

Détermination de la résistance des *Anophèles gambiae* vis-à-vis de quelques insecticides à Lwiro et ses environs

[Determination of the resistance of *Anopheles gambiae* towards of some insecticides at LWIRO and its surroundings]

Bertin Zawadi Musaka¹, Kayeye Bahizire², Chihire Barhahakana², Josué Fikiri Kwigonda³, and Tamani Makofi¹

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

²Laboratoire de malacologie 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: Larva of *Anopheles gambiae* ss were collected in the sites at Lwiro and the surrounding areas, to study the sensibility and resistance of these vectors in front of four insecticides in the entomology laboratory of medicine and parasitology, CRSN-Lwiro. The test was carried on the adult female vectors, twenty five individuals whose age ranged from two and five days. Indeed, this test concerned four insecticides mainly perméthrine (0.75%), deltaméthrine (0.05%) two components of pyrethroïdes, malathion (5%) and lambdacyhalothrine (0.05%) largely used in public health for the vectorial control. After more tests, all the *Anopheles* population have been noticed sensible to all the precited insecticides. Within an hour of test, *Anopheles gambiae* presented a certain resistance to deltamethrine with a rate of mortality of 46.6%. Twenty four hours after, the rate of resistance for anopheles raised to 95.5%. Statistically, at .05, between permethrine, malathion and lambdacyhalothrine, the difference is not significant in term of resistance. However, the deltamethrine compared to the three insecticides cited above, displays a significant difference and the vectors are resistant. The vectors of malaria may display a certain resistance to the insecticides owing to their origin and concentration.

KEYWORDS: status, resistance, sensibility, *Anopheles gambiae*, insecticides.

RESUME: La sensibilité et la résistance des *Anophèles gambiae* face à quatre insecticides ont été étudiées au laboratoire d'entomologie médicale et parasitologie de Lwiro, à l'est de la République Démocratique du Congo. Ce travail portait sur la perméthrine (0,75%), la deltaméthrine (0,05%), deux composés pyrethroïdes ; le malathion (5%) et le lambdacyhalothrine (0,05%), utilisés en santé publique. L'objectif était d'établir leur importance opérationnelle, pour une lutte anti vectorielle efficace contre le paludisme. Les larves d'anophèles ont été pêchées dans les gîtes de Lwiro et ses environs où le paludisme sévit de façon permanente. Les tests de sensibilité ont porté sur les vecteurs femelles adultes dont l'âge variait entre 2 et 5 jours. La population anophélienne sur qui portait le test, était totalement sensible à ces insecticides. Cependant, à une heure, la résistance est conférée à la deltaméthrine avec un taux de mortalité égal à 46,6%. Vingt quatre heures après, face à ce même insecticide, la résistance était susceptible d'être confirmée avec 95,5% de taux de mortalité. Statistiquement, au .05, entre la perméthrine, le malathion et lambdacyhalothrine, la différence n'est pas significative en termes de résistance. La deltaméthrine en comparaison avec les trois précités, a une différence significative et les vecteurs lui sont résistants. L'origine et concentration de ces insecticides peuvent leur conférer une éventuelle résistance face aux vecteurs du paludisme. Il revient de faire une surveillance épidémiologique des moustiquaires pré imprégnées, de la population

anophélienne et de différents insecticides, car bon nombre de vecteurs développent du jour le jour un arsenal enzymatique sélectif pour la tolérance et résistance à quelques insecticides.

MOTS-CLEFS: Statut, résistance, sensibilité, *Anophèles gambiae ss*, insecticides.

1 INTRODUCTION

La malaria est une endémie caractéristique de la zone intertropicale, due à un hématozoaire du genre plasmodium, transmis à l'homme lors de la piqûre par le moustique femelle du genre anophèles. Cette maladie entraîne plus des deux millions de décès chaque année et plus observée chez les enfants à bas âge et chez les femmes enceintes chez qui plus de 15% de mortalité sont dus au paludisme [1]. Cette endémie en R.D.Congo, connaît un degré d'endémicité variant d'une région à une autre. A Lwiro par exemple, le niveau d'endémicité du paludisme selon la classification internationale caractérisée par le taux de parasite est compris entre 11% et 50% [2].

Dans notre zone d'étude, six espèces d'anophèles : *Anophèles gambiae*, *Anophèles funestus*, *Anophèles marschalli*, *Anophèles demeilloni*, *Anophèles coustani* et *Anophèles christyi* sont présentes. Les deux premières espèces atteignent un taux de prévalence allant jusqu'à 97,5% et sont les vecteurs les plus dangereux du plasmodium dans cette aire d'étude et permanentes tout au long de l'année [3].

Dans le monde entier, les insecticides sont de plus en plus employés à des fins de santé publique, soit pour arrêter la transmission de grandes endémies, soit en hygiène urbaine pour faire disparaître les insectes vulnérants, qu'ils soient ou non vecteurs des maladies. Cet emploi massif d'insecticides a rapidement entraîné, en de nombreux points du globe, l'apparition de populations d'insectes résistantes aux insecticides employés, nécessitant un remaniement important des campagnes en cours, et parfois même leur abandon.

Le comité des Experts des insecticides de l'organisation Mondiale de la Santé a donné de la résistance la définition de la résistance comme étant l'apparition, dans une souche d'insectes, de la faculté de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet léthal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce.

Le développement de la résistance des populations d'anophèles aux pyréthrinoïdes, est devenu récurrente, entraînant la prolifération du paludisme [4]. L'émergence de la résistance des populations d'Anophèles aux insecticides utilisés en santé publique a été reportée dans bon nombre des pays africains [5].

2 METHODOLOGIE

2.1 SITUATION GÉOGRAPHIQUE DE LA ZONE D'ÉTUDE

L'étude était réalisée au Centre de Recherche en Sciences Naturelles de Lwiro. Dans cette zone d'étude, le paludisme y est observé de façon endémique [2]. Ce centre se trouve dans le territoire de Kabare, province du Sud-Kivu en République Démocratique du Congo. Les coordonnées du centre sont pour la longitude 28° 48'50,7" Est et latitude 2°14'25,5" Sud et à 1750m d'altitude. 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 [6].

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.

Le choix de ce milieu d'étude se justifie par le fait que, le paludisme y est observé de façon récurrente et la permanence inquiétante des Anophèles en dépit de la vulgarisation des moustiquaires pré-imprégnées.

2.2 COLLECTE D'ANOPHÈLES

Les larves d'anophèles furent pêchées dans les gîtes de Lwiro et ses environs. La pêche larvaire a eu lieu dans quelques localités telles que Kayandja, Nyakadaka, Bishibiru, Maziba, Lwiro, Buloli et Cegera dès mi-juillet jusqu'en septembre 2011. Sur terrain, nous avons utilisé les poires aspirantes, les louches, les tubes à essai, et les assiettes plates. Une fois au laboratoire, les larves étaient identifiées par l'usage de la clé de détermination [7], en se servant du microscope optique du type Wilkx 100x, les verres de montre et des lames. Les *Anophèles gambiae* une fois identifiées, étaient gardées dans des cages où elles ont achevé leur cycle de développement jusqu'au stade d'imago. Les mâles étaient nourris au sucre ordinaire.

Les femelles d’anophèles sur qui portait le test, furent nourries non seulement au sucre, mais aussi au cobaye placé dans un dispositif ne lui permettant pas d’effectuer des mouvements et cela 48h avant le test.

2.3 TEST DE RESISTANCE AUX INSECTICIDES

Les moustiques femelles d’*Anophèles gambiae* ss ayant l’âge compris entre 2 à 5 jours étaient placés dans des tubes à OMS contenant des papiers disques buvards pré-imprégnés des différents insecticides tel que prescrit le protocole de test standard [8,9]. Les insecticides utilisés à cet effet étaient la Permethrine (0,75%), le Malathion (5%), la Deltaméthrine (0,05%), le Lambdacyhalothrine (0,05%). La sélection de ces insecticides s’explique par le fait que ce sont eux les plus utilisés dans des moustiquaires pré-imprégnées vulgarisées dans le cadre de la prévention contre le paludisme dans notre zone d’étude. Dans chaque tube contenant le papier pré-imprégné, 25 *Anophèles gambiae* femelles y étaient testés. Le dépouillement de la résistance fut réalisé toutes les 5minutes jusqu’à la soixantième minute (une heure) pour évaluer le temps de l’effet de choc « knock-down » de ces vecteurs. Le score de résistance ou de mortalité était confirmé 24heures après chaque exposition des vecteurs aux insecticides. Pour chaque test, cinq tubes étaient utilisés parmi lesquels, quatre contenaient les papiers disques contenant divers insecticides et un autre tube témoin contenant le même nombre d’anophèles, mais contenant seulement les papiers imbibés au glucose. Une heure après le test, les moustiques étaient récupérés dans un autre tube contenant du coton. Vingt-quatre heures après, le taux de mortalité et la détermination de la résistance des anophèles furent réalisés tel que le recommande notre protocole.

2.4 TRAITEMENT ET ANALYSE DES DONNÉES

Une comparaison en termes de résistance et sensibilité des moustiques aux différents insecticides était réalisée. La résistance des vecteurs aux insecticides était évaluée suite aux critères standards pour cette population anophélienne. La résistance des vecteurs face à tel ou tel autre insecticide est confirmée pour un taux de mortalité inférieur à 80%. Lorsque le taux de mortalité des vecteurs va de 80 à 98%, ceci explique une tolérance des vecteurs à l’insecticide 24h après chaque test [9]. Le temps de l’exposition susceptible d’entraîner 50 à 95% (KdT₅₀ et KdT₉₅) de choc pour la population anophélienne testée était mis en évidence [10]. L’analyse s’est effectuée par le logiciel Excel, Epi-info pour évaluer la résistance des *Anophèles gambiae* ss aux insecticides testés.

Le test de student « z » était utilisé sur différents pourcentages à partir des formules ci-dessous :

$$\sigma P = \sqrt{\frac{P1(100-P1)+P2(100-P2)}{n-1}} \text{ et } zC = \frac{P1-P2}{\sigma P}$$

Avec σP : écart type; **P1 et P2**: différents pourcentages, **n** = taille de l’échantillon

3 RESULTATS

La pêche larvaire suivie de l’identification était faite avant que le test ne soit réalisé à l’égard des insecticides. Le test fut réalisé quatre fois pour chaque insecticide avec le même nombre d’*Anophèles gambiae*. Chaque test était accompagné de celui témoin pour évaluer la résistance des vecteurs. Malathion à 5% et lambdacyhalothrine à 0,05% entraînent un taux de mortalité de 100%, une heure après le test. La résistance (R) des vecteurs se traduit par un taux de mortalité inférieure à 80% ; l’efficacité (S) est conférée à l’insecticide pour un taux de mortalité supérieur à 98% et le taux de mortalité situé entre 80 et 98% (RC) pour une résistance susceptible d’être confirmée [9].

Tableau 1 : Pourcentage de mortalité des *Anophèles gambiae* ss

Insecticides	30'	45'	60'	24h
Permethrine	57,7	57,7	91,1	100
Malathion	60	88,8	100	100
Deltamethrine	17,7	44,4	46,6	95,5
Lambdacyhalothrine	64,4	93,3	100	100

Il ressort du tableau 1 que, la lambdacyhalothrine présente une grande efficacité comparativement aux autres insecticides testés malgré sa faible concentration (0.05%). Les vecteurs responsables de la transmission du paludisme dans

notre région sont résistants [9] à la deltaméthrine (à 0.05%), un insecticide contenu dans bon nombre des moustiquaires vulgarisées dans la région.

Tableau 2 : Sensibilité et résistance des vecteurs aux insecticides

Timing	Permethrine		Malathion		Deltamethrine		Lambdacyhalothrine	
	% de mortalité	C/WHO	% de mortalité	C/WHO	% de mortalité	C/WHO	% de mortalité	C/WHO
30'	57,7	R	60	R	17,7	R	64,4	R
45'	57,7	R	88,8	RC	44,4	R	93,3	RC
60'	91,1	RC	100	S	46,6	R	100	S
24h	100	S	100	S	95,5	RC	100	S

Légende :

%; pourcentage

C/WHO: Classification de WHO

R : Résistance des vecteurs (taux de mortalité inférieur à 80%)

RS : Taux de mortalité situé entre 80 et 98%

S : Satisfaction ou efficacité de l'insecticide (à 100%)

Au regard des résultats du tableau 2, les vecteurs disposent d'une potentielle résistance face à la deltaméthrine. Cet insecticide étant plus utilisé dans l'imprégnation des moustiquaires, le risque dû au paludisme, reste imminent pour la population vivant dans la zone intertropicale.

4 DISCUSSION

Partant du classement de résistance [9], le malathion à 5% et le lambdacyhalothrine à 0,05% entraînent au regard du timing expérimental, la même mortalité. A 30' de test, *Anophèles gambiae* est résistant en face de ces deux insecticides en dépit de leurs différences de concentration. Lambdacyhalothrine bien qu'ayant la même concentration que le deltaméthrine (0,05%), présente un effet insecticide plus important et serait donc plus recommandée en cas de pré-imprégnation des moustiquaires utilisées contre la malaria. Le DDT jadis utilisé, se heurte à des résistances pour beaucoup des vecteurs. *Anophèles gambiae* est résistant à 30 minutes face à la perméthrine (0,75%), une potentielle résistance une heure après. Ces résultats sont similaires aux expériences réalisées sur *Anophèles arabiensis* [11]. Cette étude montre que les insecticides couramment utilisés en santé publique agissent différemment sur la faune anophélienne. La résistance de ces vecteurs fut constatée également face non seulement au DDT mais aussi à la dieldrine [12]. Les premières observations concernant *Anophèles gambiae* résistant à l'action de la dieldrine ont été faites dans l'ouest du Sokoto au Nord du Nigeria [13]. *Anophèles gambiae* résiste non seulement face au DDT et à la dieldrine, mais aussi, cette résistance était observée face à la perméthrine (0,05%), lors d'une étude faite à Gaschiga au Cameroun où la mortalité est inférieure à 70% [11]. *Anophèles gambiae* et *Culex quinquifasciatus* font objet de résistance à l'égard non seulement de la deltaméthrine mais aussi de la dieldrine, la perméthrine et le DDT [14]. Une heure après, au .05 la différence est significative entre la deltaméthrine et comparativement aux trois autres insecticides. Entre la perméthrine (91,1%) et deltaméthrine (46,6%), $z_c=1,4$ tandis que $z_t=\pm 1,15$. La perméthrine par comparaison au malathion et Lambdacyhalothrine, au .0, 05 la différence n'est pas significative.

5 CONCLUSION

La sensibilité et la résistance des vecteurs du paludisme à l'égard de quatre insecticides, montre le danger auquel la population humaine en zone intertropicale reste exposée. Cela se justifie par le fait que, les grands vecteurs du paludisme développent des résistances à différents insecticides au fil des années. La perméthrine et la deltaméthrine plus utilisées dans les moustiquaires pré-imprégnées et vulgarisées dans la région, montrent certaines limites dans la réduction des vecteurs du paludisme. Les observations éthologiques des *Anophèles gambiae* et autres vecteurs face aux différents insecticides méritent d'être effectuées de façon régulière pour prévenir une quelconque catastrophe, liée à la résistance. Soulignons par ailleurs que, les stratégies basées sur l'usage des moustiquaires pré-imprégnées à évaluer de façon semestrielle devraient intégrer l'évaluation de la résistance pour le choix, la concentration et le changement des molécules avec l'étude de ces impacts sur le plan écologique.

REFERENCES

- [1] O.M.S. Maladies tropicales; progrès de la recherche. Genève. Pp 47-56, 2004.
- [2] CEMUBAC. Activité de la section «soins de santé primaire et nutrition » rapport annuel Bruxelles et Lwiro. Pp 2-4 ,1992.
- [3] BASABOSE K., BAGALWA M., ET CHIFUNDERA K. Anophelinocidal activity of volatil oil from *Tagetes minuta* L (Asteraceae).Lwiro; Est de la R.D.Congo. Pp 1-2, 1997.
- [4] YADOLETON A. Insecticide resistance status in *Anopheles gambiae* in Southern Benin. Pp 21-27, 2010.
- [5] CORBEL V., CHANDRE F, BRENGUES C, AKOGBETO M, LARDEUX F, HOUGARD JM, GUILLET P. Dosage- dependent effects of permethrin-treated nets on the behaviour of *Anopheles gambiae* and the selection of pyrethroid resistance. *Malar J* , Pp 3-12, 2004.
- [6] KANYUNYI B., MUDERHWA N., NSHOMBO. Relationship between anopheles and malaria transmission at Lwiro-Katana EASTERN ZAIRE (DR Congo). Pp. 10-11, 1995.
- [7] VOUCHET S. Clé de détermination des larves d’anophèles. Pp 1-3, 1985.
- [8] WHO. Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides. In *Tenth report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. Geneva. WHO Technical Report Series, No: 737.* World Health Organization. Pp 67-79. 1986.
- [9] WHO. Tests Procedures for Insecticide Resistance Monitoring in Malaria Vectors, Bioefficacy and Persistence of Insecticides on Treated Surfaces. Report of the WHO Informal Consultation, WHO/MAL/98. *Geneva. Pp 43, 1998.*
- [10] HARGREAVES K., *et al.* *Anopheles funestus* resistant to pyrethroid insecticides in South Africa. *Medical and Veterinary Entomology 14, 181–189, 2000.*
- [11] CHOUAIBOU M., ETANG J., BREVAULT T., NWANE P., C. K. HINZOUNBE C.P., MIMPFOUNDI R., SIMARD F. Dynamics of insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae s.l.* from an area of extensive cotton cultivation in Northern Cameroon. Pp 10-16, 2008.
- [12] HAMON J., ET GARETT-JONES. La résistance aux insecticides chez les vecteurs majeurs du paludisme et son importance opérationnelle. Pp 25-32, 1963.
- [13] ELLIOTT R., RAMAKRISHNA V. Insecticide resistance in *Anopheles gambiae* Giles. *Nature.* Mar 17; 177(4507):532–533, 1956.
- [14] CORBEL V., N’GUESSAN R., BRENGUES C., CHANDRE F., DJOGBENOU L., _MARTIN T. , AKOGBETO M Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. Pp 7-13, 2007.