

Impact des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée et des aspersions intradomiciliaires résiduelles sur la résistance métabolique chez *Anopheles gambiae* (Diptera : Culicidae) à l'ouest de la Côte d'Ivoire

Mahama TOURE^{1,2*}, Grégoire Yapi YAPI², N'Tapé ABO², Pierre CARNEVALE³
et Fabrice CHANDRE³

¹ Université Jean Lorougnon Guédé, UFR Environnement, Laboratoire des Interactions Hôte-Microorganisme-Environnement et Evolution (LIHME), BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

² Université Alassane Ouattara, Centre d'Entomologie Médicale et Vétérinaire, 27 BP 529 Abidjan, Côte d'Ivoire

³ IRD, MIVEGEC (UM1/CNRS 5290/IRD 224), 911 Ave Agropolis BP 64501 - 34394 Montpellier Cedex 5, France

* Correspondance, courriel : mahamatoure@yahoo.fr

Résumé

Ce travail de recherche étudie l'impact des moustiquaires imprégnées et des aspersions intradomiciliaires résiduelles avec la deltaméthrine sur la résistance métabolique chez *Anopheles gambiae*. Les moyennes de l'activité des mono-oxygénases cytochrome P₄₅₀ pour l'ensemble des moustiques ont varié entre 0,013 et 0,072 nmoles cytochrome P₄₅₀ EU/mg protéines. Celles des estérases totales pour ces mêmes moustiques ont varié entre 107,975 et 646,459 nmoles α -naph/min/mg protéines. Pour l'activité des glutathion-S-transférases (GST), les moyennes étaient comprises entre 0,072 et 1,891 μ moles GSH conjuguée/min/mg de protéines. L'évolution des moyennes des activités enzymatiques en fonction du temps n'a montré aucune différence significative. Toutefois, les activités de GST des moustiques sauvages étaient plus élevées que celle de la souche Kisumu de référence sensible. L'analyse de ces données indique que les moustiquaires imprégnées et les aspersions intradomiciliaires résiduelles avec la deltaméthrine n'ont pas augmenté les niveaux d'activités de mono-oxygénases cytochromes P₄₅₀, d'estérases totales et de GST chez *An. gambiae* dans la région de Danané. Par ailleurs, les activités élevées de GST indiquent la résistance métabolique au dichloro-diphényl-trichloréthane (DDT) chez ces moustiques.

Mots-clés : *Anopheles gambiae*, résistance métabolique, Danané, Côte d'Ivoire.

Abstract

Impact of long lasting insecticidal nets and indoor residual sprayings on metabolic resistance into *Anopheles gambiae* (Diptera : Culicidae) in western Côte d'Ivoire

The aim of the current research is to study the impact of impregnated nets and indoor residual spraying on metabolic resistance in *Anopheles gambiae*. The averages of the activity of the cytochrome P₄₅₀ mono-oxygenases for the whole trial were 0.013 – 0.072 nmoles cytochrome P₄₅₀ UE/mg proteins. The averages of the activity of the total esterases were 107.975 – 646.459 nmoles α -naph/min/mg proteins. For the activity of the glutathione-S-transferases (GST), the averages ranged between 0.072 and 1.891 μ moles GSH

conjugate/min/mg proteins. Time evolution of the averages of the enzymatic activities did not show any significant difference. However, the activity of the GST was highest with field mosquitoes compared to the "Kisumu" susceptible reference strain. Analysis of those data revealed that impregnated nets and indoor residual spraying with deltamethrin did not increase the levels of the enzymatic activities of the cytochrome P₄₅₀ mono-oxygenases, total esterases and glutathione-S-transferases into *An. gambiae* in the Danané area. However, high activities of glutathione-S-transferases recorded during those investigations highlights resistance to dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT).

Keywords : *Anopheles gambiae*, metabolic resistance, Danané, Côte d'Ivoire.

1. Introduction

Le moustique *Anopheles gambiae*, Giles 1902 (*Diptera : Culicidae*) représente le vecteur majeur du paludisme en Afrique tropicale [1]. La lutte antivectorielle contre cette maladie par l'utilisation collective des moustiquaires imprégnées d'insecticides est l'une des principales méthodes recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et mise en place par les programmes nationaux de lutte contre le paludisme. En effet, des études [2, 3] ont montré que leur utilisation à grande échelle conduirait à un bien-être des communautés affectées, notamment d'une meilleure santé des enfants même en zone de forte résistance insecticide et des femmes enceintes avec une plus faible mortalité infantile et des améliorations du développement économique. Toutefois, seuls six insecticides dont cinq pyréthriinoïdes et un pseudo-pyréthriinoïde sont recommandés pour l'imprégnation des moustiquaires [4]. Outre leur effet de choc rapide (*knock-down*) et leur effet létal, les moustiquaires imprégnées de ces insecticides ont un effet excito-répulsif qui réduit de façon significative l'entrée des moustiques dans les habitations [5]. Malheureusement, la mutation *knock-down resistance (kdr)* conférant la résistance croisée aux pyréthriinoïdes et au dichloro-diphényl-trichloréthane (DDT) est déjà largement répandue chez *An. gambiae* dans plusieurs pays Africains [6 - 8]. En Côte d'Ivoire, l'apparition de la résistance aux insecticides semble principalement être liée aux intenses traitements agricoles avec le DDT. En général, la mutation *kdr* est le plus souvent renforcée par un ou plusieurs mécanismes de résistance à la fois.

Ce sont la *super-kdr* qui résulte d'une mutation supplémentaire de base azotée en amont de la *kdr* simple d'Afrique de l'ouest [9], la mutation G119S responsable de la résistance conférée par l'acétylcholinestérase modifiée dite "insensible" chez *An. gambiae* [10], la surproduction des oxydases dont les mono-oxygénases cytochromes P₄₅₀ [11], l'amplification génique des estérases [12] et les glutathion-S-transférases (GST) [13]. En effet, la résistance métabolique à la deltaméthrine a été rapportée chez la mouche de souche LPR [14]. Par ailleurs, une vitesse augmentée de la déhydrochlorination du DDT a été observée chez des individus résistants de *An. gambiae* [15]. D'autres études ont montré que des quantités élevées d'enzymes GST étaient impliquées dans la résistance aux pyréthriinoïdes [16]. Ces observations constituent une menace majeure à la lutte antivectorielle contre le paludisme, basée essentiellement sur l'utilisation d'insecticides de type pyréthriinoïdes face au nombre élevé d'enzymes impliqués dans les mécanismes de détoxification chez *An. gambiae*. Ainsi, la présente étude a-t-elle été menée dans la région de Danané à l'ouest de la Côte d'Ivoire pour vérifier si l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée et des aspersion intradomiciliaires résiduelles à base de la deltaméthrine engendrerait une augmentation immédiate des niveaux de résistance métabolique chez *An. gambiae*. L'objectif général consistait donc, d'évaluer les niveaux d'activités des mono-oxygénases cytochromes P₄₅₀, des estérases totales et des GST au cours du temps et sous la pression sélective exercée par les moustiquaires imprégnées et par les aspersion intradomiciliaires résiduelles à base de la deltaméthrine.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel

Le matériel biologique a été les moustiques femelles adultes âgés de deux à trois jours. Pour se faire, des larves de *An. gambiae* ont été récoltées, principalement dans les rizières et secondairement dans les flaques routières en saison des pluies. Les prospections larvaires ont été effectuées tous les trois mois, simultanément dans les villages du site d'étude de mai 2001 à juillet 2002. Les larves ont été élevées à l'insectarium ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ température, 70 - 80 % humidité relative) jusqu'à l'âge adulte. Les moustiques femelles adultes âgés de deux à trois jours ont été conservés dans l'azote liquide (-196°C) pour les analyses diagnostiques ultérieures. En outre, la souche Kisumu de laboratoire de l'espèce *An. gambiae*, originaire du Kenya (depuis 1953) et sensible aux insecticides, particulièrement aux pyréthrinoides a été utilisée comme référence sensible pour les tests diagnostiques.

2-2. Méthodes

2-2-1. Répartition des méthodes de lutte antivectorielle sur le site d'étude

L'étude a impliquée douze villages dans la région de Danané ($7^\circ 15' \text{N}$, $8^\circ 9' \text{O}$, 365 m altitude) à l'ouest de la Côte d'Ivoire de mai 2001 à juillet 2002 (*Figure 1*). Les moustiquaires étaient rarement utilisées dans la région de Danané avant la présente étude. Quatre groupes de trois villages ont été constitués. Les habitants de trois villages, Finneu, Bouveneu et Danta ont reçu des moustiquaires imprégnées de deltaméthrine à longue durée à la concentration moyenne de 55 mg/m^2 (type Permanet®), en donnant une moustiquaire à chaque unité de couchage. Dans trois autres villages, Seileu, Pepleu et Zoleu, des moustiquaires de même type, mais non imprégnées d'insecticide ont été distribuées selon les mêmes modalités. Des aspersion résiduelles intradomiciliaires à base de la deltaméthrine à la dose de 20 mg/m^2 ont été effectuées sur les murs des cases de trois autres villages qui sont Yotta, Gbontégueu et Vétouo. Des aspersion identiques ont été répétées six mois plus tard, en novembre 2001 dans ces mêmes villages. Les habitants des trois derniers villages, Bepleu, Biétouo et Méantouo n'ont bénéficié d'aucune intervention, constituant ainsi le groupe témoin.

$$DO = 842,6x + 0,9977 \quad (2)$$

x étant l'activité des mono-oxygénases est proportionnelle à la quantité de cytochromes P_{450} produite, a été exprimée en nmoles de cytochromes P_{450} Equivalent-unités par rapport à la quantité de protéines dans l'extrait enzymatique du moustique (nmoles P_{450} EU/mg protéines).

2-2-4. Dosage des estérases

La réaction a consisté en l'hydrolyse de l' α -naphthyl acétate par les estérases avec la formation de l' α -naphthol qui s'est combiné au colorant Fast Garnett BC Salt (FGBC) pour donner un complexe rouge violacé [19]. La DO a été lue à 550 nm et a par la suite, été convertie en activité des estérases totales à partir de l'Équation (3) de la courbe étalon tracée en se basant sur différentes concentrations d' α -naphthol

$$DO = 54,51x + 0,0134 \quad (3)$$

x étant l'activité estérasique a été exprimée en termes de production d' α -naphthol en fonction du temps d'incubation de la solution réactionnelle et par quantité de protéines dans l'extrait enzymatique du moustique (nmoles d' α -naphthol/min/mg de protéines).

2-3. Dosage des glutathion-S-transférases

L'activité des GST a été mise en évidence à partir de la détermination de la vitesse de conjugaison du glutathion sous forme réduite (GSH) avec le 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB) [19]. La DO du glutathion conjugué avec le CDNB en cinétique a été lue à 340 nm. Elle a été convertie en activité de GST. L'interprétation des données a impliqué un coefficient d'extinction molaire selon la loi de Beer dans l'Équation (4) :

$$DO/min = \epsilon cl \quad (4)$$

ϵ étant le coefficient d'extinction molaire du CDNB dans l'Équation (5) :

$$\epsilon = 9,5mM \quad (5)$$

c étant la concentration molaire de GSH ; l étant la profondeur en mm du puits de la plaque. L'activité enzymatique a été exprimée en μ moles de GSH conjuguée/min/mg protéines.

2-4. Analyse des données

Pour chaque mécanisme de résistance métabolique (mono-oxygénases cytochrome P_{450} , estérases totales et glutathion-S-transférases), l'activité individuelle enzymatique du moustique a été déterminée. Les moyennes des activités enzymatiques des populations naturelles de moustiques ont été comparées, d'une part à celles de la souche Kisumu de référence sensible en utilisant le test de Mann-Whitney, et d'autre part entre-elles en fonction des traitements et du temps en utilisant le test non paramétrique de Jonckheere-Terpstra. Le test de Mann-Whitney a été réalisé sous l'hypothèse nulle H_0 "les moyennes des activités sont identiques", pendant que le test non paramétrique de Jonckheere-Terpstra a été réalisé sous l'hypothèse nulle H_0 "les moyennes des activités sont identiques au cours du temps", le risque d'erreur étant $\alpha = 5\%$ (l'intervalle de confiance, IC = 95 %). Le test de Mann-Whitney a été effectué avec le logiciel STATISTICA/W Version 5.0 pendant que le test non paramétrique de Jonckheere-Terpstra a été effectué avec logiciel SPSS Version 11.5.

3. Résultats

3-1. Activité des mono-oxygénases cytochromes P₄₅₀

Les moyennes de l'activité des mono-oxygénases cytochrome P₄₅₀ pour l'ensemble des moustiques issus des quatre types de traitements ont varié entre 0,013 et 0,072 nmoles cytochrome P₄₅₀ EU/mg protéines (**Tableau 1**). Trois catégories de populations naturelles de moustiques ont été observées par rapport à la souche Kisumu de référence sensible :

- Les populations dont les moyennes de l'activité des mono-oxygénases cytochrome P₄₅₀ ont été supérieures à celle de la souche Kisumu. Elles ont été constituées de moustiques issus des villages à moustiquaires imprégnées au 6^{ème} mois, des villages témoins au 9^{ème} mois et des villages à aspersions résiduelles au 12^{ème} mois;
- Une population dont la moyenne de l'activité des mono-oxygénases cytochrome P₄₅₀ a été égale à celle de la souche Kisumu de référence sensible. Elle a été formée par les moustiques issus des villages à moustiquaires imprégnées au 15^{ème} mois;
- Les populations de moustiques dont les valeurs moyennes de l'activité des mono-oxygénases cytochrome P₄₅₀ ont été inférieures à celle de la souche Kisumu. Cette dernière catégorie a été constituée des autres populations de moustiques testés.

Par ailleurs, l'évolution des moyennes de l'activité des mono-oxygénases cytochrome P₄₅₀ en fonction des traitements n'a montré aucune différence significative ($P = 0,323$; IC 95 %).

Tableau 1 : Variation des moyennes de l'activité des mono-oxygénases cytochrome P₄₅₀

Temps (mois)	Traitements	Moyennes	IC ₉₅	Ecart type	p(pop/kis)	n
6	Kisumu	0,044	0,038-0,051	0,022	-	47
	MID	0,072	0,054-0,089	0,053	<10 ⁻²	38
	MNI	0,022	0,019-0,025	0,012	<10 ⁻²	72
	AIDR	-	-	-	-	-
9	TÉM	0,027	0,022-0,031	0,021	<10 ⁻²	89
	MID	0,026	0,023-0,030	0,013	<10 ⁻²	47
	MNI	-	-	-	-	-
	AIDR	-	-	-	-	-
12	TÉM	0,050	0,045-0,054	0,021	<10 ⁻²	89
	MID	0,020	0,016-0,024	0,020	<10 ⁻²	94
	MNI	0,035	0,029-0,042	0,030	<10 ⁻²	85
	AIDR	0,048	0,026-0,070	0,099	0,01	83
15	TÉM	0,040	0,034-0,046	0,026	0,04	71
	MID	0,042	0,037-0,047	0,018	0,69	47
	MNI	0,033	0,028-0,039	0,025	<10 ⁻²	93
	AIDR	0,013	0,009-0,016	0,012	<10 ⁻²	54
	TÉM	0,041	0,033-0,049	0,046	0,03	134

Temps exprime le nombre de mois après traitement; IC₉₅: intervalle de confiance au seuil $\alpha = 0,05$; p(pop/kis): p comparant la population à la souche sensible Kisumu; n: effectif de moustiques testés; MID: moustiquaires imprégnées de deltaméthrine à longue durée; MNI: moustiquaires non imprégnées d'insecticide; AIDR: aspersions intradomiciliaires résiduelles à base de la deltaméthrine; TÉM: témoins; les moyennes de l'activité des mono-oxygénases cytochrome P₄₅₀ en nmoles P₄₅₀ EU/mg protéines.

3-2. Activité des estérases totales

Les moyennes de l'activité des estérases totales des moustiques testés ont varié entre 107,975 et 646,459 nmoles α -naph/min/mg protéines (**Tableau 2**). Comme avec les mono-oxygénases cytochrome P₄₅₀, trois catégories de populations naturelles de moustiques ont été observées par rapport à la souche Kisumu de référence sensible :

- Les populations dont les moyennes de l'activité des estérases totales ont été supérieures à celle de la souche Kisumu. Cette catégorie a regroupé les populations de moustiques issus, d'une part des villages traités par aspersions résiduelles, et d'autre part des villages témoins au 12^{ème} mois;
- Les populations dont les moyennes de l'activité des estérases totales ont été égales à celle de la souche Kisumu de référence sensible. Elles ont été constituées de moustiques issus des villages à moustiquaires imprégnées au 9^{ème} mois et des villages à aspersions résiduelles au 15^{ème} mois;
- Les populations dont les moyennes de l'activité des estérases totales ont été inférieures à celle de la souche Kisumu, regroupant 9 populations naturelles de moustiques sur les 13 analysées.

L'évolution des moyennes de l'activité des estérases totales en fonction des traitements n'a montré aucune différence significative (P = 0,245; IC 95 %).

Tableau 2 : Variation des moyennes de l'activité des estérases totales

Temps (mois)	Traitements	Moyennes	IC ₉₅	Ecart type	p(pop/kis)	n
	Kisumu	192,042	182,346-201,738	33,022	-	47
6	MID	126,338	113,673-139,002	38,531	0,01	38
	MNI	142,885	125,455-160,315	74,174	<10 ⁻²	72
	AIDR	-	-	-	-	-
	TÉM	107,975	91,091-124,858	80,150	<10 ⁻²	89
9	MID	208,042	180,036-236,047	95,383	0,66	47
	MNI	-	-	-	-	-
	AIDR	-	-	-	-	-
	TÉM	161,560	138,796-184,316	108,043	<10 ⁻²	89
12	MID	159,090	134,580-183,633	119,825	<10 ⁻²	94
	MNI	175,542	139,730-211,354	166,032	<10 ⁻²	85
	AIDR	646,459	203,650-1089,268	2027,923	<10 ⁻²	83
	TÉM	330,551	284,024-377,078	196,570	<10 ⁻²	71
15	MID	125,753	109,281-142,226	56,104	<10 ⁻²	47
	MNI	122,611	106,539-138,683	78,040	<10 ⁻²	93
	AIDR	200,444	168,457-232,432	117,193	0,50	54
	TÉM	186,525	167,612-205,438	110,687	<10 ⁻²	134

Temps exprime le nombre de mois après traitement; IC₉₅: intervalle de confiance au seuil $\alpha = 0,05$; p(pop/kis): p comparant la population à la souche sensible Kisumu; n : effectif de moustiques testés; MID : moustiquaires imprégnées de deltaméthrine à longue durée; MNI : moustiquaires non imprégnées d'insecticide; AIDR : aspersions intradomiciliaires résiduelles à base de la deltaméthrine; TÉM : témoins; les moyennes de l'activité des estérases totales en nmoles α -naph/min/mg protéines.

3-3. Activité des glutathion-S-transférases

Les moyennes de l'activité des GST des moustiques testés ont varié entre 0,072 et 1,891 μ moles GSH conjuguée/min/mg de protéines (**Tableau 3**), soit un à plus de vingt-six fois qu'avec la souche Kisumu. Deux catégories de populations naturelles de moustiques, relativement à la souche Kisumu ont été observées :

- Les populations dont les moyennes de l'activité des GST ont été supérieures à celle de la souche Kisumu de référence sensible. Cette catégorie a regroupé la quasi-totalité des populations de moustiques testées, soit 11 populations de moustiques sur 13;
- Les populations dont les moyennes ont été identiques à celle de Kisumu. Cette dernière catégorie a regroupé les populations de moustiques issues des villages à moustiquaires imprégnées et à moustiquaires non imprégnées au 12^{ème} mois.

Comme avec les mono-oxygénases cytochrome P₄₅₀ et les estérases totales, l'évolution des moyennes de l'activité des GST en fonction des traitements n'ont montré aucune différence significative ($P = 0,473$; IC 95 %).

Tableau 3 : Variation des moyennes de l'activité des glutathion-S-transférases

Temps (mois)	Traitements	Moyennes	IC ₉₅	Ecart type	p(pop/kis)	n
6	Kisumu	0,071	0,056-0,086	0,051	-	47
	MID	0,120	0,108-0,131	0,036	<10 ⁻²	38
	MNI	0,135	0,117-0,153	0,076	<10 ⁻²	72
	AIDR	-	-	-	-	-
	TÉM	0,100	0,082-0,119	0,088	0,16	89
9	MID	0,165	0,138-0,192	0,093	<10 ⁻²	47
	MNI	-	-	-	-	-
	AIDR	-	-	-	-	-
	TÉM	0,197	0,143-0,251	0,257	0,05	89
12	MID	0,078	0,063-0,094	0,076	0,99	94
	MNI	0,072	0,053-0,092	0,090	0,32	85
	AIDR	1,891	0,672-3,109	5,581	<10 ⁻²	83
	TÉM	0,119	0,083-0,154	0,149	0,80	71
15	MID	0,257	0,214-0,300	0,148	<10 ⁻²	47
	MNI	0,158	0,143-0,173	0,071	<10 ⁻²	93
	AIDR	0,195	0,172-0,218	0,085	<10 ⁻²	54
	TÉM	0,118	0,099-0,137	0,113	0,03	134

Temps exprime le nombre de mois après traitement; IC₉₅: intervalle de confiance au seuil $\alpha = 0,05$; p(pop/kis): p comparant la population à la souche sensible Kisumu; n: effectif de moustiques testés; MID: moustiquaires imprégnées de deltaméthrine à longue durée; MNI: moustiquaires non imprégnées d'insecticide; AIDR: aspersions intradomiciliaires résiduelles à base de la deltaméthrine; TÉM: témoins; les moyennes de l'activité des GST en μ moles GSH conjuguée/min/mg de protéines.

4. Discussion

Les moyennes d'activités des monooxygénases cytochromes P₄₅₀ et des estérases totales des populations naturelles de moustiques conduisent à une répartition en trois classes relativement à la souche Kisumu de référence sensible. Ainsi, tout comme pour les GST, la classe des moyennes d'activités enzymatiques supérieures à celle de la souche Kisumu, ne contient-elle pas que des populations de moustiques issues d'un groupe particulier de villages du site d'étude. En effet, les traitements de lutte antivectorielle à base d'insecticide, notamment les moustiquaires imprégnées de deltaméthrine à longue durée et les aspersions intradomiciliaires résiduelles avec la deltaméthrine n'ont pas engendré une augmentation des activités de mono-oxygénases cytochromes P₄₅₀, d'estérases totales et de GST chez *An. gambiae* dans la région de Danané durant quinze mois de suivi. Cependant, des études similaires menées dans treize villages au sud-est du Bénin ont rapporté une augmentation de l'expression des gènes de détoxification métabolique chez *An. gambiae*, suite à l'utilisation de moustiquaires imprégnées de deltaméthrine sur trois ans de suivi entre 2012 et 2014 [20]. En effet, une étude expérimentale mesurant l'activité métabolique de détoxification a mis en évidence une augmentation de deux à cinq fois des activités estérasiques chez des moustiques exposés aux pyréthrinoïdes pendant seulement 12 heures [21]. Par ailleurs, les niveaux des activités de mono-oxygénases cytochromes P₄₅₀ et des estérases totales ont été faibles, indiquant une absence de résistance conférée par ces enzymes chez *An. gambiae* dans la région de Danané tandis que les GST présentaient des activités élevées.

Cette observation confirme une spécificité de détoxification des insecticides cibles par les moustiques. Similairement, des niveaux élevés d'activité des GST ont été détectés chez *An. arabiensis*, le vecteur majeur du paludisme en Ethiopie, alors que les mono-oxygénases et estérases présentaient des niveaux faibles n'indiquaient aucune résistance [22]. L'implication des GST dans la résistance métabolique chez les moustiques semble être le mécanisme de détoxification le plus répandu dans les zones endémiques du paludisme. Ainsi, les populations naturelles de moustiques testés au cours de cette étude possédaient-ils des activités de GST vingt-six fois plus élevées que celle de la souche Kisumu de référence sensible. Ces niveaux élevés de GST indiquent une résistance au DDT dans la région de Danané, comparativement à l'étude de la sensibilité utilisant les tests en cônes qui mettaient en évidence des moustiques plutôt sensibles pendant la même période [23]. Le dosage des enzymes de détoxification est une méthode de détection précoce de la résistance d'origine métabolique chez les moustiques, qui précise sur le début d'acquisition ou la perte progressive de la résistance. En effet, Des observations faites sur les chenilles du tabac, *Heliothis virescens* ont montré que l'absence de pression sélective pouvait entraîner une chute rapide de la résistance métabolique sur le terrain comme au laboratoire [24].

Ainsi, la résistance conférée par la surproduction de GST dans la région de Danané pourrait donc être en chute, suite à l'introduction d'autres types d'insecticides, notamment les pyréthrinoïdes dans l'agriculture et en santé publique. Dans les années 1960-1970, la résistance au DDT avait été observée en Côte d'Ivoire [25]. A l'Ouest forestier de la Côte d'Ivoire, le DDT a été utilisé en abondance dans les plantations de café, de cacao et de riz, avec l'emploi rare des pyréthrinoïdes (essentiellement pour se protéger des piqûres de moustiques: serpents fumigènes, bombes aérosols). En général, l'utilisation massive des insecticides en agriculture exerce une forte pression de sélection sur la faune non cible, notamment sur les moustiques aux stades aquatiques [26 - 28]. Cette pratique massive d'aspersions du DDT a certainement engendré la résistance observée par la surproduction de GST, notamment de la DDT-déhydrochlorinase. En effet, l'accroissement de l'activité des GST est reconnu être un mécanisme majeur de résistance au DDT [13, 29]. Des travaux de recherche ont montré que des quantités élevées de GST étaient aussi associées à la résistance aux pyréthrinoïdes chez plusieurs insectes [16, 30, 31]. Cependant, le mécanisme génétique moléculaire de cette résistance n'est pas bien connu. La complexité des GST ne facilite pas la détection d'enzyme unique impliqué dans la résistance. Les GST des classes I et III sont connues pour être impliquées dans la résistance aux

insecticides chez les moustiques adultes [32, 33]. Le mécanisme moléculaire impliquant les GST de la classe I dans la résistance aux insecticides n'est pas identifié. Par contre, des travaux de recherche effectués chez des souches de *An. gambiae* de Zanzibar en Tanzanie, ont montré que les GST *aggst3-1* et *aggst3-2* de la classe III coïncident avec le locus *rt^d1* impliqué dans la résistance au DDT [34].

5. Conclusion

L'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée et des aspersions intradomiciliaires résiduelles avec la deltaméthrine n'a pas engendré une augmentation des activités de mono-oxygénases cytochromes P₄₅₀, d'estérases totales et de GST chez *An. gambiae* dans la région de Danané durant quinze mois de suivi. Ainsi, les niveaux de résistance métabolique de ces moustiques n'ont-ils pas augmenté au cours du temps et sous la pression sélective exercée par les moustiquaires imprégnées et par les aspersions avec la deltaméthrine. Les activités de mono-oxygénases cytochromes P₄₅₀ et des estérases totales ont été faibles, indiquant une absence de résistance conférée par ces enzymes chez *An. gambiae* dans les sites de l'étude tandis que les GST présentaient des activités élevées, suggérant la résistance au DDT. Toutefois, la résistance conférée par la surproduction de GST pourrait être en chute, suite à l'introduction des pyréthrinoides dans l'agriculture et en santé publique en Côte d'Ivoire.

Références

- [1] - D. MARTINEZ-TORRES, F. CHANDRE, M. S. WILLIAMSON, F. DARRIET, J. B. BERGÉ, A. L. DEVONSHIRE, P. GUILLET, N. PASTEUR and D. PAURON, Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *Insect. Mol. Biol.*, 7 (2) (1998) 179 - 184
- [2] - B. L. NAHLEN, J. P. CLARK and D. ALNWICK, Insecticide-treated bed nets. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 68 (4) (2003) 1 - 2
- [3] - J. BRADLEY, A. OGOUYÈMI-HOUNTO, S. CORNELIE, J. FASSINO, Y. S. S. DE TOVE, A. A. ADEOTHY, F. T. TOKPONNON, P. MAKOUTODE, A. ADECHOUBOU, T. LEGBA, T. HOUANSOU, D. KINDE-GAZARD, M. C. AKOGBETO, A. MASSOUGBODJI, T. B. KNOX, M. DONNELLY and I. KLEINSCHMIDT, Insecticide-treated nets provide protection against malaria to children in an area of insecticide resistance in Southern Benin. *Malar. J.*, 16 (2017) 225
- [4] - M. ZAIM, A. AITIO and N. NAKASHIMA, Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *Med. Vet. Entomol.*, 14 (1) (2000) 1 - 5
- [5] - J. E. GIMNIG, J. M. VULULE, T. Q. LO, L. KAMAU, M. KOLCZAK, P. A. PHILLIPS-HOWARD, E. M. MATHENGE, F. O. TER KUILE, B. L. NAHLEN, A. W. HIGHTOWER and W.A. HAWLEY, Impact of permethrin-treated bed nets on entomologic indices in an area of intense year-round malaria transmission. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 68(4) (2003) 16 - 22
- [6] - J. ETANG, L. MANGA, F. CHANDRE, P. GUILLET, E. FONDJO, R. MIMPFOUNDI, J. C. TOTO and D. FONTENILLE, Insecticide susceptibility status of *Anopheles gambiae* s.l. (*Diptera : Culicidae*) in the Republic of Cameroon. *J. Med. Entomol.*, 40 (4) (2003) 491 - 497
- [7] - T. S. AWOLOLA, I. O. OYEWOLE, C. N. AMAJOH, E. T. IDOWU, M. B. AJAYI, A. ODUOLA, O. U. MANAFA, K. IBRAHIM, L. L. KOEKEMOER and M. COETZEE, Distribution of the molecular forms of *Anopheles gambiae* and pyrethroid knock down resistance gene in Nigeria. *Acta Trop.*, 95 (3) (2005) 204 - 209

- [8] - M. TOURÉ, Y. G. YAPI, P. CARNEVALE and F. CHANDRE, Impact of long lasting insecticidal nets and indoor residual sprayings on the knockdown resistance mutation in *Anopheles gambiae* s.s. in western Côte d'Ivoire. *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, 15 (1) (2016) 114 - 121
- [9] - M. S. WILLIAMSON, D. MARTINEZ-TORRES, C. A. HICK and A. L. DEVONSHIRE, Identification of mutations in the housefly para-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides. *Mol. Gen. Genet.*, 252 (1-2) (1996) 51 - 60
- [10] - M. WEILL, G. LUTFALLA, K. MOGENSEN, F. CHANDRE, A. BERTHOMIEU, C. BERTICAT, N. PASTEUR, A. PHILIPS, P. FORT and M. RAYMOND, Insecticide resistance in mosquito vectors. *Nature*, 423 (2003) 136 - 137
- [11] - T. TOMITA, N. LIU, F. F. SMITH, P. SRIDHAR and J. G. SCOTT, Molecular mechanisms involved in increased expression of a cytochrome P450 responsible for pyrethroid resistance in the housefly, *Musca domestica*. *Insect. Mol. Biol.*, 4 (3) (1995) 135 - 140
- [12] - R. D. NEWCOMB, P. D. EAST, R. J. RUSSELL and J. G. OAKESHOTT, Isolation of alpha cluster esterases genes associated with organophosphate resistance in *Lucilia cuprina*. *Insect. Mol. Biol.*, 5 (3) (1996) 211 - 216
- [13] - A. G. CLARK and N. A. SHAMAAN, Evidence that DDT-dehydrochlorinase from the house fly is a glutathione S-transferase. *Pestic. Biochem. Phys.*, 22 (1) (1984) 249 - 261
- [14] - J. G. SCOTT, Cytochrome P450 Monooxygenase-Mediated Resistance to Insecticides. *J. Pestic. Sci.*, 21 (1996) 241 - 245
- [15] - L. PRAPANTHADARA, J. HEMINGWAY and A. J. KETTERMAN, Partial purification and characterization of glutathione S-transferases involved in DDT resistance from the mosquito *Anopheles gambiae*. *Pestic. Biochem. Phys.*, 47 (2) (1993) 119 - 133
- [16] - I. KOSTAROPOULOS, A. I. PAPADOPOULOS, A. METAXAKIS, E. BOUKOUVALA and E. PAPADOPOULOU MOURKIDOU, Glutathione S-transferase in the defence against pyrethroid in insects. *Insect. Biochem. Molec. Biol.*, 31 (4 - 5) (2001) 313 - 319
- [17] - M. M. BRADFORD, A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72 (1976) 248 - 254
- [18] - W. G. BROGDON, J. C. MCALLISTER and J. VULULE, Heme peroxydase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing the elevated oxidase mechanism for insecticide resistance. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.*, 13 (1997) 233 - 237
- [19] - J. HEMINGWAY, Techniques to detect insecticide resistance mechanisms (field and laboratory manual). *World Health Organization, WHO/CDS/CPC/MAL/98.6*, Geneva, (1998) 35 p.
- [20] - A. G. YAHOUÉDO, S. CORNELIE, I. DJÈGBÈ, J. AHLONSOU, S. ABOUBAKAR, C. SOARES, M. AKOGBÉTO and V. CORBEL, Dynamics of pyrethroid resistance in malaria vectors in southern Benin following a large scale implementation of vector control interventions. *Parasit. Vectors*, 9 (1) (2016) 385
- [21] - S. G. KAMITA, S. MULLIGAN, A. J. CORNEL and B.D. HAMMOCK, Quantification of GST and esterase activities in pyrethrin-resistant mosquitoes using pyrethroid-like fluorescent substrates. *Int. J. Pest. Manag.*, 62 (4) (2016) 276 - 283
- [22] - E. ALEMAYEHU, A. ASALE, K. EBA, K. GETAHUN, K. TUSHUNE, A. BRYON, E. MOROU, J. VONTAS, T. VAN LEEUWEN, L. DUCHATEAU and D. YEWHA, Mapping insecticide resistance and characterization of resistance mechanisms in *Anopheles arabiensis* (Diptera : Culicidae) in Ethiopia. *Parasit. Vectors*, 10 (1) (2017) 407
- [23] - M. TOURÉ, P. CARNEVALE and F. CHANDRE, Impact of long-lasting insecticidal Nets and indoor residual Sprayings on Susceptibility of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in western Côte d'Ivoire. *ISRN Infectious Diseases*, 914714 (2013) 7 p.
- [24] - G. T. PAYNE, R. G. BLENK and T. M. BROWN, Inheritance of permethrin resistance in the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (Lepidoptera : Noctuida). *J. Econ. Entomol.*, 81 (1) (1988) 65 - 73
- [25] - J. COZ, G. DAVIDSON, G. CHAUVET and J. HAMON, La résistance des anophèles aux insecticides en Afrique tropicale et à Madagascar. *Cah. ORSTOM., Ser Entomol. Med. Parasitol*, 6 (1968) 207 - 210
- [26] - J. MOUCHET, Mini-Review : Agriculture and Vector Resistance. *Insect. Sci. Appl.*, 9 (1988) 297 - 302

- [27] - F. CHANDRE, F. DARRIET, S. MANGUIN, C. BRENGUES, P. CARNEVALE and P. GUILLET, Pyrethroid cross resistance spectrum among population of *Anopheles gambiae* s.s. from Côte d'Ivoire. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.*, 15 (1999) 53 - 59
- [28] - A. DIABATÉ, T. BALDET, F. CHANDRE, M. AKOGBETO, T. R. GUIGUEMDE, F. DARRIET, C. BRENGUES, P. GUILLET, J. HEMINGWAY, G. J. SMALL and J. M. HOUGARD, The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae* s.l. in Burkina Faso. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 67 (6) (2002) 617 - 622
- [29] - H. RANSON, L. PRAPANTHADARA and J. HEMINGWAY, Cloning and characterisation of two glutathione S-transferases from a DDT-resistant strain of *Anopheles gambiae*. *Biochem. J.*, 324 (1997) 97 - 102
- [30] - G. F. REIDY, H. A. ROSE, S. VISETSON and M. MURRAY, Increased glutathione S-transferases activity and glutathione content in an insecticide-resistant strain of *Tribolium castaneum* (Herbst.). *Pestic. Biochem. Phys.*, 36 (1990) 269 - 276
- [31] - L. LAGADIC, A. CUANY, J. B. BERGÉ and M. ECHAUBARD, Purification and partial characterization of glutathione S-transferases from insecticide resistant and lindane-induced susceptible *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae. *Insect. Biochem. Molec. Biol.*, 23 (1993) 467 - 474
- [32] - L. PRAPANTHADARA, J. HEMINGWAY and A. J. KETTERMAN, DDT-resistance in *Anopheles gambiae* Giles (Diptera : Culicidae) from Zanzibar, Tanzania, based on increased DDT-dehydrochlorinase activity of glutathione S-transferases. *B. Entomol. Res.*, 85 (1995) 267 - 274
- [33] - H. RANSON, F. H. COLLINS and J. HEMINGWAY, The role of alternative mRNA splicing in generating heterogeneity within the *Anopheles gambiae* class I Glutathione S-Transferase family. *P. Natl. Acad. Sci. USA.*, 95 (24) (1998) 14284 - 14289
- [34] - H. RANSON, L. ROSSITER, F. ORTELLI, B. JENSEN, X. WANG, C. W. ROTH, F. H. COLLINS and J. HEMINGWAY, Identification of a novel class of insect glutathione S-transferases involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochem. J.*, 359 (2001) 295 - 304