

Evaluation de la Sensibilité et Résistance des *Anophèles gambiae ss* aux Moustiquaires Imprégnées d'Insecticide

[Assessment of the Sensibility and Resistance of *Anopheles gambiae ss* to the Mosquito Impregnate Of Insecticide]

Bertin Zawadi Musaka¹, Luc Ombeni Bashwira¹, Jean Augustin Rubabura Kituka², Josué Fikiri Kwigonda³, Tamani Makofi¹, and Janvier Bandibabone Balikubiri¹

¹Laboratoire d'Entomologie Médicale et Parasitologie,
Centre de Recherche en Sciences Naturelles de Lwiro (CRSN-LWIRO), R.D. Congo

²Laboratoire d'entomologie agricole du CRSN - Lwiro, R.D. Congo

³Institut Supérieur Pédagogique de Walungu, R.D. Congo

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The mosquito netting treated with permethrine 2% mark Olyset Net is effective against the *Anopheles gambiae*. The resistance of this vector due to this insecticide is more worrying from the third month of use. Mesh of that mosquito would be 4mm permanent contact between humans and the vector which explains the perpetuation of this epidemic in our study area despite the extension of nets made by health agencies.

KEYWORDS: Assessment, sensitivity, resistance, Anopheles, mosquito net with 2% permethrin.

RESUME: La moustiquaire imprégnée de la perméthrine à 2% de marque Olyset net est efficace contre les *Anophèles gambiae*. La résistance de ce vecteur due à cet insecticide devient plus inquiétante à partir du troisième mois de son utilisation. La maille de cette moustiquaire étant de 4mm de diamètre ne limiterait le contact permanent entre l'homme et le vecteur, ce qui explique la pérennisation de cette endémie de notre aire d'étude en dépit de la vulgarisation des moustiquaires faite par les organismes sanitaires.

MOTS-CLEFS: Evaluation, sensibilité, résistance, anophèles, moustiquaire à permethrine 2%.

1 INTRODUCTION

Actuellement, l'humanité fait face à beaucoup d'endémies parmi lesquelles le paludisme occupe une position non négligeable en termes d'endémie surtout dans la zone intertropicale. Le paludisme encore appelé malaria est une maladie due à un hématozoaire du genre *Plasmodium* ayant quatre espèces (*Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax* et *P. ovale*). De toutes ces espèces la plus dangereuse est *P. falciparum* car elle attaque toutes les hématies en dépit de leur âge [1].

Ces parasites sont transmis à l'homme lors de la piqûre par le moustique femelle du genre *Anophèles* qui est un hématoophage[2]. Dans notre aire d'étude il a été constaté la présence des 6 espèces dont *A. gambiae*, *A. funestus*, *A. marshalli*, *A. demelloni*, *A. coustani*, et *A. chrystii* [3]. De toutes les espèces, les deux premières sont plus importantes en

termes de transmission parasitaire. Cependant, leur fréquence relative décroît de *A. funestus*, *A. marshalli*, *A. gambiae*, *A. demelloni*, *A. coustani* puis aux *A. chrysti* [4].

Le paludisme entraîne des millions de décès chaque année dont les personnes plus victimes sont surtout les femmes enceintes et les enfants en bas âge suite à leur faible immunité [5]. Cette endémie est déplorée non seulement sur le plan sanitaire mais aussi sur le plan socio-économique car une population affectée par cette dernière devient improductive. Ce manque de production entraîne la pauvreté qui sévit dans les régions les plus touchées par le paludisme. Le paludisme est la plus importante des maladies intertropicales avec 270 millions de personnes infectées chaque année dont 2 millions de décès annuellement, soit un enfant qui meurt toutes les 40 secondes [6]. En République Démocratique du Congo, le paludisme reste endémique; cependant son degré d'endémicité varie d'une province à l'autre suite aux différents climats; toutefois, le taux de parasitémie est compris entre 11 et 50% et le taux de mortalité reste alarmant, ce qui nécessite le concours des uns et des autres pour sa réduction [7].

D'après les études menées au laboratoire d'Entomologie Médicale du Centre de Recherche en Sciences Naturelles de Lwiro depuis les années 1980 jusqu'à présent, il s'avère que les six espèces d'anophèles précitées sont permanentes dans cette région de l'Est de la RD Congo. De ces espèces, *A. gambiae* et *A. funestus* présentent une prévalence de 97%, elles sont les vecteurs du paludisme et disponibles tout au long de l'année [8]. Les mesures sont envisagées pour réduire le taux de mortalité dû au paludisme parmi lesquelles, la lutte biologique, lutte physique et chimique au niveau des vecteurs.

A celles-ci s'ajoute la lutte contre les parasites responsables de cette affection. Signalons que dans le cadre de lutte antimalaria, certains médicaments qui jadis étaient efficaces contre la paludisme; le plasmodium présente une certaine résistance à leur égard ; c'est le cas de la chloroquine qui n'est plus efficace actuellement [9].

S'agissant de la lutte physico-chimique, actuellement l'usage des moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII) est pris à grande échelle surtout pour les enfants à bas âge et les femmes enceintes. La question fondamentale reste à savoir l'impact de ces MII vulgarisées par les organismes sanitaires dans la lutte contre le paludisme et pourtant cette endémie continue à être source de mortalité infantile et d'avortements dans la région intertropicale. La résistance des agents vecteurs (anophèles) à l'égard de certains insecticides (DDT) constitue un frein à l'éradication de cette endémie [10]. A cela s'ajoute l'inefficacité que présentent certaines moustiquaires imprégnées d'insecticides suite à leurs mailles plus larges qui n'empêchent pas le contact homme-vecteur. Ce travail a pour objectif d'évaluer la sensibilité et la résistance des *Anophèles gambiae* aux moustiquaires Olyset net à perméthrine 2% et aussi de déterminer le temps où les MII restent encore efficaces. De ce fait, une étude était réalisée sur une MII de marque « Olyset net » rectangulaire fabriquée en polyéthylène dont la perméthrine à 2% est l'insecticide utilisé. Cette MII est d'origine chinoise ayant une dimension de 150cm de hauteur, 180cm de longueur et 160cm de largeur. Elle était fabriquée par l'entreprise Sunitomo chemical Co.ltd et distribuée par la compagnie PSI dont le nom commercial est «mama séréna».

2 METHODOLOGIE

2.1 ZONE D'ÉTUDE

Cette étude a été réalisée au Centre de Recherche en Sciences Naturelles de Lwiro situé vers la côte Ouest du lac Kivu à 1760m d'altitude, 28° 48' de longitude Est et 2° 14' de latitude Sud [11]. Cette aire a un climat tropical humide qui est caractérisé par une précipitation allant à 1500mm/an et la température qui varie entre 18° et 20°c [11].

Deux saisons y sont caractéristiques : la saison des pluies allant de septembre à mai soit 9 mois et la saison sèche s'étend sur trois mois soit de juin jusqu'en Août. Le mois de janvier étant marqué par des petites précipitations.

2.2 METHODE ET MATERIELS

2.2.1 ELEVAGE DES ANOPHÈLES

Les pêches larvaires ont été réalisées dans notre aire d'intervention grâce aux poires aspirantes, assiettes métalliques et tubes à essai. Cette étape était suivie d'une identification des larves au laboratoire d'Entomologie Médicale avant qu'intervienne l'élevage des adultes d'*Anophèles gambiae* ss. Les larves identifiées étaient gardées dans des cages jusqu'au stade adulte. Pour tout élevage, l'âge d'anophèles à tester variait entre trois et cinq jours.

2.2.2 MOUSTIQUAIRE IMPREGNEE D'INSECTICIDE (MII) ET ANOPHELES A EVALUER

Six moustiquaires de marque Olyset net à 2% de perméthrine étaient disposées dans des cages métalliques où s'était fait l'exposition. La méthode standard de l'OMS (2007) était utilisée pour exposer les anophèles dont *A. gambiae* qui est une des espèces les plus dangereuses. Pour chaque test, 25 anophèles étaient introduits au même moment dans la cage ayant la MII disposant 4mm de mailles et observées pendant 60 minutes. Les anophèles retrouvés dans la cage à MII après 60 minutes étaient récupérés et conservés dans un tube à OMS où ils devaient s'éliminer, mais aussi ces tubes nous rassuraient quant à la sensibilité et la résistance de ces vecteurs après 24 heures.

La deuxième étape était en rapport avec les anophèles témoins. De ce fait, avant toute expérience sur les témoins, les MII furent lavées au savon dix fois avant toute exposition en vue de se rassurer qu'elles sont débarrassées de l'insecticide [12].

Ces mêmes expériences étaient reprises avec intervalle de 7 jours l'une après l'autre et cela vingt fois avant l'analyse globale des résultats.

Quant aux anophèles ayant servi pour l'expérimentation, ils étaient capturés de l'insectarium existant au laboratoire et identifiés grâce à la clé de Vouchet (1985), pour se rassurer effectivement de l'espèce, car *A. gambiae* est l'une de deux espèces plus dangereuses qui transmettent le plasmodium à l'homme.

2.2.3 EXPOSITION DES ANOPHELES AUX MII

Les adultes d'anophèles femelles étaient capturés dans notre insectarium et préalablement identifiés. Après identification, les vecteurs à tester étaient simultanément introduits dans le tube à OMS de 125mm de longueur sur 44mm de diamètre [13]. Le taux de mortalité était calculé après 60 minutes d'exposition où on devait récupérer les anophèles testés dans un autre tube à OMS tel que recommandé par la procédure de WHO. Ce test était répété 20 fois avant de déterminer le taux de mortalité après 60 minutes mais aussi évaluer la résistance après 24 heures. Les moustiquaires expérimentales n'étaient jamais lessivées ni exposées au soleil pendant toute la durée de l'expérience.

Pour trouver la moyenne du taux de mortalité et de résistance, nous avons utilisé la moyenne échantillonnale de tests effectués chaque mois.

$$\bar{X} = \frac{\sum fx}{N}$$

Avec

\bar{X} : Moyenne échantillonnale

$\sum fx$: Somme du produit entre fréquence et moyenne pour chaque test

N : Nombre de tests réalisés

3 RESULTATS

L'activité anophélinocide de la perméthrine à 2% contenue dans la moustiquaire de marque Olyset net est relevée dans le tableau ci-dessous.

Tableau : Taux de mortalité, de résistance des *Anophèles gambiae* à la perméthrine à 2%

Moyenne mensuelle		Taux de mortalité dans la MII	Taux de résistance dans la MII	Taux d'évasion dans la MII	Taux d'évasion dans la MII témoin
1 ^{er} mois	– X en % /25 testés	67 (16,75)	16 (4)	17 (4,25)	56 (14)
2 ^{ème} mois	– X en % /25 testés	77 (19,25)	13 (3,25)	10 (2,5)	75 (18,75)
3 ^{ème} mois	– X en % /25 testés	77 (19,25)	12 (3)	11 (2,75)	78 (19,5)
4 ^{ème} mois	– X en % /25 testés	68 (17)	21 (5,25)	14 (3,5)	76 (19)
5 ^{ème} mois	– X en % /25 testés	64 (16)	27 (6,75)	13 (3,25)	75 (18,75)
Moyenne		70,6	17,8	13	

Légende : \bar{x} : moyenne échantillonnale

MI I : moustiquaire imprégnée d'insecticide

% : Pourcentage

() : Moyenne d'*Anophèles gambiae* tués ou résistants ou évadés selon les colonnes

L'activité anophélinocide de la perméthrine à 2% contenue dans la moustiquaire olyset net s'avère indispensable. Cependant, cette MII utilisée à plus de trois mois, le taux de mortalité anophélien commence à baisser. Au regard du tableau présentant les résultats, il s'avère que non seulement les anophèles présentent une résistance vis-à-vis de l'insecticide utilisé après trois mois mais aussi et surtout que la maille de la moustiquaire de 4mm de diamètre favoriserait le contact entre l'homme et l'agent vecteur bien qu'il soit sous moustiquaire. On constate que le taux de mortalité dû à l'impact de l'insecticide ne fait que diminuer dans trois mois ; ce qui ferait croire que si la même moustiquaire utilisée, ne serait plus efficace après une année et pourtant la distribution n'est pas faite trimestriellement.

Quant à la moustiquaire témoin, les résultats montrent que cette dernière, était dépourvue de tout insecticide, raison pour laquelle le taux de mortalité y relatif était nul. Cependant, il s'observe un taux d'évasion important dans la moustiquaire témoin suite à ses mailles plus larges. Cela explique la persistance du paludisme car après autant de lessives de la MII, elle devient inefficace à l'égard des agents vecteurs ; ce qui favoriserait le contact entre l'homme et anophèles.

4 DISCUSSION

S'agissant de la résistance des anophèles aux insecticides, disons que *Anophèles gambiae* a présenté une résistance à l'égard de la perméthrine à 0,25 % au Cotonou (Benin) et Korhongo en Côte d'Ivoire [14]. Cette résistance était également observée à l'égard de la deltaméthrine et au DDT dans trois pays de l'Afrique de l'Ouest dont le Bénin, Burkina Faso et Sénégal [15] ainsi qu'au Cameroun et au Botswana [16]. Le test était réalisé sur les femelles d'*Anophèles gambiae* selon le protocole de l'OMS et en observant le nombre de moustiques morts au cours de leur exposition à une moustiquaire contenant l'insecticide à partir de l'effet de choc « Knock down ». La baisse de l'effet de choc était significative avant qu'on observe la mortalité. Elle a été à ce titre considérée comme un indicateur précoce de la résistance des *Anophèles gambiae* à la perméthrine [14]. Les moustiques survivants après knock down, étaient gardés et nourris dans l'insectarium établi à cette fin durant 72heures.

Le tableau résume les moyennes en % du taux de mortalité et de résistance des *Anophèles gambiae* à la perméthrine à 2%.

Le faible taux de mortalité du premier mois (67%) par comparaison au deuxième mois, s'expliquerait par le fait que les vecteurs testés disposeraient d'un arsenal enzymatique particulier, cela ne peut être confirmé qu'après l'analyse du PCR. L'écart de résistance (moyenne de 0.25) entre le deuxième et troisième mois n'est pas significatif. Cependant, plus la durée d'usage de la MII est longue, plus la résistance devient de plus en plus importante. Quant à la MII, l'évasion au-delà de 50%, mets en cause les mailles, ce qui ne limiterait pas le contact vecteur-homme.

Ce travail donne des indications sur l'épidémiologie du paludisme dans notre zone d'étude. Les résultats illustrent certaines limites que présentent les moustiquaires pré-imprégnées, qui sont par ailleurs, utilisées dans la lutte physico-chimique contre les vecteurs du paludisme. Dans le monde, les insecticides sont de plus en plus utilisés à des fins de santé publique, soit pour arrêter la transmission des grandes endémies, soit en hygiène urbaine pour éliminer les vecteurs des maladies [8]. L'usage abusif des insecticides entraîne la résistance des vecteurs face à certaines molécules d'insecticides. Par résistance aux insecticides, on entend, l'apparition dans une souche d'insectes, de la faculté de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet létale sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce. Cette résistance des *Anophèles gambiae* fut observée quant au DDT, qui, jadis était efficace face aux anophèles [15]. Partant des expériences faites au Bénin, la perméthrine dispose d'une bonne efficacité comme insecticide contre *Anophèles gambiae* [16] ; cependant, la résistance de ces vecteurs a été observée pour le DDT (4%), le bendiocarb (0,1%) et la deltaméthrine (0,05%) où 39/40 en moyenne d'anophèles femelles testées avaient survécus dans six départements du Sud du Bénin [16]. La moustiquaire pré-imprégnée de la perméthrine à 2% dispose d'une bonne efficacité durant le premier trimestre de son usage. Durant cette période, cette moustiquaire contribue efficacement à la lutte contre les vecteurs responsables du paludisme. Cependant, ses mailles de 4mm de diamètre ne constituent pas une barrière efficace, pour empêcher le contact homme-anophèles. Etant donné que certains vecteurs ont été trouvés hors de la moustiquaire, le danger reste imminent bien que l'insecticide y afférent soit efficace.

5 CONCLUSION

Au regard des résultats tels que présentés dans le tableau, la moustiquaire imprégnée de la perméthrine à 2% est efficace dans le cadre de la lutte anti vectorielle contre le paludisme. Cependant, après 3 mois d'utilisation sans quelconque lessive, le taux de résistance des *Anophèles gambiae* à cet insecticide devient plus important voire même au-delà de 20%. A cette résistance s'ajoute l'évasion constatée lors du test de rémanence suite au diamètre de la maille (4mm).

Il est urgent à l'heure actuelle où des nombreux pays envisagent de lancer divers programmes de lutte contre le paludisme par l'usage des différentes MII, de mettre en place un réseau de surveillance de la résistance des agents vecteurs de cette endémie et d'évaluer l'efficacité de telle ou telle autre MII ainsi que les insecticides y relatifs.

Ce réseau de surveillance évaluerait l'extension des agents vecteurs suite aux variations climatiques. Ledit réseau ferait le monitoring continu des insecticides ainsi que les MII vulgarisées car, autant le plasmodium développe la résistance aux antipaludiques, les vecteurs résistent de plus en plus aux insecticides.

REFERENCES

- [1] BASABOSE K., KILOSHO T. Notes sur les gîtes larvaires des vecteurs du paludisme dans une zone d'altitude à Lwiro. Est de la RD Congo, Revue des Sciences Naturelles 2 : Pp29-39, 1994.
- [2] BENETTE. Traité de médecine interne. Flammarion, Pp.357-366, 1997.
- [3] MUHINDA M. The evolution of anophelian and malaria transmission in high altitude zone of eastern Zaire (DR Congo) , Pp. 7-10, 1980.
- [4] MUHINDA M. Distribution of the parasite rate by age-group and by altitude CRSN-LWIRO in DR Congo, Pp.15, 1987.
- [5] OMS. Situation du paludisme dans le monde. Genève, Pp. 35, 2006.
- [6] OMS. Prévalence du paludisme dans le monde. Genève, Pp 58-59, 2012.
- [7] OMS. Prévalence du paludisme en Afrique Genève, Pp.25, 2007.
- [8] HAMON J., MOUCHET J. La résistance aux insecticides chez les insectes d'importance médicale. Vol. 21 N° 5. Pp 566-568, 1961.
- [9] RINGWALD P., BICKII J., ANGELIN ML., LOUIS FJ, VAL H. In vitro activity of a new antimalarial drug affecting the phospholipids metabolism of *Plasmodium falciparum*. Turquie. pp. 8-9, 1994.
- [10] HOLSTEIN. Résistance d'*Anophèles gambiae* de la plaine de la Ruzizi aux organochlorés (DDT). Est du Zaïre (RDC) Pp. 6-10, 1984.
- [11] KANYUNYI B., MUDERHWA N., NSHOMBO. Relationship between anopheles and malaria transmission at Lwiro-Katana EASTERN ZAIRE (DR Congo). Pp. 10-11, 1995.
- [12] DARRIET F., GUILLET, N'GUESSAN R. Impact de la résistance des *Anophèles gambiae* à la perméthrine et à la deltaméthrine sur l'efficacité des moustiquaires imprégnées. Cote d'Ivoire Pp.1-2, 1998.
- [13] WHO. Criteria and meaning of tests for determining susceptibility of resistance of insecticides. WHO expert committee on insecticides. Pp 443. 1970.

- [14] CHANDRE F., DAMIEN F., MANGA L. Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae s.l.* Bulletin of the World Health Organisation Pp.77, 1999.
- [15] CHONOIBON M., ETANG J. Dynamic of insecticides resistance in the malaria vector *Anophels gambiae s.l.* from an area of extensive cotton cultivation in Northern Cameron. Pp25, 2005.
- [16] YADOLETON ANGES W., GIL PADONOU, ALEX ASIDI, NICOLAS MOIROUX, SAHABI BIO-BANGANNA, VINCENT CORBEL, RAPHAEL N'GUESSAN, DINA GBENOU, IMOROU YACOUBOU, KINDE GAZARD AND MARTIN C., AKOGBETO. Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in southern Benin. Malaria Journal. Pp 4-7, 2010.