

# ENTOMOLOGIE MÉDICALE

## Résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des pyréthrinoides utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires au Bénin, Afrique de l'Ouest.

**M. Akogbéto & S. Yakoubou**

Centre de recherche entomologique OCCGE de Cotonou, 06 BP 2604 Cotonou, Bénin.

Manuscrit n°1913. "Entomologie médicale". Reçu le 12 novembre 1997. Accepté le 23 mars 1999.

**Summary:** Resistance of Malaria Vectors to Pyrethroids Used for Impregnated Bednets, Benin, West Africa.

**Key-words:** Resistance -

*Impregnated bednets can be considered a major tool for reducing Anopheles bites, malaria morbidity and overall mortality. The resistance of Anopheles gambiae to pyrethroids used to impregnate bednets and curtains has already been noted in the urban area of Cotonou in Benin (18, 21).*

*In this study, we wished to find out if the resistance observed in Cotonou is localized only in this town or is already extensive throughout Benin. In this case, such resistance would be a handicap to the promotion of impregnated bednets in Benin.*

*The study was carried out in 15 localities throughout the different ecological zones of Benin. The study has also taken into account environmental factors favouring the emergence of resistance. We did susceptibility tests with WHO test kits for adult mosquitoes using impregnated papers. The papers were impregnated with permethrin 0,25%, deltamethrin 0,025% and lambda-cyhalothrin 0,1%. We also tested DDT 4% to find out if there was a cross resistance between DDT and the pyrethroids. Two mosquito species were tested: An. gambiae and An. melas.*

*In northern Benin, where farmers use insecticides against cotton pests, vectors are susceptible to deltamethrin and lambda-cyhalothrin and resistant to permethrin.*

*In the south, An. gambiae is resistant to deltamethrin and permethrin. This resistance is high in the urban zone of Cotonou, in the coastal and lagoon areas and at Kraké, a frontier village with Nigeria. The resistance observed in southern Benin is confirmed by the lengthening of the knock-down time of mosquitoes which were exposed for 1 hour to insecticide in impregnated WHO test tubes, and by a reduction of permethrin and deltamethrin remanence effect.*

**Résumé :**

*Les moustiquaires imprégnées constituent à l'heure actuelle un outil essentiel d'intervention pour la lutte antipaludique en Afrique. Une résistance d'Anopheles gambiae vis-à-vis des pyréthrinoides utilisés pour imprégner ces moustiquaires a été signalée dans le milieu urbain de Cotonou, au Bénin (18, 21).*

*La présente étude a pour but de vérifier si la résistance observée à Cotonou est localisée à cette ville et à ses environs ou est déjà étendue à tout le territoire béninois. Dans l'affirmative, cette résistance compromettrait gravement les efforts de promotion des moustiquaires imprégnées. L'étude a été réalisée dans divers milieux écologiques pour tenter de mettre en évidence les facteurs environnementaux favorables à l'apparition de la résistance. Deux espèces d'anophèles ont été testées : An. gambiae et An. melas. Ces moustiques ont été exposés aux papiers imprégnés de perméthrine, de deltaméthrine et de lambda-cyhalothrine aux concentrations diagnostiques, respectivement 0,25 %, 0,025 % et 0,1 %.*

*Dans la région septentrionale du Bénin, caractérisée par une forte production de coton, les vecteurs sont sensibles à la deltaméthrine et à la lambda-cyhalothrine et résistants à la perméthrine. Au sud et au centre, on note la résistance d'An. gambiae à la deltaméthrine et à la perméthrine. Cette résistance est forte dans le milieu urbain de Cotonou, dans la zone côtière lagunaire et à Kraké, un village à la frontière avec le Nigeria. La résistance observée au sud est confirmée par l'allongement du temps du "knock-down" des moustiques mis en contact avec les papiers imprégnés et par une diminution de l'effet rémanent de la perméthrine et de la deltaméthrine qui ne dépasse guère 4 mois.*

Anopheles gambiae s.s. -  
Anopheles melas -  
Pyrethroid -  
Chemioresistance - Vector -  
Malaria - Bednet -  
Benin - West Africa

**Mots-clés :** Résistance -

Anopheles gambiae s.s. -  
Anopheles melas -  
Pyréthrinoides -  
Chimiorésistance - Vecteur -  
Paludisme - Moustiquaire -  
Bénin - Afrique de l'ouest

## Introduction

À l'heure actuelle, la stratégie régionale de lutte contre le paludisme en Afrique repose sur trois composantes majeures dont la lutte antivectorielle sélective et durable (26). Les matériaux imprégnés constituent le principal outil d'intervention contre les anophèles vecteurs. Ces matériaux, en particulier les moustiquaires imprégnées, ont donné de bons résultats dans beaucoup d'études (7, 8, 9, 23, 32).

Depuis la recommandation de l'utilisation généralisée des matériaux imprégnés (26), la promotion des moustiquaires est inscrite comme la principale composante des programmes nationaux de lutte contre le paludisme dans la plupart des pays en Afrique au sud du Sahara. Depuis lors, un effort particulier est mis sur la promotion de ces moustiquaires et la vulgarisation de la méthode au sein des communautés.

Seuls les pyréthrinoides sont utilisés pour l'imprégnation, compte tenu de leur remarquable efficacité, de leur rapidité d'action et de leur toxicité relativement faible pour les mammifères.

Mais, souvent, l'emploi massif des insecticides est accompagné de l'apparition de la résistance des vecteurs cibles. Après l'utilisation généralisée des organochlorés dans le domaine agricole et en santé publique en Afrique, la résistance des principaux vecteurs d'*Anopheles gambiae*s.l. et d'*An. funestus* à ces produits, en particulier à la dieldrine, a été clairement établie (13, 15, 16, 29, 30, 31).

Depuis 1970, les pyréthrinoides ont été largement utilisés en zone urbaine et dans certains milieux ruraux, diffusés à l'aide de bombes aérosols à l'intérieur des habitations humaines (24), ainsi que dans les champs contre les insectes ravageurs des cultures (22). Dans les deux cas, la pression de sélection exercée sur les moustiques, en particulier les vecteurs du paludisme, doit être prise en considération pour surveiller la résistance à ces produits.

Le premier cas de résistance d'*An. gambiae* aux pyréthrinoides a été signalé à Bouaké, en Côte d'Ivoire (17). Plus tard, une baisse de sensibilité a été observée au Kenya dans une zone où les moustiquaires imprégnées de perméthrine sont utilisées par la population (33). Plus récemment, GUILLET *et al.* (18) ont noté la résistance aux pyréthrinoides chez *An. gambiae* s.l. et *Culex quinquefasciatus* en Afrique de l'Ouest. Dans la même période, LALÉYÈ et AKINOTCHO (21) signalent une forte résistance d'*An. gambiae* à la perméthrine à Cotonou, se traduisant par une mortalité de seulement 20 % des anophèles adultes exposés à des papiers imprégnés de perméthrine à 0,25 %. Toutefois, aucun cas de résistance n'a été noté en Gambie dans une région où les moustiquaires imprégnées sont utilisées à grande échelle (19).

En raison de l'extension progressive de la résistance des vecteurs du paludisme

aux pyréthrinoides en Afrique (17, 18, 21, 33), la présente étude a pour but de vérifier si la résistance observée à Cotonou est localisée à cette ville ou si elle est déjà généralisée sur tout le territoire du Bénin.

À l'heure de la phase de vulgarisation des matériaux imprégnés, chaque pays doit procéder à une évaluation de la situation actuelle et à un suivi pour mettre en évidence les zones où la résistance pourrait compromettre l'efficacité de cet important outil de lutte. En fonction des résultats, on peut proposer de nouvelles méthodes de lutte dans les zones à risques où des cas de résistance auraient été décelés. Un effort particulier peut également être envisagé pour la mise au point de nouveaux insecticides.

## Matériel et méthodes

L'étude a été réalisée au Bénin (figure 1), un pays d'Afrique de l'Ouest caractérisé par un climat sub-équatorial. Les anophèles soumis aux tests de sensibilité sont des femelles gorgées

Figure 1.

Localités prospectées et répartition des populations d'*An. gambiae* s.s. sensibles et résistantes à la perméthrine à 0,25 %, sur le transect sud-nord Bénin.

Prospected sites and distribution of *An. gambiae* s.s. populations sensitive and resistant to permethrin 0,25% on the north-south axis of Benin.



qui ont été récoltées dans 15 localités (localités 1 à 15) choisies suivant un transect du sud au nord de manière à couvrir les différentes zones écologiques. Le choix des localités a tenu compte du degré d'urbanisation, de l'activité économique des populations, du degré d'utilisation des insecticides en agriculture et dans les ménages, enfin des différentes formes chromosomiques d'*An. gambiae* rencontrées sur le transect et décrites par AKOGBETO et DI DECO (2) au Bénin.

## Les différents types de zones prospectées

### Zone rizicole en milieu rural

Trois localités ont été choisies en zones rizicoles : les localités 1 (Mounè) et 2 (Tounga) dans la sous-préfecture de Malanville en bordure du fleuve Niger et la localité 9 (Houèda) en bordure du fleuve Ouémé. Mounè et Tounga appartiennent au département du Borgou qui vient en deuxième position des 6 départements du Bénin en matière de production du riz. Houèda était une grande zone rizicole qui faisait la fierté du département de l'Ouémé entre 1970 et 1980. Les activités ont été abandonnées depuis 1981 et ont repris en 1995.

Nous n'avons pas pu obtenir d'informations précises sur l'utilisation des insecticides agricoles dans ces localités. Mais, de façon générale au Bénin, les producteurs de riz utilisaient deux organochlorés pour lutter contre les insectes ravageurs (22) : la dieldrine et le HCH. Toutefois, depuis plus de 10 ans, l'emploi de ces insecticides est interdit et remplacé par un biopesticide fongique, *Netarhizium havoveridae*.

### Zone cotonnière en milieu rural

Le département du Borgou est le plus grand centre producteur de coton au Bénin. Dans ce département, nous avons vérifié s'il existe une relation entre la culture de coton et l'apparition de la résistance des vecteurs aux insecticides. Quatre localités ont été prospectées : 3 (Sonsorò), 4 (Bembèrèkè), 5 (Boco) et 6 (Kpassa). L'évolution de la culture cotonnière dans ce département s'est traduite par une consommation croissante des intrants (engrais et insecticides) (22). Les insecticides utilisés ont été le DDT jusqu'en 1970 et les pyréthrinoides après l'interdiction de l'emploi des organochlorés. Plus d'une douzaine de pyréthrinoides sont utilisés dans les cultures de coton, parmi lesquels l'alphacyperméthrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine, la lambdacyhalothrine.

Dans ce type de zone, les résidus d'insecticide provenant des eaux de ruissellement issues des champs de coton traités par insecticide peuvent exercer une pression de sélection sur les larves de moustiques présentes dans les dépressions en bordure des champs.

### Zone non cotonnière, non rizicole

Dans les localités 7 et 8 (respectivement Atchérigbé et Zagnanado), l'usage des insecticides dans le cadre des travaux champêtres est nul.

### Zone lagunaire

Le choix des localités 10 (Ganvié), 11 (Kétonou) et 13 (Agbalilamè) repose sur la présence dans ces localités de deux populations d'*An. gambiae* s.l. : *An. melas* et *An. gambiae* qui vivent en sympatrie toute l'année (1, 5).

En raison d'une densité culicidienne élevée dans le milieu côtier lagunaire du Bénin, l'emploi des mesures individuelles et familiales de protection contre les piqûres de moustiques, en particulier les bombes insecticides et les serpentins fumigènes, est généralisé (4, 6).

### Zone frontalière Bénin-Nigéria

Kraké (localité 12) a été choisi en raison de sa situation géographique. C'est un grand marché où transitent des serpentins fumigènes, des bombes aérosols et des plaquettes pour diffuseurs électriques à base de pyréthrinoides de qualité douteuse. Le contact permanent avec ces produits pourrait créer à long terme une pression de sélection sur les moustiques adultes présents dans les habitations humaines.

### Zone urbaine et périurbaine

Fifadji (localité 15) est situé au cœur de la ville de Cotonou. Ladjì (localité 14) et Agbalilamè (localité 13) sont situés à la périphérie de cette ville. L'utilisation des bombes aérosols, des plaquettes pour diffuseurs électriques et des serpentins fumigènes à base de pyréthrinoides est courante dans le milieu urbain et périurbain de Cotonou.

## Les espèces d'anophèles

Les tests ont été réalisés sur des membres du complexe *An. gambiae*. Dans les localités 4 à 9 et les localités 12, 14 et 15, il s'agit exclusivement d'*An. gambiae* (2). Dans les localités 10, 11 et 13, il s'agit d'un mélange d'*An. gambiae* et d'*An. melas*. Dans ces localités, *An. melas* représentait, respectivement, 40 %, 32 % et 22 % (2). Les captures effectuées dans les localités 1, 2 et 3 sont constituées presque exclusivement d'*An. gambiae*, avec une faible proportion (moins de 2 %) d'*An. arabiensis* (2).

## Les tests de sensibilité

Les tests de sensibilité ont été réalisés avec les papiers imprégnés du kit OMS pour les moustiques adultes à des concentrations considérées comme discriminatives de la sensibilité. Les anophèles ont été testés vis-à-vis de trois pyréthrinoides (la perméthrine à 0,25 %, la deltaméthrine à 0,025 % et la lambdacyhalothrine à 0,1 %) et d'un organochloré (le DDT à 4%) pour vérifier s'il existe une résistance croisée entre ces 2 groupes d'insecticides. Les échantillons de moustiques exposés aux papiers imprégnés sont des femelles sauvages récoltées dans les chambres à coucher. Le temps d'exposition observé est de 60 minutes et le temps d'observation avant la lecture des résultats est de 24 heures. Dès l'exposition des moustiques à l'insecticide, le nombre de moustiques "knock-down", c'est-à-dire qui tombent inanimés au fond du tube (KD), est noté après 10, 15, 20, 30, 45, 60, 80, 120 minutes. Pour les temps 80 et 120 minutes, la lecture se fait donc après avoir transvasé les moustiques dans le tube d'observation. L'observation du temps de KD est nécessaire car son allongement est en fait la première manifestation de la résistance.

Pour déterminer la relation entre le niveau de résistance et le temps du "knock-down", nous avons comparé ce temps dans deux échantillons d'*An. gambiae* : un échantillon provenant d'une zone où les anophèles sont sensibles aux pyréthrinoides (Malanville) et un autre provenant d'une zone où *An. gambiae* est résistant à ces produits, en particulier à la perméthrine (Ladjì). Pendant la durée d'exposition des anophèles aux papiers imprégnés et durant les 60 premières minutes du temps d'observation, nous avons compté tous les moustiques qui tombaient sur le dos ou sur le côté au fond des tubes.

## Le critère de répartition des zones de résistance

Nous avons tenté d'établir une carte de répartition des zones de résistance d'*An. gambiae* aux pyréthrinoides, en particulier à la perméthrine, au Bénin (figure 1). La barrière entre les

deux phénomènes résistance et sensibilité n'étant pas toujours évidente, nous avons considéré, dans la figure 1, zone de résistance toute localité où le pourcentage de mortalité des femelles d'anophèles soumises aux papiers imprégnés est inférieur ou égal à 80% et zone de sensibilité toute localité où le pourcentage est au moins égal à 90 %. Les localités où les pourcentages de mortalité sont situés entre ces deux valeurs ont été considérées comme des zones de baisse de sensibilité d'*An. gambiae* aux pyréthriinoïdes où des études complémentaires basées sur la recherche des gènes KdR par PCR sont en cours.

### Les tests d'efficacité des moustiquaires imprégnées

Afin de vérifier s'il existe une relation entre la résistance et la rémanence, nous avons exposé deux échantillons d'*An. gambiae* à des moustiquaires imprégnées. Le premier échantillon provenait d'une zone (Ladji) où cette espèce est résistante à la perméthrine. Le second échantillon provenait de Malanville, zone à forte sensibilité vis-à-vis des pyréthriinoïdes. Trois moustiquaires ont été utilisées : une moustiquaire imprégnée de perméthrine à la dose de 500 mg m.a./m<sup>2</sup>, une moustiquaire imprégnée de deltaméthrine à la dose de 25mgm.a./m<sup>2</sup> et un témoin. Ces doses d'insecticide sont celles retenues par le Programme national de lutte contre le paludisme (PNLP) au Bénin pour l'imprégnation des moustiquaires. La technique d'imprégnation est celle décrite par SCHRECK et SELF (28).

Des expositions mensuelles de femelles sauvages d'*An. gambiae* aux moustiquaires imprégnées ont été réalisées jusqu'à ce que l'insecticide tue moins de 50% des moustiques exposés. Les femelles d'*An. gambiae* ont été maintenues en contact avec les supports imprégnés grâce à un cône. Les moustiques ont été introduits dans le cône par lots de 10 au moyen d'un aspirateur à bouche et ont été maintenus en contact avec le support imprégné pendant 3 minutes. Les moustiques morts ont été dénombrés après 24 heures de mise en observation.

### L'identification des espèces *An. melas* soumis aux tests de sensibilité

Il n'est pas possible de séparer morphologiquement les espèces *An. melas* et *An. gambiae* sur des spécimens vivants. Les tests réalisés dans le milieu côtier lagunaire du Bénin (localités 10, 11 et 13) ont donc porté sur un mélange des 2 espèces jumelles. A la fin de chaque test, nous avons constitué 3 lots de moustiques : moustiques morts après 24 heures, moustiques survivants et moustiques témoins. A partir de chaque lot, nous avons appliqué la méthode de la biométrie des palpes pour déterminer les espèces *An. melas* et *An. gambiae*. Cette technique permet de séparer aisément les deux espèces. Les performances de la méthode ont été validées par l'étude cytogénétique développée par PETRARCA *et al.* (27) et AKOGBÉTO *et al.* (3). Avant l'identification, chaque moustique porte un numéro de reconnaissance. Le même numéro est donné à la tête qui doit servir à la détermination.

## Résultats

Nous avons testé 15 échantillons de moustiques récoltés dans divers milieux écologiques pour tenter de mettre en évidence les facteurs environnementaux favorables à l'apparition de la résistance. Plus de 9 000 femelles d'*An. gambiae* et d'*An. melas* ont été exposées aux papiers imprégnés.

Pour tous les essais réalisés sur les papiers imprégnés et les tulles moustiquaires, les pourcentages de mortalité enregistrés dans les témoins ont toujours été inférieurs à 5 %. Aucune correction de la mortalité n'a donc été nécessaire.

### Sensibilité d'*An. gambiae* aux pyréthriinoïdes

#### Région méridionale et centrale

Dans la région méridionale et centrale du Bénin, *An. gambiae* est résistant à la perméthrine. Tous les échantillons testés à ce produit (tableau I) ont présenté de faibles pourcentages de mortalité variant entre 15,2 % et 36,5 %. Le taux le plus bas est rencontré dans le milieu urbain de Cotonou. Dans ce milieu, sur 215 femelles d'*An. gambiae* testées, 82,4 % ont échappé à l'effet de l'insecticide. Les résultats obtenus avec la deltaméthrine vont dans le même sens : dans les 9 localités prospectées, les pourcentages de mortalité ont varié entre 54,5 % et 72,8 %. En revanche, la sensibilité d'*An. gambiae* vis-à-vis de la lambdacyhalothrine a été bonne dans le sud du Bénin, sauf dans le centre urbain de Cotonou où nous avons observé 28,5 % de résistance.

Tableau I.

	perméthrine à 0,25 %		deltaméthrine à 0,025 %		lambdacyhalothrine à 0,1 %	
	total testé	% mort.	total testé	% mort.	total testé	% mort.
région méridionale et centrale						
zone urbaine (Cotonou) localité 15	215	17,6	271	67,6	163	71,5
zone péri-urbaine (Cotonou) localités 13 et 14	1593	20	1175	71,8	814	85
zone lagunaire localités 10 et 11	801	26,2	966	60,8	203	96,5
zone rizicole en milieu rural (en bordure du fleuve Ouémé) localité 9	137	32	150	61,5	125	90,4
zone frontalière (Bénin-Nigéria) localité 12	112	15,2	33	54,5	85	96
zone rurale non cotonnière et non rizicole, localités 7 et 8	229	36,5	136	72,8	102	89,2
région septentrionale						
zone rizicole en milieu rural (en bordure du fleuve Niger) localités 1 et 2	666	87,7	531	96,5	336	97,2
zone cotonnière en milieu rural localités 3,4,5 et 6	534	78,3	321	96,7	200	90,5

#### Région septentrionale

Dans la localité 1, sur 202 femelles d'*An. gambiae* exposées aux papiers imprégnés de perméthrine, nous avons enregistré un pourcentage de mortalité de 91,5 %. Ce taux de mortalité indique la sensibilité de cette espèce dans le périmètre rizicole de Mouné (figure 2).

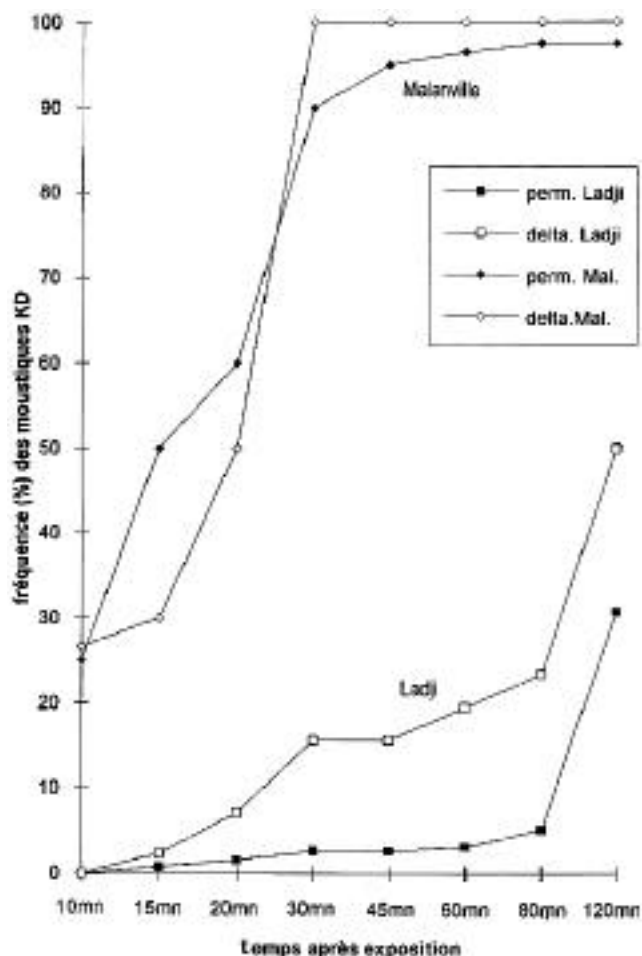
En revanche, dans les localités 3 et 4, les pourcentages de mortalité obtenus, respectivement 80 % et 68 %, traduisent la résistance d'*An. gambiae* à la perméthrine.

Une situation intermédiaire a été observée dans les localités 2, 5 et 6 où les pourcentages de mortalité vis-à-vis de la perméthrine ont été respectivement 81,9 %, 86 % et 88 %. Ces taux de mortalité traduisent une baisse de sensibilité d'*An. gambiae* à la perméthrine dans ces trois localités.

Concernant la deltaméthrine à 0,025 % et la lambdacyhalothrine à 0,1 %, les femelles d'*An. gambiae* testées se sont comportées de la même manière vis-à-vis de ces deux produits. Les pourcentages de mortalité ont varié entre 96,5 et 96,7% avec la deltaméthrine et entre 90,5 et 97,2 % avec la lambdacyhalothrine (tableau I). Ces pourcentages traduisent la sensibilité des populations d'*An. gambiae* testées.

Figure 2.

Temps de "knock-down" observé dans deux échantillons d'*An. gambiae* s.s. exposés aux papiers imprégnés de perméthrine à 0,25 % et de deltaméthrine à 0,025%.  
 Knock-down time observed in two samples of *An. gambiae* exposed to paper impregnated with permethrin 0,25% and deltamethrin 0,025%.



### Résistance croisée au DDT et aux pyréthri-noïdes

Seuls les spécimens d'*An. gambiae* récoltés dans les localités 13, 14 et 15 ont été testés vis-à-vis du DDT et des pyréthri-noïdes. Dans toutes ces localités, les anophèles sont résistants à la perméthrine et à la deltaméthrine (tableau I). Les faibles taux de mortalité observés dans les mêmes localités vis-à-vis du DDT, respectivement 14,3%, 12,4% et 15% (tableau II) indiquent une résistance croisée au DDT et aux pyréthri-noïdes. La résistance au DDT en Afrique a été signalée à partir de 1968 à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) (14) puis au Togo, au Sénégal, au Nigéria, au Cameroun et en Guinée (25).

### Relation entre le niveau de résistance et le temps du "knock-down".

Les résultats observés sont consignés dans la figure 2. Ces résultats montrent qu'après 15 minutes d'exposition, 50 % des moustiques de l'échantillon Malanville soumis aux papiers imprégnés de perméthrine sont tombés au fond des tubes, assommés par l'effet de la perméthrine (KD50). Sous l'effet de la deltaméthrine, le KD50 a été aussi rapide : il a été obtenu après 20 minutes. Après 30 minutes, tous les moustiques de l'échantillon Malanville (KD100) sont tombés paralysés sous l'effet de la deltaméthrine (figure 2).

Concernant l'échantillon Ladj, le temps de paralysie a été nettement plus long. Avec la deltaméthrine, le KD50 a été obtenu après 120 minutes ; le KD100 n'a pu être observé (figure 3). Avec la perméthrine, 28 moustiques seulement sont tombés après 120 minutes, sur un total de 389.

Ces résultats montrent qu'il existe une relation entre le degré de résistance d'un moustique à un insecticide et le temps que ce moustique met pour réagir au produit. Cette relation a été récemment démontrée dans une étude sur la résistance d'*An. gambiae* s.l. aux pyréthri-noïdes en Afrique (10). Par ailleurs, ces résultats confirment l'existence d'une population d'*An. gambiae* sensible à la perméthrine et à la deltaméthrine dans la localité 1 et d'une population résistante à ces deux insecticides dans la localité 14.

### Sensibilité d'*An. melas* aux pyréthri-noïdes

La population d'*An. gambiae* testée dans le milieu côtier lagunaire du Bénin est un mélange de deux espèces : *An. melas* et *An. gambiae*. Lors de notre enquête, *An. melas* constituait 27 % (n = 478) de l'échantillon d'Agbalilamè et 44 % (n = 337) de l'échantillon de Kétonou (figure 3). La fréquence des deux espèces a été analysée dans le lot des moustiques morts sous l'effet de l'insecticide et celui des survivants, ce qui a permis de préciser la sensibilité de chaque espèce.

A Agbalilamè (localité 13), 62 femelles d'*An. melas* ont été testées à la perméthrine. Le pourcentage de la mortalité observée a été de 58 %. A Kétonou (localité 11), nous avons enregistré un pourcentage similaire (60 % : 36 femelles mortes/60). Dans la population d'*An. gambiae*, les pourcentages de mortalité ont été plus faibles : 14 % (18/128) à Agbalilamè et 18 % (23/128) à Kétonou. Ces taux de mortalité indiquent que les deux espèces sont résistantes à la perméthrine dans les localités prospectées.

Vis-à-vis de la deltaméthrine, les résultats sont différents. *An. melas* a fait preuve d'une bonne sensibilité (98 % : 95 femelles mortes sur 97). Quant à *An. gambiae*, le taux de mortalité enregistré (72,6 % : 106/146) traduit la résistance de cette espèce dans le milieu lagunaire du Bénin.

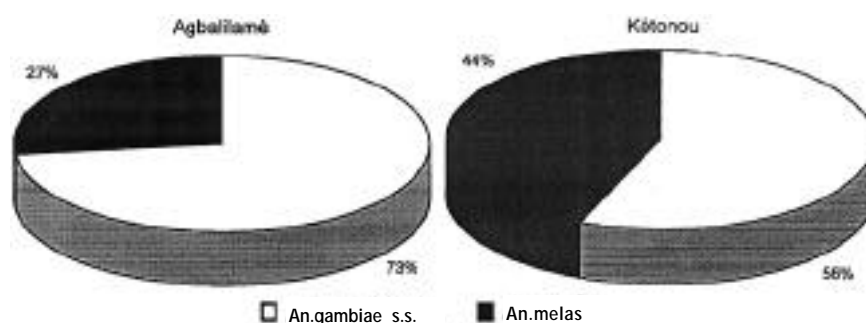
Tableau II.

Sensibilité d'*An. gambiae* au DDT.  
 Les anophèles testés ont été récoltés dans 3 quartiers de Cotonou  
 Sensitivity of *An. gambiae* to DDT.

	Fifadji, localité 15	Ladji, localité 14	Agbalilamè, localité 13
témoins	100	101	102
morts après 24 h	3	5	4
vivants après 24 h	97	96	98
mortalité (%)	3	4,9	3,9
total testé	200	201	175
morts après 24 h	30	25	25
vivants après 24 h	170	175	150
mortalité (%)	15	12,4	14,3
mortalité corrigée (%)	-	-	-

Figure 3.

Fréquence d'*An. melas* et d'*An. gambiae* s.s. dans deux échantillons de moustiques soumis aux tests de sensibilité.



## Comportement des populations d'*An. gambiae* soumises aux tests de bioessai

Sept séries de tests ont été réalisées à raison d'un test par mois. Pour chaque série de tests, une moyenne de 200 femelles d'*An. gambiae* ont été exposées aux tulles moustiquaires imprégnés. Les résultats mensuels enregistrés sont illustrés dans les figures 4 et 5.

Les résultats obtenus avec l'échantillon sensible de la localité 1 sont parfaitement en accord avec les tests classiques de sensibilité. La perméthrine et la deltaméthrine sont demeurés efficaces sur cet échantillon au cours des six mois pendant lesquels ont duré les tests (figure 5). Durant cette période, plus de 70% des femelles d'*An. gambiae* exposées aux tulles moustiquaires imprégnées sont mortes au cours des tests. Au cours des trois premiers mois, les taux de mortalité ont varié entre 96 et 100 % (figure 5).

En revanche, à Ladjì où *An. gambiae* est résistant aux pyrèthrinoides, l'efficacité de la perméthrine et de la deltaméthrine n'a été observée que pendant un mois (figure 4). Après le deuxième mois, les taux de mortalité sont devenus très faibles.

Figure 4.

Variation de l'effet létal de la perméthrine à 0,25 % et de la deltaméthrine à 0,025 % en imprégnation sur tulle moustiquaire sur une population d'*An. gambiae* s.s. résistante aux pyrèthrinoides.

Variation of lethal effect of permethrin 0,25% and deltamethrin 0,025% impregnated in mosquito nets on a population of *An. gambiae* s.s. resistant to pyrethroids.

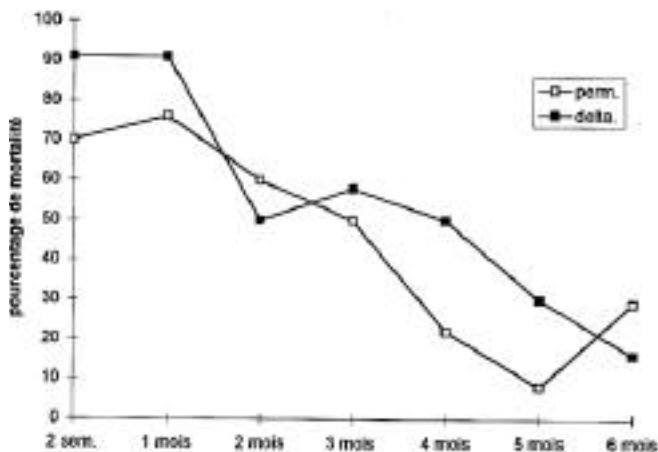
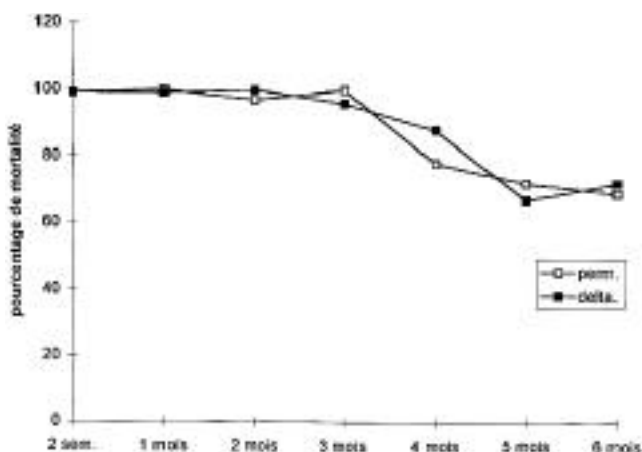


Figure 5.

Variation de l'effet létal de la perméthrine à 0,25 % et de la deltaméthrine à 0,025 % en imprégnation sur tulle moustiquaire sur une population d'*An. gambiae* s.s. sensible aux pyrèthrinoides.

Variation of lethal effect of permethrin 0,25% and deltamethrin 0,025% impregnated in mosquito nets on a population of *An. gambiae* s.s. sensitive to pyrethroids.



## Discussion-conclusion

Les épreuves de sensibilité sur les moustiques adultes nécessitent des lots de moustiques uniformes du point de vue du sexe, de l'âge et du développement ovarien. Ces conditions sont réalisables en menant les tests sur des spécimens d'élevage âgés de 3 à 5 jours. Dans notre étude, compte tenu du nombre de localités à prospecter, nous avons préféré utiliser des femelles gorgées capturées à l'état sauvage. Dans la plupart des localités, seules les femelles d'*An. gambiae* ont été testées, sauf dans les localités 1 et 2 où il y a un risque de mélange de 2% avec *An. arabiensis* (2). Dans les localités 10, 11 et 13 où *An. gam-biae* vit en sympatrie avec *An. melas*, la sensibilité individuelle de chaque espèce a été précisée.

La figure 1 a permis de réaliser une carte de répartition des zones de résistance au Bénin. Le taux de résistance fixé dans cette étude à la présence de 20 % de survivants dans les échantillons peut paraître élevé. En effet 20 % des femelles échappent à l'action de l'insecticide, ce qui peut signifier la présence de résistance qui ne s'exprime pas par suite de l'absence de pression sélective. Toutefois, notre démarche est basée sur une vision opérationnelle. A l'heure actuelle, les moustiquaires imprégnées de pyrèthrinoides constituent le principal outil de lutte contre les anophèles en Afrique. C'est pourquoi les programmes nationaux de lutte contre le paludisme s'efforcent de vulgariser la méthode dans tous les milieux. Dans ces conditions, l'emploi des moustiquaires imprégnées de pyrèthrinoides peut être envisagé avec succès dans les zones où 80 % des anophèles sont sensibles aux pyrèthrinoides. Toutefois, une évaluation régulière de la sensibilité dans ces zones doit être envisagée pour permettre de suivre l'évolution de la situation.

La lambdacyhalothrine a fait preuve d'une bonne sensibilité sur 12 des 15 localités prospectées, sauf à Fifadji (localité 15) dans la zone urbaine de Cotonou (tableau I). Cependant, il faut noter que la dose discriminative de 0,1 % de la lambdacyhalothrine est élevée. Elle est 4 fois plus élevée que celle de la deltaméthrine à 0,025 %, alors que les deux produits ont sensiblement la même activité, surtout dans la région septentrionale où les taux de mortalité ont varié, respectivement, entre 90,5 et 97,2 % et 96,5 et 96,7 % (tableau I).

Toutes les localités où la résistance a été notée au sud et au centre sont caractérisées par une utilisation massive des bombes aérosols, des serpentins fumigènes et des plaquettes pour diffuseurs électriques à base de pyrèthrinoides (4). Le contact permanent avec ces produits pourrait se traduire par une pression de sélection sur les adultes des moustiques à l'intérieur des habitations humaines. L'emploi de ces mesures individuelles et collectives de protection contre les piqûres de moustiques, plus important dans la zone urbaine de Cotonou et dans les milieux côtiers lagunaires des pêcheurs, s'explique par un niveau de vie relativement plus élevé, permettant aux populations d'acheter et d'appliquer des produits chimiques contre les moustiques endophiles et par une nuisance culicidienne élevée. L'écosystème côtier urbain de Cotonou offre d'ailleurs l'exemple de situations favorables au maintien d'importantes populations d'anophèles et remplit les conditions d'une efficace transmission du paludisme (5).

La réalisation de petits projets agricoles en milieu urbain et péri-urbain de Cotonou, associée peut-être à l'utilisation de fortes quantités d'insecticides, parfois de façon anarchique, peut être également à l'origine de la résistance dans la région méridionale et centrale.

Dans la région septentrionale, où les paysans utilisent des insecticides contre les insectes ravageurs des cultures de coton, la résistance d'*An. gambiae* à la perméthrine dans les localités 3 et 4 et la baisse de sensibilité de cette espèce vis-à-vis de ce produit dans les localités 2, 5 et 6 reflètent probablement l'existence d'un effet sélectif exercé sur les moustiques. Concernant la deltaméthrine, dans toutes les localités prospectées dans cette région, premier producteur du coton au Bénin, tous les échantillons testés ont été sensibles à ce produit et une faible résistance à la perméthrine a été notée. Au sud du Bénin, *An. gambiae* a été résistant au DDT. Dans la zone cotonnière de la région septentrionale, nous n'avons pas pu tester cette espèce pour déterminer sa sensibilité à ce produit. Or CHANDRE *et al.* (10) ont montré que la résistance aux pyréthrinoides en Côte d'Ivoire et au Burkina est due au gène KdR qui est à la base de la résistance au DDT. Il serait donc intéressant de rechercher les gènes KdR dans la population d'*An. gambiae* de la zone cotonnière du Borgou.

La résistance vis-à-vis du DDT observée dans la région méridionale est due à deux phénomènes : l'utilisation massive de ce produit et de la dieldrine en pulvérisation intradomiciliaire de 1953 à 1960 dans la plupart des villages du sud Bénin (20) et l'emploi massif des organochlorés en agriculture, au cours des années 50 (25). La résistance croisée mise en évidence dans les localités 13, 14 et 15 (tableaux I et II) qui s'est traduite par des taux de mortalité similaires entre le DDT et la perméthrine est l'expression de ce phénomène.

Les espèces *An. gambiae* testées au nord et au sud se différencient par le polymorphisme chromosomique du bras droit du chromosome 2 (chromosome 2R) et du bras gauche du même chromosome (chromosome 2L). Les *An. gambiae* de la région méridionale sont caractérisés par une fréquence élevée des arrangements chromosomiques 2R standard et 2La+ (2) rencontrés généralement dans les zones humides (11, 12). Ceux récoltés au nord sont caractérisés par les arrangements 2Rbc, 2Rb, 2Ru et 2La (2) rencontrés généralement dans les zones sèches. Selon COLUZZI *et al.* (12) au Nigéria, les porteurs d'arrangements chromosomiques les mieux adaptés à l'humidité sont relativement plus exophages, tandis que ceux adaptés à des conditions plus sèches sont relativement plus endophages. Il est possible que le polymorphisme par inversion chromosomique joue un rôle dans la résistance aux insecticides. Mais ce rôle ne peut être qu'une hypothèse à démontrer. Par ailleurs, selon GUILLET (com. pers.), *An. gambiae* forme Mopti paraît plus sensible aux pyréthrinoides, en particulier à la perméthrine, qu'*An. gambiae* forme Savane. En effet, dans une étude menée par cet auteur sur la recherche des gènes KdR, ces gènes étaient représentés par une très faible fréquence chez Mopti et une fréquence relativement élevée chez Savane. Il est possible que ce phénomène soit à la base de la différence de sensibilité d'*An. gambiae* représenté au sud du Bénin par les formes chromosomiques Savane et Forêt, et au nord, particulièrement dans les zones de rizicultures de Mounè et Tounga (localités 1 et 2), par la forme Mopti (arrangements chromosomiques 2Rbc, 2Ru) (2).

Deux arguments peuvent expliquer les résultats contradictoires observés dans la riziculture de Houèda (localité 9) et celle de Malanville (localités 1 et 2) (tableau I). La riziculture de Houèda est la plus grande et la plus structurée, entretenue dans le passé par des assistants techniques chinois avec des moyens financiers suffisants et une forte main d'œuvre. En raison de l'importance de cette riziculture, elle a probablement été soumise à des applications répétées de nombreux insecti-

cides. Cette exposition à des produits de nature chimique variée a dû opérer une sélection des moustiques. Le deuxième argument réside dans la situation géographique des deux rizicultures. Le périmètre rizicole de Malanville se trouve dans la partie septentrionale du Bénin où les anophèles demeurent sensibles aux pyréthrinoides. Celui de Houèda appartient à la zone méridionale où toutes les populations d'*An. gambiae* sont résistantes à la perméthrine.

En raison de l'apparition de la résistance d'*An. gambiae* aux pyréthrinoides, et particulièrement à la perméthrine, en Afrique, il importe de vérifier si cette résistance mise en évidence par la méthode OMS s'accompagne d'une diminution de l'efficacité des moustiquaires imprégnées. Pour répondre à cette question, des travaux de recherche sont en cours en Afrique. Ces travaux permettront d'évaluer l'efficacité des moustiquaires imprégnées dans les conditions normales d'utilisation sur le terrain.

Les bioessais ont permis de juger de l'efficacité opérationnelle des pyréthrinoides. Ils sont réalisés aux doses opérationnelles d'utilisation qui sont des concentrations plus fortes que les doses diagnostiques. Les résultats ont montré que, trois mois après l'imprégnation, la quantité de produit restant sur les tulles moustiquaires ne peut tuer que la moitié des moustiques résistants alors qu'il est suffisant pour tuer la quasi-totalité des moustiques sensibles (figures 4 et 5).

Sur la figure 4, on note une augmentation du pourcentage de mortalité des femelles d'*An. gambiae* testées à la perméthrine de la 2ème semaine au 1er mois et du 5ème au 6ème mois. Nous n'avons pas pu expliquer ce phénomène qui peut être dû à une erreur de manipulation. Toutefois, on peut penser que l'augmentation de la mortalité observée dans les bioessais avec la perméthrine entre la 2ème semaine et le 1er mois est due à l'effet irritant du produit peu après l'imprégnation. Ainsi le temps de contact entre l'anophèle et le support imprégné est alors très réduit, d'où une mortalité relativement faible. Par la suite, cet effet pourrait diminuer avec le temps, ce qui autoriserait une augmentation du temps de contact anophèle/support et causerait une augmentation de la mortalité.

L'étude de la sensibilité individuelle d'*An. gambiae* et d'*An. melas* a montré que les deux espèces sont résistantes à la perméthrine dans le milieu côtier lagunaire du Bénin. Toutefois la résistance d'*An. gambiae* vis-à-vis de ce produit est plus forte que celle d'*An. melas*. La faible résistance observée chez cette espèce peut être due à une sélection secondaire, *An. gambiae* étant plus endophile qu'*An. melas*.

#### Remerciements

Ce travail a bénéficié d'une subvention de la Mission française de coopération et d'action culturelle à Cotonou (Convention n° 97/006/M/025/CD/96 du 21/04/97). Nous adressons à la Mission nos sincères remerciements.

#### Références bibliographiques

1. AKOGBÉTO M - *Etude des aspects épidémiologiques du paluisme côtier lagunaire au Bénin*. Thèse de Doctorat ès-science, Université de Paris XI, 1992.
2. AKOGBÉTO M & DI DECO MA - Répartition des membres du complexe *Anopheles gambiae* et de leurs variants chromosomiques au Bénin et au Togo, Afrique Occidentale. *J Afr Zool*, 1995, **109**, 443-454.

3. AKOGBÉTO M, DI DECO MA & ROMANO R - Utilizzazione dell'indice palpale nella diagnosi differenziale tra *Anopheles melas* e *An. gambiae* nella zona lagunare del Benin, Africa Occidentale. *Parassitologia*, 1988, **30** (suppl.1), 5-6.
4. AKOGBÉTO M & FELIHO R - Connaissances et attitudes pratiques concernant l'utilisation des moustiquaires à Ganvié, République du Bénin. *Bull OCCGE Info*, 1996, **105**, 10-20.
5. AKOGBÉTO M, MODIANO D & BOSMAN A - Malaria transmission in the lagoon area of Cotonou, Benin. *Parassitologia*, 1992, **34**, 147-154.
6. AKOGBÉTO M & NAHUM A - Etude de la transmission du paludisme sur un site d'eau saumâtre. Données entomologiques et parasitologiques. *Bull OCCGE Info*, 1995, **104**, 15-33.
7. AKOGBÉTO M & NAHUM A - Impact des moustiquaires imprégnées de deltaméthrine sur la transmission du paludisme dans un milieu côtier lagunaire, Bénin. *Bull Soc Pathol Exot*, 1996, **89**, 291-298.
8. BEACH RF, RUEBUSH II TH, SEXTON JD, BRIGHT PL, HIGHTOWER AW *et al.* - Effectiveness of permethrin impregnated bednets and curtains for malaria control in a holoendemic area of Western Kenya. *Am J Trop Med Hyg*, 1993, **49**, 290-300.
9. CARNEVALE P, ROBERT V, BOUDIN C, HALNA JM, PAZART LH *et al.* - La lutte contre le paludisme par des moustiquaires imprégnées de pyrèthrinoides au Burkina Faso. *Bull Soc Pathol Exot*, 1988, **81**, 832-842.
10. CHANDRE F, DARRIET F, MANGAL, AKOGBETOM, FAYE O *et al.* - Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* s.l. *Bull OMS*, 1999, (In press).
11. COLUZZI M, SABATINI A & PETRARCA V - Chromosomal investigations on species A and B of the *Anopheles gambiae* complex in the Garki District (Kano State, Nigeria). Results on Species identifications from 1971-1974. WHO/TN/1975, 1, 24.
12. COLUZZI M, SABATINI A, PETRARCA V & DI DECO MA - Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1979, **73**, 483-497.
13. COZJ, DAVIDSON G, CHAUVET G & HAMON J - La résistance des anophèles aux insecticides en Afrique Tropicale et à Madagascar. *Cah ORSTOM, sér Entomol méd*, 1968.
14. COZ J & HAMON J - Importance pratique de la résistance aux insecticides en Afrique au Sud du Sahara pour l'éradication du paludisme dans ce continent. *Cah ORSTOM, sér Entomol méd* (Paris), 1963, **33**, 77-83.
15. DAVIDSON G - Insecticide résistance in *Anopheles gambiae* GILES: a case of simple Mendelian inheritance. *Nature*, London, 1956, **178**, 863-863.
16. DAVIDSON G & HAMON J - A case of dominant dieldrin resistance in *Anopheles gambiae* GILES. *Nature* (Lond), 1962, **196**, 1012.
17. ELISSA N, MOUCHETJ, RIVIÈRE F, MEUNIER JY & YAO K - Resistance of *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroids in Côte d'Ivoire. *Ann Soc Belge Méd Trop*, 1993, **73**, 291-294.
18. GUILLET P, CHANDRE F, AKOGBÉTO M, DARRIET F, FAYE O *et al.* - Resistance of *Anopheles gambiae* s.l. to pyrethroids in Africa and the use of impregnated materials. Meeting on Insecticide-impregnated Materials, Brazzaville, Congo 18-20 March 1996.
19. HEMINGWAY J, LINDSAY SW, SMALL GJ, JAWARAM & COLLINS FH - Insecticide susceptibility status in individual species of the *Anopheles gambiae* complex (Diptera, Culicidae) in a area of the Gambia where pyrethroid impregnated bednets are used extensively for malaria control. *Bull Entomol Res*, 1995, **85**, 229-234.
20. JONCOUR G - *Lutte anti-palustre au Dahomey*. Rapport n° 13, MPS, 1959.
21. LALÈYÉ GT & AKINOTCHO RM - *Efficacité de deux pyrèthrinoides de synthèse sur les vecteurs du paludisme. Etude de la sensibilité et de la rémanence sur tulle moustiquaire*. Mémoire de fin de cycle, Université Nationale du Bénin, 1996, 83p.
22. MINISTERE DU DEVELOPPEMENT RURAL - *Forces et faiblesses de la filière coton au Bénin : utilisation des pesticides en agriculture*. 1995, 55p.
23. MAGESA SM, WILKES TJ, MNZAVA AEP, MYAMBAJ, PHILLIP MD *et al.* Trial of pyrethroid impregnated bednets in an area of Tanzania holoendemic of malaria. Part 2: Effects on the malaria vector population. *Acta Tropica*, 1990, **49**, 97-108.
24. MATOLA YG *et al.* Epidemiologic assessment of the impact of lambda-cyhalothrin (OMS-3021) on the transmission of malaria in a rural area in Tanzania. *Bull Soc Fr Pathol*, 1990, **8** (suppl.2), 1202.
25. OMS - Résistance des vecteurs et des réservoirs de maladies aux pesticides. Vingt-deuxième rapport technique du Comité OMS d'experts des Insecticides. *OMS*, 1976, **585**, 30-31.
26. OMS - Stratégies de lutte contre le paludisme dans la région africaine et étapes pour leur mise en œuvre. *Cahiers Techniques AFRO*, 1993, **23**, 1-20.
27. PETRARCA V, CARRARA GC, DI DECO MA & PETRANGELI G - II complesso *Anopheles gambiae* in Guinea Bisssau. *Parassitologia*, 1983, **25**, 29-39.
28. SCHRECK CE & SELF LS - Traitement des moustiquaires pour une meilleure protection contre les piqûres et les maladies transmises par les moustiques. *WHO/VBC*, 1985, **914**, 5p.
29. SELF LS & PANT CP - Insecticide susceptibility and resistance in population of *Anopheles gambiae*, *Culex fatigans* and *Aedes aegypti* in Southern Nigeria. *Bull OMS*, 1966, **34**, 960-962.
30. SERVICE MW - Dieldrin resistance in *Anopheles funestus* GILES from an unsprayed area in Northern Nigeria. *J Trop Med Hyg*, 1964, **67**, 190.
31. SERVICE MW & DAVIDSON G - A high incidence of dieldrin-resistance in *Anopheles gambiae* GILES from an unsprayed area in Northern Nigeria. *Nature*, London, 1964, **203**, 209-210.
32. SNOW RW, LINDSAY SW, HAYES RL & GREENWOOD BM - Permethrin-treated bednets in the prevention of malaria in Gambian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1988, **82**, 838-842.
33. VULULE JM, BEACH RF, ATIÉLI FK, ROBERTS JM, MOUNT DL & MWANGI RW - Reduced susceptibility of *Anopheles gambiae* to permethrin associated with the use of permethrin-impregnated bednets and curtains in Kenya. *Med Veter Entomol*, 1994, **8**, 71-75.





