,293	96.48
<i>Coquillettia</i>	6	0.00	8	0.02	0	0	0	0.00	14	0.01
<i>Mansonia</i> spp.	563	0.36	337	1.02	36	0.24	90	0.55	1026	0.47
Total culicines	150,771	97.58	32,451	98.67	14,431	94.89	14,943	91.23	212,596	97.08
Overall	154,516	70.56	32,888	15.02	15,208	6.94	16,379	7.48	218,991	100.00

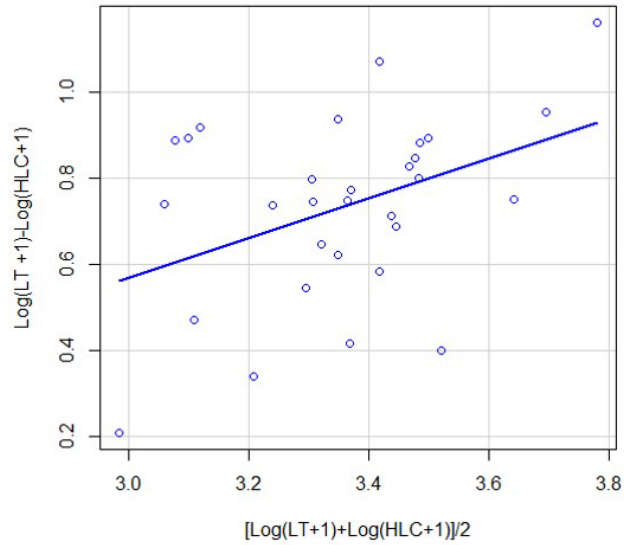


Figure 2. Relationship between CDC-LT catches, human landing catches (HLC) and mosquito abundance.

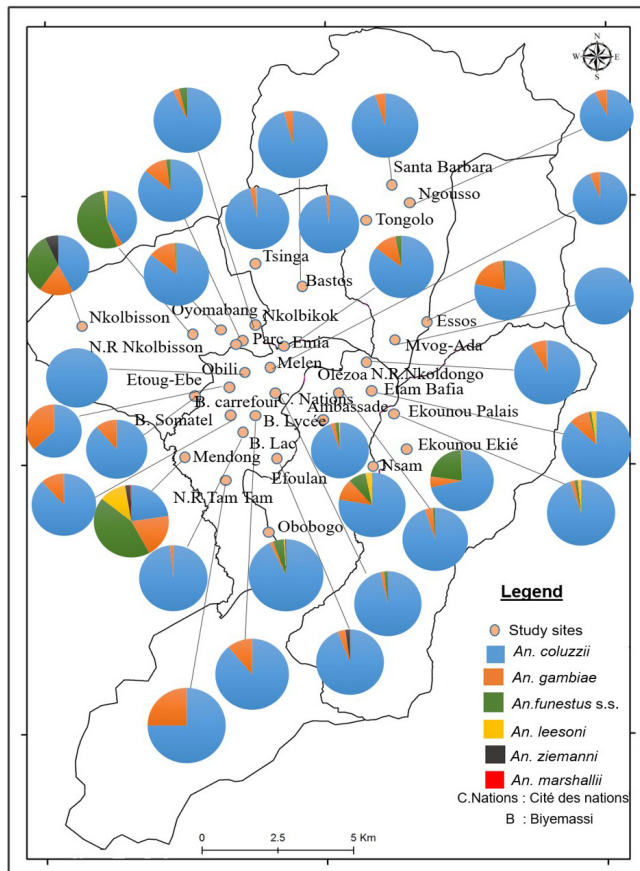


Figure 3. Spatial distribution of *Anopheles* species in the city of Yaoundé. Source: National Institute of Cartography, Cameroon.

Distribution of *Anopheles* species. Anopheline species recorded includes *An. ziemanni* mainly found in Nkolbisson, *An. gambiae* s.l. and *An. funestus* s.l. Out of 1476 *An. gambiae* s.l. analysed, 92.19 % (n=1351) were *An. coluzzii* and 7.81% (n=125) *An. gambiae*. *An. coluzzii* was highly predominant across the city whereas *An. gambiae* was found in a sizeable density at Nkolbisson, Emia and Etoug ebe (Figure 3). Amongst the 186 *An. funestus* s.l. tested, 4.84% (n=8) were *An. lesoni* and 93.01% (n= 173) *An. funestus* s.s. The small proportion of *An. lesoni* observed was mainly recorded from Ekounou palais, Etam Bafia and NVR Nkolbisson. *An. funestus* was found in 21 sites out of 30 districts. Significant variation in species densities was recorded between districts (P=0.008).

Seasonal variation of anopheline species densities collected with CDC-LTs

Seasonal variation of anopheles densities was recorded both indoors and outdoors. Our results indicated high densities indoor than outdoor whatever the species and the sampling period. The indoor density of *An. gambiae* s.l. estimated by CDC-LTs varied from 1.41 mosquitoes/trap/night in May–June period (short raining season) to 0.09 mosquitoes/trap/night in September–October period (long raining season). The same trend was observed with mosquitoes sampled outdoor during the same period with densities varying from 0.23 mosquitoes/trap/night in May–June to 0.04 mosquitoes/trap/night in September–October period (Figure 4). *An. funestus* densities were found to increase, at the onset of the short rainy season in March–April 17 (0.06 mosquitoes/trap/night (indoor) and 0.02 mosquitoes/trap/night (outdoor)). Low densities were recorded during the short rainy season of March 2018 (0.01 mosquitoes/trap/night both in and outdoor) (Figure 4).

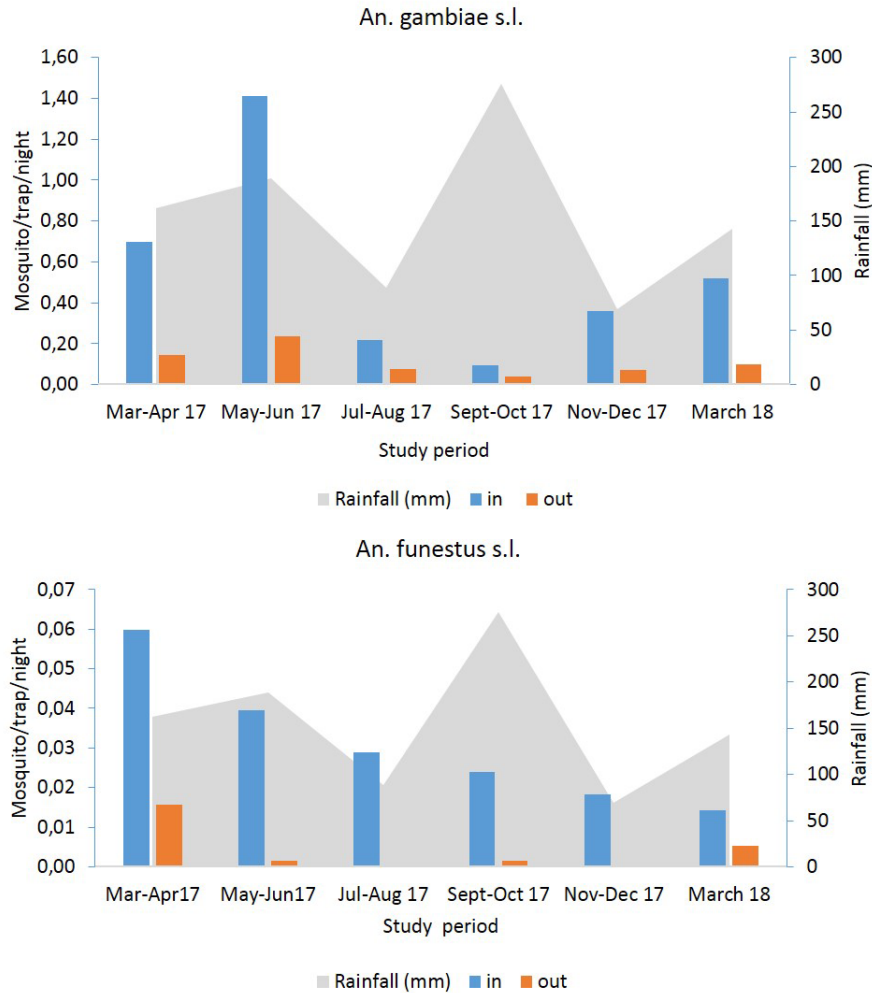


Figure 4. Seasonal variation of *An. gambiae* s.l. and *An. funestus* densities in Yaoundé using CDC-LT.

Seasonal variation of anopheline species densities collected using HLC

High *An. gambiae* s.l. biting densities were recorded outdoor in May-June (21.53 b/m/n) during the short rainy season then decrease to 2.37 b/m/n in September-October at the onset of the long rainy season. Indoor collections declined from 10.43 b/m/n in May-June during the short rainy season to 1.67 b/m/n in July-August period during the short dry season (Figure 5).

An. funestus was more abundant at the onset of the short rainy season with a 0.2 b/m/n outdoors and 0.1 b/m/n indoors, then its outdoor biting rate fell during the short dry season to 0.033 b/m/n while the indoor biting rate was reduced to 0 b/m/n during the same period (Figure 5).

The average biting rate for *An. gambiae* s.l. varied from 4.44 b/m/n indoor to 8.20 b/m/n outdoor and the difference was significant ($P = 0.013$). Concerning *An. funestus* its biting rate was 0.03 b/m/n and 0.06 b/m/n for indoor and outdoor respectively; the difference was not significant ($P = 0.733$).

Indoor and outdoor biting behaviour of *An. gambiae* and *An. funestus*

An. gambiae s.l. densities collected during the second part of the night (24:00-06:00) were high compare to those of the first part of the night both indoors and outdoors (Figure 6). The difference was not significant for both indoor and outdoor catches ($P > 0.26$). For *An. funestus*, densities collected outdoor from 24:00 to 06:00 were not significantly different from those of the first part of the night ($t=-0.42$, $df=8.33$, $P=0.68$). Similarly, no significant difference was recorded between indoor and outdoor collections ($t=0.47$, $df=9.9811$, $P=0.65$).

Plasmodium infection in mosquitoes

Of the 4893 anopheline (223 *An. funestus* s.l., 4661 *An. gambiae* s.l. and 09 *An. ziemanni*) screened for *Plasmodium falciparum* presence, 104 specimens were positive (103 *An. gambiae* s.l. and 01 *An. funestus* s.l.). Of the 103 *An. gambiae* s.l. detected positive 91% ($n=94$) were *An. coluzzii* and 9% ($n=9$) *An. gambiae*. The overall *P. falciparum* infection rate was 2.13%. Out of the infected mosquitoes, 66 were collected using

CDC-LTs while the remaining (n=38) was collected using HLC. The circumsporozoite rates between indoor and outdoor collections are presented in Table 2. *An. gambiae* s.l. infection rate was 2.3% indoor and 2% outdoor. The circumsporozoite rate for *An. funestus* was 0.4%.

Relationship between infection and *kdr* allele presence

Analyses were conducted to compare the prevalence of the West Africa *kdr* allele in infected and non-infected mosquitoes. A total of 143 *An. gambiae* s.l. including 73 positive for *Plasmodium* CSP and 70 non infected were randomly selected

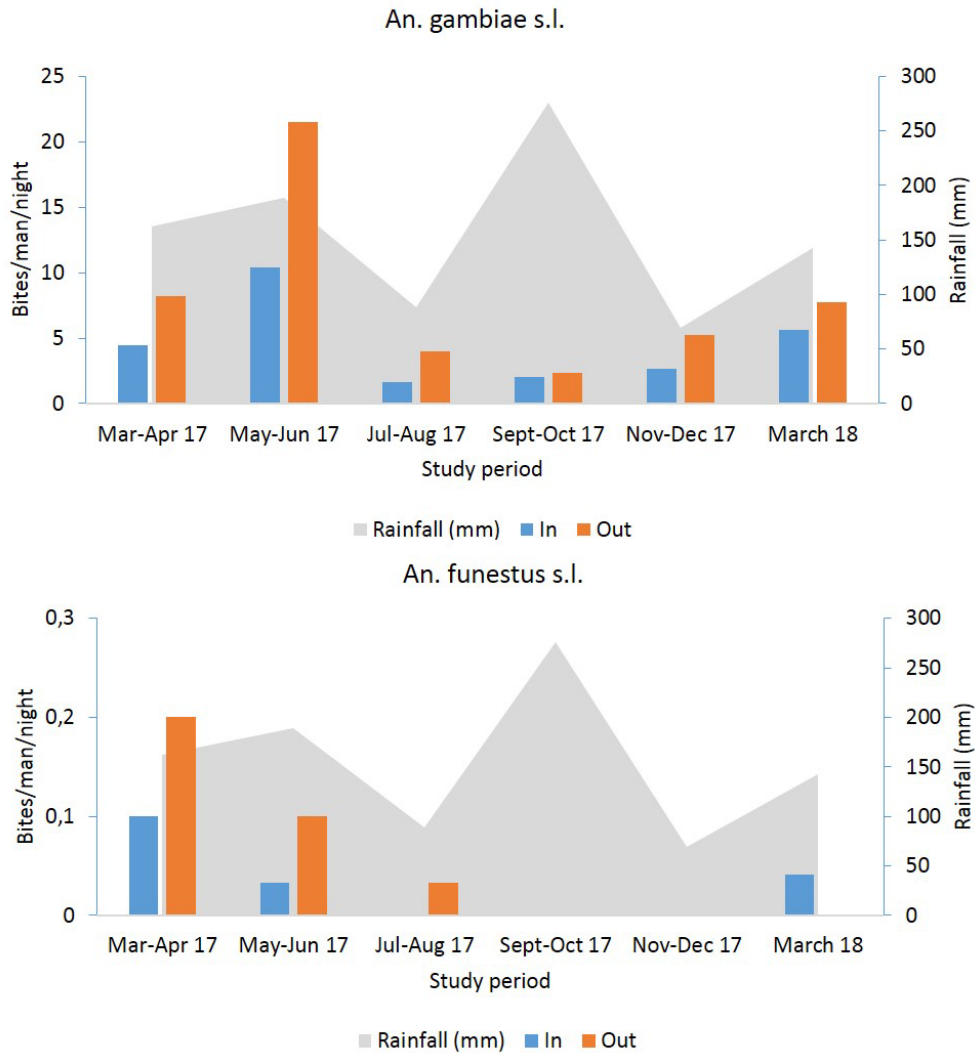


Figure 5. Seasonal variation of *An. gambiae* s.l. and *An. funestus* densities after human landing catches.

Table 2. Sporozoite rates for Anopheles mosquitoes from indoor and outdoor collections in Yaoundé.

Species	Indoor			Outdoor			Total		
	Tested	Inf	% (95% CI)	Tested	Inf	% (95% CI)	Tested	Inf	% (95% CI)
<i>An. gambiae</i> s.l.	3,278	76	2.3 (2-3)	1,383	27	2 (1.3-3)	4,661	103	2.2 (1.8-2.7)
<i>An. funestus</i> s.l.	199	1	0.5 (0.0133)	24	0	0 (0-15)	223	1	0.4 (0.01-2.5)
<i>An. ziemanni</i>	3	0	0 (0-123)	6	0	0 (0-61.5)	9	0	0 (0-41)
Total	3,480	77	2.2 (1.7-3)	1,413	27	1.9 (1.3-3)	4,893	104	2.1 (1.7-2.6)

Inf, infected; %, infection rate; 95% CI, 95% confidence interval.

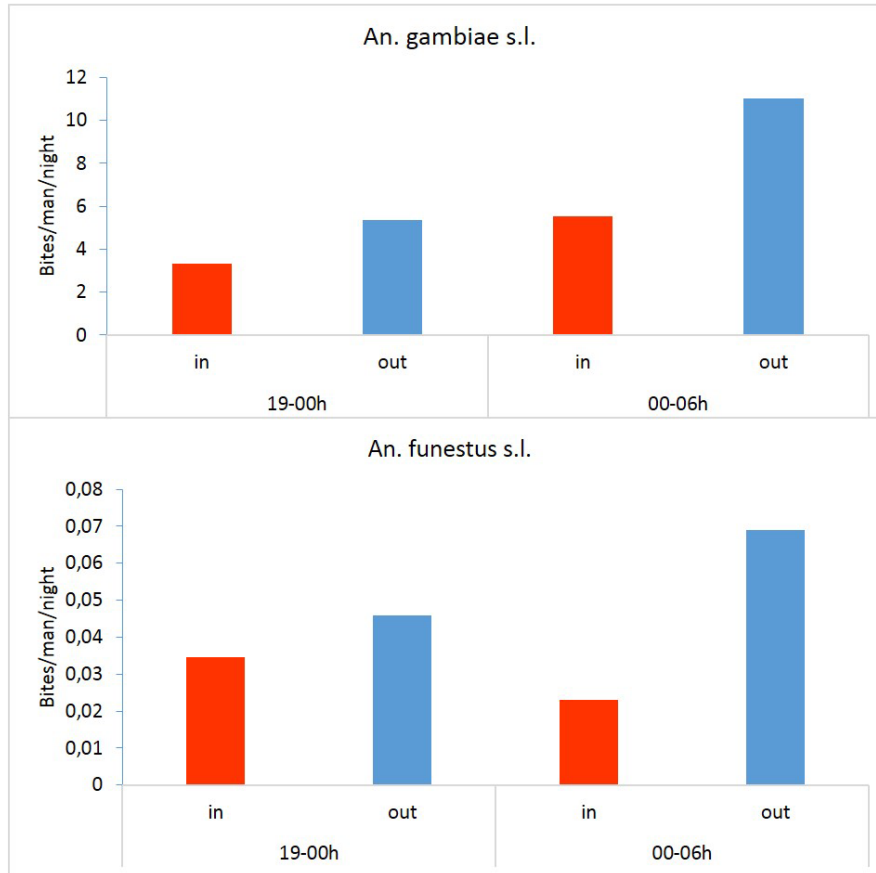


Figure 6. *An. gambiae* and *An. funestus* night biting densities after human landing catches.

and genotyped for *kdr*-West (L1014F) mutation. The L1014F mutation was detected in both groups (Table 3). There was no significant difference between genotypes to *kdr* gene and mosquito infectious status ($P=0.30$).

Malaria transmission and EIRs

Malaria transmission was found to occur continuously through the city but with different intensities levels according to seasons and districts. The EIR was estimated at 31.14 infected bites/man/year (ib/m/yr) indoor and 66.65 ib/m/yr outdoor. An estimation of malaria transmission risk throughout the city of Yaoundé was conducted and significant differences were recorded between districts (Figure 7). Very low transmission risk with EIR varying from 0 to 5 ib/m/yr was recorded in nine districts (Tam-tam, Biyemassi Carrefour, Efoulan, Etoug Ebe, Nguosso, Obobogo, Labogenie, Santa Barbara, Obili). Low transmission risk with transmission level varying from 5 to 15 ib/m/yr was recorded in eight districts (Nkolndongo, Ambassade de France, Biyemassi Somatel, Cité des nations, Etam-bafia, Melen, Oyomabang, Emia) while moderate transmission risk (EIR 15 – 40 ib/m/yr) was recorded in seven districts (Biyemassi lycée, Biyemassi lac, Ekounou palais, Nkolbikok, Nkolbisson, NVR Nkolbisson, Oledzoa). High transmission

Table 3. Relationship between *An. gambiae* s.l. infection status to *Plasmodium falciparum* and *kdr* allele frequencies.

Infection status	N	L1014F <i>kdr</i> genotypes			F(<i>kdr</i>)	P
		RR	RS	SS		
Infected*	73	45	26	2	0.70	
Non-infected*	70	57	13	0	0.91	*0.30
Overall	143	102	39	2	0.79	

RR, homozygote resistant; RS, heterozygote; SS, susceptible; F(*kdr*), frequency of the *kdr* allele.

risk with EIR exceeding 40 ib/m/yr was recorded in six districts (Essos, Ekounou Ekié, Bastos, Mvog-Ada, Tongolo, Tsinga) with Ekounou Ekié scoring the highest EIR (92 ib/m/yr). Malaria transmission in the city of Yaoundé was recorded all year long with the intensity varying from one season to the other. The short rainy season of April-June 2017 was the period where most transmission cases were recorded (Figure 8).

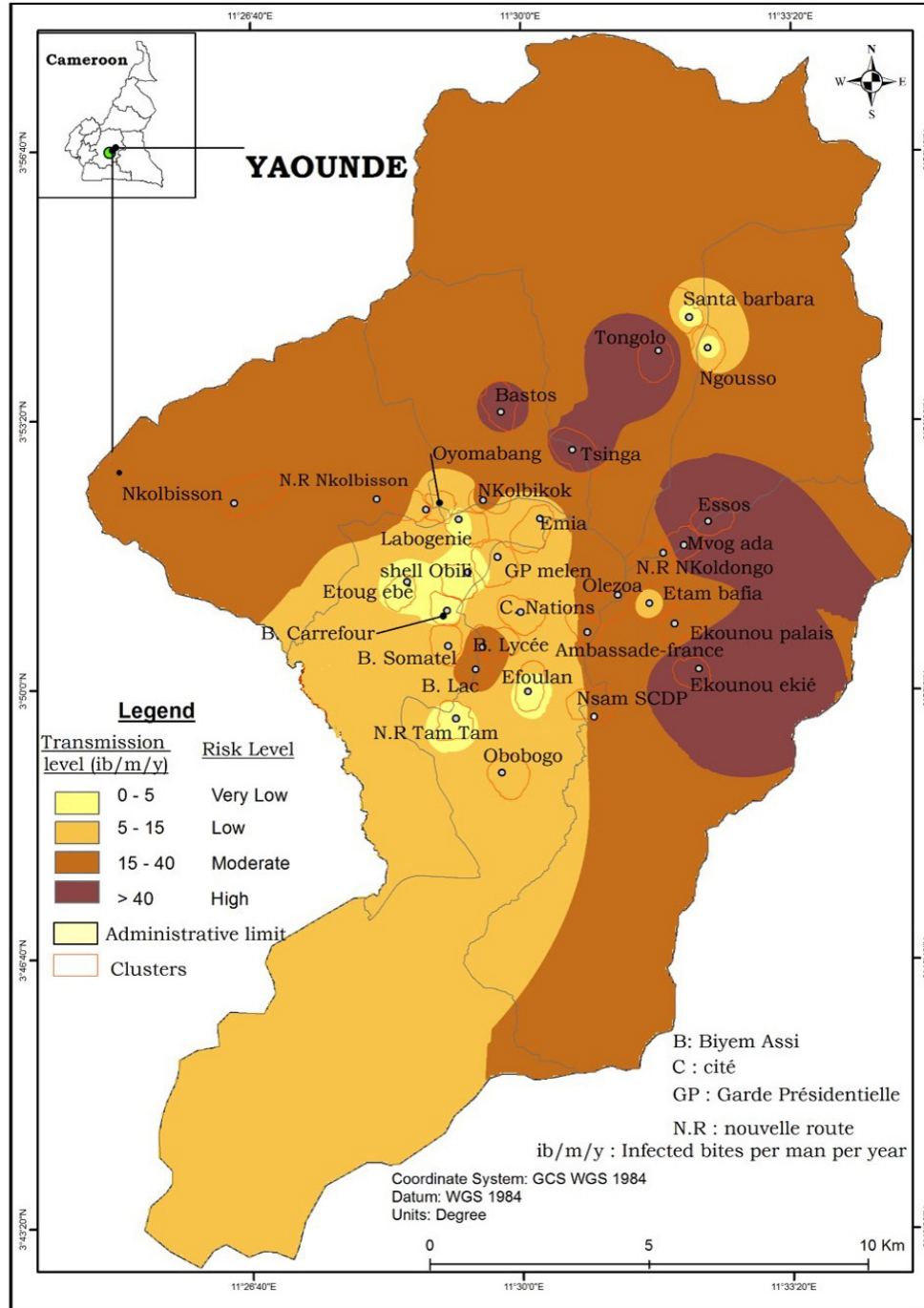


Figure 7. Map showing the risk of malaria transmission in the city of Yaoundé. Source: National Institute of Cartography, Cameroon.

Insecticide susceptibility bioassay

Preliminary tests were conducted with *An. gambiae* s.s. Kisumu strain to assess the quality of the impregnated papers. A total of 100 mosquitoes were tested for each insecticide. A mortality rate ranging from 95% for DDT to 100% for permethrin deltamethrin and bendiocarb was recorded. Susceptibility tests were subsequently undertaken with field females raised from larval collection. The mortality rate ranged from 2.85% for DDT to 96.31% (n= 911) for bendiocarb (n = 1709) (Table 4).

Genotyping of the West *kdr* mutation

Of the 194 anopheline females (including susceptible, resistant and control) screened for the presence of the West Africa *kdr* allele (L1014F), 187 were detected carrying the allele 39 as homozygotes, 148 as heterozygotes and 7 were homozygote for the wild allele (Table 5). The frequency of the West Africa *kdr* allele (L1014F) was 0.59. The *kdr* allele frequency was not significantly different between resistant and susceptible samples ($\chi^2 = 0.039$, $P = 0.84$).

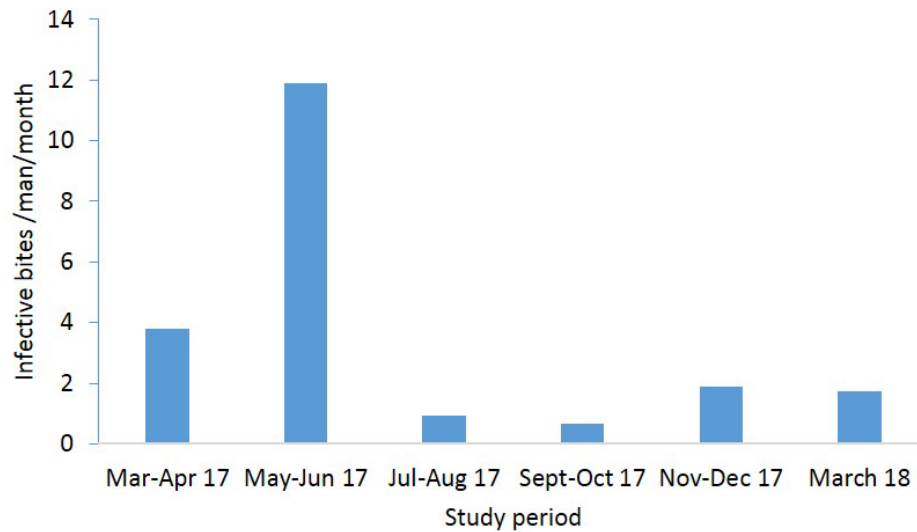


Figure 8. Seasonal variation of the entomological inoculation rate in Yaoundé, from March 2017 to March 2018.

Table 4. Susceptibility level to deltamethrin, permethrin, bendiocarb and DDT for *An. gambiae* s.l. populations in Yaoundé.

Insecticides	Kisumu colony		Field populations	
	N	Mortality% (95%CI)	N	Mortality% (95%CI)
Deltamethrin 0.05%	100	100 (81.36-121.63)	2350	23.28 (21.37-25.31)
Permethrin 0.75%	100	100 (81.36-121.63)	486	34.16 (29.16-39.77)
DDT 4%	100	95 (81.36-121.63)	911	2.85 (1.86-4.18)
Bendiocarb 0.1%	100	100 (81.36-121.63)	1709	96.31 (91.72-101.08)

N: number tested, 95%CI : 95% confidence interval

Table 5. Frequency of the *kdr* alleles in *An. gambiae* s.l. samples from Yaoundé.

Population	N	L1014F <i>kdr</i> genotype			F(<i>kdr</i>)	P
		RR	RS	SS		
Survival population*	97	22	70	5	0.59	
Susceptible specimen*	58	10	46	2	0.57	*0.84
Control	39	7	32	0	0.59	
Overall	194	39	148	7	0.59	

N, number tested; RR, homozygote resistant; RS, heterozygote; SS, susceptible; F(*kdr*), frequency of the *kdr* 1014F allele.

Discussion

High and permanent malaria transmission was recorded in the city of Yaoundé and was consistent with studies conducted so far suggesting urban malaria as a public health threat in most sub-Saharan Africa cities^{1,6,37-39}. The spatial design of the study, covering up to 30 districts, permitted to capture the

heterogeneous pattern of malaria transmission risk in the city of Yaoundé varying from very low to high risk zones. This pattern was in accordance with the presence of hotspots areas across the city. According to Robert *et al.*⁴⁰, malaria transmission in sub-Saharan Africa could be less intense in the city centre with mean annual entomological inoculation rate estimated at 7.1 ib/man/y, whereas it is more intense in the periurban and rural settings, where it could be estimated at 45.8 and 167.7 ib/man/y, respectively. The complexity of malaria situation in Yaoundé could derive from the combination of different factors, including the peculiarity of the city landscape. The city of Yaoundé is composed of an alternation of hills and lowland areas and is irrigated by several permanent rivers. During the rainy season, inundation of floodplains resulting from the overloading of river systems in lowlands areas create suitable habitats for mosquitoes, whereas during the dry season, river channels and/or the exploitation of floodplains for urban agriculture, provide suitable mosquitoes breeding habitats. In addition to these factors the rapid unplanned urbanisation affecting almost all districts characterized by the creation of slums, the absence of drainage system for surface water, the presence of large open space

and the development of several activities, such as car washing, urban farming, public and private constructions, create numerous breeding opportunities for mosquito of the *An. gambiae* complex in the urban environment as reported elsewhere^{3,5,17,41–43}. Similar contrasting pattern of malaria transmission was reported for the city of Libreville with high transmission occurring at the city centre and low transmission at the periphery⁶. According to the authors, this situation could have resulted from poor housing, poor waste management and slum-like conditions in the urban centre compare to the city periphery.

Compared to previous studies in Yaoundé which indicated transmission intensity varying between 0 to 33 infected bites/man/yr^{11,12}, transmission rate reaching up to 92 ib/man/yr was detected in the present study, highlighting the changing pattern of malaria transmission dynamic and vector bionomic in the city of Yaoundé. Indeed, three of the most efficient malaria vectors in Africa *An. gambiae*, *An. coluzzii* and *An. funestus* were recorded in Yaoundé. However, *An. coluzzii* was by far the most abundant species. Its distribution was in conformity with previous studies conducted so far in Yaoundé suggesting high capacity of adaptation of this species to urban environments and polluted habitats^{17,18,21,22,44}. *An. funestus* was scarce in the city centre; its presence could be associated with the development of new adaptation capacities or the development of suitable breeding habitats in urban districts. *An. funestus* breed in permanent water collection with emerging vegetation⁴⁵ and could have benefited from the practice of urban agriculture in swamps to extend its distribution range. The adaptation of *An. funestus* to the urban environment alongside *An. gambiae* and *An. coluzzii* and the changing transmission pattern in Yaoundé all suggest the need for in-depth assessment of main determinants of transmission in order to address sustainably challenges impeding malaria control efforts in this city.

A high EIR was recorded outdoors, which supports an increased transmission risk outdoors. Similar findings were recorded in several cities across sub-Saharan Africa^{3,46,47}. In the case of Yaoundé increased transmission risk outdoor could be related to the development of new activities which keep many people outdoors late. Many commercial activities, schools, leisure and business places are all open during the night and keep people outdoors late. This behaviour could affect the performance of insecticide based interventions used as prevention methods by the population. In Cameroon, long-lasting insecticidal nets (LLINs) are the main measure used for protecting against malaria. It is estimated that over 77% of the population own at least a net and 58% of the population is considered using nets regularly⁴⁸. Following mass campaigns for distribution of LLINs initiated since 2004, a decrease in the incidence of malaria cases and mortality rates were recorded in Cameroon; however, the rate of decline of the disease incidence has stopped since 2016⁴⁸. Similar trend was recorded in the WHO region of the Americas, in South East Asia and Western Pacific and African regions⁴⁹. The following could point to the limits of current control interventions

and the need for new control strategies. Another factor which could be affecting the performance of control interventions is pyrethroid resistance, studies undertaken herein in different districts confirm high resistance of *An. gambiae* populations to deltamethrin, DDT and permethrin. The data was consistent with previous findings and highlights the rapid expansion of insecticide resistance in mosquito population from the city^{17–19}. In addition to the *kdr* allele, metabolic base mechanisms were reported involved in mosquito resistance to pyrethroid and bendiocarb in Yaoundé^{19,20,50,51}. The presence of resistant alleles was not found to affect the vectorial competency of *An. gambiae* s.l. to *Plasmodium* parasite. The current situation of malaria in Yaoundé requests an adaptation of vector control strategies in light of new challenges. The use of additional control measures such as larval control in an integrated control approach could be indicated in the case of this city where there is a high and focal transmission occurring mainly outdoor, rapid expansion of insecticide resistance and high nuisance due to mosquitoes from the *Culex* genus.

Conclusions

The study suggests heterogeneous pattern of malaria transmission in the city of Yaoundé. Several factors including outdoor transmission and increased expansion of insecticide resistance were found to affect control measures the following call for concerted efforts in order to improve malaria control interventions in the city of Yaoundé. The use of a larvicidal strategy, as is planned for the city of Yaoundé, could be well adapted for controlling outdoor and indoor biting mosquitoes and insecticide resistant vectors. As the study indicated there are focal sites in the city more affected than others so increasing control efforts in these sites could be indicated for the sustainable control of malaria in Yaoundé.

Data availability

The raw data underlying the findings reported in this study are available on OSF. DOI: <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/KYXTN>³⁶.

Data are available under the terms of the [Creative Commons Zero “No rights reserved” data waiver](#) (CC0 1.0 Public domain dedication).

Grant information

This work received financial support from Wellcome Trust senior Fellowship in Public Health and Tropical Medicine (202687/Z/16/Z) to CAN.

The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Acknowledgements

We are grateful to mosquito collectors and the population of Yaoundé for their participation to the study.

References

1. Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, *et al.*: **Urbanization, malaria transmission and disease burden in Africa.** *Nat Rev Microbiol.* 2005; 3(1): 81–90.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
2. Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, *et al.*: **The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future.** *Lancet Infect Dis.* 2004; 4(6): 327–336.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
3. Keiser J, Utzinger J, Caldas de Castro M, *et al.*: **Urbanization in sub-saharan Africa and implication for malaria control.** *Am J Trop Med Hyg.* 2004; 71(2 suppl): 118–127.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
4. Donnelly MJ, McCall PJ, Lengeler C, *et al.*: **Malaria and urbanization in sub-Saharan Africa.** *Malar J.* 2005; 4: 12.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
5. Klinkenberg E, McCall P, Wilson MD, *et al.*: **Impact of urban agriculture on malaria vectors in Accra, Ghana.** *Malar J.* 2008; 7: 151.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
6. Mourou JR, Coffinet T, Jarjavall F, *et al.*: **Malaria transmission in Libreville: results of a one year survey.** *Malar J.* 2012; 11: 40.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
7. Mathanga D, Molyneux ME: **Bednets and malaria in Africa.** *Malawi Med J.* 2016; 28(3): 92–93.
[PubMed Abstract](#) | [Free Full Text](#)
8. BUCREP: **Troisième recensement générale de la population et de l'habitat.** Third general population and housing census Cameroun. *Rapport de présentation des résultats définitifs République du Cameroun.* 2010: 1–65.
9. Carnevale P, Mouchet J: **[Malaria vector control in Cameroon: past, present, future. Reflections].** *Bull Soc Pathol Exot.* 2001; 94(2 Pt 2): 202–209.
[PubMed Abstract](#)
10. Manga L, Robert V, Messi J, *et al.*: **Le paludisme urbain à Yaoundé, Cameroun: 1. étude entomologique dans deux quartiers centraux.** 1992.
[Reference Source](#)
11. Fondjo E, Robert V, Le Goff G, *et al.*: **[Urban malaria in Yaounde (Cameroon). 2. Entomologic study in 2 suburban districts].** *Bull Soc Pathol Exot.* 1992; 85(1): 57–63.
[PubMed Abstract](#)
12. Nimpaye H, Van Der Kolk M, Fontenille D, *et al.*: **Le paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun) en 2000: étude entomologique dans le quartier central" Dakar".** *Bulletin de Liaison et de Documentation-OCEAC.* 2001; 34(2): 11–14.
[Reference Source](#)
13. van der Kolk M, Tebo AE, Nimpaye H, *et al.*: **Transmission of *Plasmodium falciparum* in urban Yaoundé, Cameroon, is seasonal and age-dependent.** *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2003; 97(4): 375–379.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
14. Antonio-Nkondjio C, Awono-Ambene P, Toto JC, *et al.*: **High malaria transmission intensity in a village close to Yaounde, the capital city of Cameroon.** *J Med Entomol.* 2002; 39(2): 350–355.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
15. Antonio-Nkondjio C, Keraf C, Simard F, *et al.*: **Complexity of the malaria vectorial system in Cameroon: contribution of secondary vectors to malaria transmission.** *J Med Entomol.* 2006; 43(6): 1215–21.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
16. Quakyi IA, Leke RG, Befidi-Mengue R, *et al.*: **The epidemiology of *Plasmodium falciparum* malaria in two Cameroonian villages: Simbok and Etoa.** *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 63(5–6): 222–230.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
17. Antonio-Nkondjio C, Fossog BT, Ndo C, *et al.*: ***Anopheles gambiae* distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): influence of urban agriculture and pollution.** *Malar J.* 2011; 10: 154.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
18. Tene Fossog B, Kopya E, Ndo C, *et al.*: **Water Quality and *Anopheles gambiae* Larval Tolerance to Pyrethroids in the Cities of Douala and Yaoundé (Cameroon).** *J Trop Med.* 2012; 2012: 429817.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
19. Antonio-Nkondjio C, Fossog BT, Kopya E, *et al.*: **Rapid evolution of pyrethroid resistance prevalence in *Anopheles gambiae* populations from the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon).** *Malar J.* 2015; 14: 155.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
20. Fossog Tene B, Poupardin R, Costantini C, *et al.*: **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.* 2013; 8(4): e61408.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
21. Kamdem C, Tene Fossog B, Simard F, *et al.*: **Anthropogenic habitat disturbance and ecological divergence between incipient species of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*.** *PLoS One.* 2012; 7(6): e39453.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
22. Tene Fossog B, Ayala D, Acevedo P, *et al.*: **Habitat segregation and ecological character displacement in cryptic African malaria mosquitoes.** *Evol Appl.* 2015; 8(4): 326–345.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
23. Boissière A, Gimonneau G, Tchioffo MT, *et al.*: **Application of a qPCR assay in the investigation of susceptibility to malaria infection of the M and S molecular forms of *An. gambiae* s.s. in Cameroon.** *PLoS One.* 2013; 8(1): e54820.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
24. Edwards FW: **Mosquitoes of the Ethiopian Region. HI-Culicine Adults and Pupae.** *Mosquitoes of the Ethiopian Region HI-Culicine Adults and Pupae.* 1941.
[Reference Source](#)
25. Gillies MT, DeMeillon B: **The Anopheline of Africa, south of the Sahara (Ethiopian zoogeographical region).** Johannesburg: publication of south African Institute of Medical Research no. 54; 1968.
[Reference Source](#)
26. Gillies T, Coetzee M: **Supplement of the Anopheles of Africa south of Sahara (Afrotropical region).** Johannesburg: Publication of the South African Institute of Medical Research; 1987.
[Reference Source](#)
27. Santolamazza F, Mancini E, Simard F, *et al.*: **Insertion polymorphisms of *SINE200* retrotransposons within speciation islands of *Anopheles gambiae* molecular forms.** *Malar J.* 2008; 7: 163.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
28. Koekemoer LL, Kamau L, Hunt RH, *et al.*: **A cocktail polymerase chain reaction assay to identify members of the *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) group.** *Am J Trop Med Hyg.* 2002; 66(6): 804–11.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
29. Livak KJ: **Organization and mapping of a sequence on the *Drosophila melanogaster* X and Y chromosomes that is transcribed during spermatogenesis.** *Genetics.* 1984; 107(4): 611–634.
[PubMed Abstract](#) | [Free Full Text](#)
30. Wirtz R, Burkot T, Graves PM, *et al.*: **Field evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays for *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* sporozoites in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from Papua New Guinea.** *J Med Entomol.* 1987; 24(4): 433–7.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
31. Bass C, Nikou D, Blagborough AM, *et al.*: **PCR-based detection of *Plasmodium* in *Anopheles* mosquitoes: a comparison of a new high-throughput assay with existing methods.** *Malar J.* 2008; 7(1): 177.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
32. Organization WH: **Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes.** 2016.
[Reference Source](#)
33. Abbott W: **A method of computing the effectiveness of an insecticide.** 1925. *J Am Mosq control Assoc.* 1987; 3(2): 302–303.
[PubMed Abstract](#)
34. Bass C, Nikou D, Donnelly MJ, *et al.*: **Detection of knockdown resistance (*kdr*) mutations in *Anopheles gambiae*: a comparison of two new high-throughput assays with existing methods.** *Malar J.* 2007; 6: 111.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
35. Overgaard HJ, Saebø S, Reddy MR, *et al.*: **Light traps fail to estimate reliable malaria mosquito biting rates on Bioko Island, Equatorial Guinea.** *Malar J.* 2012; 11: 56.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
36. Antonio-Nkondjio C: **Raw data_Malaria Transmission Yaoundé (Doumbé et AI).** OSF. 2018.
<http://www.doi.org/10.17605/OSF.IO/KYXTN>
37. Mourou JR, Coffinet T, Jarjavall F, *et al.*: **Malaria transmission and insecticide resistance of *Anopheles gambiae* in Libreville and Port-Gentil, Gabon.** *Malar J.* 2010; 9(1): 321.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
38. Antonio-Nkondjio C, Defo-Talom B, Tagne-Fotso R, *et al.*: **High mosquito burden and malaria transmission in a district of the city of Douala, Cameroon.** *BMC Infect Dis.* 2012; 12(1): 275.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
39. Wang SJ, Lengeler C, Mtasiwa D, *et al.*: **Rapid urban malaria appraisal (RUMA) II: Epidemiology of urban malaria in Dar es Salaam (Tanzania).** *Malar J.* 2006; 5(1): 28.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
40. Robert V, Macintyre K, Keating J, *et al.*: **Malaria transmission in urban sub-Saharan Africa.** *Am J Trop Med Hyg.* 2003; 68(2): 169–76.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
41. Fournet F, Cussac M, Ouari A, *et al.*: **Diversity in anopheline larval habitats and adult composition during the dry and wet seasons in Ouagadougou (Burkina Faso).** *Malar J.* 2010; 9(1): 78.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
42. Labbo R, Fandeur T, Jeanne I, *et al.*: **Ecology of urban malaria vectors in Niamey, Republic of Niger.** *Malar J.* 2016; 15(1): 314.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
43. Mattah PA, Futagbi G, Amekudzi LK, *et al.*: **Diversity in breeding sites and distribution of *Anopheles* mosquitoes in selected urban areas of southern Ghana.** *Parasit Vectors.* 2017; 10(1): 25.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)

44. Gimonneau G, Tchioffo MT, Abate L, *et al.*: **Composition of *Anopheles coluzzii* and *Anopheles gambiae* microbiota from larval to adult stages.** *Infect Genet Evol.* 2014; **28**: 715–724.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
45. Gillies MT, Meillon B: **The Anophelinae of Africa south of the Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region).** *Publ S Afr Inst Med Res.* 1968; **54**.
[Reference Source](#)
46. Reddy MR, Overgaard HJ, Abaga S, *et al.*: **Outdoor host seeking behaviour of *Anopheles gambiae* mosquitoes following initiation of malaria vector control on Bioko Island, Equatorial Guinea.** *Malar J.* 2011; **10**(1): 184.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
47. Afrane YA, Zhou G, Lawson BW, *et al.*: **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.* 2006; **74**(5): 772–8.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#)
48. Minsante: **XIIème Journée mondiale de lutte contre le paludisme “prêt à vaincre le paludisme” Nous sommes la génération qui peut éliminer le paludisme. Dossier de Presse.** *Minsante.* 2018; 1–20.
49. Organization WH: **World malaria report, 2015.** Geneva, Switzerland: WHO, 2015. 2017.
[Reference Source](#)
50. Antonio-Nkondjio C, Sonhafouo-Chiana N, Ngadjeu CS, *et al.*: **Review of the evolution of insecticide resistance in main malaria vectors in Cameroon from 1990 to 2017.** *Parasit Vectors.* 2017; **10**(1): 472.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)
51. Antonio-Nkondjio C, Poupardin R, Tene BF, *et al.*: **Investigation of mechanisms of bendiocarb resistance in *Anopheles gambiae* populations from the city of Yaoundé, Cameroon.** *Malar J.* 2016; **15**(1): 424.
[PubMed Abstract](#) | [Publisher Full Text](#) | [Free Full Text](#)



AUTRES ARTICLES PUBLIES

REVIEW

Open Access



Urban malaria in sub-Saharan Africa: dynamic of the vectorial system and the entomological inoculation rate

P. Doumbe-Belisse^{1,2}, E. Kopya^{1,2}, C. S. Ngadjeu^{1,2}, N. Sonhafouo-Chiana^{1,3}, A. Talipouo^{1,2}, L. Djamouko-Djonkam^{1,4}, H. P. Awono-Ambene¹, C. S. Wondji⁵, F. Njiokou² and C. Antonio-Nkondjio^{1,5*} 

Abstract

Sub-Saharan Africa is registering one of the highest urban population growth across the world. It is estimated that over 75% of the population in this region will be living in urban settings by 2050. However, it is not known how this rapid urbanization will affect vector populations and disease transmission. The present study summarizes findings from studies conducted in urban settings between the 1970s and 2020 to assess the effects of urbanization on the entomological inoculation rate pattern and anopheline species distribution. Different online databases such as PubMed, ResearchGate, Google Scholar, Google were screened. A total of 90 publications were selected out of 1527. Besides, over 200 additional publications were consulted to collate information on anopheline breeding habitats and species distribution in urban settings. The study confirms high malaria transmission in rural compared to urban settings. The study also suggests that there had been an increase in malaria transmission in most cities after 2003, which could also be associated with an increase in sampling, resources and reporting. Species of the *Anopheles gambiae* complex were the predominant vectors in most urban settings. Anopheline larvae were reported to have adapted to different aquatic habitats. The study provides updated information on the distribution of the vector population and the dynamic of malaria transmission in urban settings. The study also highlights the need for implementing integrated control strategies in urban settings.

Keywords: Malaria, Urbanization, Sub-Saharan Africa, *Anopheles*, Entomological inoculation rate, Bionomic

Background

Sub-Saharan Africa still bears the highest burden of malaria morbidity and mortality worldwide despite improvements in the diagnostic of the pathogens and large-scale deployment of vector control measures, such as Long-Lasting Insecticidal Nets (LLINs) and Indoor Residual Spraying (IRS) [1]. In 2019 over 229 million cases and 409,000 deaths were recorded across the world [1]. Although the whole sub-Saharan Africa region is

exposed to malaria transmission risk, high heterogeneity in malaria transmission patterns exists on the continent, particularly between urban and rural settings [2–4]. It is considered that people living in rural settings are more exposed to malaria transmission risk compared to those living in urban settings [3, 5]. Studies conducted so far suggested higher densities and a greater diversity of malaria vector population sizes in rural compared to urban settings [6]. Many factors have been reported to affect malaria transmission intensity in urban settings including pollution, which can affect anopheline larval habitats and reduce their population size as well as impact mosquito life cycles and consequently their vectorial capacity. Urban dwellers may also have greater

*Correspondence: antonio_nk@yahoo.fr

¹ Institut de Recherche de Yaoundé (IRY), Organisation de Coordination Pour la Lutte Contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC), P.O. Box 288, Yaoundé, Cameroun

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2021. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

RESEARCH

Open Access



Malaria prevention in the city of Yaoundé: knowledge and practices of urban dwellers

Abdou Talipouo^{1,2}, Carmene S. Ngadjeu^{1,2}, Patricia Doumbe-Belisse^{1,2}, Landre Djamouko-Djonkam^{1,4}, Nadege Sonhafouo-Chiana^{1,3}, Edmond Kopya^{1,2}, Roland Bamou^{1,4}, Parfait Awono-Ambene¹, Sylvain Woromogo⁵, Sevilor Kekeunou², Charles S. Wondji⁶ and Christophe Antonio-Nkondjio^{1,6*}

Abstract

Background: Malaria prevention in Cameroon mainly relies on the use of ITNs. Although several free distribution campaigns of treated nets have been conducted across the country, bed net usage remains very low. A household survey was conducted to assess knowledge of the population and practices affecting treated net usage in the city of Yaoundé.

Methods: A community-based descriptive cross-sectional survey was conducted in January 2017 in 32 districts of the city of Yaoundé. Parents (household head, spouse or an elder representative) who consented to the study, were interviewed using a structured pre-tested questionnaire. Interviews were conducted in French or English. A questionnaire consisting of 22 questions was administered to know (i) people's knowledge and attitude on preventive measures; and, (ii) attitudes concerning the treatment of malaria and estimated amount spent for malaria prevention and treatment.

Results: A total of 1643 household heads were interviewed. Over 94% of people interviewed associated malaria transmission to mosquito bites. The main methods used against mosquito bites were: treated bed nets (94%; n = 1526) and insecticide spray or coils (32.2%; n = 523). The majority of people interviewed reported using bed nets mainly to prevent from mosquito bites (84.4%, n = 1257), rather than for malaria prevention (47.3%). Knowledge and attitude analysis revealed that people with university or secondary level of education have better knowledge of malaria, prevention and treatment measures compared to those with the primary level (OR = 7.03; P < 0.001). Also, wealthy households were more aware of good practices concerning malaria prevention and treatment compared to poor ones. In the majority of districts of Yaoundé, over 50% of people interviewed per district, had good knowledge of malaria and prevention measures but less than 50% applied good practices concerning malaria treatment and prevention. The amount spent annually by a household for vector control was CFAF 11,589 ± 1133 (US\$21.87 ± 2.14) and CFAF 66,403 ± 4012 (US\$125.29 ± 7.57) for malaria treatment.

Conclusion: The study indicated that, despite good knowledge of malaria and prevention measures, few people apply good practices. More sensitization needs to be done to improve adherence to good practices concerning malaria prevention and treatment.

Keywords: Malaria, Knowledge, Practices, Households, ITNs, *Anopheles*, Yaoundé

*Correspondence: antonio_nk@yahoo.fr

¹ Institut de Recherche de Yaoundé (IRY), Organisation de Coordination pour la Lutte contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC), P.O. Box 288, Yaoundé, Cameroon

Full list of author information is available at the end of the article



Implication of *Anopheles funestus* in malaria transmission in the city of Yaoundé, Cameroon

Landre Djamouko-Djonkam^{1,2}, Diane Leslie Nkahe^{1,3}, Edmond Kopya^{1,3}, Abdou Talipouo^{1,3}, Carmene Sandra Ngadjeu^{1,3}, Patricia Doumbe-Belisse^{1,3}, Roland Bamou^{1,2}, Parfait Awono-Ambene¹, Timoléon Tchuinkam², Charles Sinclair Wondji⁴, and Christophe Antonio-Nkondjio^{1,4,*}

¹ Laboratoire de Recherche sur le Paludisme, Organisation de Coordination Pour la Lutte Contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC), P.O. Box 288, Yaoundé, Cameroon

² Vector Borne Diseases Laboratory of the Applied Biology and Ecology Research Unit (VBID-URBEA), Department of Animal Biology, Faculty of Sciences of the University of Dschang, P.O. Box 067, Dschang, Cameroon

³ Faculty of Science, University of Yaoundé I, P.O. Box 337, Yaoundé, Cameroon

⁴ Vector Biology, Liverpool School of Tropical Medicine, Pembroke Place, L3 5QA Liverpool, UK

Received 23 October 2019, Accepted 26 January 2020, Published online 12 February 2020

Abstract – The contribution of *Anopheles funestus* to malaria transmission in the urban environment is still not well documented. The present study assesses the implication of *An. funestus* in malaria transmission in two districts, Nsam and Mendong, in the city of Yaoundé. Adult mosquitoes were collected using Centers for Disease Control and Prevention miniature light traps (CDC-LT) and human landing catches from April 2017 to March 2018 and were identified morphologically to the species level. Those belonging to the *Anopheles gambiae* complex and to the *Anopheles funestus* group were further processed by PCR to identify members of each complex/group. Anopheline mosquitoes were analysed to determine their infection status using an enzyme-linked immunosorbent assay. Bioassays were conducted with 2–5-day-old female *Anopheles funestus* and *An. gambiae* s.l. to determine their susceptibility to permethrin, deltamethrin and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). Six anopheline species were collected in the peri-urban district of Mendong: *Anopheles gambiae*, *An. coluzzii*, *An. funestus*, *An. lesoni*, *An. ziemanni* and *An. marshallii*; only four out of the six were recorded in Nsam. Of the two members of the *Anopheles gambiae* complex collected, *An. coluzzii* was the most prevalent. *Anopheles coluzzii* was the most abundant species in Nsam, while *An. funestus* was the most abundant in Mendong. Both *Anopheles funestus* and *An. gambiae* s.l. were found to be infected with human *Plasmodium* at both sites, and both were found to be resistant to DDT, permethrin, and deltamethrin. This study confirms the participation of *An. funestus* in malaria transmission in Yaoundé and highlights the need to also target this species for sustainable control of malaria transmission.

Key words: Malaria, Transmission, *Anopheles funestus*, *Anopheles gambiae*, Urban, Yaoundé, Cameroon.

Résumé – Implication d'*Anopheles funestus* dans la transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé au Cameroun. La contribution d'*Anopheles funestus* à la transmission du paludisme en milieu urbain n'est pas encore bien documentée. La présente étude évalue l'implication d'*An. funestus* dans la transmission du paludisme dans la ville de Yaoundé. L'étude a été menée dans deux quartiers de la ville de Yaoundé, Nsam et Mendong. Des moustiques adultes ont été collectés à l'aide des pièges lumineux de type CDC et sur volontaires humains d'avril 2017 à mars 2018. Les moustiques appartenant au genre *Anopheles* ont été analysés afin de déterminer leur statut infectant grâce à la technique ELISA. Des bio-essais ont été effectués sur des femelles d'*An. funestus* et *An. gambiae* s.l. âgées de 2 à 5 jours afin de déterminer leur sensibilité à la perméthrine, la deltaméthrine et le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT). Six espèces d'anophèles ont été collectées dans le quartier périurbain de Mendong : *An. gambiae*, *An. coluzzii*, *An. funestus*, *An. lesoni*, *An. ziemanni* et *An. marshallii* ; seule les quatre premières ont été trouvées à Nsam. Des deux espèces du complexe *An. gambiae* retrouvées, *An. coluzzii* était la plus abondante. *Anopheles gambiae* s.l. était l'espèce prédominante à Nsam, tandis que *An. funestus* était la plus abondante à Mendong. Les deux espèces *An. funestus* et *An. gambiae* s.l. étaient infectées par des *Plasmodium* humains dans les deux sites, et se sont avérées résistantes au DDT, à la perméthrine et à la deltaméthrine. Cette étude confirme la participation d'*An. funestus* à la transmission du paludisme à Yaoundé et souligne la nécessité de cibler également cette espèce pour une lutte durable contre le paludisme.

*Corresponding author: antonio_nk@yahoo.fr