

## RESEARCH ARTICLE

### TOLÉRANCE AU TÊMÉPHOS DES LARVES DE MOUSTIQUES, VECTEURS DU PALUDISME ET DE *CULEX QUINQUEFASCIATUS* DANS LA COMMUNE DE DOGBO AU SUD-OUEST DE LA RÉPUBLIQUE DU BÉNIN, AFRIQUE DE L'OUEST

Nazaire Aïzoun<sup>1\*</sup> and Faustin Assongba<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Recherches Pluridisciplinaires de l'Enseignement Technique (LaRPET), Ecole Normale Supérieure de l'Enseignement Technique (ENSET) de Lokossa, Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques (UNSTIM) d'Abomey, BP 133 Lokossa Benin

<sup>2</sup>Laboratoire de Biologie Végétale et Pharmacopée Traditionnelle (LaBVephaT), Ecole Nationale Supérieure des Biosciences et Biotechnologies Appliquées de Dassa (ENSBBA-Dassa), Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques (UNSTIM) d'Abomey, BP 14 Dassa-Zoumé, Bénin.

<sup>3</sup>Laboratoire d'Ecologie Appliquée (LEA), Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin.

Received 19<sup>th</sup> January, 2022; Accepted 24<sup>th</sup> February, 2022; Published 30<sup>th</sup> March, 2022

#### ABSTRACT

With the rapid spread of pyrethroid resistance in the main malaria vectors from Benin there is a need to monitor organophosphate and/or carbamate resistance in mosquitoes, vectors of many human diseases. The current study aimed to evaluate temephos tolerance in larvae of *Anopheles gambiae* sensu lato and of *Culex quinquefasciatus* from Dogbo district in south-western Benin in West Africa. Larvae of *Anopheles gambiae* s.l and of *Culex quinquefasciatus* mosquitoes were collected from breeding sites using the dipping method in May 2021 during the great rainy season in Dogbo district. A batch of 25 larvae of third or fourth instar were exposed to temephos according to WHO larval bioassays protocol. Larval bioassays were performed on these collected mosquito larvae using temephos as larvicide. The results showed that both larvae of *Anopheles gambiae* sensu lato and of *Culex quinquefasciatus* from Dogbo district were resistant to temephos with high tolerance in *Culex quinquefasciatus*. Temephos tolerance is already present in larvae of mosquitoes from Dogbo district in south-western Benin and need to be monitored carefully. Insecticide resistance monitoring is essential to help national program to implement more effective and sustainable vector-borne disease control strategies in the country.

**Key words:** Larvae of Mosquitoes, Tolerance, Temephos, Disease Control, Benin.

#### INTRODUCTION

Le paludisme demeure l'une des maladies infectieuses les plus importantes dans le monde avec une estimation de 228 millions de cas et 405.000 morts en 2018 (Rapport mondial sur le paludisme, 2019). Malgré la réduction de la morbidité et de la mortalité cette dernière décennie, le nombre total de cas demeure actuellement stationnaire mais avec une augmentation dans certains contrées du monde. En Afrique, les enfants de moins de cinq ans sont particulièrement les plus affectés avec une sévère morbidité largement attribuée à l'infection due au parasite *Plasmodium falciparum*. Des efforts sont nécessaires dans la réduction du fardeau lié au paludisme et qui permettront une amélioration de la compréhension de l'évolution de la transmission de cette maladie (malERA, 2017). Bien que *Culex quinquefasciatus* ne soit pas impliqué dans la transmission du paludisme, il est un moustique d'importance médicale. Il est connu comme un vecteur principal dans la transmission de la filariose, dengue, du virus encéphalite St.

\*Corresponding Author: Nazaire Aïzoun,

Laboratoire de Recherches Pluridisciplinaires de l'Enseignement Technique (LaRPET), Ecole Normale Supérieure de l'Enseignement Technique (ENSET) de Lokossa, Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques (UNSTIM) d'Abomey, BP 133 Lokossa Benin.

Louis, virus du Nil ouest et du virus de la fièvre de la Vallée du Rift chez l'homme (Kauffman & Kramer, 2017). *Culex quinquefasciatus* est aussi considéré comme se nourrissant de façon opportuniste pendant que le choix de l'hôte varie suivant les régions. En effet, il se nourrit sur plusieurs espèces d'oiseaux, de mammifères et occasionnellement sur des reptiles et des amphibiens. Deux types de méthodes ou d'outils sont généralement utilisés en phase communautaire dans la lutte anti-vectorielle contre le paludisme à savoir: Les moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILDs) et les pulvérisations intradomiciliaires (PID). Au Bénin, entre 2008-2010, le Programme National de Lutte contre le Paludisme a entrepris un programme de lutte anti-vectorielle à grande échelle dans le département de l'Ouémé au sud du pays. Ce programme est basé sur les pulvérisations intra domiciliaires (PID) à base du bendiocarb dans les zones non inondables et la distribution gratuite des moustiquaires imprégnées de deltaméthrine (PermaNet 2.0) dans les zones inondables. Entre 2011-2015, le même programme a été entrepris par la suite dans le département de l'Atacora au nord du pays avec des PID à base de bendiocarb et de pyrimiphos-méthyl. Ces différents programmes de lutte anti-vectorielle ont eu un impact positif sur la réduction du nombre de cas ou la transmission du paludisme (Akogbéto *et al.*, 2011; 2015).

De plus, des distributions gratuites de MILDs se font régulièrement par le PNLP et d'autres programmes de PID sont aussi en cours dans le nord depuis 2017. Cependant, la lutte contre le paludisme, se heurte à différents types d'obstacles dont la résistance aux insecticides chez les vecteurs. L'utilisation des insecticides chimiques dans les interventions de lutte anti-vectorielle a réduit l'incidence du paludisme (Bhatt *et al.*, 2015). Cependant, l'augmentation de l'utilisation sans control ou sans limite d'un certain nombre d'insecticide, principalement les pyréthriinoïdes a entraîné une pression immense de sélection sur les populations d'insectes vecteurs de maladie qui enfin de compte ne sont pas affectés par ces produits (Ranson *et al.*, 2011 ; Edi *et al.*, 2012). L'émergence de la résistance aux insecticides des moustiques *Anopheles gambiae s.s.*, principaux vecteurs du paludisme constitue un obstacle à la lutte anti-vectorielle contre cette maladie. Chez les moustiques anophèles, la résistance est principalement conférée par les mutations du site cible de l'insecticide qui altère sa sensibilité (Aïzoun *et al.*, 2014a, 2014b) et par la surproduction des enzymes qui détoxifient ou séquestrent l'insecticide (Aïzoun *et al.*, 2014c, 2014d, 2014e). Très peu d'études ont été publiées au Bénin sur la tolérance aux larvicides des larves de moustiques, vecteurs du paludisme et de *Culex Quinquefasciatus* dans la commune de Dogbo au sud-ouest du Bénin. Par conséquent, il est nécessaire de conduire de nouvelles recherches à ce propos. Le but de la présente étude est d'évaluer la tolérance au téméphos des larves de moustiques, vecteurs du paludisme et de *Culex Quinquefasciatus* dans la commune de Dogbo au sud-ouest du Bénin en Afrique de l'Ouest.

## MATERIEL ET METHODES

**ZONE D'ETUDE:** La zone d'étude est localisée dans la république du Bénin (Afrique de l'Ouest) et plus précisément dans le département du Couffo. Le département du Couffo est localisé au sud-ouest du Bénin et l'étude a été réalisée plus précisément dans la commune de Dogbo. La commune de Dogbo est limitée au sud par les communes de Lokossa et de Bopa. Elle est limitée au nord par la commune de Djakotomey, à l'est par la commune de Lalo et à l'ouest par la république du Togo. La superficie de la commune de Dogbo est de 475 km<sup>2</sup>. Cette commune est de la région géographique du plateau ADJA (Afrique Conseil, 2006). Le choix de la zone d'étude prend en compte les activités économiques des populations, leurs pratiques habituelles de protection contre les piqûres des moustiques et les pratiques des paysans dans la lutte contre les ravageurs de cultures. Nous avons pris ces facteurs en compte afin d'évaluer la tolérance au téméphos (un organophosphoré) des larves de moustiques, vecteurs du paludisme et de *Culex Quinquefasciatus* dans la commune de Dogbo au sud-ouest de la république du Bénin en Afrique de l'Ouest. Le département du Couffo a un climat à quatre saisons dont deux saisons pluvieuses (Mars à Juillet et Août à Novembre) et deux saisons sèches (Novembre à Mars et Juillet à Août). La température varie entre 25 et 30°C avec une pluviométrie annuelle se situant entre 900 et 1100 mm.

## RECOLTE ET ELEVAGE DES LARVES D'ANOPHELES

**D'ANOPHELES :** Des visites de terrain ont été organisées en mai 2021 pendant la grande saison pluvieuse dans la commune de Dogbo à la recherche de gîtes de *Anopheles gambiae* sensu lato et de *Culex Quinquefasciatus*. La plupart des gîtes prospectés sont de petites flaques d'eau de pluie, empreintes de pas humains, caniveaux, fossés, rives, étangs, bassins,



Figure 1. Carte du Bénin montrant la commune de DOGBO

marécages, citernes, puits abandonnés et puisards. Une fois le gîte repéré, les larves ont été prélevées à la surface de l'eau avec la louche selon la méthode de trempage de O'Malley (1995). Le contenu est versé dans un récipient qui est rempli progressivement. On laisse décanter puis on filtre avec un tamis en forme d'entonnoir pour recueillir les larves dans des bocaux ou flacons étiquetés. Une fois arrivée à l'insectarium du département des Sciences et Techniques Agricoles de l'Ecole Normale Supérieure de l'Enseignement Technique (ENSET), les larves ont été réparties suivant leur stade de développement dans des bacs étiquetés contenant de l'eau de robinet et portant la date de collecte tout en prenant soin d'éliminer tous les prédateurs. Ces larves ont été nourries à la croquette de thon et de levure et élevées dans des conditions de température (26 à 30°C) et d'humidité (70 à 80 %) à l'insectarium jusqu'au troisième ou quatrième stade. *Anopheles gambiae s.l.* Kisumu, une souche de référence sensible a été utilisée comme témoin dans la réalisation des bioessais.

## PREPARATION DES SOLUTIONS STOCKS OU SUSPENSIONS ET DES CONCENTRATIONS TESTS :

Les solutions stocks et des séries de dilutions ont été préparées suivant le protocole décrit par l'OMS (WHO, 2005). Le volume de solution stock est de 20 ml dans 1%, obtenu par pesée de 200 mg de téméphos en poudre auquel est ajouté 20 ml de solvant. Il a été ensuite mis dans une fiole jaugée couverte de papier aluminium. Ensuite, cette fiole a été secouée vigoureusement afin de dissoudre le téméphos dans le solvant. La solution stock a été ensuite diluée 10 fois dans de l'éthanol (2ml de solution dans 18 ml de solvant). Les concentrations tests ont été ensuite obtenues en ajoutant 0.1–1.0 ml (100–1000 µl) de dilution appropriée à 100 ml ou 200 ml d'eau distillée.

**REALISATION DES BIOESSAIS :** Le protocole utilisé est celui de l'OMS (WHO, 2005). Initialement, les larves de moustiques sont exposées à une série de concentrations tests de téméphos en poudre et à un témoin afin de trouver l'activité du larvicide utilisé. Après la détermination de la mortalité des

larves dans cette série de concentrations, une autre série de 4 à 5 concentrations entraînant entre 10% et 95% de mortalité en 24 heures ou 48 heures a été utilisée afin de déterminer les valeurs de concentrations létales 50 (CL50) et de concentrations létales 90 (CL90). Un lot de vingt cinq (25) larves de troisième ou quatrième stade élevées à l'insectarium a été introduit au laboratoire du département des Sciences et Techniques Agricoles de l'École Normale Supérieure de l'Enseignement Technique (ENSET), dans cinq (05) gobelets plastiques tests de mêmes dimensions contenant chacun 100-200 ml d'eau de robinet. Les larves endommagées ont été remplacées. Le niveau de l'eau dans les gobelets est maintenu entre 5cm et 10 cm. Un volume approprié de dilution a été ajouté à 100 ml ou 200 ml d'eau contenue dans les gobelets afin d'obtenir la concentration recherchée en commençant par la plus basse concentration. Quatre répétitions ont été faites pour chaque concentration avec un nombre de témoins correspondant simultanément avec l'eau de robinet à laquelle est ajoutée 1ml d'alcool. Tous les gobelets plastiques ont été voilés avec de coupons de moustiquaires blanches. La mortalité des larves a été enregistrée 24 heures, 48 heures et 72 heures après l'exposition. Les gobelets plastiques tests et témoins ont été maintenus à la température de 25-28°C au laboratoire.

Les larves mortes sont celles qui ne peuvent pas bouger quand on insère une aiguille dans leur siphon ou région cervicale. Les larves moribondes sont celles qui sont incapables de monter à la surface de l'eau ou réagir ou bouger quand l'eau est perturbée.

**ANALYSES STATISTIQUES DES DONNEES :** Toutes les données collectées ont été analysées. Les valeurs de CL50 et CL90 ont été calculées à partir d'une régression log dosage-probit mortalité utilisant computer software programs. Les bioessais ont été répétées au moins trois fois en utilisant de nouvelles solutions ou suspensions et avec différents lots de larves chaque fois. La déviation standard ou intervalles de confiance des moyennes des valeurs de CL50 ont été calculées et enregistrées. Une série de tests est validée si la déviation standard relative (ou coefficient de variation) est inférieure à 25%. La formule d'Abbott n'a pas été utilisée dans la présente étude dans la correction des taux de mortalité dans les gobelets plastiques tests car les taux de mortalité dans tous les témoins ont été toujours inférieurs 5% (Abbott, 1987). Les valeurs de CL50 et CL90 ont été estimées en utilisant le logiciel SPSS version 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). La valeur de probabilité (p) soumise au t-test pour tous les cas dans la présente étude est inférieure à 5%.

## RESULTATS

Le ratio de résistance (RR50) des larves de *Anopheles gambiae s.l.* collectées dans la commune de Dogbo par rapport aux larves de souche de référence sensible *Anopheles gambiae s.l.* Kisumu est 1.44. Ce ratio de résistance (RR50) est supérieur à 1 (Table 1). De même, le ratio de résistance (RR90) des larves de *Anopheles gambiae s.l.* collectées dans la commune de Dogbo par rapport aux larves de souche de référence sensible *Anopheles gambiae s.l.* Kisumu est 4.26. Ce ratio de résistance (RR90) est aussi supérieur à 1 (Table 1). Ces résultats montrent que les larves de *Anopheles gambiae s.l.* de Dogbo sont résistantes au téméphos. Concernant *Culex quinquefasciatus*, le ratio de résistance (RR50) des larves de *Culex quinquefasciatus* collectées dans la commune de Dogbo par rapport aux larves de souche de référence sensible *Anopheles gambiae s.l.* Kisumu est 26.5.

**Tableau 1. Détermination des ratios de résistance des larves de *Anopheles gambiae s.l.***

Souches	CL50(mg/l)	CL90(mg/l)	RR50	RR90
Kisumu (Témoin)	0.0114	0.0462	-	-
Dogbo	0.0165	0.1970	1.44	4.26

Ce ratio de résistance (RR50) est largement supérieur à 1 (Table 2). De même, le ratio de résistance (RR90) des larves de *Culex quinquefasciatus* collectées dans la commune de Dogbo par rapport aux larves de souche de référence sensible *Anopheles gambiae s.l.* Kisumu est 50. Ce ratio de résistance (RR90) est aussi largement supérieur à 1 (Table 2). Ces résultats montrent que les larves de *Culex quinquefasciatus* de Dogbo sont fortement résistantes au téméphos.

**Tableau 2. Détermination des ratios de résistance des larves de *Culex quinquefasciatus***

Souches	CL50 (mg/l)	CL90(mg/l)	RR50	RR90
Kisumu (Témoin)	0.002	0.005	-	-
Dogbo	0.053	0.25	26.5	50

Les photos suivantes ont été prises pendant nos prospections larvaires sur le terrain dans la commune de Dogbo. Ces photos montrent que les gîtes de *Anopheles gambiae s.l.* (Figure 2) sont généralement moins pollués que ceux de *Culex quinquefasciatus* (Figure 3).



**Figure 2. Un gîte larvaire de *Anopheles gambiae s.l.* prospecté dans la commune de Dogbo**



**Figure 3. Un gîte larvaire de *Culex quinquefasciatus* prospecté dans la commune de Dogbo**

## DISCUSSION

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré que les larves de *Anopheles gambiae* sensu lato de la commune de Dogbo sont résistantes au téméphos. La résistance étant un phénomène héréditaire et dynamique ; c'est aussi possible que cette résistance au téméphos observée chez les larves soit aussi présente chez les anophèles femelles adultes de la commune de Dogbo. La résistance aux organophosphorés est souvent liée à la présence de l'allèle résistant *ace-1R* chez les moustiques. Mais cet allèle confère aussi la résistance aux carbamates. La réalisation du test PCR (réaction en chaîne de la polymérase) est donc indispensable afin de déterminer la fréquence de cet allèle résistant *ace-1R* dans les populations d'anophèles vecteurs du paludisme dans cette commune du pays. Ce test est nécessaire après avoir réalisé les tests OMS de détermination de la sensibilité des vecteurs aux insecticides. La résistance de *Anopheles gambiae* s.l. aux organophosphorés a été déjà signalée au Bénin au nord du pays mais chez les anophèles femelles adultes. Il s'agit plus précisément de la résistance au fénitrothion chez *Anopheles gambiae* s.l. Malanville et *Anopheles gambiae* s.l. Tanguiéta (Aïzoun *et al.*, 2013). Cette résistance serait due aux campagnes de pulvérisation intradomiciliaire en cours dans le nord du pays plus précisément dans le département de l'Atacora pendant la période de cette étude. Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré que les larves de *Culex quinquefasciatus* de la commune de Dogbo sont fortement résistantes au téméphos. De plus, ces larves ont développé une forte tolérance comparativement aux larves de *Anopheles gambiae* sensu lato. Cela peut être dû au fait que les gîtes de *Culex quinquefasciatus* sont plus pollués que ceux de *Anopheles gambiae* s.l. renfermant ainsi plusieurs xénobiotiques avec des niveaux élevés. Cette forte tolérance de *Culex quinquefasciatus* au téméphos peut aussi s'expliquer par la présence de certains produits chimiques utilisés dans le domaine agricole comme les pesticides à base d'organophosphorés qui se retrouvent dans les gîtes de *Culex quinquefasciatus* grâce à l'eau de ruissellement après pluies. Les engrais chimiques utilisés dans les champs peuvent aussi se retrouver dans ces gîtes contribuant ainsi à la tolérance des larves aux larvicides.

*Culex quinquefasciatus* est un vecteur qui préfère une diversité de gîtes larvaires souvent pollués. L'urbanisation rapide des principales villes en Afrique a favorisé l'installation de *Culex quinquefasciatus* en milieu urbain (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2012; Mourou *et al.*, 2012). Compte tenu du fait que *Cx. quinquefasciatus* est très opportuniste et que n'importe quelle collection d'eau permanente ou temporaire peut servir à ses larves de gîte potentiel (Forattini, 2002; Leyva *et al.*, 2012), la lutte anti-vectorielle doit se focaliser sur l'élimination ou le traitement des gîtes larvaires avec l'amélioration du cadre sanitaire communautaire. Comme les moustiques *Culex* sont souvent trouvés vivant en sympathie avec les anophèles en Afrique Subsaharienne, il est possible que les populations locales de *Culex* aient aussi reçu de fortes pressions de sélection (Fonseca *et al.*, 2004; Leyva *et al.*, 2012) conduisant ainsi au développement de la résistance chez les espèces vectrices importantes. Une étude conduite par Corbel *et al* (2007) au Bénin a montré l'existence de mécanismes de résistance multiple aux insecticides chez les moustiques adultes *Anopheles gambiae* et *Culex quinquefasciatus*. Ces mécanismes de résistance suggèrent une forte pression de sélection présente en milieu urbain. En effet, dans la zone urbaine de Cotonou ((Ladji et Asecna) au sud du Bénin, il a été

noté une forte fréquence *kdr* avec des niveaux élevés des enzymes de détoxification à savoir: l'activité des estérases et celle des Glutathion-S-transférases (5 à 7 fois plus élevé que celles de SLAB) avec des niveaux de résistance élevés à la perméthrine, au DDT et au carbosulfan (un carbamate). Les carbamates ont pratiquement le même mode d'action que les organophosphorés.

## CONCLUSION

La tolérance au téméphos est déjà présente chez les larves de moustiques, vecteurs de maladie humaine dans la commune de Dogbo au sud-ouest du Bénin et nécessite un suivi attentif. Ce suivi est d'autant plus important qu'il permettra le traitement efficace des gîtes larvaires empêchant ainsi les larves d'atteindre l'étape adulte ou le stade imaginal plus difficile à maîtriser. Le suivi de la résistance aux insecticides est nécessaire afin d'aider le Programme National de Lutte contre le Paludisme dans sa mise en œuvre des stratégies efficaces et convenables de lutte contre les maladies à transmission vectorielle dans le pays.

## RÉFÉRENCES

- WHO, 2019. World malaria report. Geneva: World Health Organization.
- malERA, 2017. Refresh Consultative Panel on Characterising the Reservoir and Measuring Transmission. malERA: an updated research agenda for characterising the reservoir and measuring transmission in malaria elimination and eradication. *PLoS Med* 14, e1002452.
- Kauffman, E.B. & Kramer, L.D, 2017. Zika virus mosquito vectors: competence, biology, and vector control. *J. Infect. Dis* 216, S976–S990.
- Akogbéto, M., Padonou, G.G., Bankole, H.S., Gazard, D.K., Gbedjissi, G.L, 2011 .Dramatic decrease in malaria transmission after large-scale indoor residual spraying with bendiocarb in Benin, an area of high resistance of *Anopheles gambiae* to pyrethroids. *Am J Trop Med Hyg* 85,586–93.
- Akogbéto, M.C., Aikpon, R., Azondekon, R., Padonou, G., Osse, R., Agossa, F.R., *et al*, 2015. Six years of experience in entomological surveillance of indoor residual spraying against malaria transmission in Benin: lessons learned, challenges and outlooks. *Malar J* 14, 242.
- Bhatt, S., Weiss, D.J., Cameron, E., Bisanzio, D., Mappin, B., Dalrymple, U., *et al*, 2015. The effect of malaria control on *Plasmodium falciparum* in Africa between 2000 and 2015. *Nature* 526, 207–211.
- Ranson, H., N'guessan, R., Lines, J., Moiroux, N., Nkuni, Z., Corbel, V, 2011. Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control? *Trends Parasitol* 27, 91–8.
- Edi, C.V., Koudou, B.G., Jones, C.M., Weetman, D., Ranson, H, 2012. Multiple-insecticide resistance in *Anopheles gambiae* mosquitoes, southern Côte d'Ivoire. *Emerg Infect Dis* 18, 1508–11.
- Aïzoun, N., Aikpon, R., Akogbéto, M, 2014a. Evidence of increasing L1014F *kdr* mutation frequency in *Anopheles gambiae* s.l. pyrethroid resistance following a nationwide distribution of LLINs by the Beninese National Malaria Control Programme. *Asian Pac J Trop Biomed* 4(3), 239–243.

- Aïzoun, N., Gnanguenon, V., Azondekon, R., Anagonou, R., Aïkpon, R., Akogbéto, M, 2014b. Status of organophosphate and carbamate resistance in *Anopheles gambiae sensu lato* from the Sudano Guinean area in the central part of Benin, West Africa. *J Cell Anim Biol* 8(4), 61-68.
- Aïzoun, N., Aïkpon, R., Gnanguenon, V., Azondekon, R., Oké-Agbo, F., Padonou, G.G., Akogbéto, M, 2014c. Dynamics of insecticide resistance and effect of synergists piperonyl butoxide (PBO), S.S.S-tributylphosphorotrithioate (DEF) and ethacrynic acid (ETAA or EA) on permethrin, deltamethrin and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) resistance in two *Anopheles gambiae s.l.* populations from southern Benin, West Africa. *J Parasitol Vector Biol* 6(1), 1-10.
- Aïzoun, N., Azondekon, R., Aïkpon, R., Anagonou, R., Gnanguenon, V., and Akogbéto, M, 2014d. Dynamics of insecticide resistance and exploring biochemical mechanisms involved in pyrethroids and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) cross-resistance in *Anopheles gambiae s.l.* populations from Benin, West Africa. *J Cell Anim Biol* 8(3), 41-50.
- Aïzoun, N., Azondekon, R. and Akogbéto, M, 2014e. Exploring Glutathione S-transferases involved in dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and permethrin cross-resistance in *Anopheles gambiae s.l.* populations in the south-north transect Benin, West Africa. *Int J Curr Microbiol App Sci* 3(9), 392-403.
- Afrique conseil, 2006. Monographie de la commune de DOGBO, 42 pages.
- O'Malley, C, 1995. Seven ways to a succesful dipping carrer. *Wing beats*, 6, 23-4.
- WHO, 2005. "Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides," World Health Organization Communicable Disease Control, Prevention and Eradication WHO Pesticide Evaluation Scheme. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13.
- Abbott, W.S, 1987. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Am. Mosq. Cont. Assoc* 3(2), 302-303.
- Aïzoun, N., Aïkpon, R., Gnanguenon, V., Oussou, O., Agossa, F., Padonou, G.G., Akogbéto, M, 2013. Status of organophosphate and carbamate resistance in *Anopheles gambiae sensu lato* from the south and north Benin, West Africa. *Parasit Vectors* 6, 274.
- Antonio-Nkondjio, C. *et al.*, 2012. High mosquito burden and malaria transmission in a district of the city of Douala Cameroon. *BMC Infect Dis* 12, 275.
- Mourou, J.-R. *et al.*, 2012. Malaria transmission in Libreville: results of a one year survey. *Malar J* 11, 40.
- Forattini O.P., 2002. Espécie de *Culex* (*Culex*). In: Forattini OP, editor. *Culicidologia Médica*. São Paulo: Editora Universidade de São Paulo. p. 693–722.
- Leyva, I.M., Marquetti, C.M., Montada, D.L., 2012. Segregation of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) niche under laboratory conditions. *Rev Cubana Med Trop* 64, 206–11.
- Fonseca, D.M., Keyghobadi, N., Malcolm, C.A., Mehmet, C., Schaffner, F., Mogi, M., *et al.*, 2004. Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. *Science* 303, 1535–8.
- Corbel V, N'guessan R, Brengues C, Chandre F, Djogbenou L, Martin T, Akogbeto M, Hougard JM, Rowland M, 2007. Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. *Acta Trop* 101, 207–16.

\*\*\*\*\*