

Situation de la résistance aux pyréthri-noïdes chez *Anopheles gambiae* sensu lato

F. Chandre,¹ F. Darrier,² L. Manga,³ M. Akogbeto,⁴ O. Faye,⁵ J. Mouchet⁶ et P. Guillet⁷

La présente étude confirme la présence d'une résistance aux pyréthri-noïdes chez *Anopheles gambiae* s.l. en Côte d'Ivoire et rapporte l'observation d'une telle résistance dans deux autres pays d'Afrique de l'Ouest (Bénin et Burkina Faso). Au Cameroun (Afrique centrale), au Sénégal (Afrique de l'Ouest) et au Botswana (Afrique australe), les populations de moustiques vecteurs du paludisme étaient sensibles aux pyréthri-noïdes. Chez les populations anophéliennes les plus résistantes, la résistance à la perméthrine était associée à une baisse de la mortalité chez les moustiques, non seulement avec ce composé, mais également avec la deltaméthrine. De plus, une augmentation significative du délai nécessaire à l'effet de choc (« knockdown ») a été observée chez certaines populations de moustiques avant qu'une baisse de la mortalité ne soit décelable, ce qui laisse à penser que ce paramètre pourrait constituer un bon indicateur pour la détection précoce de la résistance aux pyréthri-noïdes. Etant donné l'extension actuelle de cette résistance, il est urgent d'établir un réseau de surveillance en Afrique pour en suivre l'évolution. Il est également vital d'évaluer son impact sur l'efficacité des moustiquaires imprégnées de pyréthri-noïdes.

Article publié en anglais dans *Bulletin of the World Health Organization*, 1999, **77** (3) : 230-234.

Introduction

La lutte antivectorielle est une composante importante de la stratégie mondiale OMS de lutte anti-paludique, dont l'objectif est d'interrompre la transmission des parasites du paludisme au moyen de pulvérisations intradomiciliaires d'insecticides à effet rémanent ou par l'utilisation de tissus imprégnés de pyréthri-noïdes (moustiquaires et/ou rideaux). Les pyréthri-noïdes sont des insecticides de choix pour l'imprégnation, car ils sont hautement efficaces et agissent rapidement, avec un effet irritant marqué sur les moustiques.

Au cours du programme mondial d'éradication du paludisme pendant les années 50 et 60, une résistance à la dieldrine reposant sur un mécanisme spécifique mettant en jeu les récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) a été observée chez la plupart des populations d'*Anopheles gambiae* s.l. en Afrique. En revanche, seuls quelques cas de résistance au DDT avaient alors été notés sur ce

continent. Le premier cas, chez *A. gambiae* s.s., avait été observé en 1967 à Bobo Dioulasso (Burkina Faso) et attribué à l'utilisation du DDT contre les ravageurs du coton (1-3, J. Hamon et al., données non publiées, 1968). Peu après, une résistance au DDT a également été observée chez *A. arabiensis* au Sénégal (1). La résistance au DDT peut être due soit à un mécanisme spécifique de détoxification faisant intervenir la glutathion-S-transférase, soit à une insensibilité nerveuse résultant d'une modification du site cible (canaux sodiques). Ce dernier mécanisme, régi par le gène *kdr*, réduit à la fois l'effet de choc (« knockdown ») et l'effet létal du DDT. En Afrique de l'Ouest, il induit une résistance croisée aux pyréthri-noïdes, qui repose également sur une mutation du gène *kdr* (4). A Zanzibar, cependant, la résistance au DDT induite par la glutathion-S-transférase n'entraînait pas de réactions croisées avec les pyréthri-noïdes (5).

Depuis les années 70, les pyréthri-noïdes sont largement utilisés dans les zones urbaines (sous forme de serpentins fumigènes et d'aérosols), ainsi que pour les besoins de l'agriculture en zone rurale. Dans les deux cas, la pression de sélection exercée sur les populations d'*A. gambiae* s.l. n'est pas négligeable : le premier cas de résistance aux pyréthri-noïdes chez *A. gambiae* s.l. a été enregistré à Bouaké (Côte d'Ivoire) et a été attribué à l'utilisation domestique d'aérosols (6). Plus tard, une baisse de la sensibilité a été observée dans une région du Kenya où l'on utilisait des moustiquaires imprégnées de perméthrine (7, 8). En Gambie, cependant, aucune modification de la sensibilité d'*A. gambiae* s.s. aux pyréthri-noïdes n'a été observée à la suite de l'utilisation de moustiquaires imprégnées (9).

Etant donné la résistance aux pyréthri-noïdes observée à Bouaké et les projets actuels d'extension de

¹ Chargé de recherche, Laboratoire de Lutte contre les Insectes nuisibles, Institut français de Recherche scientifique pour le Développement en Coopération (ORSTOM), BP 5045, 34032 Montpellier cedex 1 (France).

² Ingénieur de recherche, OCCGE, Institut Pierre Richet, Bouaké (Côte d'Ivoire).

³ Chercheur, Laboratoire du Paludisme, OCEAC, Yaoundé (Cameroun).

⁴ Professeur, Centre de Recherches entomologiques, OCCGE, Cotonou (Bénin).

⁵ Professeur, Laboratoire de Paludologie, Université CAD, Dakar (Sénégal).

⁶ Inspecteur de recherche honoraire, ORSTOM, Paris (France).

⁷ Directeur de recherche, Laboratoire de Lutte contre les Insectes nuisibles, ORSTOM, Montpellier (France).

l'utilisation de tissus imprégnés, des enquêtes ont été réalisées en Afrique par le biais d'un réseau informel de collaboration. Les objectifs étaient en premier lieu de confirmer la résistance observée à Bouaké et d'évaluer son extension en dehors de la ville, et ensuite d'obtenir davantage de données sur la sensibilité d'*A. gambiae* s.l. aux pyréthrinoides dans d'autres pays.

Matériel et méthodes

Les moustiques ont été recueillis dans six pays (voir Figure 1): Bénin (Cotonou), Botswana (Sebina), Burkina Faso (vallée du Kou près de Bobo Dioulasso), Cameroun (Yaoundé), Côte d'Ivoire (Abidjan, Bouaké, Daloa, Kafine, Katiola, Korhogo, Odienné, Tai et Yao Koffikro) et Sénégal (Dakar).

La plupart des tests ont été réalisés chez des femelles non gorgées âgées de 2 à 4 jours, issues de larves recueillies sur le terrain, ou chez les descendants F_1 de femelles recueillies sur le terrain. A Cotonou seulement, on a testé directement des femelles gorgées capturées sur le terrain. Tous les spécimens appartenaient à l'espèce *A. gambiae* s.s. sauf à Dakar et à Sebina où il s'agissait d'*A. arabiensis* (l'espèce étant déterminée si possible par amplification génique (PCR)). Une souche sensible de référence d'*A. gambiae* s.s. provenant de Kisumu était utilisée comme témoin.

Epreuves de résistance

Les nécessaires OMS d'épreuve pour moustiques adultes ont été utilisés (10). Les papiers imprégnés ont été préparés avec de l'huile silicone (Dow Corning 556) et de la deltaméthrine technique et de la perméthrine 25/75 comme matières actives. Les papiers ont été imprégnés à raison de 3,6 mg de solution à 0,25% (p/v) de perméthrine dans l'huile par cm^2 et de solution à 0,025% (p/v) de deltaméthrine dans l'huile par cm^2 (dose discriminante utilisée par l'OMS (11)). Certaines épreuves ont été effectuées avec du DDT à 4% (p/v). La durée d'exposition était de 60 minutes dans le tube en position verticale normale. Outre la mortalité au bout de 24 heures, on a enregistré le nombre de moustiques abattus au bout de 10, 20, 30, 40, 50, 60 et 80 minutes d'exposition. Les temps de « knockdown » (KDT_{50} et KDT_{95}) ont été calculés avec un modèle log probit, en utilisant un logiciel (12) basé sur celui décrit par Finney (13).

Résultats

Mortalité

La mortalité observée avec la perméthrine à la dose discriminante de 0,25% (p/v) (proposée par l'OMS (11)) était rarement de 100%, même pour la souche sensible de référence (Tableau 1). En revanche, une mortalité de 100% de la souche sensible était

Fig. 1. Pays de l'étude. Le nombre d'échantillons prélevés est indiqué entre parenthèses

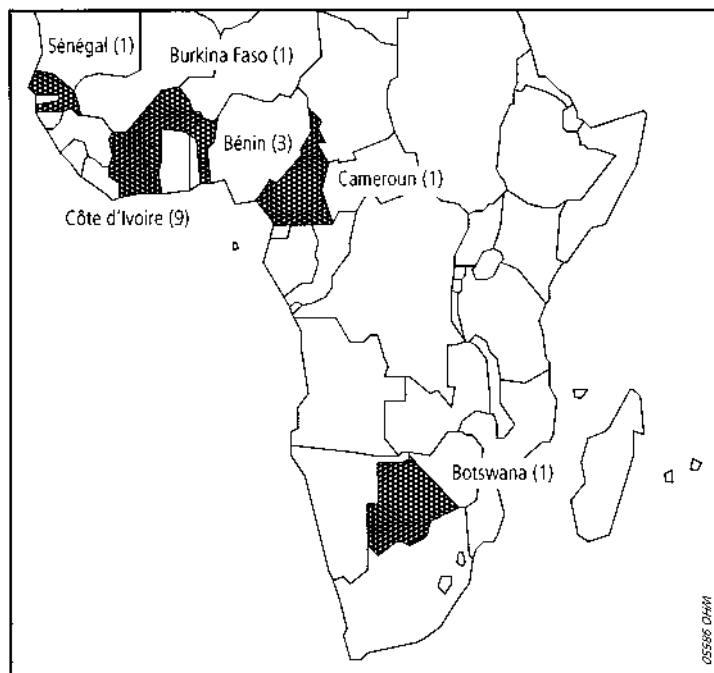


Tableau 1. Mortalité (en pourcentage) dans des échantillons d'*Anopheles gambiae* s.l. 24 heures après une exposition d'une heure à des papiers imprégnés d'insecticide dans les tubes du nécessaire d'épreuve OMS

Pays/localité	Perméthrine ^a (0,25% p/v)	Deltaméthrine ^a (0,025% p/v)	DDT ^a (4% p/v)	Situation de la résistance ^b
Botswana				
Sebina	86,3 (121) ^c	–	99,6 (188)	S
Cameroun				
Yaoundé	85,2 (135)	100 (40)	90,0 (80)	S
Sénégal				
Dakar	76,2 (52)	–	–	S
Burkina Faso				
Vallée du Kou	29,2 (113)	95,2 (186)	67,3 (243)	R
Côte d'Ivoire				
Abidjan	75,4 (57)	–	75,8	S*
Bouaké	48,0 (102)	98,4 (60)	–	R
Odienné	61,9 (110)	–	–	R
Kafine	54,5 (99)	–	–	R
Daloa	50,0 (104)	–	–	R
Katiola	69,2 (104)	–	–	R
Tai	26,7 (60)	36,2 (58)	–	R
Korhogo	7,3 (55)	30,6 (62)	7,1 (84)	R
Yao Koffikro	10,0 (120)	28,4 (117)	17,6 (102)	R
Bénin				
Cotonou 1	38,9 (54)	–	–	R
Cotonou 2	20,2 (376)	18,7 (124)	11,5 (128)	R
Souche sensible de référence				
Kisumu	86,8 (320)	100 (100)	100 (300)	S

^a Dose discriminante OMS.

^b S = sensible; R = résistant; S* = sensible aux pyréthrinoides, sensibilité réduite au DDT à 4% (p/v).

^c Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de moustiques.

systématiquement obtenue avec la deltaméthrine à 0,025% (p/v) et le DDT à 4% (p/v). Nous avons donc considéré comme résistants les échantillons ayant une mortalité inférieure à 70% avec la perméthrine et à 95% avec la deltaméthrine.

Une résistance à la perméthrine a été mise en évidence à Cotonou (Bénin), dans la vallée du Kou (Burkina Faso) et dans plusieurs localités de Côte d'Ivoire (Tableau 1) dont Bouaké, où elle a été rapportée dès 1993. Une sensibilité normale a été trouvée à Yaoundé (Cameroun), à Dakar (Sénégal) et à Sebina (Botswana), chez *A. arabiensis* dans ces deux derniers endroits.

Une résistance à la deltaméthrine a été observée dans quatre des six populations testées (Cotonou, Tai, Korhogo et Yao Koffikro).

Effet de choc (« knockdown »)

Dans la plupart des échantillons, la relation entre la proportion de moustiques abattus et le logarithme de la durée d'exposition était linéaire. Dans les échantillons résistants, on observait une augmentation marquée du KDT₅₀ et du KDT₉₅ (Tableau 2), avec une perte presque totale de l'effet « knockdown » là où la résistance était la plus forte (Cotonou, Korhogo et Yao Koffikro). Il est intéressant de noter que le

KDT₅₀ était multiplié par 2 et le KDT₉₅ par 2 à 4 dans certains échantillons de terrain considérés comme sensibles d'après les données de mortalité.

Discussion

D'après nos résultats, la dose de perméthrine proposée par l'OMS (0,25% (p/v)) est à l'évidence trop faible pour *A. gambiae* s.l. En Gambie, par exemple, une mortalité ne dépassant pas 91,5% a été enregistrée dans une population considérée comme sensible (9) et il serait préférable d'utiliser une plus forte dose, par exemple 0,5% (p/v) ou 1% (p/v). Pour la deltaméthrine, en revanche, la dose de 0,025% (p/v) semble appropriée. La dose discriminante correcte pour l'ensemble des pyréthrinoïdes devra être déterminée pour chaque espèce de moustique d'importance médicale, et la durée de conservation des papiers imprégnés, pendant laquelle ils gardent leur efficacité, devra également être revue.

Outre la mortalité, le temps de « knockdown » (KDT) est un bon indicateur pour la détection précoce d'une baisse de sensibilité; il est très facile à mesurer et ne nécessite aucun autre matériel que le nécessaire d'épreuve de l'OMS. Le KDT est depuis

Tableau 2. Correspondance entre la mortalité et le temps de « knockdown » dans les tubes du nécessaire d'épreuve OMS

Insecticide	Echantillon	Mortalité (%)	KDT ₅₀ (min)	KDT ₉₅ (min)	Situation de la résistance ^a
Perméthrine (0,25% p/v)	Kisumu ^b	86,8	23,5	44,5	S
	Sebina	86,3	40,2	86,7	S
	Yaoundé	85,2	46,1	158,3	S
	Dakar	76,9	40,3	140,7	S
	Vallée du Kou	61,6	80,7	228,2	R
	Abidjan	75,4	99,3	786,3	S*
	Tai	26,7	110,2	378,0	R
	Yao Koffikro	10	Pas d'effet ^c	Pas d'effet	R
	Korhogo	7,3	Pas d'effet	Pas d'effet	R
	Cotonou 1	38,9	Pas d'effet	Pas d'effet	R
	Cotonou 3	34,1	Pas d'effet	Pas d'effet	R
Deltaméthrine (0,025% p/v)	Kisumu ^b	100	21,4	39,5	S
	Yaoundé	100	21,3	56,4	S
	Vallée du Kou	95,2	31,6	66,3	R
	Tai	36,2	84,0	252,5	R
	Yao Koffikro	28,4	78,7	339,7	R
	Korhogo	30,6	76,6	260,0	R
DDT (4% p/v)	Kisumu ^b	100	23,6	38,3	S
	Sebina	99,6	23,3	46,8	S
	Yaoundé	90,0	60,7	127,4	S
	Yao Koffikro	17,6	118,3	581,7	R
	Korhogo	7,1	Pas d'effet	Pas d'effet	R

KDT = temps de « knockdown ».

^a S = sensible; R = résistant; S* = sensible aux pyréthrinoïdes, sensibilité réduite au DDT à 4% (p/v).

^b Souche sensible de référence.

^c Pas d'effet = perte complète de l'effet « knockdown » (<15% des moustiques abattus après 1 h d'exposition).

longtemps reconnu comme indicateur de sensibilité (6, 14, 15). Sa mesure devrait donc figurer systématiquement dans les programmes de surveillance de la résistance des moustiques aux insecticides, car ce paramètre donne les premières informations sur l'implication éventuelle du gène *kdr*. Celui-ci peut maintenant être détecté par PCR sur un seul spécimen d'*A. gambiae* s.s. (4).

L'allongement du KDT était plus marqué avec la perméthrine qu'avec la deltaméthrine. Chez les populations faiblement résistantes, comme celles de la vallée du Kou, le temps nécessaire était multiplié par 4 à 5 avec la perméthrine, mais seulement par 1,5 à 2 avec la deltaméthrine. Chez les populations hautement résistantes montrant une perte totale de l'effet « knockdown » pour la perméthrine, le KDT₅₀ et le KDT₉₅ pour la deltaméthrine n'étaient respectivement multipliés que par 3,5 et par 6 à 8. La perméthrine est donc un meilleur indicateur pour la détection précoce de la résistance aux pyréthrinoïdes régie par le gène *kdr*. La forte baisse de mortalité avec la deltaméthrine chez les populations présentant une très forte résistance à la perméthrine laisse à penser que le gène *kdr* confère une résistance croisée à divers pyréthrinoïdes.

Cette enquête à grande échelle a montré que la résistance aux pyréthrinoïdes chez *A. gambiae* s.s. se développe déjà dans de vastes zones d'Afrique de l'Ouest correspondant à celles où il existait auparavant une résistance au DDT. Cette observation confirmerait que la résistance aux pyréthrinoïdes est un héritage de la résistance au DDT. La résistance pourrait avoir été renforcée par l'usage agricole et domestique des pyréthrinoïdes. En revanche, la résistance à ces composés est encore inexistante dans certaines régions où les moustiquaires imprégnées sont largement utilisées, comme la Chine (14) et la Gambie (9). Les pyréthrinoïdes sont principalement utilisés non pas pour la lutte antipaludique, mais pour l'agriculture et, dans une moindre mesure, pour les applications domestiques. Les pressions de sélection exercées contre les populations d'anophèles sont pratiquement impossibles à contrôler. Comme la résistance aux pyréthrinoïdes résulte essentiellement des applications agricoles, il est probable qu'elle continuera à évoluer, aussi rationnelle que soit l'utilisation de ces substances dans des campagnes de lutte antipaludique bien conçues.

Même si la résistance aux pyréthrinoïdes constitue une grave menace pour la lutte antivectorielle, il serait dangereux d'extrapoler ces résultats avant de connaître l'étendue géographique de la résistance et son impact sur l'effet protecteur des moustiquaires imprégnées. Le risque d'augmentation de la résistance est très difficile à estimer, car il est pratiquement impossible d'évaluer la pression sélective globale exercée par les pyréthrinoïdes et l'impact spécifique des programmes de lutte antipaludique sur le développement de la résistance à ces produits.

On ne s'est pas suffisamment intéressé à la résistance aux pyréthrinoïdes chez les vecteurs du paludisme, que ce soit en Afrique ou ailleurs dans le monde. Il est donc urgent d'établir des réseaux de surveillance du degré de sensibilité ou de résistance de ces insectes. Les principaux objectifs de tels réseaux seront de rassembler davantage d'informations sur la situation actuelle et de suivre l'évolution de la résistance, notamment dans les régions où des opérations de lutte antivectorielle sont prévues. Il importe également de renforcer la recherche fondamentale sur les mécanismes de résistance et la recherche opérationnelle sur l'impact de la résistance sur l'efficacité des moustiquaires sur le terrain.

Du fait de la résistance croisée due à l'action du gène *kdr* (16, F. Chandre et al., données non publiées, 1999), il est urgent de trouver des alternatives aux pyréthrinoïdes actuellement disponibles. A cet égard, le système OMS d'évaluation des pesticides (WHOPES) a un rôle majeur à jouer. Les centres collaborateurs doivent être réactivés, en priorité ceux qui travaillent sur les vecteurs du paludisme dans les régions où *A. gambiae* s.l. a déjà développé une résistance aux pyréthrinoïdes. La collaboration avec les compagnies agrochimiques doit également être encouragée de façon à assurer qu'aucun insecticide utile ne sera retiré du marché et que la recherche de nouveaux produits sera activement encouragée. ■

Remerciements

Ce travail a été en partie financé par le Secrétariat d'Etat français à la Santé et à l'Action sociale dans le cadre d'une étude sur la lutte contre le paludisme d'aéroport. Nous remercions Agrevo, Berkhamsted (Angleterre), d'avoir aimablement fourni les matières actives insecticides.

Bibliographie

1. **Brown AWA, Pal R.** *Résistance des arthropodes aux insecticides*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1973 (Série de monographies, N° 38).
2. **Mouchet J.** Mini-review : agriculture and vector resistance. *Insect science and its applications*, 1988, **9** : 297-302.
3. **Lines JD.** Do agricultural insecticides select for insecticide resistance in mosquitoes? A look at the evidence. *Parasitology today*, 1988, **4** : 17-20.
4. **Martínez-Torres D et al.** A molecular diagnostic of pyrethroid resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *Insect molecular biology*, 1997, **7** : 179-184.
5. **Prapanthadara L, Hemingway J, Ketterman AJ.** DDT-resistance in *Anopheles gambiae* (Diptera : Culicidae) from Zanzibar, Tanzania, based on increased DDT-dehydrochlorinase activity of glutathione-S-transferases. *Bulletin of entomological research*, 1995, **85** : 267-274.

6. **Elissa N et al.** Resistance of *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroids in Côte d'Ivoire. *Annales de la Société belge de Médecine tropicale*, 1993, **73**(4) : 291-294.
7. **Vulule JM et al.** Reduced susceptibility of *Anopheles gambiae* to permethrin associated with the use of permethrin-impregnated bednets and curtains in Kenya. *Medical and veterinary entomology*, 1994, **8**(1) : 71-75.
8. **Beach R.** International vector resistance testing : highlights. In : *Proceedings of the Sixty-third Annual Meeting of the American Mosquito Control Association, 23-27 March 1997, Utah (Etats-Unis d'Amérique)*.
9. **Hemingway H et al.** Insecticide susceptibility status in individual species of *Anopheles gambiae* complex (Diptera : Culicidae) in an area of The Gambia where pyrethroid impregnated bednets are used extensively for malaria control. *Bulletin of entomological research*, 1995, **85** : 229-234.
10. *Résistance aux insecticides et lutte antivectorielle. Dix-septième rapport du Comité OMS d'experts des Insecticides.* Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1970 (OMS, Série de Rapports techniques, N° 443).
11. *Résistance des vecteurs aux pesticides. Quinzième rapport du comité OMS d'experts de la Biologie des Vecteurs et de la Lutte antivectorielle.* Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1992 (OMS, Série de Rapports techniques, N° 818).
12. **Raymond M, Prato G, Ratsira D.** *Probit analysis of mortality assays displaying quantal response, version 3.3.* Licence L93019. Praxème, 34680 St. Georges d'Orques, France, 1993.
13. **Finney DJ.** *Probit analysis.* Cambridge, Cambridge University Press, 1971.
14. **Kang W et al.** Tests for possible effects of selection by domestic pyrethroids for resistance in culicine and anopheline mosquitoes in Sichuan and Hubei (Chine). *Annals of tropical medicine and parasitology*, 1995, **89** : 677-684.
15. **Privora M.** Use of KT 50 for orientative evaluation (screening) of sensitivity of flies to insecticides. *Journal of hygiene epidemiology microbiology immunology*, 1975, **19** : 184-194.
16. **Hemingway J.** Efficacy of etofenprox against insecticide susceptible and resistant mosquito strains containing characterized resistance mechanisms. *Medical and veterinary entomology*, 1995, **9** : 423-426.