

## ENTOMOLOGIE MÉDICALE/MEDICAL ENTOMOLOGY

## Investigation entomologique lors de l'épidémie de chikungunya au Tchad en 2020

## Entomological investigation during the chikungunya epidemic in Chad in 2020

Tchonfienet MOUNDAI, Mahamat Alio HAMIT, Israël DEMBA KODINDO, Élise Kalnoné YANGALBE, Hinzoumbé Clément KERAH, Tidjani ABDELSALAM, Sévilor KEKEUNOU

**RÉSUMÉ** **Objectifs.** Le but de l'enquête était d'identifier les vecteurs de chikungunya et d'étudier leur bioécologie afin de contribuer aux activités de riposte contre l'épidémie de 2020 dans les villes d'Abéché et de Biltine à l'Est du Tchad.

**Matériel et méthodes.** Les stades immatures des moustiques *Aedes* ont été collectés et les indices de risque épidémique (indices Réipient, Maison et de Breteau) ont été calculés et comparés par le test du Khi carré. Les larves et nymphes collectées ont été mises en élevage et les adultes qui en sont issus ont été identifiés morphologiquement à l'aide d'une clé dichotomique. La faune résiduelle endophile a été échantillonnée par pulvérisation matinale d'insecticide dans les chambres où seules les femelles étaient collectées.

**Résultats.** Au total, 2039 spécimens de moustiques appartenant à trois genres ont été collectés : 470 (23%) ont été identifiés comme *Aedes aegypti*, 731 *Anopheles* spp (36%) et 838 *Culex* spp (41%). Les pots de fleurs étaient les gîtes les plus représentés (69%) suivis des jarres/fûts d'eau (17%) et des pneus/récipients abandonnés (14%). Partout, les indices de risque étaient largement au-dessus des seuils épidémiques définis par l'OMS. Entre les deux villes, seul l'indice Maison a présenté une différence significative ( $p=0,004$ ) : il était plus élevé à Abéché qu'à Biltine.

**Conclusion.** L'enquête a permis d'identifier *A. aegypti* comme vecteur probable de chikungunya présent dans les deux villes. Il importe de chercher à comprendre ses comportements de piqure et de repos ainsi que sa sensibilité aux différentes classes d'insecticides afin d'organiser une lutte antivectorielle efficace.

**Mot clés :** Chikungunya, *Aedes aegypti*, Risque épidémique, Est du Tchad, Abéché, Biltine, Tchad, Afrique subsaharienne

**ABSTRACT** **Objectives.** The aim of this study was to identify chikungunya vectors and study their bioecology in order to contribute to the response to the 2020 epidemic in the cities of Abéché and Biltine in eastern Chad.

**Materials and Methods.** Immature stages of *Aedes* mosquitoes were collected and epidemic risk indices (Container index, House index and Breteau index) were calculated and compared using the Chi-square test. The collected larvae and nymphs were reared, and the resulting adults were morphologically identified using a dichotomous key. Residual endophilic fauna was sampled by morning insecticide spraying in chambers. Only female mosquitoes were collected.

**Results.** A total of 2,039 mosquito specimens belonging to three genera were collected: 470 (23%) were identified as *Aedes aegypti*, 731 *Anopheles* spp (36%), and 838 *Culex* spp (41%). Flowerpots were the most common breeding sites (69%), followed by jars/water barrels (17%) and abandoned tires or containers (14%). The risk indices were all well above the epidemic thresholds defined by the WHO. Between the two cities, only the house index showed a significant difference ( $p=0.004$ ): it was higher in Abéché than in Biltine.

**Conclusion.** The study identified *A. aegypti* as a likely vector of chikungunya in both cities. It is important to understand its biting and resting behavior, as well as its sensitivity to different classes of insecticides, in order to organize effective vector control.

**Key words:** Chikungunya, *Aedes aegypti*, Epidemic risk, Eastern Chad, Abéché, Biltine, Chad, Sub-Saharan Africa

## Introduction

Le chikungunya est une arbovirose due à un *Alphavirus* de la famille des *Togaviridae* [17]. Le virus est transmis à l'homme par des moustiques du genre *Aedes*, majoritairement par les espèces *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*, hautement adaptées aux milieux urbains et péri-urbains [2,13]. Identifié pour la première fois en Tanzanie en 1952 [20,21], on en connaît actuellement trois génotypes différents : le génotype Ouest africain, le Sud-Est africain et l'asiatique [15]. Le virus du chikungunya (VCHIK) provoque ces dernières années des flambées de plus en plus fréquentes et plus étendues [6]. Depuis 2004, il est devenu un problème majeur de santé publique au monde [9]. Le terme « chikungunya » signifie littéralement « marcher courbé » en langue makondé (parlée en Tanzanie), en référence à l'attitude caractéristique des patients atteints par la maladie [21]. La maladie se manifeste par une fièvre d'apparition brutale accompagnée de douleurs articulaires qui imposent souvent « une marche courbée » aux patients [4]. À l'heure actuelle, on ne dispose pas de traitement antiviral spécifique [1]. Les moyens de lutte les plus vulgarisés incluent la protection individuelle contre les piqûres des moustiques et la destruction de leurs gîtes larvaires les plus évidents [13]. Cependant, les études sur les molécules vaccinales sont prometteuses. Les résultats obtenus avec le vaccin VLA1553, en essai de phase 3, fait de lui un excellent candidat pour la prévention de l'infection au VCHIK [23]. En plus, un autre candidat, Ixchiq, vient d'être approuvé par la « *Food and Drug Administration* » (FDA) malgré les restrictions dans son utilisation [5]. Avant 2020, le Tchad n'avait jamais déclaré ni importé sur son territoire de cas de chikungunya. En avril 2020, le district sanitaire d'Abéché a commencé à notifier des malades présentant des signes et symptômes rappelant ceux du paludisme, notamment dans la ville d'Abéché (Fig. 1). Les analyses des échantillons de sang total des patients au laboratoire mobile du G5 Sahel utilisant la technique de transcription inverse suivie d'une amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR) ont mis en évidence la présence du pathogène VCHIK. Ces résultats ont été confirmés par un contrôle qualité aux laboratoires du Centre Pasteur de Yaoundé (Cameroun), utilisant la même technique. Cela a conduit les autorités politiques à déclarer la toute première épidémie de chikungunya au Tchad le 27 août 2020. Par la suite, d'autres échantillons sanguins prélevés à Biltine (Fig. 1), Goz-Beïda et Abdi, tous à l'Est du Tchad, se sont également révélés positifs. Selon

## Introduction

Chikungunya is an arbovirosis caused by an *Alphavirus* of the family *Togaviridae* [17]. The virus is transmitted to humans by mosquitoes of the genus *Aedes*, mainly the species *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, which are highly adapted to urban and peri-urban environments [2,13]. First identified in Tanzania in 1952 [20,21], three distinct genotypes are currently known: West African, Southeast African, and Asian [15]. In recent years, chikungunya virus (CHIKV) has caused increasingly frequent and widespread outbreaks [6]. Since 2004, it has become a major public health problem worldwide [9]. The term “chikungunya” literally means “to walk hunched over” in the Makonde language (spoken in Tanzania), referring to the characteristic posture of patients affected by the disease [21]. The disease manifests as a sudden onset of fever accompanied by joint pain, often forcing patients to “walk hunched over” [4]. No specific antiviral treatment is currently available [1]. The most popular control measures include personal protection against mosquito bites and destruction of the most obvious breeding sites [13]. However, studies of vaccine molecules are promising. The results obtained with the VLA1553 vaccine, currently in phase 3 trials, make it an excellent candidate for the prevention of VCHIK infection [23]. In addition, another candidate, Ixchiq, has just been approved by the Food and Drug Administration (FDA) despite restrictions on its use [5]. Prior to 2020, Chad had never reported or imported a case of chikungunya on its territory. In April 2020, the Abéché health district began reporting patients with malaria-like signs and symptoms, particularly in the city of Abéché (Fig. 1). Analysis of the patients' whole blood samples at the G5 Sahel mobile laboratory using the reverse transcription followed by polymerase chain reaction (RT-PCR) technique revealed the presence of the CHIKV pathogen. These results were confirmed by quality control at the Centre Pasteur laboratories in Yaoundé, Cameroon, using the same technique. This led the political authorities to declare the first Chikungunya epidemic in Chad on August 27, 2020. Subsequently, other blood samples collected in Biltine (Fig. 1), Goz-Beïda and Abdi, all in eastern Chad, were also tested positive. According to unpublished epidemiologic surveillance data, the epidemic involved a total of nearly 40,000 cases, including one death, for an apparent mortality rate of less than 0.1%. Most cases were reported in Abéché (over 30,000 cases) and Biltine (over 6,000 cases).

les données non publiées de la surveillance épidémiologique, l'épidémie avait fait près de 40 000 cas au total dont un décès, soit un taux apparent de mortalité de moins de 0,1 %. La plupart des cas ont été enregistrés à Abéché (plus de 30 000 cas) et à Biltine (plus de 6 000 cas).

Aussi, jusqu'à la déclaration de cette épidémie, il n'existait aucune donnée sur les vecteurs de cette arbovirose au Tchad en général, et dans les localités touchées en particulier. Le Programme national de lutte contre le paludisme (PNLP) y avait conduit des évaluations entomologiques focalisées uniquement sur les anophèles, vecteurs du paludisme. Il était donc important de mener des investigations pour comprendre les facteurs déterminants entomologiques de l'épidémie afin de prévoir son évolution et contrôler la propagation du VCHIK dans le pays.

Le présent travail rend compte des activités entomologiques conduites à Abéché et Biltine respectivement en août et septembre 2020, lors de cette épidémie. Le but était de contribuer à la documentation scientifique de l'épidémie de chikungunya à l'est du Tchad. Plus spécifiquement, il était question de rechercher et d'identifier les moustiques vecteurs de chikungunya dans les localités touchées, d'évaluer les indicateurs entomologiques de risque de propagation de la maladie afin de proposer des méthodes de lutte antivectorielle appropriées.

Until the declaration of this epidemic, there was no data on the vectors of this arbovirose in Chad in general and in the affected localities in particular. The National Malaria Control Program (NMCP) had carried out there entomological studies focusing exclusively on *Anopheles*, the vectors of malaria. Therefore, it was important to carry out studies to understand the entomological determinants of the epidemic in order to predict its evolution and control the spread of CHIKV in the country.

The present work reports on entomological activities carried out in Abéché and Biltine in August and September 2020, respectively, during this epidemic. The aim was to contribute to the scientific documentation of the chikungunya epidemic in eastern Chad. More specifically, the objective was to study and identify the mosquito vectors of chikungunya in the affected localities and to evaluate entomological indicators of the risk of disease spread in order to propose appropriate vector control methods.



Figure 1 : Sites d'enquête (carte Moundai)

Figure 1: Survey site locations (carte Moundai)

## Méthodologie

### Les localités investiguées

Les investigations ont eu lieu dans les villes d'Abéché (13° 50' 24" Nord, 20° 49' 48" Est) et de Biltine (14° 31' 39" Nord, 20° 55' 36" Est), chefs-lieux respectifs des provinces du Ouaddaï et du Wadi Fira frontalières du Soudan (Fig. 1). Sur la base du dernier recensement de la population et de l'habitat au Tchad en 2009, la population d'Abéché est estimée à plus de 150 000 habitants contre plus de 25 000 pour Biltine. Les deux villes sont dans le domaine sahélien caractérisé par une courte saison de pluies (juillet à septembre). La moyenne annuelle des précipitations se situe autour de 500 mm, et la température moyenne est de 37°C pour une humidité relative moyenne d'environ 25 % [8].

L'enquête s'est déroulée en août 2020, en pleine saison de pluies à Abéché et juste après les dernières pluies, en septembre, à Biltine. A Abéché, elle a couvert 4 zones de santé (Salamat, Ahmat El Badawi, Kamina et Djatinié) choisies au hasard sur les 11 que compte la ville tandis qu'à Biltine les deux zones (Biltine Est et Biltine Ouest) ont été prospectées.

### Prospection des stades immatures et évaluation du risque épidémique

Les formes immatures (larves et nymphes) d'*Aedes*, ont été recherchées dans les gîtes artificiels rencontrés dans les ménages. L'eau des gîtes positifs a été passée à travers un tamis à maille très fine pour retenir les larves et les nymphes. Ces dernières ont été récupérées et mises en élevage dans des bassines plastiques jusqu'à l'obtention des stades imaginaux. Les larves ont été nourries avec du biscuit commercial et les adultes ont reçu une solution sucrée à 10 % préparée avec du sucre commercial.

Le risque entomologique a été exprimé sur le modèle de la fièvre jaune, par les indices stégomyiens définis par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [16]. Il s'agit de l'indice Récipient (nombre de gîtes positifs par rapport au nombre de gîtes en eau), de l'indice de Breteau (nombre de gîtes renfermant des larves ou nymphes d'*Aedes* spp. pour 100 maisons) et de l'indice Maison (pourcentage de maisons possédant des gîtes positifs). Un gîte est considéré positif quand il renferme au moins une larve et/ou nymphe d'*Aedes* spp. Pendant la prospection des stades immatures, il a été fait usage de la définition de l'OMS selon laquelle une maison est « toute structure dans laquelle dort habituellement au moins une personne » [16].

## Methodology

### Localities surveyed

The survey took place in the towns of Abéché (13° 50' 24" North, 20° 49' 48" East) and Biltine (14° 31' 39" North, 20° 55' 36" East), the capital cities of Ouaddaï and Wadi Fira provinces, respectively, which border on Sudan (Fig. 1). Based on the most recent population and housing census in Chad in 2009, the population of Abéché is estimated to be over 150,000, compared to over 25,000 for Biltine. Both cities are located in the Sahel zone with a short rainy season (July to September). The average annual rainfall is about 500 mm, and the average temperature is 37°C with an average relative humidity of about 25% [8].

The survey took place in August 2020, at the height of the rainy season in Abéché, and just after the last rain in September in Biltine. In Abéché, the survey covered 4 health areas (Salamat, Ahmat El Badawi, Kamina and Djatinié) randomly selected among the 11 areas of the city, while in Biltine, both areas (Biltine East and Biltine West) were surveyed.

### Survey of immature stages and epidemic risk assessment

Immature forms (larvae and nymphs) of *Aedes* were searched for in artificial breeding sites found in households. Water from positive sites was passed through a fine-mesh sieve to retain larvae and nymphs. Nymphs were collected and reared in plastic basins until they reached the imaginal stage. Larvae were fed commercial biscuits and adults were fed a 10% sugar solution prepared with commercial sugar.

The entomological risk was expressed on the basis of the yellow fever model, using the Stegomyia indices defined by the World Health Organization (WHO) [16]. These are the Container index (number of positive sites in relation to the number of sites in the water), the Breteau index (number of sites containing larvae or nymphs of *Aedes* spp. per 100 houses), and the House index (percentage of houses with positive sites). A house is considered positive if it contains at least one larva and/or nymph of *Aedes* spp. The WHO definition of a "house" as "any structure in which at least one person customarily sleeps" [16] was used for immature stage sampling.

### Échantillonnage des moustiques adultes

Pour échantillonner les moustiques adultes, nous avons récolté la faune résiduelle endophile par *pyrethrum spray catches* (PSC) qui consiste en une pulvérisation matinale d'insecticide dans les chambres [25]. Pour cela, un insecticide commercial (Oro<sup>®</sup>) de la famille des pyréthrinoïdes et contenant un synergiste (piperonyl butoxide) a été utilisé. Dans la chambre à pulvériser, des draps blancs sont étalés de façon à couvrir entièrement le plancher pour permettre de récolter les moustiques qui tombent sous l'effet de l'insecticide. Seuls les moustiques femelles ont été collectés.

### Identification des spécimens

Les moustiques issus des différentes collectes ont été groupés par genre et seules les espèces du genre *Aedes* ont été identifiées morphologiquement grâce aux clés dichotomiques [11]. Ils ont été regroupés en lots mono spécifiques tout en tenant compte des méthodes, dates et lieux de capture, et aussi de leur état de réplétion.

### Paramètres mesurés

Les variables mesurées pendant l'enquête ont été :

- Indice récipient (IR) = nombre de gîtes positifs \* 100 / nombre de gîtes en eau ;
- Indice maison (IM) = nombre de maisons avec gîtes positifs \* 100 / nombre de maisons visitées ;
- Indice de Breteau (IB) = nombre de gîtes positifs \* 100 / nombre de maisons visitées ;
- Nombre de spécimens de *Aedes* femelles collectés dans chaque site.

Selon l'OMS, le risque épidémique est associé à des indices stégomyiens de 4-35 ou plus pour l'IM, 3-20 pour l'IR et 5-50 ou plus pour l'IB [16]. Les indices de risques ont été comparés entre les deux villes en utilisant le test de Khi-carré (seuil de signification de 0,05).

Nous avons obtenu une autorisation administrative du ministère de la Santé publique à travers un ordre de mission. Sur le terrain, la procédure d'enquête a été expliquée aux autorités locales et aux chefs de ménages. La prospection a eu lieu chez les seules personnes consentantes.

### Sampling of adult mosquitoes

To sample adult mosquitoes, we collected the residual endophilic fauna by *pyrethrum spray catching* (PSC), which consists of a morning spray of insecticide in bedrooms [25]. A commercial insecticide (Oro<sup>®</sup>) belonging to the pyrethroid family and containing a synergist (piperonyl butoxide) was used. White sheets were spread out to cover the entire floor so that any mosquitoes that fell under the effect of the insecticide could be collected. Only female mosquitoes were collected.

### Identification of specimens

Mosquitoes from the different collections were grouped by genus. Only species of the genus *Aedes* were identified morphologically using dichotomous keys [11]. They were grouped into monospecific batches, taking into account the methods, dates and places of capture, as well as their state of replenishment.

### Measured parameters

The variables measured during the survey were:

- Container index (CI) = percentage of water-holding containers infested with larvae or pupae;
- House index (HI) = percentage of houses infested with larvae and/or pupae;
- Breteau index (BI) = percentage of positive containers in inspected houses;
- Number of female *Aedes* mosquitoes collected at each site.

According to the WHO, epidemic risk is associated with *Stegomyia* indices of 4-35 or more for MI, 3-20 for RI and 5-50 or more for IB [16]. The risk indices were compared between the two cities using the chi-squared test (significance level 0.05).

We obtained administrative approval from the Ministry of Public Health through a mission order. In the field, the survey procedure was explained to local authorities and household heads. Only consenting individuals were interviewed.

## Résultats

Cette enquête entomologique a permis de collecter 2 039 spécimens de moustiques femelles (1 859 par PSC et 180 par élevage des stades immatures), tous genres confondus, dans les deux sites.

### Prospection des stades immatures

Le Tableau I présente les villes prospectées, les gîtes trouvés et les indices de risque épidémique calculés. Au total, 94 ménages, correspondant à 269 maisons, ont été visités et 126 récipients d'eau détectés dont 49 positifs.

## Results

The entomological survey collected 2,039 specimens of female mosquitoes (1,859 by PSC and 180 by rearing of immature stages), all genera combined, from the two sites.

### Survey of immature stages

Table I shows the towns surveyed, the breeding sites found, and the epidemic risk indices calculated. A total of 94 households, corresponding to 269 houses, were visited and 126 water containers were detected, of which 49 were positive.

Tableau I: Prospection des stades immatures et indices de risque épidémique de chikungunya dans les deux villes prospectées

Table I: Survey of immature stages and chikungunya epidemic risk indicators in the two cities surveyed

Villes/Cities	NMV/NHV	NGT/NBF	NGP/NPBF	MGP/HPB	Indices stégomyiens/ Stegomyia indices		
					IM/HI (%)	IR/CI (%)	IB/BI (%)
Abéché	120	80	35	24	20	44	29
Biltine	149	46	14	12	8	30	9
<b>Total</b>	<b>269</b>	<b>126</b>	<b>49</b>	<b>36</b>	<b>13</b>	<b>39</b>	<b>18</b>

NMV/NHV : Nombre de maisons visitées/Number of houses visited; NGT/NBF : Nombre de gîtes en eau trouvés/Number of breeding sites found; NGP/NPBF : Nombre de gîtes positifs/Number of positive breeding sites; MGP/HPB : Maison avec gîtes positifs/House with positive breeding sites; IM/HI : Indice maison/House Index; IR/CI : Indice récipient/Container Index; IB/BI : Indice de Breteau/Breteau index.

Les larves et nymphes collectées pendant cette prospection ont été mises en élevage et ont permis d'obtenir 180 adultes (111 à Abéché et 69 à Biltine) tous identifiés comme *A. aegypti*.

Les trois indices de risque ont été au-dessus des seuils définis par l'OMS. Ils ont été plus élevés à Abéché qu'à Biltine. Mais seul l'indice maison a présenté une différence significative ( $p=0,004$ ) entre les deux sites. Il n'y avait pas de différence significative pour les indices récipient ( $p=0,6$ ) et de Breteau ( $p=0,13$ ). Les indices stégomyiens dépassent les seuils de l'OMS à Abéché, alors qu'à Biltine, l'indice de Breteau reste inférieur au seuil de l'OMS.

### Typologie des gîtes

Divers types de gîtes larvaires ont été retrouvés et ceux-ci ont été regroupés en trois catégories : pots de fleurs, récipients de conservation d'eau (jarres et fûts) et objets abandonnés (pneus et récipients) (Fig. 2). Au total, 126 récipients d'eau ont été recensés pendant l'enquête. Les pots de fleurs étaient les plus représentés (69 %) suivis des récipients de conservation d'eau (17 %) et des objets abandonnés (14 %).

The larvae and nymphs collected during the survey were reared, yielding 180 adults (111 in Abéché and 69 in Biltine), all identified as *A. aegypti*.

All three risk indices were above WHO thresholds. They were higher in Abéché than in Biltine. However, only the HI showed a significant difference ( $p=0.004$ ) between the two sites. There was no significant difference for the CI ( $p=0.6$ ) and BI ( $p=0.13$ ) index. *Stegomyia* indices exceed WHO thresholds in Abéché, while in Biltine, the Breteau index remains below the WHO threshold.

### Typology of breeding sites

A variety of larval breeding sites were found, grouped into three categories: flowerpots, water storage containers (jars and barrels), and abandoned objects (tires and containers) (Fig. 2). A total of 126 water containers were counted during the survey. Flowerpots were the most common (69%), followed by water containers (17%) and abandoned objects (14%).



Figure 2 : A. Pots de fleurs dans un ménage ; B. Bidon abandonné trouvé avec plein de larves d'*Aedes aegypti* ; C. Récipients de conservation d'eau  
Figure 2: A. Flower pots in a household; B. Abandoned container found full of *Aedes aegypti* larvae; C. Water storage containers

### Collecte des moustiques adultes

Au total, 40 chambres ont été pulvérisées à Abéché et 60 à Biltine. Ainsi, 1 859 moustiques femelles, appartenant à trois genres (*Aedes*, *Anopheles* et *Culex*) ont été collectés par PSC. Les résultats des collectes sont consignés dans le Tableau II. Tous les 290 spécimens d'*Aedes* collectés par PSC ont été identifiés morphologiquement comme l'espèce *A. aegypti*. Ainsi, pour l'ensemble de la collecte (PSC et collecte larvaire), il y avait 470 *A. aegypti*, soit 23 % des femelles collectées.

### Collection of adult mosquitoes

A total of 40 rooms were sprayed in Abéché and 60 in Biltine. A total of 1,859 female mosquitoes of three genera (*Aedes*, *Anopheles* and *Culex*) were collected by PSC. The results are presented in Table II. All the 290 *Aedes* specimens collected by PSC were morphologically identified as *A. aegypti*. Thus, for the total collection (PSC and larval collection), there were 470 *A. aegypti* (23% of female mosquitoes).

Tableau II : Répartition des moustiques collectés par PSC sur les deux sites  
Table II: Distribution of mosquitoes collected by PSC on the two sites

Villes/Cities	Nb. chambres pulvérisées/ No. of rooms sprayed	Moustiques femelles collectés/Female mosquitoes collected			
		<i>Aedes</i> spp n (%)	<i>Anopheles</i> spp n (%)	<i>Culex</i> spp n (%)	Total n (%)
Abéché	40	190 (25)	42 (6)	526 (69)	758 (100)
Biltine	60	100 (9)	689 (63)	312 (28)	1 101 (100)
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>290 (16)</b>	<b>731 (39)</b>	<b>838 (45)</b>	<b>1 859 (100)</b>

n = Nombre de moustiques par genre collectés par ville/ Number of mosquitoes by genus collected by city

## Discussion

L'objectif de l'enquête était d'identifier les espèces d'*Aedes* susceptibles de transmettre le VCHIK dans les villes d'Abéché et de Biltine où l'épidémie était déclarée. Les rapports d'activités de la section lutte antivectorielle du PNLP avaient signalé en 2017 et en 2018 la présence des moustiques du genre *Aedes* à Abéché et à Biltine, mais n'avaient donné aucune précision sur les espèces [18,19]. Notre enquête confirme la présence en nombre remarquable d'*A. aegypti* dans les deux localités (23 % des moustiques collectés) où le VCHIK avait déjà été isolé chez des patients sans antécédent de voyage récent. *Aedes aegypti* est l'un des vecteurs majeurs du VCHIK aux côtés d'*A. albopictus* [12]. Sa présence ainsi que l'infection massive des populations font conclure à une transmission autochtone du VCHIK dans ces villes de l'Est du Tchad. Cependant, son rôle vecteur dans les deux villes n'a pas pu être établi faute de matériel de conservation adéquat d'échantillons.

Les pots de fleurs ont représenté plus des deux-tiers des gîtes favorables à la reproduction des *Aedes*, suivis des récipients de conservation d'eau à usage domestique. Sachant que les fleurs sont entretenues tout au long de l'année et que les difficultés d'accès à l'eau obligent les habitants à faire des stocks, on peut penser qu'*A. aegypti* trouvera toujours des gîtes de reproduction même en pleine saison sèche, comme Diarrassouba et Dossou-Yovo [10] l'ont constaté en Afrique de l'Ouest. À Abéché comme à Biltine, la culture des fleurs semble être de règle chez les habitants ne sachant probablement pas que les pots de fleurs constituent des gîtes potentiels de reproduction d'*A. aegypti*. Les ménages ne disposant pas de pots de fleurs sont des exceptions. Une communication pour le changement de comportement de la population serait d'une grande importance pour ralentir la prolifération du vecteur dans la zone. Les tests de sensibilité aux insecticides qui visaient à optimiser la lutte chimique contre les vecteurs n'ont pu être réalisés. Les échantillons des larves d'*A. aegypti* collectés n'étaient pas suffisants (seulement 180 *A. aegypti* femelles issus de la collecte larvaire sur les deux sites) pour les envisager. Dans les deux localités prospectées, les trois indices des risques mesurés ont été largement au-dessus des seuils définis par l'OMS [16]. Mais comme il n'y a pas de surveillance des vecteurs d'arboviroses au Tchad pour lancer l'alerte, cette épidémie a surpris tous les acteurs du système de santé, y compris ceux du service de surveillance épidémiologique. Les indices de risque étaient plus élevés à Abéché qu'à Biltine. En septembre, les pluies

## Discussion

The objective of the survey was to identify the *Aedes* species likely to transmit VCHIK in the towns of Abéché and Biltine, where the epidemic was declared. The activity reports of the vector control section of the PNLP in 2017 and 2018 had reported the presence of mosquitoes of the genus *Aedes* in Abéché and Biltine, but did not provide details on the species [18,19]. Our survey confirms the presence of *A. aegypti* in remarkable numbers (23% of mosquitoes collected) in both localities where VCHIK had already been isolated from patients without recent travel history. *Aedes aegypti* is one of the main vectors of VCHIK, along with *A. albopictus* [12]. Its presence and the massive infection of the population suggest that VCHIK is transmitted autochthonously in these cities in eastern Chad. However, its role as a vector in the two cities could not be established due to the lack of adequate sample preservation facilities.

Flowerpots accounted for more than two thirds of *Aedes* breeding sites, followed by domestic water storage containers. Because flowers are maintained throughout the year and difficult access to water forces residents to store water, *A. aegypti* is likely to find breeding sites even in the middle of the dry season, as Diarrassouba and Dossou-Yovo [10] found in West Africa. In Abéché, as in Biltine, flower cultivation seems to be the rule among residents, who are probably unaware that flowerpots are potential breeding sites for *A. aegypti*. Households without flowerpots are the exception. Communication to change people's behavior would be very important to slow down the spread of vectors in the region.

Insecticide sensitivity testing to optimize chemical vector control could not be conducted. The samples of *A. aegypti* larvae collected were insufficient (only 180 female *A. aegypti* from the larval collection at the two sites) to be considered. In both areas investigated, the three risk indices measured were well above the thresholds defined by the WHO [16]. However, as there is no arbovirus vector surveillance in Chad to sound the alarm, this epidemic came as a surprise to all health system stakeholders, including the epidemiological surveillance service. Risk indices were higher in Abéché than in Biltine. By September, the rain had stopped in Biltine. In Tanzania, Kahamba *et al.* [14] have shown that the HI and BI decrease in the dry season. It is possible that the drying up of certain breeding sites and climatic factors such as high temperatures and low relative humidity had a negative effect on mosquito development in Biltine. Abéché, on the other hand, was surveyed

avaient cessé de tomber sur la ville de Biltine. Kahamba *et al.* [14] ont montré en Tanzanie que les indices maison et de Breteau diminuaient en saison sèche. On peut penser que l'assèchement de certains gîtes et les facteurs climatiques tels que la température élevée et la faible humidité relative aient joué en défaveur du développement des moustiques à Biltine. En revanche, à Abéché, les investigations ont eu lieu en pleine saison des pluies avec des températures plus basses et une humidité relative plus élevée.

Une faible proportion d'*A. aegypti* adulte a été collectée sur les deux sites (16 %). Deux tiers des femelles *A. aegypti* ont été collectés à Abéché où les chambres ayant servi à la capture ne représentaient que 40 % des chambres prospectées. L'espèce présente généralement une forte tendance à l'endophilie, notamment dans la région néotropicale [22,24]. Cependant elle peut avoir une tendance plutôt exophile dans certaines zones comme l'ont montré Badolo *et al.* [3] au Burkina Faso. Si c'est le cas dans nos deux sites, la collecte de la faune résiduelle endophile ne pouvait y permettre une bonne évaluation de la densité du vecteur. Ainsi, d'autres méthodes d'échantillonnage comme l'utilisation d'un aspirateur de type *CDC backpack* [7], la capture sur appât humain ou l'utilisation des pièges à appât animal ou attractifs chimiques auraient pu être utilisées. Elles auraient été d'un apport important dans la compréhension du comportement de repos d'*A. aegypti* à l'est du Tchad. Cependant, dans le contexte d'une épidémie confirmée, la capture sur homme aurait été trop risquée et non éthique. Par ailleurs, les pièges ne faisaient pas partie du matériel de collecte en notre possession pendant l'enquête.

Sur notre recommandation, la municipalité d'Abéché a désinsectisé les véhicules en partance vers d'autres villes et une campagne de sensibilisation sur l'élimination des gîtes larvaires potentiels et le respect des mesures de prévention individuelle a été conduite dans les localités touchées.

at the height of the rainy season, with lower temperatures and higher relative humidity.

A low proportion of adult *A. aegypti* was collected at both sites (16%). Two thirds of collected *A. aegypti* females were found in Abéché, where the surveyed rooms were 40% of the PSC rooms. The species generally has a strong endophilic tendency, especially in the Neotropics [22,24]. However, it can be more exophilic in certain areas, as shown by Badolo *et al.* [3] in Burkina Faso. If this was the case at our two sites, the collection of residual endophilic fauna did not enable a proper assessment of vector density. Other sampling methods, such as the use of a CDC backpack vacuum cleaner [7], capture on human bait, or the use of animal bait or chemical attractant traps, could have been used. These would have made an important contribution to understanding the resting behaviour of *A. aegypti* in eastern Chad. However, in the context of a confirmed epidemic, human trapping would have been too risky and unethical. Furthermore, the traps were not part of the collection equipment in our possession during the survey.

At our recommendation, the municipality of Abéché did insect removal in the vehicles on the move for other cities. An awareness campaign was conducted in the affected localities on the elimination of potential breeding sites and the observance of personal preventive measures.

## Conclusion et perspectives

Lors de cette investigation, nous avons identifié *A. aegypti* comme vecteur probable de la transmission du VCHIK dans les localités visitées. Pour une meilleure lutte antivectorielle, les connaissances sur le comportement des vecteurs et sur leur sensibilité aux insecticides sont primordiales. En raison du nombre insuffisant d'échantillons (seulement 180 *A. aegypti* femelles issues de la collecte larvaire sur les deux sites), les tests de sensibilité n'ont pas pu être réalisés. Aussi, le taux d'infectivité au VCHIK chez les vecteurs n'a pas pu être déterminé faute de matériel de conservation adéquat. D'autres interrogations subsistent, notamment sur la lignée génotypique et la provenance du virus à l'origine de cette épidémie.

## Financement

Ce travail a été réalisé avec l'appui financier du ministère de la Santé publique du Tchad.

## Remerciements

Nous exprimons notre gratitude au ministère de la Santé publique qui, à travers la direction de surveillance épidémiologique, a financé les activités de terrain. Nous remercions les autorités sanitaires provinciales pour leurs appuis administratifs et les relais communautaires pour avoir facilité l'accès dans les ménages.

## Contribution des auteurs et de l'autrice

MOUNDAI Tchonfienet: Conception de l'étude, prospection bibliographique, définition et rédaction de la méthodologie, enquêtes de terrain, analyse des données et interprétation des résultats et rédaction du manuscrit

HAMIT Mahamat Alio: Définition de la méthodologie, analyse des données et corédaction du manuscrit

DEMBA KODINDO Israël: Enquêtes de terrain et corédaction du manuscrit

YANGALBE Kalnoné Élise: Définition de la méthodologie et enquêtes de terrain

KERAH Hinzoumbé Clément: Validation du protocole, analyse des données et relecture et validation du manuscrit

ABDELSALAM Tidjani: Relecture et validation du manuscrit

KEKEUNOU Sévilor: Relecture et validation du manuscrit

## Conclusion and outlook

In the course of this investigation, we identified *A. aegypti* as a likely vector of CHIKV transmission in the localities we visited. For better vector control, knowledge of vector behavior and susceptibility to insecticides is essential. Due to the insufficient number of samples (only 180 *A. aegypti* females from the larval collection at the two sites), susceptibility tests could not be performed. On the other hand, the rate of CHIKV infectivity in the vectors could not be determined due to lack of suitable storage material. Other questions remain, in particular regarding the genotypic lineage and source of the virus at the origin of this epidemic.

## Funding

This work was carried out with the financial support of the Chad Ministry of Public Health.

## Acknowledgments

We thank the Ministry of Health, through the Directorate of Epidemiological Surveillance, for funding the field activities. We thank the provincial health authorities for their administrative support and the community relays for facilitating household access.

## Authors' contributions

MOUNDAI Tchonfienet: Study design, literature survey, definition and drafting of methodology, field surveys, data analysis and interpretation of results, and drafting of manuscript.

HAMIT Mahamat Alio: Methodology, data analysis and co-editing of manuscript

DEMBA KODINDO Israël: Field surveys and co-writing of the manuscript

YANGALBE Kalnoné Élise: Methodology and field surveys

KERAH Hinzoumbé Clément: Protocol validation, data analysis and manuscript proofreading and validation

ABDELSALAM Tidjani: Proofreading and validation of manuscript

KEKEUNOU Sévilor: Proofreading and validation of the manuscript

## Lien d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.

## Links of interest

The authors declare that they have no conflict of interest with the content of this article.

## Auteurs et autrice / Authors

Tchonfienet MOUNDAI\* (1,2), Mahamat Alio HAMIT (2,3 hamitalio@yahoo.fr), Israël DEMBA KODINDO (1, iskodindo@yahoo.fr), Élise Kalnoné YANGALBE (1, yankael@yahoo.fr), Hinzoumbé Clément KERAH (4, kerah\_clement@yahoo.fr), Tidjani ABDELSALAM (2, abdelti@yahoo.fr), Sévilor KEKEUNOU (5, skekeunou@gmail.com)

1. Programme national de lutte contre le paludisme, ministère de la Santé publique, Tchad
2. Laboratoire des recherches, diagnostics et d'expertises scientifiques, Université de N'Djamena, Tchad
3. Centre hospitalier universitaire La Renaissance, N'Djamena, Tchad
4. Projet d'appui à la lutte antipaludique au Tchad/Programme des Nations Unies pour le développement, N'Djamena, Tchad
5. Département de biologie et physiologie animales, Université de Yaoundé 1, Cameroun

Auteur correspondant: moundaitchonfienet@gmail.com

## Références / References

1. Abdelnabi R, Jochmans D, Verbeken E, Neyts J, Delang L. Antiviral treatment efficiently inhibits chikungunya virus infection in the joints of mice during the acute but not during the chronic phase of the infection. *Antiviral Res.* 2018 Jan;149:113-117. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.09.016.
2. Alirol E, Getaz L, Stoll B, Chappuis F, Loutan L. Urbanisation and infectious diseases in a globalised world. *Lancet Infect Dis.* 2011 Feb;11(2):131-41. doi: 10.1016/S1473-3099(10)70223-1.
3. Badolo A, Sombié A, Yaméogo F, Wangrawa DW, Sanon A, Pignatelli PM, Sanon A, Viana M, Kanuka H, Weetman D, McCall PJ. First comprehensive analysis of *Aedes aegypti* bionomics during an arbovirus outbreak in west Africa: Dengue in Ouagadougou, Burkina Faso, 2016-2017. *PLoS Negl Trop Dis.* 2022 Jul 6;16(7):e0010059. doi: 10.1371/journal.pntd.0010059.
4. Bourdè A, Henrion G, Chen Chi Song L, Lopes K, Wahnert C, Lhotellerie H. Gestion d'une crise sanitaire: l'expérience du SAMU de la Réunion lors de l'épidémie de Chikungunya 2005-2006. *Archives Urgences* 2007;401-11.
5. Branda F, Scarpa F, Romano C, Ciccozzi A, Maruotti A, Giovanetti M, Ciccozzi M. Chikungunya vaccine: Is it time for it? *J Med Virol.* 2023 Dec;95(12):e29341. doi: 10.1002/jmv.29341.
6. Charrel RN, Leparç-Goffart I, Gallian P, de Lamballerie X. Globalization of Chikungunya: 10 years to invade the world. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Jul;20(7):662-3. doi: 10.1111/1469-0691.12694.
7. Clark GG, Seda H, Gubler DJ. Use of the "CDC backpack aspirator" for surveillance of *Aedes aegypti* in San Juan, Puerto Rico. *J Am Mosq Control Assoc.* 1994 Mar;10(1):119-24.
8. De Zborowski I, Beauvilain A. La pluviométrie dans le bassin du Lac Tchad. In: Atlas d'élevage du bassin du Lac Tchad. De Zborowski I (ed.) CIRAD-EMVT, Montpellier, 1996; 11-21.
9. Diallo D, Ibrahima D, Cheikh TD, Gaye A, Diallo M. Emergences of Chikungunya and Zika in Africa. In: *Chikungunya and Zika Viruses.* Academic Press 2018 oct; 87-133. doi: 10.1016/B978-0-12-811865-8.00004-0.
10. Diarrassouba S, Dossou-Yovo J. Rythme d'activité atypique chez *Aedes aegypti* en zone de savane sub-soudanienne de Côte d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot.* 1997; 90(5):361-3.

11. Edwards FW. Mosquitoes of the Ethiopian Region. III. Culicine Adults and Pupae. 1941 pp. viii +499 pp. London, British Museum of Natural History.
12. Failloux A. Les émergences d'arboviroses: Chikungunya et Zika. *Bull Acad Natle Méd.* 2016; 200 (9): 1589-1603. doi: 10.1016/S0001-4079(19)30570-9.
13. Flahault A, Aumont G, Boisson V, Lamballerie X, Favier F, Fontenille D, Gaüzère BA, Journeaux S, Lotteau V, Paupy C, Sanquer MA, Setbon M. Chikungunya, La Réunion et Mayotte, 2005-2006: une épidémie sans histoire ? In: *Santé publique*, 2007; 19 (3): 165-95. <https://lms.fun-mooc.fr/c4x/VirchowVillerme/05001/asset/ChikRevueSantePublique2007.pdf>
14. Kahamba NF, Limwagu AJ, Mapua SA, Msugupakulya BJ, Msaky DS, Kaindoa EW, Ngowo HS, Okumu FO. Habitat characteristics and insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* in the Ifakara area, south-eastern Tanzania. *Parasit Vectors.* 2020 Feb 7;13(1):53. doi: 10.1186/s13071-020-3920-y.
15. Ng LC, Hapuarachchi HC. Tracing the path of Chikungunya virus-evolution and adaptation. *Infect Genet Evol.* 2010 oct; 10(7):876-85. doi: 10.1016/j.meegid.2010.07.012.
16. Organisation mondiale de la santé (OMS). *Lutte contre la fièvre jaune en Afrique.* Genève, 1987.
17. Pialoux G, Gaüzère BA, Jauréguiberry S, Strobel M. Chikungunya, an epidemic arbovirose. *Lancet Infect Dis.* 2007 May;7(5):319-27. doi: 10.1016/S1473-3099(07)70107-X.
18. Programme national de lutte contre le paludisme (ministère de la Santé publique, Tchad). *Rapport d'activités de la section Lutte antivectorielle.* 2017: 17p, non publié.
19. Programme national de lutte contre le paludisme (ministère de la Santé publique, Tchad). *Rapport d'activités de la section Lutte antivectorielle.* 2018: 11p, non publié.
20. Robinson MC. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53. I. Clinical features. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1955 Jan; 49(1):28-32. doi: 10.1016/0035-9203(55)90080-8.
21. Ross RW. The Newala epidemic. III. The virus: isolation, pathogenic properties and relationship to the epidemic. *J Hyg (Lond).* 1956 Jun;54(2):177-91. doi: 10.1017/s0022172400044442.
22. Scott TW, Morrison AC, Lorenz LH, Clark GG, Strickman D, Kittayapong P, Zhou H, Edman JD. Longitudinal studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: population dynamics. *J Med Entomol.* 2000 Jan;37(1):77-88. doi: 10.1603/0022-2585-37.1.77.
23. Schneider M, Narciso-Abraham M, Hadl S, McMahon R, Toepfer S, Fuchs U, Hochreiter R, Bitzer A, Kosulin K, Larcher-Senn J, Mader R, Dubischar K, Zoihs O, Jaramillo JC, Eder-Lingelbach S, Buerger V, Wressnigg N. Safety and immunogenicity of a single-shot live-attenuated chikungunya vaccine: a double-blind, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2023 Jun 24;401(10394):2138-2147. doi: 10.1016/S0140-6736(23)00641-4.
24. Service MW. Mosquito ecology - Field Sampling Method. Éd. Springer, Netherlands, Chapman and Hall. 1993: 988.
25. Thavara U, Tawatsin A, Chansang C, Kong-ngamsuk W, Paosriwong S, Boon-Long J, Rongsriyam Y, Komalamisra N. Larval occurrence, oviposition behavior and biting activity of potential mosquito vectors of dengue on Samui Island, Thailand. *J Vector Ecol.* 2001 Dec; 26(2):172-80.