

## SANTÉ PUBLIQUE/PUBLIC HEALTH



## Utilisation et efficacité des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) dans le sud du Cameroun

## Use and effectiveness of long-lasting insecticide-treated nets (LLINs) in southern Cameroon

Roméo Serge MBONGUE\*, Jean Arthur MBIDA MBIDA, Michel Léger OFFONO ENAMA, Pasma MÂCHE NKOUCANDOU, Mathias NWAHA, Odette Étoile NGO HONDT, Francis Noël NOPOWO TAKAP, Williefred DONGMO TEKAPI, Rachel NGAHA, Wolfgang EKOKO EYISAP, Parfait AWONO AMBEME, Patrick AKONO-NTONGA

**RÉSUMÉ** **Contexte.** Les moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) sont largement utilisées en Afrique subsaharienne pour réduire la transmission du paludisme. Leur durée de vie opérationnelle dans les conditions de terrain dépend de nombreux facteurs. Cet article présente certains de ces facteurs associés à la dégradation de l'efficacité des MILDA en milieu urbain et rural à Kribi au sud du Cameroun.

**Méthodes.** L'étude, réalisée en 2019, visait à évaluer l'utilisation et l'efficacité résiduelle des moustiquaires contre deux souches d'*Anopheles gambiae* s.l., une souche locale avec un statut de sensibilité aux insecticides inconnu et une souche de laboratoire de référence sensible.

**Résultats.** Au total, 540 ménages ont été enquêtés. La couverture en MILDA était similaire entre les zones rurale (69,0%) et urbaine (68,6%). Le nombre d'enfants de moins de 5 ans utilisant des MILDA (88,6% : 651/735) était comparable dans les deux contextes. Les moustiquaires PermaNet 2.0 étaient plus dégradées que les autres marques dans la zone rurale, tandis que les moustiquaires Yorkool l'étaient davantage dans la zone urbaine. Les MILDA ayant subi plus de 20 lavages ont induit une mortalité de 21,6% à 99,6% pour la souche Kisumu et de 0,8% à 76,5% pour la souche sauvage. Celles lavées avec du savon en morceaux ont mieux conservé leurs propriétés létales par rapport à celles lavées avec des détergents corrosifs. De même, celles qui avaient séché à l'ombre avaient davantage conservé leurs propriétés létales que celles étendues au soleil.

**Conclusion.** La population étudiée utilisait les MILDA particulièrement pour les enfants. La nature de fibre de la moustiquaire, les détergents ainsi que la lumière du soleil sont des facteurs qui influent sur l'effet insecticide des moustiquaires.

**Mots clés :** MILDA, Utilisation, Bio-efficacité, Intégrité physique, Kribi, Région du Sud, Cameroun, Afrique subsaharienne

**ABSTRACT** **Background.** Long-lasting insecticidal nets (LLINs) are widely used in sub-Saharan Africa to reduce the transmission of malaria. Their operational lifespan under field conditions depends on many factors. This article presents some of the factors associated with the decline in LLIN efficacy in urban and rural settings in Kribi, southern Cameroon.

**Methods.** This study, conducted in 2019, aimed to evaluate the usage and residual efficacy of the nets against two strains of *Anopheles gambiae* s.l.: a local strain with an unknown insecticide susceptibility status and a sensitive reference laboratory strain.

**Results.** A total of 540 households were surveyed. LLIN coverage was similar in rural (69.0%) and urban (68.6%) areas. The proportion of children under five years of age using LLINs was comparable in both settings (88.6%: 651/735). PermaNet 2.0 nets were more degraded than other brands in rural areas, while Yorkool nets were more degraded in urban areas. Mortality rates for the Kisumu strain ranged from 21.6% to 99.6% for LLINs that had been washed more than 20 times, and from 0.8% to 76.5% for the wild-type strain. Those washed with bar soap retained their lethal properties better than those washed with harsh detergents. Similarly, nets dried in the shade retained their lethal properties better than nets hung out in the sun.

**Conclusion.** The study population used MILDAs, especially for children. The fiber composition of the nets, the type of detergent used, and exposure to sunlight are factors that influence the insecticidal efficacy of the nets.

**Keywords:** LLIN, Use, Bioefficacy, Physical integrity, Kribi, South Region, Cameroon, Sub-Saharan Africa

## Introduction

Le paludisme est l'une des maladies parasitaires les plus meurtrières dans le monde. En 2018, près de 228 millions de personnes ont contracté le paludisme parmi lesquelles environ 409 000 décès ont été notés [28]. L'Afrique subsaharienne est la zone la plus vulnérable. Au Cameroun, le paludisme, principale cause de morbidité et de mortalité, constitue un problème majeur de santé publique. En 2019, cette maladie a entraîné environ 11 000 décès notifiés et impacte négativement l'économie de la cellule familiale et de la nation toute entière [21]. Les cibles les plus vulnérables sont les femmes enceintes et les enfants de moins de cinq ans [22]. Le gouvernement camerounais a défini avec le Programme national de lutte contre le paludisme (PNLP) un certain nombre d'orientations stratégiques, dont la prévention par l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide est la principale [21].

L'utilisation des moustiquaires, d'abord contre les nuisances culicidiennes, ensuite pour réduire la transmission des agents infectieux est une pratique très ancienne [17]. Dans le cadre de la lutte antipaludique, les premiers essais réalisés dans différents pays ont permis de démontrer l'impact des moustiquaires imprégnées d'insecticide sur l'incidence de la maladie [17]. Cependant, ces moustiquaires présentaient l'inconvénient de devoir être ré-imprégnées régulièrement, au moins une fois par an [18]. Des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) ont été produites comme alternative à la ré-imprégnation. Ce sont des moustiquaires prétraitées industriellement par des procédés spécifiques qui leur permettent d'être efficaces après au moins 20 lavages et de conserver leurs propriétés insecticides pendant 3 à 5 ans en usage normal [26]. Un insecticide de la famille des pyrèthroïdes, incorporé ou enrobé dans les fibres en polyester ou en polyéthylène pendant la fabrication, se libère lentement et migre vers la surface de la moustiquaire, provoquant un effet dissuasif, répulsif ou excito-répulsif. À des niveaux élevés de couverture, les avantages de l'utilisation des MILDA à l'échelle communautaire ont été démontrés. Au-delà de la protection personnelle, un effet de masse sur la population des vecteurs est observé.

Les MILDA constituent l'un des fers de lance de la lutte antivectorielle (LAV). En Afrique subsaharienne, la proportion des populations ayant accès à une MILDA est passée de moins de 2 % en 2000 à 67 % en 2015. Une couverture universelle

## Introduction

Malaria is one of the deadliest parasitic diseases in the world. Nearly 228 million people contracted malaria in 2018, resulting in approximately 409,000 reported deaths [28]. Sub-Saharan Africa is the most vulnerable region. In Cameroon, malaria is the leading cause of morbidity and mortality and constitutes a major public health problem. In 2019, the disease resulted in approximately 11,000 reported deaths and negatively impacted the economies of households and the nation as a whole [21]. The most vulnerable groups are pregnant women and children under five years of age [22]. The Cameroonian government's National Malaria Control Program (PNLP) has defined several strategic priorities, primarily prevention through the use of insecticide-treated bed nets [21].

Using mosquito nets to ward off mosquitoes and reduce the transmission of infectious agents is an ancient practice [17]. Early trials conducted in various countries demonstrated the impact of insecticide-treated nets on malaria incidence [17]. However, these nets had the drawback of requiring regular re-treatment, at least once a year [18]. Long-lasting insecticidal nets (LLINs) were developed as an alternative. LLINs are nets that have been pre-treated in an industrial process that allows them to remain effective after at least 20 washes and retain their insecticidal properties for three to five years under normal use [26]. An insecticide from the pyrethroid family is incorporated or coated into polyester or polyethylene fibers during manufacturing and slowly released to migrate to the surface of the net, producing a deterrent, repellent, or excito-repellent effect. At high coverage levels, the benefits of using LLINs at the community level have been demonstrated. Beyond personal protection, a mass effect on the vector population is observed.

LLINs are one of the cornerstones of vector control (VC). In sub-Saharan Africa, for example, the proportion of the population with access to an LLIN increased from less than 2% in 2000 to 67% in 2015. Some countries have achieved universal coverage [26]. However, the key question of their actual lifespan, in terms of physical integrity and bio-efficacy, remains unanswered. There is a lack of research on the functional lifespan and performance variation of different LLINs under various usage conditions. Studies conducted in Uganda revealed that 45 to 78% of nets were damaged within one year of use [13]. In Kenya and Benin, a faster-than-expected decline in

est atteinte dans certains pays [26]. La question essentielle de leur durée de vie réelle (intégrité physique et bio-efficacité) reste posée. Il existe un déficit d'investigation sur la durée de vie fonctionnelle et la variation des performances entre les différentes MILDA dans diverses conditions d'utilisation. Des études menées en Ouganda ont montré que 45 à 78 % des moustiquaires étaient endommagées après une année d'utilisation [13]. Au Kenya et au Bénin, une détérioration plus rapide que prévue de leur bio-efficacité a été notée, soulevant des questions sur leur durée de vie effective [2-6,11]. Dans une étude menée au Laos, environ 40 % des moustiquaires étaient endommagées après 2 à 3 ans d'utilisation [30]. La localité de Kribi dans le Sud-Cameroun compte parmi celles ayant bénéficié d'une distribution de masse de MILDA en 2019. La présente étude fait le point sur le degré d'intégrité physique et la bio-efficacité des MILDA au bout de trois ans de leur utilisation par les ménages de la localité de Kribi.

## Matériel et méthodes

Cette étude a été menée dans la commune de Kribi située dans le golfe de Guinée en bordure de l'Océan Atlantique (Fig. 1). Le climat est tropical humide, de type équatorial, caractérisé par quatre saisons. La température moyenne annuelle est comprise entre 27°C et 37°C et les précipitations moyennes annuelles sont de l'ordre de 2 970 mm. Le paludisme y est endémique et à recrudescence saisonnière. La végétation est en continuité de la forêt congolaise. Le réseau hydrographique, dense, est constitué des rivières Nyong, Ntem, Lokoundje, Lobé, Kienké, etc. La Kienké qui traverse le site d'étude est considérée comme un gîte permanent d'anophèles. Les populations vivent principalement de la pêche. Cependant, l'élevage, la cueillette, le commerce et l'agriculture y sont également pratiqués. L'usage de pesticides en agriculture est fréquent [12,20]. L'étude a eu lieu dans deux sites différents au plan écologique: Kribi rural et Kribi urbain.

Kribi rural (02°55'N, 09°55'E) est un arrondissement s'étendant sur 334 km<sup>2</sup> pour une population de 22 681 habitants. Cet arrondissement est en cours d'anthropisation du fait de sa proximité avec le port en eau profonde. Plusieurs édifices sont en construction à travers le site donnant lieu à la destruction du couvert végétal. Les routes, non bitumées pour la plupart et parsemées de nids de poule, ainsi que la présence d'une grande

bioefficacité was noted, raising questions about their effective lifespan [2-6,11]. A study in Laos found that approximately 40% of the nets were damaged after two to three years of use [30].

The town of Kribi in southern Cameroon was among those that benefited from a mass distribution of LLINs in 2019. This study assesses the physical integrity and bioefficacy of LLINs after three years of household use in Kribi.

## Materials and methods

This study was conducted in the municipality of Kribi, which is located on the Atlantic coast of the Gulf of Guinea (Fig. 1). The climate is humid tropical, of the equatorial type, and is characterized by four seasons. The average annual temperature ranges from 27°C to 37°C, and the average annual precipitation is approximately 2,970 mm. Malaria is endemic there and exhibits seasonal resurgence. The vegetation is an extension of the Congolese forest. The dense river network consists of the Nyong, Ntem, Lokoundje, Lobé, and Kienké rivers, among others. The Kienké River, which flows through the study site, is a known breeding ground for *Anopheles* mosquitoes. The local population primarily relies on fishing for sustenance. However, they also engage in livestock raising, foraging, trade, and agriculture. The use of pesticides in agriculture is common [12,20]. The study was conducted at two ecologically distinct sites: rural and urban Kribi.

The rural district of Kribi (02°55'N, 09°55'E) covers 334 km<sup>2</sup> and has a population of 22,681. Due to its proximity to the deep-water port, this district is undergoing rapid urbanization. Several buildings are under construction throughout the area, which has led to the destruction of vegetation. The unpaved roads riddled with potholes and the large garbage dump contribute to mosquito proliferation, especially during the rainy

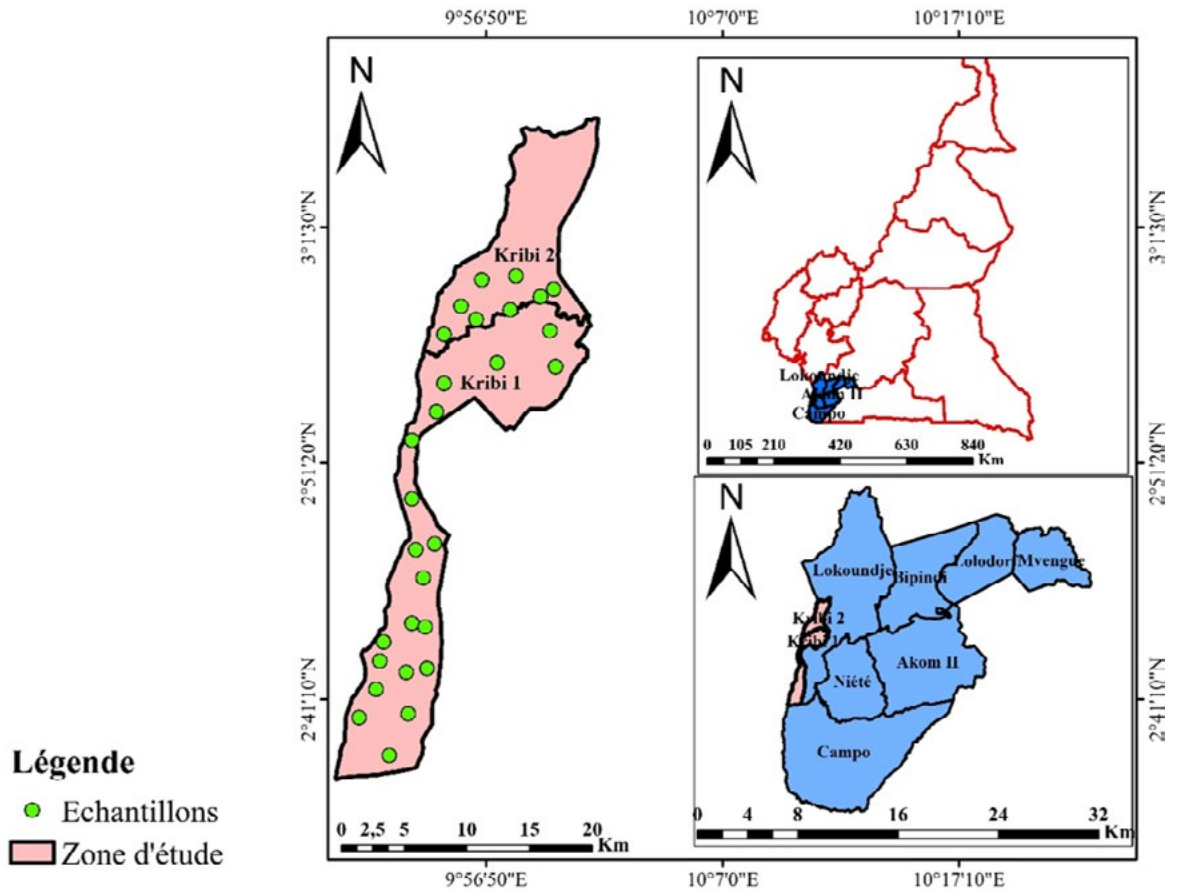


Figure 1 : Localisation de sites d'échantillonnage à Kribi 1 (rural) et 2 (urbain)

Figure 1: Location of sampling sites in Kribi 1 (rural) and 2 (urban)

décharge d'ordures, constituent des facteurs de prolifération des moustiques surtout en saison de pluies. Les moyens de protection sont principalement les moustiquaires [20].

Kribi urbain (02°57'N, 09°55'E), est un arrondissement qui s'étend sur 125 km<sup>2</sup> pour une population estimée à environ 40 000 habitants. Les habitations sont majoritairement en matériaux provisoires. Les MILDA y constituent un des outils de protection contre les moustiques.

La durée de vie d'une moustiquaire se réfère à la période pendant laquelle elle remplit efficacement sa fonction de protection contre les moustiques, notamment en les empêchant d'y pénétrer et, si elle est traitée par un insecticide, de maintenir un effet répulsif [27].

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) définit la durée de vie fonctionnelle des MILDA comme une utilisation effective pendant au moins 3 ans et une capacité à résister à au moins 20 lavages standard sans perdre significativement l'activité insecticide [27].

Plusieurs critères permettent de considérer une moustiquaire « hors service ». Il s'agit, par exemple, de la perte d'efficacité insecticide (lorsque l'insecticide ne tue plus ou ne repousse plus les

season. Mosquito nets are the primary means of protection [20].

Urban Kribi (02°57'N, 09°55'E) is a district spanning 125 km<sup>2</sup> with an estimated population of 40,000. Most dwellings are made of temporary materials. LLINs are one of the tools used for protection against mosquitoes.

A mosquito net's lifespan refers to the period during which it effectively fulfills its function of protecting against mosquitoes by preventing them from entering, and if treated with an insecticide, by maintaining a repellent effect [27].

The World Health Organization (WHO) defines the functional lifespan of LLINs as effective use for at least three years and the ability to withstand at least 20 standard washes without losing significant insecticidal activity [27].

There are several criteria that determine when a mosquito net is considered "out of service." These include loss of insecticidal efficacy, or when the insecticide no longer kills or repels mosquitoes adequately. This criterion is assessed using standard cone tests, in which efficacy must result in at least 80% mosquito mortality upon contact [14]. Physical damage, such as holes, tears, or frayed mesh, can allow mosquitoes to enter the net and

moustiques à un niveau satisfaisant). Ce critère est évalué grâce aux tests standards (tests en cônes) pour lesquels l'efficacité doit rester supérieure à 80 % de mortalité des moustiques après contact [14]. En cas de dommages physiques (trous, déchirures, mailles effilochées), les moustiques peuvent entrer dans la moustiquaire et compromettre sa protection, même si l'insecticide est encore présent [8]. Même si une moustiquaire est intacte, on considère souvent qu'elle arrive en fin de vie après 2 à 3 ans d'utilisation dans des conditions réelles, même si l'OMS recommande 3 ans minimum [14]. Selon les lignes directrices de l'OMS et le cadre d'évaluation scientifique, les principaux critères de préqualification d'une moustiquaire s'appuient sur les recommandations officielles de l'organisme, notamment sur l'évaluation des moustiquaires imprégnées d'insecticide et les standards de test de performance développés par le *Pesticide Evaluation Scheme*, et le programme de préqualification des produits de lutte antivectorielle [29]. La moustiquaire doit être fabriquée selon des normes de qualité strictes: la matière doit être en polyester ou polyéthylène avec traitement insecticide intégré ou appliqué en usine, d'intégrité physique durable, de tissu résistant, sans défauts majeurs de fabrication et selon un système de management qualité accrédité (ISO 9001 ou équivalent) pour toutes les étapes de fabrication.

En 2019, les ménages des quartiers les plus précaires, présentant une grande promiscuité et une population élevée, ont été choisis en priorité. Après obtention du consentement éclairé des chefs de ménage des sites d'étude, les moustiquaires en cours d'utilisation ont été collectées en prélude à une distribution de masse. Il a été demandé à ces interlocuteurs de remplir un questionnaire sur la provenance, la date et le mode d'acquisition, l'utilisation et l'entretien (nombre et matériel de lavage) des MILDA. Le niveau d'utilisation était jugé régulier si le ménage utilisait sa moustiquaire toutes les nuits de la semaine précédant l'enquête (taux d'utilisation), irrégulier si le ménage ne l'utilisait que quelques nuits, et nul si la moustiquaire n'était pas utilisée durant toute la semaine. Il a de même été déterminé le nombre de moustiquaires distribué ou utilisé pour le nombre total d'espaces de couchage (taux de couverture).

Chaque MILDA échantillonnée a été remplacée par une nouvelle, puis identifiée par un code formé à partir de la marque, de la localité et du nom du chef de ménage, rangée dans un sac en plastique et conservée à 4 °C pour une évaluation ultérieure en laboratoire. Les étiquettes permanentes fixées à la moustiquaire, d'une part, et les

compromise its protective function, even if the insecticide is still present [8]. A net is often considered to have reached the end of its useful life after two to three years of use under real-world conditions, even if it is intact. However, the WHO recommends a minimum of three years [14].

According to WHO guidelines and the scientific evaluation framework, the main criteria for prequalifying a mosquito net are based on the organization's official recommendations. These recommendations focus particularly on evaluating insecticide-treated nets and on developing performance testing standards for the Pesticide Evaluation Scheme and the Vector Control Product Prequalification Program [29]. Mosquito nets must be manufactured according to strict quality standards. They must be made of polyester or polyethylene with an integrated or factory-applied insecticide treatment. They must also be made of durable, resistant fabric and be free of major manufacturing defects. All stages of manufacturing must be produced under an accredited quality management system (ISO 9001 or equivalent).

In 2019, households in the most vulnerable neighborhoods, characterized by high population density and overcrowding, were prioritized. After obtaining informed consent from the heads of households at the study sites, the nets currently in use were collected prior to mass distribution. Participants were asked to complete a questionnaire regarding the source, date, and method of acquisition of LLINs, as well as how they were used and maintained (frequency and cleaning materials). Use was considered regular if the household used its mosquito net every night during the week before the survey, irregular if it was used only a few nights, and nonexistent if it was not used at all during that week. The number of nets distributed or used relative to the total number of sleeping spaces was also determined (coverage rate).

Each LLIN sampled was replaced with a new one, identified by a code based on the brand, location, and name of the head of household, placed in a plastic bag, and stored at 4 °C for subsequent laboratory evaluation. We considered the permanent labels attached to the mosquito net and the illustrated leaflets placed in the plastic bag or packaging containing the net, which indicate how to treat and care for it.

dépliants illustrés placés dans le sac ou emballage en plastique contenant la moustiquaire (et indiquant comment traiter celle-ci et en prendre soin), d'autre part, ont été considérés. Les étiquettes fixées sur les moustiquaires renseignaient sur :

- le type de fibre;
- les dimensions en cm (largeur, longueur et hauteur pour les moustiquaires rectangulaires), et hauteur pour les moustiquaires coniques;
- les instructions de lavage (par exemple, utiliser du savon mais ni chlore ni eau de Javel);
- une instruction précisant de ne pas laisser la moustiquaire au soleil;
- un avertissement concernant l'effet du lavage qui élimine peu à peu l'insecticide.

Dans les cas où l'étiquette n'était plus présente, nous demandions au propriétaire à quoi ressemblait cette étiquette ou l'emballage de la moustiquaire. Pour ce faire, nous utilisions des fiches supports présentant des photos de toutes les MILDA couramment utilisées.

Le nombre, la taille et l'emplacement des déchirures ont été déterminés pour chaque moustiquaire. Quatre catégories de trous ( $0,5 \text{ cm} \leq \text{taille 1} \leq 2,5 \text{ cm}$ ;  $2,5 \text{ cm} < \text{taille 2} \leq 10 \text{ cm}$ ;  $10 \text{ cm} < \text{taille 3} \leq 25 \text{ cm}$ ;  $\text{taille 4} > 25 \text{ cm}$ ) précédemment définies par Kilian *et al.* [15] ont été retenues. L'indice proportionné des trous (pHI) a été calculé pour chaque moustiquaire inspectée afin d'évaluer son intégrité physique selon la formule :

$$\text{pHI} = (\text{n tr1}) + (\text{n tr2} \times 23) + (\text{n tr3} \times 196) + (\text{n tr4} \times 578)$$

où n tr = nombre de trous [27]. Le pHI a permis de catégoriser les échantillons en 3 types selon les dommages observés :

- état physique bon : pHI compris entre 0 et 64;
- état physique acceptable : pHI compris entre 65 et 642;
- état physique dégradé : pHI de 643 ou plus.

L'efficacité biologique des moustiquaires a été évaluée par des tests utilisant des cônes [27]. La collecte des larves d'anophèles a eu lieu dans les quartiers de Kribi rural et de Kribi urbain de février à juin 2019. Toutes les collections d'eau susceptibles de contenir les larves d'anophèles ont été visitées en utilisant la méthode de « dipping ». Les stades pré-imaginaux obtenus ont été mis en élevage [6]. Les adultes obtenus ont été identifiés à l'aide des clés de Gillies & De Meillon et de Gillies & Coetzee [9,10] puis conservés dans des cages pour les tests de bio-efficacité. La souche Kisumu d'*An. gambiae* originaire du Kenya et

The labels on the nets provided information on:

- the type of fiber;
- dimensions in centimeters (width, length, and height for rectangular nets and height for conical nets);
- washing instructions (e.g., use soap, but not chlorine or bleach);
- an instruction not to leave the mosquito net in the sun;
- a warning about the gradual removal of the insecticide through washing.

When the label was missing, we asked the owner what it looked like or what the packaging looked like. We used reference sheets displaying photos of all commonly used LLINs to do this.

We determined the number, size, and location of tears for each mosquito net. We used four categories of holes previously defined by Kilian *et al.* [15]:  $0.5 \text{ cm} \leq \text{size 1} \leq 2.5 \text{ cm}$ ;  $2.5 \text{ cm} < \text{size 2} \leq 10 \text{ cm}$ ;  $10 \text{ cm} < \text{size 3} \leq 25 \text{ cm}$ ; and  $\text{size 4} > 25 \text{ cm}$ . We calculated the Proportional Hole Index (pHI) for each inspected mosquito net to assess its physical integrity using the formula:

$$\text{pHI} = (\text{n tr1}) + (\text{n tr2} \times 23) + (\text{n tr3} \times 196) + (\text{n tr4} \times 578)$$

where n tr is the number of holes [27]. The pHI categorized the samples into three types based on the observed damage:

- good physical condition: pHI between 0 and 64;
- acceptable physical condition: pHI between 65 and 642;
- deteriorated physical condition: pHI of 643 or higher.

The biological efficacy of the mosquito nets was assessed using cone tests [27]. *Anopheles* larvae were collected in rural and urban districts in Kribi from February to June of 2019. All water sources likely to contain *Anopheles* larvae were surveyed using the “dipping” method. The pre-imaginal stages obtained were reared [6]. The resulting adults were identified using Gillies & De Meillon's and Gillies & Coetzee's [9,10] keys and then kept in cages for bioefficacy testing. The Kisumu strain of *An. gambiae*, native to Kenya and obtained from OCEAC, was reared under the same conditions as the natural strains and served as a control.

Five 25 cm x 25 cm mesh samples were randomly selected from the four sides and top of five mosquito nets tested in rural and urban Kribi, for a total of 50 net samples. Ten 2- to 5-day-old female *An. gambiae* s.l. mosquitoes were exposed to each of the five samples from each net for three

provenant de l'OCEAC, mise en élevage dans les mêmes conditions que les souches naturelles, a servi de témoin.

Cinq échantillons de tulle, d'une dimension de 25 cm x 25 cm chacun, ont été prélevés au hasard sur les 4 faces et sur le toit de 5 moustiquaires testées pour Kribi rural et 5 pour Kribi urbain, soit un total de 50 échantillons de tulle testés. Dix moustiques femelles d'*An. gambiae* s.l. âgées de 2 à 5 jours ont été exposées pendant 3 min à chacun des 5 échantillons de chaque moustiquaire, soit 500 anophèles testés. Le même effectif de moustiques a été exposé à un tulle de moustiquaire non imprégné d'insecticide pour servir de contrôle négatif par jour de test, soit 500 spécimens au total. Après 3 min d'exposition, les moustiques étaient transférés dans des gobelets plastiques recouverts de tulle non imprégné d'insecticide, nourris avec une solution sucrée à 10 % et maintenus à une température de  $27 \pm 3^\circ\text{C}$  et à une humidité relative de  $75 \pm 10\%$ . Le nombre de moustiques assommés ou *knock-down* (KD) a été relevé toutes les 10 min pendant une heure. L'ensemble des gobelets a été gardé en observation pendant 24 h au terme desquelles la mortalité a été enregistrée. La souche Kisumu, totalement sensible aux pyréthrinoides, a été utilisée comme souche de référence afin de vérifier l'efficacité intrinsèque de l'insecticide imprégné dans les MILDA.

Le test a été interprété selon les critères de l'OMS [26] pour lesquels une MILDA est considérée efficace si elle entraîne un taux de KD supérieur ou égal à 95 % et/ou une mortalité supérieure ou égale à 80 % respectivement en une heure et 24 h. L'efficacité minimale est  $\geq 50\%$  de mortalité ou  $\geq 75\%$  de KD et l'absence d'efficacité  $< 50\%$  de mortalité ou  $< 75\%$  de KD.

Les données ont été saisies dans un tableur Excel et analysées à l'aide du logiciel *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) version 22.0. Le test H de Kruskal-Wallis a été utilisé pour comparer les différences de taille entre les trous, le test R de Pearson pour observer les corrélations entre la fréquence de lavage de MILDA et les pHI, et le test de  $\chi^2$  pour comparer le taux de mortalité des souches au seuil de significativité de 5 %.

minutes, for a total of 500 mosquitoes tested. The same number of mosquitoes was exposed to a mosquito net fabric not impregnated with insecticide to serve as a negative control on each test day, for a total of 500 specimens. After three minutes, the mosquitoes were transferred to plastic cups lined with untreated netting. They were fed a 10% sugar solution and maintained at a temperature of  $27 \pm 3^\circ\text{C}$  and a relative humidity of  $75 \pm 10\%$ . The number of stunned or knocked-down (KD) mosquitoes was recorded every 10 minutes for one hour. All cups were kept under observation for 24 hours, after which mortality was recorded. The Kisumu strain, fully susceptible to pyrethroids, served as a reference strain to verify the intrinsic efficacy of the insecticide impregnated in the LLINs.

The test was interpreted according to WHO criteria [26], under which a LLIN response is considered effective if it results in a KD rate of 95% or higher and/or a mortality rate of 80% or higher within one hour and 24 hours, respectively. Minimum efficacy is defined as a mortality rate of at least 50% or a KD rate of at least 75%, and a lack of efficacy is defined as a mortality rate of less than 50% or a KD rate of less than 75%.

The data were entered into an Excel spreadsheet and analyzed using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software, version 22.0. The Kruskal-Wallis H test was used to compare differences in hole size, the Pearson r test was used to examine correlations between LLIN washing frequency and pHI, and the  $\chi^2$  test was used to compare mortality rates of strains at a 5% significance level.

## Résultats

Au total, 540 ménages dont 235 à Kribi urbain et 305 à Kribi rural ont été enquêtés permettant le recensement de 1 260 moustiquaires (546 à Kribi urbain et 714 à Kribi rural). En milieu urbain, 17,9% de ménages (n = 42) possédaient au moins une moustiquaire pour 2 personnes et 16,4% (n = 50) en milieu rural (Tableau I). Huit marques de moustiquaires étaient relevées, les plus répandues étant Interceptor (290/448) et PermaNet 2.0 (114/448) (Tableau IIa).

Le taux d'utilisation régulière des moustiquaires était comparable en milieu urbain (79,3%) et rural (73,5%). Le nombre d'enfants de moins de 5 ans utilisant une moustiquaire était de 651 (88,6%). Parmi les 9 femmes enceintes, 5 dormaient sous une moustiquaire.

Les taux de couverture en MILDA étaient de 86,5% et de 93,8% respectivement en milieux urbain et rural (Tableau I).

## Results

A total of 540 households were surveyed, including 235 in urban Kribi and 305 in rural Kribi. This resulted in the identification of 1,260 mosquito nets, 546 of which were in urban Kribi and 714 of which were in rural Kribi. In urban areas, 17.9% of households (n = 42) owned at least one net for two people, compared to 16.4% in rural areas (n = 50) (Table I). Eight brands of mosquito nets were identified; the most common were Interceptor (290/448) and PermaNet 2.0 (114/448) (Table IIa).

The rate of regular mosquito net use was comparable in urban (79.3%) and rural (73.5%) areas. Of the children under five years of age, 651 (88.6%) used a mosquito net. Among the nine pregnant women, five slept under a mosquito net.

The LLIN coverage rate was 86.5% in urban areas and 93.8% in rural areas (Table I).

Tableau I: Paramètres généraux relatifs à la couverture et à l'utilisation des MILDA à Kribi en 2019

Table I: General parameters regarding the coverage and use of LLINs in Kribi in 2019

| Modalités / Modalities  | Kribi urbain / Urban Kribi | Kribi rural / Rural Kribi | Total / Total |
|---|----------------------------|---------------------------|---------------|
| Nombre de ménages enquêtés / Number of households surveyed  | 235                        | 305                       | 540           |
| Nombre de personnes enquêtées / Number of individuals surveyed  | 1 343                      | 1 750                     | 3 093         |
| Nombre d'enfants de moins de 5 ans / Number of children under 5 years of age                            | 275 (20,5%)                | 46 (26,3%)                | 735 (23,8%)   |
| nombre d'enfants (<5 ans) utilisant une MILDA / Number of children (under 5) using a LLIN               | 242 (88%)                  | 409(88,9%)                | 651 (88,6%)   |
| nombre de femmes enceintes utilisant une MILDA / Number of pregnant women using a LLIN                  | 4/6                        | 1/3                       | 5/9           |
| total des espaces de couchage / Total number of sleeping areas  | 631                        | 761                       | 1 392         |
| utilisation des MILDA par les ménages / Household use of LLINs  | 210 (89,4%)                | 248 (81,3%)               | 458 (84,8%)   |
| MILDA disponibles / Available LLINs   | 546                        | 714                       | 1 260         |
| MILDA en utilisation régulière / LLINs in regular use   | 433                        | 525                       | 958           |
| nombre de lavages / Number of washes  | 3 597                      | 3 646                     | 7 243         |
| usage de détergents / Use of detergents   | 124                        | 52                        | 176           |
| moyenne de MILDA par ménage / Average number of LLINs per household                                     | 2,34 ± 0,127               | 2,31 ± 0,128              | 2,33 ± 0,091  |
| ménages avec au moins une MILDA / Households with at least one LLIN                                     | 211 (89,8%)                | 245 (80,3%)               | 456 (84,4%)   |
| ménages avec au moins une MILDA pour 2 personnes / Households with at least one LLIN for every 2 people | 42 (19,9%)                 | 50 (20,4%)                | 92 (20,2%)    |
| taux de couverture (%) / Coverage rate (%)  | 86,5                       | 93,8                      | 90,2          |
| taux d'utilisation régulière (%) / Rate of regular use (%)  | 79,3                       | 73,5                      | 76,4          |

Interceptor était la marque la plus répandue (161/241 en zone rurale et 128/207 en milieu urbain), suivie de PermaNet, Olyset Net, Yorkool (Tableau II).

Les moustiquaires à fibre en polyester étaient les plus présentes en zone rurale et urbaine (95,9 % et 91,8 % respectivement), sans différence significative. Les moustiquaires en polyéthylène étaient moins utilisées : 11/241 et 15/207 en zones rurale et urbaine, sans différence significative.

Un total de 2 646 trous a été trouvé sur un sous échantillon de 122 moustiquaires, dont 1 393 (52,6 %) de taille I, 718 (27,1 %) de taille II, 384 (14,3 %) de taille III et 151 (5,7 %) de taille IV (déchirures) Le nombre moyen de trous par moustiquaire était de  $22,32 \pm 0,32$  à Kribi rural et de  $21,03 \pm 0,33$  à Kribi urbain (Tableau III).

Interceptor was the most common brand, at 161/241 in rural areas and 128/207 in urban areas, followed by PermaNet, Olyset Net, and Yorkool (Table II).

Polyester fiber nets were the most common in both rural (95.9%) and urban (91.8%) areas, with no significant difference. Polyethylene nets were used less frequently: 10/241 and 16/207 in rural and urban areas, respectively, with no significant difference.

A total of 2,646 holes were found in a subsample of 122 mosquito nets, including 1,393 (52.6%) size I, 718 (27.1%) size II, 384 (14.3%) size III, and 151 (5.7%) size IV tears. The average number of holes per net was  $22.32 \pm 0.32$  in rural Kribi and  $21.03 \pm 0.33$  in urban Kribi (Table III).

Tableau II : Composition, marque et recommandations recueillies sur les MILDA en condition opérationnelle

Table II: Composition, model, and recommendations gathered from LLINs in operational conditions

| Marques de moustiquaires / Mosquito net brands | Insecticide imprégné (mg/m <sup>2</sup> ) / Insecticide content (mg/m <sup>2</sup> ) | Type de fibres / résistance* / Fiber type / strength* | Kribi rural / Rural Kribi | Kribi urbain / Urban Kribi | Total (%) / Total (%) | Taille (pouce <sup>2</sup> ) / Size (inches <sup>2</sup> ) |
|--|--|---|---------------------------|----------------------------|-----------------------|--|
| Interceptor                                    | Alpha-cyperméthrine / Alpha-cypermethrine (200)                                      | Polyester / Polyester 75, 100                         | 161                       | 128                        | 289 (64,5 %)          | 156-177  |
| PermaNet 2.0                                   | Deltaméthrine / Deltamethrine (55)   | Polyester / Polyester 75, 100                         | 54                        | 60                         | 114 (25,4 %)          | 156-177  |
| Olyset Net                                     | Perméthrine / Permethrine (1000)   | Polyéthylène / Polyethylene 150                       | 9                         | 12                         | 21 (4,6 %)            | 75   |
| Yorkool  | Deltaméthrine / Deltamethrine (55)   | Polyester / Polyester 75, 100                         | 13                        | 4                          | 17 (3,8 %)            | 156-177  |
| Royal Sentry                                   | Alpha-cyperméthrine / Alpha-cypermethrine (260)                                      | Polyéthylène / Polyethylene 145                       | -                         | 1                          | 1 (0,2 %)             | 132  |
| Netto  | Deltaméthrine / Deltamethrine (80)   | Polyester / Polyester 75, 100, 150                    | 2                         | -                          | 2 (0,4 %)             | 156-177  |
| DuraNet  | Alpha-cyperméthrine / Alpha-cypermethrine (260)                                      | Polyéthylène / Polyethylene 145                       | 1                         | 1                          | 2 (0,4 %)             | 132  |
| Panda Net                                      | Deltaméthrine / Deltamethrin (63)  | Polyéthylène / Polyethylene 100, 115                  | 1                         | 1                          | 2 (0,4 %)             | 136 & 200  |

\* exprimée en deniers / expressed in deniers

**Tableau III : Moyennes de type de trous obtenues à Kribi rural et Kribi urbain pour chaque type de moustiquaire**  
**Table III: Average hole sizes recorded in rural Kribi and urban Kribi for each type of mosquito net**

| Sites / Locations                                   | Kribi urbain / Urban Kribi | Kribi rural / Rural Kribi | Total (%) / Total (%)      |
|---|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Nombre de MILDA testées /<br>Number of LLINs tested | 62                         | 60                        | 122                        |
| Nombre de trous /<br>Number of holes                | 1 384                      | 1 262                     | 2 646                      |
| Type I / Type I                                     | n = 738 m = 11,90 ± 0,57   | n = 655 m = 10,92 ± 0,76  | n = 1 393 m = 11,42 ± 0,47 |
| Type II / Type II                                   | n = 376 m = 6,06 ± 0,45    | n = 342 m = 5,70 ± 0,42   | n = 718 m = 5,88 ± 0,31    |
| Type III / Type III                                 | n = 188 m = 3,03 ± 0,26    | n = 196 m = 3,27 ± 0,32   | n = 384 m = 3,15 ± 0,29    |
| Type IV / Type VI                                   | n = 82 m = 1,32 ± 0,13     | n = 69 m = 1,15 ± 0,12    | n = 151 m = 1,23 ± 0,13    |

L'analyse des pHI a montré que les moustiquaires de la marque PermaNet (1 435 trous ± 117) étaient plus dégradées que les autres marques à Kribi rural alors que les moustiquaires de marques Yorkool (2 004 trous ± 328) l'étaient davantage à Kribi urbain (Tableau IV).

Le nombre de MILDA ayant subi entre 10 et 15 lavages après 36 mois d'utilisation était plus élevé à Kribi rural et celui de MILDA ayant subi plus de 20 lavages l'était à Kribi urbain (Tableau V). Une corrélation positive et significative entre la fréquence de lavage et les pHI aussi bien à Kribi rural ( $R=0,612$ ,  $p \leq 10^{-4}$ ) qu'à Kribi urbain ( $R=0,600$ ,  $p \leq 10^{-4}$ ) a été observée.

Analysis of the pHI showed that PermaNet brand nets (1,435 holes ± 117) were more degraded than other brands in rural Kribi. In contrast, Yorkool brand nets (2,004 holes ± 328) were more degraded in urban Kribi (Table IV).

A higher percentage of LLINs in rural Kribi had undergone between 10 and 15 washes after 36 months of use, and a higher percentage of LLINs in urban Kribi had undergone more than 20 washes (Table V). A positive and significant correlation was observed between washing frequency and pHI in both rural ( $R=0.612$ ,  $p \leq 10^{-4}$ ) and urban ( $R=0.600$ ,  $p \leq 10^{-4}$ ) Kribi.

**Tableau IV : Indices de trous (pHI) en fonction des marques de moustiquaires**  
**Table IV: Hole Index (pHI) by mosquito net brand**

| Marques / Brands     | Nombre de MILDA /<br>Number of LLINs | pHI - État physique /<br>pHI - Physical Condition | Nombre de MILDA /<br>Number of LLINs | pHI - État physique /<br>pHI - Physical Condition |
|----------------------|--------------------------------------|---|--------------------------------------|---|
| Interceptor          | 161                                  | 786 ± 63<br>dégradé / degraded                    | 128                                  | 1 095 ± 60<br>dégradé / degraded                  |
| Olyset Net           | 9                                    | 1 182 ± 219<br>dégradé / degraded                 | 12                                   | 1 836 ± 227<br>dégradé / degraded                 |
| PermaNet             | 54                                   | 1 435 ± 117<br>dégradé / degraded                 | 60                                   | 1 527 ± 117<br>dégradé / degraded                 |
| Yorkool              | 13                                   | 1 100 ± 206<br>dégradé / degraded                 | 4                                    | 2 004 ± 328<br>dégradé / degraded                 |
| Royal sentry         | 0                                    | 0   | 1                                    | 1 103<br>dégradé / degraded                       |
| Netto                | 2                                    | 1 034<br>dégradé / degraded                       | 0                                    | 0   |
| DuraNet              | 1                                    | 791   | 1                                    | 438<br>acceptable / acceptable                    |
| Panda Net            | 1                                    | 0<br>bon / good                                   | 1                                    | 0<br>bon / good                                   |
| <b>Total / Total</b> | <b>241</b>                           | <b>791 ± 75<br/>dégradé / degraded</b>            | <b>207</b>                           | <b>1 333 ± 234<br/>dégradé / degraded</b>         |

L'utilisation des savons ordinaires était plus fréquente à Kribi rural (190/241) qu'à Kribi urbain (83/207) tandis que l'usage de détergents corrosifs était plus marqué à Kribi urbain (124/207) qu'à Kribi rural (51/241). Le lavage avec le savon ordinaire est associé à des pHI moins élevés que le lavage aux détergents corrosifs aussi bien à Kribi rural ( $p \leq 10^{-4}$ ) qu'à Kribi urbain ( $p \leq 10^{-4}$ ) (Tableau V).

Le séchage des MILDA au soleil après lavage était une pratique très répandue à Kribi urbain (68 ménages/100) et le séchage à l'ombre était plus fréquent en zone rurale (62 ménages/114). Les pHI étaient significativement plus élevés pour les MILDA étalées au soleil après lavage que pour les MILDA étalées à l'ombre aussi bien à Kribi rural ( $p = 0,001$ ) qu'à Kribi urbain ( $p = 0,042$ ). Il n'existe pas de corrélation entre la durée de vie des MILDA (liée à un certain nombre de facteurs notamment les méthodes d'entretien, le temps d'utilisation, le type de fibres, les recommandations du fabricant, etc.) et les pHI dans les deux sites d'étude (Tableau V).

Les taux de mortalité baissent avec l'augmentation des fréquences de lavage des MILDA des marques Olyset Net, PermaNet et Interceptor aussi bien à Kribi rural qu'à Kribi urbain (Tableau VI).

## Discussion

La technologie des MILDA a été développée pour remédier au faible taux d'imprégnation des moustiquaires conventionnellement traitées [24]. Leur distribution et leur utilisation sont devenues une priorité pour les programmes nationaux de lutte contre le paludisme [1,3]. Cependant, la promotion des moustiquaires ne peut être effective que si elle s'inscrit dans un ensemble de mesures visant à améliorer la qualité de la vie des populations. À Kribi, les taux d'utilisation des MILDA étaient de 73 % en zone rurale et 79 % en milieu urbain. Ce taux élevé d'utilisation peut être associé à la forte densité culicidienne observée dans la zone d'étude [16]. Nos résultats sont en cohérence avec ceux rapportés au Bénin et au Mozambique [22,23]. Selon ces auteurs ce taux était de 25 % à Nampula et > 60 % au Bénin. Bien que l'utilisation des MILDA soit élevée lorsque celles-ci sont disponibles, la couverture réelle reste inférieure au seuil de couverture recommandé par l'OMS ( $\geq 80\%$ ). Une large couverture d'une population (> 80 %) en moustiquaires imprégnées occasionnerait la protection même de ceux qui ne les utilisent pas [24]. Elle permettrait une réduction de la

In rural Kribi, the use of ordinary soaps was more frequent (190/241), while in urban Kribi, the use of caustic detergents was more prevalent (124/207). Washing with ordinary soap is associated with lower pHI than washing with caustic detergents in both areas (Table V).

In urban Kribi, drying LLINs in the sun after washing was a widespread practice (68 households out of 100), while in rural areas, drying in the shade was more common (62 out of 114 households). The pHI were significantly higher for LLINs spread out in the sun than in the shade in both rural ( $p = 0.001$ ) and urban ( $p = 0.042$ ) Kribi. However, there is no correlation between the lifespan of LLINs (which is linked to factors such as maintenance methods, duration of use, fiber type, and manufacturer's recommendations) and pHI at the two study sites (see Table V).

Table VI shows that mortality rates decrease with increased washing frequency of Olyset, PermaNet, and Interceptor brand LLINs in both rural and urban Kribi.

## Discussion

LLIN technology was developed to address the low impregnation rates of conventionally treated mosquito nets [24]. The distribution and use of LLINs have become a priority for national malaria control programs [1,3]. However, promoting mosquito nets can only be effective as part of a comprehensive set of measures aimed at improving the quality of life for local populations.

In Kribi, LLIN usage rates were 73% in rural areas and 79% in urban areas. This high usage rate may be associated with the high mosquito density observed in the study area [16]. Our results are consistent with those reported in Benin and Mozambique [22,23]. According to these studies, the usage rate was 25% in Nampula and greater than 60% in Benin. Although LLIN usage is high when nets are available, actual coverage remains below the WHO-recommended threshold of  $\geq 80\%$ . Widespread coverage of a population (>80%) with insecticide-treated nets would provide protection even to those who do not use them [24]. It would reduce malaria transmission and incidence rates, as demonstrated by the mass introduction of lambda-cyhalothrin-treated nets

Tableau V : Modalités d'entretien des MILDA (fréquence de lavage, type de savon, mode de séchage et durée de vie)  
Table V: Care Instructions for MILDA (washing frequency, type of detergent, drying method, and lifespan)

|  | Modalités d'entretien /<br>Care modalities  | Kribi urbain / Urban Kribi           |   | Kribi rural / Rural Kribi            |   |
|--|---|--------------------------------------|---|--------------------------------------|---|
|  |   | Nombre de MILDA /<br>Number of LLINs | pHI - État physique /<br>pHI - Physical Condition | Nombre de MILDA /<br>Number of LLINs | pHI - État physique /<br>pHI - Physical Condition |
| Méthodes d'entretien /<br>Care Methods                         | Fréquence de lavages /<br>Washing Frequency | 241                                  |   | 207                                  |   |
|  | [0-5[                                       | 1                                    | 420 acceptable / acceptable                       | 2                                    | 2 232 ± 2 224 dégradé / degraded                  |
|  | [5-10[                                      | 26                                   | 591 ± 126 (dégradé)                               | 30                                   | 1 006 ± 97 dégradé / degraded                     |
|  | [10-15[                                     | 106                                  | 610 ± 69 acceptable / acceptable                  | 55                                   | 713 ± 61 dégradé / degraded                       |
|  | [15-20[                                     | 45                                   | 1 193 ± 123 dégradé / degraded                    | 16                                   | 1 316 ± 153 dégradé / degraded                    |
|  | ≥20   | 63                                   | 1 519 ± 97 dégradé / degraded                     | 103                                  | 1 636 ± 76 dégradé / degraded                     |
|  | Type de savon /<br>Type of soap             | 241                                  |   | 207                                  |   |
|  | savon ordinaire /<br>regular soap           | 190                                  | 624 ± 39  | 83                                   | 557 ± 35  |
|  | détergent corrosif /<br>corrosive detergent | 51                                   | 1 830 ± 84  | 124                                  | 1 754 ± 57  |
|  | Mode de séchage /<br>Drying method          | 114                                  |   | 100                                  |   |
|  | soleil / sun                                | 52                                   | 2 258 ± 61  | 68                                   | 1 871 ± 84  |
|  | ombre / shade                               | 62                                   | 93 ± 11   | 32                                   | 225 ± 32  |
| Période de validité (en mois) /<br>Validity period (in months) | Durée de vie (mois) /<br>Lifespan (months)  | 235                                  |   | 205                                  |   |
|  | [0-10[                                      | 6                                    | 1 134 ± 433                                       | 12                                   | 689 ± 99  |
|  | [10-20[                                     | 34                                   | 826 ± 121   | 58                                   | 967 ± 76  |
|  | [20-30[                                     | 82                                   | 493 ± 61  | 26                                   | 844 ± 105   |
|  | [30-40[                                     | 94                                   | 1 246 ± 87  | 93                                   | 1 528 ± 87  |
|  | 40 ≤  | 17                                   | 1 528 ± 233                                       | 16                                   | 2 037 ± 178                                       |
|  | Test R                                      |                                      | 0,612   |                                      | 0,600   |
| Types de fibres /<br>Types of fibers                           | Polyester /<br>Polyester                    | 231                                  | 958 ± 54  | 191                                  | 1 264 ± 57  |
|  | Polyéthylène /<br>Polyethylene              | 10                                   | 967 ± 221   | 15                                   | 1 468 ± 234                                       |

Tableau VI : Taux de mortalité d'*Anopheles gambiae* (souche locale) et de la souche Kisumu 24 h après exposition à 10 MILDATable VI: Mortality rates of *Anopheles gambiae* (local strain) and the Kisumu strain 24 hours after exposure to 10 LLINs

| Insecticides /<br>Insecticides                       | Kribi rural / Rural Kribi               |   |  |   | Kribi urbain /<br>Urban Kribi           | Kisumu / Kisumu   |  |   |
|--|---|---|--|---|---|---|--|---|
|  | Nombre de<br>MILDA /<br>Number of LLINs | Souche locale<br>(mortalité %) /<br>Local strain<br>(mortality %) | Souche Kisumu<br>(mortalité %) /<br>Kisumu strain<br>(mortality %) | Marque / Brand                                      | Nombre de<br>MILDA /<br>Number of LLINs | Souche locale<br>(mortalité %) /<br>Local strain<br>(mortality %) | Souche Kisumu<br>(mortalité %) /<br>Kisumu strain<br>(mortality %) | Marque / Brand                                      |
| <b>Perméthrine /<br/>Permethrine</b>                 | 1                                       |   |  | <b>Olyset Net</b>                                   | 2                                       |   |  | <b>Olyset Net</b>                                   |
| [0-10 lavages] /<br>[0-10 washes]                    | 1                                       | 2 %   | 55 %   |   | 1                                       | 50 %  | 96 %   |   |
| [10-20 lavages] /<br>[0-20 washes]                   | 0                                       |   |  |   | 1                                       | 41 %  | 99 %   |   |
| <b>Deltaméthrine /<br/>Deltamethrine</b>             | 2                                       |   |  | <b>PermaNet<br/>rectangulaire /<br/>rectangular</b> | 1                                       |   |  | <b>PermaNet<br/>rectangulaire /<br/>rectangular</b> |
| [0-10 lavages] /<br>[0-10 washes]                    | 1                                       | 60 %  | 95 %   |   | 0                                       |   |  |   |
| [10-20 lavages] /<br>[0-20 washes]                   | 1                                       | 45 %  | 98 %   |   | 1                                       | 4 %   | 90 %   |   |
| <b>Alpha-cyperméthrine /<br/>Alpha-cypermethrine</b> | 2                                       |   |  | <b>Interceptor</b>                                  | 2                                       |   |  | <b>Interceptor</b>                                  |
| [0-10 lavages] /<br>[0-10 washes]                    | 1                                       | 1 %   | 22 %   |   | 1                                       | 1 %   | 45 %   |   |
| [10-20 lavages] /<br>[0-20 washes]                   | 1                                       | 1 %   | 42 %   |   | 1                                       | 33 %  | 79 %   |   |
| <b>Total</b>   | 5                                       |   |  |   | 5                                       |   |  |   |

transmission et du taux d'incidence des fièvres palustres comme l'a montré l'introduction de masse de moustiquaires imprégnées de lambda-cyhalothrine en zone de savane septentrionale de Côte d'Ivoire [15].

Pour assurer avec efficacité son rôle de protection, une moustiquaire doit constituer une barrière physique infranchissable par les moustiques. L'usure du temps, le mode d'entretien (fréquence de lavage, type de savon utilisé, mode de séchage) sont autant de facteurs pouvant impacter l'intégrité physique d'une MILDA. Notre étude a montré une corrélation positive entre les pHI et la fréquence de lavages à Kribi rural. Ces résultats sont conformes à ceux enregistrés dans des études menées dans le centre et le sud du Cameroun [4,7,25]. Les tensions exercées sur les fibres des moustiquaires avec la fréquence élevée des lavages entraînent l'apparition des trous de type I qui vont s'agrandir en taille II, III, voire IV. Des observations similaires ont été faites dans des quartiers de la ville de Douala [19]. La nature du détergent utilisé lors des lavages peut également être à l'origine de la détérioration d'une moustiquaire. Les pHI étaient moins élevés pour les MILDA lavées au savon ordinaire que celles lavées avec les détergents corrosifs aussi bien en milieu rural qu'urbain. Les MILDA sales sont trempées dans l'eau contenant le détergent pendant plusieurs minutes voire des heures avant d'être lavées. Ce processus de lavage occasionnerait des interactions chimiques entre les molécules constitutives du détergent d'une part et le polyester ou polyéthylène d'autre part. Avec le savon en morceaux, un tel processus de trempage n'a pas lieu et les MILDA sont directement lavées. Les moustiquaires les plus utilisées étaient en fibre de polyester. Le polyester comporte de nombreux avantages par rapport au coton, au nylon et au polyéthylène : c'est une fibre plus durable qui assure une meilleure ventilation et une meilleure biodisponibilité de l'insecticide. Le polyester coûte généralement moins cher, il est plus léger, permettant de réduire les coûts de transport, il bénéficie d'un meilleur contrôle de qualité et il est plus populaire. Des campagnes de sensibilisation devraient être organisées par des agents de santé communautaire pour apprendre aux populations l'entretien des MILDA.

Les tests insecticides montrent une perte graduelle d'efficacité avec la fréquence de lavage. La marque Olyset Net est un type nouveau de moustiquaire pour laquelle l'insecticide (perméthrine utilisée à la concentration de 2 % poids/poids, soit environ 900 mg/m<sup>2</sup>) est incorporé par fusion dans une fibre composée de résine de polyéthylène. Ces

in Côte d'Ivoire's northern savanna region [15]. In order to fulfill its protective role effectively, a mosquito net must form a physical barrier that mosquitoes cannot cross. Over time, wear and tear, as well as maintenance practices such as washing frequency, type of soap used, and drying method, can impact the physical integrity of an LLI. Our study showed a positive correlation between pHI and washing frequency in rural Kribi. These results are consistent with those reported in studies conducted in central and southern Cameroon [4,7,25]. The stress placed on the fibers of the mosquito net due to frequent washing leads to the formation of Type I holes, which enlarge to Types II, III, or IV. Similar observations were made in neighborhoods in the city of Douala [19]. The type of detergent used for washing may also contribute to a mosquito net's deterioration. In both rural and urban areas, the pHI were lower for LLINs washed with regular soap than for those washed with corrosive detergents. Dirty LLINs are soaked in detergent-containing water for several minutes or hours before washing. This washing process is thought to cause chemical interactions between the detergent molecules and the polyester or polyethylene. With bar soap, the soaking process is unnecessary, and the LLINs are washed directly. The most commonly used mosquito nets are made of polyester fiber. Polyester has many advantages over cotton, nylon, and polyethylene. It is a durable fiber that provides better ventilation and improved insecticide bioavailability. It is generally less expensive and lighter, which reduces transportation costs. Polyester also benefits from better quality control and is more popular. Community health workers should organize awareness campaigns to teach communities how to maintain LLINs.

Insecticide tests show a gradual loss of effectiveness with increased washing frequency. The Olyset Net brand is a new type of mosquito net. The insecticide permethrin (used at a concentration of 2% w/w, or approximately 900 mg/m<sup>2</sup>) is fused into a polyethylene resin fiber. These nets reportedly remain effective for three years and retain their efficacy after 30 washes [5]. However, a loss of insecticide efficacy is observed when washed with a corrosive detergent.

Permethrin and deltamethrin are unstable in basic environments. Their lifespan is significantly reduced at pH 9, but they are stable in acidic environments. Washing the mosquito net with vinegar-containing water is recommended.

For PermaNet mosquito nets, the insecticide

moustiquaires auraient une durée d'efficacité de 3 ans et pourraient la conserver après 30 lavages [5]. Cependant, lavées avec un détergent corrosif, une perte de l'efficacité de l'insecticide est observée. La perméthrine et la deltaméthrine sont instables en milieu basique. À pH 9, leur durée de vie se réduit considérablement tandis qu'en milieu acide, elles sont stables. Le lavage de la moustiquaire avec de l'eau pourvue de vinaigre est à promouvoir. Pour les moustiquaires PermaNet, l'insecticide, (deltaméthrine dosée à 50 mg/m<sup>2</sup>) est mélangé à une résine qui enrobe les fibres en polyester. Le pyrèthrine ainsi fixé sur le support est progressivement relâché par la résine. En laboratoire, après 20 lavages, un contact de 3 min des moustiques avec la tulle traitée induisait toujours 100 % d'effet KD et 50 % de mortalité [6]. La baisse de l'efficacité observée *in situ* au bout de 20 lavages des moustiquaires est liée aux produits corrosifs et à leur exposition au soleil après lavage [24].

## Conclusion

La population rurale et urbaine de Kribi utilisait largement les moustiquaires en 2019, au moins pour les enfants. Le taux de couverture global par des moustiquaires était cependant élevé, entre 87 % et 94 % selon le nombre de dormeurs par moustiquaire, supérieur au taux recommandé de 80 % au moins. De même, le ratio nombre moyen de MILDA/ménage était faible 2,33 ± 0,091. Notre étude montre que la composition de la fibre, la fréquence de lavage, les détergents utilisés et le lieu de séchage (ombre ou soleil) sont des facteurs susceptibles d'agir sur l'intégrité physique et l'efficacité biologique d'une MILDA. Il n'est pas facile de standardiser les procédures de lavage et de séchage. La bio-efficacité des MILDA sur la souche locale d'*An. gambiae* s.l. était fortement réduite, particulièrement après des lavages répétés, suggérant un impact possible de la résistance aux pyrèthrinoïdes et des pratiques d'entretien inadéquates. Une sensibilisation sur l'entretien, la bonne gestion et le remplacement peut permettre une adoption des bonnes pratiques pouvant contribuer à augmenter la durée de l'intégrité physique et de l'efficacité des MILDA.

deltamethrin (at a dose of 50 mg/m<sup>2</sup>) is mixed with a resin that coats the polyester fibers. The resin gradually releases the fixed pyrethroid into the environment. In the laboratory, after 20 washes, three minutes of contact with the treated netting still induced a 100% KD effect and 50% mortality [6]. The decline in efficacy observed after 20 washes *in situ* is linked to corrosive products and exposure to sunlight [24].

## Conclusion

The rural and urban populations of Kribi made extensive use of mosquito nets in 2019, at least for children. Overall, the coverage rate was high, ranging from 87% to 94%, depending on the number of sleepers per net. This exceeds the recommended rate of at least 80%. Similarly, the average number of LLINs per household was low, at 2.33 ± 0.091. Our study shows that fiber composition, washing frequency, detergents used, and drying location (shade or sun) are factors that likely affect the physical integrity and biological efficacy of a LLIN. Standardizing washing and drying procedures is difficult. The bioefficacy of LLINs against the local strain of *An. gambiae* s.l. decreased significantly, especially after repeated washings. This suggests a possible impact of pyrethroid resistance and improper maintenance practices. Raising awareness about proper maintenance and management practices may help extend the physical integrity and efficacy of LLINs.

## Consentement éclairé et considérations éthiques

L'approbation éthique de cette étude a été obtenue auprès de la Faculté des sciences de l'Université de Douala (UD). L'autorisation administrative a été obtenue conjointement auprès des sous-préfets des 2 arrondissements et du préfet du département de l'Océan (Sud-Cameroun) sous le numéro 497/AR/L11/A1. Tous les participants à l'étude ont donné leur consentement éclairé.

## Remerciements

Nous tenons à remercier toute la population du département de l'Océan pour sa collaboration.

## Financement

Les auteurs déclarent n'avoir reçu aucun financement d'un organisme quel qu'il soit pour la réalisation de ce travail autre que leur participation propre.

## Disponibilité des données et du matériel

Les ensembles de données utilisés et/ou analysés au cours de la présente étude sont disponibles auprès de l'auteur correspondant sur demande raisonnable.

## Contributions des auteurs et autrices

RSM, PAN, JAMM et PAA ont conçu l'étude. RSM, MLOE, PMN, OENH, FNNT, RN ont effectué le travail de terrain. RSM, MLOE, PMN, MN, RN et FNNT ont réalisé les analyses de laboratoire. RSM, PAA, FNNT, WDT et MN ont fait l'analyse des données. JAMM, PAA et PAN ont supervisé l'étude. RSM, PAN, PAA et AN ont rédigé le projet original. RSM, PNA, JAMM, AN, PAA, WDT et EWE ont revu et édité la version finale. Tous les auteurs ont lu et approuvé le manuscrit final.

## Déclaration de liens d'intérêt

Aucun lien d'intérêt n'a été déclaré.

## Informed consent and ethical considerations

Ethical approval for this study was obtained from the Faculty of Sciences at the University of Douala (UD). Administrative authorization was obtained jointly from the sub-prefects of the two districts and the prefect of the Ocean Department (Southern Cameroon) under number 497/AR/L11/A1. All study participants provided informed consent.

## Acknowledgments

We would like to thank the entire population of the Ocean Department for their cooperation.

## Funding

The authors declare that they received no funding from any organization for the completion of this work other than their own participation.

## Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed in this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

## Authors' contributions

RSM, PAN, JAMM, and PAA designed the study. RSM, MLOE, PMN, OENH, FNNT, and RN conducted the fieldwork. RSM, MLOE, PMN, MN, RN, and FNNT performed the laboratory analyses. RSM, PAA, FNNT, WDT, and MN conducted the data analysis. JAMM, PAA, and PAN supervised the study. RSM, PAN, PAA, and AN drafted the original manuscript. RSM, PNA, JAMM, AN, PAA, WDT, and EWE reviewed and edited the final version. All authors read and approved the final manuscript.

## Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

**Auteurs / Authors**

Roméo Serge MBONGUE\* (1), Jean Arthur MBIDA MBIDA (2, mbidajeon@yahoo.fr), Michel Léger OFFONO ENAMA (3, legeroffono@gmail.com), Pasma MACHE NKOUANDOU (4, pasma.mache@yahoo.fr), Mathias NWAHA (1, mathiasnwa93@gmail.com), Odette Étoile NGO HONDT (2, etoileetoile10@gmail.com), Francis Noël NOPOWO TAKAP (2, noelfran-cisnopowo@yahoo.com), Willifred DONGMO TEKAPI (2,6 willifred2kpi@yahoo.fr), Rachel NGAHA (2, ngaharach@yahoo.fr), Wolfgang EKOKO EYISAP (5, ewolfgang388@gmail.com), Parfait AWONO AMBEME (5, hpaawono@yahoo.fr), Patrick AKONO-NTONGA (2, patakono2000@yahoo.fr)

- Département des sciences biomédicales, Faculté des sciences, Université de Bertoua, B.P.416, Bertoua, Cameroun
- Département de biologie et physiologies des organismes animaux, Faculté des sciences, Université de Douala, B.P. 24157, Douala, Cameroun
- Département de sciences biologiques des organismes vivants, Faculté des sciences, Université de Garoua. B.P. 346, Garoua, Cameroun
- Département des sciences biologiques, Faculté des sciences, Université de Yaoundé. B.P. 812 Yaoundé, Cameroun
- 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
- Laboratoire de chimie, Université de Douala, P.O. Box 2701, Douala, Cameroun

\*Auteur correspondant: mromeoserge@yahoo.fr

**Références / References**

- Atkinson JA, Bobogare A, Fitzgerald L, Boaz L, Appleyard B, Toaliu H, Vallely A. A qualitative study on the acceptability and preference of three types of long-lasting insecticide-treated bed nets in Solomon Islands: implications for malaria elimination. *Malar J*. 2009 Jun 4;8:119. doi: 10.1186/1475-2875-8-119 .
- Azondekon R, Gnanguenon V, Oke-Agbo F, Houevoessa S, Green M, Akogbeto M. A tracking tool for long-lasting insecticidal (mosquito) net intervention following a 2011 national distribution in Benin. *Parasit Vectors*. 2014 Jan 4;7:6. doi: 10.1186/1756-3305-7-6.
- Carnevale P, Robert V, Manguin S, Corbel V, Fontenille D, Garros C, Rogier C, Roux J. Les anophèles: biologie, transmission du *Plasmodium* et lutte antivectorielle. IRD, Marseille, Coll. Didactiques, 2009), 391 p.
- Corbel V, Chabi J, Dabiré RK, Etang J, Nwane P, Pigeon O, Akogbeto M, Hougard JM. Field efficacy of a new mosaic long-lasting mosquito net (PermaNet 3.0) against pyrethroid-resistant malaria vectors: a multi centre study in Western and Central Africa. *Malar J*. 2010 Apr 27;9:113. doi: 10.1186/1475-2875-9-113.
- Darriet F. Moustiquaires imprégnées et résistance des moustiques aux insecticides. IRD, Paris, Coll Didactiques, Paris, 2007, 177 p.
- Desfontaine MA, Tchikangwa L, Legoff G, Robert V, Carnevale P. Influence de l'alimentation des larves d'*Anopheles gambiae* (Diptera, Culicidae) sur le développement préimaginal en insectarium. *Bull liaison documentation Océac*. 1991;98:12-14.
- Diouf M, Diouf EH, Niang EHA, Diagne CT, Konaté L, Faye O. Évaluation de l'état physique et de l'efficacité biologique de deux types de moustiquaires imprégnées à longue durée d'action utilisés depuis 5 à 36 mois et collectés dans 11 districts du Sénégal. *Bull Soc Pathol Exot*. 2018;111(2):126-131.
- Djoufounna J, Takougan-Sonfouet L, Bamou R, Ngangué-Siewe IN, Mbiakop PN, Djiappi-Tchamen B, Tabue R, Achu-Fosah D, Ateba JM, Mayi MPA, Awono-Ambene P, Antonio-Nkondjio C, Tchuinkam T. Physical integrity and bioefficacy of used long-lasting insecticidal nets in Makenene, Centre Region of Cameroon. *J Med Entomol*. 2024 May 13;61(3):710-718. doi: 10.1093/jme/tjae035.
- Gillies MT, Coetzee M. A supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). The South African Institut for Medical Research, Johannesburg, 1987, 143 p.
- Gillies MT, De Meillon B. The Anophelinae of Africa South of the Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). The South African Institut for Medical Research, Johannesburg, Johannesburg, 1968, 343 p.
- Githinji S, Herbst S, Kistemann T, Noor AM. Mosquito nets in a rural area of Western Kenya: ownership, use and quality. *Malar J*. 2010 Sep 2;9:250. doi: 10.1186/1475-2875-9-250.
- Institut national de la statistique. Enquête démographique et de santé et à indicateurs multiples, Côte d'Ivoire 2011-2012. Institut national de la statistique, Abidjan, Côte d'Ivoire, 2012, 42 p.

- Kilian A, Byamukama W, Pigeon O, Atieli F, Duchon S, Phan C. Long-term field performance of a polyester-based long-lasting insecticidal mosquito net in rural Uganda. *Malar J*. 2008 Mar 20;7:49. doi: 10.1186/1475-2875-7-49.
- Lindsay SW, Thomas MB, Kleinschmidt I. Threats to the effectiveness of insecticide-treated bednets for malaria control: thinking beyond insecticide resistance. *Lancet Glob Health*. 2021 Sep;9(9):e1325-e1331. doi: 10.1016/S2214-109X(21)00216-3.
- Lengeler C. Insecticide-treated bed nets and curtains for preventing malaria. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;(2):CD000363. doi: 10.1002/14651858.CD000363.pub2. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Nov 06;11:CD000363. doi: 10.1002/14651858.CD000363.pub2.
- Lindblade KA, Dotson E, Hawley WA, Bayoh N, Williamson J, Mount D, Olang G, Vulule J, Slutsker L, Gimnig J. Evaluation of long-lasting insecticidal nets after 2 years of household use. *Trop Med Int Health*. 2005 Nov;10(11):1141-50. doi: 10.1111/j.1365-3156.2005.01501.x.
- Lindsay SW, Gibson ME. Bednets revisited- old idea, new angle. *Parasitol Today*. 1988 Oct;4(10):270-2. doi: 10.1016/0169-4758(88)90017-8.
- Maxwell CA, Chambo W, Mwaimu M, Magogo F, Carneiro IA, Curtis CF. Variation of malaria transmission and morbidity with altitude in Tanzania and with introduction of alphacypermethrin treated nets. *Malar J*. 2003 Sep 10;2:28. doi: 10.1186/1475-2875-2-28.
- Mbida AM, Ntonga PA, Awono-Ambene PH, Tchoffo R, Talipouo A, Ekoto W, Binyang AJ, Dongmo A, Mimpfoundi R, Etang J. Insecticidal Nets versus kdr-Resistant Mosquitoes. *Curr Trends Entomol*. 2018; CTET-106.
- Mbongue RS, Akono PN, Ngo Hondt OE, Magne Tamdem G, Nopowo NT, Offono LE, Mache PN, Mbiada B, Ngaha R, Etoundi Ngou LS. Knowledges, Attitudes and Practices of Household Heads on Malaria in Urban and Rural Areas of Kribi, South-Cameroon. *Austin J Public Health Epidemiol*. 2020;7(1):1088.
- Ministère de la Santé publique du Cameroun. Plan stratégique national de lutte contre le paludisme au Cameroun 2019-2023, octobre 2019 ; 102 p.
- Moiroux N, Boussari O, Djènontin A, Damien G, Cottrell G, Henry MC, Guis H, Corbel V. Dry season determinants of malaria disease and net use in Benin, West Africa. *PLoS One*. 2012;7(1):e30558. doi: 10.1371/journal.pone.0030558.
- Morgan J, Abílio AP, do Rosario Pondja M, Marrenjo D, Luciano J, Fernandes G, Sabindy S, Wolkon A, Ponce de Leon G, Chan A, Vanden Eng J. Physical durability of two types of long-lasting insecticidal nets (LLINs) three years after a mass LLIN distribution campaign in Mozambique, 2008-2011. *Am J Trop Med Hyg*. 2015 Feb;92(2):286-93. doi: 10.4269/ajtmh.14-0023.
- Mieguim Ngninpogni D, Ndo C, Ntonga Akono P, Nguemo A, Nguépi A, Metitsi DR, Tombi J, Awono-Ambene P, Bilong Bilong CF. Insights into factors sustaining persistence of high malaria transmission in forested areas of sub-Saharan Africa: the case of Mvoua, South Cameroon. *Parasit Vectors*. 2021 Jan 2;14(1):2. doi: 10.1186/s13071-020-04525-0.
- Nopowo FN, Offono Enama L, Tsila HG, Mbida Mbida A, Tonga C, Ngo Hondt E, Mbongue R, Kekeunou S, Mekoulou Ndongo J, Akono PN. Évaluation de l'efficacité des moustiquaires imprégnées 36 mois après leur distribution dans le Sud Cameroun. *Bull Soc Pathol Exot*. 2020;113(3):289-297. doi: 10.3166/bspe-2021-0159.
- Organisation mondiale de la santé (OMS). Guidelines for laboratory and field-testing of long-lasting insecticidal nets. World Health Organization, Geneva, 2013.
- Organisation mondiale de la santé (OMS). Guidelines for monitoring the durability of long-lasting insecticidal mosquito nets under operational conditions. World Health Organization, Geneva, 2013.
- Organisation mondiale de la santé (OMS). Rapport mondial sur le paludisme 2018. Organisation mondiale de la santé, Genève. 2018.
- Organisation mondiale de la santé (OMS). WHO guideline for the prequalification assessment of insecticide-treated nets (WHO prequalification of vector control products) 2024.
- Shirayama Y, Phompida S, Kuroiwa C, Miyoshi M, Okumura J, Kobayashi J. Maintenance behaviour and long-lasting insecticide-treated nets (LLITNs) previously introduced into Bourapar district, Khammouane province, Lao PDR. *Public Health*. 2007 Feb;121(2):122-9. doi: 10.1016/j.puhe.2006.06.016.