



anses

# Résistance des moustiques vecteurs aux insecticides

Avis de l'Anses  
Rapport d'expertise collective

Octobre 2021



CONNAÎTRE, ÉVALUER, PROTÉGER



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 15 octobre 2021

## AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif à la « proposition de lignes directrices pour la surveillance de la  
résistance des moustiques vecteurs de type *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* aux  
insecticides »**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

L'Anses a été saisie le 18 février 2020 par le Directeur général de la santé et le Directeur général de la prévention des risques pour la réalisation de l'expertise suivante : Proposition de lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs de type *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* aux insecticides.

### 1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Les moustiques des genres *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* peuvent véhiculer des agents pathogènes (par exemple virus ou parasites) responsables de certaines pathologies humaines ou animales pouvant être fortement invalidantes, voire mortelles.

Dans le contexte actuel de l'émergence ou de la réémergence de certaines maladies vectorielles, notamment en raison des changements climatiques et de la globalisation des échanges, la lutte antivectorielle (LAV), et notamment sa composante biocide, revêt un enjeu crucial. La LAV dans sa composante biocide est menée avec des insecticides, qui sont des

produits biocides TP18 dont la mise sur le marché est encadrée par le règlement européen (UE) 528/2012<sup>1</sup>.

Dans plusieurs régions françaises, en particulier dans les territoires ultra-marins, les moustiques vecteurs ont développé des mécanismes de résistance aux insecticides utilisés, ce qui peut rendre les opérations de traitements moins efficaces, pouvant aller jusqu'à remettre en cause les stratégies actuelles d'utilisation des insecticides. Les modalités de suivi et de gestion de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides sont aujourd'hui variables selon les territoires. C'est dans ce contexte que les dispositions du décret n°2019-258 du 29 mars 2019 relatif à la prévention des maladies vectorielles prévoient notamment l'élaboration d'un arrêté sur les modalités de suivi des résistances des espèces vectrices locales aux produits biocides utilisés en lutte antivectorielle (Art. R. 3114-14 du code de la santé publique).

A cet égard, dans le cadre du programme de travail 2020 établi entre les ministères de tutelles et l'Anses, la direction générale de la santé (DGS) et la direction générale de la prévention des risques (DGPR) ont mandaté l'Anses pour conduire une expertise en vue de proposer dans un premier temps des lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides (étape 1), et dans un second temps des recommandations pour la mise en place d'une stratégie de traitement par les produits biocides en contexte inter-épidémique et en contexte épidémique (étape 2). Dans les territoires où aucune résistance des moustiques vecteurs aux insecticides n'est connue, le suivi de la résistance devra porter sur les biocides utilisables en lutte antivectorielle (LAV) en France. Sur les territoires où des résistances sont connues, cette surveillance portera également sur les anciennes molécules utilisées et sur les produits biocides identifiés par l'Anses ne disposant pas d'autorisation dans l'Union européenne, mais utilisables dans le cadre d'une dérogation.

Le présent avis fait état des travaux réalisés dans le cadre de l'étape 1 de la saisine N°2020-SA-0029.

## **2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisés (CES) « Substances actives et produits biocides ». L'Anses a confié l'expertise au groupe de travail « Résistance des moustiques vecteurs aux insecticides » (GT RMVI), le groupe de travail s'est réuni au cours de 9 réunions entre le 02/10/2020 et le 06/07/2021.

Des auditions de quinze structures institutionnelles et opérateurs de LAV<sup>2</sup> (ex. agence régionale de santé - ARS, collectivités territoriales, Institut Pasteur, entente interdépartementale pour la démoustication – EID) en France hexagonale et dans les

---

<sup>1</sup> Règlement (UE) n° 528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides

<sup>2</sup> Organismes, publics ou privés, habilités pour mettre en œuvre des missions de lutte antivectorielle (surveillance et lutte contre les insectes vecteurs de maladies pour les humains).

territoires ultramarins ont été menées de janvier à mars 2021. La liste des organismes auditionnés est détaillée dans le rapport d'expertise accompagnant cet avis. Ces auditions ont permis aux experts du GT RMVI de prendre connaissance des modalités de suivi et de gestion de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides sur ces territoires afin de réaliser un état des lieux des actions menées dans le passé et/ou à l'heure actuelle au niveau national.

Les experts du groupe de travail ont réalisé un travail d'analyse du contenu de ces auditions. Ils en ont tiré les éléments d'information jugés importants, et les ont utilisés pour alimenter certaines parties du rapport. Cette restitution, qui appartient aux experts du groupe de travail, n'engage aucune des personnes auditionnées, bien qu'elle s'appuie évidemment sur les entretiens conduits avec eux.

Les travaux ont été présentés au CES « Substances actives et produits biocides », réuni le 24 juin 2021. Ceux-ci ont également été présentés au GT « vecteurs », réuni le 07 juin 2021 et le 07 juillet 2021, collectif d'experts pérenne de l'Anses sur les sujets ayant trait aux vecteurs. Les travaux ont été adoptés par le CES « Substances actives et produits biocides », réuni le 22 juillet 2021.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

### **3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES ET DU GT**

#### **3.1. Etat des connaissances sur la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides**

La connaissance des modes d'action des substances actives insecticides permet de comprendre les modalités d'efficacité du produit, de proposer et orienter le développement de nouvelles substances et formulations par une meilleure connaissance de la (des) cible(s), mais aussi : (i) d'utiliser des associations avec des substances actives de familles chimiques différentes pour obtenir des effets additifs ou synergiques, (ii) de mieux gérer les risques de résistance sélectionnée chez les insectes et, (iii) de limiter les effets indésirables sur les organismes non-cibles et sur l'environnement.

##### **3.1.1. Substances actives biocides utilisées en LAV et leur mode d'action**

La deltaméthrine et le *Bti* (*Bacillus thuringiensis subsp. israelensis*) sont actuellement les substances actives insecticides majoritairement utilisées en lutte antivectorielle en France ; la première en tant qu'adulticide, la seconde en tant que larvicide.

La deltaméthrine appartient à la famille des pyréthrinoïdes. C'est un insecticide à large spectre, qui agit par contact et par ingestion. Il perturbe le système nerveux des insectes en entraînant

un dysfonctionnement des canaux sodium, et bloque ainsi la transmission de l'influx nerveux. Les effets sont une paralysie (effet choc) et la mort des insectes.

Les *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* (Bti) sont des bactéries Gram positif qui, grâce à la production de toxines, détruisent la muqueuse intestinale des organismes cibles. Les lésions intestinales qui en découlent empêchent les larves de moustiques de s'alimenter et aboutissent à leur mort.

Cependant pour pallier les problèmes de résistance liés à l'utilisation prolongée d'une seule substance en LAV, d'autres biocides pourraient être potentiellement utilisés. Une liste de substances actives insecticides biocides (TP18) utilisables ou potentiellement utilisables en LAV est détaillée en section 2.1 du rapport.

### **3.1.2.Mécanismes de résistance aux insecticides chez les moustiques**

La résistance aux insecticides correspond à un événement d'origine génétique et héritable qui conduit à une diminution de la sensibilité des insectes à un insecticide donné. Tous les mécanismes qui empêchent ou modifient l'effet de l'insecticide au sein de l'organisme peuvent conduire au développement de résistances.

Il existe 4 grands types de résistances chez les arthropodes, et les moustiques en particulier :

- la détoxification enzymatique de l'insecticide (ou résistance métabolique), terme qui regroupe l'ensemble des mécanismes associés à une biodégradation accrue de l'insecticide en métabolites généralement moins toxiques et plus facilement excrétés ;
- les mutations ponctuelles (ou résistance par modification de la cible), qui diminuent l'affinité de la protéine cible pour l'insecticide ;
- la modification de la cuticule affectant la pénétration de l'insecticide (résistance cuticulaire). Ce mécanisme, à lui seul, n'occasionne en général que de faibles niveaux de résistance bien qu'il puisse, par définition, conférer une résistance croisée à un large spectre de molécules ;
- les changements comportementaux (ou résistance comportementale) ayant pour conséquence une survie accrue des vecteurs à l'insecticide. Les moustiques résistants auront donc tendance à éviter le contact avec un ou plusieurs insecticides (répulsion).

Bien que les bases physiologiques et moléculaires de ces mécanismes de résistance soient distinctes, leur cooccurrence peut entraîner des résistances multiples et/ou croisées à plusieurs familles d'insecticides.

### **3.1.3.Facteurs opérationnels, biologiques, génétiques et environnementaux influençant la dynamique de résistance**

L'analyse exhaustive des facteurs influençant la dynamique de la résistance reste difficile à réaliser en raison notamment de la complexité des interactions biotiques et abiotiques des

espèces de moustiques présentes. La dynamique des allèles de résistance dépend des changements qualitatifs mais aussi quantitatifs de l'utilisation des insecticides.

La plupart du temps, les allèles de résistance sont présents naturellement au sein des populations de vecteurs avant les traitements insecticides, à de très basses fréquences, ce qui les rend quasi indétectables. Les traitements insecticides vont éliminer les vecteurs qui ne sont pas porteurs d'allèles de résistance et la fréquence des allèles de résistance va alors augmenter progressivement avec le temps sans être à l'origine d'échec opérationnel jusqu'à un certain seuil, appelé « point de bascule » (ou « tipping point »). Lorsque ce seuil est atteint, la proportion des vecteurs résistants peut augmenter très rapidement et se traduire par des échecs plus ou moins importants du contrôle des vecteurs. Les allèles de résistance sont sélectionnés localement par les insecticides et peuvent ensuite être diffusés très rapidement dans les populations à l'échelle mondiale.

De plus, d'autres pressions de sélection peuvent affecter la dynamique des allèles de résistance, notamment leur maintien malgré l'arrêt des traitements biocides par le biais de l'utilisation des produits phytosanitaires basés sur les mêmes substances actives contre les ravageurs de cultures ou la présence de polluants (ex. hydrocarbures aromatiques polycycliques) due aux activités humaines.

### 3.1.4. Méthodes de détection de la résistance des moustiques

#### 3.1.4.1. Tests biologiques ou « bioessais »

Il existe plusieurs types de tests et méthodologies permettant de détecter et quantifier la résistance des moustiques aux insecticides. L'OMS fournit des recommandations pour mettre en œuvre, interpréter et valider ces bioessais afin d'évaluer et de suivre correctement la résistance aux insecticides dans les populations naturelles. Dans tous les cas, la validation des bioessais nécessite l'utilisation de souches sensibles de référence. Celles-ci permettent de contrôler l'efficacité de la substance active et d'estimer les **ratios de résistance (RR)**.

Il existe différents tests en fonction des stades de développement des moustiques. Les avantages et inconvénients des différentes méthodes biologiques pour la détection de la résistance sont précisés dans le Tableau 1 ci-dessous.

- Le **test larvaire** (ou « test en gobelets » OMS) a pour objectif d'évaluer la sensibilité/résistance des larves de moustiques d'une population donnée à un insecticide donné et de détecter de possibles résistances croisées entre différents insecticides. Ces tests se réalisent en exposant des larves de moustiques de stade L3 - L4 prélevées sur le terrain ou issues de femelles de moustiques gorgées récoltées sur le terrain et ramenées en insectarium, à un insecticide en solution pendant 24h<sup>3</sup> (sauf exception), soit à une dose diagnostique d'un insecticide donné, soit à une série de concentrations croissantes de ce

---

<sup>3</sup> Pour les régulateurs de croissance (IGR), qui agissent sur le développement larvaire ou inhibent la mue imaginale, le test se déroule sur plusieurs jours afin de pouvoir déterminer le taux d'inhibition de l'émergence des adultes.

même insecticide. La lecture de la mortalité est effectuée immédiatement après l'exposition. Ils permettent ensuite de mesurer la résistance d'une population par le calcul des Ratios de Résistance 50 (RR<sub>50</sub>) : rapport entre les Concentrations Létales 50<sup>4-5</sup> (CL<sub>50</sub>) de la population testée et de la souche sensible de référence. Ces tests larvaires peuvent également servir à étudier l'implication de certains mécanismes de résistance par l'utilisation combinée d'insecticides et de molécules synergistes<sup>6</sup> qui inhibent l'action des enzymes de détoxification (voir tests synergistes ci-dessous).

- Le **test adulte en tubes de l'OMS**<sup>7</sup> est le test biologique de référence pour la surveillance de la résistance chez les moustiques adultes. Il permet l'exposition pendant 1 heure des femelles adultes non gorgées à des molécules insecticides par contact, sur des papiers imprégnés d'un insecticide à une dose diagnostique (DD)<sup>8</sup> établie par l'OMS. La mortalité est ensuite mesurée 24 heures après l'exposition. Ce système simple, robuste et standardisé permet de définir le niveau de résistance d'une population (fréquence des individus résistants) en mesurant le taux de mortalité des moustiques à une dose diagnostique d'un insecticide.
- Le **test adulte en bouteilles des CDC**<sup>9</sup> est un test alternatif au test en tubes de l'OMS, développé par les CDC<sup>10</sup> pour mesurer les niveaux de résistance des moustiques adultes aux insecticides. Ce système repose sur l'utilisation de bouteilles en verre de taille et de volume standardisés, dont les surfaces internes sont imprégnées avec une solution d'insecticide à une dose diagnostique. Le principe consiste à y exposer des moustiques femelles non gorgées pendant un temps donné. La lecture de la mortalité (et de l'effet « knock-down ») s'effectue directement après l'exposition. Le test en bouteille CDC présente l'avantage d'être facilement utilisable sur le terrain. Cependant, cette méthode mesure essentiellement l'effet immédiat (ou effet « knock-down ») caractéristique des insecticides à mode d'action rapide tels que les pyréthriinoïdes (et ne reflète pas toujours la mortalité), tandis que le test adulte en tubes OMS permet de mesurer effectivement le taux de mortalité des moustiques après 24h d'observation. Par conséquent, les résultats des tests CDC et OMS ne sont pas directement comparables.

---

<sup>4</sup> Concentration létale 50 (ou Concentration létale médiane) : Concentration d'une substance toxique qui provoque la mort de 50% des individus exposés à ce produit. Cet indicateur permet de mesurer et comparer le niveau de sensibilité de populations de moustiques vis-à-vis d'une substance biocide.

<sup>5</sup> ou la concentration inhibant 50 % de l'émergence des adultes (IE<sub>50</sub>) dans le cas des régulateurs de croissance.

<sup>6</sup> Composés chimiques utilisés à des concentrations non létales pour inhiber le système enzymatique impliqué dans la détoxification des insecticides.

<sup>7</sup> WHO (2016). Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes, 2nd ed. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/250677>

<sup>8</sup> Dose d'un insecticide utilisée pour discriminer les phénotypes sensibles et résistants dans un échantillon de population de moustiques. Elle est généralement estimée en multipliant par 2 la Concentration Létale 99, sur des souches de moustiques de référence sensibles.

<sup>9</sup> CDC. (2010). Guideline for evaluating insecticide resistance in arthropod vectors using the CDC bottle bioassay. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. [http://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/fsp/ir\\_manual/ir\\_cdc\\_bioassay\\_en.pdf](http://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/fsp/ir_manual/ir_cdc_bioassay_en.pdf)

<sup>10</sup> *Centers for Disease Control and Prevention*: principale agence fédérale des États-Unis en matière de protection de la santé publique.



- Le **test adulte en bouteilles selon la méthode de l'OMS** est une adaptation du test en bouteilles CDC qui permet de mesurer un taux de mortalité des moustiques après 24h. Il permet d'estimer les niveaux de résistance des moustiques à de nouveaux insecticides, ayant des propriétés physico-chimiques particulières, pour lesquels le test en tube n'est pas adapté<sup>11</sup>.
- L'**application topique** a pour objectif de déterminer l'activité d'une molécule insecticide en appliquant directement sur le thorax de moustiques femelles adultes non gorgées des doses croissantes d'insecticide. A l'issue de 24h d'observation, le nombre de femelles mortes est décompté et les concentrations létales 50 et 95% sont estimées. Cette technique permet d'éliminer les effets confondants dus au comportement du moustique et ainsi d'obtenir une mesure directe de l'efficacité d'un insecticide agissant par contact. Ce test permet aussi de mesurer les niveaux de résistance en comparant les résultats des CL<sub>50</sub> et CL<sub>95</sub> obtenus avec ceux de la souche sensible de référence.
- Le recours aux **tests synergistes**<sup>12</sup> peut être utile lorsqu'une résistance à un insecticide est détectée dans une population de moustiques. Ils permettent d'évaluer l'implication des enzymes de détoxification sur le phénotype de résistance. La procédure d'utilisation des molécules synergistes est bien décrite pour les tests adultes en tubes, les tests adultes en bouteilles et les tests larvaires. Chez les larves, le test s'effectue en mesurant la mortalité de la population cible à une exposition simultanée à l'insecticide et au synergiste (généralement pendant 24h). Chez les adultes, le test s'effectue en mesurant la mortalité de la population cible à une dose diagnostique d'un insecticide après une préexposition de 1 heure au synergiste.

---

<sup>11</sup> Certains insecticides (ex. flupyradifurone, imidaclopride, clothianidine) récemment développés par l'industrie « cristallisent » lorsqu'ils sont imprégnés sur des papiers Whatman (réduisant ainsi leur biodisponibilité) ce qui ne permet pas leur évaluation par la méthode du test en tubes.

<sup>12</sup> Tests décrits précédemment, associant les synergistes aux insecticides

**Tableau 1. Avantages et inconvénients des différentes méthodes biologiques pour la détection de la résistance.**

<b>Méthode biologique</b>	<b>Indicateurs /mesures</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
Test larvaire (test en gobelets OMS)	Test avec une dose diagnostique	Standardisé, simple Détection du phénotype de résistance Nécessite peu d'individus	Peu sensible Peu de doses diagnostiques disponibles Pas d'information sur le niveau ou le type de résistance
	Dose - réponse	Mesure les niveaux de résistance Méthode simple et robuste	Requiert un grand nombre de larves par population Méthode chronophage (tests sur régulateurs de croissance (IGR))
Test adulte en tubes OMS	Test avec une dose diagnostique	Standardisé, simple Détection du phénotype de résistance Nécessite peu d'individus	Peu sensible Pas d'information sur le niveau ou le type de résistance
	Dose - réponse	Mesure les niveaux de résistance Méthode robuste	Requiert un grand nombre de femelles par population Méthode chronophage
Test adulte en bouteilles CDC	Test avec une dose diagnostique	Standardisé Simple et rapide Nécessite peu d'individus	Mesure essentiellement l'effet immédiat (« knock-down ») et non pas la mortalité Doses et temps discriminants disponibles pour un nombre limité d'insecticides Technicité particulière
	Dose - réponse	Mesure les niveaux de résistance	Requiert un grand nombre de femelles par population
Test adulte en bouteilles OMS	Test avec une dose diagnostique	Standardisé Détection du phénotype de résistance pour les insecticides ne pouvant pas être imprégnés sur papiers filtres Nécessite peu d'individus	Peu sensible Pas d'information sur le niveau ou le type de résistance Technicité particulière
Application topique	Dose - réponse	Mesure l'activité intrinsèque d'un insecticide Mesure les niveaux de résistance sans effet confondant lié au comportement du moustique	Nombre de moustiques important, matériel spécifique, technicité particulière Difficilement applicable en routine pour la surveillance Chronophage
Tests synergistes (test larvaire, tests adultes en tubes et en bouteilles)	Test avec une dose diagnostique ou dose - réponse	Donne des indications sur les mécanismes de résistance	Sensibilité et spécificité limitées des synergistes Requiert un grand nombre de moustiques par population Technicité particulière

3.1.4.2. Méthodes moléculaires, biochimiques et physiologiques de détection de la résistance

Bien que les tests biologiques constituent le moyen le plus utilisé pour évaluer et suivre la dynamique de la résistance des moustiques aux insecticides, l'utilisation d'approches biochimiques, moléculaires et physiologiques peuvent permettre de mieux appréhender les mécanismes impliqués, mais aussi de détecter l'émergence de la résistance de manière précoce (c.-à-d. lorsqu'elle n'est pas encore détectable par des bioessais).

Les méthodes biochimiques sont en général utilisées pour mieux caractériser les mécanismes impliqués lorsque la résistance est détectée par des bioessais. Ces méthodes visent principalement à détecter une augmentation de l'activité des enzymes potentiellement impliquées dans la résistance métabolique. Cependant, le manque de spécificité<sup>13</sup> ainsi que les contraintes expérimentales associées à ces tests (nombreux réactifs et lecteur microplaque nécessaires, compétences requises en biochimie) contribuent à une diminution de leur utilisation au profit des marqueurs moléculaires qui sont souvent plus spécifiques et montrent une meilleure sensibilité.

L'étude des bases génétiques (méthodes de biologie moléculaire) de la résistance aux insecticides a permis d'identifier des marqueurs de résistance aux différents insecticides chez les moustiques. Leur utilisation conjointe avec des bioessais représente une réelle valeur ajoutée pour traquer la résistance et identifier les mécanismes impliqués à l'échelle des territoires. Leur utilisation en routine nécessite des compétences en biologie moléculaire et des équipements spécifiques qui requièrent la contribution des laboratoires de recherche car ces compétences et ces équipements ne sont généralement pas disponibles chez les opérateurs de LAV.

Les essais physiologiques *in vitro* (ex. la méthode des neurones isolés de moustiques) représentent une approche complémentaire pour étudier les mécanismes de résistances développés par les moustiques mais aussi pour étudier leur impact sur l'efficacité des insecticides. Même si ces tests *in vitro* se prêtent difficilement à une mise œuvre opérationnelle, ils permettent néanmoins d'obtenir une meilleure compréhension de la résistance et des mécanismes physiologiques liés à la compensation des coûts génétiques qui sont associés à la résistance.

## 3.2. Etat des lieux de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides

### 3.2.1. Territoire métropolitain

Le territoire métropolitain compte 65 espèces de moustiques dont les principaux vecteurs potentiels et effectifs sont *Anopheles maculipennis*, *An. labranchiae*, *Culex pipiens*, *Cx. modestus* et *Aedes albopictus* (moustique tigre).

---

<sup>13</sup> A l'exception de de l'acétylcholinestérase, pour laquelle le test biochimique est spécifique, les autres tests manquent toutefois de spécificité dans la mesure où l'activité enzymatique globale mesurée correspond souvent à plusieurs dizaines d'enzymes dont seulement quelques membres sont impliqués dans la résistance.

Le *Bti* est le larvicide utilisé de manière quasi exclusive depuis 2008, et lorsqu'un cas d'arbovirose est détecté, la deltaméthrine, est en très grande majorité l'adulticide utilisé.

Jusqu'en 2019, en France hexagonale et en Corse, les traitements LAV étaient mis en œuvre par les opérateurs publics (ex. EID et Conseils départementaux). Ces derniers ont également participé à la surveillance et à la lutte contre l'introduction et la dissémination du « moustique tigre » depuis 1998, dans le cadre d'une convention avec la Direction Générale de la Santé (DGS). A ce titre, l'EID Méditerranée assurait la coordination de cette surveillance et notamment celle du suivi de la résistance chez *Aedes albopictus*.

Depuis 2020, la compétence de la LAV est exercée par les ARS, qui en ont confié la mise en œuvre à des opérateurs publics et privés dans le cadre de marchés publics (cf. Décret n°2019-258 du 29 mars 2019 relatif à la prévention des maladies vectorielles).

#### 3.2.1.1. Niveaux de résistance

##### ***Culex pipiens***

Les espèces du genre *Culex* n'ont jamais fait l'objet d'une surveillance de la résistance par les opérateurs de démoustication. Des données de résistance sont cependant disponibles dans la littérature scientifique notamment en termes de dynamique des mécanismes de résistance.

Entre les années 1970 et 1990, *Cx. pipiens* a acquis plusieurs mécanismes de résistance à une grande variété d'insecticides (DDT, pyréthrinoïdes, carbamates, organophosphorés, toxines de *Lysinibacillus sphaericus*, etc.).

##### ***Aedes albopictus***

Suite à l'intensification des opérations de LAV à base de deltaméthrine et de *Bti* contre ce vecteur, un suivi de la résistance a été effectué sur des populations sentinelles échantillonnées entre 2016 et 2019 dans différents départements : Hérault, Gironde, Drôme-Rhône, Bas-Rhin, Corse et Var. Des bioessais ont été effectués avec le *Bti* sur des larves et avec la deltaméthrine sur des adultes issus d'œufs récoltés sur le terrain à l'aide de pièges pondoires. Ce suivi suggère que les populations d'*Ae. albopictus* de la métropole restent sensibles au *Bti* et à la deltaméthrine sur l'ensemble du territoire, bien qu'une légère augmentation des RR<sub>50</sub> soit observée pour la deltaméthrine.

Un suivi de résistance est actuellement en cours en France hexagonale dans le cadre d'un programme de recherche<sup>14</sup>.

En Corse, bien que le suivi opérationnel ait démontré une baisse de l'efficacité des traitements, indiquant une baisse possible de la sensibilité des moustiques ciblés, tous les tests réalisés entre 2010 et 2019 ont confirmé la sensibilité d'*Ae. albopictus* à l'état larvaire au *Bti*, et au stade adulte à la deltaméthrine.

---

<sup>14</sup> Projet de recherche TigRisk2 coordonné par le CNRS LECA Grenoble en partenariat avec l'ARS La Réunion, L'institut Pasteur du Laos, l'ISEM de Montpellier et des opérateurs de la métropole (EID-RA et EID-Med).

### 3.2.1.2. Plan et bilan du dispositif de surveillance

Il n'existe pas de plan de gestion de la résistance aux insecticides chez les moustiques en France hexagonale et en Corse pas de surveillance systématique, pas de stratégie organisée sur l'utilisation des produits pour limiter l'apparition...).

## 3.2.2. Territoires ultramarins

### 3.2.2.1. Martinique

Parmi les 24 espèces de moustiques présentes sur l'île, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. taeniorhynchus* exercent principalement une nuisance liée à leurs piqûres. Et bien que les espèces *An. aquasalis* et *An. albimanus* soient présentes en Martinique, aucun cas de paludisme autochtone n'a été enregistré depuis la fin des années 1960. La dengue est la principale arbovirose endémo-épidémique transmise par l'unique vecteur présent sur l'île, à savoir *Ae. aegypti*. *Aedes albopictus* n'est pas présent en Martinique.

La LAV est mise en œuvre par le Centre de démoustication et de recherches entomologiques Lutte antivectorielle (CEDRE-LAV), structure « mixte » constituée d'agents de l'ARS de la Martinique et de la Collectivité Territoriale de Martinique (CTM).

La lutte biocide est axée sur une utilisation rationnelle d'insecticides chimiques et/ou d'agents biologiques. Le contrôle anti-larvaire est prioritaire. Pendant plus de 30 ans le téméphos a été utilisé sur l'île, remplacé depuis 2010 par le *Bti* qui est désormais le seul larvicide utilisé en LAV.

Pour les traitements adulticides, le DDT et le lindane ont été utilisés dans les années 1950, puis remplacés par le malathion et le fénitrothion qui ont également été abandonnés à partir des années 1970. Depuis le milieu des années 1990, la deltaméthrine est désormais la seule substance active utilisée pour les pulvérisations spatiales et les traitements intra-domiciliaires.

#### 3.2.2.1.1. Niveaux de résistance

Depuis le début des années 1990, la surveillance de la résistance aux insecticides des moustiques d'intérêt est effectuée par le CEDRE-LAV, avec l'appui des laboratoires de l'IRD et de l'Institut Pasteur Paris. Ce suivi est réalisé avec des tests adultes en tubes OMS sur des femelles d'*Ae. aegypti* et de *Cx. quinquefasciatus*. Des applications topiques d'insecticides sont également réalisées de manière occasionnelle dans le cadre de programmes de recherche. La surveillance de la résistance au stade larvaire se fait par le « test en gobelets » OMS. Aucune surveillance régulière n'est faite sur les anophèles à cause de la difficulté de maintenir en élevage des populations sauvages d'*An. aquasalis*.

### ***Aedes aegypti***

Les dernières données de résistance publiées en 2012 (9 populations) ont montré une résistance significative des moustiques à la deltaméthrine avec des ratios de résistance 50 (RR<sub>50</sub>) allant de 3,7 à 6,7.

Les ratios de résistance calculés à partir des tests larvaires démontrent également une forte résistance des larves d'*Ae. aegypti* au téméphos en 2011 avec des  $RR_{50}$  allant de 12 à 36. Les populations ne présentaient pas de résistance au *Bti* ( $1 < RR_{50} < 2,2$ ). Cependant, des travaux complémentaires de séquençage à haut débit ont montré que 6 des 9 populations testées possédaient des mutations non synonymes situées dans des loci potentiellement associés à la résistance au *Bti*.

### ***Culex quinquefasciatus***

La résistance des populations de *Cx. quinquefasciatus*, possible vecteur du virus West Nile, a été mesurée en 1999 dans 23 sites pour le téméphos, le propoxur, le chlorpyrifos-éthyl et la perméthrine. Ainsi, de fortes résistances ont été enregistrées pour le téméphos ( $8,1 < RR_{50} < 42,1$ ) et pour le chlorpyrifos-éthyl ( $8,6 < RR_{50} < 122,9$ ). Toutes les populations collectées étaient également résistantes au propoxur. Enfin, toutes les populations échantillonnées étaient résistantes à la perméthrine avec des  $RR_{50}$  variant de 9,7 à 2800.

#### 3.2.2.1.2. Plan et bilan du dispositif de surveillance

La surveillance de la résistance aux insecticides est effectuée par le CEDRE-LAV qui entretient des échanges ponctuels avec les territoires de la Guadeloupe, la Guyane, Saint-Martin et Saint-Barthélemy. Depuis 1999, une coopération internationale avec les autres pays des Caraïbes est financée par le fonds de coopération régional (FCR).

Bien qu'une surveillance active de la résistance soit effectuée en routine, il n'y a pas de plan de gestion de la résistance au niveau de la Martinique. Le CEDRE-LAV promeut un usage raisonné de la deltaméthrine et mène une lutte intégrée s'appuyant sur différentes méthodes alternatives : lutte mécanique par élimination des gîtes larvaires, aspiration des moustiques adultes, utilisation de poissons larvivores, pose de pièges, utilisation de produits répulsifs, etc. Selon le CEDRE-LAV, les moyens techniques (laboratoire et insectarium) et humains alloués à l'action de suivi de la résistance sont satisfaisants. Le laboratoire est fonctionnel et les protocoles de tests OMS (test larvaire, test adulte en tubes et application topique) sont maîtrisés. Les agents en laboratoire sont volontaires pour acquérir de nouvelles compétences (ex. test adulte en bouteilles).

#### 3.2.2.2. Guadeloupe

L'ARS de Guadeloupe (notamment le service Santé et Sécurité de l'Environnement Domiciliaire) est en charge de la LAV, de la surveillance et du suivi de la résistance des moustiques aux insecticides. Ce service peut faire appel à l'Institut Pasteur de Guadeloupe pour réaliser des actions de détection et de suivi de la résistance.

*Aedes albopictus* n'est pas présent en Guadeloupe. *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti* sont les plus retrouvés en milieu urbain. Ces deux espèces peuvent partager des niches ; il existe beaucoup de gîtes mixtes en environnement urbain. La LAV en Guadeloupe cible seulement *Ae. aegypti*. La surveillance de la résistance aux insecticides dans les populations adultes

d'*Ae. aegypti* et de *Cx. quinquefasciatus* est réalisée de manière ponctuelle. Plusieurs travaux ont été menés entre 1999 et 2017, notamment les travaux de Rosine *et al.* en 1999, mettant en avant la forte résistance de ces 2 espèces aux pyréthriinoïdes et organophosphorés. Ces données ont été obtenues par l'exposition des moustiques femelles adultes à des papiers imprégnés par le biais de dose-réponse et le calcul des ratios de résistance ( $RR_{50}$ ). La surveillance de la résistance chez les larves se fait par le « test en gobelets » OMS, soit à une dose diagnostique unique soit par dose-réponse.

Aucune surveillance n'est faite sur les anophèles. Bien que les espèces *An. albimanus* et *An. aquasalis* soient présentes sur l'archipel, aucun cas de paludisme autochtone n'a été enregistré depuis la fin des années 1960. Par ailleurs, des essais de terrain avec exposition de moustiques en cage visant à évaluer l'efficacité des pulvérisations sont effectués régulièrement.

#### 3.2.2.2.1. Niveaux de résistance

##### ***Aedes aegypti***

Les dernières données de résistance publiées en 2017 pour les îles de la Guadeloupe et de Saint-Martin ont montré une résistance significative des moustiques femelles adultes à la deltaméthrine ( $RR_{50}$  allant de 8 à 28 pour 6 populations échantillonnées). Les ratios de résistance calculés à partir des tests larvaires démontrent également une résistance des larves au téméphos ( $8,9 < RR_{50} < 33,1$ ) et une baisse de sensibilité au malathion ( $1,7 < RR_{50} < 4,4$ ).

Il est à noter qu'un projet de recherche récent a permis de montrer aussi une résistance à la transfluthrine (pyréthriinoïde) (communication personnelle<sup>15</sup>).

##### ***Culex quinquefasciatus***

La résistance des populations de *Cx. quinquefasciatus* sur l'île de la Guadeloupe a été mesurée en 2016 dans trois sites pour le malathion (larves), le téméphos (larves) et la deltaméthrine (adultes). Des résistances à la deltaméthrine ( $20 < RR_{50} < 29$ ) et au malathion ( $5 < RR_{50} < 10$ ) ont été détectées. Pour le téméphos, le  $RR_{50}$  se situe entre 1 et 2.

#### 3.2.2.2.2. Plan et bilan du dispositif de surveillance

La Guadeloupe ne possède pas de plan de surveillance en routine de la résistance. Les opérations de détection et de suivi de la résistance sont ponctuelles comme en témoignent la bibliographie et les auditions des organismes impliqués. En effet, l'ARS de Guadeloupe en charge de la lutte ne réalise pas les tests biologiques et moléculaires. L'Institut Pasteur de la Guadeloupe, par convention, est en charge des tests biologiques et de la caractérisation moléculaire de la résistance. Il est cependant à noter que le recours à des pulvérisations de

---

<sup>15</sup> Dr. Vega-Rua, Institut Pasteur de la Guadeloupe, communication personnelle.

deltaméthrine reste très limité depuis la mise en évidence de la résistance à celle-ci. La lutte larvaire à l'aide du *Bti* est aujourd'hui principalement utilisée.

### 3.2.2.3. Guyane

L'espèce d'intérêt est *Ae. aegypti*, principal vecteur d'arboviroses sur ce territoire. *Cx. quinquefasciatus* et *Anopheles darlingi* (vecteur de paludisme) font l'objet d'un suivi de façon plus ponctuelle, ainsi que *Cx. coronator* et *Cx. corniger*.

La surveillance de la résistance aux insecticides dans les populations adultes d'*Ae. aegypti* et de *Cx. quinquefasciatus* est menée en Guyane par l'exposition des moustiques femelles adultes à des papiers imprégnés à une dose diagnostique (tests adulte en tubes de l'OMS). Ces tests standardisés sont effectués soit par l'Institut Pasteur de la Guyane (IPG), soit par les Services de la Direction de la Démoustication (SDD) de la Collectivité Territoriale de Guyane. Les adultes d'*An. darlingi* sont quant à eux exposés à des doses diagnostiques lors des tests adultes en bouteilles normalisés par le CDC. La surveillance de la résistance chez les larves se fait par le « test en gobelets » OMS, soit à une dose diagnostique unique soit par dose-réponse.

La surveillance de la résistance bien que réalisée annuellement n'est pas toujours effectuée sur les mêmes sites/populations. Des données historiques sont disponibles mais les doses diagnostiques pour moustiques adultes ont varié au cours du temps.

En ce qui concerne la surveillance de la résistance aux larvicides, l'approche dose-réponse n'a été que peu utilisée. L'utilisation de doses diagnostiques définies localement ou de doses opérationnelles a été privilégiée.

Entre 2007 et 2017, le SDD réalisait la surveillance de la résistance au niveau larvaire pour les espèces *Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus* alors que l'IPG réalisait la surveillance de la résistance chez les adultes. Depuis 2017, les tests biologiques sur *Ae. aegypti* sont entièrement réalisés au SDD alors que l'IPG a la charge d'effectuer à la demande des tests biologiques sur les populations anophéliennes. L'ensemble de ces tests fait partie de travaux effectués dans le cadre de conventions bipartites entre l'ARS et les organismes suscités. Des résultats ont également été obtenus dans le cadre d'essais ou de projets de recherche. Enfin, des essais d'efficacité de pulvérisations de deltaméthrine et de fénitrothion réalisées dans le cadre de la LAV ont été réalisés de manière ponctuelle.

#### 3.2.2.3.1. Niveaux de résistance

##### ***Aedes aegypti***

Cette espèce se distribue sur le littoral et le long du fleuve Maroni jusqu'à Maripasoula.

La résistance à la deltaméthrine est connue chez les populations locales d'*Ae. aegypti* depuis les années 2000 et atteint des niveaux très élevés sur le territoire guyanais. Des données de bioessais par dose-réponse à la deltaméthrine montrent un  $RR_{50}$  supérieur à 700.



Des tests réalisés avec l'alpha-cyperméthrine révèlent également la présence d'une résistance à ce pyréthriinoïde avec une mortalité variant de 0 à 5 % sur le territoire.

En 2016, la résistance au bendiocarbe et au propoxur (carbamates) a été mise en évidence. Alors que la mortalité enregistrée pour le bendiocarbe était entre 91 % et 96 % laissant apparaître un début de résistance, celle au propoxur variait entre 13 % et 76 % selon les sites soulignant une résistance avérée à cette molécule.

La résistance au fénitrothion (organophosphoré) a été enregistrée sur le territoire à l'exception de Maripasoula. En 2016, les mortalités lors de tests en tube OMS à la dose diagnostique variaient de 45 à 100 % selon les sites. De même, la résistance au malathion (organophosphoré) a été également mise en évidence.

La caractérisation des mécanismes de résistance chez cette espèce a permis de mettre en évidence une forte prévalence de mutations de cible (e.g. mutations *kdr* conférant une résistance aux pyréthriinoïdes) associée à la surproduction d'enzymes de détoxification (résistance métabolique).

En 2013, aucune perte de sensibilité n'a été enregistrée pour le *Bti*.

Une série de tests d'évaluation de la résistance au téméphos effectuée en 2006/2007, a montré une résistance à cette molécule aujourd'hui non autorisée. Cependant, des tests effectués en 2012 par le service de démoustication de la Collectivité Territoriale de Guyane indiquent un retour de la sensibilité des populations locales d'*Ae. aegypti* à cet insecticide.

### ***Culex quinquefasciatus***

En 2016, cette espèce était résistante à la deltaméthrine avec des taux de mortalité entre 1 et 9 %. Ces tests ont été réalisés lors de l'épidémie de Zika pour laquelle cette espèce a été suspectée d'être vectrice.

### ***Anopheles darlingi***

Cette espèce a fait l'objet d'une surveillance régulière depuis 2014 (Saint-Georges-de-l'Oyapock et Macouria) à l'aide du test adulte en bouteilles CDC. Des mortalités entre 83 % et 100 % enregistrées à Blondin entre 2014 et 2016, en zone de transmission du paludisme, ont laissé entrevoir un début de résistance à la deltaméthrine, à la perméthrine et à l'alpha-cyperméthrine aux doses diagnostiques OMS. Cependant, cette baisse de la sensibilité n'a pas été retrouvée en 2018.

L'unique test effectué avec le malathion à la dose diagnostique de l'OMS a montré que les populations locales d'*An. darlingi* demeurait sensible à cette molécule. L'étude des séquences du canal sodium n'a pas permis de mettre en évidence de mutations *kdr* permettant de suspecter d'autres types de mécanismes (ex. métaboliques).

L'évaluation de la résistance à la deltaméthrine, à la perméthrine et à l'alpha-cyperméthrine chez *An. darlingi* à Trois-palétuviers (Saint-Georges-de-l'Oyapock) en 2017 et 2018, n'a pas permis de détecter une perte de sensibilité.

#### 3.2.2.3.2. Plan et bilan du dispositif de surveillance

La surveillance de la résistance des moustiques vecteurs fait partie du contrat annuel entre l'ARS et l'IPG. Le choix des sites d'échantillonnage est effectué par l'IPG. En ce qui concerne *Ae. aegypti*, les villes importantes sont incluses annuellement ou tous les 2 ans. Des sites moins peuplés ont également été investigués pour évaluer la répartition spatiale de la résistance de cette espèce aux insecticides. Un total de 4 sites par an a été investigué depuis 2010.

Depuis 2017, ces tests sont effectués par le laboratoire d'entomologie de la Collectivité Territoriale de Guyane en ce qui concerne *Ae. aegypti*. La surveillance des deux vecteurs majeurs (*Ae. aegypti* et *An. darlingi*) a pu être menée de manière régulière ces dernières années.

#### 3.2.2.4. Mayotte

Le paludisme, presque exclusivement à *Plasmodium falciparum*, est endémique dans l'île. En 2017, 19 cas de paludisme ont été identifiés à Mayotte dont six cas autochtones. Huit espèces d'anophèles ont été observées sur l'île, dont quatre sont considérées comme des vecteurs du parasite responsable de la maladie : *An. gambiae* s.s. trouvé en permanence sur toute l'île, *An. funestus* actuellement localisé dans le nord de l'île (Bandraboua), *An. mascarensis* et *An. merus* peu documentées et semblant jouer un rôle mineur dans la transmission.

*An. gambiae* s.s., *An. funestus* et *An. arabiensis* peuvent également transmettre la filariose lymphatique à *Wuchereria bancrofti* mais, c'est *Cx. quinquefasciatus* qui en assure essentiellement la transmission dans les zones urbaines.

*Cx. quinquefasciatus* présente une compétence vectorielle modérée pour la fièvre de la vallée du Rift, maladie qui a sévi récemment à Mayotte. Sur les 47 espèces de moustiques présentes à Mayotte, 12 autres espèces sont considérées comme des vecteurs ou vecteurs potentiels de la fièvre de la vallée du Rift. Parmi celles-ci, *Ae. aegypti* qui est le vecteur principal de la dengue, et *Ae. albopictus*, signalé pour la première fois à Mayotte en 2001, qui est celui du Chikungunya.

Le service de LAV a été créé en 2002 et dépend de l'ARS Mayotte. Depuis les années 1950, Mayotte a fait l'objet de nombreux traitements adulticides et larvicides. A partir de 1954, des pulvérisations intra-domiciliaires de dieldrine ont été réalisées. En 1973, des pulvérisations expérimentales de DDT-fénitrothion sont faites alors que le téméphos est testé comme larvicide à Sada et Chiconi puis utilisé régulièrement par la suite sur toute l'île jusqu'à son retrait et son remplacement par *le Bti*. A partir de 1976, des pulvérisations alternées de DDT-malathion sont faites. Chaque maison était traitée trois fois par an au malathion et une fois par an au DDT. En 1984, le malathion est remplacé par le fénitrothion du fait d'un début de résistance chez *Cx. quinquefasciatus*. Des essais avec la deltaméthrine sont aussi réalisés en 1984 et son emploi se généralise rapidement. Entre 2007 et 2009, des aspersion intra-domiciliaires sont réalisées dans chaque maison. Les premiers essais de moustiquaires imprégnées aux pyréthriinoïdes datent de 1996. Une distribution systématique a été faite de 2012 à 2016. En 2017, suite à une reprise de transmission autochtone du paludisme dans un

village de gratte<sup>16</sup>, situé dans la brousse entre Koungou et Bandraboua, une distribution ciblée de moustiquaires a été faite. Mayotte étant rentré en phase d'élimination du paludisme, cette distribution continue avec des traitements intra-domiciliaires.

Outre la lutte chimique, l'emploi de poissons larvivores (*Poecilia reticulata*) a été fortement développé. Enfin, des actions de sensibilisation de la population sont organisées via des spots télévisés et aussi par l'intermédiaire des imams.

#### 3.2.2.4.1. Niveaux de résistance

Des larves d'*Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *An. gambiae* et *Cx. quinquefasciatus* ont été prélevées entre 2010 et 2011 afin de déterminer leurs niveaux de résistance au téméphos, *Bti*, spinosad, diflubenzuron, pyriproxifène et méthoprène. Des tests en tubes OMS, pour les six substances actives précédemment citées et la deltaméthrine, sur les adultes de ces mêmes espèces de moustiques ont été également réalisés.

Parmi les quatre espèces de moustiques étudiées, *Cx. quinquefasciatus* présente les plus hauts niveaux de résistance aux insecticides. Cette espèce s'avère résistante au téméphos et à la deltaméthrine mais pas aux autres insecticides testés. Une mortalité de 10 % a été trouvée pour les femelles adultes à la dose diagnostique de la deltaméthrine après 24h d'exposition alors que 99 %, 100 % et 97 % de mortalité ont été trouvées pour respectivement *An. gambiae*, *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*.

Les mécanismes impliqués (ex. modifications de cible, surexpression de certaines estérases) dans les résistances chez *Cx. quinquefasciatus* ont été identifiés par Pocquet *et al.* (2013). Des mécanismes de résistance à d'autres familles d'insecticides ont également été détectés chez *Cx. quinquefasciatus* à Mayotte.

#### 3.2.2.4.2. Plan et bilan du dispositif de surveillance

Depuis 2013, aucun travail de suivi de résistance n'a été réalisé. Trois agents de l'ARS Mayotte ont été formés par l'IRD il y a deux ans, mais il existe des freins d'ordre pratique (assainissement, gestion des déchets, accessibilité des sites à traiter, *etc.*) pour assurer la mise en place d'un dispositif de suivi pérenne.

#### 3.2.2.5. La Réunion

Parmi les 12 espèces de moustiques décrites sur l'île, *Ae. albopictus* et *Cx. quinquefasciatus* sont les plus abondantes et se rencontrent couramment dans les zones urbaines, périurbaines et rurales .

Seules deux populations isolées d'*Ae. aegypti* subsistent aujourd'hui dans des ravines sur les communes de Saint-Joseph et de Trois Bassins. Du point de vue épidémiologique, la dengue sévit de manière quasi-endémique depuis plusieurs années. D'autres épidémies d'arboviroses

---

<sup>16</sup> Village forestier temporaire

telles que le Chikungunya ont déjà frappé la région notamment à La Réunion (2005-2006) et peuvent à tout moment émerger ou ré-émerger de par la présence d'*Ae. albopictus*.

A La Réunion, les traitements de LAV ont été principalement basés sur l'utilisation du téméphos (anti-larvaire) jusqu'en 2006. Depuis, la LAV repose essentiellement sur l'utilisation de la deltaméthrine comme adulticide et du *Bti* comme larvicide. Il est à noter qu'entre 2005 et 2019, la LAV a connu des périodes de forte activité.

#### 3.2.2.5.1. Niveaux de résistance

##### ***Culex quinquefasciatus***

Une étude menée en 2008 a révélé la présence de résistance aux organophosphorés, aux pyréthriinoïdes et aux organochlorés. Cette étude a également mis en évidence la présence d'allèles de résistance métabolique de type « oxydases » aux pyréthriinoïdes dans les populations testées. Des travaux sur des populations collectées en 2008, 2011 et 2012 ont aussi rapporté la présence d'allèles de résistance aux organophosphorés et aux organochlorés avec des variations parfois importantes de fréquence selon les populations.

##### ***Aedes albopictus***

Des travaux de recherche ont montré une résistance modérée à la deltaméthrine ( $RR_{50} = 8$ ) sur des populations collectées en 1999. La sensibilité des populations d'*Ae. albopictus* de La Réunion vis-à-vis de divers insecticides (*Bti*, téméphos et deltaméthrine) a également été évaluée en 2010<sup>17</sup>. Les résultats obtenus à l'époque suggéraient une sensibilité des populations testées pour ces trois insecticides. Des travaux sur des populations collectées en 2008, 2011 et 2012 rapportaient aussi de faibles fréquences de la résistance aux organochlorés.

A partir de 2013, un suivi régulier de la résistance des populations d'*Ae. albopictus* aux pyréthriinoïdes a été effectué par l'ARS de La Réunion sur différentes populations réparties sur l'ensemble de l'île. Selon les données rapportées par l'ARS, cette surveillance montre clairement que la résistance à la deltaméthrine a connu une augmentation rapide durant la dernière décennie. Ainsi, dès 2017 des taux de survie élevés à la dose diagnostique de la deltaméthrine ont été observés pour la plupart des populations testées<sup>18</sup>, ce qui a été ensuite confirmé en 2018, 2019 et 2020<sup>19</sup>. Des tests opérationnels par nébulisation à froid d'un produit à base de deltaméthrine ont aussi confirmé cette résistance, y compris dans des sites ayant été peu ciblés par les traitements adulticides (données ARS La Réunion).

Un suivi de la résistance d'*Ae. albopictus* au *Bti* a aussi été effectué par des bioessais larvaires jusqu'en 2019 montrant que les populations de La Réunion demeuraient sensibles à cette substance active (données ARS La Réunion). Depuis 2020, cette surveillance repose

<sup>17</sup> Tiré d'un rapport du CNEV de 2014. [https://www.anses.fr/fr/system/files/CNEV-Ft-Fev2014-Rapport\\_Utilisation\\_insecticides\\_gestion\\_resistance.pdf](https://www.anses.fr/fr/system/files/CNEV-Ft-Fev2014-Rapport_Utilisation_insecticides_gestion_resistance.pdf)

<sup>18</sup> Données ANSES, Saisine n° 2018-SA-0136

<sup>19</sup> Projet TigRisk2 coordonné par le CNRS LECA Grenoble en partenariat avec l'ARS La Réunion, L'institut Pasteur du Laos, l'ISEM de Montpellier et des opérateurs de la métropole (EID-RA et EID-Med).

essentiellement sur des tests opérationnels ponctuels. Enfin, bien que le téméphos ait été utilisé à La Réunion jusqu'en 2006 et que cette molécule ait été intégrée à des essais d'efficacité opérationnels entre 2008 et 2011<sup>20</sup>, aucun suivi de la résistance aux organophosphorés et notamment au téméphos n'a été effectué sur *Ae. albopictus* à La Réunion depuis 2011.

### ***Aedes aegypti***

La sensibilité d'une population résiduelle d'*Ae. aegypti* à la deltaméthrine a été suivie annuellement depuis 2013 à l'aide de tests adultes en tubes de l'OMS. Selon l'ARS, ce suivi semble montrer que cette population était encore sensible à la deltaméthrine en 2019 (données ARS La Réunion). Les bioessais réalisés sur cette population en 2020 confirment que cette population reste encore sensible à la deltaméthrine.

#### 3.2.2.5.2. Plan et bilan du dispositif de surveillance

L'ARS de La Réunion travaille avec la COI<sup>21</sup> (Commission de l'Océan Indien) et planifie elle-même la mise en œuvre de la surveillance. Un lieu d'échange sur les techniques ainsi que sur les résultats de certains tests de résistance est établi avec les partenaires de la zone Océan Indien.

Les cadres du service de LAV de l'ARS de La Réunion décident de la mise en place des actions de suivi et de surveillance, en lien avec les orientations de la COI. Une action de veille est également organisée au niveau de la zone Océan Indien.

Actuellement, le suivi de la résistance concerne *Ae. albopictus* et *Ae. aegypti* vis-à-vis de la deltaméthrine, mais depuis deux à trois ans, la COI a connu des difficultés d'approvisionnement en papiers imprégnés en provenance du fournisseur affilié à l'OMS (Malaisie).

La COI permet également la formation d'agents. Ainsi, en 2017, les agents de l'ARS de La Réunion ont pu bénéficier de deux formations sur la mise en place des tests OMS à l'Institut Pasteur de Madagascar.

#### 3.2.2.6. Collectivités d'Outre-Mer

##### 3.2.2.6.1. Nouvelle-Calédonie

La dengue est la principale arbovirose transmise par *Ae. aegypti*. Parmi les 20 espèces de moustiques présentes, *Cx. quinquefasciatus* est actuellement principalement nuisant ; à noter qu'aucune espèce d'anophèle n'est recensée en Nouvelle Calédonie. Par ailleurs, *Ae. vigilax* est vecteur probable de filariose lymphatique dont la transmission est sporadique.

---

<sup>20</sup> Anses – Les Cahiers de la Recherche N°3 - Santé, Environnement, Travail – Octobre 2013

<sup>21</sup> <https://www.commissionoceanindien.org/presentation-coi/>

En Nouvelle-Calédonie, la Direction des Affaires Sanitaires et Sociales (DASS) coordonne la stratégie de la LAV mise en œuvre par les Communes. Historiquement les actions de LAV ont essentiellement été menées à Nouméa et Grand-Nouméa. Le Syndicat intercommunal à vocation multiple (SIVM) du Nord de Grande-Terre fait appel à une entreprise privée pour les traitements.

La Nouvelle Calédonie est autonome d'un point de vue réglementaire pour l'utilisation des biocides et n'est pas dépendante du règlement européen biocide. De fait, elle peut avoir recours à des biocides qui ne sont plus ou pas autorisés en Europe. Les organophosphorés comme le téméphos et le malathion (utilisé jusqu'en 2015 uniquement sur Nouméa) pourraient potentiellement être employés pour les traitements. Cependant, en raison des réticences de la population, seuls le *Bti* et la deltaméthrine sont utilisés.

La surveillance de la résistance aux insecticides est effectuée par l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie dans le cadre d'une convention avec la DASS.

Ce suivi est effectué sur *Ae. aegypti* conformément aux recommandations de l'OMS. Aucune surveillance régulière de la résistance aux insecticides n'est faite sur *Cx. quinquefasciatus*.

#### 3.2.2.6.1.1. Niveaux de résistance

##### ***Aedes aegypti*.**

Au début des années 1970, les premières observations de résistance ont été mises en évidence pour une population d'*Ae. aegypti* de Nouméa, concernant deux organochlorés (dieldrine et lindane). A cette époque, toutes les souches d'*Ae. aegypti* testées présentaient une sensibilité normale aux organophosphorés.

Les résultats de tests de résistance publiés en 2015, réalisés sur 34 populations du Grand Nouméa, ont montré une évolution significative de la résistance des moustiques adultes à la dose diagnostique de la deltaméthrine avec des taux de mortalités allant de 98 % à 45 %. Certaines mutations de cible ont été identifiées. Néanmoins, leurs prévalences ne sont pas suffisantes pour engendrer une forte résistance aux pyréthrinoïdes dans les populations d'*Ae. aegypti* de Nouvelle-Calédonie.

Les autres populations testées de Nouvelle-Calédonie (en dehors de Nouméa) restent sensibles à la deltaméthrine.

Aucune résistance au malathion n'a été constatée (100 % de mortalité à la dose diagnostique) en dehors du secteur de Nouméa où deux populations d'*Ae. aegypti* ont démontré une possible résistance vis-à-vis de cet insecticide (mortalités de 95 et 96 %).

#### 3.2.2.6.1.2. Plan et bilan du dispositif de surveillance

Il n'existe plus de plan de suivi de la résistance aux insecticides en Nouvelle-Calédonie. Seuls des projets de recherche ponctuels ont permis de suivre la résistance des populations locales d'*Ae. aegypti*.

#### 3.2.2.6.2. Polynésie Française

La LAV est une prérogative des communes. Cependant, à Tahiti, au sein de la Direction de la Santé (DS), le Centre d'Hygiène et de Salubrité Publique (CHSP) met en œuvre les actions de LAV sur le territoire polynésien. Une section de LAV constituée de plusieurs agents, répartis sur Tahiti, Moorea et les différents archipels de la Polynésie Française, mène essentiellement des actions de sensibilisation et d'intervention en contexte épidémique (ex. lors de l'épidémie de Zika en 2013-2014).

La Polynésie Française, du fait de son statut particulier de Pays d'Outre-Mer (POM, non soumis au statut général des Collectivités locales), suit une réglementation locale des produits biocides (en dehors de la réglementation européenne en la matière). Les substances actives principalement utilisées sont la deltaméthrine comme adulticide et le *Bti* en tant que larvicide. Pour des raisons d'acceptabilité de la population vis-à-vis du malathion (utilisé il y a environ 10-15 ans), celui-ci n'est plus utilisé, même en cas d'épidémie. Néanmoins, les substances de la famille des organophosphorés (ex. téméphos) restent encore potentiellement utilisables.

La surveillance de la résistance aux insecticides est effectuée par l'Institut Louis Malardé (ILM), établissement public à caractère industriel et commercial, autonome, en réseau avec l'Institut Pasteur Paris et de nombreux partenaires internationaux. L'ILM réalise des évaluations ponctuelles sur demande de la DS dans le cadre de conventions.

Ce suivi est effectué sur *Ae. aegypti*, *Ae. polynesiensis* et *Cx. quinquefasciatus* par des tests adultes en tubes OMS. Les souches sensibles de référence utilisées sont Bora Bora pour *Ae. aegypti* et TIA (motu Tiaraunu sur l'atoll de Teriaroa) pour *Ae. polynesiensis*. Il n'y a pas d'élevage de souche de référence pour *Cx. quinquefasciatus*.

Le suivi de la résistance aux insecticides a été réalisé sur les zones urbaines de Tahiti ; il n'y a pas de données disponibles récentes pour les autres îles de Polynésie Française.

##### 3.2.2.6.2.1. Niveaux de résistance

Dès les années 1960, les premières observations de résistance ont été mises en évidence pour *Ae. aegypti* concernant deux organochlorés (dieldrine et lindane). A cette époque, aucune résistance aux organophosphorés n'était observée sur les larves.

Au début des années 1970, *Ae. polynesiensis* de Tahiti était sensible à tous les produits organochlorés (DDT, dieldrine et lindane) et organophosphorés testés (malathion, fenthion, téméphos, bromophos, chlorpyrifos et fénitrothion).

En 1991 et 1992, la sensibilité des principaux moustiques vecteurs de Polynésie Française (*Ae. aegypti*, *Ae. polynesiensis* et *Cx. quinquefasciatus*) a été évaluée pour six organophosphorés (bromophos, chlorpyrifos, fenthion, fénitrothion, malathion et téméphos), deux pyréthriinoïdes (deltaméthrine et perméthrine) et un carbamate (propoxur).

Avec des  $RR_{50} < 5$ , *Ae. aegypti* n'était pas considéré comme résistant aux insecticides testés selon l'OMS.

De même, *Ae. polynesiensis* s'est montré sensible à l'ensemble des insecticides testés, sauf pour la perméthrine ( $RR_{50} = 6,7$ ).

Les résultats montraient une résistance de *Cx. quinquefasciatus* au chlorpyrifos ( $RR_{50} = 5,7$ ) et au fénitrothion ( $RR_{50} = 5,0$ ). Pour cette espèce, la résistance accrue aux organophosphorés est associée à une forte production d'estérase.

Les dernières données de résistance publiées en 2018 par l'ILM ont montré une résistance des femelles adultes d'*Ae. aegypti* à la deltaméthrine avec des taux de mortalité allant de 82,2 % (Pirae) à 66,4 % (Punaauia).

Dans son rapport de 2018, l'ILM indique une possible émergence de la résistance d'*Ae. polynesiensis* à la deltaméthrine (96 % de mortalité à 24h à la dose diagnostique établie sur *Ae. aegypti*), qui devra être confirmée par des méthodes biologiques et moléculaires complémentaires.

*Cx. quinquefasciatus* a révélé une mortalité inférieure à 90 % à la dose diagnostique de la deltaméthrine, sans que les mécanismes de résistances ne soient déterminés.

#### 3.2.2.6.2.2. Plan et bilan du dispositif de surveillance

Il n'existe pas de plan de suivi de la résistance aux insecticides. Seuls des projets de recherche ponctuels ont permis d'identifier la résistance des populations locales de moustiques vecteurs.

#### 3.2.2.6.3. Wallis et Futuna

Il n'existe pas de communes à Wallis et Futuna, mais trois circonscriptions administratives (calquées sur les trois royaumes que compte le territoire : Uvéa pour Wallis, Alo et Sigave pour Futuna). Wallis-et-Futuna relève du statut de collectivité d'outre-mer.

La LAV est mise en œuvre par l'Agence de Santé (ADS) et le suivi de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides a été confié à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie.

La dengue est la principale arbovirose transmise de manière épidémique par *Ae. polynesiensis*. *Ae. aegypti* est présent uniquement dans l'Île de Wallis avec une distribution limitée à l'environnement péri-domiciliaire.

S'agissant des niveaux de résistance, il n'existe actuellement aucune donnée disponible pour ce territoire.

Il n'existe pas de plan de suivi de la résistance aux insecticides.

### **3.2.3. Synthèse des contraintes/limites opérationnelles et/ou organisationnelles rencontrées dans les différents territoires**

Les auditions ont permis de mettre en évidence plusieurs limites et contraintes opérationnelles, parfois propres à certains territoires, pour assurer les missions de surveillance de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides :

- Moyens humains dédiés à cette activité insuffisants ;
- Moyens financiers ne permettant pas de supporter un programme de surveillance sur le long terme (a fortiori en contexte épidémique) ;



- Difficultés pour assurer un développement ou une mise à jour des compétences techniques des opérateurs en charge du suivi de la résistance ;
- Absence de coordination de la surveillance de la résistance ;
- Contraintes techniques : maintien de certaines souches de référence, obtention d'une quantité suffisante de moustiques de terrain, fourniture et conservation des papiers imprégnés pour les tests adultes en tube de l'OMS, dose diagnostique non définie pour certaines espèces vectrices ;
- Contraintes logistiques : superficie du territoire à couvrir, isolement du territoire, disponibilité d'un insectarium et d'un laboratoire pour les tests biologiques ;

Il faut également tenir compte des éléments suivants :

- Problématiques environnementales liées à l'assainissement, la gestion des déchets et à l'accès à l'eau potable qui freinent les actions de LAV et favorisent l'apparition de résistance ;
- Absence de contrôle sur l'utilisation des insecticides pour, par exemple, limiter la nuisance dans des lieux touristiques (traitement de confort), et qui peuvent favoriser l'apparition de résistance.
- Réticence de la population vis-à-vis de l'utilisation de certains insecticides ;
- Absence de formulations et/ou d'insecticides adulticides (hors formulations avec la deltaméthrine) qui pourraient permettre d'offrir une alternative de traitement dans un contexte de résistance aux pyréthriinoïdes.

### **3.3. Propositions du GT pour la mise en place d'un plan de surveillance intégrée de la résistance (PSIR) aux insecticides chez les moustiques vecteurs en France**

Le GT propose un plan de surveillance intégrée de la résistance (PSIR) caractérisé par des actions à mener à deux échelles :

- Surveillance périodique de la résistance aux insecticides à l'échelle populationnelle ;
- Stratification du niveau de risque de résistance (RiR) à l'échelle du territoire pour assister la prise de décision.

#### **3.3.1. Surveillance périodique de la résistance aux insecticides à l'échelle populationnelle**

Une surveillance régulière des niveaux et des mécanismes de résistance aux insecticides doit être effectuée dans des « sites sentinelles » préétablis, à l'aide de tests biologiques (bioessais), moléculaires et/ou biochimiques selon des méthodes standardisées, afin de suivre l'évolution de la résistance dans l'espace et dans le temps.

Les tests de résistance doivent cibler prioritairement les insecticides couramment utilisés en LAV dans le territoire concerné mais un élargissement aux autres insecticides utilisés en LAV et aux autres molécules utilisables à titre dérogatoire est prévu en cas de résistance avérée aux insecticides couramment utilisés en LAV. Le suivi de la résistance pourra s'appuyer sur les activités effectuées en routine par les opérateurs en charge de la surveillance entomologique, afin d'optimiser l'utilisation des ressources humaines et financières. La

caractérisation des mécanismes de résistance pourra s'appuyer sur l'expérience des différents acteurs dont les organismes de recherche impliqués sur cette thématique.

### 3.3.1.1. Méthodologie pour la surveillance de la résistance aux insecticides

#### 3.3.1.1.1. Sélection des sites sentinelles

Une connaissance précise du contexte géographique, écologique, entomologique et épidémiologique permettra aux autorités compétentes de définir l'emplacement exact et le nombre idéal de sites sentinelles pour la surveillance des résistances. La distribution et le nombre de sites devront être ajustés en fonction des données collectées.

Les critères généralement utilisés pour la sélection des sites sentinelles sont les suivants :

- **Niveau de risque épidémiologique** (ex. zones à fort risque de transmission d'arboviroses et/ou de paludisme, zones frontalières) ;
- **Fréquence et quantité d'insecticides utilisés** à la fois en santé publique et en agriculture (ex. zone d'irrigation colonisées par les vecteurs du paludisme ; zones urbaines et péri urbaines pour les *Aedes*) ;
- **Densité de population humaine** (urbaine ou rurale) ;
- **Niveau de risque entomologique** (présence et abondance des moustiques vecteurs à travers l'historique de la surveillance entomologique) ;
- **Accessibilité/spécificité des sites.**

#### 3.3.1.1.2. Fréquence de suivi

Pour une détection précoce de la résistance dans les populations naturelles, il est important de disposer de séries chronologiques ou périodiques de données (biologiques et moléculaires) dans un site donné. Ainsi, il est recommandé de tester la sensibilité des moustiques vecteurs aux insecticides utilisés en LAV au moins une fois par an dans chaque site du réseau sentinelle<sup>22</sup>.

#### 3.3.1.1.3. Méthodes de captures entomologiques et échantillonnage

De nombreuses méthodes sont utilisées pour la capture de moustiques destinés aux tests de résistance, que ce soit à l'état immature (larves et œufs) ou à l'état adulte<sup>23</sup>. À titre d'exemple, un réseau de pièges pondoirs représente un outil intéressant pour capturer des espèces de moustiques invasifs comme *Ae. albopictus* ou le moustique tropical *Ae. aegypti*. Pour *Ae. aegypti* et les *Culex* spp., les prospections de moustiques dans les gîtes larvaires sont préconisées car elles permettent de récolter un grand nombre de larves dans un espace et un temps relativement limités. Pour les anophèles, il est souvent plus difficile de repérer les gîtes

---

<sup>22</sup> WHO (2017). Framework for a national plan for monitoring and management of insecticide resistance in malaria vectors. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/254916>.

<sup>23</sup> WHO (2013). Malaria entomology and vector control. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/85890>

larvaires (à l'exception des espèces rizicoles) et/ou d'avoir des gîtes productifs : des captures de moustiques à l'état adulte (à l'aide d'aspirateurs à dos et/ou de systèmes de piégeage) sont généralement réalisées.

Quelle que soit la méthode de capture utilisée, l'important est de prospector un nombre de sites suffisant pour avoir une bonne représentativité de la population échantillonnée.

#### 3.3.1.1.3.1. Recommandations lors des prospections larvaires et/ou en pièges pondoirs

Sur la base des recommandations de l'ECDC<sup>24</sup> sur la surveillance des moustiques invasifs en Europe<sup>25</sup>, les méthodes suivantes sont proposées pour chaque site sentinelle :

- Pose d'au moins 4 pièges pondoirs / hectare sur une période de 4 jours et/ou,
- Prospection d'au moins 10 gîtes larvaires en respectant une distance d'au moins 100 m entre les lieux de capture.

Pendant la prospection, il est important de noter le type de site de reproduction (par exemple, piège pondoir, fût, pot de fleurs, rizière, puits, canal d'irrigation) et les coordonnées GPS car certains gîtes pourraient être plus ou moins exposés à une source de contamination chimique par des polluants et autres xénobiotiques. Il est aussi recommandé de ne pas prospector des moustiques juste après un traitement insecticide à but agricole ou de LAV. Les échantillons collectés sur un même site pourront ensuite être regroupés afin de produire un nombre suffisant d'insectes pour les tests biologiques et ou moléculaires.

#### 3.3.1.1.3.2. Recommandations lors des captures de moustiques adultes

Les méthodes de capture des moustiques adultes se font généralement à l'aide de piégeage (pièges lumineux, pièges fenêtres, etc.), de captures sur sujets humains (mais engendre des problèmes éthiques), et/ou d'aspirateurs à dos (ex. aspirateur prokopack<sup>TM</sup> ou insectovac<sup>TM</sup>). Une fois capturés, les échantillons doivent être triés et conservés durant le transport (climatisé dans la mesure du possible) puis ramenés au laboratoire pour y être identifiés. En pratique, l'OMS recommande de réaliser des tests biologiques sur la descendance (F1) provenant d'au moins 30 femelles capturées à l'état sauvage<sup>26</sup> (WHO 2016).

#### 3.3.1.1.4. Sélection des échantillons pour les tests biologiques

L'utilisation des mâles n'est pas recommandée pour les tests de résistance car ils sont généralement plus petits, ont une sensibilité accrue aux insecticides et ont une espérance de vie plus courte. Ils sont également plus fragiles que les femelles, et ont donc tendance à

---

<sup>24</sup> European center for disease prevention and control

<sup>25</sup> European Centre for Disease Prevention and Control (2012). Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. Stockholm: ECDC.

<sup>26</sup> World Health Organization (2016). Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes, 2nd ed. World Health Organization.

montrer une mortalité plus élevée dans les lots témoins. Les tests sont donc effectués en utilisant uniquement des moustiques femelles.

Par ailleurs, des études ont montré à plusieurs reprises que l'âge et l'état physiologique des moustiques femelles (c'est-à-dire non nourries de sang ou de jus sucré, semi-gravidés ou gravidés) ont un effet marqué sur leur niveau de sensibilité aux insecticides. Par conséquent, il est recommandé d'effectuer des tests biologiques de sensibilité sur des femelles adultes, âgées de 3 à 5 jours, non nourries de sang et non préalablement exposées à des substances xénobiotiques.

Afin d'obtenir des résultats normalisés en fonction du stade et/ou de l'âge des adultes, il est recommandé d'effectuer les tests de sensibilité sur la descendance des moustiques sauvages capturés (génération F1), élevée en conditions standardisées (densité larvaire, nourriture, température, humidité relative, etc.).

Dans le cas où la génération F1 ne pourrait pas être utilisée pour les tests de sensibilité (accessibilité limitée aux sites et/ou absence d'insectarium), il reste la possibilité de réaliser les tests de sensibilité, soit sur des femelles adultes (F0) issues de collection larvaire, soit directement sur les femelles capturées à l'état sauvage. Dans ce cas les résultats doivent être interprétés avec prudence (individus non standardisés et effets environnementaux).

#### 3.3.1.1.5. Recours aux tests biologiques pour la surveillance de la résistance

Dans le cadre du PSIR, le choix du test biologique à utiliser pour tester la résistance dépendra d'une part des insecticides ciblés par la surveillance (ex. larvicides vs adulticides) et d'autre part de la disponibilité des doses diagnostiques pour chaque famille d'insecticides et pour une espèce vectrice donnée.

Les méthodes biologiques (bioessais) recommandées pour tester la sensibilité des populations aux insecticides dans les sites sentinelles sont les suivantes : le test larvaire ou « test en gobelets » OMS, le test adulte en tubes OMS et le test adulte en bouteilles OMS.

Le nombre minimum de moustiques à utiliser lors des tests biologiques est mentionné dans le Tableau 2.

**Tableau 2. Nombre minimum de moustiques à utiliser lors des tests biologiques pour la surveillance de la résistance**

Type de test	Age	Nombre de doses	Nombre d'insectes par dose
Test larvaire (Test en gobelet)	Stade L3-4	5 (+ témoin)	100 (+100 dans le témoin)
Test adulte en tubes	3-5 jours	1 (+ témoin)	100 (+50 dans le témoin)
Test adulte en bouteilles	3-5 jours	1 (+ témoin)	100 (+50 dans le témoin)

Les tests biologiques effectués pour surveiller la résistance sur les populations de moustiques sont généralement réalisés une seule fois à un temps donné. Dans le cas contraire, les tests peuvent être effectués sur plusieurs jours jusqu'à ce que ce nombre minimum de moustiques nécessaires soit atteint, à condition que des tests contrôles soient effectués en parallèle.

#### 3.3.1.1.6. Indicateurs de résistance

L'indicateur principal mesuré lors des tests de sensibilité est la mortalité des moustiques 24h après exposition (sauf exception) soit à une dose diagnostique, soit en dose-réponse à des concentrations croissantes d'insecticides. Dans le cas des régulateurs de croissance, l'indicateur sera le taux d'inhibition d'émergence des moustiques adultes (ou IE %).

La lecture de la mortalité (ou de l'inhibition d'émergence) sert d'indicateur principal pour estimer les niveaux de résistance à un insecticide dans une population donnée (*cf.* Tableau 3).

#### 3.3.1.1.7. Interprétation des tests biologiques

La Figure 1 ci-dessous présente de façon synthétique le dispositif de surveillance de la résistance des moustiques aux stades adultes et larvaires proposé ici, avec l'ensemble des tests à réaliser.

##### 3.3.1.1.7.1. Tests larvaires ou tests en gobelets (Figure 1, (B))

Les données de mortalité à chaque concentration testée permettent d'estimer les  $CL_{50}$  ou  $IE_{50}$  par régression log-probit à l'aide de logiciels mathématiques. Un Ratio de Résistance 50 ( $RR_{50}$ ) est calculé, permettant de déterminer l'intensité de la résistance (sensible, résistance modérée, résistance forte) des larves d'une espèce donnée à un insecticide dans un site sentinelle (Tableau 3).

##### 3.3.1.1.7.2. Tests sur adultes (Figure 1, (A))

###### ■ Détermination de la prévalence du phénotype résistant

Le taux de mortalité d'une population adulte de moustiques donnée à la dose diagnostique d'un insecticide permet de déterminer la proportion d'individus résistants dans un site sentinelle (ou résistance phénotypique). Les recommandations pour les tests de résistances aux doses diagnostiques sont indiquées dans le Tableau 3.

###### ■ Détermination de l'intensité de la résistance

Pour les tests adultes en tubes, si la résistance est confirmée, la deuxième étape consiste à mesurer l'intensité de la résistance en exposant ces mêmes populations à 5 fois puis 10 fois la dose diagnostique de l'insecticide considéré. L'interprétation des résultats est détaillée dans le Tableau 3.

Les taux de mortalité aux tests sur adultes permettent ainsi de définir le niveau de résistance des moustiques adultes pour un site sentinelle donné (Tableau 3).

#### 3.3.1.1.8. Recours aux tests moléculaires et/ou biochimiques

Dans le cadre du PSIR, il est également recommandé de réaliser des tests moléculaires (et éventuellement biochimiques) afin de détecter la présence d'un allèle de résistance et, si possible, d'estimer sa fréquence dans une population. Cela peut être réalisé sur un sous échantillon de moustiques. Ceci est particulièrement utile si quelques individus survivent à des concentrations normalement létales pour une population sensible (par exemple si entre 2 % et 10 % des individus testés survivent à une dose diagnostique OMS) car cela permet de détecter de manière précoce l'apparition d'une résistance et d'identifier une résistance croisée potentielle (c.à.d. une résistance à plusieurs insecticides) et d'anticiper d'éventuels échecs opérationnels. Ces informations vont servir pour la planification et la mise en œuvre des actions de lutte et de surveillance, en particulier pour ajuster le niveau de résistance (Tableau 3), et pour guider le choix des insecticides à utiliser en lutte antivectorielle. Enfin, l'estimation de la fréquence des allèles de résistance s'avère indispensable dans le cadre de l'évaluation de l'efficacité d'un programme de gestion de la résistance à long terme (rotations, mélanges d'insecticides, *etc.*).

Quelle que soit la méthode de détection moléculaire de la résistance utilisée, il est conseillé de tester au moins 50 individus par site sentinelle afin de détecter un marqueur de résistance présent à une fréquence allélique de 1%.

La fréquence allélique est calculée et les résultats sont interprétés comme suit :

- Allèles de résistance non détectés car non recherchés (données manquantes) ;
- Allèles de résistance non détectés par des méthodes biochimiques et/ou moléculaires ( $F(R) = 0$ ) ;
- Allèles de résistance détectés par des méthodes biochimiques et/ou moléculaires ( $F(R) > 0$ ).

**Tableau 3 : Indicateurs utilisés pour définir le niveau de résistance d'une espèce de moustique à l'échelle populationnelle.**

Tests biologiques (OMS) <sup>1</sup>	Statut de résistance (tests biologiques)	Mécanismes de résistance <sup>2</sup>		Niveau de Résistance
		Marqueurs moléculaires et/ou biochimiques	Inhibiteurs enzymatiques (tests synergiste)	
> 98 % mortalité à DD OMS (adultes) ou RR <sub>50</sub> < 5 (larves)	Sensible	Absents (ou non recherchés)		0
	Sensible mais présence d'allèles de résistance	Présents à faible fréquence (=Point de bascule)		1
< 98 % mortalité à 5 fois DD OMS et ≥ 98 % à 10 fois DD OMS (adultes) ou 5 < RR <sub>50</sub> < 10 (larves)	Résistance modérée	Présents (ou non recherchés)		2
< 98 % mortalité à 10 fois DD OMS (adultes) ou RR <sub>50</sub> > 10 (larves)	Résistance forte	Présents (ou non recherchés)		3

DD : Dose Diagnostique ; RR<sub>50</sub> : résistance ratio 50 ;

<sup>1</sup> Les tests biologiques (bioessais) sur adultes avec doses diagnostiques définies par l'OMS (DD OMS) ou bien sur larves (dose-réponse) donnent les indicateurs requis pour évaluer le niveau de résistance populationnelle pour une espèce de moustiques donnée.

<sup>2</sup> Présence d'allèles de résistance sur la base de tests moléculaires (marqueurs de résistance connus), biochimiques (activités enzymatiques) ou de bio-tests avec des inhibiteurs enzymatiques (effet des synergistes sur le phénotype de résistance). Ces indicateurs sont complémentaires aux tests biologiques et permettent d'avoir une caractérisation plus fine des mécanismes de résistance dans une population de moustiques donnée.

#### 3.3.1.1.9. Recours aux tests synergistes (inhibiteurs enzymatiques)

En l'absence de capacités techniques et logistiques pour la réalisation de tests moléculaires et/ou biochimiques, le recours à des tests synergistes peut permettre d'identifier l'implication d'enzymes de détoxification dans la résistance (résistance métabolique).

##### 3.3.1.1.9.1. Tests synergistes sur moustiques adultes (Figure 1, (E))

Ces tests ne sont recommandés que si les taux de mortalité des moustiques exposés à des doses diagnostiques sont < 90 % (car l'effet du synergiste ne peut être évalué de façon fiable si la sensibilité des moustiques est élevée). A l'issue de ces tests, il est possible de savoir si

un phénotype de résistance est causé nullement, partiellement, ou entièrement par une résistance de type métabolique.

L'interprétation des résultats selon les critères de l'OMS est la suivante (Figure 1) :

- **Sensibilité à l'insecticide entièrement restaurée après une préexposition à la molécule synergiste** (c'est-à-dire une mortalité  $\geq 98$  % dans les échantillons exposés au couple synergiste / insecticide) ; cela suggère qu'un mécanisme de résistance métabolique est seul responsable du phénotype de résistance observé.
- **Sensibilité à l'insecticide partiellement restaurée après une préexposition à la molécule synergiste** (c'est-à-dire une mortalité dans les échantillons exposés au couple synergiste / insecticide  $< 98$  % mais supérieure de 10 % à la mortalité enregistrée avec l'insecticide seul). Cela suggère qu'un mécanisme de résistance métabolique (c.-à-d. impliquant des enzymes de détoxification) est partiellement responsable du phénotype de résistance observé mais que d'autres mécanismes de résistance y contribuent également.
- **Sensibilité à l'insecticide non restaurée après une préexposition à la molécule synergiste** (c'est-à-dire une mortalité dans les échantillons exposés au couple synergiste / insecticide  $< 98$  % mais pas supérieure de 10 % à la mortalité enregistrée avec l'insecticide seul). Cela suggère que le phénotype de résistance observé n'implique pas un mécanisme de résistance métabolique.

#### 3.3.1.1.9.2. Tests synergistes sur larves (Figure 1, (D))

Les tests synergistes sont préconisés si le  $RR_{50}$  dans une population donnée est supérieur à 5 (ce qui indique la présence de résistance). Le Ratio de Résistance 50 Synergisé (ou  $RRS_{50}$ ) est déterminé en calculant le rapport entre la  $CL_{50}$  de la population testée et celle de la souche de référence sensible en présence de synergiste.

L'interprétation des résultats est la suivante ;

- **Si le  $RRS_{50}$  n'est pas significativement différent du  $RR_{50}$  (chevauchement des intervalles de confiance à 95 %)**, cela suggère que la sensibilité à l'insecticide n'est pas modifiée en présence de l'inhibiteur enzymatique et que **la résistance n'est donc pas causée par les enzymes de détoxification étudiées.**
- **Si le  $RRS_{50}$  est significativement supérieure à 1 mais inférieur au  $RR_{50}$  (non chevauchement des intervalles de confiance à 95 %)**, cela suggère que la sensibilité à l'insecticide n'est pas totalement restaurée en présence de l'inhibiteur enzymatique et que **la résistance est partiellement causée par les enzymes de détoxification étudiées.**
- **Enfin, si le  $RRS_{50}$  n'est pas significativement différent de 1**, cela suggère que la sensibilité à l'insecticide est complètement restaurée en présence de l'inhibiteur enzymatique et que **la résistance est entièrement due aux enzymes de détoxification étudiées.**



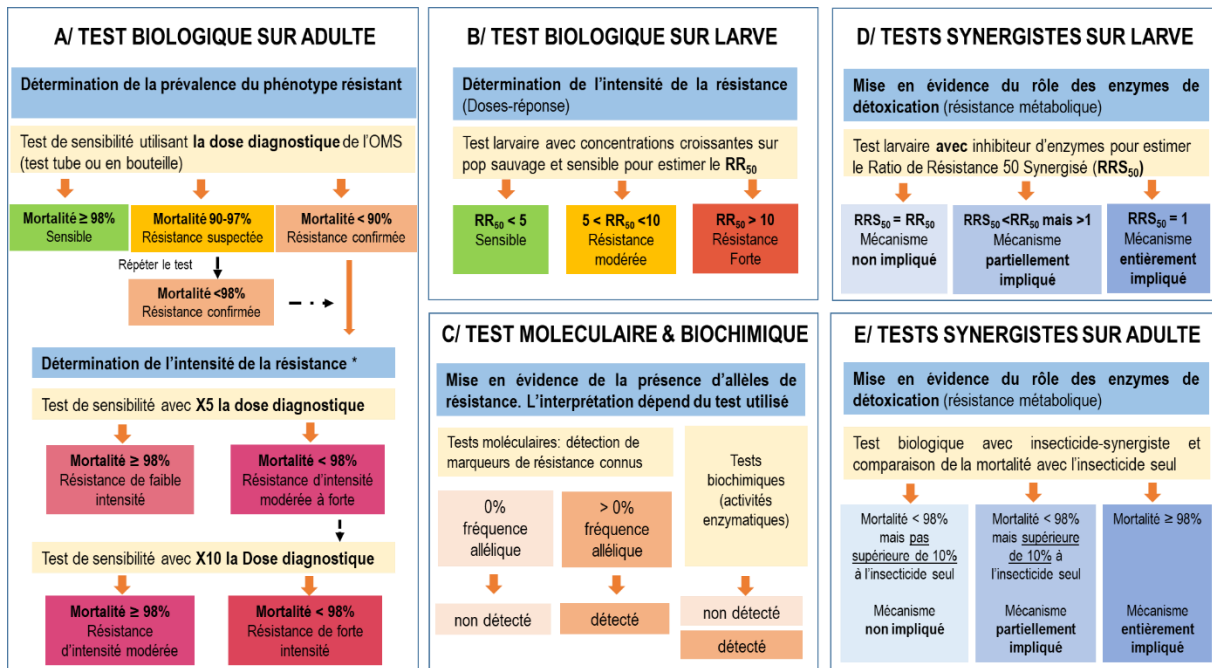


Figure 1. Schéma récapitulatif du dispositif de surveillance de la résistance des moustiques au stade adulte et larvaire (modifié d'après WHO 2016 a,b)

\* test d'intensité actuellement préconisé pour les tests en tubes OMS.

(A) Détermination du statut de résistance avec les doses diagnostiques OMS et des niveaux de résistance lors des tests d'intensité (à 5 fois et 10 fois DD) ; (B) Détermination des niveaux de résistance chez les larves avec le RR<sub>50</sub>; (C) Recherche des mécanismes de résistance avec les tests biochimiques et moléculaires et/ou (D/E) les tests synergistes.

### 3.3.2. Stratification du risque de résistance à l'échelle territoriale pour aider à la prise de décision

La résistance est un phénomène dynamique dans l'espace et le temps sous l'influence des flux de gènes entre populations de moustiques, des effets démographiques mais aussi des variations des pressions de sélection (LAV ou autre usage des insecticides). L'évaluation du niveau de risque ne doit donc pas se limiter au niveau « populationnel » mais doit également prendre en compte la diversité des situations à l'échelle du territoire, afin de proposer des actions de LAV et de gestion de la résistance sur une zone géographique donnée. Dans cette partie, des lignes directrices pour l'évaluation du risque de résistance à l'échelle territoriale sont fournies, avec pour objectif que celles-ci soient interprétées et adaptées selon le contexte local. Il est en effet impossible, étant donné la diversité géographique, administrative et écologique de donner des critères stricts applicables à tous les cas de figure. L'opérateur de terrain est le plus à même de définir avec cohérence les stratégies à adopter selon le territoire concerné.

#### 3.3.2.1. Définition du territoire

**Dans le cadre d'un PSIR, un territoire constitue un espace à l'échelle duquel la LAV et la gestion de la résistance ont un sens.** Ceci inclut en particulier des critères d'homogénéité géographique et écologique, les capacités de dispersion active et passive (vent, moyens de transport) des espèces vectrices surveillées, mais aussi plus prosaïquement, des zones subissant les mêmes activités de LAV et de surveillance. Un territoire peut donc être une zone géographique (ex. une côte, un delta, une île) ou une entité administrative (une collectivité, un département ou une région). Il est ainsi possible qu'un opérateur de terrain souhaite définir plus d'un territoire sur la zone dont il a en charge la surveillance.

**Dans le cadre du présent PSIR, le territoire est donc une entité à l'échelle de laquelle une stratégie homogène et réfléchie de gestion de la résistance pourra être appliquée.**

Le territoire doit être défini en amont de la surveillance, car le nombre et la répartition des sites sentinelles en dépendent. Le nombre de sites sentinelles pour un territoire est un des paramètres essentiels permettant une surveillance efficace de la dynamique spatio-temporelle de la résistance. Plus le nombre de sites sentinelles sera grand, plus précise sera la surveillance. Evidemment, ce nombre dépend également de la surface du territoire à surveiller, de son hétérogénéité écologique et épidémiologique, ainsi que des moyens humains et financiers à disposition. **Cependant, il est recommandé d'avoir un minimum de 10 sites pour un territoire donné.**

#### 3.3.2.2. Stratification du niveau de risque (Tableau 4)

Avec pour objectif de faciliter la classification et la comparaison entre territoires, 4 niveaux de Risque de Résistance (RiR) ont été définis.

Le niveau de RiR d'un territoire dépend de deux critères :

- des niveaux de résistance observés à l'échelle populationnelle (voir Tableau 3) et,
- de leur fréquence d'apparition/d'occurrence à l'échelle du territoire.

Un niveau de RiR est évalué et n'a de sens que pour un couple espèce vectrice/substance active dans un territoire donné (ex. « deltaméthrine-*Aedes aegypti* »). **Afin de déterminer le niveau de RiR, il faut considérer la fréquence des sites sentinelles avec les plus forts niveaux de résistance et se reporter au Tableau 4 ci-après.**

Tableau 4. Stratification du risque de résistance à l'échelle du territoire

		Proportion de sites à l'échelle du territoire		
		Sites isolés ( < 10 % )	Sites multiples ( 10-50 % )	Majorité des sites ( > 50 % )
Niveau de résistance à l'échelle du site (cf. tableau 3)	1	RiR 0	RiR 1	RiR 1
	2	RiR 1	RiR 2	RiR 2
	3	RiR 2	RiR 2	RiR 3

- **Risque de Résistance de niveau 0 (RiR 0) :** le territoire est considéré comme à faible risque de résistance vis-à-vis de l'insecticide testé si aucune résistance n'y a été détectée (mortalité des adultes  $\geq 98$  % avec les doses diagnostiques de l'OMS et/ou  $RR_{50} < 5$  pour les larves) dans l'ensemble des sites sentinelles, ou si moins de 10 % des sites sentinelles surveillés ont un niveau 1 de résistance. Une surveillance de routine des résistances doit être maintenue.
- **Risque de Résistance de niveau 1 (RiR 1) :** le territoire se trouve dans une situation de début d'émergence de résistance vis-à-vis de l'insecticide testé, ce qui correspond à une situation où la résistance atteint une fréquence proche du « point de bascule » où des allèles de résistance à un insecticide donné sont présents à faible fréquence et où la résistance est susceptible d'émerger à court terme. Ce niveau de RiR doit donc entraîner une adaptation de la surveillance. Ce classement est attribué à un territoire si plus de 10 % des sites sentinelles montrent un niveau 1 de résistance ou si des populations isolées montrent un niveau 2 de résistance sur le territoire.
- **Risque de Résistance de niveau 2 (RiR 2) :** ceci indique une résistance modérée (mortalité des adultes  $< 98$  % à 5 fois les doses diagnostiques de l'OMS et/ou  $5 < RR_{50} < 10$  pour les larves) répandue à l'échelle du territoire ou la présence de quelques populations isolées montrant une résistance forte vis-à-vis de l'insecticide testé. Dans cette situation, il existe un risque de diminution de l'efficacité d'un insecticide donné à l'échelle du territoire ou bien un risque de perte d'efficacité locale pour cet insecticide. Ce classement est attribué à un territoire lorsqu'une proportion supérieure à 10 % des sites sentinelles est à un niveau 2 de résistance ou si un niveau 3 de résistance est observé sur moins de 50 % des sites sentinelles du territoire.
- **Risque de Résistance de niveau 3 (RiR 3) :** ceci indique une résistance forte (mortalité des adultes  $< 98$  % à 10 fois les doses diagnostiques de l'OMS et/ou  $RR_{50} > 10$  pour les larves) et répandue sur le territoire vis-à-vis de l'insecticide testé. Il existe un fort risque d'une perte totale du contrôle de l'espèce vectrice sur le territoire concerné. Ce classement est attribué à un territoire lorsqu'une proportion supérieure à 50 % des sites sentinelles est à un niveau 3 de résistance.

Les seuils de proportions de populations à l'échelle du territoire sont donnés à titre indicatif. Ces seuils peuvent être ajustés en fonction de l'espèce vectrice concernée, de la configuration du territoire ou de la répartition des sites sentinelles.

3.3.2.3. Diagramme d'aide à la prise de décision en matière de surveillance et de lutte antivectorielle (Tableau 5)

**Le classement d'un territoire dans l'une ou l'autre des catégories de RiR doit entraîner une prise d'actions rapide dans le but d'enrayer l'évolution potentielle de la résistance.** L'enjeu majeur est de préserver l'efficacité des produits biocides concernés et d'éviter tout échec opérationnel.

Les actions à ajuster en fonction du RiR sont de deux types : des actions en lien avec la surveillance de la résistance et des actions de LAV, et la gestion de la résistance vis-à-vis de l'insecticide concerné (Tableau 5).

Les actions en termes de surveillance doivent être accompagnées d'actions qui concernent l'adaptation de la LAV afin d'enrayer une évolution défavorable de la résistance dans le territoire concerné, voire d'inverser sa dynamique lorsque cela est possible. Cela peut se faire en réduisant la fréquence des traitements, en alternant les insecticides autorisés dans le temps ou dans l'espace, ou en privilégiant des actions de lutte non chimiques (lutte physique notamment, en impliquant les populations).

La caractérisation des mécanismes de résistance et de leurs fréquences respectives dans les populations d'une espèce vectrice donnée est également conseillée car cela permet d'obtenir des informations qui peuvent avoir un impact en termes de gestion de la résistance (résistance croisée, réversion possible de la résistance, dynamique spatio-temporelle, etc.).

La surveillance de la résistance doit être renforcée dès le niveau de RiR 1.

Le passage en classe RiR 2 s'accompagne de la sélection de substances actives alternatives autorisées<sup>27</sup> et/ou utilisables à titre dérogatoire et la réalisation de tests biologiques ainsi que d'essais d'efficacité de substances alternatives en conditions semi-opérationnelles afin d'anticiper le changement de substance utilisée pour la LAV dans un territoire donné.

En RiR3, une modification forte des actions de LAV est attendue. L'arrêt de l'utilisation de l'insecticide concerné sur l'espèce cible est préconisé sur le territoire car son efficacité opérationnelle n'est plus garantie. Des méthodes de lutte complémentaires (physiques, biologiques, génétiques) devraient être déployées si des études pilotes ont été préalablement conduites sur le territoire donné (ex. lâchers de moustiques mâles stériles), et si cela est accompagné d'un suivi et d'une évaluation rigoureuse de leur efficacité et acceptabilité. La sensibilisation des communautés et leur implication dans les actions de LAV (« mobilisation sociale ») est également un facteur important pour la réussite de la lutte.

Enfin, le fait que la gestion du risque de résistance soit appréciée à l'échelle du territoire ne doit pas empêcher la gestion du risque à l'échelle locale par des actions ciblées. Ainsi, la détection d'une résistance dans un site sentinelle quelle que soit son intensité, doit *a minima* entraîner une attention accrue lors des surveillances futures. Dans la mesure du possible, lorsqu'un niveau de résistance populationnel élevé est détecté (niveau 3), l'arrêt de l'utilisation de l'insecticide concerné dans la zone du site sentinelle concerné devrait être envisagé.

---

<sup>27</sup> Il est à noter qu'actuellement en France seule la deltaméthrine est utilisée en tant qu'adulticide et qu'il n'existe pas de molécules alternatives appropriées pour un usage LAV (mode d'action différent, disponibilité de formulations). Il n'existe pas de larvicide autorisé utilisable en milieux naturels autre que le *Bti*.

Tableau 5. Arbre décisionnel des actions de surveillance et de lutte antivectorielle à mettre en œuvre en fonction du risque de résistance (RiR) à l'échelle du territoire (pour un insecticide et une espèce donnée).

	ACTIONS	
RiR	Surveillance de la résistance	Lutte antivectorielle (LAV)
RiR 0	- Monitoring de routine à maintenir	- Actions de LAV inchangées
RiR 1	- Renforcement du monitoring de la résistance (augmentation du nombre de sites et de la fréquence de prélèvements)	- Actions de LAV inchangées - Conceptualisation d'un plan de gestion de la résistance <u>adapté localement</u>
RiR 2	- Poursuite du monitoring de la résistance - Sélection de molécules alternatives autorisées et/ou utilisables à titre dérogatoire - Réalisation de tests de sensibilité ciblés sur les populations montrant les plus fortes résistances pour évaluer leur potentiel dans la gestion de la résistance - Intégration des molécules alternatives autorisées et/ou utilisables à titre dérogatoire dans la surveillance	- Modifications <u>modérées</u> des actions de LAV (ex. réduction des traitements, alternance d'insecticides autorisés dans l'espace / temps, recours à des méthodes complémentaires (piégeages, lutte physique, etc.) - Essais d'efficacité en conditions semi opérationnelles avec des molécules alternatives autorisées et/ou utilisables à titre dérogatoire
RiR 3	- Poursuite du monitoring de la résistance - Intégration des molécules alternatives autorisées et/ou utilisables à titre dérogatoire dans la surveillance territoriale.	- Modifications <u>importantes</u> des actions de LAV (ex. arrêt du traitement, recours à des insecticides alternatifs autorisés et/ou utilisables à titre dérogatoire (ex. cas d'épidémie), recours à des stratégies de lutte innovantes (si preuve de concept).

### 3.3.3. Contributeurs et acteurs potentiels

Pour l'organisation du plan de surveillance et afin que les différents plans locaux aient une cohérence entre eux, il sera nécessaire d'impliquer différents acteurs, à savoir :

- **une organisation institutionnelle territoriale** qui s'occupera du pilotage et de la mise en œuvre du PSIR (par exemple les ARS). Cette organisation sera en charge de la mise en place du plan de surveillance de la résistance dans des sites sentinelles d'intérêt selon un cahier des charges précis (il faudra délimiter la taille du territoire, le nombre de sites sentinelles à prospecter, la fréquence du suivi, et le nombre de tests biologiques et moléculaires à réaliser en fonction des espèces de moustiques et des insecticides ciblés, *etc.*). Des conventions avec les partenaires compétents (opérateurs, collectivités, laboratoires de recherche) pourront être organisées à cet effet.
- **des opérateurs de terrain** qui assureront la supervision des enquêtes de terrain et la collecte des données/échantillons dans le réseau de sites sentinelles identifiés. Ces opérateurs, selon leur niveau de formation, de compétence et d'accès aux infrastructures adéquates, pourront également contribuer à la réalisation des tests biologiques (Collectivités Territoriales, Secteur privé, *etc.*). Ils assureront une liaison permanente avec l'autorité centrale en charge de la surveillance.
- **des laboratoires spécialisés** (structures privées ou laboratoires académiques) pouvant apporter une aide technique dans la mise en place des protocoles de surveillance (méthodes de tests biologiques, moléculaires et biochimiques), dans la mise en œuvre des stratégies de lutte (conventionnelles vs alternatives), ainsi que dans l'analyse et l'interprétation des données.

L'élaboration d'un plan de surveillance intégré nécessitera :

- un pilotage local afin d'établir le périmètre du territoire, une description des objectifs et du contexte de la surveillance, et des outils pour réaliser le plan,
- une description du fonctionnement et des modalités de gestion des ressources, du traitement et de l'interprétation des données, des modalités de surveillance (surveillance événementielle / surveillance programmée),
- l'articulation avec la formation et la communication autour du plan.
- une cohérence régionale et nationale. En effet, une organisation en réseau présente l'avantage de partager rapidement les expériences, les connaissances et parfois les moyens permettant ainsi des économies d'échelle et la pérennisation des méthodes et des ressources.

Les données collectées pourraient être ensuite regroupées et analysées au sein d'un Observatoire De la Résistance chargé de veiller à la mise en œuvre des protocoles et l'analyse des données homogènes sur l'ensemble des territoires, ainsi que de la réalisation de cartes de risque de résistance à l'échelle du territoire national.

### 3.3.4. Spécificités pour les substances actives utilisées à titre dérogatoire

Le recours à des molécules non-autorisées en LAV pourrait être nécessaire dans des situations exceptionnelles, c'est-à-dire en cas de risque de résistance élevé et dans le cadre

d'une situation sanitaire préoccupante (épidémie). En principe, lorsque des substances actives ne sont utilisées qu'exceptionnellement, la pression de sélection qu'elles exercent est faible. Par conséquent, l'émergence d'une résistance spécifique à ces substances actives est peu probable. Cependant, il existe des résistances croisées, en particulier pour des substances actives qui partagent un même mode d'action. Certains mécanismes de résistance non liés à la cible, tels que la détoxification ou la résistance cuticulaire peuvent également avoir des spectres de résistance difficilement prévisibles. Il est donc possible qu'un mécanisme de résistance sélectionné suite à une pression de sélection d'une substance active autorisée entraîne des résistances à d'autres substances actives, y compris à celles non autorisées. **Il est donc recommandé d'intégrer des substances actives potentiellement utilisables à titre dérogatoire dans le plan de surveillance de la résistance dès le RiR2, afin d'éviter d'avoir recours à des substances ayant des résistances croisées avec les insecticides conventionnels. Le déploiement de ces molécules pour la LAV est préconisé toutefois en RiR 3 uniquement.** Enfin, certaines substances actives utilisées à titre dérogatoire en France, peuvent être autorisées dans d'autres pays ou en agriculture. C'est pourquoi, une surveillance des résistances à ces substances reste justifiée. Elle peut notamment se faire par de la veille bibliographique (pour les substances autorisées dans d'autres pays) ou encore *a minima* en réalisant des tests sur les populations nouvellement identifiées comme résistantes, ou avec des facteurs de résistances inhabituels ou avec des mécanismes de résistance nouveaux.

Dans le cadre de l'identification et de la sélection de substances actives utilisables à titre dérogatoire, plusieurs critères nécessitent d'être pris en compte dont :

- l'établissement d'une liste de ces substances utilisables à titre dérogatoire ;
- le délai d'obtention de l'autorisation ;
- la disponibilité d'un protocole de test biologique pour chacun des couples espèces-substances ;
- la collecte des données historiques sur la résistance à ces molécules dans d'autres pays et/ou sur d'autres espèces (veille bibliographique).

### 3.4. Conclusion du GT et du CES

Les travaux menés proposent aux décideurs et gestionnaires une revue de la situation en termes de résistance des moustiques aux insecticides sur le territoire français au regard des données disponibles et des auditions des organismes impliqués dans les actions de lutte antivectorielle (LAV). Des lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides sont proposées notamment par la mise en place d'un plan de surveillance intégrée de la résistance (PSIR) applicable à l'ensemble du territoire national afin de garantir une réponse adaptée. Ce plan se fonde sur des actions à mener, d'une part à l'échelle populationnelle en effectuant une surveillance régulière des niveaux et des mécanismes de résistance aux insecticides dans des sites sentinelles, et d'autre part à l'échelle du territoire par une estimation du niveau de risque de résistance (RiR). Cette estimation du risque permettra d'accompagner la prise de décision et de guider les actions à mener en termes de surveillance et de LAV. Ces actions tiendront compte d'autres paramètres tels que la situation épidémiologique et les ressources disponibles dans le territoire concerné.

Le PSIR repose sur les recommandations de l'OMS en matière de tests, de pratiques d'échantillonnage et d'indicateurs. Le dimensionnement des moyens humains et financiers sur chaque territoire est un élément important à considérer pour sa mise en œuvre.

Au regard de l'état des lieux de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides, il apparaît une hétérogénéité des territoires (indépendamment de leur situation géographique, climatique, entomologique ou épidémiologique), notamment concernant les dispositifs de suivi (acteurs et moyens *sensu lato*), mais également concernant le risque de résistance et sa répartition à l'échelle de chaque territoire.

En effet, si dans certains territoires les phénomènes de résistance et leurs mécanismes sont identifiés et suivis, pour d'autres régions du territoire français les dispositifs de suivi sont lacunaires voire inexistantes, et mériteraient d'être renforcés et pérennisés, tant du point de vue de l'organisation du plan de surveillance que de la continuité des actions de suivi.

Nonobstant les outils et les pratiques de LAV des différents acteurs (souvent identiques ou comparables), il apparaît important d'anticiper le risque dans les territoires où la résistance est absente ou non détectée afin de préserver l'efficacité des produits biocides. Pour les territoires d'ores et déjà soumis à un niveau de RiR élevé, il convient de proposer des adaptations des pratiques sur la base de techniques innovantes et respectueuses de l'environnement. Cette évolution des pratiques devra être adoptée par les opérateurs et soutenue par les autorités en lien avec la recherche afin d'envisager des actions dont l'acceptabilité sociale et environnementale permettra la mise en place.

Les substances actives utilisables en LAV, plus encore qu'en agriculture, peuvent être considérées comme une ressource limitée ; leur faible nombre fait de ces substances actives un enjeu clef dans le contrôle des espèces vectrices de pathogènes. L'évolution des résistances à ces biocides est donc une problématique préoccupante qui nécessite une attention particulière. **Dans ce contexte, la mise en place de ce PSIR est stratégique afin de préserver ces outils de LAV à long terme.** L'évolution des résistances en réponse à une pression de sélection est un phénomène qui se déroule dans le temps. C'est pourquoi il est souligné qu'une surveillance efficace se conçoit à long terme, avec un suivi pluriannuel de sites d'intérêts répartis sur les territoires à surveiller. **Plus la détection de la résistance est précoce plus il sera possible de prévenir son émergence et contenir son évolution.**

Enfin, quelle que soit la stratégie choisie pour surveiller et lutter contre les phénomènes de résistances aux insecticides en LAV, les solutions requerront une plus grande technicité et de meilleures connaissances des espèces vectrices et des moyens de lutte alternatifs aux biocides.

L'utilisation à titre dérogatoire de certaines substances actives risque de se produire dans un contexte « d'urgence » sanitaire qui impose des prises de décision rapides et une disponibilité des substances actives pour les opérateurs. De manière opérationnelle, envisager ce type de recours pose des problèmes règlementaires et organisationnels.



### 3.5. Recommandations du GT et du CES pour la surveillance de la résistance :

- Inscrire les activités de surveillance de la résistance comme une mission spécifique de l'activité de LAV. Cela implique :
  - une identification des capacités et des moyens disponibles ;
  - une augmentation potentielle des ressources humaines et matérielles allouées aux différents acteurs impliqués dans cette activité ;
  - de promouvoir/actualiser la formation des opérateurs sur les méthodes de la détection de la résistance et sur leur interprétation.
- Mettre en œuvre le PSIR dans l'ensemble des territoires français. Cela nécessitera :
  - de renforcer en priorité la surveillance dans les territoires où il y a peu de données et où le risque d'émergence est important (par exemple, les départements de l'Océan indien et Pacifique, France hexagonale, voir détails en section 4 du rapport) ;
  - d'identifier les acteurs potentiels et développer les liens et partenariats entre les différents intervenants d'un même territoire (ex. ARS, CT, opérateurs, organismes de recherche), par exemple en promouvant des projets collaboratifs mixtes ;
  - la mise à disposition de moyens dédiés répartis entre les différents acteurs.
- Favoriser les projets de recherches appliqués et fondamentaux permettant :
  - une amélioration de la connaissance de la dynamique de la résistance, de sa gestion et de son impact pour la LAV ;
  - la caractérisation de nouvelles molécules insecticides et synergistes (mode d'action, mécanismes de résistance, impact sur les écosystèmes, formulations utilisables en LAV, etc.) ;
  - un développement des stratégies alternatives efficaces, respectueuses de l'environnement et socialement bien acceptées.
- Créer un observatoire national de la résistance afin de coordonner le PSIR, dont les missions seraient de :
  - créer une base de données nationale de la résistance permettant de centraliser et d'actualiser les données de surveillance, et de générer des cartes de risques de résistance ;
  - fournir une expertise technique et scientifique en LAV aux décideurs ;
  - fournir un appui matériel (ex. souches de références, matières actives, surfactants, papiers imprégnés<sup>28</sup>, bouteilles, kits de tests) ;
  - réactualiser les doses diagnostiques et les protocoles de test ;
  - diffuser de l'information au sein des acteurs du PSIR ;
  - soutenir la communication et la sensibilisation des populations sur les problématiques de la résistance.
- Evaluer l'efficacité des nouvelles approches de LAV (ex. autodissémination, piégeage, technique de l'insecte stérile) ;
- Encourager les méthodes sans insecticides<sup>29</sup> pour une lutte durable et acceptable par les populations.

---

<sup>28</sup> Les papiers imprégnés à ces différentes doses sont disponibles auprès du centre collaborateur OMS en Malaisie. Cependant, il a été constaté des problématiques récurrentes d'approvisionnement en matériels auprès de cette structure. Ainsi le développement d'une production et d'un approvisionnement de papiers imprégnés et autres matériels de ce type au niveau national par une structure compétente pourrait faciliter le suivi de la surveillance.

<sup>29</sup> cf. communication de la Commission européenne du 11/12/2019 n°COM/2019/640 sur le « le pacte vert pour l'Europe » <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=CELEX:52019DC0640&from=EN>

#### **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

Par décret n°2019-258 du 29 mars 2019, relatif à la prévention des maladies vectorielles, les objectifs et une nouvelle organisation de la lutte anti-vectorielle ont été définis et portés dans le code de la santé publique, organisation articulée en région autour des agences régionales de santé pouvant faire appel à des acteurs – tant publics que privés – qu'ils habilite à cet effet. Ces dispositions prévoient également l'élaboration d'un d'arrêté sur les modalités de suivi des résistances des espèces vectrices locales aux produits biocides utilisés en lutte antivectorielle. L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie en vue de proposer des lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides.

L'Anses endosse les conclusions et recommandations du GT RMVI et du CES « substances actives et produits biocides ».

Les résultats de l'expertise menée proposent aux décisionnaires des lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides notamment par la mise en place d'un plan de surveillance intégrée de la résistance (PSIR) qui permettra de garantir une surveillance à l'échelle nationale, déclinée ensuite selon des modalités adaptées à chaque territoire. L'Anses souligne que le code de la santé publique n'a pas désigné d'acteur en charge de la mise en œuvre.

L'agence estime que les actions qui sont attendues dans le cadre d'un tel PSIR doivent reposer en premier niveau sur des acteurs de terrain de la lutte-anti-vectorielle, dont la mobilisation, adaptée à chaque territoire, est confiée par les textes aux agences régionales de santé. L'Anses souligne également la nécessité, en deuxième niveau, d'une coordination nationale pour optimiser la surveillance et porter une vision d'ensemble. Elle devrait être prise en charge par un organisme capable de réunir des compétences techniques et scientifiques, de proposer des formations pratiques aux acteurs de terrain, et également, au besoin, de fournir un appui matériel, méthodologique et opérationnel.

Enfin, l'Anses souligne l'importance de considérer l'activité de surveillance de la résistance comme une mission spécifique à intégrer dans la stratégie de lutte anti-vectorielle compte tenu des enjeux forts inhérents à la disponibilité de solutions efficaces face à des vecteurs d'importance majeure en santé publique, chez l'homme (West Nile, dengue, Zika, chikungunya, paludisme...) et chez l'animal (West Nile, Usutu, Schmallenberg...), zoonotiques ou non.

Dr Roger Genet

## MOTS-CLÉS

*Aedes*, *Anopheles*, biocides, *Culex*, lutte antivectorielle, moustique, résistance aux insecticides, suivi, surveillance, vecteur.

*Aedes*, *Anopheles*, biocides, *Culex*, insecticide resistance, monitoring, mosquito, vector, vector control.

## CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2021). Proposition de lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs de type *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* aux insecticides. (Saisine 2020-SA-0029). Maisons-Alfort : Anses, 41 p.



---

## **Résistance des moustiques vecteurs aux insecticides**

**Partie 1 - Lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs de type *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* aux insecticides**

---

**Saisine « n°2020-SA-0029 – RMVI »**

# **RAPPORT d'expertise collective**

**CES « Substances et produits biocides »**

**GT « Résistance des moustiques vecteurs aux insecticides »**

**Juillet 2021**

### Citation suggérée

---

Anses. (2021). Résistance des moustiques vecteurs aux insecticides. Partie 1 – Lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs de type *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* aux insecticides. (Saisine 2020-SA-0029). Maisons-Alfort : Anses, 166 p.

### Mots clés

---

*Aedes*, *Anopheles*, biocides, *Culex*, lutte antivectorielle, moustique, résistance aux insecticides, suivi, surveillance, vecteur.

*Aedes*, *Anopheles*, biocides, *Culex*, insecticide resistance, monitoring, mosquito, vector, vector control.

## Présentation des intervenants

**PRÉAMBULE** : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

### GROUPE DE TRAVAIL

---

#### Président

M. James DEVILLERS – Directeur du CTIS – Modélisation, QSAR, écotoxicologie, lutte antivectorielle, biocides, synergistes

#### Membres

M. Haoues ALOUT – Chargé de recherche, INRAE, Montpellier – Résistances aux insecticides, exposition aux insecticides, transmission, compétence vectorielle, dynamique évolutive

M. Benoit BARRES – Chercheur, Laboratoire de Lyon, Anses – Résistances aux pesticides, génétique des populations, tests biologiques de résistance, tests de biologie moléculaire, écologie et évolution des populations de bio-agresseurs

M. Sébastien CHOUIN – Chef du Service de démoustication, Conseil départemental de la Charente-Maritime – Lutte antivectorielle, traitements, moustiques, biocides, *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, pyréthrinoïdes

M. Vincent CORBEL – Directeur de recherche, IRD Occitanie – Maladies à vecteurs, vecteurs, lutte, insecticides, résistances, biocides

M. Jean-Philippe DAVID – Chercheur, CNRS Laboratoire d'écologie alpine, Grenoble – Résistances des vecteurs / moustiques aux insecticides

Mme Isabelle DUSFOUR – Chargée de recherche, Institut Pasteur – *Aedes aegypti*, Anophèles, résistances aux insecticides, efficacité de la lutte antivectorielle, mécanismes de résistances, biologie et écologie des moustiques

M. Bruno LAPIED – Professeur d'université Laboratoire SiFCIR, Angers – Insecticides, mécanismes de résistances, moustiques, pharmacologie, toxicologie, biologie moléculaire

**COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ**

---

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

CES « Substances et produits Biocides » – 17/12/2020 – 24/06/2021 – 22/07/2021

**Président**

M. Georges DE SOUSA – Ingénieur de recherche, INRAE, Sophia-Antipolis – Toxicologie, toxicité des mélanges chimiques, perturbation endocrinienne, modèle in vitro, estimation danger

**Membres**

M. Olivier ADAM – Co-gérant de CD Eau Environnement – Ecotoxicologie, écologie des milieux aquatiques, chimie environnementale

M. Alain AYMARD – Ingénieur Chimie Paris – Retraité de la DDPP d'Indre et Loire – Réglementation des produits chimiques (CLP, REACH, biocide), réglementation MCD, chimie organique (synthèse), chimie analytique

M. Jean-Christophe CAHUZAC – Vice-président – Responsable de la section de produits chimiques, biocides et substances dangereuses - Ingénieur des Laboratoires du Ministère des Finances – Réglementation, analyses physico-chimiques, formulation, usages

M. James DEVILLERS – Directeur du CTIS – Modélisation, QSAR, écotoxicologie, lutte antivectorielle, biocides, synergistes

M. Pierre GREVE – Professeur, Laboratoire Ecologie et Biologie des Interactions, Université de Poitiers – Perturbateurs endocriniens, différenciation sexuelle, reprotoxicité (faune), microbiologie

M. Philippe HARTEMANN – Professeur Honoraire de Santé Publique, Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine – Santé, prévention et gestion des risques chimiques, applications des produits biocides en milieu de soins, microbiologie et résistance, évaluation des expositions, évaluation des risques

Mme. Claire HELLIO – Professeur Chimie, écologie et biotechnologie, Université de Bretagne Occidentale – Microbiologie, écologie chimique, biocides, biotechnologie, biocontrôle, écotoxicologie

Mme Dominique HURTAUD-PESSEL – Chef d'unité, Laboratoire de Fougères, Anses – Physico-chimie analytique, résidus de médicaments vétérinaires, résidus de biocides désinfectants

M. Vincent RICHARD – Ingénieur de prévention, DIRECCTE Normandie – Chimie, travail, prévention des risques, retour d'expériences industrielles

M. Christophe SOUMET – Ingénieur de recherche, Laboratoire de Fougère, Anses – Usages des produits biocides, efficacité



---

**PARTICIPATION ANSES**

---

**Coordination et contribution scientifique**

Mme Catherine BILLAULT – Chargée de projets scientifiques, Unité évaluation efficacité biocides – Direction de l'évaluation des produits réglementés

Mme Farida MEKKI – Chef de projets scientifiques, Cellule veille et développement scientifiques – Direction de l'évaluation des produits réglementés

**Contribution scientifique**

Mme Isabelle ATTIG – Chef d'unité, Unité évaluation efficacité biocides – Direction de l'évaluation des produits réglementés

.....

**Secrétariat administratif**

Mme Catherine AUDIFAX – Service commun administratif et financier – Pôle produits réglementés

---

**AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES**

---

**Entente interdépartementale Rhône-Alpes pour la démoustication (26/01/2021)**

M. Rémi FOUSSADIER – Directeur des services

.....

**Institut Pasteur de Guyane (28/01/2021)**

M. Jean-Bernard DUCHEMIN – Responsable de l'unité d'entomologie médicale

.....

**Agence régionale de santé de Guyane (29/01/2021)**

M. Vincent ROBERT – Ingénieur d'étude sanitaire

M. Damien BRELIVET – Ingénieur du génie sanitaire

.....

**Agence régionale de santé de Mayotte (01/02/2021)**

M. Ambdoul-Bar IDAROSSI – Responsable adjoint de la lutte antivectorielle

.....

**Institut Pasteur de la Guadeloupe (01/02/2021)**

Mme Anubis VEGA-RUA – Responsable du laboratoire d'études sur le contrôle des vecteurs

.....

**Centre de démoustication et de recherches entomologiques - Lutte antivectorielle de la Martinique (02/02/2021)**

M. Manuel ETIENNE – Directeur

.....

**Collectivité territoriale de Guyane (09/02/2021)**

Mme Sandrine CHANTILLY – Adjointe au Directeur général

Mme Johana RESTREPO – Entomologiste médicale

.....

**Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (09/02/2021)**

M. Nicolas POCQUET – Responsable de l'unité d'entomologie médicale

.....

**Direction des affaires sanitaires et sociales de la Nouvelle-Calédonie (09/02/2021)**

M. Arnaud CANNET – Entomologiste

.....

**Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen (10/02/2021)**

M. Bruno TOURRE – Directeur général

M. Christophe LAGNEAU – Directeur de la recherche et du développement,

M. Rémi CLUSET – Directeur technique

M. Grégory L'AMBERT – Responsable du pôle méthodes et recherche

M. Charles JEANNIN – Entomologiste médical

.....

**Agence régionale de santé de La Réunion (12/02/2021)**

Mme Hélène THEBAULT – Responsable du pôle santé et milieux de vie et du service santé environnement

M. Fabian THOUILLOT – Responsable du service LAV

Mme Nausicaa HABCHI-HANRIOT – Entomologiste

.....

**Institut Louis Malardé, Polynésie Française (02/03/2021)**

M. Hervé BOSSIN – Responsable du laboratoire de recherche en entomologie médicale

.....

**Institut de recherche pour le développement (UMR MIVEGEC), Polynésie Française (02/03/2021)**

Mme Françoise MATHIEU-DAUDE – Chargée de recherche IRD, laboratoire d'entomologie médicale à l'Institut Louis Malardé

.....

**Agence régionale de santé de la Guadeloupe (03/03/2021)**

M. Yves THOLE – Responsable du département lutte antivectorielle et prévention des risques monoxyde de carbone, amiante et saturnisme

M. Cédric RAMDINI – Technicien sanitaire, Service santé et sécurité de l'environnement domiciliaire

.....

**Collectivité de Corse (05/03/2021)**

M. Jean ALFONSI – Chargé de mission sécurité sanitaire

M. Jean-Michel VELLUTINI – Directeur milieux aquatiques et sécurité sanitaire

## SOMMAIRE

<b>Présentation des intervenants</b> .....	<b>3</b>
<b>Sigles et abréviations</b> .....	<b>10</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>11</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>13</b>
<b>1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise</b> .....	<b>15</b>
1.1 Contexte .....	15
1.2 Objet de la saisine .....	16
1.2.1 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation .....	16
1.3 Prévention des risques de conflits d'intérêts .....	17
<b>2 Définitions</b> .....	<b>18</b>
<b>3 Etat des connaissances sur la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides</b> .....	<b>23</b>
3.1 Substances actives biocides utilisées en LAV et leur mode d'action .....	23
3.2 Mécanismes de résistances connus chez les espèces cibles .....	27
3.2.1 Résistance comportementale .....	27
3.2.2 Résistance cuticulaire .....	28
3.2.3 Résistance par modification de la cible .....	29
3.2.4 Résistance métabolique .....	31
3.2.5 Résistance aux toxines bactériennes .....	33
3.3 Facteurs opérationnels, biologiques, génétiques et environnementaux influençant la dynamique de résistance.....	34
<b>4 Méthodes de détection de la résistance des moustiques</b> .....	<b>38</b>
4.1 Méthodes biologiques et tests synergistes.....	38
4.1.1 Tests biologiques in vivo .....	38
4.2 Méthodes moléculaires, biochimiques et physiologiques de détection de la résistance	47
4.2.1 Méthodes biochimiques.....	47
4.2.2 Méthodes de biologie moléculaire .....	48
4.2.3 Méthodes physiologiques.....	53
<b>5 Etat des lieux de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides en France</b>	<b>56</b>
5.1 Territoire Métropolitain.....	56
5.1.1 Niveaux de résistance .....	57
5.1.2 Plan et bilan du dispositif de surveillance .....	61
5.1.3 Contraintes/limites opérationnelles et/ou organisationnelles.....	61
5.2 Territoires Ultramarins .....	62
5.2.1 Martinique .....	62

5.2.2	Guadeloupe .....	68
5.2.3	Guyane .....	71
5.2.4	Mayotte .....	78
5.2.5	La Réunion.....	82
5.2.6	Collectivités d'Outre-Mer .....	88
<b>6</b>	<b>Propositions pour la mise en place d'un plan de surveillance intégrée de la résistance (PSIR) aux insecticides chez les moustiques vecteurs en France .....</b>	<b>97</b>
6.1	Préambule .....	97
6.2	Surveillance de la résistance aux substances actives utilisées en lutte.....	99
6.2.1	Méthodologie pour la surveillance de la résistance aux insecticides.....	99
6.2.2	Sélection des échantillons pour les tests biologiques .....	101
6.2.3	Recours aux tests biologiques pour la surveillance de la résistance.....	102
6.2.4	Indicateurs de résistance .....	104
6.2.5	Interprétation des tests biologiques .....	105
6.2.6	Recours aux tests moléculaires et/ou biochimiques .....	106
6.2.7	Recours aux tests synergistes (inhibiteurs enzymatiques).....	107
6.3	Stratification du risque de résistance à l'échelle territoriale pour aider à la prise de décision.....	110
6.3.1	Définition du territoire .....	110
6.3.2	Stratification du niveau de risque (Tableau 29).....	111
6.3.3	Diagramme d'aide à la prise de décision en matière de surveillance et de lutte antivectorielle (Tableau 30) .....	112
6.4	Contributeurs et acteurs potentiels.....	115
6.5	Spécificités pour les substances actives utilisées à titre dérogatoire.....	116
<b>7</b>	<b>Conclusions du groupe de travail .....</b>	<b>117</b>
<b>8</b>	<b>Bibliographie.....</b>	<b>120</b>
	<b>Annexe 1 : Lettre de saisine .....</b>	<b>136</b>
	<b>Annexe 2 : Exemple de stratification du risque de résistance pour certains territoires français .....</b>	<b>138</b>
	<b>Annexe 3 : Gestion des résistances aux insecticides .....</b>	<b>140</b>
	<b>Annexe 4 : Suivi des actualisations du rapport .....</b>	<b>141</b>

## Sigles et abréviations

ARS	: Agence régionale de santé
COE	: Carboxylesterase
CDC	: Centers for disease control and prevention
CES	: Comité d'experts spécialisé
DDT	: Dichlorodiphényltrichloroéthane
DEET	: N,N-Diéthyl-m-toluamide
DGS	: Direction générale de la santé
GST	: Glutathion S-transférases
IGR	: Insect growth regulator (régulateur de croissance des insectes)
IRAC	: Insecticide resistance action committee
LAV	: Lutte antivectorielle
OP	: Organophosphorés
OMS	: Organisation mondiale de la santé
PBO	: Pipéronyl butoxide
PYR	: Pyréthrinoïdes
RPB	: Règlement produits biocides
SIFCIR	: Signalisation fonctionnelle des canaux ioniques et récepteurs
UE	: Union européenne
WHO	: World health organization
WIN	: Worldwide insecticide resistance network

## Liste des tableaux

Tableau 1. Substances actives TP18 utilisées ou potentiellement utilisables en LAV.....	24
Tableau 2. Principales mutations de cible conférant une résistance aux insecticides chimiques chez les moustiques vecteurs.....	30
Tableau 3. Principaux insecticides utilisés contre les vecteurs et mécanismes de résistance associés. (Adapté du rapport du CNEV, 2014).....	32
Tableau 4. Doses diagnostiques recommandées par l'OMS pour les tests sur adultes. (WHO 2016, WHO 2021). .....	41
Tableau 5. Doses et temps discriminants du test en bouteilles CDC. (WHO 2016) .....	42
Tableau 6. Doses diagnostiques et surfactant approprié pour la réalisation des tests en bouteilles de l'OMS. ....	43
Tableau 7. Liste des principales molécules synergistes utilisées lors des tests biologiques. ...	45
Tableau 8 . Avantages et inconvénients des différentes méthodes biologiques pour la détection de la résistance. ....	46
Tableau 9. Liste des techniques de détection des mutations majeures sur les cibles des insecticides chez les espèces d'intérêt. ....	49
Tableau 10. Principaux marqueurs moléculaires utilisables pour détecter la résistance métabolique.....	52
Tableau 11. Niveaux de résistance au <i>Bti</i> et à la deltaméthrine observés pour les populations d' <i>Aedes albopictus</i> collectées entre 2016 et 2019. ....	58
Tableau 12. Statut de résistance d' <i>Aedes aegypti</i> au <i>Bti</i> , au téméphos (larves) et à la deltaméthrine (adultes) sur l'île de la Martinique. Marcombe <i>et al.</i> 2012. ....	65
Tableau 13. Caractéristiques des échantillons de <i>Cx. quinquefasciatus</i> collectés entre 1990 et 1999. (Yebakima <i>et al.</i> 2004).....	67
Tableau 14. Résultats des tests de résistance des populations d' <i>Aedes aegypti</i> de Guadeloupe et de Saint-Martin à la deltaméthrine (adultes), au malathion (larves) et au téméphos (larves) (Goindin <i>et al.</i> 2017).....	70
Tableau 15. Résultats des tests de résistance des populations de <i>Culex quinquefasciatus</i> de Guadeloupe à la deltaméthrine (adultes), au malathion (larves) et au téméphos (larves) (Delannay <i>et al.</i> 2018). ....	71
Tableau 16. Résultats de tests en tubes à la dose de 0,05 % de deltaméthrine sur les femelles d' <i>Aedes aegypti</i> entre 2010 et 2019 (Extrait de Guidez <i>et al.</i> 2020 et des rapports de la CTG). ....	74
Tableau 17. Résultats de tests en tubes sur les femelles d' <i>Aedes aegypti</i> entre 2010 et 2019 (Extrait de Guidez <i>et al.</i> 2020). ....	76
Tableau 18. Résultats de tests en tubes sur les femelles de <i>Culex quinquefasciatus</i> . ....	77
Tableau 19. Niveaux de résistances des moustiques de Mayotte à six larvicides et un adulticide. Pocquet <i>et al.</i> 2014 .....	80
Tableau 20. Fréquences des allèles <i>ace-1</i> , <i>kdr</i> , <i>Rdl</i> et du phénotype Ester <sup>2</sup> chez <i>Culex quinquefasciatus</i> provenant de 10 localités de Mayotte.....	82

Tableau 21. Niveaux de résistance larvaires de <i>Culex quinquefasciatus</i> à différents insecticides. Tantely <i>et al.</i> 2010.....	84
Tableau 22. Fréquence allélique au locus <i>Ester</i> , <i>ace-1</i> et <i>Rdl</i> dans les populations échantillonnées en 2008. (Tantely <i>et al.</i> 2010) .....	85
Tableau 23. Fréquence allélique au locus <i>Rdl</i> dans les populations échantillonnées en 2011-2012 (Lebon <i>et al.</i> 2021). .....	85
Tableau 24. Statut de résistance d' <i>Aedes aegypti</i> , <i>Aedes polynesiensis</i> et <i>Culex quinquefasciatus</i> sur l'île de Tahiti. (FAILLOUX, 1994).....	93
Tableau 25. Exemple de tableau énumérant les informations nécessaires pour répertorier les sites sentinelles existants et proposés pour le suivi de la résistance aux insecticides. Source WHO 2017. ....	100
Tableau 26. Avantages et inconvénients de l'utilisation de la génération F1 (descendance) ou la génération F0 (femelles sauvages) pour les tests de résistance (source WHO 2016). ....	102
Tableau 27. Nombre minimum de moustiques à utiliser lors des tests biologiques pour la surveillance de la résistance .....	103
Tableau 28. Indicateurs utilisés pour définir le niveau de résistance à l'échelle populationnelle. ....	107
Tableau 29. Stratification du risque de résistance à l'échelle du territoire.....	112
Tableau 30. Arbre décisionnel des actions de surveillance et de lutte antivectorielle à mettre en œuvre en fonction du risque de résistance (RiR) à l'échelle du territoire (pour un insecticide et une espèce donnée).....	114
Tableau 31. Position de certains territoires (Guadeloupe, Saint-Martin, Guyane, La Réunion, Martinique, Mayotte et Polynésie Française) au regard de la résistance de <i>Culex quinquefasciatus</i> à la deltaméthrine .....	138
Tableau 32. Position de certains territoires (Guadeloupe, Saint-Martin, Guyane, La Réunion, Mayotte, Nouvelle-Calédonie, Polynésie Française) au regard de la résistance d' <i>Aedes aegypti</i> à la deltaméthrine.....	138
Tableau 33. Position de certains territoires (Hexagone et Corse, Mayotte et La Réunion) au regard de la résistance d' <i>Aedes albopictus</i> à la deltaméthrine .....	139
Tableau 34. Position de certains territoires (Martinique, Guadeloupe, Mayotte et Polynésie Française) au regard de la résistance d' <i>Aedes aegypti</i> au téméphos.....	139
Tableau 35. Position de certains territoires (Guyane, Guadeloupe, Nouvelle-Calédonie et Polynésie Française) au regard de la résistance d' <i>Aedes aegypti</i> au malathion.....	139
Tableau 36. Exemples de stratégies utilisables pour gérer les résistances aux insecticides (WHO, 2012).....	140
Tableau 37. Utilisation raisonnée des insecticides.....	140



## Liste des figures

Figure 1. Principaux mécanismes de résistance aux insecticides chimiques (David <i>et al.</i> 2013). .....	27
Figure 2 : Facteurs influençant la dynamique de la résistance aux insecticides dans les populations d'insectes (Dusfour, 2019).....	36
Figure 3. Schéma récapitulatif du protocole de dissociation mécanique des têtes de moustiques permettant d'obtenir les neurones isolés maintenus en culture à court-terme. (Lavialle-Defaix <i>et al.</i> 2011).....	53
Figure 4. Schéma de la technique de patch-clamp, configuration entière (Bodereau-Dubois Béatrice, 2011).....	54
Figure 5. Exemple d'effets d'un pyréthrianoïde de type I, la perméthrine (10 <sup>-5</sup> M) sur les canaux sodium exprimés dans des neurones isolés de moustiques <i>Anopheles gambiae</i> , souches sensible Kis (gauche) et KdrKis (droite) montrant une résistance aux pyrethrianoïdes par l'intermédiaire de la mutation kdr L1014F. (Communication personnelle, Laboratoire SiFCIR)54	54
Figure 6. Visualisation des variations de la concentration en calcium intracellulaire au sein d'un corps cellulaire de neurone isolé d' <i>Aedes aegypti</i> souche Bora Bora (a), souche Vauclin (Martinique) (b) en présence d'un pyréthrianoïde de type II, la deltaméthrine (10 <sup>-6</sup> M) grâce à la technique fluorescente d'imagerie calcique. (Communication personnelle, Laboratoire SiFCIR) .....	55
Figure 7. Mortalité des population d' <i>Aedes albopictus</i> échantillonnées en 2020 après exposition à la deltaméthrine.....	59
Figure 8. Fréquence maximale des allèles de résistances du locus Ester sur la période 1986 – 2012. (Milesi <i>et al.</i> 2016).....	61
Figure 9. Carte de la Martinique montrant les populations échantillonnées au niveau macro-géographique (9 populations). Marcombe <i>et al.</i> 2012.....	64
Figure 10. Evolution des fréquences alléliques Est-1 et Ester en Martinique entre 1990 et 1999. Yebakima <i>et al.</i> , 2004.....	66
Figure 11. Carte de la Guadeloupe (à l'exception de Saint Martin) représentant les sites de collectes pour la réalisation des tests insecticides.....	69
Figure 12. Carte de la Guyane et emplacement des sites de collectes.....	73
Figure 13. Carte de Mayotte avec les zones d'échantillonnages.....	81
Figure 14. Site d'échantillonnage sur l'île de La Réunion (Tantely <i>et al.</i> 2010).....	84
Figure 15. Evolution de la mortalité d' <i>Aedes aegypti</i> soumis à la deltaméthrine sur le Grand Nouméa entre 2003 et 2013. (Guillaumot <i>et al.</i> , 2015).....	89
Figure 16. Evolution de la mortalité d' <i>Aedes aegypti</i> soumis à la deltaméthrine sur le Grand Nouméa entre 2003 et 2016.....	89
Figure 17. Résultats des tests en tubes OMS réalisés sur des populations d' <i>Aedes aegypti</i> de 2015/2016. (Source Rapport d'activité IPNC 2016).....	90
Figure 18. Limites géographiques des 5 secteurs du réseau de surveillance entomologique (RSE) et nombre de maisons recensées. (Rapport d'activité de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, 2015).....	90

Figure 19. Localisation des populations d' <i>Aedes aegypti</i> (MAT, VAA et TIA), d' <i>Aedes polynesiensis</i> (BC) et de <i>Culex quinquefasciatus</i> (Cx) dont la sensibilité à la deltaméthrine a été évaluée en Polynésie Française. (Rapport ILM, Tests de sensibilité aux insecticides, 2018).....	94
Figure 20. Localisation de Wallis et Futuna .....	95
Figure 21. Schéma récapitulatif du dispositif de surveillance de la résistance des moustiques au stade adulte et larvaire (modifié d'après WHO 2016 a,b).....	109

# 1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

## 1.1 Contexte

Les moustiques des genres *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* peuvent véhiculer des agents pathogènes (par exemple virus ou parasites), responsables de certaines pathologies humaines ou animales pouvant être fortement invalidantes voire mortelles.

Dans le contexte actuel de l'émergence et de la réémergence des maladies vectorielles dues notamment aux changements climatiques et à la globalisation des échanges, la lutte antivectorielle (LAV), et notamment sa composante biocide, revêt un enjeu crucial. La LAV, dans sa composante biocide est menée avec des insecticides, qui sont des produits biocides TP18\* dont la mise sur le marché est encadrée par le règlement sur les produits biocides [RPB, règlement (UE) n°528/2012] concernant la mise sur le marché et l'utilisation des produits biocides.

Dans plusieurs régions françaises, en particulier dans les territoires ultra-marins, les moustiques vecteurs ont sélectionné des mécanismes de résistance aux insecticides utilisés, ce qui peut rendre les opérations de traitements moins efficaces, pouvant aller jusqu'à remettre en cause les stratégies de recours aux insecticides. A ce jour, les modalités de suivi et de gestion de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides sont hétérogènes et varient en fonction des territoires. Les dispositions du décret n°2019-258 du 29 mars 2019 relatif à la prévention des maladies vectorielles, prévoient notamment l'élaboration d'un arrêté sur les modalités de suivi des résistances des espèces vectrices locales aux produits biocides utilisés en lutte antivectorielle (Art. R. 3114-14 du code de la santé publique).

Dans le cadre du programme de travail 2020 établi entre les ministères de tutelles et l'Anses, la direction générale de la santé (DGS) et la direction générale de la prévention des risques (DGPR) ont mandaté l'Anses pour conduire une expertise en vue de proposer dans un premier temps des lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides (étape 1) et dans un second temps des recommandations pour la mise en place d'une stratégie de traitement par les produits biocides en contexte inter-épidémique et en contexte épidémique (étape 2).

Dans les territoires où aucune résistance des moustiques vecteurs aux insecticides n'est connue, le suivi de la résistance devra porter sur les biocides autorisés à l'heure actuelle en LAV en France. Dans les territoires où des résistances sont connues, cette surveillance portera également sur les anciennes molécules utilisées et sur les produits biocides identifiés par l'Anses ne disposant pas d'autorisation dans l'Union européenne, mais utilisables dans le cadre d'une dérogation.

## 1.2 Objet de la saisine

### 1.2.1 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié l'instruction de cette saisine au groupe de travail « Résistance des moustiques vecteurs aux insecticides », rattaché au comité d'experts spécialisé « Substances et produits biocides ». Celle-ci comporte deux étapes :

- Une première étape visant à proposer des lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides en tenant en compte de la nécessité de mieux identifier les possibles effets synergiques sur l'augmentation des résistances. Ces lignes directrices tiendront compte notamment des différences de mécanismes connus de résistance des moustiques et de la nécessité d'utiliser des produits biocides contenant des substances synergistes.
- Une seconde étape visant à proposer des recommandations pour la mise en place d'une stratégie d'utilisation pour chaque territoire :
  - Des produits biocides utilisables en accord avec la réglementation européenne 528/2012 sur les produits biocides en inter-épidémie ;
  - Des produits biocides existants en épidémie, notamment dans les territoires où des résistances sont avérées chez les espèces impliquées dans l'épisode épidémique.

Le présent rapport fait état des travaux réalisés dans le cadre de l'étape 1 de cette saisine.

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été présentés régulièrement au CES « Substances actives et produits biocides ». Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et de l'avis du CES.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

Des auditions de quinze structures institutionnelles et opérateurs de LAV (ex. ARS, collectivités territoriales, Institut Pasteur, opérateurs de LAV) en France hexagonale et dans les territoires ultramarins ont été menées de janvier à mars 2021. La liste des organismes auditionnés est détaillée dans le présent rapport d'expertise. Ces auditions ont permis aux experts du GT-RMVI de prendre connaissance des modalités de suivi et de gestion de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides sur ces territoires afin de réaliser un état des lieux des actions menées dans le passé et/ou à l'heure actuelle au niveau national.

Les experts du groupe de travail ont réalisé un travail d'analyse du contenu de ces auditions. Ils en ont tiré les éléments d'information jugés importants, et les ont utilisés pour alimenter certaines parties du rapport. Cette restitution, qui appartient aux experts du groupe de travail, n'engage aucune des personnes auditionnées, bien qu'elle s'appuie évidemment sur les entretiens conduits avec eux.

Les travaux ont été adoptés par le CES « Substances actives et produits biocides » réuni le 22 juillet 2021.

### 1.3 Prévention des risques de conflits d'intérêts

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

## 2 Définitions<sup>1</sup>

### ■ Adaptation

Modification héritable d'un caractère génétique, physiologique ou comportemental chez les individus d'une population sous l'effet d'une pression de sélection qui améliore leur survie et/ou leur succès reproducteur dans un environnement donné.

### ■ Concentration létale 50 (CL<sub>50</sub> ou Concentration létale médiane)

Concentration d'une substance toxique qui provoque la mort de 50 % des individus exposés à ce produit. Cet indicateur permet de mesurer et comparer le niveau de sensibilité de populations de moustiques vis-à-vis d'une substance biocide.

### ■ Concentration létale 99 (CL<sub>99</sub>)

Concentration d'une substance toxique qui provoque la mort de 99 % des individus exposés à ce produit. Cet indicateur permet de déterminer les doses diagnostiques OMS\*.

### ■ Coût génétique

Une mutation qui confère une adaptation pour un trait biologique dans un environnement donné, est souvent associée à des effets délétères sur d'autres traits biologiques (reproduction, développement, longévité, etc.). Ces effets négatifs ont pour conséquence de réduire la valeur sélective en absence de pression de sélection. Le coût génétique est un facteur à prendre en compte dans le cadre de la conception et de la mise en œuvre d'un plan de gestion de la résistance.

### ■ Dose diagnostique de l'OMS

Dose d'un insecticide utilisée pour discriminer les phénotypes sensibles et résistants dans un échantillon de population de moustiques. Elle est généralement estimée en multipliant par 2 la Concentration Létale 99\*, sur des souches de moustiques de référence sensibles. Ce terme est connu sous « Discriminating Concentration » en anglais.

### ■ Effet additif

L'effet combiné de deux composés d'un mélange est égal à la somme des effets des deux produits pris séparément.

### ■ Effet antagoniste

L'effet combiné de deux composés d'un mélange est inférieur à la somme des effets des deux produits pris séparément. Un effet antagoniste peut être produit par un composé dépourvu d'effet propre (l'antagoniste est alors appelé neutre), ou au contraire par un composé exerçant sur le récepteur un effet opposé à celui des agonistes.

### ■ Effet Knock down (KD)

Définit un effet choc, rapide et paralysant (parfois réversible) d'un insecticide résultant de l'action de celui-ci sur le système nerveux de l'insecte. L'effet « *knock down* » est caractéristique des insecticides pyréthrinoïdes et du DDT qui agissent sur les canaux sodium dépendants du potentiel en créant des dépolarisations répétées des récepteurs cibles.

### ■ Effet synergique

L'effet combiné de deux composés d'un mélange est supérieur à la somme des effets des deux produits pris séparément.

---

<sup>1</sup> Les termes identifiés par un astérisque dans le rapport sont définis dans cette section.

### ■ **Epistasie**

En génétique, l'épistasie désigne l'interaction existant entre deux ou plusieurs gènes.

### ■ **Évolution de la résistance**

Changement, au niveau populationnel, de la fréquence d'une résistance phénotypique et/ou génotypique à travers les générations sous l'effet combiné de la sélection naturelle (pression de sélection), la dérive génétique et la migration.

### ■ **Insecticide**

Substance active ou formulation ayant la propriété de tuer les insectes. Dans la réglementation biocide les insecticides appartiennent au type de produit 18\*.

### ■ **Lutte antivectorielle**

Dans son acception la plus large, la lutte antivectorielle (ou LAV) comprend la surveillance et lutte contre les arthropodes hématophages (insectes et acariens), vecteurs d'agents pathogènes à l'homme et aux vertébrés. La LAV s'appuie sur des méthodes qui diffèrent selon les vecteurs et selon les contextes épidémiologiques et socio-économiques. Elle inclut la lutte biologique\*, la lutte chimique\*, la lutte génétique\*, la lutte mécanique/physique\* et la mobilisation communautaire (incluant l'éducation sanitaire, la communication, la sensibilisation, etc.).

### ■ **Lutte biologique**

Utilisation d'un ennemi « naturel » contre un arthropode vecteur pour en diminuer les populations et ainsi réduire les risques de transmission du pathogène. Parmi les organismes utilisés en lutte biologique, on peut distinguer les prédateurs (poissons larvivores, copépodes, parasitoïdes, etc.) et les entomopathogènes (champignons).

### ■ **Lutte chimique**

Techniques utilisant des produits d'origine végétale ou chimique (de synthèse) pour repousser (ex. répulsifs), attirer (ex. attractifs) ou tuer (ex. insecticides) une population d'insecte cible.

### ■ **Lutte génétique**

Consiste en l'emploi de toutes les conditions et méthodes de traitement susceptibles de réduire la capacité vectorielle des vecteurs par une altération ou un remplacement du matériel héréditaire. Le relargage en masse de ces vecteurs stériles ou génétiquement modifiés vise à réduire la densité ou de modifier le patrimoine génétique des populations naturelles.

### ■ **Lutte mécanique/physique**

Méthodes ayant pour objectif de diminuer l'abondance des vecteurs par exemple en modifiant leur habitat naturel (ex. destruction des gîtes), en réduisant le contact hôte-vecteur par l'utilisation d'outils de protection individuelle (moustiquaires, rideaux, vêtements longs, etc.), en bloquant la respiration des stades immatures (ex. film de surface), ou en bloquant l'accès aux sites de pontes (ex. par des billes de polystyrène).

### ■ **Pléiotropie**

Effets d'un gène sur plusieurs caractères phénotypiques.

### ■ **Point de bascule (ou « tipping point » en anglais)**

Point critique auquel la résistance à un insecticide est présente dans une population à faible fréquence et est susceptible d'augmenter rapidement sous l'effet d'une pression de sélection. Par exemple, un gène de résistance ayant une fréquence initiale de 0.000001 % peut doubler de fréquence pendant très longtemps avant d'atteindre 1 % et ainsi devenir détectable au sein d'une population. En revanche, une fois la fréquence de 1 % atteinte (« point de bascule »), il faudrait en théorie seulement 6 générations de doublement de la fréquence de l'allèle pour

atteindre une fréquence > 50 % dans la population. Ce point de bascule est important dans la mise en place d'un plan de surveillance et de gestion de la résistance adapté localement.

#### ■ **Potentialisation**

Situation dans laquelle un composé chimique ou biologique augmente le pouvoir toxique d'un insecticide.

#### ■ **Pression de sélection**

En biologie évolutive, le concept de pression de sélection désigne l'ensemble des contraintes (biotiques et abiotiques) exercées sur un individu ou une population qui entraînent une évolution de cette population au fil du temps. En LAV, la principale pression de sélection exercée sur une population de moustiques provient des insecticides qui, utilisés régulièrement, éliminent progressivement les individus sensibles pour sélectionner les individus porteurs d'allèles résistants.

#### ■ **Produit biocide**

Toute substance ou tout mélange, sous la forme dans laquelle il est livré à l'utilisateur, constitué d'une ou plusieurs substances actives, en contenant ou en générant, qui est destiné à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière par une action autre qu'une simple action physique ou mécanique. Les produits biocides utilisés en LAV ne sont pas des produits phytosanitaires et sont soumis à une réglementation particulière (cf. Règlement (UE) n°528/2012).

#### ■ **Pro-insecticides**

Groupe d'insecticides qui nécessitent une bio-activation *in vivo* pour produire des métabolites plus efficaces sur les cibles. La transformation de l'insecticide en métabolite plus actif est possible grâce à l'action des enzymes de détoxification, généralement des estérases ou des oxydases.

#### ■ **Ratio de résistance (RR)**

Nombre par lequel une dose d'insecticide doit être multipliée afin d'obtenir la même mortalité que pour une population sensible de référence. Le  $RR_{50}$  (communément utilisé dans la surveillance de la résistance) est calculé en divisant la concentration létale 50 obtenue sur la population étudiée par celle obtenue sur la colonie de référence sensible.

#### ■ **Ratio de synergie ( $RS_{50}$ )**

Nombre par lequel une dose d'insecticide doit être multipliée afin d'obtenir la même mortalité que pour une population sensible de référence en présence d'une molécule synergiste. Le  $RS_{50}$  est mesuré lors des tests synergistes pour étudier l'implication d'enzymes de détoxification dans la résistance à un insecticide. Il s'obtient en divisant la concentration létale 50\* de la population étudiée par celle obtenue sur la colonie de référence sensible en présence d'un synergiste.

#### ■ **Résistance (OMS)**

Trait génétique héréditaire qui confère à un individu (ou un groupe d'individus) la faculté de survivre à des doses d'insecticides létales pour la majorité des autres individus de la même espèce.

#### ■ **Résistance croisée**

Un seul mécanisme conférant une résistance à plusieurs molécules insecticides. La résistance croisée peut affecter plusieurs familles d'insecticides.

#### ■ **Résistance multiple**

Plusieurs mécanismes distincts conférant une résistance à plusieurs molécules insecticides. La résistance multiple peut affecter plusieurs familles d'insecticides.



### ■ **Résistance opérationnelle (IRAC)**

Changement de sensibilité d'une population d'organismes nuisibles qui se traduit par l'incapacité répétée d'un produit à atteindre le niveau de contrôle attendu lorsqu'il est utilisé conformément aux recommandations d'utilisation. On parle alors de résistance « opérationnelle » comme celle induisant un échec de contrôle des populations cibles.

### ■ **Suivi de la résistance**

Protocole expérimental permettant de détecter l'émergence d'une résistance dans les populations naturelles d'insectes et de suivre son évolution dans l'espace et dans le temps.

### ■ **Synergisant (agent)**

Un agent synergisant est un composé chimique ou biologique utilisé à des concentrations non létales pour activer des voies de signalisations intracellulaires qui modifient la conformation de la cible et permettent de potentialiser l'effet d'un insecticide tout en diminuant les doses et ainsi améliorer l'efficacité du traitement.

### ■ **Synergistes (inhibiteurs enzymatiques)**

Composés chimiques utilisés à des concentrations non létales pour inhiber le système enzymatique impliqué dans la détoxification des insecticides. Ces composés sont utilisés lors des tests biologiques pour détecter l'implication d'un mécanisme métabolique dans la résistance. Certains synergistes (ex. Pipéronyl butoxide/PBO) sont aussi utilisés en LAV en mélange avec un insecticide pour augmenter sa toxicité.

### ■ **Tolérance**

Mécanisme physiologique transitoire, non héréditaire, permettant à certains individus de survivre à des doses d'insecticide supérieures à celles que peuvent supporter d'autres individus du même groupe. Contrairement à la résistance, la tolérance entraîne une modification provisoire de l'efficacité d'un insecticide sans effet héréditaire. La tolérance signifie que l'insecte subit peu ou pas d'effet de l'insecticide. La tolérance n'a de sens qu'en fonction d'un environnement donné.

### ■ **TP18**

A l'annexe V du RPB, les produits biocides sont classés en 22 types de produits (TP) biocides. Ces derniers sont répartis en 4 groupes principaux : les désinfectants, les produits de protection, les produits de lutte contre les nuisibles, et les autres produits biocides. Les TP18 font partie du groupe 3 ; les produits utilisés pour lutter contre les arthropodes (tels que les insectes, les arachnides et les crustacés), par d'autres moyens qu'en les repoussant ou en les attirant.

### ■ **Valeur sélective**

En biologie évolutive, la valeur sélective (« fitness » en anglais) décrit la capacité d'un individu d'un certain génotype à contribuer à la génération suivante et donc à propager ces gènes dans une population et dans un environnement donné.

### ■ **Vecteur**

En entomologie médicale, un vecteur est un arthropode hématophage qui assure la transmission biologique active d'un agent pathogène (virus, bactérie, parasite) d'un vertébré infecté (« hôte donneur ») à un autre vertébré sensible (« hôte récepteur »). Dans son acception la plus large, on peut également inclure les vecteurs dits "mécaniques", qui transportent simplement l'agent pathogène d'un hôte vertébré à un autre, sans faire intervenir de processus biologique.

**■ Xénobiotique**

Substance organique d'origine étrangère à un organisme vivant (polluant, insecticide, antibiotique, etc.). Un xénobiotique peut être létal ou sub-létal pour l'individu (y compris à faibles concentrations) et exercer des effets importants sur le système immunitaire et/ou métabolique d'un insecte mais également sur son comportement.

## 3 Etat des connaissances sur la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides

### 3.1 Substances actives biocides utilisées en LAV et leur mode d'action

La connaissance des modes d'action des substances actives insecticides permet de comprendre les modalités d'efficacité du produit, de proposer et favoriser le développement de nouvelles substances et formulations par une meilleure connaissance de la (des) cible(s), mais aussi (i) d'utiliser des associations avec des substances actives de familles chimiques différentes pour obtenir des effets additifs ou synergiques (ii) de mieux gérer les risques de résistance sélectionnée chez les insectes (ex. prévenir la sélection d'allèles de résistance par une utilisation raisonnée des insecticides et anticiper les résistances croisées entre substances) et (iii) de limiter les effets indésirables sur les organismes non-cibles et sur l'environnement.

Actuellement en France, la deltaméthrine est utilisée comme adulticide et le *Bti* (*Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*) comme larvicide.

Pour pallier les problèmes de résistance liés à l'utilisation prolongée d'une seule substance en LAV, d'autres biocides pourraient être potentiellement utilisés (cf. Tableau 1). Ils appartiennent au type de produit n°18 (TP18) de la classification européenne des biocides regroupant les produits utilisés pour lutter contre les arthropodes (c.-à-d. les insectes, les arachnides et les crustacés), par d'autres moyens qu'en les repoussant ou en les attirant.

Le Tableau 1 liste les substances actives TP18 avec leur nom et leur *Chemical Abstract Service Registry Number* (CAS RN), leur famille chimique et leur catégorie selon l'*Insecticide Resistance Action Committee* (IRAC, <https://irac-online.org/>). L'existence d'une utilisation en LAV dans le monde est mentionnée. Enfin, leur présence ou non dans la liste de pré-qualification de l'OMS (WHO-PQ) et leur statut réglementaire européen avec un usage éventuel contre les moustiques sont également indiqués.

Tableau 1. Substances actives TP18 utilisées ou potentiellement utilisables en LAV

Nom	CAS RN*	Famille	Groupe IRAC*	Sous-groupe IRAC*	LAV*	WHO -PQ*	Statut UE*	Usage moustiques
Abamectine	71751-41-2	Avermectine	6				AP	<i>a priori</i> oui
Acétamipride	135410-20-7	Néonicotinoïde	4	A			AP	oui
Acide décanoïque	334-48-5	Acide gras saturé					AP	
Acide octanoïque	124-07-2	Acide gras saturé					AP	
<i>d</i> -Alléthrine	231937-89-6	Pyréthriinoïde type I	3	A			DIA	oui
Azaméthiphos	35575-96-3	Organophosphoré	1	B			DA	oui
Azote	7727-37-9	Composé inorganique					AP	
<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	143447-72-7	Microorganisme	11	B	oui		PPC	oui
<i>L. sphaericus</i> 2362, souche ABTS-1743	143447-72-7	Microorganisme	11	B	oui		AP	oui
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>israelensis</i> ( <i>Bti</i> ), serotype H14, souche AM65-52	-	Microorganisme	11	A	oui		AP	oui
<i>Bti</i> , serotype H14	-	Microorganisme	11	A	oui		PPC	oui
<i>Bti</i> , souche SA3A	-	Microorganisme	11	A	oui		AP	oui
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> , souche ABTS-351	-	Microorganisme	11	A	oui		AP	oui
Bendiocarbe	22781-23-3	Carbamate	1	A	oui	oui	AP	oui
Chlorfénapyr	122453-73-0	Pyrrole halogéné	13		oui	oui	DIA	oui
Clothianidine	210880-92-5	Néonicotinoïde	4	A	oui	oui	AP	oui
Cyanamide	420-04-2	Carbamonitrile					DIA	non
Cyfluthrine	68359-37-5	Pyréthriinoïde type II	3	A	oui		AP	oui
<i>lambda</i> -Cyhalothrine	91465-08-6	Pyréthriinoïde type I	3	A	oui	oui	AP	oui

Nom	CAS RN*	Famille	Groupe IRAC*	Sous-groupe IRAC*	LAV*	WHO -PQ*	Statut UE*	Usage moustiques
Cyperméthrine	52315-07-8	Pyréthriinoïde type II	3	A	oui	oui	AP	oui
<i>alpha</i> -Cyperméthrine	67375-30-8	Pyréthriinoïde type II	3	A	oui	oui	AP	oui
Cyphénothrine	39515-40-7	Pyréthriinoïde type II	3	A	oui	oui	AP	oui
Cyromazine	66215-27-8	Régulateur de croissance	17				AP	oui
Deltaméthrine	52918-63-5	Pyréthriinoïde type II	3	A	oui	oui	AP	oui
Diflubenzuron	35367-38-5	Phénylurée	15		oui	oui	AP	oui
Dinotéfurane	165252-70-0	Néonicotinoïde	4	A			AP	oui
Dioxyde de carbone	124-38-9	Composé inorganique					AP	
Empenthrine	54406-48-3	Pyréthriinoïde type I	3	A			NA	oui
Esbiothrine	260359-57-7	Pyréthriinoïde type I (mélange)					DIA	oui
Esfenvalérate	66230-04-4	Pyréthriinoïde type II	3	A			PPC	oui
Etofenprox	80844-07-1	Pseudo-pyréthriinoïde, diméthyl éther	3	A	oui	oui	AP	oui
Fipronil	120068-37-3	Phénylpyrazole	2	B			AP	oui
Fluorure de sulfuryle	2699-79-8	Composé inorganique					AP	
Géranol	106-24-1	Alcool terpénique insaturé	UNE				DIA	non
Hexaflumuron	86479-06-3	Phénylurée	15				AP	oui
Imidaclopride	138261-41-3	Néonicotinoïde	4	A			AP	oui
Imiprothrine	72963-72-5	Pyréthriinoïde type I					AP	<i>a priori</i> oui
Indoxacarbe (S:R 75:25)	173584-44-6	Oxadiazine	22	A			AP	oui
S-méthoprène	65733-16-6	Mimétique d'hormones juvéniles	7	A	oui		AP	oui

Nom	CAS RN*	Famille	Groupe IRAC*	Sous-groupe IRAC*	LAV*	WHO -PQ*	Statut UE*	Usage moustiques
Métofluthrine	240494-71-7	Pyréthroïde type I			oui	oui	AP	oui
<i>epsilon</i> -Momfluorothrine	1065124-65-3	Pyréthroïde type II					AP	
Perméthrine	52645-53-1	Pyréthroïde type I	3	A	oui	oui	AP	oui
<i>d</i> -phénothrine	188023-86-1	Pyréthroïde type I	3	A			PPC	oui
1 <i>R</i> - <i>trans</i> -phénothrine	26046-85-5	Pyréthroïde type I	3	A			AP	oui
Pipéronyl butoxide/PBO	51-03-6	Synergiste			oui		AP	oui
Pralléthrine	23031-36-9	Pyréthroïde type I	3	A			DIA	oui
Pyréthrinés et Pyréthroïdes	8003-34-7	Pyréthroïde naturel	3	A			PPC	oui
Pyriproxyfène	95737-68-1	Mimétique d'hormones juvéniles	7	C	oui	oui	AP	oui
Spinosad	168316-95-8	Spinosynes	5		oui	oui	AP	oui
Tétraméthrine	7696-12-0	Pyréthroïde type I	3	A			DIA	oui
<i>d</i> -Tétraméthrine	1166-46-7	Pyréthroïde type I	3	A			DIA	oui
Thiaméthoxame	153719-23-4	Néonicotinoïde	4	A			AP	oui
Transfluthrine	118712-89-3	Pyréthroïde type I	3	A			AP	oui
Triflumuron	64628-44-0	Phénylurée	15		oui		NA	oui

\*AP : Approuvée ; PPC : Plus pris en charge ; NA : Non approuvée ; DA : Demande annulée ; DIA : Demande initiale d'approbation. Groupes et sous-groupes IRAC : <https://irac-online.org/modes-of-action/> ; WHO-PQ = WHO-Pre-qualification ; LAV = Utilisée ailleurs dans le monde en LAV ; UNE : Essence botanique, y compris synthétique, extraits et huiles non raffinées avec un mode d'action inconnu ou incertain.

## 3.2 Mécanismes de résistances connus chez les espèces cibles

Pour être efficace, un insecticide doit entrer en contact avec l'insecte afin d'être transporté jusqu'à sa cible pour y exercer son activité toxique. Tous les mécanismes qui empêchent ou modifient l'effet de l'insecticide au sein de l'organisme peuvent conduire à une résistance. La résistance aux insecticides correspond à un événement d'origine génétique et héritable qui conduit à une diminution de la sensibilité des insectes à un insecticide donné.

Il existe 4 grands types de résistance chez les moustiques et les arthropodes (cf. Figure 1) :

- les changements comportementaux ;
- la modification de la cuticule affectant la pénétration de l'insecticide (résistance cuticulaire) ;
- les mutations ponctuelles (ou résistance par modification de la cible), qui diminuent l'affinité de la protéine cible pour l'insecticide ;
- la détoxification enzymatique de l'insecticide ou sa séquestration (résistance métabolique).

Bien que les bases physiologiques et moléculaires de ces mécanismes de résistance soient distinctes, leur co-occurrence peut entraîner des résistances multiples et/ou croisées à plusieurs familles d'insecticides.

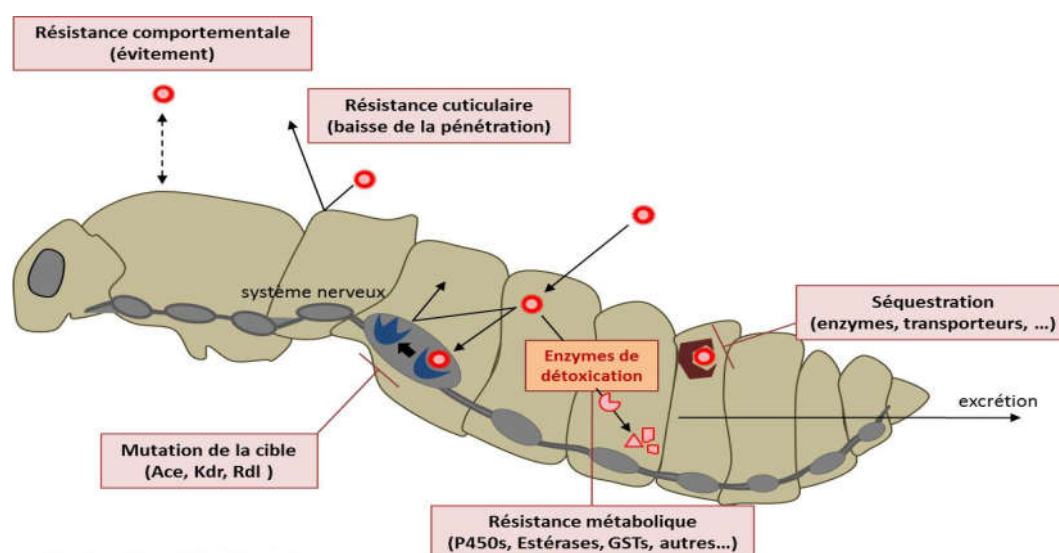


Figure 1. Principaux mécanismes de résistance aux insecticides chimiques (David *et al.* 2013).

(La puce rouge représente l'insecticide.)

### 3.2.1 Résistance comportementale

La résistance comportementale correspond à un changement de comportement des vecteurs ayant pour conséquence une survie accrue des vecteurs à l'insecticide. Les moustiques résistants auront donc tendance à éviter le contact avec un ou plusieurs insecticides (répulsion). Ils peuvent aussi montrer des particularités phénologiques associées à une exposition réduite. Par exemple, une vitesse de développement différente peut aboutir à la surreprésentation de stades moins sensibles lors des traitements. Jusqu'à maintenant, des modifications comportementales n'ont été observées que chez les vecteurs du paludisme en Afrique où l'activité de piqûre a évolué en réponse au déploiement des moustiquaires imprégnées : les périodes préférentielles de piqûres ont été décalées plus tôt avant la tombée

de la nuit ou plus tard vers l'aube, et la recherche des hôtes semble s'effectuer davantage en extérieur (exophilie<sup>2</sup> et exophagie<sup>3</sup>) plutôt qu'en intérieur (endophilie<sup>4</sup> et endophagie<sup>5</sup>) (Reddy *et al.* 2011, Moiroux *et al.* 2012, Sougoufara *et al.* 2014). Néanmoins, l'impact de ce changement de comportement sur l'efficacité des mesures de contrôle reste difficile à évaluer. De plus, le caractère héréditaire de ces modifications comportementales n'a pas encore été démontré car il est difficile de faire la distinction entre un comportement d'évitement spécifiquement sélectionné par les insecticides et une certaine plasticité comportementale des vecteurs en réponse aux insecticides. Bien que la surexpression de certaines protéines impliquées dans la chémoréception ait été associée à une tolérance aux pyréthriinoïdes (ex. protéines « Sensory Appendage Proteins » chez *An. gambiae*, Ingham *et al.* 2020), cette tolérance semble être plus associée à une séquestration accrue de l'insecticide plutôt qu'à un changement de comportement du vecteur. A ce jour, aucun marqueur moléculaire directement associé à un changement de comportement du vecteur sélectionné chez les populations résistantes n'a encore été mis en évidence.

### 3.2.2 Résistance cuticulaire

Les modifications structurales de la cuticule entraînant une pénétration réduite de l'insecticide restent assez mal documentées chez les moustiques en termes d'importance dans le phénotype global de résistance et de marqueurs moléculaires. Il est admis que ce type de résistance peut être la conséquence d'un épaissement de la cuticule et/ou d'un changement dans la proportion de ses constituants (chitine et protéines associées). Ce mécanisme, à lui seul, n'occasionne en général que de faibles niveaux de résistance bien qu'il puisse par définition conférer une résistance croisée à différents insecticides ayant des modes d'action différents.

Aujourd'hui, il existe plusieurs mécanismes qui limitent la pénétration de l'insecticide à travers la cuticule à savoir la surproduction :

- de protéines de structure de la cuticule (Balabanidou *et al.* 2018) ;
- d'enzymes de détoxification comme les cytochromes P450 impliquées dans la biosynthèse de la cuticule (ex. CYP4G16, CYP4G17 chez *An. gambiae*) ;
- d'enzymes d'oxydation (ex. laccase, tyrosinase) ;
- de transporteurs de type ABC impliqués dans des mécanismes de transferts trans-cuticulaires et réduisant la pénétration des insecticides (lipophiles) par une augmentation de la teneur de la cuticule en hydrates de carbone (Balabanidou *et al.* 2018).

Bien que la surexpression de gènes cuticulaires et/ou d'autres gènes impliqués dans la dynamique de la cuticule soit fréquemment rapportée chez les populations résistantes, l'importance de ces marqueurs dans le phénotype de résistance reste souvent à confirmer. De plus, ils sont encore peu utilisés pour détecter la résistance chez les moustiques.

<sup>2</sup> Exophilie : propriété des moustiques à rester à l'extérieur des habitations.

<sup>3</sup> Exophagie : propriété des moustiques à piquer à l'extérieur des habitations.

<sup>4</sup> Endophilie : propriété des moustiques à rester à l'intérieur des habitations.

<sup>5</sup> Endophagie : propriété des moustiques à piquer à l'intérieur des habitations.



### 3.2.3 Résistance par modification de la cible

La résistance par modification de la cible est la conséquence de mutations ponctuelles qui limitent l'affinité de la protéine cible pour l'insecticide (revue dans Labbé *et al.* 2017).

Les insecticides chimiques visent un nombre limité de protéines cibles, généralement localisées dans le système nerveux des insectes :

- les récepteurs GABA (codés par le gène *Rdl*) cibles des insecticides de la famille des cyclodiènes, des phénylpyrazoles (fipronil) et des isoxazolines ;
- les canaux sodium dépendants du potentiel (gène VGSC ou « para sodium channel ») cibles des organochlorés (dont le DDT) et des pyréthriinoïdes ;
- l'acétylcholinestérase (gène *ace-1*) cible des organophosphorés et des carbamates ;
- les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine (gènes *nAChR* codant pour les différentes sous-unités des récepteurs) cibles des néonicotinoïdes et du spinosad ;
- et la chitine synthase cible des analogues d'hormones de croissance tels que le diflubenzuron.

Les mêmes mutations ont souvent été sélectionnées indépendamment chez différentes espèces de moustiques et d'arthropodes (évolution convergente) car les gènes codant pour les cibles des insecticides sont eux-mêmes très conservés chez les insectes. Dans la plupart des cas, un nombre limité de mutations affectant le site de liaison de l'insecticide est responsable de la résistance. Des mutations supplémentaires peuvent être ensuite sélectionnées permettant d'augmenter les niveaux de résistance et/ou de restaurer les fonctions perturbées. Par ailleurs, un moustique peut présenter plusieurs mécanismes de résistance de façon concomitante, générant des phénomènes de résistance multiples (ex. présence de mutation *kdr* et *ace-1* G119S conférant à la fois une résistance aux pyréthriinoïdes et aux organophosphorés).

Chez les moustiques vecteurs, différentes mutations conférant une résistance ont été mises en évidence vis-à-vis des différentes familles d'insecticides : cyclodiènes (mutation *Rdl*), DDT et pyréthriinoïdes (mutations *kdr* des canaux sodium), organophosphorés et carbamates (mutations dans le gène *ace-1*), inhibiteurs de la synthèse de la chitine (mutation de la chitine synthase). Les mutations de cible confèrent une résistance à l'ensemble des insecticides de la même famille avec cependant des variations selon les molécules. Les principales mutations de cible dont le rôle dans la résistance est confirmé sont présentées dans le Tableau 2.

La résistance de type *kdr* (*knockdown resistance*) est due au remplacement d'un ou de plusieurs acides aminés de la protéine codant pour le canal sodium dépendant du potentiel. Certaines mutations *kdr* affectent des positions plus ou moins conservées entre espèces (ex. L1014F/S et V1016I/G chez *An. gambiae* et *Aedes aegypti*) tandis que d'autres sont plus spécifiques (V410L et S989P chez *Ae. aegypti*). A noter que d'autres mutations affectant les canaux sodium dépendant du potentiel ont été décrites mais leur rôle dans la résistance n'est pas toujours démontré. Enfin, on peut noter que certaines mutations *kdr* ont été associées à la résistance à d'autres insecticides tels que l'indoxacarbe et le métaflumizone (Silver *et al.* 2017).

Sur l'acétylcholinestérase (gène *ace-1*), seules trois mutations (G119S, F290V et F331W), responsables de la résistance aux organophosphorés et aux carbamates, ont été identifiées chez les moustiques (Alout *et al.* 2008). L'une d'elles (G119S) a été identifiée uniquement chez les moustiques alors que les deux autres ont été décrites aussi chez d'autres arthropodes (Hémiptères, Lépidoptères, Acariens). On peut noter que la mutation G119S n'est *a priori* pas

sélectionnée chez *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* car elle requiert le changement de plusieurs bases de l'ADN pour modifier la séquence protéique de l'acétylcholinestérase à cette position (Weill *et al.* 2004).

Sur le récepteur GABA (gène *Rdl*, pour Résistance à la dieldrine), les mutations A302S et A302G responsables de la résistance aux insecticides cyclodiènes ont été identifiées chez plusieurs espèces d'insectes et sont considérées comme une réponse génétique convergente à la surutilisation des insecticides cyclodiènes et/ou du fipronil.

Enfin, des études récentes ont montré l'association de trois mutations sur la séquence de la chitine synthase (I1043L, I1043M et I1043F) avec de fortes résistances au diflubenzuron dans des populations de *Cx. pipiens* (Grigoraki *et al.* 2017, Fotakis *et al.* 2020), avec des fréquences pouvant être faibles (~4 % à Montpellier) ou fortes (60-70 % au nord de l'Italie) (Fotakis *et al.* 2020).

**Tableau 2. Principales mutations de cible conférant une résistance aux insecticides chimiques chez les moustiques vecteurs**

Espèce	<i>Rdl</i>	<i>kdr</i>	<i>ace-1</i>	chitine synthase
<i>Aedes</i> spp.	A302S/G	V410L, S989P, V1016G/I, F1534C/S	-	-
<i>Culex</i> spp.	A302S/G	L1014F	G119S, F290V, F331W	I1043M, I1043L, I1043F
<i>Anopheles</i> spp.	A302S/G	L1014F/S	G119S	-

Bien que les mutations affectant la cible des insecticides confèrent souvent une résistance élevée à l'insecticide, elles génèrent aussi fréquemment un coût sur la valeur sélective en l'absence d'insecticide. Cela a été observé pour les mutations *kdr* et *ace-1*. Concernant la mutation *ace-1* G119S, elle réduit aussi l'activité catalytique de l'acétylcholinestérase, perturbant ainsi plusieurs caractéristiques physiologiques et comportementales de l'insecte. Or, une compensation de ce coût par duplication du gène *ace-1*, associant une copie *ace-1* sensible et une copie mutée résistante, a été observée chez presque toutes les populations de *Cx. pipiens* et d'*An. gambiae* traitées aux organophosphorés (Milesi *et al.* 2018). De plus, il a été montré que la présence simultanée des mutations *ace-1* et *kdr* pouvait diminuer le coût de chacune de ces mutations (Berticat *et al.* 2008). Ces compensations du coût de la résistance peuvent mettre en péril les stratégies de gestion de la résistance car l'existence d'un coût sélectif en absence de pression insecticide en est l'élément fondamental. Certaines mutations de cible persistent d'ailleurs dans les populations naturelles malgré l'arrêt de l'utilisation de certaines familles d'insecticides en LAV. Cette persistance, observée pour les mutations sur les récepteurs GABA par ex., peut être due à l'absence de coût ou à l'utilisation de produits biocides pour d'autres usages (ex. fipronil).

### 3.2.4 Résistance métabolique

Le terme « résistance métabolique » regroupe l'ensemble des mécanismes associés à une biodégradation accrue de l'insecticide en métabolites généralement moins toxiques et plus facilement excrétés. Néanmoins certaines enzymes, par exemple les estérases, peuvent aussi contribuer à la séquestration des insecticides (ex. organophosphorés) et notamment dans les corps gras (trophocytes en particulier). Au niveau évolutif, ce mécanisme de résistance a été acquis par les insectes il y a plusieurs millions d'années pour détoxifier les composés secondaires de défense synthétisés par les plantes (Després *et al.* 2007). Cette coévolution rapide a entraîné une très forte diversification des enzymes impliquées dans la biodégradation des xénobiotiques\* chez les insectes. En pratique, la résistance métabolique est largement répandue chez les moustiques et contribue de manière importante au phénotype global de résistance. Dans les populations naturelles, la résistance métabolique est souvent associée à d'autres mécanismes de résistance tels que les mutations de cible ou bien la résistance cuticulaire.

La résistance métabolique est en général la conséquence d'une surproduction chez les individus résistants d'une ou de plusieurs enzymes de détoxification capables de métaboliser et/ou de séquestrer l'insecticide (Liu *et al.* 2015). Les enzymes impliquées appartiennent majoritairement aux mono-oxygénases à cytochrome P450 (P450 ou *CYP* pour les gènes), aux glutathion S-transférases (GST) ainsi qu'aux carboxylestérases (COE), bien que d'autres familles d'enzymes puissent aussi être impliquées telles que des glycosyl-transférases, des sulfo-transférases et bien d'autres oxygénases. Ces enzymes peuvent avoir une action individuelle sur la molécule insecticide mais aussi agir séquentiellement lorsque la biodégradation de l'insecticide implique plusieurs étapes biochimiques. Les P450 interviennent durant la première phase de la détoxification et catalysent en général l'hydroxylation des insecticides (ajout d'un groupement –OH), bien que de nombreuses autres réactions d'oxydation puissent être catalysées. Les COE interviennent aussi durant la première phase de la détoxification en catalysant l'hydrolyse des liaisons ester. La deuxième phase de la détoxification fait généralement intervenir des enzymes de conjugaison telles que les GST et glycosyl-transférases qui catalysent l'addition d'un groupement hydrophile à l'insecticide.

Bien que la résistance soit généralement la conséquence d'une surexpression constitutive de ces enzymes chez les individus résistants, leur expression est aussi souvent inductible par les xénobiotiques environnementaux. Ainsi, il a été montré que l'exposition des moustiques à certains polluants (hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), herbicides, métaux lourds, *etc.*) peut augmenter leur tolérance aux insecticides chimiques utilisés en LAV *via* une stimulation de leur système de détoxification (Poupardin *et al.* 2008, Riaz *et al.* 2009, Suwanachinda *et al.* 2002, Djouaka *et al.* 2008, Nkya *et al.* 2013).

Des cas de résistance métabolique ont été décrits chez la plupart des insectes ravageurs et vecteurs de maladies, et affectent toutes les familles d'insecticides chimiques (*cf.* Tableau 3).

Tableau 3. Principaux insecticides utilisés contre les vecteurs et mécanismes de résistance associés. (Adapté du rapport du CNEV, 2014)

Familles d'insecticides	Cible biochimique				Mécanismes de résistance connus						
					Mutations de la cible				Métaboliques		
	Canaux sodium	AChE	Récepteur GABA	Récepteur ACh	<i>kdr</i>	<i>ace-1</i>	<i>Rdl</i>	<i>Nla</i>	COE	GST	P450
Organochlorés	X				++					++	+
Cyclodiènes			X				++				+
Organophosphorés		X				++			++	+	+
Carbamates		X				++			++		+
Néonicotinoïdes				X				+			++
Pyréthroïdes	X				++				+	+	++
Phénylpyrazoles			X				++				+
Avermectines			X		Inconnue						+
Insecticides régulateurs de croissance (IGR)	Récepteurs hormonaux et voie de biosynthèse de la chitine				Mutation des cibles						+
Toxines de <i>Bti</i>	Récepteurs de la paroi intestinale des larves de diptères				Mutations des récepteurs				Mécanismes probables : altération des toxines , immunité		
Toxine de <i>Bs</i>											

*AChE* : acétylcholinestérase, *ACh* : acétylcholine, *kdr* : knockdown resistance, *ace-1* : gène codant l'acétylcholinestérase, *Rdl* : resistance to dieldrin, *Nla* : sous-unité du récepteur nicotinique de l'acétylcholine. X indique la correspondance entre famille d'insecticide et cible biochimique ; +/++ indique l'intensité de la résistance.

Bien que les fondements biochimiques de la résistance métabolique soient connus, la caractérisation de ses bases génétiques reste parcellaire chez les moustiques en raison de sa complexité. En effet, les enzymes de détoxification appartiennent à de larges superfamilles géniques. De plus, leur capacité à dégrader les insecticides peut être spécifique mais aussi redondante (une ou plusieurs enzymes dégradant un ou plusieurs insecticides à différents degrés) et nécessite fréquemment plusieurs étapes biochimiques. Ainsi, à la différence des mutations de cible qui sont généralement bien conservées entre espèces, la résistance métabolique peut impliquer différents gènes/allèles selon les espèces et l'origine géographique des populations. A cela s'ajoutent les contraintes techniques liées à la caractérisation des gènes impliqués qui requiert généralement l'utilisation d'approches lourdes de séquençage très haut débit qui sont fortement dépendantes du degré d'annotation des génomes disponibles (David *et al.* 2013).

Au niveau génétique, la résistance métabolique peut être la conséquence d'une surexpression d'un ou de plusieurs gènes de détoxification ou bien de duplications géniques affectant un ou plusieurs gènes (Liu *et al.* 2015). Des modifications structurales des enzymes de détoxification (par mutation non synonyme) peuvent aussi augmenter leur activité vis-à-vis de l'insecticide bien que ce mécanisme soit encore assez peu documenté chez les moustiques. Les P450 ont été impliquées dans la résistance à toutes les familles d'insecticides (*cf.* Tableau 3). Cela inclut les organochlorés, les pyréthriinoïdes, les carbamates, les organophosphorés mais aussi certains IGR tels que le pyriproxifène (Yunta *et al.* 2016). Les COE sont fréquemment impliquées dans le métabolisme et la séquestration des organophosphorés, mais elles peuvent aussi intervenir dans la résistance aux carbamates et aux pyréthriinoïdes. Enfin, certaines GST sont capables de catalyser la déchloration du DDT (Lumjuan *et al.* 2011) mais ces enzymes interviennent aussi fréquemment dans la conjugaison des pyréthriinoïdes et des organophosphorés.

Chez les espèces les plus étudiées (Anophèles africains, *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Cx. pipiens*, *etc.*) la validation du rôle de certains gènes de détoxification dans la résistance aux insecticides permet aujourd'hui de les utiliser comme marqueurs moléculaires pour suivre la dynamique de la résistance métabolique sur le terrain (voir section 4.2).

### 3.2.5 Résistance aux toxines bactériennes

Les toxines du *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (*Bti*) et du *Lysinibacillus sphaericus* (anciennement *Bacillus sphaericus* (*Bs*)) sont utilisées comme larvicides contre les vecteurs et ciblent la barrière intestinale des larves. Ces bio-insecticides ont un mode d'action complexe, impliquant une activation des toxines après leur ingestion puis leur fixation sur des sites/récepteurs spécifiques du tube digestif (Bruhl *et al.* 2020). Le *Bs* ne produit qu'une seule toxine (Bin) tandis que le *Bti* produit plusieurs toxines (principalement Cry4A, Cry4B, Cry11 et Cyt) connues pour leur action synergique (la toxine Cyt pouvant jouer le rôle de récepteur pour les toxines Cry). La résistance aux toxines Cry individuelles de *Bti* est fréquente chez les ravageurs et, des résistances à plusieurs toxines Cry ont été observées (Heckel *et al.* 2020).

Chez les moustiques une résistance à la toxine Bin du *Bs* a été décrite chez *Cx. pipiens* avec des ratios de résistance parfois très élevés mesurés en Inde ( $RR_{50} > 100$ ) (Mittal *et al.* 2003) ou bien en Tunisie ( $RR_{50} > 5000$ ) (Nielsen-Leroux *et al.* 2002). En France, une résistance à la toxine du *Bs* a été observée dès les années 1990 (Mittal *et al.* 2003). Parmi les mécanismes de résistance identifiés, au moins deux événements mutationnels différents sur la séquence codant le récepteur de la toxine *Bs* (une délétion et une insertion d'un élément transposable

au locus *Cpm1*) produisant des protéines tronquées ont été mis en évidence (Romao *et al.* 2006, Darboux *et al.* 2007).

Concernant le *Bti*, de nombreuses études de terrain ont été réalisées principalement par les opérateurs et un seul cas de résistance a été détecté dans une population naturelle de *Cx. pipiens* de New York ( $RR_{50} > 30$ , Paul *et al.* 2005). Cependant, cette résistance n'a pas été confirmée par la suite dans la région. En laboratoire, des expérimentations de sélection contrôlées sur plusieurs dizaines de générations ont été conduites chez *Cx. pipiens*, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. aegypti* mais ces expérimentations n'ont pas permis d'obtenir des niveaux de résistance importants ( $RR_{50} < 4$ ) bien qu'un  $RR_{50} > 16$  ai été obtenu chez *Cx. pipiens* après 60 générations (revue dans Wirth 2010). Les études mécanistiques suggèrent des mécanismes complexes et multigéniques impliquant notamment des cadhérines, des phosphatases alcalines et des aminopeptidases. Cette faible résistance des moustiques au *Bti* est attribuée à l'action synergique des toxines Cry avec la toxine Cyt (Wirth *et al.* 2004, 2005). Ainsi, la sélection d'une mutation entraînant la résistance à une toxine n'aurait que peu d'effet sur la résistance aux autres toxines tandis que l'apparition et la sélection simultanées de plusieurs mutations spécifiques demeurent très peu probables. Plusieurs études suggèrent que les coûts génétiques associés à ces mutations limiteraient leur sélection dans les populations naturelles (Bruhl *et al.* 2020). Néanmoins, des résistances aux toxines séparées de *Bti* ont pu être obtenues en quelques générations au laboratoire et il n'est pas exclu que des allèles de résistance à chacune des toxines puissent être sélectionnés de manière séquentielle et cryptique (pas de résistance significative aux mélanges de toxines) dans les zones où ce bio-insecticide est utilisé de façon massive. Cette possibilité justifie une surveillance de la résistance au *Bti* chez les moustiques ciblés par l'utilisation de bioessais adaptés à la détection de faibles niveaux de résistance.

### 3.3 Facteurs opérationnels, biologiques, génétiques et environnementaux influençant la dynamique de résistance

L'analyse exhaustive des facteurs influençant la dynamique de la résistance reste difficile à réaliser en raison de la complexité des interactions biotiques et abiotiques des espèces de moustiques présentes avec leur environnement, de la pléiotropie\* et des interactions entre allèles de résistance. La dynamique des allèles de résistance dépend des changements qualitatifs mais aussi quantitatifs liés à l'utilisation des insecticides. En effet, l'usage hétérogène d'une même classe d'insecticides (tel que le changement de molécules insecticides) ou d'une même molécule insecticide (telle que la variation de la dose, des fréquences de traitement, de formulation) peut sélectionner différents allèles de résistance (Milesi *et al.* 2016).

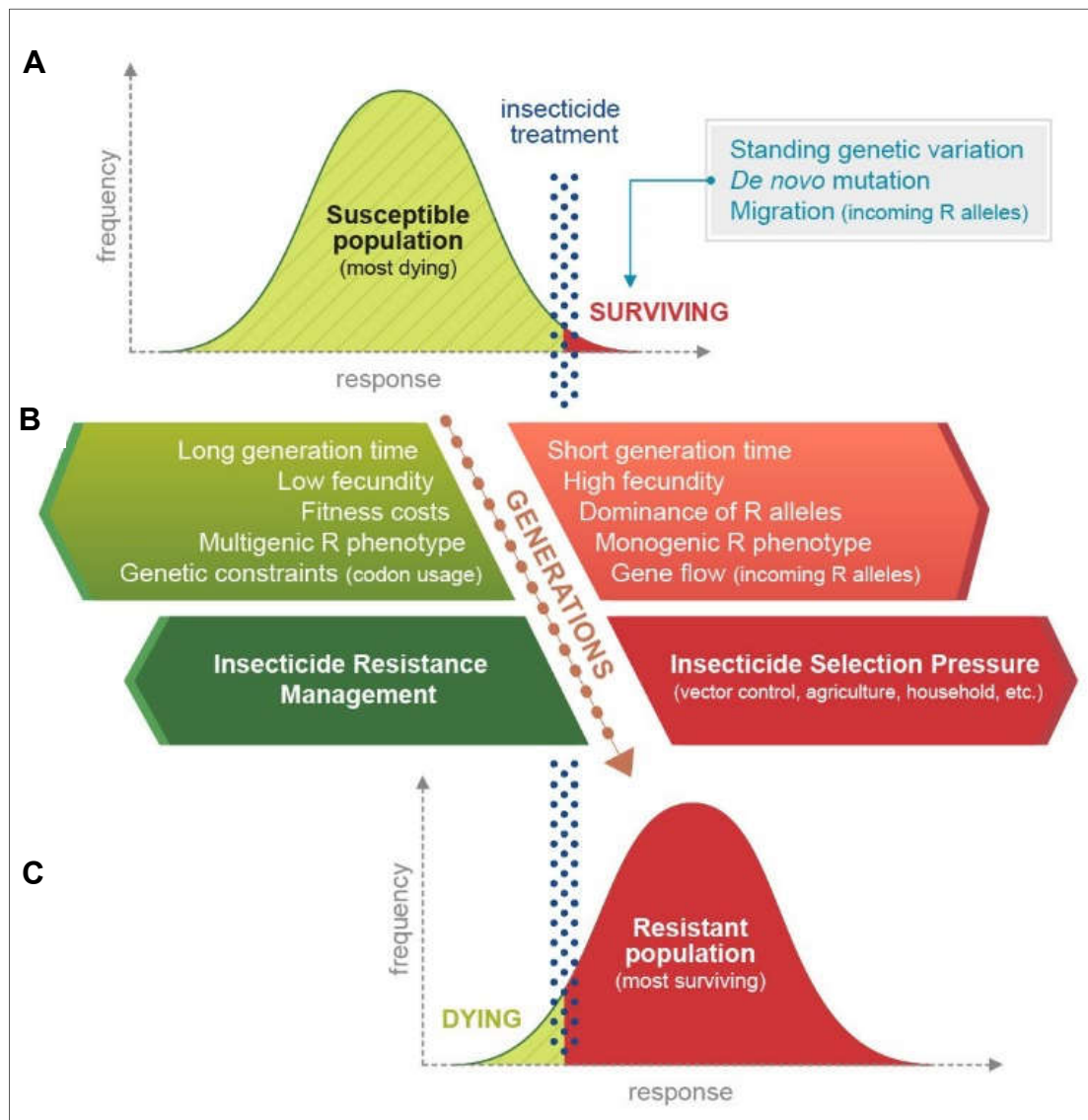
Bien que la résistance peut être sélectionnée rapidement dans les populations naturelles, cette sélection peut aussi être limitée par des contraintes de trois types :

- des contraintes génétiques liées, par exemple, au nombre d'événements de mutation nécessaire pour obtenir un allèle de résistance ;
- des contraintes physiologiques associées à la fonction des protéines impliquées qui peut être perturbée directement par les mutations ou indirectement par les changements métaboliques induits (coût génétique\*) ;

- et enfin des contraintes environnementales liées entre autres à l'hétérogénéité spatio-temporelle des traitements insecticides, et plus généralement des pressions de sélection.

La plupart du temps, les allèles de résistance sont le plus souvent présents naturellement au sein des populations de vecteurs avant les traitements insecticides, à de très basses fréquences, ce qui les rend quasi indétectables. Les traitements insecticides vont éliminer les vecteurs qui ne sont pas porteurs d'allèles de résistance (*cf.* Figure 2) et la fréquence des allèles de résistance va augmenter progressivement pendant de nombreuses années jusqu'à un certain seuil, appelé « point de bascule » (ou « tipping point\* ») sans être à l'origine d'échec opérationnel. Lorsque ce seuil ou « tipping point » est atteint, la fréquence des individus résistants peut augmenter très rapidement et se traduire par des échecs plus ou moins importants du contrôle des vecteurs. Les allèles de résistance sont sélectionnés localement par les insecticides et peuvent ensuite envahir très rapidement les populations à l'échelle mondiale (cas de *Ester<sup>2</sup>* chez *Cx. pipiens* (Labbe *et al.* 2005) du fait de l'utilisation très large des OP). Certains allèles ne sont jamais observés chez certaines espèces de moustiques bien qu'elles soient soumises aux mêmes traitements insecticides car la nature des séquences ou de l'architecture génétique ne permettent pas l'apparition d'un nouvel allèle par un événement mutationnel unique (Weill *et al.* 2004). A l'inverse, d'autres allèles de résistance ont des origines multiples, c'est-à-dire qu'ils sont issus d'événements mutationnels différents, mais ce phénomène reste marginal (cas de la mutation *ace1* F290V).





**Figure 2 : Facteurs influençant la dynamique de la résistance aux insecticides dans les populations d'insectes (Dusfour, 2019)**

**A** – Mise en place des traitements insecticides : la population majoritairement sensible meurt, seule une petite proportion survit grâce à un ou des allèles de résistance déjà présent ou apparu par migration ou par mutation de novo ;

**B** – Les facteurs favorisant la sélection de la résistance sont indiqués en rouge, tandis que les facteurs contre sélectionnant la résistance, y compris les méthodes de gestion de la résistance (IRM : Insecticide Resistance Management), sont indiqués en vert ;

**C** – Après plusieurs générations de sélection aux insecticides, la proportion d'individus résistants est majoritaire dans la population et conduit à un échec opérationnel de la lutte.



La résistance croisée à plusieurs classes d'insecticides peut conduire à une continuité spatio-temporelle de la sélection et faciliter la propagation des moustiques résistants. Un seul gène peut être à l'origine de résistances croisées, tel que le gène CYP6M2 (cytochrome P450) qui peut être impliqué dans la métabolisation à la fois de la deltaméthrine et du DDT (David *et al.* 2013). La présence de plusieurs mécanismes de résistance chez un même individu entraîne des résistances multiples\* à différentes classes d'insecticides. Elles peuvent entraîner des effets multiplicateurs<sup>6</sup> vis-à-vis d'un ou de plusieurs insecticides de même classe ou de classes différentes. De tels effets ont été observés, par exemple, chez *Cx. pipiens* portant les allèles Ester<sup>2</sup> et *ace-1* G119S pour la résistance aux OP (Raymond *et al.* 1989), entre *ace-1* G119S et un allèle non caractérisé pour la résistance aux OP (Alout *et al.* 2016), entre *kdr* et des cytochromes P450 pour la résistance aux pyréthrinoïdes (Hardstone et Scott 2010); et chez *Ae. aegypti* entre le répulsif DEET et les carbamates (Bonnet *et al.* 2009). De plus, ces interactions entre allèles de résistance peuvent varier selon les conditions environnementales, telle qu'une synergie positive pour la résistance (c.-à-d. augmentation du niveau de résistance) dans la zone traitée mais un antagonisme pour le coût dans les zones non traitées (c.-à-d. diminution des performances physiologiques). Par exemple, la présence de l'allèle *kdr* diminue le coût associé à l'allèle *ace-1* G119S chez *Cx. pipiens* (Berticat *et al.* 2008), favorisant la propagation des individus porteurs des deux allèles.

La plupart des allèles de résistance sont coûteux, c'est-à-dire qu'ils compromettent certaines performances des individus porteurs de ces allèles. L'arrêt des traitements insecticides devrait donc être associé à une diminution progressive de la fréquence de ces allèles. La plupart des stratégies de gestion de la résistance s'appuient sur ce coût, en alternant les insecticides dans le temps ou l'espace ou en conservant des refuges de populations sensibles. Pourtant, certains allèles coûteux sont maintenus dans les populations naturelles malgré l'arrêt de l'utilisation de certaines classes d'insecticides (ex. Ester<sup>2</sup> et *ace-1* G119S toujours présents dans la région de Montpellier, 10 ans après l'interdiction et l'arrêt des OP). Les populations résistantes évoluent notamment par de nouvelles mutations qui ont pour conséquence de réduire le coût génétique. De plus, d'autres pressions de sélection peuvent affecter la dynamique des allèles de résistance, notamment leur maintien malgré l'arrêt des traitements. En effet, l'utilisation massive des produits phytosanitaires contre les ravageurs de cultures sélectionne aussi des mécanismes de résistance dans les populations de moustiques (Reid et McKenzie 2016, Mouhamadou *et al.* 2019). La présence de polluants dus aux activités humaines peut aussi induire des réponses métaboliques croisées avec celles liées aux insecticides pouvant ainsi affecter la dynamique de la résistance (Poupardin *et al.* 2012, Nkya *et al.* 2013).

---

<sup>6</sup> Effet supérieur à un simple effet additif

## 4 Méthodes de détection de la résistance des moustiques

### 4.1 Méthodes biologiques et tests synergistes

#### 4.1.1 Tests biologiques in vivo

Les essais biologiques (ou bioessais) représentent la pierre angulaire du suivi de la résistance aux insecticides. Leur principe repose sur le dénombrement des moustiques morts suite à l'exposition à un insecticide donné. Plusieurs types de tests et méthodologies existent pour les différents stades de développement des moustiques (larves ou adultes). Ils permettent non seulement de détecter la résistance mais aussi de la quantifier et de la caractériser de manière plus précise. L'OMS fournit des recommandations pour mettre en œuvre, interpréter et valider ces bioessais afin d'évaluer et de suivre correctement la résistance aux insecticides dans les populations naturelles (WHO 2005, 2016). La section ci-après décrit ces tests et met l'emphase sur des points importants de méthodologies et de validation des tests pour une surveillance appropriée de la résistance. Des protocoles détaillés et standardisés sont consultables sur le site du réseau WIN (the Worldwide Insecticide resistance Network, <https://win-network.ird.fr/>).

##### 4.1.1.1 Souches de référence

L'utilisation de souches sensibles de référence est indispensable à la validation des tests insecticides quels qu'ils soient. Elles doivent être exposées comme les populations étudiées en tant que contrôle d'efficacité de la molécule et pour estimer les **ratios de résistance**. Ces souches sont des lignées maintenues en laboratoire et caractérisées pour leur sensibilité aux insecticides (profil biologique et si possible génétique, voir section 3). Les souches les plus couramment utilisées sont S-Lab pour *Cx. pipiens* s.l., Kisumu pour *An. gambiae* s.l., Bora Bora, Rockefeller et Nouvelle-Orléans pour *Ae. aegypti* ou bien SPAM pour *Ae. albopictus*. Ces souches sont disponibles sur le site du MR4<sup>7</sup> et/ou sur demande dans les laboratoires de recherche<sup>8</sup> qui les maintiennent dans leurs insectariums. En absence de souches sensibles bien caractérisées (ex. *An. darlingi*), il est communément accepté d'utiliser la population de terrain ayant la plus forte sensibilité aux insecticides comme comparaison et de suivre la dynamique dans le temps.

##### 4.1.1.2 Les insecticides

Les tests biologiques utilisés pour le suivi de la résistance sont réalisés sur la substance active (pureté > 90 %) et non sur les formulations. La substance active est mise en solution dans un solvant tel que l'éthanol ou l'acétone. Dans le cas du *Bti* et du *Lysinibacillus sphaericus* (*Ls*), les bioessais sont effectués avec une formulation commerciale dispersible dans l'eau et de préférence préalablement titrée.

<sup>7</sup> <https://www.beiresources.org/About/MR4.aspx>

<sup>8</sup> Des souches d'insectes caractérisées peuvent être obtenues auprès de laboratoires spécialisés en entomologie médicale. En cas d'accord, il faut respecter les règles en matière de transfert d'échantillons biologiques (ex. signature d'un « Matériel Transfer Agreement » et accord de Nagoya sur la biodiversité).

#### 4.1.1.3 Les conditions de test

Les conditions ambiantes peuvent grandement influencer l'efficacité des insecticides et la survie des moustiques lors des périodes de test et d'observation (Glunt *et al.* 2014). C'est pourquoi, il est très important de contrôler la température et l'humidité relative durant toute la durée du test, et de noter les valeurs maximales et minimales enregistrées. Les tests sur adultes doivent être effectués à une température de  $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et à une humidité relative de  $80\% \pm 10\%$ . Aucun test ne doit être effectué au-dessus d'une température de  $30^{\circ}\text{C}$ . En général au moins 5 réplicats de 20 et 25 moustiques par tube ou bouteille sont réalisés.

#### 4.1.1.4 Test larvaire ou « test en gobelets » OMS (WHO, 2005)

L'objectif de ce test est d'évaluer la sensibilité/résistance des larves de moustiques à un insecticide donné et de détecter de possibles résistances croisées entre familles d'insecticides couramment utilisées en santé publique. Ce test se réalise en exposant des individus soit à une dose diagnostique (DD) d'un insecticide donné soit à une série de concentrations croissantes de ce même insecticide. Malheureusement, très peu de doses diagnostiques sont disponibles à l'état larvaire (ex. la DD du téméphos est  $0,02\text{ mg/L}$  sur *Ae. aegypti*) et les tests dose-réponse sont généralement préconisés.

Brièvement, le test consiste à exposer des larves de moustiques de stade L3 - L4 prélevées sur le terrain (ou issues de femelles de moustiques gorgées récoltées sur le terrain et ramenées en insectarium) à un insecticide en solution pendant 24h. La lecture de la mortalité est effectuée immédiatement après l'exposition. Pour les IGR, qui agissent sur le développement larvaire ou inhibent la mue imaginale, les tests se déroulent sur plusieurs jours afin de pouvoir déterminer le taux d'inhibition de l'émergence des adultes. La mortalité<sup>9</sup> dans le contrôle (non-exposé) doit toujours être mesurée sur la même période de temps et utilisée pour corriger la mortalité des moustiques traités si besoin (voir section 6.2.5).

Lors des tests dose-réponse, les larves sont exposées à au moins 5 concentrations d'insecticide provoquant des mortalités comprises entre 0 % et 100 % afin de pouvoir générer les droites de régression de type probit (à l'aide de logiciels informatiques (ex. SPSS de Microsoft, package DRC sur R<sup>10</sup>) ou de papier millimétré log-probit) et ainsi d'estimer les concentrations correspondantes à 50 % de mortalité (Concentration Létale 50,  $\text{CL}_{50}$ ) ou 50 % d'inhibition de l'émergence des adultes ( $\text{IE}_{50}$ ) pour les IGR.

Le rapport des  $\text{CL}_{50}$  ou  $\text{IE}_{50}$  entre populations de terrain et souches de référence sensibles permettent ainsi de mesurer le niveau de résistance d'une population par le calcul des **Ratios de Résistance 50,  $\text{RR}_{50}$** .

Les  $\text{RR}_{50}$  permettent ainsi d'évaluer le niveau de résistance des larves dans plusieurs populations afin ensuite de proposer des actions de surveillance et de lutte adaptées à l'échelle du territoire (voir section 6 pour l'interprétation des données de résistance).

Enfin, ces tests larvaires peuvent également permettre d'étudier l'implication de certains mécanismes de résistances par l'utilisation de molécules synergistes (voir section 4.1.1.6).

<sup>9</sup> Ou le taux d'inhibition de l'émergence

<sup>10</sup> <https://cran.r-project.org/web/packages/drc/index.html>

#### 4.1.1.5 Tests sur moustiques adultes

##### 4.1.1.5.1 *Test en tubes de l'OMS (WHO, 1998 a,b ; 2016)*

Le test en tubes de l'OMS est le test biologique de référence (le plus utilisé) pour la surveillance de la résistance chez les moustiques adultes. Il permet l'exposition des femelles adultes à des molécules insecticides par contact sur des papiers imprégnés d'un insecticide à une dose donnée. Selon les insecticides, le mélange d'imprégnation est une substance active mise en solution dans l'éthanol ou l'acétone adjoint d'huile de silicone<sup>11</sup> ou d'huile d'olive selon la famille d'insecticide (cf. Tableau 4. Ainsi, les doses exprimées en pourcentage par l'OMS représentent la quantité de substance active (en gramme) pour 100 ml d'huile. Le principe consiste à exposer des moustiques femelles non gorgées, âgées de 3 à 5 jours, à des papiers imprégnés d'insecticide pendant 1 heure et de mesurer la mortalité 24 heures après l'exposition. Un lot de moustiques témoin exposé à un papier imprégné d'un mélange de solvant et huile uniquement fait office de contrôle.

Ce système simple, robuste et standardisé permet de définir le statut de résistance d'une population (fréquence des individus résistants) en mesurant le taux de mortalité à une dose diagnostique (DD) d'un insecticide. Les DD ont été préalablement obtenues sur des colonies sensibles de référence (WHO, 1998a) en multipliant par 2 la  $DL_{100}$  observée ou la  $DL_{99}$  estimée à partir de la droite de régression dose-réponse. La liste actualisée des DD OMS par insecticide et par espèce est présentée dans le Tableau 4 ci-après.

Les bioessais en tubes peuvent également servir à réaliser des courbes doses-réponses afin d'avoir une mesure plus fine de la résistance. Dans ce cas, les moustiques adultes sont exposés à au moins 5 concentrations d'insecticide provoquant des mortalités comprises entre 0 % et 100 % afin de pouvoir estimer les concentrations létales et estimer les ratios de résistance.

Enfin, ces tests biologiques permettent également d'étudier l'implication de certains mécanismes de résistances par l'utilisation de molécules synergistes (voir section 4.1.1.6).

---

<sup>11</sup> Silicon oil , Dow Corning® 556 Cosmetic Grade Fluid 539462510 Univar <https://consumer.dow.com/en-us/pdp.dowsil%E2%84%A2%20556%20cosmetic%20grade%20fluid.01010476z.html?tab=buying&id=01010476z>

Tableau 4. Doses diagnostiques recommandées par l'OMS pour les tests sur adultes. (WHO 2016, WHO 2021).

Classes (surfactant)	Insecticide	<i>Anopheles</i> spp.	<i>Aedes</i> spp.	<i>Cx. quinquefasciatus</i>
<b>Organochlorés</b> (Huile de silicone)	DDT	4 %	4 % <sup>a</sup>	4 % <sup>b</sup>
<b>Organophosphorés</b> (Huile d'olive <i>sauf pour le pyrimiphos méthyl</i> )	Fénitrothion	1 %	-	1 % <sup>c</sup>
	Malathion	5 %	1,5 % <sup>f</sup> 5 % <sup>g</sup>	5 %
	Pirimiphos-méthyl	100 mg/m <sup>2</sup> 170 mg/m <sup>2</sup> <sup>h</sup>	60 mg/m <sup>2</sup>	-
	Chlorpyriphos-éthyl		1 %	
<b>Carbamates</b> (Huile d'olive)	Bendiocarbe	0,1 %	0,2 %	
	Carbosulfan	0,4%		
	Propoxur	0,1 %	0,1 %	0,1 % <sup>c</sup>
<b>Pyrethrinoïdes</b> (Huile de silicone)	Alpha-cyperméthrine	0,05 % 0,03 % <sup>i</sup>	0,05 % <sup>f</sup> 0,08 % <sup>g</sup>	
	Cyfluthrine	0,15 %		
	Deltaméthrine	0,05 %	0,03 %	0,025 %
	Etofenprox	0,5 %		
	Lambda-cyhalothrine	0,05 %	0,05 % <sup>f</sup> 0,08 % <sup>g</sup>	0,025 %
	Perméthrine	0,75 %	0,4 %	0,25 % <sup>e</sup>

<sup>a</sup> une demi-heure d'exposition ; <sup>b</sup> 4 heures d'exposition ; <sup>c</sup> 2 heures d'exposition ; <sup>e</sup> 3 heures d'exposition. <sup>f</sup> *Ae. aegypti* ; <sup>g</sup> *Ae. albopictus* ; <sup>h</sup> *An. gambiae* uniquement ; <sup>i</sup> *An. albimanus* et *An. stephensi* uniquement.

#### 4.1.1.5.2 Test en Bouteilles selon la méthode des CDC (CDC, 2010 ; WHO, 2016)

Le test en bouteilles est un test alternatif développé par les CDC pour mesurer les niveaux de résistance des moustiques aux insecticides de santé publique. Ce système repose sur l'utilisation de bouteilles en verre de taille et de volume standardisés<sup>12</sup> imprégnées avec une solution d'insecticide à une dose diagnostique exprimée en microgrammes de substance active par bouteille. Le principe consiste à exposer des moustiques femelles non gorgées (3-5 jours) à une dose et un temps discriminant (voir Tableau 5). La lecture de la mortalité s'effectue directement après l'exposition. Le test en bouteilles CDC présente l'avantage d'être facilement utilisable sur le terrain en particulier sur des moustiques supportant mal les conditions de captivité car il n'est pas nécessaire de respecter une période d'observation de 24 heures ou plus pour avoir le résultat final. D'autre part, il permet d'éviter de recourir à des kits de tests et à des papiers imprégnés d'insecticide préparés au préalable, ce qui procure

<sup>12</sup> 250-ml Wheaton Graduated Media/Lab Bottles: Clear Glass, With PTFE-Faced, Rubber-Lined Phenolic Cap (Autoclavable) Wheaton™ 219817 <https://www.fishersci.com/shop/products/wheaton-graduated-media-lab-bottles-clear-glass-with-ptfe-faced-rubber-lined-phenolic-cap-autoclavable-4/06404g?keyword=true>

une plus grande flexibilité concernant l'insecticide et la concentration utilisés pouvant être évalués.

Cependant, cette méthode mesure essentiellement l'effet immédiat (ou effet « *knock-down* ») caractéristique des insecticides à mode d'action rapide tels que les pyréthrinoïdes (et qui ne reflète pas toujours la mortalité), tandis que le test en tubes OMS permet de mesurer effectivement le taux de mortalité des moustiques après 24h d'observation. Par conséquent, les résultats des tests CDC et OMS ne sont pas directement comparables.

Comme le test en tubes, le test CDC permet l'utilisation de molécules synergistes pour étudier l'implication de certains mécanismes de résistance métabolique (voir section 4.1.1.6).

**Tableau 5. Doses et temps discriminants du test en bouteilles CDC. (WHO 2016)**

Insecticide	Concentration en insecticide par espèce (µg de substance active par bouteille Wheaton de 250 ml)		Temps discriminant (minutes)
	<i>Anopheles</i> spp.	<i>Aedes</i> spp.	
Bendiocarbe	12,5	12,5	30
Cyfluthrine	12,5	10	30
Cyperméthrine	12,5	10	30
Deltaméthrine	12,5	10	30
Lambda-cyhalothrine	12,5	10	30
Perméthrine	21,5	15	30
DDT	100	75	45
Malathion	50	50	30
Fénitrothion	50	50	30
Pirimiphos-méthyl	20	-	30

#### 4.1.1.5.3 Test en Bouteilles selon la méthode de l'OMS

Historiquement, l'OMS a établi un système de détection de la résistance des moustiques basé sur une lecture du taux de mortalité à 24h après exposition à des papiers imprégnés à une dose diagnostique (voir section 4.1.1.5.1). Malheureusement, certains insecticides (ex. flupyradifurone, imidaclopride, clothianidine) récemment développés par l'industrie « cristallisent » lorsqu'ils sont imprégnés sur des papiers Whatman (réduisant ainsi leur biodisponibilité) ce qui ne permet pas leur évaluation par la méthode du test en tubes. Par conséquent, l'OMS a récemment modifié le test en bouteilles CDC afin de permettre d'estimer les niveaux de résistance des moustiques à ces nouveaux insecticides ayant des propriétés physico-chimiques particulières.

Les insecticides sont mélangés à un solvant (généralement l'acétone) avant d'être imprégnés dans la bouteille, mais certains requièrent toutefois l'ajout d'un surfactant pour permettre une imprégnation homogène et ainsi assurer la reproductibilité du test.

Pour harmoniser les paramètres mesurés dans les essais en bouteilles par rapport aux tests en tubes, la durée d'exposition des moustiques dans la bouteille est de 1 heure et la mortalité

est enregistrée à 24 heures (et jusqu'à 72 heures pour les insecticides à action lente comme le chlorfénapyr). Les bouteilles doivent être imprégnées 24 heures avant le test et séchées de manière horizontale pendant la nuit. Le reste du protocole reste inchangé par rapport au test en bouteilles CDC. Les doses diagnostiques disponibles pour le test en bouteilles OMS sont présentées dans le Tableau 6 ci-dessous.

**Tableau 6. Doses diagnostiques et surfactant approprié pour la réalisation des tests en bouteilles de l'OMS.**

Insecticide	Doses diagnostiques en µg/bouteille (solvant/ surfactant)	
	<i>Anopheles</i> spp.	<i>Aedes</i> spp.
<b>Clothianidine</b>	4 <sup>a</sup> (acétone + 800 ppm de Mero) 10 <sup>b</sup>	10 <sup>c</sup> (acétone + 1500 ppm de Mero)
<b>Flupyradifurone</b>	nd	80 (acétone + 1500 ppm de Mero)
<b>Métofluthrine</b>	nd	1 (acétone)
<b>Pralléthrine</b>	nd	30 (acétone)
<b>Transfluthrine</b>	2 (acétone)	3 (acétone)
<b>Chlorfénapyr</b>	100 <sup>d</sup> (acétone)	nd

nd valeur non disponible, <sup>a</sup> pour toutes les espèces sauf pour *An. albimanus* et *An. stephensi*; <sup>b</sup> *An. albimanus* et *An. stephensi* (acétone + 200 ppm de Mero pour *An. albimanus* seulement<sup>13</sup>); <sup>c</sup> non disponible pour *Ae. aegypti*, <sup>d</sup> lecture à 72h

#### 4.1.1.5.4 Applications topiques (WHO, 2006)

L'application topique a pour objectif de déterminer l'activité d'une molécule insecticide en l'appliquant directement sur le thorax de l'insecte (WHO 2006). Cette application de l'insecticide permet d'éliminer les effets confondants dus au comportement du moustique (normalisation de la dose d'exposition par rapport à la masse de l'individu) et ainsi d'obtenir une mesure directe de l'efficacité d'un insecticide agissant par contact. Ce test permet aussi de mesurer les niveaux de résistance d'une population à un insecticide donné en comparant les résultats obtenus avec ceux de la souche sensible de référence. Les doses sont exprimées en nanogramme de substance active par milligramme d'insecte.

Le principe du test consiste à appliquer une solution insecticide à des concentrations croissantes sur le thorax de femelles non nourries et âgées de 2 à 5 jours préalablement anesthésiées au dioxyde de carbone. A l'issue des 24 h d'observation, le nombre de femelles mortes est décompté et les concentrations létales 50 et 95 % sont estimées à l'aide de la méthode log-probit à l'aide de logiciels mathématiques. La comparaison des CL<sub>50</sub> et/ou CL<sub>95</sub> entre la population sauvage et la souche de référence sensible permet de calculer le ratio de résistance pour un insecticide donné.

Bien que ce test permette une mesure plus précise des niveaux de résistance que le test en tubes OMS, il demande un équipement, du temps et une technicité qui ne sont pas toujours compatibles dans un contexte opérationnel de plan de surveillance de la résistance.

<sup>13</sup> MERO EC733 : concentré émulsifiable contenant 81,7 % d'esters d'acides gras de colza dans de l'éthoxy-7-tridecanol.



#### 4.1.1.6 Recours aux tests synergistes

Lorsqu'une résistance à un insecticide est détectée dans une population de moustiques, il peut être utile de recourir à des tests synergistes afin d'évaluer l'implication des enzymes de détoxification sur le phénotype de résistance. (WHO 2016). Des molécules synergistes\* sont disponibles pour certains groupes d'enzymes de détoxification métabolique, notamment les estérases, les oxydases et les glutathion S-transférases (*cf.* Tableau 7). En effet, certaines molécules permettent d'inhiber l'activité de certaines familles d'enzymes de détoxification : le PBO intervient sur les oxydases comme les cytochromes P450s, le S,S,S-tributyl phosphorotrithioate (DEF) est un inhibiteur des carboxylestérases, et le chlorfenethol inhibe les GST.

La procédure d'utilisation des molécules synergistes est bien décrite pour les tests en tubes OMS (WHO 2016), les tests en bouteilles CDC (CDC 2010) et les tests larvaires (Marcombe *et al.* 2009).

Chez les larves, le test s'effectue en mesurant la mortalité de la population cible à une exposition simultanée à l'insecticide et au synergiste (généralement pendant 24h).

Chez les adultes, le test s'effectue en mesurant la mortalité de la population cible à une concentration diagnostique d'un insecticide après une préexposition de 1 heure au synergiste (voir concentrations préconisées dans le Tableau 7). Une fois les mortalités corrigées en fonction de la mortalité des témoins (*cf.* 4.1.1.7), il est possible de comparer les mortalités induites dans les échantillons exposés au synergiste puis à l'insecticide à celles induites dans les échantillons exposés à l'insecticide seul (sans synergiste). Les conditions de test et le nombre d'échantillons à tester restent les mêmes que pour les tests biologiques classiques.



Tableau 7. Liste des principales molécules synergistes utilisées lors des tests biologiques.

Nom (Abréviation)	Action principale	Concentration utilisée pour les tests larvaires (mg/L)	Concentration utilisée pour les tests en tubes (%)	Dose utilisée pour les tests en bouteilles (µg/bouteille)	Source
<b>Pipéronyl butoxide (PBO)</b>	Inhibe l'activité des oxydases	1	4	400	WHO 2016; CDC 2010; Marcombe <i>et al.</i> 2019
<b>S,S,S-tributyl phosphorotrithioate (DEF)</b>	Inhibe l'activité des estérases	0,008 ( <i>Aedes</i> spp. et <i>Culex</i> spp.)	0,25 ( <i>Anopheles</i> spp.) 8 ( <i>Aedes</i> spp.)	125	Chandre <i>et al.</i> 1998; Sumnarote <i>et al.</i> 2017; 2020; Marcombe <i>et al.</i> 2019; CDC 2010
<b>Maléate de diéthyle (DM)</b>	Inhibe l'activité des GST*	1	8	80	Marcombe <i>et al.</i> 2019; CDC 2010
<b>Acide éthacrynique (EA)</b>	Inhibe l'activité des GST*	ND	ND	80	CDC 2010
<b>Chlorfenethol (CF)</b>	Inhibe l'activité des GST*	ND	ND	80	CDC 2010

\*Glutathion S-transférases

ND: non disponible

#### 4.1.1.7 Validation des résultats

L'ensemble des tests précédemment décrits mesure une mortalité des moustiques exposés pendant un temps prédéfini. Au-delà de 20 % de mortalité dans le groupe contrôle, le test est invalidé et doit être refait. Dans le cas d'une mortalité comprise entre 5 et 20 % (OMS) ou 10 % (CDC) dans les lots témoins, la mortalité devra être corrigée par la formule de Abbott (Abbott, 1925). De plus, le nombre de moustiques exposés doit être suffisant et conforme au protocole de test. La souche de référence doit montrer une pleine sensibilité aux insecticides testés.

Formule d'Abbott :

$$\text{Mortalité corrigée (\%)} = \frac{\% \text{ mortalité observée} - \% \text{ mortalité contrôle}}{100 - \% \text{ mortalité contrôle}} \times 100$$

Tableau 8 . Avantages et inconvénients des différentes méthodes biologiques pour la détection de la résistance.

Méthode biologique	Indicateurs /mesures	Avantages	Inconvénients
Test larvaire	Test avec une dose diagnostique	Standardisé, simple Détection du phénotype de résistance Nécessite peu d'individus	Peu sensible Peu de doses diagnostiques disponibles Pas d'information sur le niveau ou le type de résistance
	Dose - réponse	Mesure les niveaux de résistance Méthode simple et robuste	Requiert un grand nombre de larves par population Méthode chronophage (tests sur les IGR)
Test en tubes	Test avec une dose diagnostique	Standardisé, simple Détection du phénotype de résistance Nécessite peu d'individus	Peu sensible Pas d'information sur le niveau ou le type de résistance
	Dose - réponse	Mesure les niveaux de résistance Méthode robuste	Requiert un grand nombre de femelles par population Méthode chronophage
Test en bouteilles CDC	Test avec une dose diagnostique	Standardisé, simple et rapide Nécessite peu d'individus	Mesure de l'effet immédiat ( <i>knock-down</i> ) et non pas de la mortalité Doses et temps discriminants disponibles pour un nombre limité d'insecticides Technicité particulière
	Dose - réponse	Mesure les niveaux de résistance	Requiert un grand nombre de femelles par population
Test en bouteilles OMS	Test avec une dose diagnostique	Standardisé, nécessite peu d'individus Détection du phénotype de résistance pour les insecticides ne pouvant pas être imprégnés sur papiers filtres	Peu sensible Pas d'information sur le niveau ou le type de résistance Technicité particulière
Application topique	Dose - réponse	Mesure l'activité intrinsèque d'un insecticide Mesure les niveaux de résistance sans effet confondant lié au comportement du moustique	Nombre de moustique important, matériel spécifique, technicité particulière, chronophage Difficilement applicable en routine pour la surveillance
Tests synergistes (test larvaire, tests adultes en tubes et en bouteilles)	Test avec une dose diagnostique ou dose - réponse	Donne des indications sur les mécanismes de résistance	Sensibilité et spécificité limitées des synergistes Requiert un grand nombre de moustiques vivants par population Technicité particulière

## 4.2 Méthodes moléculaires, biochimiques et physiologiques de détection de la résistance

Bien que les tests biologiques (bioessais) constituent le moyen le plus utilisé pour évaluer et suivre la dynamique de la résistance des moustiques aux insecticides, l'utilisation d'approches biochimiques, moléculaires et physiologiques peuvent permettre de mieux appréhender les mécanismes impliqués, mais aussi de détecter l'émergence de la résistance de manière précoce (c.-à-d. lorsqu'elle n'est pas encore détectable par des bioessais). En outre, l'utilisation de marqueurs moléculaires dont l'importance dans le phénotype de résistance est confirmée peut permettre d'augmenter l'efficacité et le débit de la surveillance et/ou de diminuer ses coûts car ils ne nécessitent pas l'utilisation de spécimens vivants ni d'infrastructures d'élevage spécifiques et permettent l'obtention de données robustes qui sont comparables dans le temps et l'espace (ex. fréquences des allèles de résistance dans les populations). Les approches moléculaires nécessitent des connaissances fondamentales et techniques et des équipements spécifiques qui justifient la contribution des laboratoires de recherche dans la surveillance de la résistance car non disponibles au niveau des opérateurs de LAV.

### 4.2.1 Méthodes biochimiques

Les méthodes biochimiques sont en général utilisées pour mieux caractériser les mécanismes impliqués lorsque la résistance est détectée par des bioessais. Ces méthodes visent principalement à détecter une augmentation de l'activité des enzymes potentiellement impliquées dans la résistance métabolique (P450, COE, GST, *etc.*) dans des populations naturelles par rapport à une souche de référence sensible. Elles peuvent aussi être utilisées pour identifier des modifications structurales de l'acétylcholinestérase (AChE) en mesurant son degré d'inhibition par les carbamates et les organophosphorés.

Ces tests sont réalisés sur des broyats de moustiques (adultes ou larves) dans un tampon préservant l'activité enzymatique et déposés dans des microplaques au contact de substrats spécifiques de chaque famille enzymatique. Le produit de dégradation est révélé par un colorant et l'intensité de la réaction est alors évaluée par la densité optique, mesurée par spectrophotométrie ou spectrofluorimétrie. La comparaison à des courbes étalons permet de mesurer pour chaque moustique l'activité globale des enzymes (oxygénases, estérases et glutathion S-transférases) rapportée au mg de protéines contenu dans l'échantillon et de la comparer aux valeurs obtenues pour la souche de référence sensible. A l'exception de l'AChE, pour laquelle le test biochimique est spécifique, les autres tests manquent toutefois de spécificité dans la mesure où l'activité enzymatique globale mesurée correspond souvent à plusieurs dizaines d'enzymes dont seulement quelques membres sont impliqués dans la résistance. Les résultats de ces tests doivent donc être interprétés au regard des résultats obtenus par bioessais et/ou d'autres approches moléculaires plus spécifiques. Un protocole de référence est disponible pour réaliser ces tests biochimiques (WHO, 1998). Ce manque de spécificité ainsi que les contraintes expérimentales associées à ces tests (nombreux réactifs nécessaires, lecteur microplaque, compétences en biochimie) contribuent à une diminution de leur utilisation au profit des marqueurs moléculaires qui sont souvent plus spécifiques et montrent une meilleure sensibilité.

## 4.2.2 Méthodes de biologie moléculaire

L'étude des bases génétiques de la résistance aux insecticides a permis d'identifier des marqueurs de résistance aux différents insecticides chez les moustiques. Bien que leur utilisation en conjonction de bioessais représente une réelle valeur ajoutée pour traquer la résistance et identifier les mécanismes impliqués à l'échelle des territoires (Vontas *et al.* 2019), ils ne sont pas utilisés par les opérateurs de LAV en France et encore peu développés au niveau mondial car i) leur valeur prédictive est rarement totale, notamment lorsque plusieurs mécanismes contribuent au phénotype de résistance et ii) leur utilisation en routine nécessite des compétences en biologie moléculaire et des équipements spécifiques (ex. machine PCR ou qPCR). Néanmoins, la plupart des tests moléculaires diagnostiques développés pour traquer la résistance aux insecticides chez les moustiques sont robustes et permettent d'obtenir un débit élevé (jusqu'à plusieurs centaines d'échantillons par jour) pour un coût humain et expérimental modéré, et de générer des données robustes et comparables dans le temps et l'espace (ex. fréquence d'un marqueur de résistance).

Les marqueurs moléculaires actuellement disponibles chez les moustiques ciblent principalement les mutations de cible (*kdr*, *ace-1*, *Rdl*) ainsi que certains gènes codants pour des enzymes de détoxification impliquées dans la résistance métabolique. Deux types de marqueurs peuvent être distingués : les marqueurs basés sur une modification de l'ADN génomique (ADNg) et les marqueurs basés sur une quantification de l'ARN messenger (ARNm). La plupart des mutations sur les cibles des insecticides ainsi que certaines duplications de gènes peuvent être facilement détectées *via* l'ADNg, tandis que la quantification de l'expression des gènes basée sur l'analyse des ARNm est plus contraignante en termes d'échantillonnage, de conservation et de traitement des échantillons.

### 4.2.2.1 Détection des mutations de cible

Les mutations de cible dont le rôle dans la résistance a été validé représentent des marqueurs pertinents dans le cadre de programmes de suivi de la résistance. La recherche de ces mutations et le suivi de leur fréquence dans les populations naturelles peuvent être effectués à partir d'ADNg par séquençage d'une portion du gène impliqué ou bien plus simplement par l'utilisation de tests diagnostiques rapides généralement basés sur l'amplification par PCR des allèles résistants et sensibles. Afin d'améliorer l'efficacité du criblage, le traitement des individus par groupe (pool d'échantillons) et le multiplexage (plusieurs marqueurs détectés simultanément) des PCR peuvent être utilisés. Une liste des techniques de détection des mutations majeures est présentée dans le Tableau 9 ci-après.

Mutations *kdr* : Ces mutations affectant le gène codant pour le canal sodium dépendant du potentiel sont les plus étudiées car elles confèrent une résistance au DDT ainsi qu'aux pyréthriinoïdes qui sont très utilisés en LAV. Plus de sept mutations sont aujourd'hui identifiées chez les Anophèles (Silva 2014). Le site 1014 est la position où s'opèrent les mutations les plus fortement liées à la résistance chez la plupart des espèces de ce genre. La mutation L1014F (*kdr west*) qui opère le changement d'une leucine en phénylalanine est la plus fréquente. D'autres mutations associées à la résistance ont été observées au sein du genre dont la mutation L1014S (*kdr east*), qui confère une résistance plus importante aux pyréthriinoïdes de type II (deltaméthrine) et au DDT (Reimer 2008). Cependant, d'autres espèces comme *Anopheles funestus* ou *An. darlingi* ne sont pas porteuses de telles mutations (Irving 2017, Orjuela 2019). La mutation *kdr* L1014F est également majoritairement présente dans les populations de *Culex pipiens* et *Cx. quinquefasciatus* résistantes aux pyréthriinoïdes bien que d'autres mutations à cette position ont été observées chez *Cx. pipiens* telle que

L1014S (Scott 2015). Une douzaine de mutations *kdr* a été identifiée chez *Ae. aegypti*. Parmi elles, les mutations V410L, S989P, V1016I/G et F1534C ont été associées à la résistance et sont les plus documentées (Chen 2020). Chez *Ae. albopictus*, les mutations *kdr* V1016G, F1534C/S/L et I1532T ont été détectées dans des populations italiennes, américaines et asiatiques (Auteri 2018).

**Mutation *ace-1*** : La cible des organophosphorés et des carbamates est l'ACHé. La mutation G119S sur son gène *ace-1* est fréquente chez les moustiques des genres *Culex* et *Anopheles* mais elle est absente chez les *Aedes* (car elle est génétiquement contrainte, Weill 2004) au profit de la résistance métabolique par amplification génique d'estérases. Chez les espèces qui la portent, la mutation G119S est très largement prépondérante. D'autres mutations ont néanmoins été identifiées chez le genre *Culex* (F290V chez *Cx. pipiens*, F331W chez *Cx. tritaeniorhynchus*).

**Autres mutations** : Le récepteur GABA est la cible des cyclodiènes, des organochlorés et des phénylpyrazoles (Buckingham 2017). La mutation *Rdl* (résistance à la dieldrine, A302S/G) est courante chez les moustiques. Cependant, du fait du développement rapide de la résistance et de leur forte toxicité environnementale, ces insecticides ne sont plus utilisés mais la présence des mutations *Rdl* persiste dans les populations à des fréquences non-négligeables soit car elles sont toujours sélectionnées par des insecticides, soit parce qu'elles ont probablement un faible coût sur la valeur sélective en l'absence d'insecticide. Des études récentes ont permis d'identifier deux mutations de la chitine synthase (I1043L et I1043M) associées à la résistance au diflubenzuron dans des populations de *Cx. pipiens* (Fotsakis 2020).

Mise à part la mutation sur l'ACHé qui peut être détectée par un test biochimique, les autres mutations sont recherchées par analyse de l'ADNg. Le séquençage des régions d'intérêt a permis de développer des tests spécifiques dérivés de l'amplification par « Polymerase Chain Reaction » (PCR) et parfois par « Loop-mediated isothermal amplification » (LAMP). Ces techniques d'amplification utilisées pour le diagnostic des mutations sont listées ci-après. Leurs mises au point ont été faites sur des populations ciblées et bien que les gènes cibles soient particulièrement conservés, une certaine vigilance est recommandée quant à leur utilisation dans de nouvelles zones géographiques. Il est ainsi important de s'assurer de la bonne hybridation des amorces utilisées qui pourraient être affectées par des variations de polymorphisme.

**Tableau 9. Liste des techniques de détection des mutations majeures sur les cibles des insecticides chez les espèces d'intérêt.**

Mutations de cible	Espèces d'intérêt	Principales techniques diagnostiques	Références non exhaustives
<b><i>Rdl</i></b>			
A302S	<i>An. gambiae</i> <i>An. arabiensis</i> <i>An. funestus</i>	PCR-RFLP AS-PCR	Wondji 2011
A302G	<i>An. gambiae</i> <i>An. arabiensis</i>	AS-PCR	MR4 2014

Mutations de cible	Espèces d'intérêt	Principales techniques diagnostiques	Références non exhaustives
<b>Kdr</b>			
L1014F	<i>An. arabiensis</i> <i>An. gambiae</i> <i>An. albimanus</i> <i>Cx. quinquefasciatus</i> <i>Cx. pipiens</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	AS-PCR MCA HRM AS-LAMP PCR-RFLP	Martinez-Torres 1998; Ranson 2000 Verhaeghen 2006 Liew 2004 Badolo 2012 Tan 2012
L1014S	<i>An. arabiensis</i> <i>An. gambiae</i>	AS-PCR MCA HRM	Martinez-Torres 1998; Ranson 2000 Verhaeghen 2006 Liew 2004
V1016I	<i>Ae. aegypti</i>	AS-PCR MCA Taqman PCR	Villanueva-Segura 2020 Saavedra-Rodriguez 2007 Guidez 2021
V1016G	<i>Ae. aegypti</i> <i>Ae. albopictus</i>	AS-PCR HRM	Pichler 2021 Wuliandari 2015
F1534C	<i>Ae. aegypti</i> <i>Ae. albopictus</i>	AS-PCR HRM Taqman PCR PCR-RFLP	Villanueva-Segura 2020  Yanola 2011 Kushwah 2020
F1534S	<i>Ae. albopictus</i>	AS-PCR	Zhu 2019
S989P	<i>Ae. aegypti</i>	HRM AS-PCR	Villanueva-Segura 2020 Kushwah 2020
<b>Ace-1</b>			
G119S	<i>An. gambiae</i> <i>An. arabiensis</i> <i>An. funestus</i> <i>An. albimanus</i> <i>Cx. pipiens</i> <i>Cx. quinquefasciatus</i>	AS-PCR Taqman/MCA PCR-RFLP	Park 2020 Bass 2010 Weill 2004
F290V	<i>Cx. pipiens</i>	AS-PCR	Alout 2009
F331W	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>		
<b>Chitine Synthase</b>			
I1043M	<i>Cx. pipiens</i>	PCR-RFLP	Grigoraki 2018
I1043L	<i>Cx. pipiens</i>	AS-PCR	Grigoraki 2018

**AS-PCR (Allele-Specific Polymerase Chain Reaction)** : Des amorces spécifiques des allèles résistants et sensibles permettent l'amplification de fragments de différentes tailles selon la présence de la mutation. La révélation se fait en général sur gel d'agarose. **PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism)** : Après l'amplification du fragment d'ADN d'intérêt par PCR, celui-ci sera soumis à une digestion enzymatique. L'enzyme de restriction fragmente alors le fragmente d'ADN amplifié selon des motifs d'acide nucléique prédéterminés aboutissant à la fragmentation ou non du fragment selon la présence/absence de la mutation recherchée. La révélation se fait par migration sur gel d'agarose. La méthode dite **qPCR Taqman** est une qPCR utilisant des amorces classiques et des sondes spécifiques de chaque allèle (sensible et résistant) marquées avec des fluorophores distincts. La machine qPCR détecte la quantité de fluorescence émise par chaque sonde au cours de l'amplification. Après l'amplification, la quantité relative de chaque fluorophore indique la présence des allèles sensibles et résistants. Les méthodes de **MCA (Melt Curve Analysis) et HRM (High Resolution Melt)** reposent sur l'analyse des courbes de dissociation du produit amplifié par PCR par une



augmentation progressive de la température. Ces courbes de fusion auront une température de dénaturation de l'ADN double brin différente en fonction de la taille et de la composition des fragments amplifiés. Ces courbes pourront être analysées et ainsi différencier la présence des allèles sensibles et résistants. **AS-LAMP (Allele-Specific Loop-Mediated Isothermal Amplification)** est une méthode d'amplification d'acide nucléique qui se réalise à température ambiante et ne nécessite pas de machine PCR. La révélation du fragment amplifié peut être effectuée par colorimétrie ou fluorescence.

#### 4.2.2.2 Détection de la résistance métabolique

La mesure du niveau d'expression de certains gènes codant pour des enzymes de détoxification, dont le rôle dans la résistance aux insecticides est confirmé, peut être utilisée pour détecter la résistance métabolique et suivre sa dynamique spatio-temporelle dans les populations naturelles. Cette mesure est généralement effectuée *via* la mesure de la quantité d'ARN messager (ARNm) du gène ciblé (considérée comme représentative de la quantité de l'enzyme de détoxification) chez des individus de la population étudiée en comparaison d'individus issus d'une ou de plusieurs populations sensibles de référence de la même espèce. La technique de RT-qPCR (Reverse Transcription quantitative PCR) est généralement utilisée. Elle consiste en une rétro-transcription des ARNm en ADNc puis en une quantification relative par qPCR des ADNc du gène ciblé entre les populations testées et la population de référence. Le niveau d'expression des gènes de détoxification pouvant varier selon l'âge, le sexe, le stade de développement ainsi que l'état physiologique des individus, les mesures doivent être normalisées par rapport à l'expression d'un gène de ménage et des individus standardisés doivent être utilisés (généralement des femelles adultes de 3-5 jours n'ayant pas effectué de repas sanguin). Les enzymes de détoxification étant fréquemment inductibles par la présence de xénobiotiques, il est aussi préférable d'utiliser des individus non-préalablement exposés aux insecticides ou aux polluants organiques. La quantité d'ARNm contenue dans un moustique étant faible et variable entre individus, l'analyse de l'expression des gènes par RT-qPCR est généralement effectuée sur des pools d'au moins une dizaine d'individus par population. Enfin, l'ARNm étant fragile par nature, il est nécessaire d'utiliser des individus frais, préservés à -70°C ou bien stockés dans une solution de stabilisation de l'ARNm (ex. RNAlater). Ainsi, bien que l'approche par RT-qPCR reste le moyen le plus fiable pour mettre en évidence la surexpression d'enzymes de détoxification chez les populations résistantes, les contraintes associées à l'échantillonnage de l'ARNm restreignent fortement l'usage de cette approche dans le cadre des programmes de suivi de la résistance.

La surexpression des enzymes de détoxification chez les populations résistantes est parfois associée à une augmentation du nombre de copies des gènes correspondants *via* des amplifications géniques sélectionnées par l'usage répété des insecticides. Dans ce cas, il devient alors possible de quantifier cette variation du nombre de copies (ou CNV pour "gene Copy Number Variation") par qPCR directement à partir de l'ADNg. Dans ce cas, il est possible d'utiliser des spécimens individuels, permettant ainsi d'accéder à la fréquence du marqueur de résistance étudié dans les populations. De plus, l'ADNg n'étant pas soumis aux variations rencontrées avec l'ARNm et étant beaucoup plus stable, il est alors possible d'utiliser des spécimens morts (de n'importe quel stade) simplement conservés à sec. Par la suite, l'ADNg peut être conservé à -20°C facilitant ainsi le suivi temporel de la résistance. Enfin, cette approche permet le suivi des mutations de cible (*kdr*, *ace-1*, etc.) ainsi que de la résistance métabolique à partir des mêmes échantillons. Bien qu'une augmentation du nombre de copies ne reflète parfois que partiellement le niveau d'expression des gènes, les données récentes montrent que des CNV sont fréquemment corrélées à la surexpression des enzymes de détoxification conférant une résistance aux PYR, Carbamates et OP (Faucon *et al.* 2005, Faucon *et al.* 2007, Lucas *et al.* 2019, Cattel *et al.* 2020a, Weill *et al.* 2000). Ce type de

marqueur devrait être privilégié pour le suivi de la résistance aux OP chez *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* car ces espèces sont dépourvues de la mutation G119S du gène *ace-1* et pour lesquelles la résistance est fréquemment causée par des amplifications géniques affectant les carboxylestérases (amplification du gène CCEAE3A, Grigoraki *et al.* 2015, Grigoraki 2016; Cattel *et al.* 2020b). Le Tableau 10 présente les gènes de détoxification dont le rôle dans la résistance métabolique a été validé et pouvant être utilisés pour le suivi de la résistance chez les principaux moustiques d'intérêt sanitaire. On peut noter que peu de marqueurs ont encore été identifiés chez *Ae. albopictus* en lien avec l'émergence relativement récente de la résistance chez cette espèce.

Tableau 10. Principaux marqueurs moléculaires utilisables pour détecter la résistance métabolique

Espèce	Gène <sup>1</sup>	Famille Enzymatique	Insecticides	CNV détecté <sup>2</sup>	Références
<i>An. gambiae</i>	CYP6M2	P450	PYR, DDT, CARB	oui	
	CYP6P3	P450	PYR, DDT, CARB	oui	Stevenson <i>et al.</i> 2011
	CYP6Z1	P450	DDT, CARB	oui	David <i>et al.</i> 2013*
	CYP9K1	P450	PYR, DDT	oui	Lucas <i>et al.</i> 2019
	GSTE2	GST	PYR, DDT	oui	
<i>Ae. aegypti</i>	CYP9J32	P450	PYR	oui	
	CYP9J26	P450	PYR	oui	
	CYP9J28	P450	PYR	oui	Stevenson <i>et al.</i> 2012,
	CYP9J24	P450	PYR	oui	Kasai <i>et al.</i> 2014,
	CYP9M6	P450	PYR	oui	Faucon <i>et al.</i> 2015,
	CYP6BB2	P450	PYR	oui	Smith <i>et al.</i> 2016*,
	CCEAE3A	COE	OP	oui	Moyes <i>et al.</i> 2017*,
	GSTE2	GST	PYR, DDT	oui	Faucon <i>et al.</i> 2017,
<i>Ae. albopictus</i>	CYP6P12	P450	PYR	non	Cattel <i>et al.</i> 2020a,
	CCEAE3A	COE	OP	oui	Cattel <i>et al.</i> 2020b
<i>Cx. pipiens / quinquefasciatus</i>	CYP9M10	P450	PYR	oui	
	CYP6AA7	P450	PYR	non	Weill <i>et al.</i> 2000
	CYP4H24	P450	PYR	non	Hardstone <i>et al.</i> 2010,
	CPIJ013917 (Est2)	COE	OP	oui	Scott <i>et al.</i> 2015*,
	CPIJ013918 (Est3)	COE	OP	oui	Gong <i>et al.</i> 2017,

<sup>1</sup> Seules les enzymes dont la capacité à dégrader les insecticides a été validée sont indiquées.

<sup>2</sup> Variations du nombre de copies (CNV) détectées dans les populations naturelles (résistance éventuellement détectable sur ADN génomique). \* articles de synthèse.



### 4.2.2.3 Autres marqueurs d'intérêt

Bien que les principaux marqueurs moléculaires identifiés concernent les mutations des cibles des insecticides chimiques et les enzymes de détoxification impliquées dans leur biodégradation, d'autres marqueurs d'intérêt ont aussi été identifiés. Dans le cas de la résistance aux toxines bactériennes, il est possible de détecter par PCR une mutation (allèle *cpm1*) conférant une résistance à la toxine Bin du *Lysinibacillus sphaericus* chez *Cx. quinquefasciatus* (Wirth 2010). Chez *An. gambiae*, la surexpression d'une protéine des appendices salivaires (gène SAP2) contribue à la résistance aux pyréthrinoides, probablement via la séquestration de l'insecticide (Ingham *et al.* 2020).

### 4.2.3 Méthodes physiologiques

Les essais physiologiques *in vitro* représentent une approche complémentaire pour identifier des mécanismes de résistances développés par les moustiques mais aussi pour étudier l'impact de ces mécanismes de résistances sur l'efficacité des insecticides. Même si ces tests *in vitro* se prêtent difficilement à une mise en œuvre plus opérationnelle, ils permettent néanmoins d'obtenir une meilleure compréhension sur l'évolution de la résistance et les nouveaux mécanismes physiologiques dits de compensation (Perrier *et al.* 2021) impliqués dans la modulation de l'efficacité des molécules insecticides.

#### 4.2.3.1 Les neurones isolés de moustiques

Les cellules nerveuses sont couramment utilisées pour étudier le mode d'action des molécules à effet insecticide et l'influence des mécanismes de résistances sur l'efficacité des insecticides car elles expriment les canaux ioniques et les récepteurs membranaires, cibles des répulsifs et des insecticides. De plus, il est facile de les maintenir en culture à court terme, grâce à la mise au point d'un protocole de dissociation mécanique des têtes de moustiques (Lavialle-Defaix *et al.* 2011 ; Figure 3).

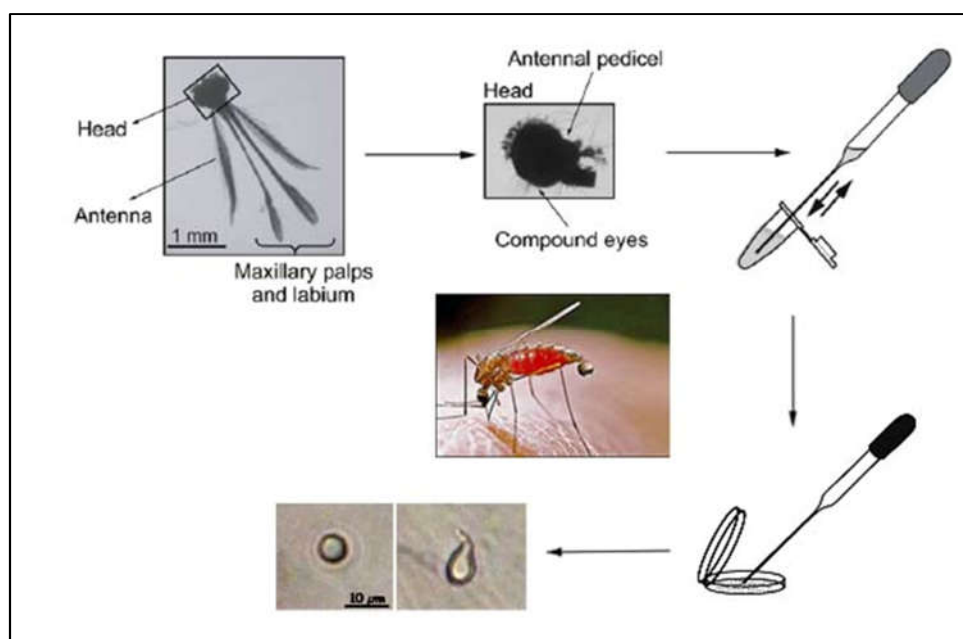


Figure 3. Schéma récapitulatif du protocole de dissociation mécanique des têtes de moustiques permettant d'obtenir les neurones isolés maintenus en culture à court-terme. (Lavialle-Defaix *et al.* 2011)

#### 4.2.3.2 Technique électro-pharmacologique adaptée aux cellules nerveuses isolées de moustiques pour détecter les résistances

Une fois les cellules nerveuses isolées, les variations de l'activité électrique des neurones sont étudiées avec la technique électrophysiologique du patch-clamp en configuration cellule entière (cf. Figure 4). Cette technique permet d'enregistrer des courants ioniques transitant à travers les récepteurs et/ou canaux ioniques membranaires (sensibles et/ou présentant des mutations ponctuelles silencieuses).

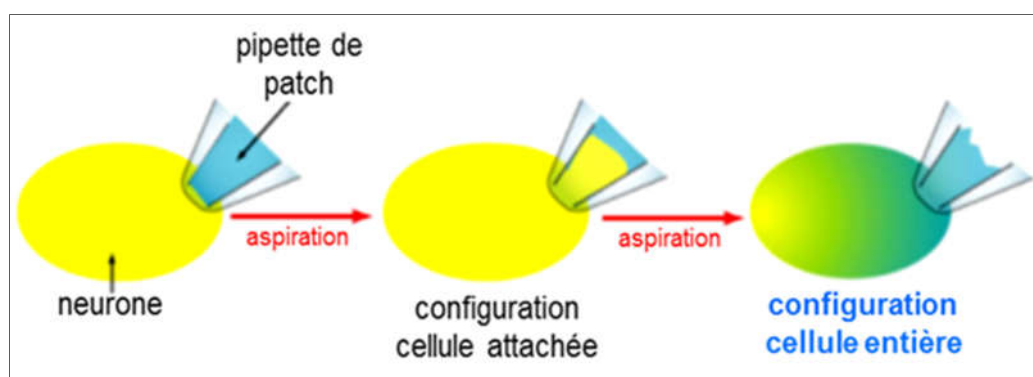


Figure 4. Schéma de la technique de patch-clamp, configuration entière (Bodereau-Dubois Béatrice, 2011)

Les courants ioniques transmembranaires enregistrés en présence des différents insecticides testés sont mesurés dans des conditions de potentiel imposé (cf. Figure 5) afin i) de détecter des mécanismes de résistance, ii) de comparer les effets insecticides entre neurones isolés des souches sensibles et résistantes et iii) d'adapter des stratégies de combinaisons de différentes molécules insecticides et synergistes pour optimiser l'efficacité du traitement sur neurones isolés de souches résistantes.

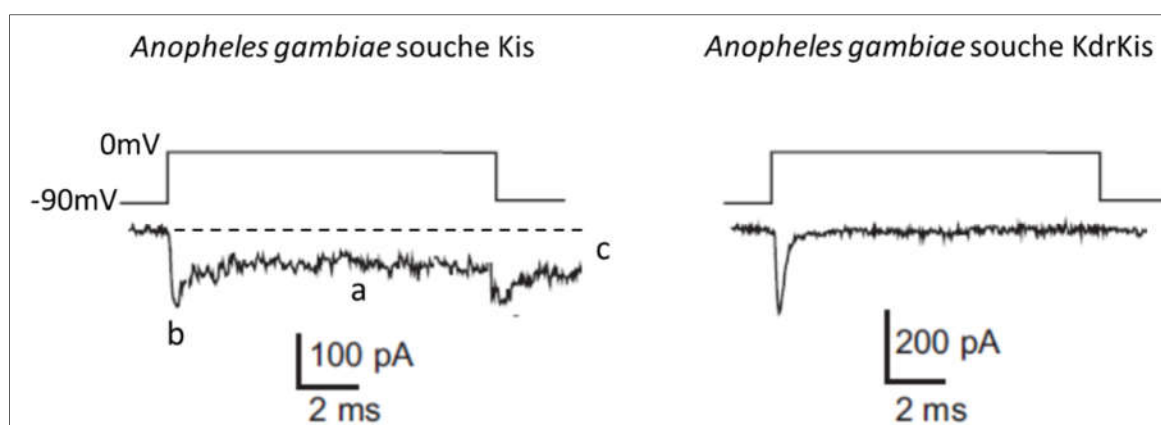


Figure 5. Exemple d'effets d'un pyréthrianoïde de type I, la perméthrine (10-5M) sur les canaux sodium exprimés dans des neurones isolés de moustiques *Anopheles gambiae*, souches sensible Kis (gauche) et KdrKis (droite) montrant une résistance aux pyréthrianoïdes par l'intermédiaire de la mutation *kdr* L1014F. (Communication personnelle, Laboratoire SiFCIR)

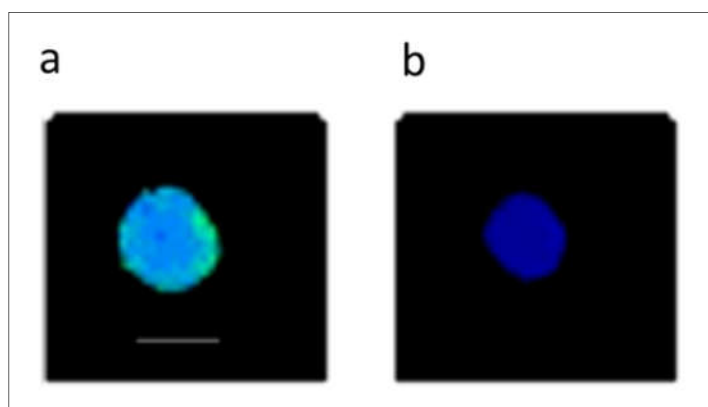
Les courants ioniques sodium, dépendants du potentiel, sont enregistrés par la technique de patch-clamp. L'effet classique du pyréthrianoïde observé sur le courant sodium (souche Kis) (courant maintenu (a), réduction de l'amplitude (b) et queue de courant de désactivation (c) n'est plus détecté sur des courants sodium de neurones isolés d'*An. gambiae* souche KdrKis.

#### 4.2.3.3 Technique RT-PCR sur neurones isolés de moustiques

Dès la fin des années 80, la technique de la RT-PCR sur cellule unique a été mise au point pour réaliser des profils d'expression de cellules isolées. Mais c'est le développement de l'association des techniques d'électrophysiologie (patch-clamp) et de biologie moléculaire (RT-PCR sur cellule unique) qui a permis de réaliser des corrélations phénotype-génotype à l'échelle de neurone individuel. La méthode comprend trois étapes principales : (1) caractériser les propriétés électrophysiologiques des cellules par la technique du patch-clamp, (2) prélever le cytoplasme de la cellule dans la pipette de patch-clamp pour le transférer dans un tube et (3) procéder à l'amplification des transcrits d'intérêt par RT-PCR. Cette stratégie combinant le patch-clamp et la RT-PCR sur cellule unique s'avère particulièrement idéale pour détecter des transcrits codant des canaux ioniques et des récepteurs membranaires présentant ou non des mutations ponctuelles.

#### 4.2.3.4 Technique d'imagerie calcique sur neurones isolés des souches de moustiques sensibles et résistants

L'imagerie calcique est une technique permettant de visualiser les variations de calcium intracellulaire dans une cellule. Le calcium joue un rôle essentiel dans la signalisation intracellulaire dépendante du calcium et il est impliqué dans la régulation de la sensibilité des cibles aux insecticides (Apaire-Marchais *et al.* 2016). La mesure des variations de calcium intracellulaire au sein des corps cellulaires de neurones est possible grâce à l'utilisation d'indicateurs fluorescents spécifiques du calcium. Dans le cas des neurones de moustiques, le marqueur fluorescent Fura-2 est utilisé. Il permet d'effectuer des mesures spatio-temporelles ratiométriques des variations de calcium intracellulaire. Cette sonde dite à « double excitation/ simple émission » possède la particularité d'émettre à deux longueurs d'onde distinctes suivant sa conformation. Lorsqu'il est sous forme libre, le Fura-2 présente une longueur d'onde optimale d'excitation à 380 nm, sous sa forme liée au calcium, sa longueur d'onde d'excitation passe alors à 340 nm. Dans les deux cas, la longueur d'onde d'émission permettant d'enregistrer la fluorescence émise est de 510 nm. L'emploi de cette double excitation permet donc de calculer un rapport entre la fluorescence émise à 340 nm et à 380 nm ( $R = 340/380$ ) qui reflète les variations de calcium (*cf.* Figure 6) observées en présence de différents insecticides sur des souches de moustiques sensibles et résistants.



**Figure 6. Visualisation des variations de la concentration en calcium intracellulaire au sein d'un corps cellulaire de neurone isolé d'*Aedes aegypti* souche Bora Bora (a), souche Vauclin (Martinique) (b) en présence d'un pyréthrianoïde de type II, la deltaméthrine (10-6M) grâce à la technique fluorescente d'imagerie calcique. (Communication personnelle, Laboratoire SiFCIR)**

La deltaméthrine provoque une augmentation de calcium intracellulaire non détectée sur des neurones isolés de la souche Vauclin, barre d'échelle 10  $\mu\text{m}$ .

# 5 Etat des lieux de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides en France

## 5.1 Territoire Métropolitain

La France hexagonale et la Corse comptent 65 espèces de moustiques. Les principaux vecteurs potentiels et effectifs sont *Anopheles maculipennis*, *An. labranchiae*, *Culex pipiens*, *Cx. modestus* et *Aedes albopictus*. Bien que de nombreuses autres espèces puissent être naturellement infectées (ex. virus tayloria) ou vecteurs de zoonoses (ex. virus myxomateux, *Dirofilaria immitis*), les cas de paludisme à *Plasmodium* sp. sont devenus extrêmement rares depuis les années 1950. Les principales arboviroses transmises depuis 2010 sont les virus West-Nile (*Culex* sp.), du Chikungunya, de la Dengue et Zika (*Ae. albopictus*).

Jusqu'en 2019, en France hexagonale et en Corse, les traitements LAV étaient mis en œuvre par les opérateurs publics historiques (ex. EID et Conseils départementaux), qui régulent également les espèces sources de nuisances (ex. *Ochlerotatus caspius*, *Oc. detritus*, *Oc. sticticus*, *Aedes vexans*). Les produits utilisés sont l'Aqua K-Othrine (deltaméthrine) en traitement spatial autoporté ou manuel (l'Aquapy à base de pyrèthre et de piperonyl butoxide a pu être utilisé jusqu'en 2017).

Ces opérateurs publics ont participé à la surveillance et à la lutte contre l'introduction et la dissémination du « moustique tigre » depuis 1998, dans le cadre d'une convention avec la DGS. A ce titre, l'EID Méditerranée assurait la coordination de la surveillance et notamment celle du suivi de la résistance. Pour *Ae. albopictus*, des bioessais larvaires et adultes (conformes aux recommandations de l'OMS 2005 et 2009) ont été effectués de 2016 à 2019 par comparaison avec la souche de référence *Ae. aegypti* Bora Bora.

Historiquement, l'EID Méditerranée a effectué des suivis de sensibilité des espèces cibles sources de nuisances (*Oc. caspius* et *Oc. detritus*).

Entre le début des années 1970 et le début des années 1990, *Cx. pipiens* a acquis plusieurs mécanismes de résistances à une grande variété d'insecticides (DDT, pyrèthroïdes, carbamates, organophosphorés, toxines de *Lysinibacillus sphaericus*, etc.).

Une collaboration de longue date (30 ans) avec l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier (ISEM) a permis d'identifier les mécanismes de la résistance aux organophosphorés et carbamates chez *Cx. pipiens*. La surproduction d'enzymes de détoxification et la modification de cible ont été détectées successivement en 1972 (*Ester*<sup>1</sup>), 1978 (*ace-1* G119S), 1984 (*Ester*<sup>A</sup>) et 1986 (*Ester*<sup>2</sup>). La résistance au *Lysinibacillus sphaericus* a été détectée dès 1994 (RR<sub>50</sub> = 6000).

Depuis 2020, la compétence de la LAV est exercée par les ARS, qui en ont confié la mise en œuvre à des opérateurs publics et privés dans le cadre de marchés publics (cf. décret n° 2019-258 du 29 mars 2019 relatif à la prévention des maladies vectorielles).

### 5.1.1 Niveaux de résistance

#### *Aedes albopictus*

Concernant le « moustique tigre » *Ae. albopictus*, bien qu'une surveillance de sa présence en métropole ait été effectuée au niveau départemental par les opérateurs depuis son implantation sur le territoire en 2004 (première observation en 1999), aucun suivi de résistance aux insecticides n'a été effectué jusqu'en 2016. Suite à l'intensification des opérations de LAV à base de deltaméthrine contre ce vecteur à partir de 2006 (notamment en régions PACA et Occitanie) un suivi de la résistance a ensuite été effectué sur des populations sentinelles échantillonnées entre 2016 et 2019 dans différents départements : Hérault, Gironde, Drôme, Rhône, Bas-Rhin, Corse et Var.

Des bioessais ont été effectués avec le *Bti* sur des larves et avec la deltaméthrine sur des adultes issus d'œufs récoltés à l'aide de pièges pondoirs. Les niveaux de résistance larvaire au *Bti* (Vectobac® 12AS) ont été évalués par des bioessais dose-réponse sur des larves de stade L3 (trois réplicats de cinq concentrations de 0,02 à 0,16 mg de s.a. par litre) et les rapports de résistance ( $RR_{50}$ ) calculés en comparaison avec la lignée sensible Bora-Bora (espèce *Ae. aegypti*). La sensibilité à la deltaméthrine a été évaluée selon le protocole de l'OMS en exposant des adultes femelles âgées de 3-6 jours pendant une heure à des papiers imprégnés de deltaméthrine à 0,05 %. Le nombre de moustiques subissant un effet choc (*Knock Down*, KD) a été mesuré régulièrement pendant 1h afin de calculer les  $KD_{T50}$  et  $KD_{T90}$  (temps d'exposition correspondants à 50 % et 90 % de moustiques KD). La mortalité a aussi été mesurée 24h après exposition. Ce suivi a confirmé l'absence de résistance au *Bti* dans les populations étudiées entre 2016 et 2019. Concernant la deltaméthrine, les bioessais réalisés sur les populations prélevées entre 2016 et 2019 ont montré des  $RR_{50} < 2$  suggérant également une absence de résistance. On peut néanmoins observer une légère augmentation des valeurs de  $RR_{50}$  entre 2016 et 2018 sur l'ensemble des populations ainsi que des valeurs de  $RR_{50}$  plus élevées obtenues pour la Corse en 2016, 2018 et 2019. Le Tableau 11 résume les données obtenues.

**Tableau 11. Niveaux de résistance au *Bti* et à la deltaméthrine observés pour les populations d'*Aedes albopictus* collectées entre 2016 et 2019.**

Tiré des rapports sur la "Surveillance du moustique *Aedes albopictus* en France métropolitaine" édité par l'EID Méditerranée de 2016 à 2019.

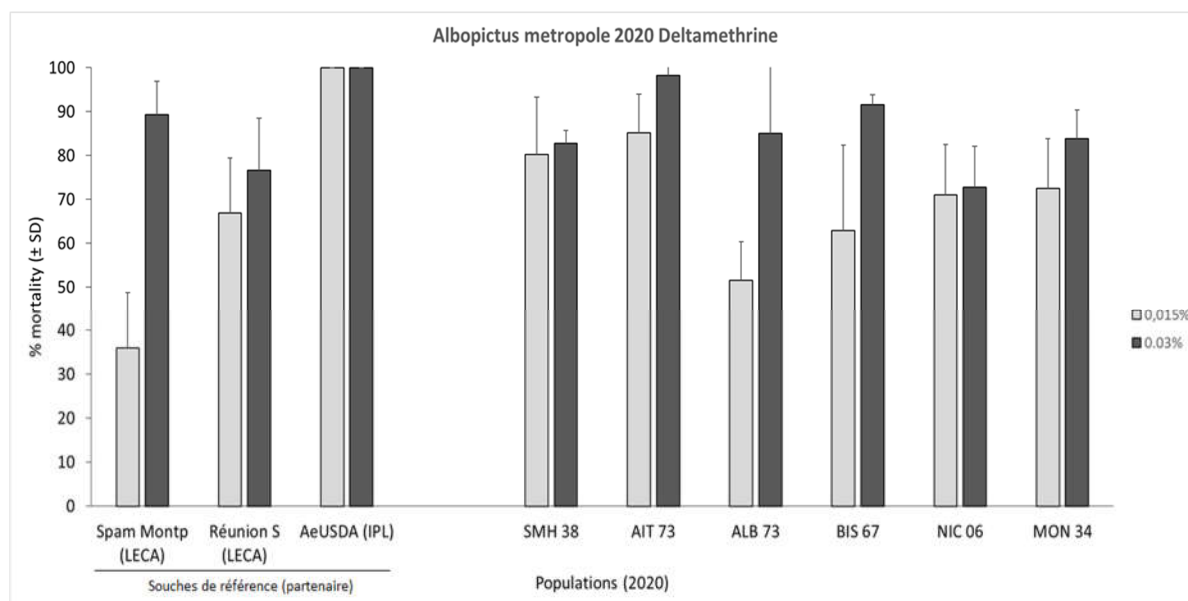
Année	Département (population)	RR <sub>50</sub> <i>Bti</i>	RR <sub>50</sub> deltaméthrine
2016	Hérault (Vertbois)	1,45	0,86
	Gironde	0,88	0,71
	Drôme-Rhône (St Martin d'Hères)	1,08	0,82
	Corse	1,43	1,15
2017	Hérault (Grande Motte)	1,04	0,9
	Gironde	1,33	0,9
	Drôme-Rhône	1,19	0,81
	Bas-Rhin	2,5	1,13
	Haute Corse	0,97	0,92
2018	Var (Cannet les Maures)	1,03	1,36
	Gironde	1,18	1,19
	Alsace	1,85	1,04
	Haute Corse	0,61	1,4
2019	Rhône-Alpes (Chindrieu)	1,38	1,11
	Alsace (Strasbourg)	1,32	0,9
	Corse (Corte)	1,21	1,12

Globalement, ce suivi entre 2016 et 2019 suggère que les populations d'*Ae. albopictus* de la métropole restent sensibles au *Bti* sur l'ensemble du territoire. De même, les bioessais réalisés sur les adultes avec la deltaméthrine (mesure des KD<sub>T50</sub> pendant une heure) suggèrent que les populations de la métropole restent sensibles à la deltaméthrine bien qu'une légère augmentation des RR<sub>50</sub> soit observée entre 2016 et 2019. Bien que la mortalité à 24h semble avoir été mesurée et représente un indicateur de résistance plus pertinent que la mesure des KD<sub>T</sub>, ces données ne figurent pas dans les rapports édités par l'EID Méditerranée. On notera aussi l'utilisation d'une lignée d'*Ae. aegypti* (lignée de laboratoire Bora-Bora) comme référence pour l'ensemble des bioessais. Enfin des papiers imprégnés à 0,05 % de deltaméthrine (dose diagnostique préconisée avant 2020 par l'OMS) ont été utilisés tandis que la dose diagnostique préconisée depuis 2020 par l'OMS pour détecter la résistance chez *Ae. albopictus* est de 0,03 %.

Dans un contexte d'émergence de la résistance aux pyréthrinoïdes chez le moustique tigre en Europe (Italie), l'Anses a financé un projet de recherche sur la résistance d'*Ae. albopictus* à la deltaméthrine (projet TigeRisk2). Dans ce cadre, un suivi de la résistance à la deltaméthrine a été effectué sur quelques populations de France métropolitaine échantillonnées en 2020. Les populations incluent : Saint-Martin d'Hères (SMH 38), Aiton (AIT 73), Strasbourg (BIS 67), Albens (ALB 73), Nice (NIC 06), Montpellier (MON 34). Les données de mortalité obtenues sur des individus F1 (adultes femelles âgées de 3-5 jours) de chaque population avec des



papers imprégnés avec 0,03 % et 0,015 % de deltaméthrine sont présentées dans la Figure 7 ci-dessous.



**Figure 7. Mortalité des population d'*Aedes albopictus* échantillonnées en 2020 après exposition à la deltaméthrine**

Les lignées de laboratoire « Spam » (Montpellier) et « Réunion S » sont considérées comme sensibles. Les pourcentages de mortalité à 24h après 1h d'exposition à des papiers imprégnés avec 0,03 % et 0,015 % de deltaméthrine (+/- Écart type) sont indiqués pour chaque population en comparaison de 3 populations sensibles de référence. Données issues du projet Anses TigRisk2.

Bien que les papiers imprégnés utilisés montrent une toxicité légèrement inférieure à celle attendue selon les normes de l'OMS (mortalité théorique attendue ~100 % pour la dose de 0,03 %) probablement due aux conditions d'imprégnation utilisées, ce suivi montre que les populations échantillonnées en 2020 conservent une bonne sensibilité à la deltaméthrine avec des taux de mortalité mesurés 24h après exposition similaires à ceux observés pour les souches de référence (souches SPAM de Montpellier et S-Run).

En Corse, le suivi opérationnel avait démontré une baisse de l'efficacité des traitements indiquant une baisse possible de la sensibilité des moustiques ciblés. Le suivi de la résistance aux insecticides était confié par l'ARS à l'Observatoire de l'Environnement de Corse (OEC) qui effectuait l'échantillonnage (un seul site) ; l'EID Méditerranée effectuait ensuite les analyses. Tous les tests réalisés entre 2010 et 2019 ont confirmé la sensibilité d'*Ae albopictus*, à l'état larvaire au *Bti* (Vectobac® 12AS) et au stade adulte à la deltaméthrine. Depuis 2020 et la mise en œuvre du nouveau dispositif réglementaire de LAV au niveau national, c'est la Collectivité de Corse, attributaire du marché public, qui réalise l'échantillonnage.

### ***Culex pipiens***

Les espèces du genre *Culex* n'ont jamais fait l'objet d'une surveillance de la résistance par les opérateurs de démoustication. Des données de résistance sont cependant disponibles dans la littérature scientifique pour certaines populations du sud de la France et en particulier autour de Montpellier où la résistance est suivie de manière régulière dans le cadre de recherches sur la dynamique de la résistance. Cependant une grande partie de ces données représente les fréquences des mécanismes de résistance et non pas les niveaux de résistances des populations naturelles obtenus à partir de tests insecticides.

Des données portant sur le suivi des allèles de résistance aux organophosphorés sont disponibles car cette famille d'insecticides a été utilisée pour la démoustication depuis les années 1960 jusqu'à leur interdiction en 2007 (N.B. : leur utilisation a été interrompue dès 2006). Ces données sont essentiellement des mesures de fréquences des allèles de résistance aux organophosphorés depuis 1986 (locus *Ester* et *ace-1*) dans des populations le long de la côte méditerranéenne (où la pression insecticide est forte) ou éloignées de plus de 20 km de la côte (zone non traitée contre la nuisance) (cf. Figure 8, Milesi *et al.* 2016). En 2012, la fréquence des différents allèles Ester était soit proche de zéro (pour les loci *Ester*<sup>1</sup> et *Ester*<sup>2</sup>) soit stable autour de 30-35 % en zone traitée comme en zone non traitée pour le locus (*Ester*<sup>4</sup>). La fréquence allélique associée à la mutation *ace-1* G119S était estimée autour de 70 % en 2005 avant l'arrêt des organophosphorés et est passée autour de 35 % en 2012 après l'arrêt de leur utilisation.

Une étude sur la résistance aux toxines de *Lysinibacillus sphaericus* a été publiée suite à un échec du contrôle de la nuisance en 1994 (Nielsen-Leroux *et al.* 1997). Après sélection du *Ls* au laboratoire pendant plusieurs générations, la colonie (génération F8) montrait une résistance de plus de 10 000 fois par rapport à une souche de référence sensible. Du fait de la sélection au laboratoire, cette information ne reflète pas le niveau de résistance de la population naturelle mais celui que confère l'allèle de résistance s'il était fixé dans la population. Aujourd'hui le *Bti* est le larvicide utilisé de manière quasi exclusive depuis 2008, mais en cas de détection de cas d'arbovirose, un seul adulticide de la famille des pyréthrinoïdes, la deltaméthrine, est autorisé.

Aucun suivi de la résistance aux pyréthrinoïdes n'a été mené chez les espèces du genre *Culex* en France car ces espèces ne font pas l'objet de traitement pour le contrôle de la transmission des arbovirus. En novembre 2019, une population de *Culex pipiens molestus* a été collectée en zone résidentielle à Montpellier à des fins de recherche. Dans cette population, une fréquence de l'allèle *kdr* (L1014F) de 58 % (N = 30) a été observée (données non publiées, Laboratoire Astre).



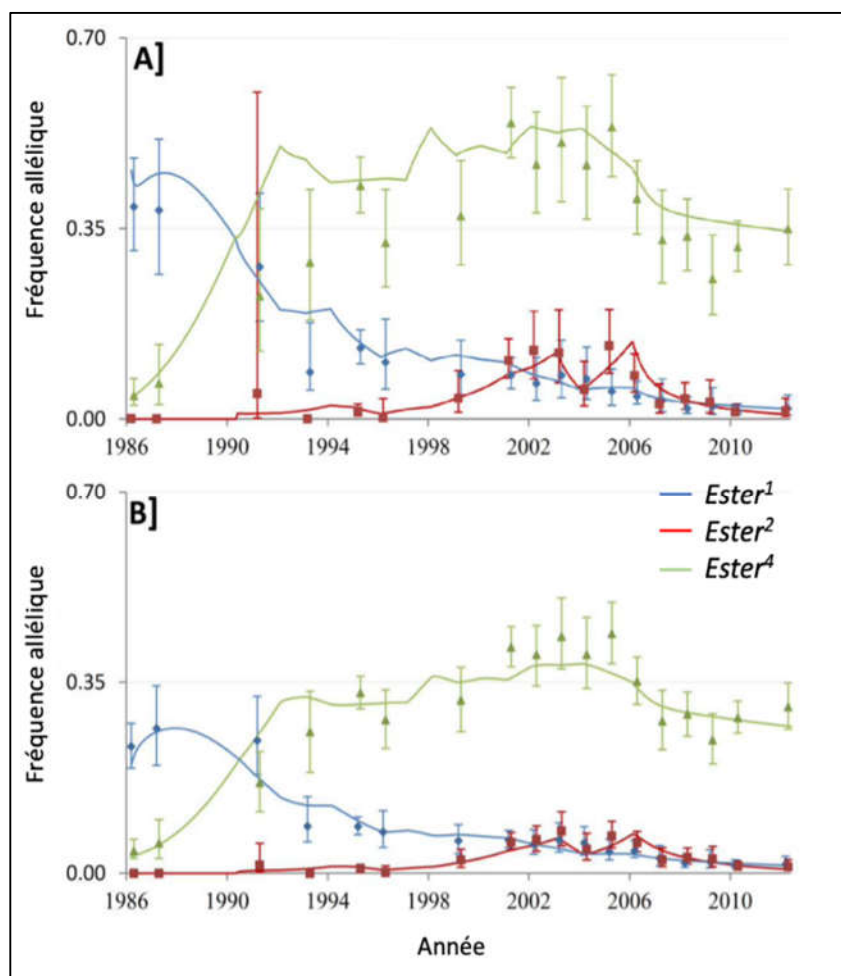


Figure 8. Fréquence maximale des allèles de résistances du locus Ester sur la période 1986 – 2012. (Milesi et al. 2016)

Les fréquences maximales de chaque allèle de résistance pour chaque année d'échantillonnage sont présentées avec les bornes associées : *Ester*<sup>1</sup> (bleu), *Ester*<sup>2</sup> (rouge) et *Ester*<sup>4</sup> (vert). Les fréquences alléliques près de la mer sont présentées en A et les fréquences à 20 km à l'intérieur des terres en B.

### 5.1.2 Plan et bilan du dispositif de surveillance

Il n'existe pas de plan de gestion de la résistance aux insecticides chez les moustiques en France hexagonale et en Corse.

Il est prévu que le suivi portant sur *Ae. albopictus* soit renouvelé avec inclusion d'autres populations (Rhône, Var, Occitanie)<sup>14</sup>. Une attention particulière devra être portée sur les populations des Alpes-Maritimes potentiellement en connexion avec l'Italie où des allèles de résistance ont déjà été identifiés.

### 5.1.3 Contraintes/limites opérationnelles et/ou organisationnelles

L'EID Méditerranée est actuellement le seul opérateur public à disposer des moyens humains et matériels pour mener un suivi de la résistance aux insecticides. Depuis 2009, à la suite de la fermeture du Laboratoire des bactéries et champignons entomopathogènes de l'Institut Pasteur de Paris (IPP), l'EID Méditerranée est dépositaire du stock de la souche standard de *Bti* IPS82. Il s'agit du produit technique de référence le plus concentré disponible sur le marché

<sup>14</sup> Projet de recherche TigeRisk2

(titre : 15 000 UTI/mg) utilisé dans le cadre des tests d'efficacité biologique en laboratoire notamment lors des procédures d'homologation, pour les bio-tests destinés à évaluer le titre des formulations à base de *Bti* et les mesures de la sensibilité des espèces cibles au *Bti*. Très stable lorsque les conditions de conservation (4°C) sont bien respectées, sa disponibilité au-delà de 5 ans ne sera plus assurée une fois que ce stock sera épuisé, à moins d'en reprogrammer la fabrication.

Depuis 2020, il n'existe plus de coordination de la LAV comparable à celle mise en œuvre par l'EID Méditerranée jusqu'en 2019 en lien avec la DGS.

## 5.2 Territoires Ultramarins

### 5.2.1 Martinique

L'île de la Martinique (14°38 N ; 61°2 W) est située dans la Caraïbe et couvre une superficie de 1 128 km<sup>2</sup>, peuplée de près de 370 000 habitants. Depuis 2015, la Martinique est administrée par une Collectivité Territoriale (CTM) unique issue de la « fusion » de la Région et de ce Département Français d'Amérique (DFA). Les 34 communes de l'île bénéficient d'un climat tropical humide et la température varie entre 20 et 32°C avec 2 saisons, la saison sèche (de Janvier à Avril) et la saison humide (de Mai à Décembre), qui impactent fortement sur la distribution et l'abondance des populations de moustiques.

La dengue est la principale arbovirose endémo-épidémique transmise à la Martinique par l'unique vecteur présent sur l'île, à savoir *Ae. aegypti*. Les 4 sérotypes du virus circulent périodiquement et malheureusement, la dengue hémorragique, apparue en 1995, est en pleine expansion en Martinique et dans la Caraïbe plus largement. Bien que les espèces *An. aquasalis* et *An. albimanus* soient présentes à la Martinique, aucun cas de paludisme autochtone n'a été enregistré depuis la fin des années 1960. Parmi les 24 espèces de moustiques présentes sur l'île, *Cx. quinquefasciatus* et *Ae. taeniorhynchus* exercent principalement une nuisance liée à leurs piqûres. Par ailleurs, *Lutzomyia cayennensis* (phlébotome) est un vecteur sporadique de Leishmaniose ; concernant *Culicoides paraensis* (Cératopogonidé ; « yen-yen »), cette espèce est impliquée dans une nuisance croissante depuis plusieurs années.

En Martinique, la LAV a été pilotée par l'Etat (DDAS, puis ARS) à partir de 1968. Le Département s'est engagé dans la démoustication de « confort » à partir de 1990, pour limiter les nuisances culicidiennes. Depuis 1991, la LAV est mise en œuvre par le Centre de démoustication et de recherches entomologiques Lutte antivectorielle (CEDRE-LAV). Cette structure « mixte » constituée d'agents de l'ARS de la Martinique et de la CTM apparaît comme « originale » et « unique » dans le paysage français.

La stratégie de la LAV suit le programme de surveillance, d'alerte et de gestion des épidémies (PSAGE) mis en place en 2006. Ce programme intègre une surveillance clinique (médecins sentinelles), sérologique, virologique, épidémiologique (ARS) et entomologique (CEDRE-LAV) tout en développant des actions de sensibilisation des populations par une mobilisation communautaire et sociale basée sur le programme COMBI - « *Communication for Behavioral Impact* » (Asriwatia *et al.*, 2017).

La lutte proprement dite est axée sur l'assainissement de l'environnement individuel et collectif et sur une utilisation rationnelle d'insecticides chimiques et/ou d'agents biologiques. Le contrôle anti-larvaire est prioritaire. Pendant plus de 30 ans le téméphos a été utilisé sur l'île, remplacé depuis 2010 par le *Bti* (Vectobac) qui est désormais le seul larvicide utilisé en LAV.

Pour les traitements adulticides, le DDT et le lindane ont été utilisés dans les années 1950, puis remplacés par le malathion et le fénitrothion qui ont également été abandonnés à partir des années 1970 à cause de leur toxicité potentielle pour l'homme, l'environnement et la faune non cible (Yébakima, 1991). Depuis le milieu des années 1990, la deltaméthrine (Aqua K-Othrine - formulation EC) est désormais la seule substance active utilisée pour les pulvérisations spatiales (en Ultra Bas Volume, à la dose de 1 g /hectare) et les traitements intra-domiciliaires.

### 5.2.1.1 Niveaux de résistance

Depuis le début des années 1990, la surveillance de la résistance aux insecticides est effectuée par le CEDRE-LAV (Yébakima 1991), avec l'appui de laboratoires de l'IRD et de l'Institut Pasteur de Paris. Ce suivi est réalisé en Martinique par l'exposition des femelles d'*Ae. aegypti* et de *Cx. quinquefasciatus* à des papiers imprégnés d'une dose diagnostique ou par le biais de dose-réponse, conformément aux recommandations de l'OMS. Des applications topiques d'insecticides sont également réalisées de manière occasionnelle dans le cadre de programmes de recherche. La surveillance de la résistance au stade larvaire se fait par le « test en gobelets » OMS soit à une dose unique soit par dose-réponse (voir section 4). Aucune surveillance régulière n'est faite sur les anophèles à cause de la difficulté de maintenir en élevage des populations sauvages d'*An. aquasalis*.

#### ***Aedes aegypti***

Les dernières données de résistance publiées en 2012 sur 9 populations échantillonnées sur l'île (Figure 9 et tableau 12) ont montré une résistance significative des moustiques à la deltaméthrine avec des ratios de résistance 50 ( $RR_{50}$ ) allant de 3,7 à Rivière Salée à 6.7 à Saint-Anne comparés à la souche sensible de référence Bora Bora (Marcombe *et al.* 2012). Les ratios de résistance calculés à partir des tests larvaires démontrent également une forte résistance des larves d'*Ae. aegypti* au téméphos en 2011, 12 (Saint-Joseph)  $< RR_{50} < 36$  (Gros Morne). Les populations peuvent être considérées comme sensibles au *Bti* avec des  $RR_{50}$  compris entre 1 à Saint Joseph et 2,2 à Sainte-Anne. Cependant, des travaux complémentaires de séquençage à haut débit ont toutefois montré que 6 des 9 populations testées possédaient des mutations non synonymes situées dans des loci potentiellement associés à la résistance au *Bti*, dont 1 mutation située dans le gène codant pour un récepteur potentiel de la toxine Cry11 (Paris *et al.* 2013). D'autre part, la mutation *kdr* V1016I sur la séquence du canal sodium dépendant du potentiel est présente à une forte prévalence (> 87 %) dans les populations locales et fortement associées à la résistance à la deltaméthrine (Marcombe *et al.* 2009). Enfin, des marqueurs génomiques et transcriptomiques liés aux gènes de détoxification de la famille des glutathion S-transférases (GST), cytochromes P450 (CYP6Zs, CYP9J) et carboxylestérases (COE) sont présents dans les populations de moustiques et jouent un rôle majeur dans la résistance aux insecticides pyréthrinoïdes et organophosphorés (Marcombe *et al.* 2013).

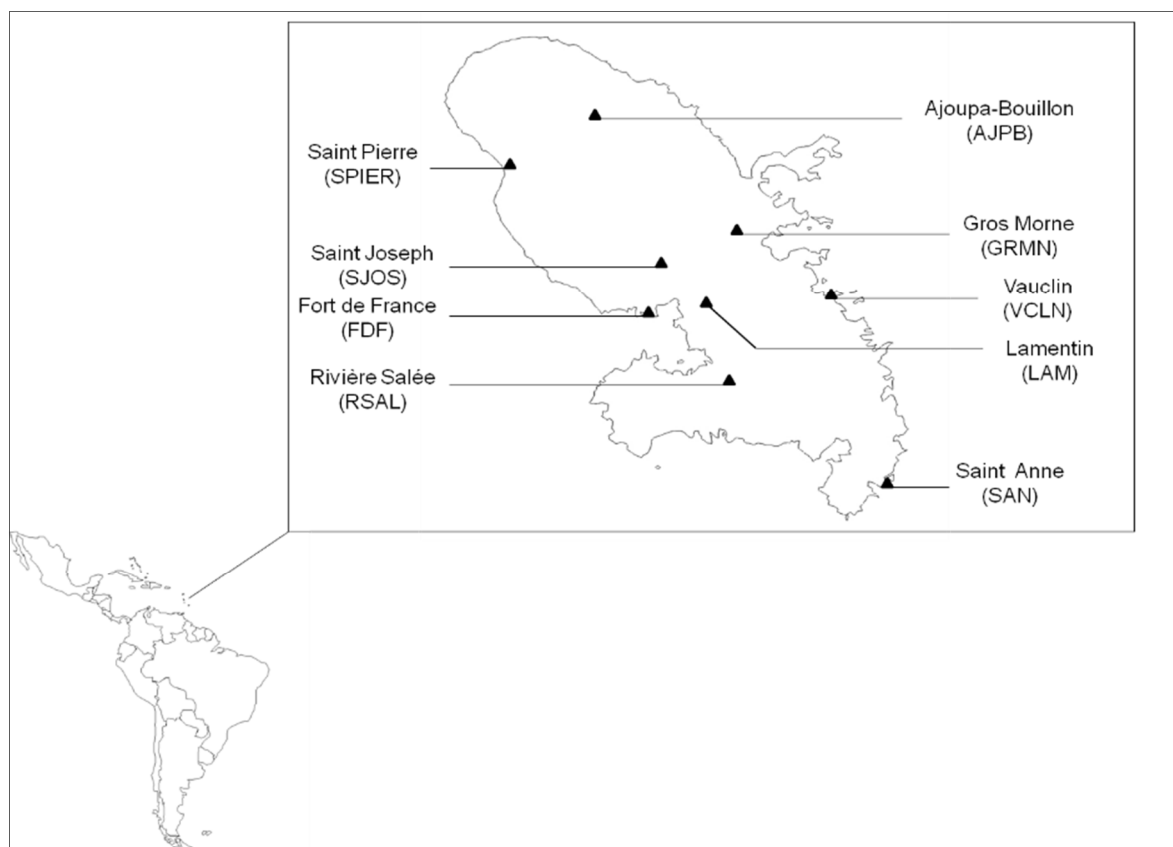


Figure 9. Carte de la Martinique montrant les populations échantillonnées au niveau macro-géographique (9 populations). Marcombe *et al.* 2012.

**Tableau 12. Statut de résistance d'*Aedes aegypti* au *Bti*, au téméphos (larves) et à la deltaméthrine (adultes) sur l'île de la Martinique. Marcombe *et al.* 2012.**

Insecticide	<i>Bti</i>		Téméphos		Deltaméthrine		
	RR <sub>50</sub> (IC RR <sub>50</sub> )	RR <sub>95</sub> (IC RR <sub>95</sub> )	RR <sub>50</sub> (IC RR <sub>50</sub> )	RR <sub>95</sub> (IC RR <sub>95</sub> )	RR <sub>50</sub> (IC RR <sub>50</sub> )	RR <sub>95</sub> (IC RR <sub>95</sub> )	Mortalité (24h)
Bora Bora <sup>1</sup>							100 %
SBE <sup>1</sup>	1,30 (1,26 - 1,29)	1,79 (1,58 - 1,83)	0,87 (0,84 - 0,87)	0,92 (0,92 - 0,95)	0,91 (1 - 0,92)	0,78 (0,81 - 0,7)	100 %
AJPB	1,63 (1,58 - 1,71)	1,6 (1,37 - 1,97)	14,69 (13,33 - 16,67)	54,41 (42,5 - 73,75)	5,86 (5,21 - 6,93)	10,29 (8,15 - 15,81)	19 %
SPIER	1,42 (1,46 - 1,41)	1,2 (1,19 - 1,3)	13,13 (12 - 15,15)	53,73 (41,61 - 74,53)	4 (3,86 - 4,21)	5,76 (5,3 - 6,86)	70 %
GRMN	1,87 (1,91 - 1,89)	2,21 (2,03 - 2,66)	35,94 (29,67 - 44,85)	149,49 (102,32 - 216,56)	5,36 (4,86 - 6,14)	6,95 (5,9 - 9,62)	64 %
SJOS	1,02 (0,89 - 1,18)	0,73 (0,57 - 0,96)	12,81 (10,67 - 16,06)	26,27 (16,25 - 42,34)	5,79 (5,21 - 7)	8,48 (6,8 - 13,38)	29 %
LAM	1,87 (1,77 - 2,03)	1,9 (1,42 - 2,66)	31,56 (28,33 - 35,76)	138,64 (112,68 - 176,25)	5,64 (5 - 6,79)	8,05 (6,45 - 12,81)	55 %
FDF	1,81 (1,74 - 1,92)	1,95 (1,55 - 2,58)	14,69 (13,67 - 16,36)	35,76 (29,64 - 45)	6,43 (5,5 - 8,64)	9,43 (7 - 18,19)	23 %
VCLN	1,27 (1,28 - 1,27)	1,16 (1,13 - 1,26)	27,5 (24,67 - 31,52)	152,88 (116,79 - 211,41)	5,71 (5,14 - 6,79)	7,14 (5,95 - 10,52)	20 %
RSAL	1,4 (1,42 - 1,39)	1,2 (1,18 - 1,3)	28,75 (26,33 - 32,73)	81,69 (64,82 - 110)	3,71 (3,57 - 3,79)	4,76 (4,25 - 4,71)	90 %
SAN	2,26 (2,32 - 2,29)	2,34 (2,12 - 2,88)	19,06 (17,67 - 21,52)	55,93 (45 - 72,66)	6,71 (5,71 - 8,57)	12,19 (9,05 - 21,52)	42 %

<sup>1</sup> Souche de référence sensible. Les CL<sub>50</sub> et CL<sub>95</sub> (exprimées en mg/litre) de la souche sensible Bora Bora étaient respectivement de 0,062 et 0,14 pour le *Bti* et de 0,0032 et 0,0059 pour le téméphos.

### ***Culex quinquefasciatus***

La résistance des populations de *Cx. quinquefasciatus*, possible vecteur du virus West Nile, a été mesurée en 1999 dans 23 sites (*cf.* Tableau 13) pour le téméphos, le propoxur, le chlorpyriphos-éthyl et la perméthrine. Ainsi, de fortes résistances ont été enregistrées pour le téméphos (8,1 au Diamant < RR<sub>50</sub> < 42,1 à Sainte-Anne) et pour le chlorpyriphos (8,6 à Saint-Pierre < RR<sub>50</sub> < 122,9 au Lamentin) comparées à la souche sensible de référence S-Lab (Yébakima *et al.* 2004). Il est à noter que l'élevage de la souche S-Lab est interrompu au CEDRE-LAV. Toutes les populations collectées étaient également résistantes au propoxur (carbamate).

Cette résistance accrue aux insecticides organophosphorés est associée à une forte diminution des génotypes sensibles à deux loci (*Ester* et *ace-1*), ainsi qu'à un remplacement d'allèle au locus *Ester* (Figure 10). Enfin, toutes les populations échantillonnées étaient résistantes à la perméthrine avec des RR<sub>50</sub> variant de 9,7 à 2800.

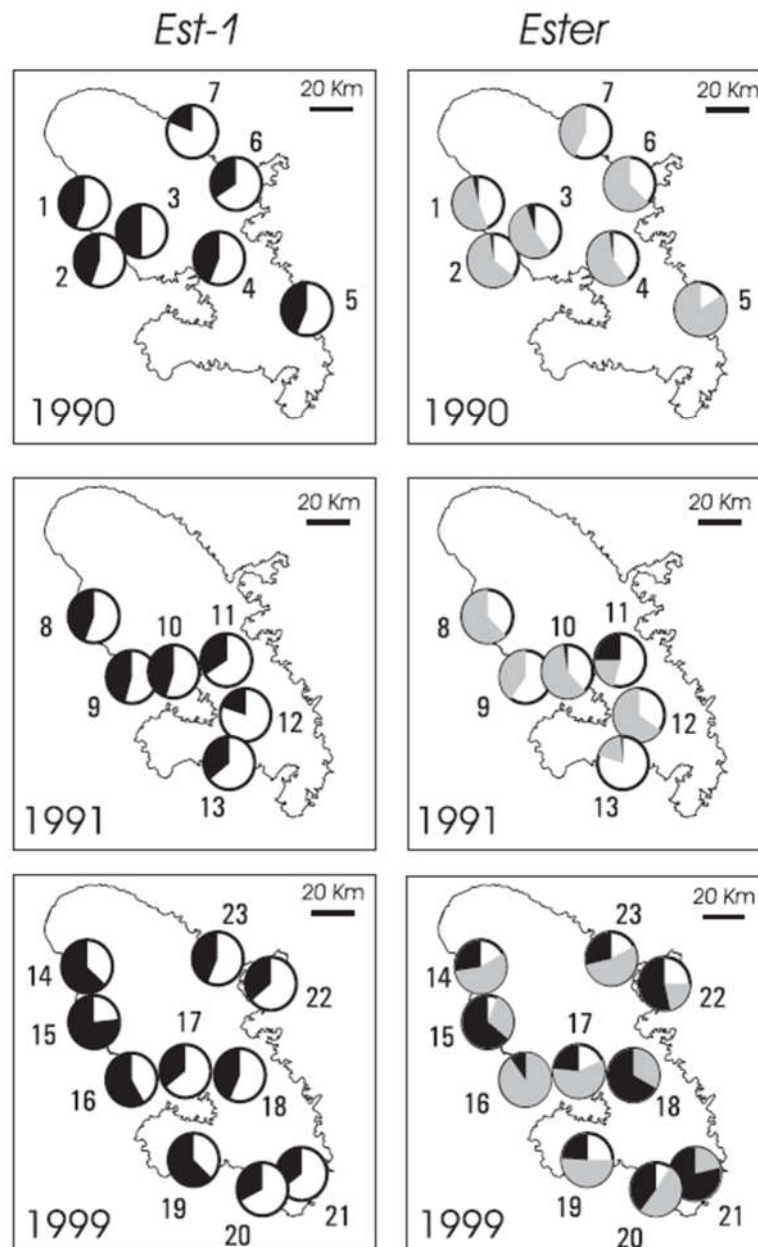


Figure 10. Evolution des fréquences alléliques Est-1 et Ester en Martinique entre 1990 et 1999.  
Yebakima *et al.*, 2004

Pour l'allèle Est-1, Est-1<sup>O</sup> est représenté en blanc et Est-1<sup>C2</sup> en noir. Pour Ester, les allèles Ester<sup>O</sup>, Ester<sup>B2</sup> et Ester<sup>B1</sup> sont représentés respectivement en blanc, gris et noir.

Tableau 13. Caractéristiques des échantillons de *Cx. quinquefasciatus* collectés entre 1990 et 1999. (Yebakima et al. 2004)

	Communes	Date de récolte	Type de gîte larvaire
1	Carbet	05/90	Bouche d'égout
2	Case Pilote (Haut)	05/90	Réservoir d'eau
3	Case Pilote (Bas)	05/90	Ruisseau
4	Lamentin (Calçon)	05/90	Bidon de 200 litres
5	Vauclin (Grande Case)	05/90	Bidon
6	Trinité	05/90	Station d'épuration
7	Marigot	05/90	Station d'épuration
8	Carbet (Fond Capot)	04/91	Fosse septique
9	Fort de France (Volga-2)	07/91	Bidon
10	Fort de France (Redoute)	04/91	Bidon de 200 litres
11	Lamentin (Bas mission)	07/91	Bouche d'égout
12	St Esprit	04/91	Fosse septique
13	Ste Luce	03/91	Station d'épuration
14	St Pierre (Marché)	03/99	Réservoir d'eau
15	Carbet (Canal)	03/99	Canal
16	Fort de France, Schoelcher (Donatien)	03/99	Ruisseau
17	Fort de France, Château-Bœuf (Hôpital)	03/99	Bouche d'égout
18	Lamentin (Tirailles)	03/99	Vide sanitaire (hypogé)
19	Diamant	03/99	Bouche d'égout
20	Ste Anne (Lacroix)	03/99	marécage
21	Ste Anne (Lubin)	03/99	Ruisseau
22	Trinité (Caribou)	03/99	Canal
23	Ste Marie (Rhum)	03/99	Station d'épuration

### 5.2.1.2 Plan et bilan du dispositif de surveillance

La surveillance de la résistance aux insecticides est effectuée par le CEDRE-LAV qui entretient des échanges ponctuels avec les territoires de la Guadeloupe, la Guyane, Saint-Martin et Saint-Barthélemy. Depuis 1999, une coopération internationale avec les autres pays de la Caraïbe est financée par le fond de coopération régional (FCR).

Bien qu'une surveillance active de la résistance soit effectuée en routine, il n'y a pas de plan de gestion de la résistance au niveau de la Martinique. Les moyens de gestion sont limités, le CEDRE-LAV promeut un usage raisonné de la deltaméthrine et mène une lutte intégrée



s'appuyant sur différentes méthodes alternatives : lutte mécanique par élimination des gîtes larvaires, aspiration des moustiques adultes (InsectaZooka aspirator), utilisation de poissons larvivores (souches locales de « Guppy » *Poecilia reticulata* et de « Gambusie » *Gambusia affinis*), pose de pièges, utilisation de produits répulsifs, etc.

Les moyens techniques (laboratoire et insectarium) et humains alloués à l'action de suivi de la résistance sont satisfaisants. Le laboratoire est fonctionnel et les protocoles de tests OMS (test larvaires, test en tubes et test topique) sont maîtrisés. Les agents en laboratoire sont volontaires pour acquérir des nouvelles compétences (ex. test en bouteilles).

### 5.2.1.3 Contraintes/limites opérationnelles et/ou organisationnelles

Compte tenu du contexte particulier de la Martinique (cf. contaminations à la chlordécone), la population exprime une certaine méfiance vis-à-vis de l'utilisation des pesticides et la limite d'acceptabilité des traitements LAV pourrait être atteinte à brève échéance.

La principale contrainte réside dans l'absence de formulations et/ou d'insecticides adulticides (hors formulations avec la deltaméthrine) qui pourraient permettre d'offrir une alternative de traitement dans un contexte de résistance aux pyréthrinoïdes qui est importante. La LAV reste un marché de niche pour les industriels fabricants d'insecticides et à ce titre, très peu de molécules alternatives sont notifiées dans le cadre du règlement sur les produits biocides [RPB, règlement (UE) n°528/2012].

La Martinique est également soumise à des contraintes logistiques qui s'illustrent par la difficulté du maintien de certaines souches de moustiques sensibles (ex. souche de référence *Culex* S-Lab qui n'est plus en élevage ; *An. aquasalis* difficile à maintenir en insectarium) et parfois par des contraintes dues au contexte épidémique (cf. orientation des moyens en fonction des priorités opérationnelles) et aux conditions météorologiques.

La consolidation des compétences humaines apparaît nécessaire. Des formations spécifiques aux techniques de tests insecticides permettraient de garantir la pérennité du suivi de la résistance en Martinique.

Enfin, la question de la surveillance de la résistance des moustiques aux insecticides se pose au-delà du 31 décembre 2022, du fait du changement de gouvernance de la LAV attendu dans les territoires ultra-marins. Les choix établis par l'ARS (cf. modèle de marché public) et la posture politique de la CTM risquent d'influencer la désignation d'un ou plusieurs opérateurs publics et/ou privés, alors que le CEDRE-LAV bénéficie actuellement, du fait de sa structure mixte (ARS-CTM), d'une autonomie de décision relative.

## 5.2.2 Guadeloupe

La Guadeloupe est un archipel des Caraïbes constitué de sept îles. Ce territoire est administré par une Collectivité Territoriale (CT) unique, issue de la « fusion » de la Région et de ce Département Français d'Amérique (DFA), qui inclue Saint-Martin et Saint-Barthélemy. La Guadeloupe proprement dite est composée de deux îles : la Grande-Terre à l'Est et la Basse-Terre à l'Ouest, séparées par un bras de mer, appelé « la Rivière-Salée ». La Guadeloupe est bordée par la mer des Caraïbes à l'Ouest et par l'océan Atlantique à l'Est. Les autres îles et îlets sont : l'île de Marie-Galante, l'archipel des Saintes, la Désirade et des îlets inhabités.

La Guadeloupe bénéficie d'un climat tropical, tempéré par les influences maritimes. On distingue ainsi deux saisons : une saison sèche de janvier à juin et une saison humide de juillet à décembre. La température varie peu tout au long de l'année mais un contraste climatique existe entre Basse-Terre et Grande-Terre, ce qui entraîne un climat spécifique sur chacune



de ces îles. Grande-Terre et ses plateaux calcaires connaissent régulièrement de sévères sécheresses, alors que le relief perpendiculaire au flux des alizés de Basse-Terre régule le régime des pluies. Il est également à noter que le climat au sommet du volcan de la Soufrière est frais (15 à 22°C), brumeux et parfois venteux. Enfin, l'archipel subit le passage des ouragans de mai à novembre.

La surveillance de la résistance aux insecticides dans les populations adultes d'*Ae. aegypti* et de *Cx. quinquefasciatus* est réalisée en Guadeloupe de manière ponctuelle. En effet, les données existantes sont les travaux de J. Rosine en 1999 mettant en avant la forte résistance aux pyréthrinoïdes et organophosphorés, puis de l'ARS entre 2006-2008, et de projets de recherche en 2011 (Dusfour *et al.* 2015) puis de 2014 à 2017 (Goindin *et al.* 2017). Ces données ont été obtenues par l'exposition des moustiques femelles adultes à des papiers imprégnés par le biais de relations dose-réponse et le calcul des ratios de résistance ( $RR_{50}$ ) (WHO 2016). Ces tests standardisés sont effectués à l'aide de tubes comme recommandé par l'OMS. La surveillance de la résistance chez les larves se fait par le test en « gobelets » soit à une dose unique soit par dose-réponse (WHO 2005). Aucune surveillance n'est faite sur les anophèles. Bien que les espèces *An. albimanus* et *An. aquasalis* soient présentes sur l'archipel, aucun cas de paludisme autochtone, n'a été enregistré depuis la fin des années 1960 (Sautet 1954 ; ARS Guadeloupe 2018). Par ailleurs, des tests en cage visant à évaluer l'efficacité des pulvérisations sont effectués régulièrement.

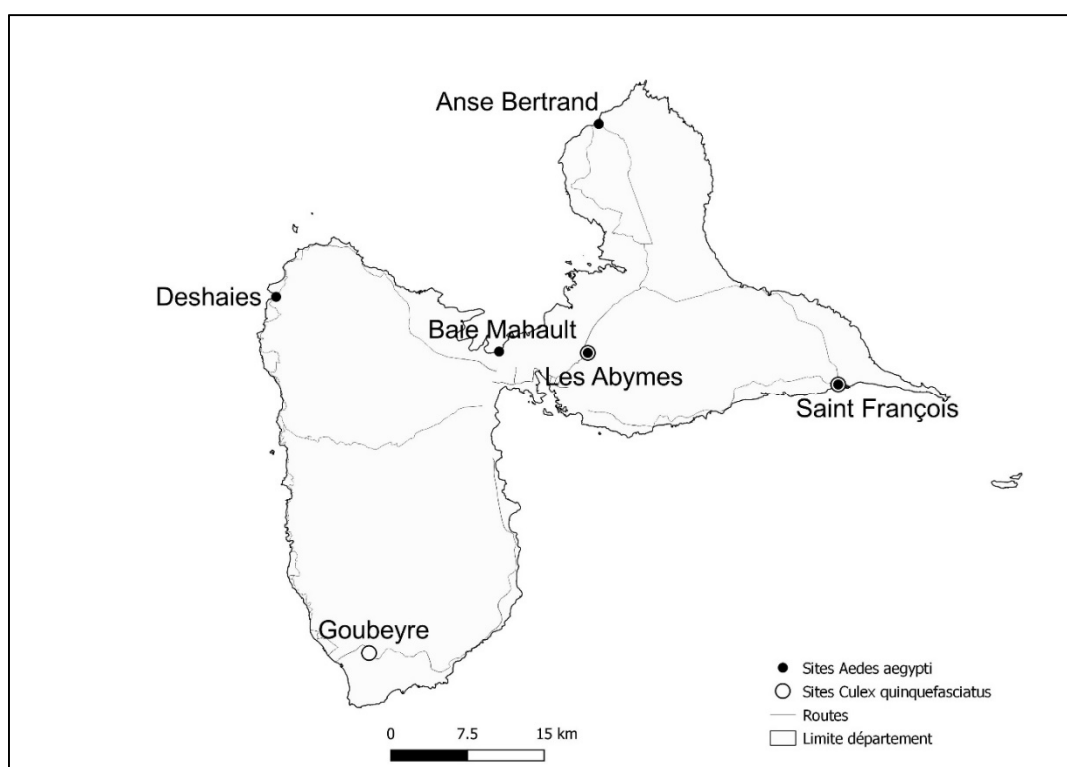


Figure 11. Carte de la Guadeloupe (à l'exception de Saint Martin) représentant les sites de collectes pour la réalisation des tests insecticides.

### 5.2.2.1 Niveaux de résistance

#### ***Aedes aegypti***

Les dernières données de résistance publiées en 2017 (Goindin 2017) pour les îles de la Guadeloupe (Figure 11) et de Saint-Martin ont montré une résistance significative des moustiques femelles à la deltaméthrine avec des ratios de résistance ( $RR_{50}$ ) allant de 8 à 28

selon les sites d'étude (6 populations échantillonnées). Les ratios de résistance calculés à partir des tests larvaires démontrent également une résistance des larves au téméphos ( $8,9 < RR_{50} < 33,1$ ) et une baisse de sensibilité au malathion ( $1,7 < RR_{50} < 4,4$ ).

Les mutations kdr V1016I et F1534C affectant les canaux sodium dépendants du potentiel sont présentes à une très forte prévalence (> 85 %) dans les populations locales et sont fortement associées à la résistance à la deltaméthrine. Par ailleurs, des marqueurs associés à la résistance métabolique de la famille des glutathion S-transférases (GSTE2), cytochromes P450 (CYP6BB2, CYP6M11, CYP9J23) et carboxylestérases (CCEAE3A) ont été mis en évidence.

Il est à noter qu'un projet de recherche récent a permis de montrer aussi une résistance à la transfluthrine (pyréthrianoïde) (communication personnelle)<sup>15</sup>.

**Tableau 14. Résultats des tests de résistance des populations d'*Aedes aegypti* de Guadeloupe et de Saint-Martin à la deltaméthrine (adultes), au malathion (larves) et au téméphos (larves) (Goindin et al. 2017).**

Les sites sont localisés sur la figure 11.

Population Lignée /	Téméphos		Malathion		Deltaméthrine (0,06 %)	
	CL <sub>50</sub> * (±IC <sub>95</sub> %) (mg/L)	RR <sub>50</sub> **	CL <sub>50</sub> (±IC <sub>95</sub> %) (mg/L)	RR <sub>50</sub>	% KD	% mortalité
Les Abymes	0,265 (0,237–0,302)	33,12	0,285 (0,265–0,307)	4,38	96	79
Saint François	0,123 (0,111–0,136)	15,37	0,168 (0,155–0,183)	2,58	98	79
Baie-Mahault	0,233 (0,211–0,259)	29,12	0,277 (0,256–0,299)	4,26	99	90
Saint-Martin (Ouest)	0,071 (0,062–0,081)	8,87	0,203 (0,187–0,221)	3,12	100	88
Saint-Martin (Est)	0,128 (0,112–0,144)	16	0,239 (0,219–0,262)	3,67		
Anse Bertrand	0,132 (0,115–0,152)	16,5	0,111 (0,101–0,122)	1,70	94	64
Deshaies	0,151 (0,132–0,172)	18,87	0,109 (0,099–0,119)	1,67	98	83
Bora Bora	0,008 (0,008–0,009)	1	0,065 (0,061–0,068)	1	-	-

\*CL<sub>50</sub>: Concentration létale pour 50 % des individus.

\*\*Ratio de résistance RR<sub>50</sub> = CL<sub>50</sub> échantillons terrain/ CL<sub>50</sub> souche de référence sensible Bora Bora.

### ***Culex quinquefasciatus***

La résistance des populations de *Cx. quinquefasciatus* sur l'île de la Guadeloupe, a été mesurée en 2016 dans trois sites (Figure 11) pour le malathion, le téméphos et la deltaméthrine (Delannay, 2018). Des résistances à la deltaméthrine ( $20 < RR_{50} < 29$ ) et au malathion ( $5 < RR_{50} < 10$ ) ont été détectées. Pour le téméphos le RR<sub>50</sub> se situe entre 1 et 2.

<sup>15</sup> Dr Vega-Rua, Institut Pasteur de la Guadeloupe

Les marqueurs moléculaires associés sont les mutations L1014F sur le gène du canal sodium (cible des pyréthriinoïdes) et S119 ace-1 (cible des organophosphorés). De plus, une association entre l'expression des gènes *CYP9J45*, *CYP9J40* et *CYP6AA7* et la résistance à la deltaméthrine a été rapportée.

**Tableau 15. Résultats des tests de résistance des populations de *Culex quinquefasciatus* de Guadeloupe à la deltaméthrine (adultes), au malathion (larves) et au téméphos (larves) (Delannay et al 2018).**

Les sites sont localisés sur la figure 11.

Population Lignée /	Téméphos		Malathion		Deltaméthrine	
	CL <sub>50</sub> * (±IC <sub>95</sub> %) (mg/L)	RR <sub>50</sub> **	CL <sub>50</sub> (±IC <sub>95</sub> %) (mg/L)	RR <sub>50</sub>	CL <sub>50</sub> (±IC <sub>95</sub> %) (mg/L)	RR <sub>50</sub>
Les Abymes	0,006 (0,005–0,006)	2 (1,6–2)	0,129 (0,113–0,150)	5,38 (4,71–6,25)	0,029 (0,023–0,034)	29 (23–34)
Saint François	0,003 (-)	1 (-)	0,018 (0,010–0,026)	0,75 (0,42–1,08)	0,020 (0,015–0,023)	20 (15–23)
Gourbeyre	0,005 (0,004–0,006)	1,67 (1,33–2)	0,234 (0,207–0,268)	9,75 (8,63–11,16)	0,026 (0,021–0,031)	26 (21–31)
SLab	0,003 (-)	-	0,024 (0,022–0,026)	-	0,001 (-)	-

\*CL<sub>50</sub>: Concentration létale pour 50 % des individus.

\*\*Ratio de résistance RR<sub>50</sub> = CL<sub>50</sub> échantillons terrain/ CL<sub>50</sub> souche de référence sensible Slab.

### 5.2.2.2 Plan et bilan du dispositif de surveillance

La Guadeloupe ne possède pas de plan de surveillance en routine de la résistance. Les opérations de détection et de suivi de la résistance sont ponctuelles comme en témoigne la bibliographie et les auditions des organismes impliqués. En effet, l'ARS de Guadeloupe en charge de la lutte ne possède pas l'infrastructure pour réaliser les tests biologiques et moléculaires. L'Institut Pasteur de la Guadeloupe, par le biais d'une convention avec l'ARS, est en charge des tests biologiques et de la caractérisation moléculaire de la résistance. Il est cependant à noter que le recours à des pulvérisations de deltaméthrine reste anecdotique depuis la mise en évidence de la résistance à celle-ci. La lutte larvaire à l'aide du *Bti* est aujourd'hui principalement utilisée.

### 5.2.2.3 Contraintes/limites opérationnelles et/ou organisationnelles

L'ensemble des missions de surveillance entomologique et de LAV sont réalisées par l'ARS de Guadeloupe. Ces dernières années, la baisse des effectifs et la diversification des missions de santé publique ont réduit sa capacité à faire un suivi de la résistance aux insecticides.

## 5.2.3 Guyane

La Guyane, est une région monodépartementale française en Amérique du Sud, limitrophe du Brésil au Sud-Est et au Sud, et du Suriname à l'Ouest. Les compétences des deux entités administratives (région et département) sont regroupées dans le cadre d'une Collectivité Territoriale unique (CTG). D'une superficie de 83 846 km<sup>2</sup>, elle détient une population de 296 711 d'habitants (2019). La forêt équatoriale recouvre 97 % du territoire, et la population est principalement distribuée le long du littoral et des fleuves. Ce département a ainsi une faible densité de population (3,3 hab./km<sup>2</sup>). Mais la population de la Guyane est en forte

hausse du fait d'un fort taux de natalité et d'une immigration importante venant des pays proches. La Guyane possède un climat équatorial humide et connaît une saison humide de décembre à juillet et une période plus sèche durant le reste de l'année.

La surveillance de la résistance aux insecticides dans les populations adultes d'*Ae. aegypti*, principal vecteur d'arboviroses sur ce territoire et *Cx. quinquefasciatus* est menée en Guyane par l'exposition des femelles sur des papiers imprégnés à une dose diagnostique. Ces tests standardisés sont effectués dans les tubes comme recommandé par l'OMS soit par l'Institut Pasteur de la Guyane soit par les Services de la Direction de la Démoustication (SDD) de la Collectivité Territoriale de Guyane. Les adultes d'*An. darlingi* sont quant à eux exposés lors des tests en bouteilles normalisés par le CDC. La surveillance de la résistance chez les larves se fait par le test en « gobelets » soit à une dose unique soit par dose-réponse.

La surveillance de la résistance bien que réalisée annuellement n'est pas toujours effectuée sur les mêmes sites/populations. Des données historiques sont disponibles mais les doses diagnostiques pour moustiques adultes ont varié au cours du temps. Les résultats présentés ci-dessous (Tableaux 16 et 17) ne représentent que les doses recommandées actuellement par l'OMS.

En ce qui concerne la surveillance de la résistance aux larvicides, l'approche dose-réponse n'a été que peu utilisée. L'utilisation de doses diagnostiques obtenues localement ou de doses opérationnelles ont été privilégiées.

Entre 2007 et 2017, le SDD réalisait la surveillance larvaire des espèces *Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus* alors que l'IPG réalisait la surveillance de la résistance chez les adultes. Depuis 2017, les tests sur *Ae. aegypti* sont entièrement réalisés au service de démoustication alors que l'IPG a la charge d'effectuer, à la demande, des tests sur les populations anophéliennes. L'ensemble de ces tests fait partie de travaux effectués dans le cadre de conventions bipartites entre l'ARS et les organismes suscités. Des résultats obtenus dans le cadre d'essais ou de projets de recherche sont également mentionnés ci-après. Enfin, des essais d'efficacité des pulvérisations de deltaméthrine et de fénitrothion ont été réalisés de manière ponctuelle (Dusfour, 2011).



Figure 12. Carte de la Guyane et emplacement des sites de collectes.

### 5.2.3.1 Niveaux de résistance

#### ***Aedes aegypti***

Cette espèce est fortement liée à la présence de l'Homme. Elle se distribue sur le littoral et le long du fleuve Maroni jusqu'à Maripasoula.

La résistance à la deltaméthrine est connue depuis les années 2000 et atteint des niveaux élevés sur tout le territoire Guyanais (Guidez *et al.* 2020, Tableau 16). Les dernières données de dose-réponse à la deltaméthrine montrent un  $RR_{50}$  supérieur à 700 (Faucon *et al.* 2015). Entre 2010 et 2018, la mortalité à 24h après exposition à une dose de 0,05 % était bien en deçà du seuil de sensibilité OMS de 98 % sur l'ensemble du territoire à l'exception de l'île Royale (l'une des îles du Salut, Figure 12). Cependant, la résistance y a été détectée en 2015 (Guidez *et al.* 2020). La réalisation des tests doses-réponses était difficile car l'obtention de 100 % de mortalité s'est révélée impossible avec des papiers imprégnés (cristallisation de l'insecticide pour les fortes concentrations de deltaméthrine).

Tableau 16. Résultats de tests en tubes à la dose de 0,05 % de deltaméthrine sur les femelles d'*Aedes aegypti* entre 2010 et 2019 (Extrait de Guidez *et al.* 2020 et des rapports de la CTG).

Les sites sont placés sur la Figure 12.

Année	Population	% KD (1h)	ET <sup>16</sup> (% KD)	% Mort. (24h)	ET (% Mort)
2010	Cayenne	24,9	7,6	23,9	12,2
	Kourou	15,1	3,7	17,1	5,8
	Regina	6,8	6,6	23,6	10,1
	Saint-Georges-de-l'Oyapock	30,1	8,6	40,1	8,0
	Saint-Laurent du Maroni	20,6	5,7	25,8	9,1
2011	Cacao	8,8	7,5	10,0	5,8
	Cayenne	22,7	13,3	39,3	18,5
	Matoury	10,2	5,2	20,5	12,3
	Regina	2,3	4,5	1,9	3,3
	Remire-Montjoly	22,6	11,1	22,4	6,3
	Saut Sabbat	43,2	10,8	36,8	19,2
2012	Cayenne	2,0	2,3	2,0	2,3
	Loka	13,0	8,9	14,0	12,4
	Maripasoula	9,1	6,9	6,1	5,4
	Matiti	10,1	5,1	7,1	3,9
2013	Iles du Salut	98,0	3,0	92,5	4,5
	Kourou	11,2	9,0	9,1	7,6
	Saint-Georges-de-l'Oyapock	21,0	10,5	21,0	16,1
2014	Apatou	7,0	6,8	15,2	17,1
	Cayenne	14,6	12,0	22,6	24,5
	Iles du Salut	94,0	3,8	82,7	10,8
	Kourou	33,6	26,1	17,8	10,4
	Mana	8,4	5,8	12,0	7,5
	Maripasoula	6,6	8,4	14,4	8,5
	Saint-Georges-de-l'Oyapock	8,1	7,6	12,0	11,8
	Saint-Laurent du Maroni	7,2	8,5	42,3	5,4
2015	Apatou	3,1	2,1	10,7	10,4
	Cayenne	2,8	1,9	4,8	1,9
	Iles du Salut	85,6	12,7	64,1	17,1
	Kourou	0,0	0,0	1,0	2,0
	Matoury	9,5	11,5	17,0	26,2
	Saint-Laurent du Maroni	0,0	0,0	3,1	2,1
2016	Kourou	7,0	2,0	3,0	3,8
	Maripasoula	7,0	3,8	0,0	0,0
	Saint-Georges-de-l'Oyapock	29,2	12,6	11,2	5,3
2017	Matoury	-	-	30	-
	Rémire-Montjoly	-	-	47	-
2019	Cayenne	-	-	8,5	-
	Kourou	-	-	16	-
	Macouria	-	-	17	-

<sup>16</sup> Erreur type

Des tests réalisés avec l'alpha-cyperméthrine (Tableau 17 ci-après) révèlent également la présence de résistance à cette molécule et une mortalité à la dose diagnostique de 0,05 % variant de 0 à 5 % sur le territoire.

En 2016, la résistance au bendiocarbe et au propoxur (carbamates) a été mesurée par l'exposition des moustiques femelles à une dose de 0,1 % (dose diagnostique établie chez les *Anopheles*). Alors que la mortalité enregistrée pour le bendiocarbe était entre 91 et 96 % laissant apparaître un début de résistance, celle au propoxur variait entre 13 et 76 % selon les sites (Guidez *et al.* 2020, Tableau 17).

La résistance au fénitrothion recherchée à la dose de 0.5 % a été enregistrée sur le territoire à l'exception de Maripasoula (*cf.* Tableau 17). En 2016, les mortalités variaient de 45 à 100 % selon les sites. De même, la résistance au malathion est présente en Guyane. En effet, des tests réalisés à la dose 0,8 % recommandée par l'OMS démontrent la présence de résistance. Or, le doute sur la validité de cette dose en 2014 a poussé à la réalisation de tests à la dose de 5 %. Certaines populations démontrent également une baisse de sensibilité (Guidez *et al.* 2020, Tableau 17).

L'identification des mécanismes de résistance a permis d'identifier des marqueurs moléculaires de résistance aux insecticides chimiques chez cette espèce. Les mutations I1016 et F1534 des canaux sodium dépendants du potentiel sont fortement associées à la résistance à la deltaméthrine (Guidez *et al.* 2020). Par ailleurs, des marqueurs génomiques (duplications de gènes) et transcriptomiques (surexpression de gènes) liés à la résistance métabolique de la famille des cytochromes P450 (CYP6BB2, CYP6M11, CYP9J28) et des carboxylestérases (CCEAE3A) ont été mis en évidence (Cattel *et al.* 2019, Dusfour *et al.* 2015, Faucon *et al.* 2015).

En 2013, la résistance au *Bti* a d'une part été surveillée par le biais d'une dose diagnostique élaborée au sein du SDD (1,2 mg/L) et d'autre part par dose-réponse à l'aide de la formulation Vectobac G ( $RR_{50} = 0,83$  à Cayenne et  $RR_{50} = 0,90$  à Saint-Georges-de-l'Oyapock). Aucune perte de sensibilité n'a été enregistrée (Dusfour *et al.* 2013). Une série de tests d'évaluation de résistance au téméphos a été effectuée en 2006/2007 à la dose opérationnelle de 0,2 mg/L montrant une résistance à cette molécule aujourd'hui non autorisée (Girod *et al.* 2008). Cependant, des tests effectués à la même dose en 2012 par le service de démoustication de la CTG indiquent un retour de la sensibilité des populations à cet insecticide.

Tableau 17. Résultats de tests en tubes sur les femelles d'*Aedes aegypti* entre 2010 et 2019 (Extrait de Guidez *et al.* 2020).

Molécule	Dose	Population	Année	% Mort. (24h)	SE (%)
Alpha-cyperméthrine	0,05 %	Cayenne	2016	5	5
		Kourou	2016	3	3,8
		Maripasoula	2016	0	0
		Saint-Georges-de-l'Oyapock	2016	0	0
Bendiocarbe	0,1 %	Maripasoula	2016	91	5
		Saint-Georges-de-l'Oyapock	2016	96	3,2
Propoxur	0,1 %	Cayenne	2011	13,6	1,9
		Maripasoula	2016	76	3,2
		Saint-Georges-de-l'Oyapock	2016	76	3,2
Fénitrothion	0,5 %	Cayenne	2009	43	12,4
			2011	74	13,5
			2016	94	4
		Kourou	2009	47,6	15,3
			2016	45	1,9
		Maripasoula	2012	100	0
			2016	100	0
		Saint-Georges-de-l'Oyapock	2008	29,3	18,5
			2016	96,0	4,6
		Saint-Laurent-du-Maroni	2009	85,4	7,9
Malathion	0,8 %	Cayenne	2014	31,8	26,4
		Kourou	2014	9	7,8
			2015	4,1	3,4
		Matoury	2014	20,8	11,7
			2015	13,4	8,7
		Saint-Georges-de-l'Oyapock	2008	12,1	3,2
			2014	8,8	5,5
			2015	4,9	4,8
		Saint-Laurent-du-Maroni	2015	10,2	7,8
	5 %	Cayenne	2014	99,4	1,4
		Kourou	2014	98,5	2
			2015	94,6	5,2
		Matoury	2015	100	0
		Saint-Georges-de-l'Oyapock	2014	100	0
			2015	87,6	14,8
Saint-Laurent-du-Maroni	2015	100	0		



### ***Culex quinquefasciatus***

En 2016, cette espèce était résistante à la deltaméthrine à la dose 0,025 % avec des taux de mortalités entre 1 et 9 %. Ces tests ont été réalisés lors de l'épidémie de Zika pour laquelle cette espèce a été suspectée d'être vectrice (Guidez *et al.* 2020).

Tableau 18. Résultats de tests en tubes sur les femelles de *Culex quinquefasciatus*.

Localité	% KD (1h)	SE (%)	% Mort. (24h)	SE (%)
Kourou	1,0	2,0	1	2
Rémire-Montjoly	14,4	3	5,1	2,5
Saint-Georges de l'Oyapock	3,0	3,8	9	3,8

***Anopheles darlingi*** a fait l'objet d'une surveillance régulière depuis 2014 dans la population de Blondin (Saint-Georges-de-l'Oyapock) et La Césarée (Macouria) à l'aide du test en bouteilles CDC. Des mortalités à 30 min (temps diagnostique) entre 83 et 100 % enregistrées à Blondin, en zone de transmission du paludisme, ont laissé entrevoir un début de résistance à la deltaméthrine (12,5 µg/bouteille), perméthrine (21,5 µg/bouteille) et alpha-cyperméthrine (12,5 µg/bouteille) entre 2014 et 2016. Cependant, la baisse de la sensibilité n'a pas été retrouvée en 2018. L'unique test effectué avec le malathion (50 µg/bouteille) n'a pas permis d'observer une perte de sensibilité (Vezenegho *et al.* 2021). L'étude des séquences du canal sodium n'a pas permis de mettre en évidence de mutations kdr permettant de suspecter d'autres types de mécanismes (ex. métaboliques).

L'évaluation de la résistance à la deltaméthrine, la perméthrine et l'alpha-cyperméthrine dans la population de Trois-palétuviers (Saint-Georges-de-l'Oyapock) en 2017 et 2018, n'a pas permis de détecter une perte de sensibilité.

#### 5.2.3.2 Plan et bilan du dispositif de surveillance

La surveillance de la résistance des moustiques vecteurs fait partie du contrat annuel entre l'ARS et l'Institut Pasteur de la Guyane (IPG). Le choix des sites d'échantillonnage est effectué par l'IPG. En ce qui concerne *Ae. aegypti*, les villes importantes sont incluses de manière annuelle ou tous les 2 ans. Des sites moins peuplés ont également été investigués pour évaluer la répartition spatiale de cette résistance. Un total de 4 sites par an a été investigué depuis 2010.

Depuis 2017, ces tests sont effectués par le laboratoire d'entomologie de la Collectivité Territoriale de Guyane en ce qui concerne *Ae. aegypti*. La surveillance des deux vecteurs majeurs (*Ae. aegypti* et *An. darlingi*) a pu être menée de manière régulière ces dernières années.

#### 5.2.3.3 Contraintes/limites opérationnelles et/ou organisationnelles

En ce qui concerne *An. darlingi*, plusieurs écueils se sont posés et notamment l'obtention d'une quantité suffisante de moustiques de terrain, puisque qu'il n'a pas été possible de les élever. Les sites de fortes densités et de transmission du paludisme ont été choisis. Par ailleurs, *An. darlingi* ne possède pas de souche de référence. Ainsi, la population de La Césarée a été utilisée comme souche sensible.

## 5.2.4 Mayotte

Mayotte, située dans l'archipel des Comores, comporte deux îles principales; Grande Terre (360 km<sup>2</sup>) et Petite Terre (14 km<sup>2</sup>). Le climat est de type tropical maritime. La saison chaude (saison des pluies) va de novembre à avril (27 à 30°C) et la saison sèche s'étend de mai à octobre (22 à 25°C).

Le paludisme, presque exclusivement à *Plasmodium falciparum*, est endémique dans l'île. En 2017, 19 cas de paludisme ont été identifiés à Mayotte dont six cas autochtones. Huit espèces d'anophèles ont été observées sur l'île de Mayotte, dont quatre sont considérées comme des vecteurs primaires de la maladie : *An. gambiae* s.s. trouvé en permanence sur toute l'île, *An. funestus* actuellement localisé dans le nord de l'île (Bandraboua, BAN), *An. mascarensis* et *An. merus* peu documentées et semblant jouer un rôle mineur (Elissa et Karch 2005 ; Maillard *et al.* 2015). *An. gambiae* s.l., *An. funestus* et *An. arabiensis* peuvent également transmettre la filariose lymphatique à *Wuchereria bancrofti* mais, c'est *Cx. quinquefasciatus* qui assure essentiellement la transmission dans les zones urbaines (Julvez et Mouchet 1994, Fontenille *et al.* 2009). *Cx. quinquefasciatus* présente une compétence vectorielle modérée pour la fièvre de la vallée du Rift. Sur les 47 espèces de moustiques présentes à Mayotte, 12 autres espèces sont considérées comme des vecteurs ou vecteurs potentiels de la fièvre de la vallée du Rift (EFSA, 2020). Parmi celles-ci, *Ae. aegypti* qui est le vecteur principal de la dengue et *Ae. albopictus*, signalé pour la première fois à Mayotte en 2001, qui est celui du Chikungunya (Fontenille *et al.* 2009).

Le service de LAV a été créé en 2002 et dépend de l'ARS Mayotte. Il est composé de 74 personnes qui se répartissent en quatre secteurs : logistique, laboratoire d'entomologie, lutte contre les arboviroses et lutte contre le paludisme et autres parasitoses. Cependant, depuis les années 1950, Mayotte a fait l'objet de nombreux traitements adulticides et larvicides. A partir de 1954, des pulvérisations intra-domiciliaires de dieldrine ont été réalisées à Mayotte. En 1973 des pulvérisations expérimentales de DDT-fénitrothion sont faites alors que le téméphos est testé comme larvicide à Sada et Chiconi puis utilisé régulièrement par la suite sur toute l'île jusqu'à son retrait et son remplacement par du *Bti*. A partir de 1976 des pulvérisations alternées de DDT-malathion sont faites. Chaque maison était traitée trois fois par an au malathion (2 g/m<sup>2</sup>) et une fois par an au DDT (2 g/m<sup>2</sup>). En 1984, le malathion est remplacé par le fénitrothion du fait d'un début de résistance chez *Cx. quinquefasciatus*. Des essais avec la deltaméthrine sont aussi réalisés en 1984 et son emploi se généralise rapidement. Entre 2007 et 2009 des aspersion intra-domiciliaires sont réalisées dans chaque maison. Les premiers essais de moustiquaires imprégnées aux pyréthrinoïdes datent de 1996 (Subra *et al.* 1973 ; Galtier et Blanchy 1982 ; Julvez *et al.* 1987 ; Robert et Lagneau, 2009 ; Maillard 2017). Une distribution systématique a été faite de 2012 à 2016. En 2017, suite à une reprise de transmission autochtone du paludisme dans un village de gratte<sup>17</sup>, situé dans la brousse entre Koungou (KOU) et Bandraboua, une distribution ciblée de moustiquaires a été faite. Mayotte étant rentré en phase d'élimination du paludisme, cette distribution continue avec des traitements intra-domiciliaires.

Outre la lutte chimique, l'emploi de poissons larvivores (*Poecilia reticulata*) a été fortement développé. Enfin, des actions de sensibilisation sont organisées via des spots télévisés et aussi par l'intermédiaire des imams.

<sup>17</sup> Village forestier temporaire

#### 5.2.4.1 Niveaux de résistance

Des larves d'*Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *An. gambiae* et *Cx. quinquefasciatus* ont été prélevées entre 2010 et 2011 respectivement à Petite terre (PT), Kaweni (KWI), Dzoumogné (DZOU) et Tzoundzou 1 (TZ1) (voir Figure 13) et utilisées au stade L3 d'après le protocole décrit par l'OMS afin de déterminer leurs niveaux de résistance au téméphos, *Bti*, spinosad, diflubenzuron, pyriproxyfène et méthoprène. Des tests en tubes OMS sur moustiques adultes ont également été réalisés (Pocquet *et al.* 2014). Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 19. Ainsi, parmi les quatre espèces de moustiques étudiées, *Cx. quinquefasciatus* présente les plus hauts niveaux de résistance aux insecticides. Cette espèce s'avère résistante au téméphos et à la deltaméthrine mais pas aux autres insecticides testés (Tableau 19). Une mortalité de 10 % a été trouvée pour la deltaméthrine après 24h d'exposition alors que 99 %, 100 % et 97 % de mortalité ont été trouvées avec respectivement *An. gambiae*, *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*. Les mécanismes impliqués dans ces résistances ont été identifiés par Pocquet *et al.* (2013). Chez *Cx. quinquefasciatus* à Mayotte, la résistance au téméphos est conférée par une modification de la cible de cet insecticide (mutation du gène *ace-1*) et par une surexpression de certaines estérases impliquées dans la séquestration et la dégradation des organophosphorés (surexpression encodée par l'allèle *Ester<sup>2</sup>*). La résistance à la deltaméthrine est quant à elle conférée par une mutation de la cible des pyréthrinoïdes (mutation *kdr*). Des mécanismes de résistance à d'autres familles d'insecticides ont également été détectés chez cette espèce à Mayotte, notamment une modification de la cible de la dieldrine (mutation du gène *Rdl*) et une suractivité des Glutathion S-transférases (Pocquet *et al.* 2013; Jourdain et Perrin, 2015).

Tableau 19. Niveaux de résistances des moustiques de Mayotte à six larvicides et un adjuvant. Pocquet *et al.* 2014

Espèce (localisation)	Biocide	RR <sub>50</sub> *	RR <sub>95</sub> *
<i>An. gambiae</i> (DZOU)	Téméphos	4,84	12,9
	<i>Bti</i>	1,02	0,83
	Spinosad	1,54	1,80
	Diflubenzuron	0,99	1,59
	Pyriproxifène	0,19	0,21
	Méthoprène	0,38	1,95
	Deltaméthrine	1,01	1,11
<i>Cx. quinquefasciatus</i> (TZ1)	Téméphos	17,2	18,9
	<i>Bti</i>	1,46	1,04
	Spinosad	1,52	1,69
	Diflubenzuron	1,11	1,75
	Pyriproxifène	1,43	4,88
	Méthoprène	0,87	4,06
	Deltaméthrine	4,21	4,88
<i>Ae. aegypti</i> (PT)	Téméphos	0,84	1,04
	<i>Bti</i>	0,81	0,78
	Spinosad	1,09	0,94
	Diflubenzuron	1,17	0,56
	Pyriproxifène	0,54	1,60
	Méthoprène	0,94	0,87
	Deltaméthrine	1,03	1,01
<i>Ae. albopictus</i> (KWI)	Téméphos	1,01	1,02
	<i>Bti</i>	1,33	1,16
	Spinosad	1,40	1,63
	Diflubenzuron	0,57	0,53
	Pyriproxifène	1,02	0,83
	Méthoprène	0,30	0,28
	Deltaméthrine	0,92	0,86

\*Souches sensibles : KIS (*An. gambiae*), SLAB (*Cx. quinquefasciatus*), Bora Bora (*Ae. aegypti*) et PLP (*Ae. albopictus*). RR<sub>50</sub> = resistant Ratio 50.



Figure 13. Carte de Mayotte avec les zones d'échantillonnages

La distribution des principaux allèles de résistance identifiés chez *Cx. quinquefasciatus* a été étudiée dans dix localités réparties sur toute l'île et qui étaient Tzoundzou 1 (TZ1), Kaweni (KWI), Bouyouni (BOU), Acoua (ACO), M'Tsangamouji (MTS), Kahani (KAH), Sada (SAD), Mramadoudou (MRA), M'Tsamoudou (MSA) et Dembeni (DEM) (Figure 13). Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 20. Son analyse montre que l'allèle résistant *ace-1* (mutation G119S) montre une distribution spatiale hétérogène avec un gradient général de décroissance est-ouest. *Ester<sup>2</sup>* est distribué sur toute l'île sans relation géographique particulière. L'allèle résistant *Rdl* (mutation A302S) montre un fort gradient de distribution géographique, indiquant l'existence d'une pression de sélection\* plus forte à l'est de l'île. L'allèle *kdr* résistant (mutation L1014F) de résistance à la deltaméthrine apparaît fixé sur l'ensemble de l'île, ce qui rend difficile l'emploi de cet insecticide contre *Cx. quinquefasciatus* à Mayotte.

Ces différents résultats ne sont pas surprenant lorsqu'ils sont confrontés à l'historique de la LAV à Mayotte.

Tableau 20. Fréquences des allèles *ace-1*, *kdr*, *Rdl* et du phénotype Ester<sup>2</sup> chez *Culex quinquefasciatus* provenant de 10 localités de Mayotte

Localité	<i>ace-1</i>	<i>Kdr</i>	<i>Rdl</i>	Ester <sup>2</sup>
TZ1	0,61	1,00	1,00	nr*
KWI	0,61	0,98	0,75	0,47
BOU	0,41	1,00	0,42	0,57
ACO	0,32	1,00	0,10	0,72
MTS	0,26	1,00	0,16	0,52
KAH	0,22	0,99	0,28	0,67
SAD	0,15	1,00	0,26	0,34
MRA	0,38	Nr	nr	0,56
MSA	0,61	1,00	0,10	0,81
DEM	0,39	0,90	0,44	0,64

\*nr : non réalisé.

#### 5.2.4.2 Plan et bilan du dispositif de surveillance

Depuis les travaux de Pocquet *et al.* (2013, 2014) aucun travail de suivi de résistance n'a été réalisé. Pourtant, trois agents de l'ARS Mayotte ont été formés par l'IRD il y a deux ans, mais il existe des freins d'ordre pratique pour assurer la mise en place d'un dispositif de suivi pérenne.

#### 5.2.4.3 Contraintes/limites opérationnelles et/ou organisationnelles

L'ARS Mayotte a identifié le besoin d'un accompagnement pour la mise en place du suivi de la résistance. L'intervention ponctuelle d'une personne compétente impulserait la mise en pratique des acquis théoriques des agents formés à l'IRD et permettrait d'initier un suivi de la résistance sur les biocides actuellement utilisés et qui sont l'AQUA K-OTHRINE (deltaméthrine), la K-OTHRINE ULTRA (deltaméthrine, tétraméthrine, PBO) et le VECTOBAC 12AS (*Bti*).

Les problématiques environnementales liées à l'assainissement, la gestion des déchets et à l'accès à l'eau potable freinent les actions de LAV. L'existence de nombreuses constructions anarchiques en tôles (bangas) difficilement accessibles rend difficile les opérations de LAV et impacte fortement l'efficacité des traitements. Ces particularités et contraintes propres à Mayotte seraient à prendre en compte dans la mise en place d'un suivi de la résistance.

### 5.2.5 La Réunion

La Réunion est une île volcanique de 2512 km<sup>2</sup> située au sud-ouest de l'océan Indien qui possède une population d'environ 850 000 habitants principalement localisée en zone urbaine le long du littoral. Bien que 12 espèces de moustiques appartenant aux genres *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* et *Orthopodomyia* aient été décrites sur l'île (Boussès *et al.* 2013), *Ae. albopictus* et *Cx. quinquefasciatus* sont les espèces les plus abondantes et se rencontrent couramment dans les zones urbaines, périurbaines et rurales, parfois jusqu'à 1200 m d'altitude (Boussès *et al.* 2013 ; Delatte *et al.* 2013). Les populations d'*Ae. albopictus* de l'île sont génétiquement plus proches des populations de l'océan indien que d'Asie, d'Amérique et d'Europe (Mousson *et al.* 2005 ; Maynard *et al.* 2017), ce qui suggère un flux migratoire

important lié à l'intensification des échanges commerciaux dans la région (Manni *et al.* 2017 ; Latreille *et al.* 2019). Bien qu'*Ae. aegypti* était historiquement présent à La Réunion, cette espèce semble avoir été fortement impactée par compétition suite à l'arrivée d'*Ae. albopictus* avec seulement deux populations isolées subsistantes aujourd'hui dans des ravines sur les communes de Saint-Joseph et de Trois Bassins. Du point de vue épidémiologique, la Dengue sévit de manière quasi-endémique à La Réunion et dans les îles du sud-ouest de l'Océan Indien depuis plusieurs années. D'autres épidémies d'arboviroses telles que le Chikungunya ont déjà frappé la région (2005-2006) et peuvent à tout moment émerger ou ré-émerger de par la présence d'*Ae. albopictus*.

A la Réunion, les traitements de LAV ont été principalement basés sur l'utilisation du téméphos en traitement anti-larvaire jusqu'en 2006 puis remplacés par des traitements adulticides avec la deltaméthrine lors de l'épidémie de Chikungunya en 2005-2006 (forte intensité de traitements durant cette période). Au cours de cette épidémie, d'autres substances actives (ex. fénitrothion ; pyriproxifène) ont été utilisées. À partir de 2006, la LAV a essentiellement reposé sur l'utilisation de la deltaméthrine comme adulticide (Aqua K-Othrine en pulvérisation spatiale) et du *Bti* comme larvicide. Entre 2005 et 2010, il est à noter une forte intensité de la LAV du fait d'indices entomologiques élevés. A partir de 2012, l'ARS a engagé une démarche de réduction de la pression insecticide par un meilleur ciblage des actions de LAV (traitements ciblés autour des cas de transmissions et arrêt des nébulisations spatiales de nuit) mais cela a été mal accepté par les populations locales. À partir de 2017, l'intensité de la LAV a connu une recrudescence avec la reprise des pulvérisations spatiales de nuit. Cette pratique a été suspendue en 2018 avant de reprendre en 2019 dans un contexte épidémiologique et sociétal difficile. Lors de son audition, l'ARS mentionne l'existence d'un grand nombre de prestataires 3D extérieurs au service de LAV. Les prestations 3D sont principalement des traitements insecticides préventifs à des fréquences plus ou moins élevées dans des lieux recevant du public. Ces traitements à la deltaméthrine, ainsi que l'usage d'insecticides par les particuliers représentent des pressions de sélection supplémentaires sur les populations de vecteurs sur lesquelles l'ARS n'a que peu de visibilité.

#### 5.2.5.1 Niveaux de résistance

##### ***Culex quinquefasciatus***

Une étude des mécanismes de résistance aux insecticides dans les populations de *Cx. quinquefasciatus* de l'île de la Réunion a été menée en 2008 à l'aide de tests insecticides larvaires et de génotypages des allèles de résistance connus (Tantely *et al.* 2010). Des collections de larves et d'adultes ont été effectuées sur l'ensemble de l'île (*cf.* Figure 14) et conservées au laboratoire du CYROI (Groupement d'Intérêt Public « Cyclotron Réunion Océan Indien »).



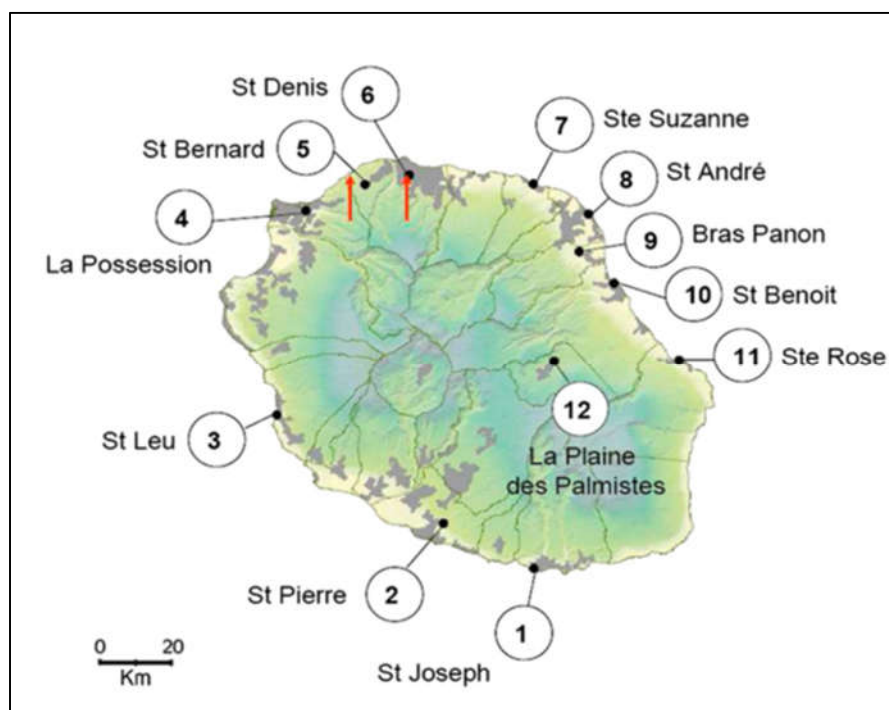


Figure 14. Site d'échantillonnage sur l'île de La Réunion (Tantely *et al.* 2010).

Parmi les populations échantillonnées, deux ont été mises en élevage pour effectuer des bioessais sur les larves de la génération F1. Ces bioessais ont révélé la présence de résistance aux organophosphorés, aux pyréthriinoïdes et aux organochlorés (Tableau 21). Des tests larvaires ont aussi été effectués pour tester l'effet du PBO après sélection à la perméthrine pendant 4 générations. Ces tests ont montré un facteur de synergie de l'ordre de 30 ( $DL_{50}$  avec PBO /  $DL_{50}$  sans PBO), supportant la présence d'allèles de résistance métabolique de type « oxydases » aux pyréthriinoïdes dans les populations.

Tableau 21. Niveaux de résistance larvaires de *Culex quinquefasciatus* à différents insecticides. Tantely *et al.* 2010.

	RR <sub>50</sub> perméthrine	RR <sub>50</sub> deltaméthrine	RR <sub>50</sub> téméphos	RR <sub>50</sub> malathion	RR <sub>50</sub> chlorpyriphos	RR <sub>50</sub> dieldrine
<b>Sainte-Suzanne</b>	36	8,6	3,5	3,5	90	31
<b>Saint-Leu</b>	42	17	2,3	5,6	170	72

Les rapports de résistance ( $RR_{50}$ ) ont été calculés à partir de la dose létale qui entraîne 50 % de mortalité ( $DL_{50}$ ) de la population par rapport à une colonie de référence sensible aux insecticides (S-lab).

Les allèles de résistance aux insecticides, notamment *Ester<sup>2</sup>*, *ace-1* G119S pour les organophosphorés et *Rdl<sup>R</sup>* pour les organochlorés (Tableau 22) ont également montré une structure spatiale, avec des fréquences plus élevées dans les sites côtiers et des fréquences plus faibles sur les hauts plateaux centraux.



Tableau 22. Fréquence allélique au locus *Ester*, *ace-1* et *Rdl* dans les populations échantillonnées en 2008. (Tantely *et al.* 2010)

	Collection	Effectif	<i>Ester</i> <sup>2</sup>	<i>ace-1</i> G119S	<i>Rdl</i> <sup>R</sup>
Saint-Joseph	Larves	38	0,9	0	0,56
Saint-Pierre	Adultes	56	0,88	0	0,7
Saint-Leu	Larves	24	1	0,04	1
Possession	Larves	56	0,82	0,029	0,96
Saint-Bernard	Adultes	41	0,9	0	0,39
Saint-Denis	Adultes	53	0,76	0,08	1
Sainte-Suzanne	Larves	24	-	0,02	0,48
Saint-André	Adultes	28	0,93	0,07	0,39
Bras Panon	Adultes	56	0,98	0	0,57
Saint Benoît	Adultes	49	0,86	0,05	0,41
Sainte Rose	Larves	41	0,95	0	0,18
Plaine des Palmistes	Adultes	40	0,12	0	0,08

Une étude de la dynamique de l'allèle de résistance à la dieldrine *Rdl*<sup>R</sup> en populations naturelles conduite entre septembre 2011 à août 2012 a montré des variations importantes de la fréquence allélique de *Rdl*<sup>R</sup> en fonction du site d'étude (de 10 % à Saint-Benoît (> 500m) à 96 % à Saint-Denis (< 60m) (Tableau 23, Lebon *et al.* 2021 *in press*).

Tableau 23. Fréquence allélique au locus *Rdl* dans les populations échantillonnées en 2011-2012 (Lebon *et al.* 2021).

	Altitude	Fréquence <i>Rdl</i> <sup>R</sup> moyenne annuelle (min – max)
Saint-Benoît	< 60m	0,244 (0,047 – 0,395)
	> 500m	0,101 (0 – 0,437)
Saint-Denis	< 60m	0,96 (0,781 – 1)
	> 500m	0,74 (0,229 – 1)
Saint-Paul	< 60m	0,926 (0,647 – 1)
	> 500m	0,569 (0,187 – 0,979)

## *Aedes albopictus*

Des travaux de recherche ont montré une résistance modérée à la deltaméthrine ( $RR_{50}=8$ ) sur des populations collectées en 1999 (Paupy, 2000). La sensibilité des populations d'*Ae. albopictus* de La Réunion vis-à-vis de divers insecticides (*Bti*, téméphos et deltaméthrine) a été évaluée en 2010 (CNEV, 2014). Les résultats obtenus à l'époque suggéraient une sensibilité des populations adultes testées pour ces trois insecticides, notamment pour la deltaméthrine avec des valeurs de  $KDt_{50}$  (« Knock-Down » time médian) d'environ 9 min proches des populations sensibles et des Rapports de Résistance ( $RR_{50}$ ) inférieurs à 2 (Jacquet *et al.*, 2010). Des travaux sur des populations collectées en 2008, 2011 et 2012 rapportaient aussi de faibles fréquences de l'allèle de résistance aux organochlorés *Rdl* (7,5 % à 24,5 %, (Tantely *et al.* 2010, Lebon *et al.* 2021 *In press*).

A partir de 2013, un suivi régulier de la résistance des populations d'*Ae. albopictus* aux pyréthrinoïdes a été effectué par l'ARS de La Réunion à l'aide de bioessais sur différentes populations réparties sur l'ensemble de l'île. Selon l'ARS la résistance à la deltaméthrine a connue une augmentation rapide à La Réunion durant la dernière décennie. Ainsi, dès 2017 des taux de survie élevés à la deltaméthrine ont été observés pour la plupart des populations testées (bioessais sur femelles F1, dose diagnostique de 0,05 %, 1h d'exposition)<sup>18</sup>. La présence de résistance à la deltaméthrine a ensuite été confirmée en 2018 et 2019 selon la même méthodologie. Les tests opérationnels par nébulisation à froid d'Aqua K-Othrine (deltaméthrine) ont aussi confirmé la résistance des populations d'*Ae. albopictus*, y compris dans des sites ayant été peu ciblés par les traitements adulticides effectués dans le cadre de la LAV (données ARS La Réunion). Dans ce contexte de résistance à la deltaméthrine, l'Anses a financé en 2020 un projet de recherche visant à suivre et à caractériser la résistance d'*Ae. albopictus* à la deltaméthrine qui inclut l'île de La Réunion<sup>19</sup>. Dans ce cadre, un suivi de la résistance à la deltaméthrine a été effectué par l'ARS de la Réunion sur une dizaine de populations échantillonnées sur l'ensemble de l'île en 2020. Les données de mortalité obtenues sur femelles F1 de chaque population avec des papiers imprégnés avec 0,03 % et 0,015 % de deltaméthrine confirment la présence de résistance pour l'ensemble des populations testées avec des taux de survie significativement plus élevés que pour les populations sensibles de référence utilisées (souches « SPAM » Montpellier et « S-Run » de La Réunion) ainsi que des populations de France métropolitaine ou du sud-est asiatique (Laos) testées avec les mêmes papiers. Ce suivi sera reconduit en 2021 et suivi d'une caractérisation des mécanismes de résistance aux pyréthrinoïdes circulants à La Réunion par des approches de biologie moléculaire et de séquençage à haut débit.

Un suivi de la résistance d'*Ae. albopictus* au *Bti* a aussi été effectué par des bioessais larvaires jusqu'en 2019. Après cette date, l'ARS La Réunion (rapport d'audition) a montré que les populations d'*Ae. albopictus* de La Réunion demeuraient sensibles au *Bti*. Depuis 2020, la surveillance de la résistance d'*Ae. albopictus* au *Bti* repose essentiellement sur des tests opérationnels ponctuels. Enfin, bien que le téméphos ait été utilisé à La Réunion jusqu'en 2006 et que cette molécule ait été intégrée à des essais d'efficacité opérationnels entre 2008 et 2011<sup>20</sup>, aucun suivi de la résistance aux organophosphorés n'a été effectué sur *Ae. albopictus* à La Réunion depuis 2011.

<sup>18</sup> Données Anses, saisine n°2018-SA-0136

<sup>19</sup> Projet TigeRisk2 coordonné par le CNRS LECA Grenoble en partenariat avec l'ARS La Réunion, L'institut Pasteur du Laos, l'ISEM de Montpellier et des opérateurs de la métropole (EID-RA et EID-Med).

<sup>20</sup> Anses– Les Cahiers de la Recherche N°3 □ Santé, Environnement, Travail– Octobre 2013

### ***Aedes aegypti***

La sensibilité d'une population résiduelle d'*Ae. aegypti* à la deltaméthrine a été suivie annuellement depuis 2013 à l'aide de bioessais sur adultes femelles F1 avec des papiers imprégnés de deltaméthrine à la dose diagnostique de 0,05 %. Selon l'ARS, ce suivi semble montrer que cette population était encore sensible à la deltaméthrine en 2019. Les bioessais réalisés sur cette population en 2020 avec de papiers imprégnés avec 0,03 % de deltaméthrine confirment que cette population reste encore sensible à la deltaméthrine.

#### **5.2.5.2 Plan et bilan du dispositif de surveillance**

L'ARS de La Réunion fait partie de la COI<sup>21</sup> (Commission de l'Océan Indien) qui, outre La Réunion, inclut Madagascar, l'île Maurice, les Seychelles et les Comores. Mayotte n'en fait pas partie, ce département étant plutôt intégré dans un réseau propre aux ARS. L'ARS travaille avec la COI et planifie elle-même la mise en œuvre de la surveillance. Un lien d'échange sur les techniques ainsi que sur les résultats de certains tests de résistance est établi avec les partenaires de la zone Océan Indien.

Actuellement le suivi de la résistance concerne *Ae. albopictus* et *Ae. aegypti* vis-à-vis de la deltaméthrine mais depuis deux à trois ans, la COI a connu des difficultés d'approvisionnement en papiers imprégnés depuis le fournisseur affilié à l'OMS (Malaisie) ce qui a impacté les suivis de la résistance. Les cadres du service de LAV de l'ARS de La Réunion décident de la mise en place des actions de suivi et de surveillance. Cependant, les décisions sont prises en lien avec les orientations de la COI. Une action de veille est également organisée au niveau de la zone Océan Indien. Il n'existe pas de centre de référence pour le suivi de la résistance à La Réunion. La COI permet également la formation d'agents. Ainsi, en 2017, les agents de l'ARS ont pu bénéficier, grâce à la COI, de deux formations sur la mise en place des tests OMS à l'Institut Pasteur de Madagascar.

#### **5.2.5.3 Contraintes et limites opérationnelles et/ou organisationnelles**

Les traitements effectués par les entreprises 3D sont des prestations commerciales qui échappent à la politique de LAV conduite par l'ARS de La Réunion et peuvent donc en sus de l'usage d'insecticides par les particuliers, contribuer à la sélection de la résistance. Dans ce cadre, les quantités de biocides utilisées par les prestataires 3D sont inconnues. Les quantités d'insecticides utilisées en agriculture ne sont également pas connues de l'ARS alors que les zones agricoles peuvent être proches des zones ciblées par la LAV.

Le contexte d'épidémie de dengue et les moyens humains ne permettent pas, au regard des autres activités conduites par le laboratoire, de développer l'activité de surveillance de la résistance (fréquence d'échantillonnage). Une augmentation du nombre de sites est toutefois recherchée lors de la mise en évidence d'une situation particulièrement intéressante (ex. échantillonnage 2020-2021 : nouvelles populations de *Ae. albopictus* testées, celles qui partagent le site de collecte des *Ae. aegypti*).

De plus, le service de LAV est notamment confronté aux contraintes suivantes :

- difficulté d'obtenir une souche sensible locale et une souche sensible de référence du fait, respectivement de la dispersion sur tout le territoire des divers usages des pyréthrinoïdes et de la taille du laboratoire ;

<sup>21</sup> <https://www.commissionoceanindien.org/presentation-coi/>

- difficulté d'obtenir des papiers imprégnés (arrivée tardive, papiers périmés, etc.) ;
- difficulté d'assurer une continuité temporelle dans la lecture des résultats (évolution de la dose diagnostique, technique d'imprégnation des papiers imprégnés, etc.).

Cependant, l'ARS de La Réunion travaille avec divers centres de recherche (CIRAD, IRD, IP de Madagascar, EID, CNRS Grenoble, etc.). Cela permet au service de LAV d'être informé des avancées dans le domaine de la résistance, de comparer les observations expérimentales effectuées avec d'autres localités, mais aussi d'avoir une exploitation plus approfondie des échantillons (même si quelquefois les liaisons entre les différentes régions de l'Océan Indien peuvent être compliquées). Ce travail en réseau permet en partie de pallier aux limitations liées aux compétences et aux infrastructures et équipements.

## 5.2.6 Collectivités d'Outre-Mer

### 5.2.6.1 Nouvelle-Calédonie

La Nouvelle-Calédonie est un archipel, peuplé de 270 000 habitants, situé dans le Pacifique Sud au Nord du tropique du Capricorne, constitué d'une dizaine d'îles, dont la principale est Grande-Terre, à 1 500 km à l'Est de l'Australie et 1 800 km au Nord de la Nouvelle-Zélande. La Nouvelle-Calédonie est une collectivité qui dispose d'un statut particulier de large autonomie « *sui generis* » instauré par l'accord de Nouméa. Les 33 communes bénéficient d'un climat tropical, modéré par un flux d'alizé, avec une période chaude et humide (de novembre à mars) et une période fraîche (de juin à août). Les températures annuelles varient en moyenne de 22 à 25°C et le taux d'humidité oscille entre 73 % et 81 %.

La dengue est la principale arbovirose transmise par *Ae. aegypti*. Parmi les 20 espèces de moustiques présentes, *Cx. quinquefasciatus* est actuellement principalement nuisant ; à noter qu'aucune espèce d'anophèle n'est recensée. Par ailleurs, *Ae. vigilax* est vecteur probable de filariose lymphatique dont la transmission est sporadique.

En Nouvelle-Calédonie, la Direction des Affaires Sanitaires et Sociales (DASS) coordonne la stratégie de la LAV mise en œuvre par les Communes qui sont compétentes pour mettre en œuvre les actions de lutte. Historiquement les actions de LAV ont essentiellement été menées sur Nouméa et Grand-Nouméa. Le Syndicat intercommunal à vocation multiple (SIVM) du Nord de Grande-Terre fait appel à une entreprise privée pour les traitements.

La Nouvelle Calédonie est autonome d'un point de vue réglementaire sur l'utilisation des biocides et n'est pas dépendante des directives européennes. De fait, elle peut avoir recours à des biocides qui ne sont plus ou pas autorisés en Europe. Les organophosphorés comme le téméphos et le malathion (utilisés jusqu'en 2015 uniquement sur Nouméa) pourraient potentiellement être employés pour les traitements. Cependant, en raison des réticences de la population, seuls le *Bti* et la deltaméthrine sont utilisés.

La surveillance de la résistance aux insecticides est effectuée par l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie dans le cadre d'une convention avec la DASS.

Ce suivi est effectué par l'exposition de femelles d'*Ae. aegypti* sur des papiers imprégnés (tests en tubes) à une dose diagnostique (0,05 % pour la deltaméthrine et 5 % pour le malathion), conformément aux recommandations de l'OMS. La surveillance de la résistance chez les larves se fait par le test en « gobelets » soit à une dose unique soit par dose-réponse. Aucune surveillance régulière de la résistance n'est faite sur *Cx. quinquefasciatus*.

### 5.2.6.1.1 Niveaux de résistance

Au début des années 1970, les premières observations de résistance ont été mises en évidence pour une population d'*Ae. aegypti* de Nouméa, concernant deux organochlorés (dieldrine et  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane ou lindane) (Mouchet, 1972). A cette époque, toutes les souches d'*Ae. aegypti* testées présentaient une sensibilité normale aux organophosphorés.

#### *Aedes aegypti*

Les résultats des tests de résistance publiés en 2015, réalisés sur 34 populations du Grand Nouméa, ont montré une évolution significative de la résistance des femelles à la deltaméthrine avec des taux de mortalités allant de 98 % (Nouméa Normandie) à 45 % (Nouméa Vallée des Colons A) (Guillaumot *et al.*, 2015) (cf. Figure 15).

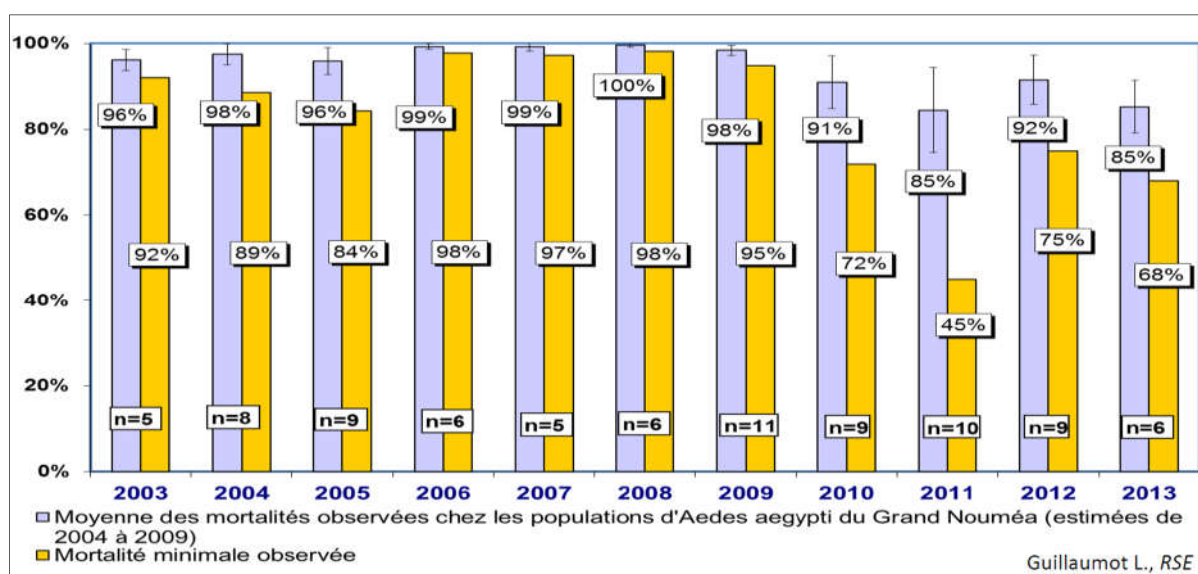


Figure 15. Evolution de la mortalité d'*Aedes aegypti* soumis à la deltaméthrine sur le Grand Nouméa entre 2003 et 2013. (Guillaumot *et al.*, 2015)

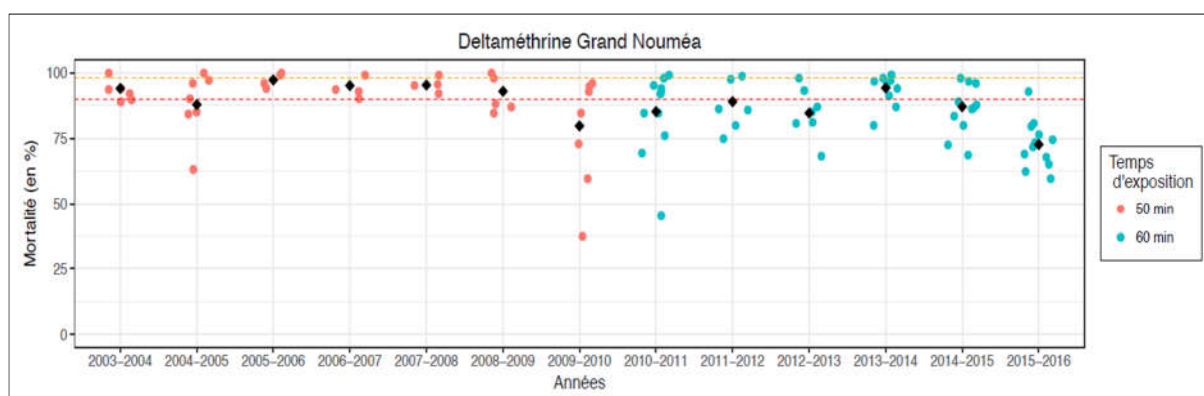


Figure 16. Evolution de la mortalité d'*Aedes aegypti* soumis à la deltaméthrine sur le Grand Nouméa entre 2003 et 2016.

Les lignes pointillées orange et rouge correspondent aux seuils OMS de 98 % (résistance probable) et 90 % (résistance) de mortalité. Les points noirs représentent la mortalité moyenne observée sur la saison. (Source Rapport d'activité IPNC 2016)



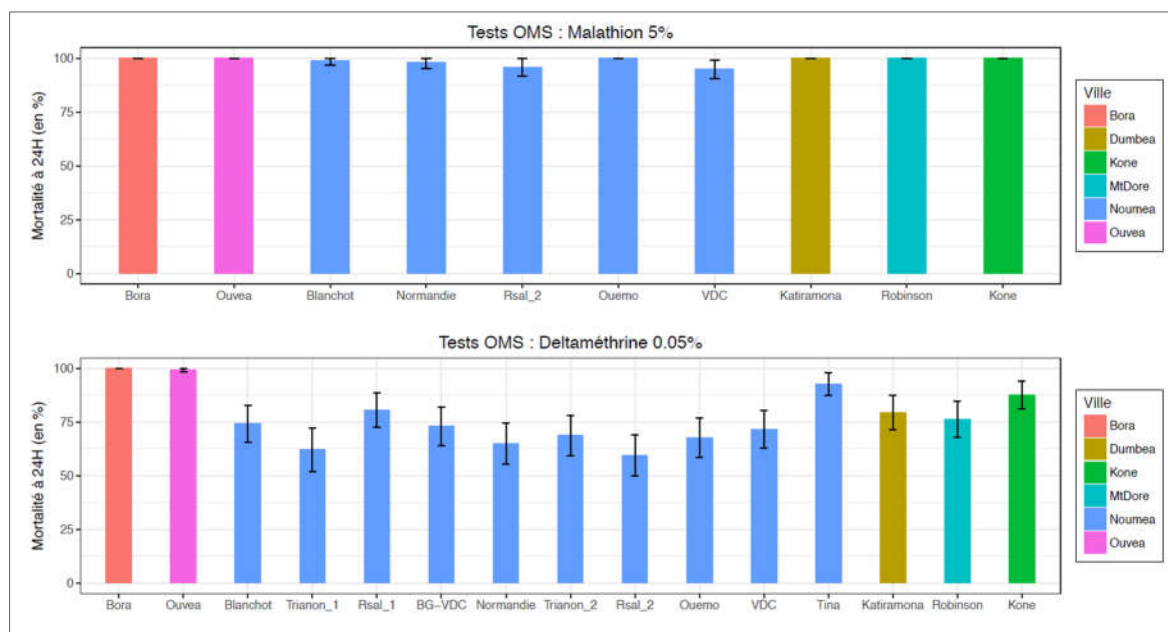


Figure 17. Résultats des tests en tubes OMS réalisés sur des populations d'*Aedes aegypti* de 2015/2016. (Source Rapport d'activité IPNC 2016)

Aucune résistance au malathion n'a été constatée (100 % de mortalité) en dehors du secteur de Nouméa où 2 populations d'*Ae. aegypti* ont démontré une possible résistance vis-à-vis de cet insecticide (mortalités de 95 et 96 %).

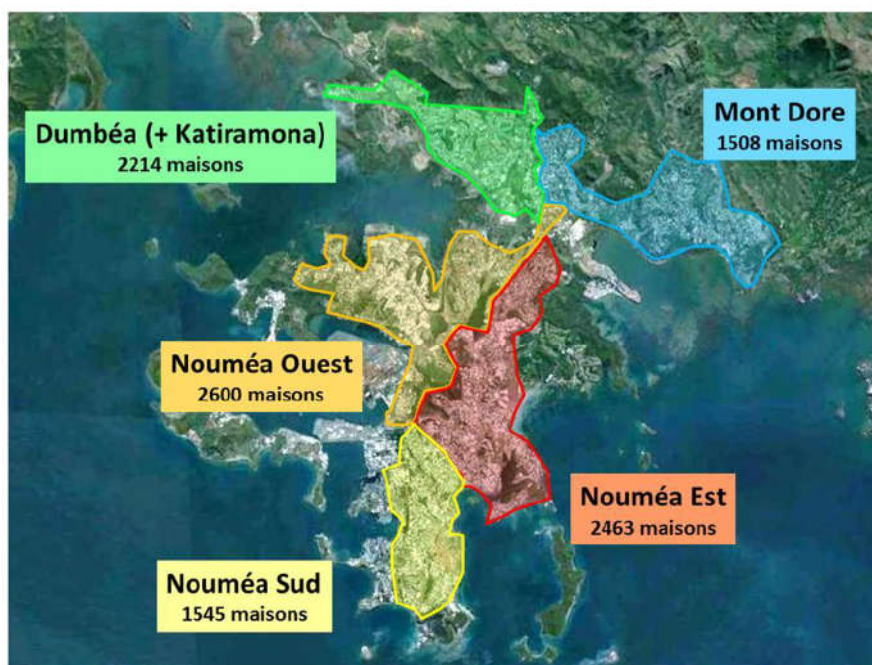


Figure 18. Limites géographiques des 5 secteurs du réseau de surveillance entomologique (RSE) et nombre de maisons recensées. (Rapport d'activité de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, 2015)

La base de tirage totalise 10330 maisons, soit environ un tiers des habitations des communes concernées.

Les mutations F1534C, I1011M et V1016G associées à la résistance *kdr* ont été identifiées. Néanmoins, les prévalences de 21 % et 23 %, pour les mutations I1011M et F1534C respectivement, ne sont pas suffisantes pour expliquer une forte résistance aux pyréthrinoïdes dans les populations d'*Ae. aegypti* de Nouvelle-Calédonie supposant ainsi le rôle des marqueurs métaboliques détectés dans le phénotype de résistance. (Dusfour, 2015).

Des marqueurs de la résistance métabolique liés aux gènes de détoxification de la famille des GST, des cytochromes P450 et des estérases ( $\alpha$  et  $\beta$ ) ont été mis en évidence (CYP9J28, CYP12F7, CYP6BB2, CYP9M6, CYP6M11, CCE3, GSTE2). Ceci peut s'expliquer par la pression de traitement exercée sur le Grand Nouméa où une réduction des doses d'insecticides et la rotation des molécules (PYR et OP) a été mise en œuvre. Les autres populations de Nouvelle-Calédonie restent sensibles à la deltaméthrine.

#### 5.2.6.1.2 Plan et bilan du dispositif de surveillance

Il n'existe plus de plan de suivi de la résistance aux insecticides. Seuls des projets de recherche ponctuels ont permis d'identifier la résistance des populations d'*Ae. aegypti*.

#### 5.2.6.1.3 Contraintes/limites opérationnelles et/ou organisationnelles

La contrainte essentielle réside dans le manque de moyens, notamment financiers qui ne permettent pas d'assurer la continuité du programme de surveillance, au profit de projets ponctuels de recherche. Faute de moyens humains suffisants, l'élevage de la souche sensible de *Cx. quinquefasciatus* a été interrompu. De même, les compétences humaines sont insuffisantes pour couvrir l'intégralité du territoire calédonien.

#### 5.2.6.2 Polynésie Française

Situés au centre du Pacifique Sud, les 5 archipels polynésiens couvrent une vaste zone maritime d'une superficie comparable à celle de l'Europe (5,5 millions km<sup>2</sup>) : les îles de la Société, les Marquises, les Gambier, les îles Australes et les Tuamotu (formés d'atolls). A 18 000 km de Paris, la Polynésie Française compte 126 îles, dont 76 sont occupées par une population de près de 270 000 habitants. 70-75 % de la population polynésienne se trouve à Tahiti et le reste est réparti sur les autres îles, de fait la potentielle propagation des arboviroses concerne d'avantage Tahiti, Moorea, et éventuellement Raiatea et Bora Bora (les 4 îles les plus peuplées).

Quarante-huit communes bénéficient d'un climat chaud et humide, tempéré par les alizés du Sud-Est. L'alternance entre saisons sèches et saisons humides est relativement peu contrastée : le climat est chaud et pluvieux de novembre à avril et, frais et sec de mai à octobre. Les températures moyennes oscillent entre 25,8°C en février (mois le plus chaud), et 24,3°C en août (mois le plus froid) et le taux d'humidité varie entre 70 % et 90 %.

La LAV est une prérogative des communes. Cependant, à Tahiti, au sein de la Direction de la Santé (DS), le Centre d'Hygiène et de Salubrité Publique (CHSP) met en œuvre les actions de LAV sur le territoire polynésien. Une section de LAV constituée de plusieurs agents, répartis sur Tahiti, Moorea et les différents archipels de la Polynésie Française, mène essentiellement des actions de sensibilisation et d'intervention en contexte épidémique (ex. lors de l'épidémie de Zika en 2013-2014).

La Polynésie Française, du fait de son statut particulier de Pays d'Outre-Mer (POM, non soumis au statut général des Collectivités locales), suit une réglementation locale des produits biocides (en dehors de la réglementation européenne en la matière). Les produits principalement utilisés sont l'AQUA K-OTHRINE (deltaméthrine) comme adulticide et le

VECTOBAC WG (*Bti*) en tant que larvicide. Pour des raisons d'acceptabilité de la population vis-à-vis du malathion (utilisé il y a environ 10-15 ans), celui-ci est n'est plus utilisé, même en cas d'épidémie. Néanmoins, les substances de la famille des organophosphorés (ex. téméphos) restent encore potentiellement utilisables.

La surveillance de la résistance aux insecticides est effectuée par l'Institut Louis Malardé (ILM), établissement public à caractère industriel et commercial, autonome mais en réseau avec l'Institut Pasteur et de nombreux partenaires internationaux. L'ILM réalise des évaluations ponctuelles sur demande de la DS dans le cadre de conventions.

Ce suivi est effectué par l'exposition de femelles d'*Ae. aegypti*, d'*Ae. polynesiensis* et de *Cx. quinquefasciatus* sur des papiers imprégnés (tests en tubes) à une dose diagnostique pour la deltaméthrine (respectivement 0,05 %, 0,006 % et 0,05 %). Les souches sensibles de références utilisées sont Bora Bora pour *Ae. aegypti* et, TIA (motu Tiaraunu sur l'atoll de Teriaroa) pour *Ae. polynesiensis*, cette population issue d'une zone très isolée de toute activité humaine peut s'apparenter à une souche de référence puisqu'elle n'a probablement jamais été exposée à des traitements insecticides. Il n'y a pas d'élevage de souche de référence pour *Cx. quinquefasciatus*.

Le suivi de la résistance aux insecticides a été réalisé sur les zones urbaines de Tahiti (cf. zone historique de la LAV) ; il n'y a pas de données disponibles récentes pour les autres îles de Polynésie Française.

#### 5.2.6.2.1 Niveaux de résistance

Dès les années 1960, les premières observations de résistance ont été mises en évidence pour *Ae. aegypti* concernant deux organochlorés (dieldrine et lindane) (Mouchet, 1967). A cette époque aucune résistance aux organophosphorés n'était observée sur les larves.

Au début des années 1970, *Ae. polynesiensis* de Tahiti était sensible à tous les produits organochlorés (DDT, dieldrine et lindane) et organophosphorés testés (malathion, fenthion, téméphos, bromophos, chlorpyrifos et fénitrothion) (Mouchet, 1972).

En 1991 et 1992, la sensibilité des principaux moustiques vecteurs de Polynésie Française (*Ae. aegypti*, *Ae. polynesiensis* et *Cx. quinquefasciatus*) a été évaluée pour six organophosphorés (bromophos, chlorpyrifos, fenthion, fénitrothion, malathion et téméphos), deux pyréthrinoïdes (deltaméthrine et perméthrine) et un carbamate (propoxur). Le Tableau 24 intègre les résultats des bioessais menés sur les larves (F1).



Tableau 24. Statut de résistance d'*Aedes aegypti*, *Aedes polynesiensis* et *Culex quinquefasciatus* sur l'île de Tahiti. (FAILLOUX, 1994)

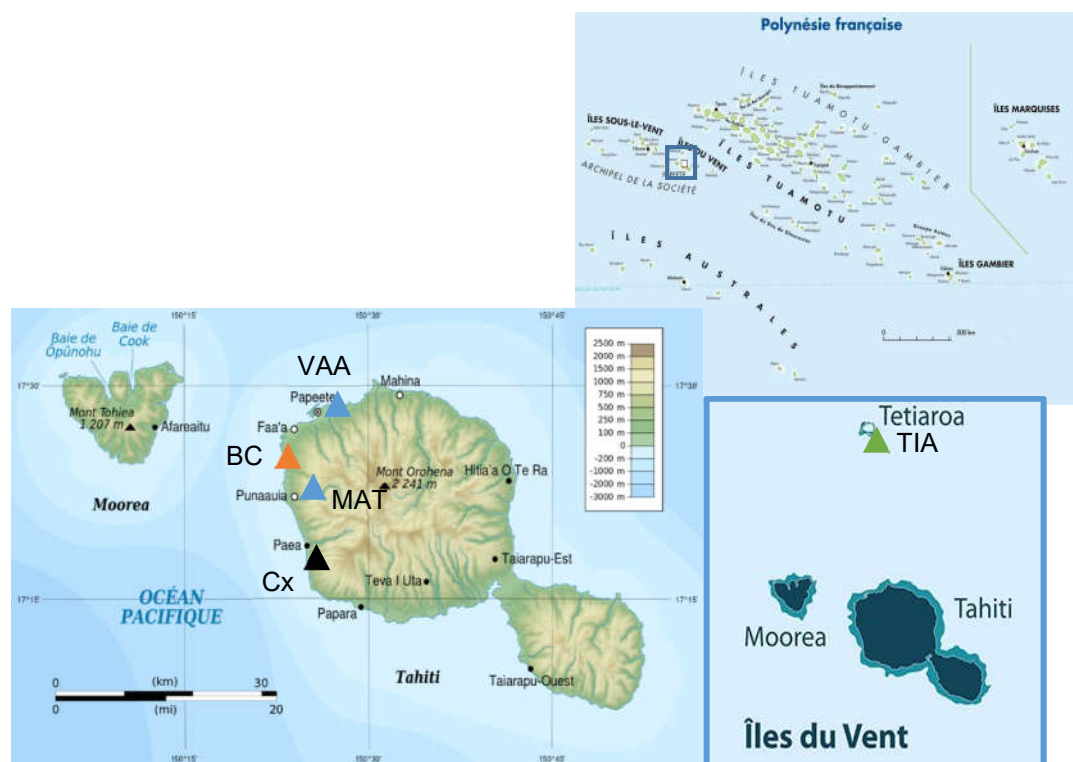
Molécule	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. polynesiensis</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>
	RR <sub>50</sub> (IC <sub>95</sub> )	RR <sub>50</sub> (IC <sub>95</sub> )	RR <sub>50</sub> (IC <sub>95</sub> )
Bromophos	1,4 (1,0-3,9)	0,6 (0,1-1,0)	4,6 (3,4-6,4)
Chlorpyrifos	0,8 (0,7-3,8)	0,4 (0,1-0,7)	<b>5,7</b> (4,2-7,6)
Fenthion	1,0 (0,9-1,1)	0,3 (0,1-0,5)	2,4 (1,8-3,2)
Fénitrothion	0,8 (0,7-0,9)	0,5 (0,4-0,6)	<b>5,0</b> (3,9-6,4)
Malathion	1,5 (1,3-1,7)	0,6 (0,5-0,9)	0,3 (0,2-0,4)
Téméphos	2,3 (1,9-2,9)	1,8 (1,4-2,4)	4,3 (3,4-5,3)
Deltaméthrine	0,8 (0,7-0,9)	0,8 (0,7-0,9)	1,2 (0,6-3,4)
Perméthrine	1,8 (1,4-2,4)	<b>6,7</b> (5,3-8,4)	2,1 (1,3-3,4)
Propoxur	1,7 (1,3-2,2)	0,5 (0,4-0,7)	0,6 (0,5-0,7)

Selon l'OMS, des RR<sub>50</sub><5 indiquent une sensibilité de la population à l'insecticide testé, ainsi *Ae. aegypti* n'était pas considéré comme résistant

*Ae. polynesiensis* s'est montré sensible à l'ensemble des insecticides testés, sauf pour la perméthrine (RR<sub>50</sub> = 6,7).

Les résultats démontraient une résistance de *Cx. quinquefasciatus* au chlorpyrifos (RR<sub>50</sub> = 5,7) et au fénitrothion (RR<sub>50</sub> = 5,0). Pour cette espèce, la résistance accrue aux organophosphorés est associée à une forte production d'estérase *Ester2*. (Failloux, 1994)

Les dernières données de résistance publiées en 2018 par l'ILM, ont montré une résistance des femelles d'*Ae. aegypti* à la deltaméthrine avec des taux de mortalité allant de 82,2 % (Pirae, VAA) à 66,4 % (Punaauia, MAT) (Figure 19).



**Figure 19. Localisation des populations d'*Aedes aegypti* (MAT, VAA et TIA), d'*Aedes polynesiensis* (BC) et de *Culex quinquefasciatus* (Cx) dont la sensibilité à la deltaméthrine a été évaluée en Polynésie Française. (Rapport ILM, Tests de sensibilité aux insecticides, 2018).**

Dans son rapport de 2018, l'ILM indique une possible émergence de la résistance d'*Ae. polynesiensis* à la deltaméthrine (96 % de mortalité à 24h à la dose diagnostique établie sur *Ae. aegypti*), qui devra être confirmée par des méthodes biologiques et ou moléculaires complémentaires.

*Cx. quinquefasciatus* a révélé une mortalité inférieure à 90 % à la deltaméthrine, sans que les mécanismes de résistances ne soient déterminés.

#### 5.2.6.2.2 Plan et bilan du dispositif de surveillance

Il n'existe pas de plan de suivi de la résistance aux insecticides. Seuls des projets de recherche ponctuels ont permis d'identifier la résistance des populations locales de moustiques vecteurs.

#### 5.2.6.2.3 Contraintes/limites opérationnelles et/ou organisationnelles

Les contraintes et limites sont liées au territoire de la Polynésie Française qui représente la superficie de l'Europe. Malgré la concentration de la population sur 4 îles de la Société (environ 80 % de la population polynésienne), l'étendue du territoire constitue un défi logistique pour la mise en œuvre d'un suivi de routine.

A l'instar de la situation de Saint-Barthélemy (Antilles), il n'existe aucun contrôle de l'utilisation des insecticides mis en œuvre par les entreprises privées pour limiter la nuisance dans les hôtels (ex. des traces de chlordécone ont été observées alors que l'usage de cette molécule n'est pas autorisé).

### 5.2.6.3 Wallis et Futuna

Le Territoire des îles Wallis et Futuna est situé dans le Pacifique Sud. D'une superficie de 142 km<sup>2</sup>, le Territoire se caractérise par son exiguïté et son isolement : 22 000 km de la métropole, 2 000 km de la Nouvelle-Calédonie, 3 000 km de la Polynésie Française. Les pays les plus proches sont les îles Fidji au Sud-Ouest de Futuna (à 280 km) et les îles Samoa à l'Est de Wallis (à 370 km) (*cf.* Figure 20). L'archipel est composé de trois îles principales, Wallis d'une part, et Futuna – Alofi d'autre part, séparées d'environ 230 km. La population du territoire est d'un peu plus de 12 000 habitants, qui vivent pour les deux tiers à Wallis et un tiers à Futuna.

Il n'existe pas de communes à Wallis et Futuna, mais les trois circonscriptions administratives (calquées sur les trois royaumes que compte le territoire : Uvéa pour Wallis, Alo et Sigave pour Futuna) bénéficient d'un climat tropical maritime, chaud et humide, pluvieux de forte nébulosité sans saison sèche. Les températures sont comprises entre 22°C et 32°C. La pluviométrie annuelle est supérieure à 3 000 mm. Les variations diurnes et saisonnières sont très faibles.

Wallis-et-Futuna relève du statut de collectivité d'outre-mer.



Figure 20. Localisation de Wallis et Futuna

La LAV est mise en œuvre par l'Agence de Santé et le suivi de la résistance des moustiques aux insecticides a été confié à l'Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie.

La dengue est la principale arbovirose transmise de manière épidémique par *Ae. polynesiensis*. *Ae. aegypti* est présent uniquement dans l'île de Wallis avec une distribution limitée à l'environnement péri-domiciliaire (Calvez *et al.*, 2020).

#### 5.2.6.3.1 Niveaux de résistance

Aucune donnée n'est actuellement disponible pour ce territoire.

*5.2.6.3.2 Plan et bilan du dispositif de surveillance*

Il n'existe pas de plan de suivi de la résistance aux insecticides.

*5.2.6.3.3 Contraintes/limites opérationnelles et/ou organisationnelles*

Les contraintes et limites sont liées à l'isolement du territoire.

# 6 Propositions pour la mise en place d'un plan de surveillance intégrée de la résistance (PSIR) aux insecticides chez les moustiques vecteurs en France

## 6.1 Préambule

Les modifications rapides du climat ainsi que l'intensification des activités humaines à l'échelle mondiale (en particulier les échanges commerciaux) accroissent les probabilités d'introductions d'espèces exotiques et invasives ou entraînent la modification des aires de répartition d'espèces déjà présentes localement. Les espèces vectrices de maladies humaines et animales ne font pas exception. Il est donc prévisible que les actions de lutte contre ces espèces s'intensifient et par conséquent que l'on soit de plus en plus souvent confronté aux problèmes de résistances aux insecticides. Cela est déjà le cas pour des espèces telles que *Aedes aegypti* et *Anopheles gambiae* dans de nombreuses régions du monde tandis que la résistance chez le moustique tigre *Aedes albopictus* est en augmentation rapide dans certaines régions telles que l'Océan Indien ou bien l'Italie où l'accentuation des traitements insecticides suites aux épidémies récurrentes de Chikungunya a contribué à l'augmentation des niveaux de résistances aux insecticides pyréthrinoïdes (Pichler *et al.* 2019 ; Kasai *et al.* 2019). Si la métropole est encore relativement préservée, les territoires français ultra-marins sont eux déjà touchés par les résistances aux insecticides chez les moustiques, en particulier ceux qui sont responsables de la transmission d'arboviroses (voir section 5). Dans ce contexte, il est essentiel qu'un plan de surveillance intégrée de la résistance (PSIR) soit mis en place rapidement sur l'ensemble du territoire Français (France hexagonale, Corse et territoires ultra marins) afin de garantir une réponse rapide et adaptée en cas d'émergence et/ou de développement de résistances.

Une des particularités de la France est sa diversité géographique et administrative qui comprend l'Europe Occidentale, l'Amérique du Sud, les Antilles, l'Océan Indien, la zone Pacifique, Saint-Pierre et Miquelon, la Nouvelle Calédonie et les Terres Australes et antarctiques (TAAF). Cela a un impact sur la diversité des espèces vectrices rencontrées avec des situations de niveau et de fréquence de résistance qui peuvent être très variables dans l'espace et dans le temps. Le réchauffement climatique est également un facteur pouvant affecter la distribution, la capacité vectorielle et la sensibilité aux insecticides des moustiques vecteurs d'agents pathogènes (Benelli *et al.* 2021). De plus, les territoires ont des contextes épidémiologiques très variés, allant de l'absence de maladies humaines transmises par les moustiques (ex. Nord de la France hexagonale) à une transmission sporadique (ex. Dengue et Chikungunya au Sud de la France hexagonale), saisonnière (ex. paludisme en Guyane), annuelle (ex. Dengue à la Martinique ou en Guyane) et/ou épidémique (ex. Chikungunya à la Réunion), voire à tendance endémique (Dengue à la Réunion). Enfin, la proximité de ces territoires avec d'autres pays où la résistance aux insecticides est déjà présente peut avoir pour conséquence une diffusion des allèles de résistance sur le territoire Français par migration (ex. Italie, région de l'Océan Indien, Caraïbes, Brésil). Le PSIR tient compte de ces particularités épidémiologiques et géographiques en particulier pour le recours à des autorisations de molécules à titre dérogatoire qui pourra s'effectuer dans le cadre d'une

situation exceptionnelle (ex. forte résistance et risque sanitaire élevé) s'il n'existe pas d'autres alternatives.

Le principe général du PSIR est de « **détecter précocement l'émergence de résistances aux insecticides utilisés et/ou utilisables à l'échelle d'un territoire et d'apporter des réponses graduées et appropriées en fonction du niveau de risque de résistance afin de ralentir son extension dans l'espace et dans le temps** ». Ce plan s'inspire des méthodes et des indicateurs de surveillance de la résistance déjà utilisés par l'OMS (WHO 2012, 2016a,b) et le réseau international WIN<sup>22</sup> (Dusfour *et al.* 2019) pour faire face à l'augmentation des résistances chez les moustiques vecteurs de maladies émergentes.

Le PSIR se caractérise par des actions à mener à deux échelles :

- **Surveillance périodique de la résistance aux insecticides à l'échelle populationnelle** : Cela implique d'effectuer une surveillance régulière des niveaux et des mécanismes de résistance aux insecticides dans des « *sites sentinelles* » pré établis à l'aide de méthodes biologiques, moléculaires et/ou biochimiques. Les méthodes de captures et d'échantillonnage, les indicateurs mesurés ainsi que l'interprétation des données sont discutés dans la section 6.2.
- **Stratification du niveau de risque de résistance (RiR) à l'échelle du territoire pour assister la prise de décision** : Cela implique d'estimer le niveau de risque de résistance aux insecticides sur l'ensemble d'un territoire en se basant sur les données de surveillance populationnelle. Les actions de surveillance et de lutte seront ainsi ajustées en fonction du niveau de risque (classé selon 4 niveaux) et de la situation épidémiologique dans le territoire concerné. La délimitation du « territoire » dépendra des contraintes locales (géographique et/ou administrative) et devra être préalablement définie (ex. échelle d'un département, d'une région, d'une collectivité). L'échelle de stratification du risque de résistance ainsi que l'arbre décisionnel pour guider les actions de surveillance et de lutte sont décrits dans la section 6.3.

---

<sup>22</sup> <https://win-network.ird.fr/>

## 6.2 Surveillance de la résistance aux substances actives utilisées en lutte

La surveillance à l'échelle populationnelle devra se faire de manière périodique, dans des sites définis (dits « sites sentinelles », section 6.2.1) afin de suivre l'évolution de la résistance dans l'espace et dans le temps. Les tests de résistance devront cibler prioritairement les insecticides couramment utilisés en LAV dans le territoire concerné (ex. deltaméthrine pour les tests de résistance sur adultes et *Bti* pour les tests de résistance sur les larves) mais un élargissement aux autres insecticides utilisés en LAV et aux molécules utilisables à titre dérogatoire est prévu en cas de résistance avérée aux insecticides utilisés pour la LAV. Le monitoring de la résistance pourra s'appuyer sur les activités effectuées en routine par les opérateurs en charge de la surveillance entomologique afin d'optimiser l'utilisation des ressources humaines et financières.

### 6.2.1 Méthodologie pour la surveillance de la résistance aux insecticides

#### 6.2.1.1 Sélection des sites sentinelles

Pour effectuer un suivi efficace de la résistance aux insecticides, la surveillance doit être effectuée à travers **des sites sentinelles** qui ont été préétablis pour leur capacité à représenter l'éventail des espèces de vecteurs d'intérêt épidémiologique et des zones éco-épidémiologiques et géographiques d'un territoire donné. La mise en place d'un tel réseau de sites sentinelles vise à détecter précocement l'apparition d'une résistance et de suivre son évolution dans l'espace et dans le temps à l'échelle du territoire. Une connaissance précise du contexte géographique, écologique, entomologique et épidémiologique permettra aux autorités compétentes de définir l'emplacement exact et le nombre idéal de sites sentinelles pour la surveillance de la résistance. La distribution et le nombre de sites devront être ajustés en fonction des données collectées (voir section 6.3).

Les critères généralement utilisés pour la sélection des sites sentinelles sont les suivants :

- **Niveau de risque épidémiologique** (ex. zones à fort risque de transmission d'arboviroses et/ou de paludisme, zones frontalières)
- **Fréquence et quantité d'insecticides utilisés** à la fois pour la santé publique et l'agriculture (ex. zone d'irrigation colonisées par les vecteurs de paludisme ; zones urbaines et péri urbaines pour les *Aedes*)
- Densité de population humaine (urbaine ou rurale)
- **Niveau de risque entomologique** (Présence et abondance des vecteurs à travers l'historique de la surveillance entomologique)
- Accessibilité/spécificité des sites



Les informations à renseigner sur les sites sentinelles sélectionnés pour le suivi de la résistance sont présentées dans le Tableau 25.

**Tableau 25. Exemple de tableau énumérant les informations nécessaires pour répertorier les sites sentinelles existants et proposés pour le suivi de la résistance aux insecticides. Source WHO 2017.**

Localité	Localisation <sup>a</sup>	Site sentinelle (oui /non)	Site existant / proposé	Date des prospections	Fréquence des prospections	Informations complémentaires <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Utiliser le système de positionnement global (GPS) ou les coordonnées cartographiques lorsque c'est possible, ou le nom de la province, district, ville ou du village ;

<sup>b</sup> Par exemple, taille de la population, type d'urbanisation, zone agricole, actions de LAV, résistance détectée

### 6.2.1.2 Fréquence du suivi

Dans de nombreux pays, il n'existe pas de dispositif de surveillance de la résistance coordonné et pérenne. La surveillance est effectuée de manière spontanée, parfois empirique ou réactive à des épisodes épidémiques et/ou à des échecs de traitements. Si l'on souhaite détecter de manière précoce les résistances dans les populations naturelles afin d'y apporter une réponse rapide et adaptée, il est important de disposer de séries chronologiques ou périodiques de données (biologiques et moléculaires) dans un site donné. Ainsi, il est recommandé de tester la sensibilité des moustiques vecteurs aux insecticides couramment utilisés en LAV **au moins une fois par an** dans chaque site du réseau sentinelle (WHO 2017).

### 6.2.1.3 Méthodes de captures entomologiques et échantillonnage

De nombreuses méthodes sont utilisées pour la capture de moustiques destinés aux tests de résistance, que ce soit à l'état immature (larves et œufs) ou à l'état adulte (WHO 2013). À titre d'exemple, un réseau de pièges pondoirs représente un outil intéressant pour capturer des espèces de moustiques invasifs comme *Ae. albopictus* ou le moustique tropical *Ae. aegypti*. L'avantage est de pouvoir proposer un large réseau de sites de ponte attractifs pour l'espèce cible, stables dans le temps et dans l'espace, afin de récolter un maximum d'œufs pour les tests de sensibilité. Pour *Ae. aegypti* et les *Culex* spp., les prospections de moustiques dans les gîtes larvaires sont préconisées car elles permettent de récolter un grand nombre de larves dans un espace et un temps relativement limité. Pour les anophèles, il est souvent plus difficile de repérer les gîtes larvaires (à l'exception des espèces rizicoles) et/ou d'avoir des gîtes productifs, et des captures de moustiques à l'état adulte (à l'aide d'aspirateurs à dos et/ou de système de piégeage) sont généralement réalisés.

Quelle que soit la méthode de capture utilisée, **l'important est de prospecter un nombre de sites suffisant, il est recommandé d'avoir un minimum de 10 sites pour avoir une bonne représentativité de la population échantillonnée.** Il est en effet indispensable que les échantillons à tester soient issus de plusieurs sites de reproduction afin d'éviter de prélever des individus issus de lots d'œufs uniques.



### 6.2.1.3.1 Recommandations lors des prospections larvaires et/ou en piège-pondeirs

En l'absence de recommandations spécifiques sur la collecte d'échantillons destinés à la surveillance de la résistance, et sur la base des recommandations de l'ECDC<sup>23</sup> sur la surveillance des moustiques invasifs en Europe (2012), nous recommandons les méthodes suivantes pour chaque site sentinelle :

- Pose d'au moins 4 pièges pondeirs / hectare sur une période de 4 jours et/ou,
- Prospection d'au moins 10 gîtes larvaires en respectant une distance d'au moins 100 m entre les lieux de capture.

Pendant la prospection, il est important de noter le type de site de reproduction (ex. piège pondeir, fût, pot de fleurs, rizière, puit, canal d'irrigation) et les coordonnées GPS car certains gîtes pourraient être plus ou moins exposés/contaminés par des produits polluants et autres xénobiotiques. Il est aussi recommandé de ne pas prospecter des moustiques juste après un traitement insecticide à but agricole ou de LAV. Les échantillons collectés sur un même site pourront ensuite être regroupés afin de produire un nombre suffisant d'insectes pour les tests biologiques et ou moléculaires.

### 6.2.1.3.2 Recommandations lors des captures de moustiques adultes

Comme pour les larves, la variabilité génotypique de la descendance d'un adulte femelle est limitée, de sorte que les femelles capturées à l'état sauvage devraient idéalement être collectées dans plusieurs lieux différents afin de garantir un échantillonnage représentatif de la population à tester. Les méthodes de capture des moustiques adultes se font généralement à l'aide de piégeage (pièges-lumineux, pièges fenêtres, etc.), de captures sur sujets humains (problèmes éthiques), et/ou d'aspirateurs à dos (ex. aspirateur prokopack<sup>TM</sup> ou insectovac<sup>TM</sup>). Une fois capturés, les échantillons doivent être triés et conservés durant le transport (climatisé dans la mesure du possible) puis ramenés au laboratoire pour y être identifiés. En pratique, l'OMS recommande de réaliser des tests biologiques sur la descendance (F1) provenant d'au moins 30 femelles capturées à l'état sauvage (WHO 2016).

## 6.2.2 Sélection des échantillons pour les tests biologiques

L'âge, l'état physiologique et le sexe des moustiques sont des facteurs importants qui peuvent influencer les résultats des tests de sensibilité aux insecticides. L'utilisation des mâles n'est pas recommandée pour les tests de résistance car ils sont généralement plus petits, ont une sensibilité accrue aux insecticides et ont une espérance de vie plus courte. Ils sont également plus fragiles que les femelles, et ont donc tendance à avoir une mortalité plus élevée dans les lots témoin. Les tests sont donc effectués en utilisant **uniquement des moustiques femelles**.

D'autre part, des études ont montré à plusieurs reprises que l'âge et l'état physiologique des moustiques femelles (c'est-à-dire non nourries de sang ou de jus sucré, semi-gravide ou gravide) ont un effet marqué sur leur niveau de sensibilité aux insecticides (Lines *et al.* 1991). Par conséquent, **il est recommandé d'effectuer des tests de sensibilité sur des femelles adultes, âgées de 3 à 5 jours**, non nourries de sang et non exposées à des substances xénobiotiques.

Afin d'obtenir des résultats normalisés en fonction du stade et/ou de l'âge des adultes, il est recommandé d'effectuer les tests de sensibilité sur la descendance des moustiques sauvages

<sup>23</sup> European Centre for Disease Prevention and Control, <https://www.ecdc.europa.eu/en>

capturés, appelée communément **la génération F1** élevée en conditions standardisées (densité larvaire, nourriture, température, humidité relative, etc.).

Dans le cas où la génération F1 ne pourrait pas être utilisée pour les tests de sensibilité (accessibilité limitée aux sites et/ou absence d'insectarium), il reste la possibilité de réaliser les tests de sensibilité, soit sur des femelles adultes (F0) issues de collection larvaire, soit directement sur les femelles capturées à l'état sauvage.

Les avantages/inconvénients de l'utilisation des femelles sauvages (F0) et/ou de leur descendance (F1) sont décrits dans le Tableau 26.

**Tableau 26. Avantages et inconvénients de l'utilisation de la génération F1 (descendance) ou la génération F0 (femelles sauvages) pour les tests de résistance (source WHO 2016).**

Génération	Avantages	Inconvénients
<b>Génération F1</b> (descendance)	L'âge des vecteurs est connu pendant les tests ce qui permet la comparaison directe des résultats. Permet d'avoir un nombre suffisant de moustiques pour les tests	Nécessite des infrastructures adaptées (laboratoires et insectarium), ce qui limite les endroits où les tests peuvent être effectués. Faible diversité et représentativité des échantillons si la taille de l'échantillonnage est faible.
<b>Génération F0</b> (moustiques sauvages)	Nécessite peu d'installations car les tests peuvent être faits directement sur le terrain. Permet de quantifier plus précisément et directement la fréquence des allèles de résistance dans les populations naturelles.	L'âge et l'état physiologique des vecteurs sont inconnus, ce qui augmente la variabilité des tests et limite la comparaison des résultats. Les moustiques peuvent avoir été pré exposés à un insecticide/xénobiotique, modifiant ainsi les résultats des tests. Les femelles capturées à l'état sauvage sont potentiellement infectées et doivent donc être manipulées avec précaution

### 6.2.3 Recours aux tests biologiques pour la surveillance de la résistance

Les différentes étapes de la réalisation des tests biologiques ont été décrites en détail dans la section 4.1 et ne seront donc pas reprises ici. Dans le cadre du PSIR, le choix du test biologique à utiliser pour tester la résistance dépendra i) des insecticides ciblés<sup>24</sup> par la surveillance (ex. larvicides vs adulticides) et ii) de la disponibilité des doses diagnostiques pour chaque famille d'insecticides et pour une espèce vectrice donnée (voir liste des doses diagnostiques disponibles dans la section 4.1).

Les méthodes biologiques (bioessais) recommandées pour tester la sensibilité des populations aux insecticides dans les sites sentinelles sont les suivantes :

- **La méthode du test en gobelets** (ou test larvaire) pour tester la résistance des populations de moustiques aux molécules larvicides. La méthode consiste à exposer des larves d'une population donnée (en parallèle à la souche de référence sensible) à une série croissante de concentrations d'un larvicide pour estimer les Concentrations Létales (CL) et ainsi calculer le **Rapport de résistance 50 ou RR<sub>50</sub>** (WHO 2004). Dans le cadre des IGR (par exemple le pyriproxyfène), l'effet de l'insecticide sur les larves

<sup>24</sup> Insecticides couramment utilisés en LAV et/ou potentiellement utilisables (molécules alternatives et/ou assujetties à une dérogation)

de moustiques est exprimé en pourcentage de larves qui n'émergent pas en adulte par rapport au contrôle et on parle donc d'inhibition de l'émergence des adultes (WHO 2016).

- **La méthode du test en tubes OMS** pour tester la résistance des populations de moustiques adultes à des doses diagnostiques d'insecticides. La méthode repose sur l'exposition des moustiques à des papiers filtres imprégnés d'insecticide afin d'évaluer le statut de résistance d'une population donnée (WHO 2016). Si une résistance est observée/suspectée, il est recommandé de réaliser des tests d'intensité pour évaluer le niveau de résistance de cette population (faible, modérée, fort) en exposant les moustiques à 5 fois et 10 fois la DD recommandée par l'OMS.
- **La méthode du test en bouteilles OMS** pour tester la résistance des populations de moustiques adultes aux molécules insecticides ne pouvant pas être imprégnées sur papier filtres (section 4.1). Ce test repose sur l'imprégnation de bouteilles en verre avec une dose diagnostique afin d'évaluer le niveau de sensibilité de la population étudiée. Bien qu'aucune contre-indication n'existe sur la possibilité de réaliser des tests d'intensité avec les bouteilles, l'OMS n'a pour le moment pas validé le recours à des tests avec 5 fois et 10 fois les DD OMS pour les molécules récemment évaluées (tableau 28).

Le nombre minimum de moustiques à utiliser lors des tests biologiques est mentionné dans le Tableau 27.

**Tableau 27. Nombre minimum de moustiques à utiliser lors des tests biologiques pour la surveillance de la résistance**

Type de test	Age	Nombre de doses	Nombre d'insectes par dose
Test larvaire	Stade L3-4	5 (+ témoin)	100 (+100 dans le témoin)
Test en tubes	3-5 jours	1 (+ témoin)	100 (+50 dans le témoin)
Test en bouteilles	3-5 jours	1 (+ témoin)	100 (+50 dans le témoin)

Les tests biologiques effectués sur les populations de moustiques sont généralement réalisés une seule fois à un temps donné. Lorsqu'il n'est pas possible de tester ce nombre minimum de moustiques en une seule journée, les tests peuvent être effectués sur plusieurs jours jusqu'à ce que ce nombre soit atteint, à condition que des tests contrôles soient effectués en parallèle. Dans ce cas, et pour éviter de multiples manipulations, les solutions d'insecticides utilisées pour les tests larvaires peuvent être conservées au réfrigérateur (4°C). Pour les tests sur adultes, les papiers imprégnés peuvent rester dans les tubes, à condition qu'ils soient enveloppés dans de l'aluminium et maintenu à 4°C entre les tests. Pour les bouteilles, il n'existe actuellement pas de recommandations sur le nombre d'utilisations possibles et/ou sur le temps de stockage des bouteilles imprégnées avec les doses diagnostiques OMS. Il est donc préférable de retraiter les bouteilles si de nouveaux tests doivent être effectués.

## 6.2.4 Indicateurs de résistance

L'indicateur principal mesuré lors des tests de sensibilité est la mortalité des moustiques après exposition à une dose diagnostique, soit à des concentrations croissantes d'insecticides. La mortalité est déterminée 24 heures après l'exposition sauf exception (ex. cas du chlorfenapyr, voir section 4.1). La mortalité dans le contrôle doit toujours être mesurée sur la même période de temps et utilisée pour corriger la mortalité des moustiques traités si besoin (voir formule d'Abbott ci-dessous). Dans le cadre des IGR, l'indicateur sera le taux d'inhibition d'émergence des moustiques adultes (ou IE %).

La mortalité des échantillons exposés à l'insecticide (adulticide ou larvicide) est calculée en additionnant le nombre de moustiques morts pour une même concentration et en l'exprimant en pourcentage du nombre total de moustiques exposés à cette concentration comme suit :

$$\text{Mortalité observée (\%)} = \frac{\text{Nombre total de moustiques morts}}{\text{Nombre total de moustiques testés}} \times 100$$

Un calcul similaire doit être effectué afin d'obtenir la mortalité dans le contrôle. Si la mortalité du contrôle est supérieure ou égale à 20 %, les tests doivent être rejetés et refaits. Lorsque la mortalité dans le contrôle est strictement inférieure 20 % mais supérieure à 5 %, la mortalité doit être corrigée à l'aide de la *formule d'Abbott (1925)*, comme suit :

$$\text{Mortalité corrigée (\%)} = \frac{\% \text{ mortalité observée} - \% \text{ mortalité contrôle}}{100 - \% \text{ mortalité contrôle}} \times 100$$

Dans le cadre des tests larvaires effectués avec des IGR, il est nécessaire de calculer le taux d'inhibition de l'émergence (IE %) comme suit :

$$\text{Inhibition de l'émergence (IE \%)} = \left[ 1 - \frac{\% \text{ adultes qui émergent avec l'insecticide}}{\% \text{ adultes qui émergent dans le contrôle}} \right] \times 100$$

Si l'émergence des adultes dans le contrôle est inférieure à 90 %, le test doit être rejeté et répété. Lorsque le pourcentage se situe entre 91 % et 99 %, il faut corriger les données à l'aide de la formule d'Abbott (comme ci-dessus).

La lecture de la mortalité ou de l'inhibition d'émergence sert d'indicateur principal pour estimer les niveaux de résistance à un insecticide dans une population donnée.

## 6.2.5 Interprétation des tests biologiques

### 6.2.5.1 Test larvaire ou en gobelets

Les données de mortalité à chaque concentration testée permettent d'estimer les Concentrations létales 50 (CL<sub>50</sub>) ou la Concentration inhibant 50 % de l'émergence des adultes (IE<sub>50</sub>) par régression log-probit à l'aide de logiciels mathématiques. Le RR<sub>50</sub> est obtenu en comparant les CL<sub>50</sub> (ou IE<sub>50</sub>) entre la population testée et la souche de référence sensible comme suit :

$$\text{Rapport de Résistance}_{50} = \frac{\text{CL}_{50} \text{ (ou IE}_{50}\text{) de la population testée}}{\text{CL}_{50} \text{ (ou IE}_{50}\text{) de la souche sensible de référence}}$$

Les RR<sub>50</sub> permet de classer le niveau de résistance des larves à un insecticide dans un site sentinelle (voir Figure 21).

### 6.2.5.2 Tests sur adultes

La première étape consiste à mesurer le **taux de mortalité d'une population donnée à la dose diagnostique** d'un insecticide. Cette étape permet de mesurer la proportion d'individus résistants dans un site sentinelle (ou résistance phénotypique). Les recommandations pour les tests de résistances aux **doses diagnostiques** sont les suivantes :

- La population est sensible si la mortalité est supérieure ou égale à 98 % ;
- La population présente une possible résistance, qui doit être confirmée par un nouveau test, si la mortalité est comprise entre 90 et 97 %. Si ce deuxième test montre une mortalité < 98 % alors la présence d'une résistance est confirmée ;
- La population est résistante si la mortalité est strictement inférieure à 90 % ;
- Pour les tests en tubes, si la résistance est confirmée, la deuxième étape consiste à mesurer l'intensité de la résistance en exposant ces mêmes populations à 5 fois puis 10 fois la dose diagnostique de l'insecticide considéré.

L'interprétation des résultats est la suivante ;

- Si la mortalité à 5 fois la dose diagnostique est supérieure ou égale à 98 %, la résistance est de faible intensité.
- Si la mortalité à 5 fois la dose diagnostique est strictement inférieure à 98 %, la population est soumise à 10 fois la dose diagnostique.
- Si la mortalité à 10 fois la dose diagnostique est supérieure ou égale à 98 %, la résistance est d'intensité modérée.
- Si la mortalité à 10 fois la dose diagnostique est strictement inférieure à 98 %, la résistance est de forte intensité.

**Les taux de mortalité aux tests sur adultes permettent ainsi de définir le niveau de résistance des moustiques adultes pour un site sentinelle donné (voir Figure 21).**

## 6.2.6 Recours aux tests moléculaires et/ou biochimiques

Dans le cadre du PSIR, il est également recommandé de réaliser des tests moléculaires (et éventuellement biochimiques) afin de détecter la présence d'un allèle de résistance et, si possible, d'estimer sa fréquence dans une population. Cela peut être réalisé sur un sous échantillon de moustiques préalablement utilisés lors des tests de sensibilité. Ceci est particulièrement important afin de i) détecter de manière précoce l'apparition d'une résistance, ii) d'identifier une résistance croisée potentielle (c.à.d. une résistance à plusieurs familles d'insecticides) et iii) d'anticiper d'éventuels échecs opérationnels. Ceci est particulièrement utile si quelques individus survivent à des concentrations normalement létales pour une population sensible (par exemple si entre 2 % et 10 % des individus survivent à une dose diagnostique OMS). Ces informations vont servir pour la planification et la mise en œuvre des actions de lutte et de surveillance, en particulier pour ajuster le niveau de résistance (voir Figure 21) et pour guider le choix des insecticides à utiliser en LAV. Enfin, l'estimation de la fréquence des allèles de résistance s'avère indispensable dans le cadre de l'évaluation de l'efficacité d'un programme de gestion de la résistance (ex. rotations, mélanges d'insecticides).

Dans la mesure où il n'existe pas de recommandations internationales sur les méthodes de détection moléculaire de la résistance (comme c'est le cas pour les tests biologiques), nous ne pouvons pas préconiser de méthodes de référence à utiliser dans le cadre du PSIR. Toutefois, un panel d'outils biochimiques et moléculaires pour détecter la présence de marqueurs de résistance est décrit dans la section 4.2. **Quelle que soit la méthode utilisée, il est conseillé de tester au moins 50 individus par site sentinelle afin de détecter un marqueur de résistance présent à une fréquence allélique de 1 %.**

Pour les tests génomiques (reposant sur des marqueurs ADN), les moustiques issus des tests de sensibilité doivent être stockés dans des micro tubes, étiquetés, et maintenus dans du silicagel à température ambiante (adultes) ou dans de l'éthanol à 70 % (larves) ou conservés à -20°C en attendant les analyses.

Pour les tests biochimiques, il est impératif de conserver du matériel biologique congelé à -20°C (à partir de moustiques vivants) dans des tubes individuels pour éviter la dégradation rapide des protéines.

Pour les tests transcriptomiques (reposant sur l'ARN), il est important de conserver les échantillons individuellement dans des tubes de collecte contenant un conservateur (ex. RNA Later®, DNA/RNA Shield) et/ou à -80°C afin de stabiliser les ARN et d'empêcher leur dégradation.

La fréquence allélique se calcule comme suit :

$$F(R) = \left[ \frac{\text{Nombre d'individus hétérozygotes} + 2 \times \text{Nombre d'individus homozygotes résistants}}{2 \times \text{le nombre d'individus testés}} \right] \times 100$$

L'interprétation des résultats est la suivante :

- Allèles de résistance non détectés car non recherchés (donnée manquante) ;
- Allèles de résistance non détectés par des méthodes biochimiques et/ou moléculaires ( $F(R) = 0$ ) ;
- Allèles de résistance détectés par des méthodes biochimiques et/ou moléculaires ( $F(R) > 0$ ).

Tableau 28. Indicateurs utilisés pour définir le niveau de résistance à l'échelle populationnelle.

Tests biologiques (OMS) <sup>1</sup>	Statut de résistance (tests biologiques)	Mécanismes de résistance <sup>2</sup>		Niveau de Résistance
		Marqueurs moléculaires et/ou biochimiques	Inhibiteurs enzymatiques (test synergiste)	
≥ 98 % mortalité à DD OMS (adultes) ou RR <sub>50</sub> < 5 (larves)	Sensible	Absents (ou non recherchés)		0
	Sensible mais présence d'allèles de résistance	Présents à faible fréquence (= Point de bascule)		1
< 98 % mortalité à 5 fois DD OMS et ≥ 98 % à 10 fois DD OMS (adultes) ou 5 < RR <sub>50</sub> < 10 (larves)	Résistance modérée	Présents (ou non recherchés)		2
< 98 % mortalité à 10 fois DD OMS (adultes) ou RR <sub>50</sub> > 10 (larves)	Résistance forte	Présents (ou non recherchés)		3

DD : Dose Diagnostique ; RR<sub>50</sub> résistance ratio 50 ;

<sup>1</sup> Les tests biologiques (bioessais) sur adultes avec doses diagnostiques définies par l'OMS (DD OMS) ou bien sur larves (dose-réponse) donnent les indicateurs requis pour évaluer le niveau de résistance populationnelle.

<sup>2</sup> Présence d'allèles de résistance sur la base de tests moléculaires (marqueurs de résistance connus), biochimiques (activités enzymatiques) ou de bio-tests avec des inhibiteurs enzymatiques (effet des synergistes sur le phénotype de résistance). Ces indicateurs sont complémentaires aux tests biologiques et permettent d'avoir une caractérisation plus fine des mécanismes de résistance dans une population.

### 6.2.7 Recours aux tests synergistes (inhibiteurs enzymatiques)

En l'absence de capacités techniques et logistiques pour la réalisation de tests moléculaires et/ou biochimiques, le recours à des tests synergistes peut permettre d'identifier de manière simple et efficace l'implication d'enzymes de détoxification dans la résistance (résistance métabolique).

Les méthodes d'utilisation des molécules synergistes en combinaison avec des bioessais sont décrites en section 4.1.

Chez les adultes, les tests synergistes ne sont recommandés que si **les taux de mortalité des moustiques exposés à des doses diagnostiques sont < 90 %** (car l'effet du synergiste ne peut pas être évalué de façon fiable si la sensibilité des moustiques est élevée). A l'issue de ces tests, il est possible de savoir si un phénotype de résistance est causé nullement, partiellement, ou entièrement par une résistance de type métabolique.



L'interprétation des résultats selon les critères de l'OMS est la suivante :

- **Sensibilité à l'insecticide entièrement restaurée après une préexposition à la molécule synergiste** (c'est-à-dire une mortalité  $\geq 98$  % dans les échantillons exposés au couple synergiste / insecticide) ; cela suggère qu'un mécanisme de résistance métabolique est seul responsable du phénotype de résistance observé.
- **Sensibilité à l'insecticide partiellement restaurée après une préexposition à la molécule synergiste** (c'est-à-dire une mortalité dans les échantillons exposés au couple synergiste / insecticide  $< 98$  % mais supérieure de 10 % à la mortalité enregistrée avec l'insecticide seul). Cela suggère qu'un mécanisme impliquant des enzymes de détoxication est partiellement responsable du phénotype de résistance observé mais que d'autres mécanismes de résistance y contribuent également.
- **Sensibilité à l'insecticide non restaurée après une préexposition à la molécule synergiste** (c'est-à-dire une mortalité dans les échantillons exposés au couple synergiste / insecticide  $< 98$  % mais pas supérieure de 10 %<sup>25</sup> à la mortalité enregistrée avec l'insecticide seul). Cela suggère que le phénotype de résistance observé n'implique pas les enzymes de détoxication.

Chez les larves, l'exposition au synergiste (ex. PBO) s'effectue tout au long de l'exposition avec l'insecticide. Les tests synergistes sont préconisés si le  $RR_{50}$  dans une population donnée est supérieur à 5 (ce qui indique la présence de résistance). Les données de mortalité obtenues à chaque concentration permettent d'estimer le **Ratio de Résistance 50 Synergisé (ou  $RRS_{50}$ )** en calculant le rapport entre la  $CL_{50}$  de la population testée et celle de la souche de référence sensible en présence d'un synergiste, comme suit :

$$\text{Ratio de résistance}_{50} \text{ synergisé} = \frac{CL_{50} \text{ de la population testée avec synergiste}}{CL_{50} \text{ de la souche de référence avec synergiste}}$$

L'interprétation des données est la suivante :

- **Si le  $RRS_{50}$  n'est pas significativement différent du  $RR_{50}$  (chevauchement des intervalles de confiance à 95 %)**, cela suggère que la sensibilité à l'insecticide n'est pas modifiée en présence de l'inhibiteur enzymatique et que **la résistance n'est donc pas causée par les enzymes de détoxication étudiées.**
- **Si le  $RRS_{50}$  est significativement supérieure à 1 mais inférieur au  $RR_{50}$  (non chevauchement des intervalles de confiance à 95 %)**, cela suggère que la sensibilité à l'insecticide n'est pas totalement restaurée en présence de l'inhibiteur enzymatique et que **la résistance est partiellement causée par les enzymes de détoxication étudiées.**
- Enfin, **si le  $RRS_{50}$  n'est pas significativement différent de 1**, cela suggère que la sensibilité à l'insecticide est complètement restaurée en présence de l'inhibiteur enzymatique et que **la résistance est entièrement due aux enzymes de détoxication étudiées.**

---

<sup>25</sup> Le critère d'une augmentation de 10 % de la mortalité après exposition au synergiste préconisé par l'OMS est indicatif. Si la présence de résistance métabolique est suspectée selon ce critère, il est préconisé de confirmer ce résultat en comparant l'effet du synergiste entre une population sensible de référence et la population résistante étudiée



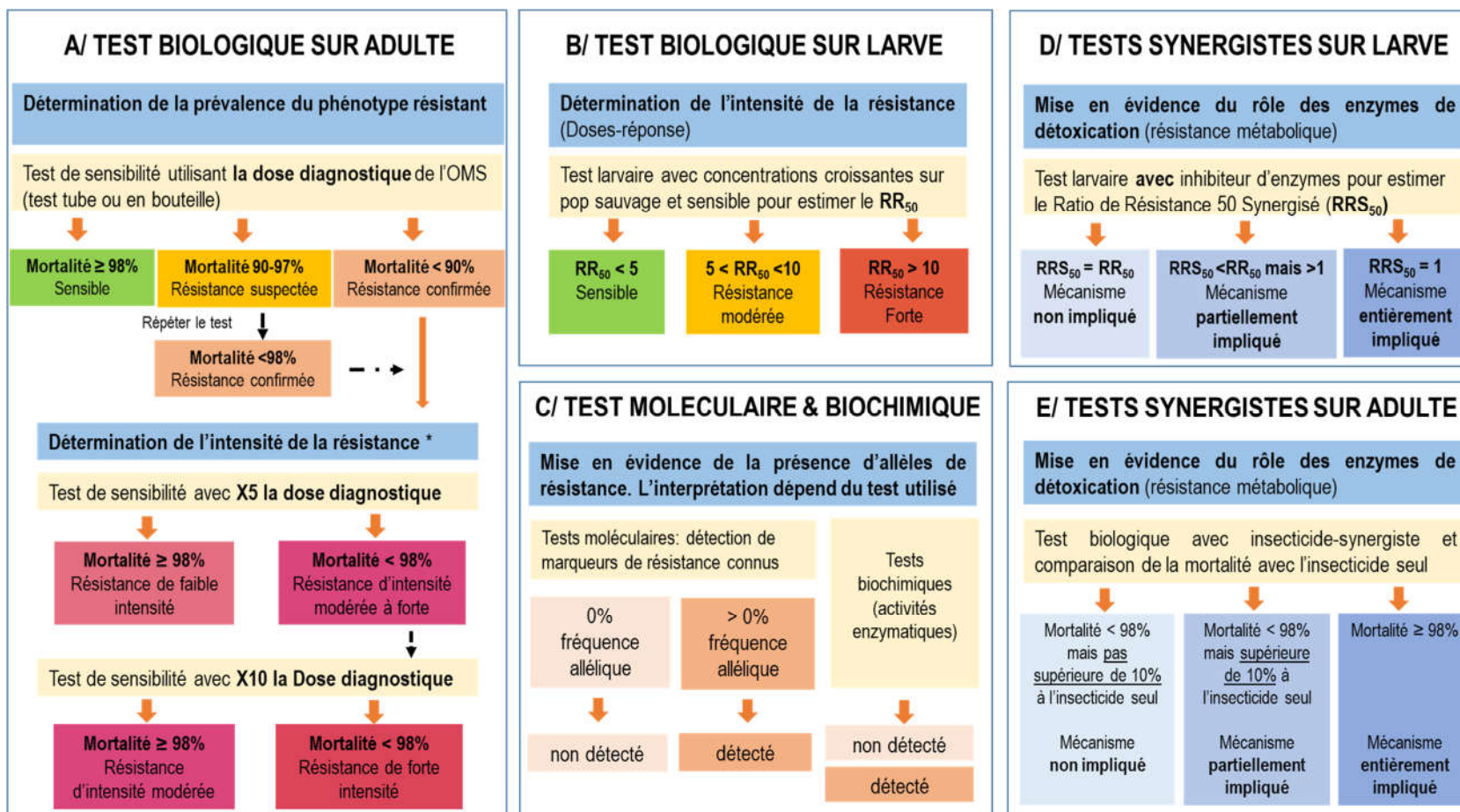


Figure 21. Schéma récapitulatif du dispositif de surveillance de la résistance des moustiques au stade adulte et larvaire (modifié d'après WHO 2016 a,b).

\* test d'intensité actuellement préconisé par l'OMS.

(A) Détermination du statut de résistance avec les doses diagnostiques OMS et des niveaux de résistance lors des tests d'intensité (à 5 et 10 fois la DD) ; (B) Détermination des niveaux de résistance chez les larves avec le  $RR_{50}$  ; (C) Recherche des mécanismes de résistance avec les tests biochimiques et moléculaires et/ou (D/E) les tests synergistes.

## 6.3 Stratification du risque de résistance à l'échelle territoriale pour aider à la prise de décision

La résistance est un phénomène dynamique dans l'espace et le temps sous l'influence des flux de gènes entre populations de moustiques, des effets démographiques mais aussi des variations des pressions de sélection (LAV ou autre usage des insecticides). L'évaluation du niveau de risque ne doit donc pas se limiter au niveau « populationnel » mais doit également prendre en compte la diversité des situations à l'échelle du territoire, afin de proposer des actions de LAV et de gestion de la résistance sur une zone géographique donnée. Dans cette partie, nous nous attacherons à fournir des lignes directrices pour l'évaluation du risque de résistance à l'échelle territoriale, avec pour objectif que celles-ci soient interprétées et adaptées selon le contexte local. Il est en effet impossible, étant donné la diversité géographique, administrative et écologique de donner des critères stricts applicables à tous les cas de figures. L'opérateur de terrain, en accord avec l'organisme décideur (voir section 6.4), sont les plus à même de définir avec cohérence les stratégies à adopter selon le territoire concerné.

### 6.3.1 Définition du territoire

Le concept de territoire est complexe à définir de manière précise. Cette définition peut varier selon les contraintes locales (géographique et/ou administrative) mais aussi en fonction de l'espèce vectrice surveillée. C'est pourquoi nous nous limiterons ici à une définition opérationnelle du territoire. Dans le cadre d'un PSIR, un territoire constitue un espace à l'échelle duquel la LAV et la gestion de la résistance ont un sens. Ceci inclus en particulier des critères d'homogénéités géographique et écologique, les capacités de dispersion active et passive (vent, moyens de transport) des espèces vectrices surveillées, mais aussi plus prosaïquement, des zones subissant les mêmes activités de LAV et de surveillance. Un territoire peut donc être une zone géographique (une côte, un delta, etc.) ou une entité administrative (une collectivité, un département ou une région). Il est ainsi possible qu'un opérateur de terrain souhaite définir plus d'un territoire sur la zone dont il a en charge la surveillance. **Dans le cadre du présent PSIR, le territoire est donc une entité à l'échelle de laquelle une stratégie homogène et réfléchie de gestion de la résistance pourra être appliquée.**

Dans ce cadre, le territoire doit être défini en amont de la surveillance, car le nombre et la répartition des sites sentinelles en dépendent. Le nombre de sites sentinelles pour un territoire est un des paramètres essentiels permettant une surveillance efficace de la dynamique spatio-temporelle de la résistance. Plus le nombre de sites sentinelles sera grand, plus précise sera la surveillance. Evidemment ce nombre dépend également de la surface du territoire à surveiller, de son hétérogénéité écologique et épidémiologique, et ainsi que des moyens humains et financiers à disposition. Cependant il est recommandé d'avoir **un minimum de 10 sites pour un territoire donné.**

### 6.3.2 Stratification du niveau de risque (Tableau 29)

Avec pour objectif de faciliter la classification et la comparaison entre territoires, 4 niveaux de Risque de Résistance (RiR) ont été définis. Le niveau de RiR d'un territoire dépend de deux critères i) des niveaux de résistance observés à l'échelle populationnelle (voir Tableau 28) et ii) de la fréquence d'apparition/d'occurrence à l'échelle du territoire. Un niveau de RiR est évalué et n'a un sens que pour un couple espèce vectrice/substance active dans un territoire donné. **Afin de déterminer le niveau de RiR, il faut considérer la fréquence des sites sentinelles avec les plus forts niveaux de résistance et se reporter au tableau ci-après (Tableau 29).**

Chaque niveau de RiR implique des actions en termes de surveillance ou de LAV (voir 6.3.3).

#### ■ Risque de Résistance de niveau 0 (RiR 0) :

Un RiR 0 indique que le territoire est considéré comme à faible risque de résistance vis-à-vis de l'insecticide testé. Ce classement est attribué à un territoire si aucune résistance n'y a été détectée (mortalité des adultes  $\geq 98$  % avec les concentrations diagnostiques de l'OMS ou  $RR_{50} < 5$  pour les larves) dans l'ensemble des sites sentinelles, ou si moins de 10 % des sites sentinelles surveillés ont un niveau de résistance 1. Une surveillance de routine de la résistance doit être maintenue.

#### ■ Risque de Résistance de niveau 1 (RiR 1) :

Un RiR 1 indique une situation de début d'émergence de résistance vis-à-vis de l'insecticide testé et correspond à une situation où la résistance atteint une fréquence proche du « **point de bascule** » (voir section 3.3) où des allèles de résistance à un insecticide donné sont présents à faible fréquence et où la résistance est susceptible d'émerger à court terme. Ce niveau de RiR doit donc entraîner une adaptation de la surveillance. Ce classement est attribué à un territoire si plus de 10 % des sites sentinelles montrent un niveau de résistance 1 ou si des populations isolées montrent un niveau de résistance 2 sur le territoire.

#### ■ Risque de Résistance de niveau 2 (RiR 2) :

Un RiR 2 indique une résistance modérée (mortalité des adultes  $< 98$  % à 5 fois les concentrations diagnostiques de l'OMS et  $\geq 98$  % à 10 fois les concentrations diagnostiques de l'OMS ou  $5 < RR_{50} < 10$  pour les larves) répandue à l'échelle du territoire ou la présence de quelques populations isolées montrant une résistance forte vis-à-vis de l'insecticide testé. Dans cette situation, il existe un risque de diminution de l'efficacité d'un insecticide donné à l'échelle du territoire ou bien un risque de perte d'efficacité locale pour cet insecticide. Ce classement est attribué à un territoire lorsqu'une proportion supérieure à 10 % des sites sentinelles sont à un niveau de résistance 2 ou si un niveau de résistance 3 est observé sur moins de 50 % sur le territoire.

### ■ Risque de Résistance de niveau 3 (RiR 3) :

Un RiR 3 indique une résistance forte (mortalité des adultes < 98 % à 10 fois les concentrations diagnostiques de l'OMS et/ou  $RR_{50} > 10$  pour les larves) et répandue sur le territoire vis-à-vis de l'insecticide testé. Il existe un fort risque d'une perte totale du contrôle de l'espèce vectrice sur le territoire concerné. Ce classement est attribué à un territoire lorsqu'une proportion supérieure à 50 % des sites sentinelles sont à un niveau de résistance 3.

Les seuils de proportions de populations à l'échelle du territoire sont donnés à titre indicatif. Ces seuils peuvent être ajustés en fonction de l'espèce vectrice concernée, de la configuration du territoire ou de la répartition des sites sentinelles.

Tableau 29. Stratification du risque de résistance à l'échelle du territoire.

		Proportion de sites à l'échelle du territoire		
		Sites isolés (< 10 %)	Sites multiples (10-50 %)	Majorité des sites (> 50 %)
Niveau de résistance à l'échelle du site (Tableau 28)	1	RiR 0	RiR 1	RiR 1
	2	RiR 1	RiR 2	RiR 2
	3	RiR 2	RiR 2	RiR 3

L'annexe 2 illustre la stratification du risque de résistance pour certains couples espèces vectrices – substances actives pour certains territoires français.

### 6.3.3 Diagramme d'aide à la prise de décision en matière de surveillance et de lutte antivectorielle (Tableau 30)

**Le classement d'un territoire dans l'une ou l'autre des catégories de RiR doit entraîner une prise d'actions rapide dans le but d'enrayer l'évolution potentielle de la résistance.**

L'objectif est de préserver l'efficacité des biocides concernés et d'éviter tout échec opérationnel.

Les actions à ajuster en fonction du RiR sont de deux types : d'une part les actions en lien avec la surveillance de la résistance et des actions de LAV et d'autre part, la gestion de la résistance vis-à-vis de l'insecticide concerné (voir Tableau 30).

La surveillance de la résistance doit être renforcée dès le niveau de RiR 1. Le passage en RiR 2 doit déclencher la sélection de substances actives alternatives autorisées et/ou utilisables à titre dérogatoire et la réalisation de tests biologiques afin d'évaluer leur potentiel pour la gestion de la résistance et pour leur utilisation en LAV.

La caractérisation des mécanismes de résistance et leurs fréquences respectives dans les populations est également conseillée car cela permet d'obtenir des informations qui peuvent avoir un impact en termes de gestion (résistance croisée, réversion possible de la résistance, dynamique spatio-temporelle, etc.).

Les actions en termes de surveillance doivent être accompagnées d'actions qui concernent l'adaptation de la LAV (cf. annexe 3 « gestion des résistances aux insecticides ») afin d'enrayer une évolution défavorable de la résistance dans le territoire concerné, voire même d'inverser sa dynamique lorsque cela est possible. Cela peut se faire en réduisant la fréquence des traitements, en alternant les insecticides autorisés dans le temps ou dans l'espace ou en privilégiant des actions de lutte non chimiques. Enfin, le passage en classe RiR 2 s'accompagne de la sélection de substances actives alternatives autorisées<sup>26</sup> et/ou utilisables à titre dérogatoire et la réalisation des tests biologiques ainsi que d'essais d'efficacité de substances alternatives en conditions semi-opérationnelles afin d'anticiper le changement de substance utilisée pour la LAV.

En RiR 3, une modification forte des actions de LAV est attendue. L'arrêt de l'utilisation de l'insecticide concerné sur l'espèce cible est préconisé sur le territoire car son efficacité opérationnelle n'est plus garantie. Des méthodes de lutte complémentaires (physiques, biologiques, génétiques) devraient être déployées si des études pilotes ont été préalablement conduites sur le territoire donnée (ex. lâchers de moustiques mâles stériles) et si cela est accompagné d'un suivi et d'une évaluation rigoureuse de leur efficacité et acceptabilité. La sensibilisation des communautés et leur implication dans les actions de LAV est également un facteur important pour la réussite de la lutte.

Enfin, le fait que la gestion du risque de résistance soit appréciée à l'échelle du territoire ne doit pas empêcher la gestion du risque à l'échelle locale par des actions ciblées. Ainsi, la détection d'une résistance forte dans un site sentinelle (niveau de résistance 3) doit à minima entraîner une attention accrue lors des surveillances futures et, dans la mesure du possible, entraîner l'arrêt de l'utilisation de l'insecticide concerné dans la zone.

---

<sup>26</sup> Il est à noter qu'actuellement en France seule la deltaméthrine est utilisée en tant qu'adulticide et qu'il n'existe pas de molécules alternatives appropriées pour un usage LAV (mode d'action différent, disponibilité de formulations). Il n'existe pas de larvicide autorisé utilisable en milieux naturels autre que le Bti.

Tableau 30. Arbre décisionnel des actions de surveillance et de lutte antivectorielle à mettre en œuvre en fonction du risque de résistance (RiR) à l'échelle du territoire (pour un insecticide et une espèce donnée).

	ACTIONS	
RiR	Surveillance de la résistance	LAV
<b>RiR 0</b>	- Monitoring de routine à maintenir	- Actions de LAV inchangées
<b>RiR 1</b>	- Renforcement du monitoring de la résistance (augmentation du nombre de sites et de la fréquence de prélèvements).	- Actions de LAV inchangées. - Conceptualisation d'un plan de gestion de la résistance <u>adapté localement</u> .
<b>RiR 2</b>	- Poursuite du monitoring de la résistance - Sélection de molécules alternatives autorisées et/ou utilisables à titre dérogatoire dans la surveillance. - Réalisation de tests de sensibilité ciblés sur les populations montrant les plus fortes résistances pour évaluer leur potentiel dans la gestion de la résistance. - Intégration des molécules alternatives autorisées et/ou utilisables à titre dérogatoire dans la surveillance.	- Modifications <b>modérées</b> des actions de LAV (réduction des traitements, alternance d'insecticides autorisés dans l'espace / temps, recours à des méthodes complémentaires (piégeages, lutte physique, etc.). - Essais d'efficacité en conditions semi opérationnelles avec des molécules alternatives autorisées et/ou utilisables à titre dérogatoire.
<b>RiR 3</b>	- Poursuite du monitoring de la résistance. - Intégration des molécules alternatives autorisées et/ou utilisables à titre dérogatoire dans la surveillance territoriale.	- Modifications <b>importantes</b> des actions de LAV (ex. arrêt du traitement, recours à des insecticides alternatifs autorisés <u>et/ou utilisables à titre dérogatoire</u> (ex. cas d'épidémie), recours à des stratégies de lutte innovantes (si preuve de concept)).



## 6.4 Contributeurs et acteurs potentiels

Pour l'organisation du plan de surveillance et afin que les différents plans locaux aient une cohérence entre eux, il sera nécessaire d'impliquer différents acteurs, à savoir :

- **une organisation institutionnelle territoriale** qui s'occupera du pilotage et de la mise en œuvre du PSIR (ex. ARS, DASS). Cette organisation sera en charge de la mise en place d'une convention avec les partenaires compétents (opérateurs, Collectivités, laboratoires de recherche) pour assurer la mise en place du plan de surveillance de la résistance dans des sites sentinelles d'intérêt selon un cahier des charges précis (il faudra délimiter la taille du territoire, le nombre de sites sentinelles à prospecter, la fréquence du suivi, et le nombre de tests biologiques et moléculaires à réaliser en fonction des espèces et des insecticides ciblés, *etc.*).
- **des opérateurs de terrain** qui assureront la supervision des enquêtes de terrain et la collecte des données/échantillons dans le réseau de sites sentinelles identifiés. Ces opérateurs, selon leur niveau de formation, de compétence et d'accès aux infrastructures adéquates, pourront également contribuer à la réalisation des tests biologiques (Collectivités Territoriales, Secteur privé, *etc.*). Ils assureront une liaison permanente avec l'autorité centrale en charge de la surveillance.
- **des laboratoires spécialisés** (structures privées ou laboratoires académiques) pouvant apporter une aide technique dans la mise en place des protocoles de surveillance (méthodes de tests biologiques, moléculaires et biochimiques), dans la mise en œuvre des stratégies de lutte (conventionnelles vs alternatives), ainsi que dans l'analyse et l'interprétation des données.

L'élaboration d'un plan de surveillance intégré nécessitera :

- un pilotage local afin d'établir le périmètre du territoire, une description des objectifs et du contexte de la surveillance, et des outils pour réaliser le plan,
- une description du fonctionnement et des modalités de gestion des ressources, du traitement et de l'interprétation des données, des modalités de surveillance (surveillance événementielle / surveillance programmée),
- une articulation avec la formation et la communication autour du plan.
- une cohérence régionale et nationale. En effet, une organisation en réseau présente l'avantage de partager rapidement les expériences, les connaissances et parfois les moyens permettant ainsi des économies d'échelle et la pérennisation des méthodes et des ressources.

L'ensemble des données collectées pourraient être ensuite regroupées et analysées au sein d'un Observatoire De la Résistance (ODR) chargé de veiller à la bonne mise en œuvre des protocoles, à l'analyse des données, et la réalisation de cartes de risque de résistance à l'échelle du territoire national afin de fournir une réponse rapide, appropriée et graduée.

## 6.5 Spécificités pour les substances actives utilisées à titre dérogatoire

Le recours à des molécules non-autorisées en LAV pourrait être nécessaire dans des situations exceptionnelles, c'est-à-dire en cas de risque de résistance élevé et dans le cadre d'une situation sanitaire préoccupante (épidémie). A ce jour, il existe des substances actives potentiellement utilisables (voir section 3.1). En principe, lorsque des substances actives ne sont utilisées qu'exceptionnellement, la pression de sélection qu'elles exercent est faible. Par conséquent, l'émergence d'une résistance spécifique à ces substances actives est peu probable. Cependant, il existe des résistances croisées, en particulier pour des substances actives qui partagent un même mode d'action. Certains mécanismes de résistance non liés à la cible, tels que la détoxification ou la résistance cuticulaire peuvent également avoir des spectres de résistances difficilement prévisibles. Il est donc possible qu'un mécanisme de résistance sélectionné suite à une pression de sélection d'une substance active autorisée entraîne des résistances à d'autres substances actives, y compris à celles non autorisées. **Il est donc recommandé d'intégrer des substances actives potentiellement utilisables à titre dérogatoire, dans le PSIR dès le RiR 2 afin d'éviter d'avoir recours à des substances alternatives pour lesquelles les vecteurs sont déjà résistants sur le terrain. Le déploiement de ces molécules pour la LAV n'est préconisé qu'en niveau RiR 3.** Enfin, certaines substances actives utilisées à titre dérogatoire en France, peuvent être autorisées dans d'autres pays ou en agriculture. C'est pourquoi, une surveillance des résistances à ces substances reste justifiée. Elle peut notamment se faire par de la veille bibliographique (pour les substances autorisées dans d'autres pays) ou encore à minima en réalisant des tests sur les populations nouvellement identifiées comme résistantes, ou avec des facteurs de résistances inhabituelles ou avec des mécanismes de résistance nouveaux.

Dans le cadre de l'identification et de la sélection de substances actives utilisables à titre dérogatoire, plusieurs critères nécessitent d'être pris en compte dont :

- l'établissement d'une liste de ces substances utilisables à titre dérogatoire ;
- le délai d'obtention de l'autorisation ;
- la disponibilité d'un protocole de test biologique au point pour chacun des couples espèces-substances ;
- la collecte des données historiques sur la résistance à ces molécules dans d'autres pays et/ou sur d'autres espèces (veille bibliographique).



## 7 Conclusions du groupe de travail

Ce rapport propose aux décisionnaires et gestionnaires une revue de la situation en termes de résistance des moustiques aux insecticides sur le territoire français au regard des données disponibles et des auditions des organismes impliqués dans les actions de lutte antivectorielle (LAV). Des lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs aux insecticides sont proposées notamment par la mise en place d'un plan de surveillance intégrée de la résistance (PSIR) applicable à l'ensemble du territoire national afin de garantir une réponse rapide et adaptée. Ce plan se fonde sur des actions à mener d'une part à l'échelle populationnelle en effectuant une surveillance régulière des niveaux et des mécanismes de résistance aux insecticides dans des sites sentinelles et, d'autre part à l'échelle du territoire par une estimation du niveau de risque de résistance (RiR). Cette estimation du risque permettra d'accompagner la prise de décision et de guider les actions à mener en termes de surveillance et de LAV. Ces actions devront tenir compte d'autres paramètres comme par exemple la situation épidémiologique et les ressources disponibles dans le territoire concerné. Le PSIR repose sur les recommandations de l'OMS en matière de tests, de pratiques d'échantillonnage, d'indicateurs et d'interprétation des données. Le dimensionnement des moyens humains et financiers sur chaque territoire est un élément important à considérer pour sa mise en œuvre.

Au regard de l'état des lieux de la résistance aux insecticides des moustiques vecteurs, il apparaît une hétérogénéité des territoires (indépendamment de leur situation géographique, climatique, entomologique ou épidémiologique), notamment concernant les dispositifs de suivi (acteurs et moyens *sensu lato*), mais également concernant le risque de résistance et sa répartition à l'échelle de chaque territoire (*cf.* section 5).

En effet, si dans certains territoires les phénomènes de résistance et leurs mécanismes sont identifiés et suivis, pour d'autres régions du territoire français les dispositifs de suivi sont « lacunaires » voire inexistantes, et mériteraient d'être renforcés et pérennisés, tant du point de vue de l'organisation du plan de surveillance que de la continuité des actions de suivi.

Nonobstant les outils et les pratiques de LAV des différents acteurs (souvent identiques ou comparables), il apparaît important d'anticiper le risque dans les territoires où la résistance est absente ou non détectée afin de préserver l'efficacité des produits biocides. Pour les territoires d'ores-et-déjà soumis à un niveau de RiR élevé, il convient de proposer des adaptations des pratiques sur la base de techniques innovantes et respectueuses de l'environnement. Cette évolution des pratiques devra être adoptée par les opérateurs et soutenue par les autorités en lien avec la recherche afin d'envisager des actions dont l'acceptabilité sociale et environnementale permettra leur mise en place.

Les substances actives utilisables en LAV, plus encore qu'en agriculture, peuvent être considérées comme une ressource limitée ; leur faible nombre fait de ces substances actives un enjeu clef dans le contrôle des espèces vectrices de pathogènes. L'évolution des résistances à ces biocides est donc une problématique préoccupante qui nécessite une attention particulière. **Dans ce contexte, la mise en place de ce PSIR est stratégique afin de préserver ces outils de LAV à long terme.** L'évolution des résistances en réponse à une pression de sélection est un phénomène qui se fait dans le temps. C'est pourquoi il est souligné qu'une surveillance efficace se conçoit à long terme, avec un suivi pluriannuel de sites d'intérêts répartis sur les territoires à surveiller. **Une détection précoce des résistances**

**garantit de meilleures probabilités de succès dans la prévention de l'émergence ou dans le contrôle de celles-ci.**

**Le groupe de travail suggère les recommandations suivantes pour améliorer la surveillance de la résistance au niveau national :**

- Inscrire les activités de surveillance de la résistance comme une mission spécifique de l'activité de LAV. Cela implique :
  - Une identification des capacités et des moyens disponibles ;
  - Une augmentation potentielle des ressources humaines et matérielles allouées aux acteurs pour cette activité ;
  - De promouvoir/actualiser la formation des opérateurs sur les méthodes de la détection de la résistance et sur leur interprétation.
  
- Mettre en œuvre le PSIR dans l'ensemble des territoires français. Cela nécessitera :
  - De renforcer en priorité la surveillance dans les territoires où il y a peu de données et où le risque d'émergence est important (par exemple, les départements de l'Océan indien et Pacifique, France hexagonale, voir détails en section 5) ;
  - D'identifier les acteurs potentiels et développer les liens et partenariats entre les différents intervenants d'un même territoire (ex. ARS, CT, opérateurs, organismes de recherche), par exemple en promouvant des projets collaboratifs mixtes ;
  - La mise à disposition de moyens dédiés répartis entre les différents acteurs.
  
- Favoriser les projets de recherches appliqués et fondamentaux permettant :
  - Une amélioration de la connaissance de la dynamique de la résistance, de sa gestion et de son impact pour la LAV ;
  - La caractérisation de nouvelles molécules insecticides et synergistes (mode d'action, mécanismes de résistance, impact sur les écosystèmes, formulations utilisables en LAV, *etc.*) ;
  - La caractérisation de nouvelles cibles insecticides (ex. récepteurs glutamate, récepteur ryanodine, récepteur à l'octopamine) ;
  - L'évaluation de l'efficacité de nouvelles stratégies de LAV, respectueuses de l'environnement et socialement bien acceptées.
  
- Création d'un observatoire national de la résistance afin de coordonner le PSIR, dont les missions seraient de :
  - Créer une base de données nationale de la résistance permettant de centraliser et d'actualiser les données de surveillance, de générer des cartes de risques de résistance ;
  - Fournir une expertise technique et scientifique en LAV aux décideurs ;

- Fournir un appui matériel (souches de références, matières actives, surfactants, papiers imprégnés<sup>27</sup>, bouteilles, kits de tests, etc.) ;
  - Réactualiser les doses diagnostiques et les protocoles de test ;
  - Diffusion de l'information au sein des acteurs du PSIR ;
  - Soutien pour la communication et la sensibilisation des populations sur les problématiques de la résistance.
- Evaluer l'efficacité des nouvelles approches de LAV (autodissémination, piégeage, technique de l'insecte stérile).
  - Encourager les méthodes sans insecticides (cf. communication de la Commission européenne du 11/12/2019 n°COM/2019/640 sur le « le pacte vert pour l'Europe »<sup>28</sup>) pour une lutte durable et acceptable par les populations.

Enfin, quelle que soit la stratégie choisie pour surveiller et lutter contre les phénomènes de résistances aux insecticides en LAV, les solutions requerront une plus grande technicité et de meilleures connaissances des espèces vectrices et des moyens de lutte alternatifs aux biocides.

De manière plus opérationnelle, envisager d'utiliser à titre dérogatoire certaines substances actives pose des problèmes règlementaires et organisationnels. Ce type de recours risque de se produire dans un contexte « d'urgence » sanitaire qui impose une prise de décision rapide et une disponibilité des substances actives pour les opérateurs.

**Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail : 06 juillet 2021.**

[La version papier signée par les président du GT et du CES est gardée dans le dossier d'archives de la saisine]

---

<sup>27</sup> Les papiers imprégnés à ces différentes doses sont disponibles auprès du centre collaborateur OMS en Malaisie. Cependant, il a été constaté des problématiques récurrentes d'approvisionnement en matériels auprès de cette structure. Ainsi le développement d'une production et d'un approvisionnement de papiers imprégnés et autres matériels de ce type au niveau national par une structure compétente pourrait faciliter le suivi de la surveillance.

<sup>28</sup> <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=CELEX:52019DC0640&from=EN>

## 8 Bibliographie

ABBOTT W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, vol.18(2) : p.265-267

ALOUT H., et WEILL M. (2008). Amino-acid substitutions in acetylcholinesterase 1 involved in insecticide resistance in mosquitoes. *Chemico-Biological Interactions*, vol.175(1-3) : p.138-41.

ALOUT H., LABBE P., BERTHOMIEU A., PASTEUR N., et WEILL M. (2009). Multiple duplications of the rare ace-1 mutation F290V in *Culex pipiens* natural populations. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, vol.39 : p.884-891.

ALOUT H., LABBE P., BERTHOMIEU A., MAKOUNDOU P., FORT P., PASTEUR N., et WEILL M. (2016). High chlorpyrifos resistance in *Culex pipiens* mosquitoes: strong synergy between resistance genes. *Heredity*, vol.116(2) : p.224-31.

APAIRE-MARCHAIS V., OGLIASTRO M., CHANDRE F., PENNETIER C., RAYMOND V., LAPIED B. (2016). Virus and calcium: an unexpected tandem to optimize insecticide efficacy. *Environmental Microbiology Reports*. Vol.8(2) : p.168-78.

ARS Guadeloupe, CIRE, Collectivités (2009). Guide pour l'élaboration des plans communaux de lutte contre les moustiques et de prévention des maladies vectorielles. Première édition 2009, mise à jour 2018. <https://www.guadeloupe.ars.sante.fr/system/files/2018-06/guid0118.pdf>

ASRIWATI A., ARSIN A., ZULKIFLI ABDULLAH A., ISHAK H., SYAME A. (2017). Communication for Behavioral Impact (Combi) Strategy; Does it Improve Knowledge, Attitude and Practice on Dengue Control? *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, vol.36(7) : p.162-169.

AUTERI M., LA RUSSA F., BLANDA V. et TORINA A. (2018). Insecticide Resistance Associated with *kdr* Mutations in *Aedes albopictus*: An Update on Worldwide Evidences. *BioMed Research International*, vol.2018 : 3098575.

AWOLOLA T. S., BROOKE B. D., KOEKEMOER L. L. et COETZEE M. (2003). Absence of the *kdr* mutation in the molecular "M" form suggests different pyrethroid resistance mechanisms in the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* s.s. *Tropical Medicine and International Health*, vol.8(5) : p.420-22.

BADOLO A., OKADO K., GUELBEOGO W.M., AONUMA H., BANDO H., FUKUMOTO S., SAGNON N. et KANUKA H. (2012). Development of an allele-specific, loop-mediated, isothermal amplification method (AS-LAMP) to detect the L1014F *kdr-w* mutation in *Anopheles gambiae* s.l. *Malaria Journal*, vol.11 : 227.

BALABANIDOU V., GRIGORAKI L. et VONTAS J. (2018). Insect cuticle: a critical determinant of insecticide resistance. *Current Opinion in Insect Science*, vol.27 : p.68-74.

BASS C., NIKOU D., VONTAS J., WILLIAMSON M.S. et FIELD L.M. (2010). Development of high-throughput real-time PCR assays for the identification of insensitive acetylcholinesterase (*ace-1R*) in *Anopheles gambiae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol.96(2) : p.80-85.

BENELLI G., WILKE A.B.B., BLOOMQUIST J.R., DESNEUX N. et BEIER J.C. (2021). Overexposing mosquitoes to insecticides under global warming: A public health concern? *Science of The Total Environment*, vol.762 : 143069.

BERTICAT C., BONNET J., DUCHON S., AGNEW P., WEILL M. et CORBEL V. (2008). Costs and benefits of multiple resistance to insecticides for *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. *BMC Evolutionary Biology*, vol.8(1) : 104.

BONNET J., PENNETIER C., DUCHON S., LAPIED B. et CORBEL V. (2009). Multi-function oxidases are responsible for the synergistic interactions occurring between repellents and insecticides in mosquitoes. *Parasites & Vectors*, vol.2 : 17.

BODEREAU-DUBOIS B. (2011). Récepteurs nicotiniques neuronaux d'insectes et insecticides : caractérisation de facteurs cellulaires impliqués dans la modulation de l'efficacité des néonicotinoïdes. Université d'Angers.

BOUSSES P., DEHECQ J.S., BRENGUES C. et FONTENILLE D. (2013). Inventaire actualisé des moustiques (Diptera : Culicidae) de l'île de La Réunion, océan Indien. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, vol.106(2) : p.113-25.

BRÜHL C.A., DESPRES L., FRÖR O., PATIL C.D., POULIN B., TETREAU G. et ALLGEIER S. (2020). Environmental and socioeconomic effects of mosquito control in Europe using the biocide *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* (*Bti*). *Science of The Total Environment*, vol.724 : 137800.

BUCKINGHAM S. D., IHARA M., SATTELLE D. B. et MATSUDA K. (2017). Mechanisms of action, resistance and toxicity of insecticides targeting GABA receptors. *Current Medicinal Chemistry*, vol.24(27) : p.2935-2945.

CALVEZ E., POCQUET N., MALAU A., KILAMA S., TAUGAMOA A., LABROUSSE D., BOUSSES P., FAILLOUX A.B., DUPONT-ROUZEYROL M. et MATHIEU-DAUDE F. (2020). Assessing entomological risk factors for arboviral disease transmission in the French Territory of the Wallis and Futuna Islands. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol.14(5) : e0008250.

CATTEL J., FAUCON F., LE PERON B., SHERPA S., MONCHAL M., GRILLET L., GAUDE T., LAPORTE F., DUSFOUR I., REYNAUD S. et DAVID J.P. (2020). Combining genetic crosses and pool targeted DNA-seq for untangling genomic variations associated with resistance to multiple insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*. *Evolutionary Applications*, vol.13(2) : p.303-17.

CATTEL J., HABERKORN C., LAPORTE F., GAUDE T., CUMER T., RENAUD J., SUTHERLAND I.W., HERTZ J.C., BONNEVILLE J.M., ARNAUD V., FUSTEC B., BOYER S., MARCOMBE S. et DAVID J.P. (2021). A genomic amplification affecting a carboxylesterase gene cluster confers organophosphate resistance in the mosquito *Aedes aegypti*: From genomic characterization to high-throughput field detection. *Evolutionary Applications*, vol.14(4) : p.1009-1022.

CATTEL J., MINIER M., HABCHI-HANRIOT N., POL M., FAUCON F., GAUDE T., GABORIT P., ISSALY J., FERRERO E., CHANDRE F., POCQUET N., DAVID J.P. et DUSFOUR I. Impact of selection regime and introgression on deltamethrin resistance in the arbovirus vector *Aedes aegypti* – A comparative study between contrasted situations in New Caledonia and French Guiana. Soumis à Pest Management Sciences.

CHANDRE F., DARRIET F., DARDER M., CUANY A., DOANNIO J.M.C., PASTEUR N. et GUILLET P. (1998). Pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* from West Africa: Pyrethroid resistance of *Cx. quinquefasciatus*. *Medical and Veterinary Entomology*, vol.12(4) : p.359-366.

CDC. (2010). Guideline for evaluating insecticide resistance in arthropod vectors using the CDC bottle bioassay. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. ([http://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/fsp/ir\\_manual/ir\\_cdc\\_bioassay\\_en.pdf](http://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/fsp/ir_manual/ir_cdc_bioassay_en.pdf))

Centre National d'Expertise sur les Vecteurs. (2014). Utilisation des insecticides et gestion de la résistance.

CHEN M., DU Y., NOMURA Y., ZHOROV B.S. et DONG K. (2020). Chronology of sodium channel mutations associated with pyrethroid resistance in *Aedes aegypti*. *Archives of the Insect Biochemistry and Physiology*, vol.104(2): e21686.

DAVID J.P., ISMAIL H.M., CHANDOR-PROUST A. et PAINE M.J.I. (2013). Role of cytochrome P450s in insecticide resistance: impact on the control of mosquito-borne diseases and use of insecticides on Earth. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol.368(1612) : 20120429.

DARBOUX I., CHARLES J.F., PAUCHET Y., WAROT S. et PAURON D. (2007). Transposon-mediated resistance to *Bacillus sphaericus* in a field-evolved population of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Cellular Microbiology*, vol.9(8) : p.2022-2029.

DELATTE, H., TOTY C., BOYER S., BOUETARD A., BASTIEN F. et FONTENILLE D. (2013). Evidence of Habitat Structuring *Aedes albopictus* Populations in Réunion Island. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, vol.7(3) : e2111.

DELANNAY C., GOINDIN D., KELLAOU K., RAMDINI C., GUSTAVE J., VEGA-RÚA A. (2018). Multiple insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* populations from Guadeloupe (French West Indies) and associated mechanisms. *PLoS One*, vol.13(6) : e0199615.

DESPRES L., DAVID J.P. et GALLET C. (2007). The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends in Ecology & Evolution*, vol.22(6) : p.298-307.

DJÈNONTIN A., BIO-BANGANA S., MOIROUX N., HENRY M.C., BOUSARI O., CHABI J., OSSÈ R., KOUDÉNOUKPO S., CORBEL V., AKOGBÉTO M. et CHANDRE F. (2010). Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasites & Vectors*, vol.6(3) : 83.

DJOUAKA R.F., BAKARE A.A., COULIBALY O.N., AKOGBETO M.C., RANSON H., HEMINGAY J. et STRODE C. (2008). Expression of the cytochrome P450s, CYP6P3 and CYP6M2 are significantly elevated in multiple pyrethroid resistant populations of *Anopheles gambiae* s.s. from Southern Benin and Nigeria. *BMC Genomics*. Vol.9 : 538.

DUSFOUR I., VONTAS J., DAVID J.P., WEETMAN D., FONSECA D.M., CORBEL V., RAGHAVENDRA K., COULIBALY M.B., MARTINS A.J., KASAI S. et CHANDRE F. (2019). Management of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses: Advances and challenges. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol.13(10) : e0007615.



DUSFOUR I., THALMENSY V., GABORIT P., ISSALY J., CARINCI R. et GIROD R. (2011). Multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations compromises the effectiveness of dengue vector control in French Guiana. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol.106(3): p.346-52.

DUSFOUR I. et GIROD R. (2011). Suivi de la résistance à la deltaméthrine dans les populations d'*Aedes aegypti* en Guyane. Années 2009-2011. Rapport 007/IPG/UEM/2011, Institut Pasteur de la Guyane, Cayenne, Guyane.

DUSFOUR I. et GIROD R. (2014). Suivi de la résistance à la deltaméthrine et au *Bti* dans les populations d'*Aedes aegypti* en Guyane, année 2013. Rapport 01/IPG/UEM/2014.

DUSFOUR I., ZORRILLA P., GUIDEZ A., ISSALY J., GIROD R., GUILLAUMOT L., ROBELLO C. et STRODE C. (2015). Deltamethrin Resistance Mechanisms in *Aedes aegypti* populations from Three French Overseas Territories Worldwide. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, vol.9(11) : e0004226.

EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). (2020). Rift Valley Fever: risk of persistence, spread and impact in Mayotte (France). *EFSA Journal*, vol.18(4).

EID Méditerranée - Rapports sur la "Surveillance du moustique *Aedes albopictus* en France métropolitaine" 2016 à 2019 – Convention DGS

ELISSA N. et KARCH S. (2005). Re-emergence of anopheles funestus and its possible effect on malaria transmission on mayotte island, indian ocean. *Journal of the American Mosquito Control Association*, vol.21(4) : p.472-473.

FAILLOUX A.B., UNG A., RAYMOND M. et PASTEUR N. (1994). Insecticide susceptibility in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from French Polynesia. *Journal of Medical Entomology*. vol.31(5) : p.639-644.

FAUCON F., GAUDE T., DUSFOUR I., NAVRATIL V., CORBEL V., JUNTARAJUMNONG W., GIROD R., POUPARDIN R., BOYER F., REYNAUD S. et DAVID J.P. (2017). In the hunt for genomic markers of metabolic resistance to pyrethroids in the mosquito *Aedes aegypti*: An integrated next-generation sequencing approach. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol.11(4) : e0005526.

FAUCON F., DUSFOUR I., GAUDE T., NAVRATIL V., BOYER F., CHANDRE F., SIRISOPA P., THANISPONG K., JUNTARAJUMNONG W., POUPARDIN R., CHAREONVIRIYAPHAP T., GIROD R., CORBEL V., REYNAUD S. et DAVID J.P. (2015). Identifying genomic changes associated with insecticide resistance in the dengue mosquito *Aedes aegypti* by deep targeted sequencing. *Genome Research*. vol.25(9) :1347-1359.

FONTENILLE D., LAGNEAU C., LECOLLINET S., LEFAIT ROBIN R., SETBON M., TIREL B. et YEBAKIMA A. 2009. « La lutte antivectorielle en France ». IRD Éditions. Marseille.

FOTAKIS E.A., MASTRANTONIO V., GRIGORAKI L., PORRETTA D., PUGGIOLI A., CHASKOPOULOU A., OSORIO H., WEILL M., BELLINI R., URBANELLI S. et VONTAS J. (2020). Identification and detection of a novel point mutation in the Chitin Synthase gene of *Culex pipiens* associated with diflubenzuron resistance. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol.14(5) : e0008284.

GIROD R., GABORIT P., CARINCI R. et ISSALY J. (2008). Sensibilité d'*Aedes aegypti* aux insecticides utilisés pour la lutte antivectorielle en Guyane. Bulletin d'alerte et de surveillance Antilles-Guyane, vol.5 : p.3-4.

GLUNT K.D., PAAIJMANS K.P., READ A.F. et THOMAS M.B. (2014). Environmental temperatures significantly change the impact of insecticides measured using WHOPES protocols. Malaria Journal, vol.13 : 350.

GOINDIN D., DELANNAY, C., GELASSE A., RAMDINI C., GAUDE T., FAUCON F., DAVID J.P., GUSTAVE J., VEGA-RUA A. et FOUQUE F. (2017). Levels of insecticide resistance to deltamethrin, malathion, and temephos, and associated mechanisms in *Aedes aegypti* mosquitoes from the Guadeloupe and Saint Martin islands (French West Indies). Infectious diseases of poverty, vol.6 : 38.

GONG M.Q., GU Y., HU X.B., SUN Y., MA L., LI X.L., SUN L.X., SUN J., QIAN J. and ZHU C.L. (2005). Cloning and Overexpression of CYP6F1, a Cytochrome P450 Gene, from Deltamethrin-resistant *Culex pipiens pallens*. Acta Biochimica Biophysica Sinica, Vol.37(5) : p.317-326.

GRIGORAKI L., LAGNEL J., KIOULOS I., KAMPOURAKI A., MOROU E., LABBÉ P., WEILL M. et VONTAS J. (2015). Transcriptome Profiling and Genetic Study Reveal Amplified Carboxylesterase Genes Implicated in Temephos Resistance, in the Asian Tiger Mosquito *Aedes albopictus*. PLoS neglected tropical diseases, vol.9(5) : e0003771.

GRIGORAKI L., BALABANIDOU V., MERISTOUDIS C., MYRIDAKIS A., RANSON H., SWEVERS L. et VONTAS J. (2016). Functional and immunohistochemical characterization of CCEae3a, a carboxylesterase associated with temephos resistance in the major arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. Insect Biochemistry and Molecular Biology, vol.74 : p.61-67.

GRIGORAKI L., PUGGIOLI A., MAVRIDIS K., DOURIS V., MONTANARI M., BELLINI R. et VONTAS J. (2017). Striking diflubenzuron resistance in *Culex pipiens*, the prime vector of West Nile Virus. Scientific Reports, vol.7(1) : 11699.

GUIDEZ A., POCQUET N., RESTREPO J., MATHIEU L., GABORIT P., ISSALY J., CARINCI R., CHANDRE F., EPELBOIN Y., ROMAIN G., DUSFOUR I. (2020). Spatiotemporal multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations in French Guiana: need for alternative vector control. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol.115 : e200313.

GUILLAUMOT L., VERNUDACHI A., MPHANDE F., HUSSON M., TEURLAI M., MILLET L., LUCIEN K., GRANGEON J-P., DARRIET F., MATHIEU-DAUDE F. (2015). " 1 Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations of New Caledonia : what is the future for vector control ? ". 1ère Journée Scientifique de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, *Arboviroses et leptospirose : réservoirs, vecteurs et maladies humaines*, 21 Novembre 2013. [https://www.researchgate.net/publication/279175240\\_1\\_Insecticide\\_resistance\\_in\\_Aedes\\_aegypti\\_populations\\_of\\_New\\_Caledonia\\_what\\_is\\_the\\_future\\_for\\_vector\\_control](https://www.researchgate.net/publication/279175240_1_Insecticide_resistance_in_Aedes_aegypti_populations_of_New_Caledonia_what_is_the_future_for_vector_control)

HARDSTONE M.C., KOMAGATA O., KASAI S., TOMITA T., SCOTT J.G. (2010). Use of isogenic strains indicates CYP9M10 is linked to permethrin resistance in *Culex pipiens quinquefasciatus*. Insect Molecular Biology, vol.19(6) : p.717-726.

HARDSTONE M.C. et SCOTT J.G. (2010). A review of the interactions between multiple insecticide resistance loci. Pesticide Biochemistry and Physiology, vol.97(2) : p.123-28.



HECKEL D.G. (2020). How do toxins from *Bacillus thuringiensis* kill insects? An evolutionary perspective. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, vol.104(2) : e21673.

INGHAM V.A., ANTHOUSI A., DOURIS V., HARDING N.J., LYCETT G., MORRIS M., VONTAS J. et RANSON H. (2020). A sensory appendage protein protects malaria vectors from pyrethroids. Nature, vol.577(7790) : p.376-380. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1864-1>.

Institut Louis Malarde. (2018). Rapport de l'ILM relatif à la réalisation des travaux « Test de sensibilité aux insecticides ». Convention N°08309/MSS/DS du 15 novembre 2017. Papeete : ILM, 11 p. [www.ilm.pf](http://www.ilm.pf).

Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie. Rapports d'activité de 2002-2018. (<http://www.institutpasteur.nc/rapports-dactivite/>)

ISHAKI.H., RIVERONJ.M., IBRAHIMS.S., STOTT R., LONGBOTTOM J., IRVING H. et WONDJI C.S. (2016). The Cytochrome P450 gene CYP6P12 confers pyrethroid resistance in kdr-free Malaysian populations of the dengue vector *Aedes albopictus*. Scientific Reports, vol.6 : 24707.

JOURDAIN F. et PERRIN Y. (2015). Vecteurs et lutte antivectorielle. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire n°13-14 : p.223-225. [http://www.invs.sante.fr/beh/2015/13-14/2015\\_13-14\\_4.html](http://www.invs.sante.fr/beh/2015/13-14/2015_13-14_4.html)

JULVEZ J., GALTIER J., ALI HALIDI M., HENRY M. et MOUCHET J. (1987). Epidémiologie du paludisme et lutte antipaludique à Mayotte (Archipel des Comores, Océan Indien) : évolution de la situation de 1976 à 1986, perspectives. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, vol.80(3bis) : p.505-519.

JULVEZ J. et MOUCHET J. (1994). Epidémiologie historique de la filariose de Bancroft dans les îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, vol.87(3) : p.194-201.

KASAI S., KOMAGATA O., ITOKAWA K., SHONO T., NG L.C., KOBAYASHI M., et TOMITA T. (2014). Mechanisms of pyrethroid resistance in the dengue mosquito vector, *Aedes aegypti*: target site insensitivity, penetration, and metabolism. PLoS neglected tropical diseases, vol.8(6): e2948.

KASAI S., CAPUTO B., TSUNODA T., CUONG T.C., MAEKAWA Y., LAM-PHUA S.G., PICHLER V., ITOKAWA K., MUROTA K., KOMAGATA O., YOSHIDA C., CHUNG H.H., BELLINI R., TSUDA Y., TENG H.J., FILHO J.L.L., ALVES L.C., NG L.C., MINAKAWA N., YEN N.T., PHONG T.V., SAWABE K. et TOMITA T. (2019). First detection of a Vssc allele V1016G conferring a high level of insecticide resistance in *Aedes albopictus* collected from Europe (Italy) and Asia (Vietnam), 2016: a new emerging threat to controlling arboviral diseases. Euro Surveillance, vol.24(5) : 1700847.

KULMA K., SADDLER A. et KOELLA J.C. (2013). Effects of Age and Larval Nutrition on Phenotypic Expression of Insecticide-Resistance in *Anopheles* Mosquitoes. PLoS ONE, vol.8(3) : e58322.

KUSHWAH R.B.S., KAUR T., DYKES C.L., RAVI KUMAR H., KAPOOR N., SINGH O.P. (2020). A new knockdown resistance (kdr) mutation, F1534L, in the voltage-gated sodium channel of *Aedes aegypti*, co-occurring with F1534C, S989P and V1016G. Parasites & Vectors. vol.13(1) : 327.

LABBE P., LENORMAND T. et RAYMOND M. (2005). On the worldwide spread of an insecticide resistance gene: a role for local selection: Resistance gene: history, drift or selection. *Journal of Evolutionary Biology*, vol.18(6) : p.1471-1484.

Labbé, Pierrick, Jean-Philippe David, Haoues Alout, Pascal Milesi, Luc Djogbénou, Nicole Pasteur et Mylène Weill,. 2017. « Evolution of Resistance to Insecticide in Disease Vectors ». Dans *Genetics and Evolution of Infectious Diseases* édité par Michel Tibayrenc (Academic Press, Elsevier), 313-339.

LATREILLE A. C., MILESI P., MAGALON H., MAVINGUI P., et ATYAME C. M. (2019). High genetic diversity but no geographical structure of *Aedes albopictus* populations in Réunion Island. *Parasites & Vectors*, vol.12 : 597.

LAVIALLE-DEFAIX C., APAIRE-MARCHAIS V., LEGROS C., PENNETIER C., MOHAMED A., LICZNAR P., CORBEL V. et LAPIED B. (2011). *Anopheles gambiae* mosquito isolated neurons: a new biological model for optimizing insecticide/repellent efficacy. *Journal of Neuroscience Methods*, vol.200(1) : p.68-73.

LIEW M., PRYOR R., PALAIS R., MEADOWS C., ERAI M., LYON E., WITTEWER C. (2004). Genotyping of single-nucleotide polymorphisms by High-Resolution Melting of small amplicons. *Clinical Chemistry*, vol.50 : p.1156–1164.

LINES J. D., et NASSOR N. S. (1991). DDT resistance in *Anopheles gambiae* declines with mosquito age. *Medical and Veterinary Entomology*, vol.5 (3) : p.261-265.

LIU N.N. (2015). Insecticide resistance in mosquitoes: impact, mechanisms, and research directions. *Annual Review of Entomology*, vol.60: p.537-559.

LUCAS E.R., MILES A., HARDING N.J., CLARKSON C.S., LAWNICZAK M.K.N., KWIATKOWSKI D.P., WEETMAN D., DONNELLY M.J. et THE ANOPHELES GAMBIAE 1000 GENOMES CONSORTIUM. (2019). Whole-genome sequencing reveals high complexity of copy number variation at insecticide resistance loci in malaria mosquitoes. *Genome Research*, Vol.29(8): p.1250-1261.

LUMJUAN N., RAJATILEKA S., CHANGSOM D., WICHEER J., LEELAPAT P., PRAPANTHADARA L.A., SOMBOON P., LYCETT G. et RANSON H. (2011). The role of the *Aedes aegypti* epsilon glutathione transferases in conferring resistance to DDT and pyrethroid insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, vol.41(3) : p.203-209.

Malaria Research and Reference Reagent Resource Centre (MR4). 2015. *Methods in Anopheles research manual*. BEI Resources, 408 p. <https://www.beiresources.org/Publications/MethodsInAnophelesResearch.aspx>

MAILLARD O., LERNOUT T., OLIVIER S., ACHIRAFI A., AUBERT L., LEPERE J.F., THIRIA J., PAGES F. et FILLEUL L. (2015). Major decrease in malaria transmission on Mayotte Island. *Malaria Journal*, vol.14 : 323.

MAILLARD O., PAGES F., ACHIRAFI A., LEPERE J.F., RABARISON P. et FILLEUL L. (2017). Surveillance du paludisme à Mayotte entre 2007 et 2016. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, n°(24-25), p.512-520.

MANNI M, GUGLIELMINO C.R., SCOLARI F., VEGA-RUA A., FAILLOUX A.B., SOMBOON P., LISA A., SAVINI G., BONIZZONI M., GOMULSKI L.M., MALACRIDA A.R., GASPERI G. (2017). Genetic evidence for a worldwide chaotic dispersion pattern of the arbovirus vector, *Aedes albopictus*. PLOS Neglected Tropical Diseases, vol.11(1) : e0005332.

MARCOMBE S., FUSTEC B., CATTEL J., CHONEPHETSARATH S., THAMMAVONG P., PHOMMAVANH N., DAVID J.P., CORBEL V., SUTHERLAND I.W., HERTZ J.C., BREY P.T. (2019). Distribution of insecticide resistance and mechanisms involved in the arbovirus vector *Aedes aegypti* in Laos and implication for vector control. PLoS Neglected Tropical Diseases, vol.13(12) : e0007852.

MARCOMBE S., MATHIEU R.B., POCQUET N., RIAZ M.A., POUPARDIN R., SELIOR S., DARRIET F., REYNAUD S., YEBAKIMA A., CORBEL V., DAVID J.P. et CHANDRE F. (2012). Insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* from Martinique: distribution, mechanisms and relations with environmental factors, PLoS One, vol.7(2): e30989.

MARCOMBE S., PARIS M., PAUPY C., BRINGUIER C., YEBAKIMA A., CHANDRE F., DAVID J.P., CORBEL V. et DESPRES L. (2013). Insecticide-driven patterns of genetic variation in the dengue vector *Aedes aegypti* in Martinique Island. PLoS One, vol.8(10): e77857.

MARCOMBE S., POUPARDIN R., DARRIET F., REYNAUD S., BONNET J., STRODE C., BRENGUES C., YEBAKIMA A., RANSON H., CORBEL V. et DAVID J.P. (2009). Exploring the molecular basis of insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti*: a case study in Martinique Island (French West Indies). BMC Genomics, vol.10:494.

MARTINEZ-TORRES D., CHANDRE F., WILLIAMSON M.S., DARRIET F., BERGÉ J.B., DEVONSHIRE A.L., GUILLET P., PASTEUR N. et PAURON D. (1998). Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. Insect Molecular Biology, vol.7(2) : p.179–184.

MAYNARD A.J., AMBROSE L., COOPER R.D., CHOW W.K., DAVIS J.B., MUZARI M.O., VAN DEN HURK A.F., HALL-MENDELIN S., HASTY J.M., BURKOT T.R., BANGS M.J., REIMER L.J., BUTAFA C., LOBO N.F., SYAFRUDDIN D., MAUNG MAUNG Y.N., AHMAD R. et BEEBE N.W. (2017). Tiger on the prowl: Invasion history and spatio-temporal genetic structure of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* (Skuse 1894) in the Indo-Pacific. PLOS Neglected Tropical Diseases, vol.11(4) : e0005546.

MILESI P., ASSOGBA B.S., ATYAME C.M., POCQUET N., BERTHOMIEU A., UNAL S., MAKOUNDU P., WEILL M., et LABBÉ P. (2018). The evolutionary fate of heterogeneous gene duplications: A precarious overdominant equilibrium between environment, sublethality and complementation. Molecular Ecology, vol.27 : p.493–507.

MILESI P., LENORMAND T., LAGNEAU C., WEILL M. et LABBÉ P. (2016). Relating fitness to long-term environmental variations *in natura*. Molecular Ecology, vol.25(21) : 5483-5499.

MITTAL P.K. (2003). Biolarvicides in vector control: challenges and prospects. Journal of vector borne diseases, vol.40(1-2) : p.20-32.

MOIROUX N., GOMEZ M.B., PENNETIER C., ELANGA E., DJENONTIN A., CHANDRE F., DJEGBE I., GUISS H. et CORBEL V. (2012). Changes in *Anopheles funestus* biting behavior following universal coverage of long-lasting insecticidal nets in Benin. The Journal of Infectious Diseases, vol.206(10) : p.1622-1629.

MOUCHET J. et LAIGRET J. (1967). La résistance aux insecticides chez *Aedes aegypti* à Tahiti. Médecine Tropicale : revue du corps de santé colonial, vol.27(6): p.685-692.

MOUCHET J., BARATHE J. et SANNIER C. (1972). La résistance aux insecticides des *Aedes* dans les régions d'Asie du sud-est et du Pacifique. Cahiers ORSTOM, Série Entomologie médicale et Parasitologie, vol.10(4) : p.301-308.

MOUHAMADOU C.S., DE SOUZA S.S., FODJO B.K., ZOH M.G., BLI N.K. et KOUDOU B.G. (2019). Evidence of insecticide resistance selection in wild *Anopheles coluzzii* mosquitoes due to agricultural pesticide use. Infectious Diseases of Poverty, vol.8 (1) :64.

MOUSSON L., DAUGA C., GARRIGUES T., SCHAFFNER F., VAZEILLE M. et FAILLOUX A.B. (2005). Phylogeography of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) and *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) based on mitochondrial DNA variations. Genetical Research, vol.86(1) : p.1-11.

MOYES C.L., VONTAS J., MARTINS A.J., NG L.C., KOOU S.Y., DUSFOUR I., RAGHAVENDRA K., PINTO J., CORBEL V., DAVID J.P. et WEETMAN D. (2017). Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. PLoS Neglected Tropical Diseases, vol.11(7): e0005625.

NIELSEN-LEROUX C., PASQUIER F., CHARLES J.F., SINÈGRE G., GAVEN B. et PASTEUR N. (1997). Resistance to *Bacillus sphaericus* involves different mechanisms in *Culex pipiens* (Diptera:Culicidae) larvae. Journal of Medical Entomology, vol.34(3) : p.321-327.

NIELSEN-LEROUX C., PASTEUR N., PRÈTRE J., CHARLES J.F., SHEIKH H.B. et CHEVILLON C. (2002). High resistance to *Bacillus sphaericus* binary toxin in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): the complex situation of west Mediterranean countries. Journal of Medical Entomology, vol.39(5): p.729-735.

NKYA T.E., AKHOUAYRI I., KISINZA W. et DAVID J.P. (2013). Impact of environment on mosquito response to pyrethroid insecticides: Facts, evidences and prospects. Insect Biochemistry and Molecular Biology, vol.43(4) : p.407-416.

OLIVA C.F., BENEDICT M.Q., COLLINS C.M., BALDET T., BELLINI R., BOSSIN H., BOUYER J., CORBEL V., FACCHINELLI L., FOUQUE F., GEIER M., MICHAELAKIS A., ROIZ D., SIMARD F., TUR C., GOUAGNA L.C. (2021). Sterile Insect Technique (SIT) against *Aedes* Species Mosquitoes: A Roadmap and Good Practice Framework for Designing, Implementing and Evaluating Pilot Field Trials. Insects, vol.12(3) :191.

OLIVER S.V. et BROOKE B.D. (2013). The effect of larval nutritional deprivation on the life history and DDT resistance phenotype in laboratory strains of the malaria vector *Anopheles arabiensis*. Malaria Journal, vol.12(1) :44.

ORJUELA L.I., ÁLVAREZ-DIAZ D.A., MORALES J.A., GRISALES N., AHUMADA M.L., VENEGAS H.J., QUIÑONES M.L. et YASNOT M.F. (2019). Absence of knockdown mutations in pyrethroid and DDT resistant populations of the main malaria vectors in Colombia. Malaria Journal, vol18(1):384.

PARIS M., MARCOMBE S., COISSAC E., CORBEL V., DAVID J.P. et DESPRES L. (2013). Investigating the genetics of *Bti* resistance using m RNA tag sequencing: application on laboratory strains and natural populations of the dengue vector *Aedes aegypti*. Evolutionary Applications, vol.6(7) : p.1012-1027.

PARK S.H., JUN H., AHN S.K., LEE J., YU S.L., LEE S.K., KANG J.M., KIM H., LEE H.I., HONG S.J., NA B.K., BAHK Y.Y. et KIM T.S. (2020). Monitoring Insecticide Resistance and Target Site Mutations of L1014 Kdr And G119 Ace Alleles in Five Mosquito Populations in Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, vol.58(5): p.543-550.

PAUL A., HARRINGTON L.C., ZHANG L. et SCOTT J.G. (2005). Insecticide resistance in *Culex pipiens* from New York. *Journal of the American Mosquito Control Association*, vol.21(3) : p.305-309.

Paupy, Christophe. 2000. « *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) de l'île de La Réunion : Différenciation génétique, Compétence vectorielle pour le virus de sérotype 2 de la dengue et Sensibilité aux insecticides ». Mémoire de DEA.

PICHLER V., MANCINI E., MICOCCI M., CALZETTA M., ARNOLDI D., RIZZOLI A., LENCIONI V., PAOLI F., BELLINI R., VERONESI R., MARTINI S., DRAGO A., DE LIBERATO C., ERMENEGILDI A., PINTO J., DELLA TORRE A. et CAPUTO B. (2021). A Novel Allele Specific Polymerase Chain Reaction (AS-PCR) Assay to Detect the V1016G Knockdown Resistance Mutation Confirms Its Widespread Presence in *Aedes albopictus* Populations from Italy. *Insects*, vol.12(1) :79.

PICHLER V., MALANDRUCCOLO C., SERINI P., BELLINI R., SEVERINI F., TOMA L., DI LUCA M., MONTARSI F., BALLARDINI M., MANICA M., PETRARCA V., VONTAS J., KASAI S., DELLA TORRE A. et CAPUTO B. (2019). Phenotypic and genotypic pyrethroid resistance of *Aedes albopictus*, with focus on the 2017 chikungunya outbreak in Italy. *Pest Management Science*, vol.75(10) : p.2642-2651.

POCQUET N., MILESI P., MAKOUNDOU P., UNAL S., ZUMBO B., ATYAME C., DARRIET F., DEHECQ J.S., THIRIA J., BHEECARRY A., IYALOO D.P., WEILL M., CHANDRE F. et LABBÉ P. (2013). Multiple insecticide resistances in the disease vector *Culex p. quinquefasciatus* from Western Indian Ocean. *PLoS One*, vol.8(10) : e77855.

POCQUET N., DARRIET F., ZUMBO B., MILESI P., THIRIA J., BERNARD V., TOTY C., LABBÉ P. et CHANDRE F. (2014). Insecticide resistance in disease vectors from Mayotte: an opportunity for integrated vector management. *Parasites & Vectors*, vol.7 : 299.

POUPARDIN R., REYNAUD S., STRODE C., RANSON H., VONTAS J., DAVID J.P. (2008). Cross-induction of detoxification genes by environmental xenobiotics and insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*: Impact on larval tolerance to chemical insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, vol.38(5) : p.540-551.

POUPARDIN R., RIAZ M.A., JONES C. M., CHANDOR-PROUST A., REYNAUD S. et DAVID J.P. (2012). Do pollutants affect insecticide-driven gene selection in mosquitoes? Experimental evidence from transcriptomics. *Aquatic Toxicology*, vol.114-115 : p.49–57.

RAJATILEKA S., BURHANI J. et RANSON H. (2011). Mosquito age and susceptibility to insecticides. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol.105(5): p.247-253.

RANSON H., JENSEN B., VULULE J.M., WANG X., HEMINGWAY J. et COLLINS F.H. (2000). Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and pyrethroids. *Insect Molecular Biology*, vol.9(5) : p.491-497.



RAYMOND M., HECKEL D.G. et SCOTT J.G. (1989). Interactions between pesticide genes: model and experiment. *Genetics*, vol.123(3) : p.543-551.

REDDY M.R., OVERGAARD H.J., ABAGA S., REDDY V.P., CACCONE A., KISZEWSKI A.E. et SLOTMAN M.A. (2011). Outdoor host seeking behaviour of *Anopheles gambiae* mosquitoes following initiation of malaria vector control on Bioko Island, Equatorial Guinea. *Malaria Journal* vol.10 :184.

REID M.C. et MCKENZIE F.E. (2016). The contribution of agricultural insecticide use to increasing insecticide resistance in African malaria vectors. *Malaria Journal*, vol.15 :107.

RIAZ M.A., POUPARDIN R., REYNAUD S., STRODE C., RANSON H., DAVID J.P. (2009). Impact of glyphosate and benzo a pyrene on the tolerance of mosquito larvae to chemical insecticides. Role of detoxification genes in response to xenobiotics. *Aquatic Toxicology*, vol.93(1) : p.61-69.

ROBERT V. et LAGNEAU C. (2009). Mission de conseil et d'appui à la mise en place de la lutte intégrée contre les vecteurs à Mayotte. IRD, EID Méditerranée, Montpellier, France, 53 p.

ROMÃO T.P., DE MELO CHALEGRE K.D., KEY S., JUNQUEIRA AYRES C.F., FONTES DE OLIVEIRA C.M., DE-MELO-NETO O.P. et SILVA-FILHA M.H. (2006). A second independent resistance mechanism to *Bacillus sphaericus* binary toxin targets its  $\alpha$ -glucosidase receptor in *Culex quinquefasciatus*. *The FEBS Journal*, vol.273 : p.1556–1568.

SAAVEDRA-RODRIGUEZ K., URDANETA-MARQUEZ L., RAJATILEKA S., MOULTON M., FLORES A.E., FERNANDEZ-SALAS I., BISSET J., RODRIGUEZ M., MCCALL P.J., DONNELLY M.J., RANSON H., HEMINGWAY J., BLACK W.C. 4th. (2007) A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. *Insect Molecular Biology*, vol16(6) : p.785-798.

SAUTET J. et ALDIGHERI R. (1954). Antimalarial campaign in Guadeloupe. *Bulletin of the World Health Organization*, vol.11(4-5) : p.557-577.

SCOTT J.G., YOSHIMIZU M.H. et KASAI S. (2015). Pyrethroid resistance in *Culex pipiens* mosquitoes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol.120 : p.68-76.

SILVA A.P., SANTOS J.M. et MARTINS A.J. (2014). Mutations in the voltage-gated sodium channel gene of anophelines and their association with resistance to pyrethroids - a review. *Parasites & Vectors*, vol.7 :450.

SILVER K., DONG K. et ZHOROV B.S. (2017). Molecular mechanism of action and selectivity of sodium channel blocker insecticides. *Current Medicinal Chemistry*, vol.24(27) : p.2912-2924.

SMITH L.B., KASAI S. et SCOTT J.G. (2016). Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol.133 : p.1-12.

SOUGOUFARA S., DIÉDHIYOU S.M., DOUCOURÉ S., DIAGNE N., SEMBENE P.M., HARRY M., TRAPE J.F., SOKHNA C. et NDIATH M.O. (2014). Biting by *Anopheles funestus* in broad daylight after use of long-lasting insecticidal nets: a new challenge to malaria elimination. *Malaria Journal*, vol.13 :125.

STEVENSON B.J., BIBBY J., PIGNATELLI P., MUANGNOICHAROEN S., O'NEILL P.M., LIAN L.Y., MÜLLER P., NIKOU D., STEVEN A., HEMINGWAY J., SUTCLIFFE M.J. et PAINE M.J. (2011). Cytochrome P450 6M2 from the malaria vector *Anopheles gambiae* metabolizes pyrethroids: Sequential metabolism of deltamethrin revealed. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, vol.41(7) : p.492-502.

STEVENSON B.J., PIGNATELLI P., NIKOU D. et PAINE M.J. (2012). Pinpointing P450s associated with pyrethroid metabolism in the dengue vector, *Aedes aegypti*: developing new tools to combat insecticide resistance. *PLoS Neglected Tropical diseases*, vol.6(3) : e1595.

SUBRA R., HÉBRARD G. et RABENIRAINY L. (1973). Essai de lutte contre *Anopheles gambiae* s.l. et *Culex pipiens fatigans* Wiedemann 1828, par les larvicides dans une zone d'endémie filarienne, (Mayotte, Archipel des Comores). *Cahiers ORSTOM, Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, vol.11(4) : p.225-231.

SUMARNROTE A., OVERGAARD H.J., MARASRI N., FUSTEC B., THANISPONG K., CHAREONVIRIYAPHAP T. et CORBEL V. (2017). Status of insecticide resistance in *Anopheles* mosquitoes in Ubon Ratchathani province, Northeastern Thailand. *Malaria Journal*, vol.16(1) :299.

SUMARNROTE A., OVERGAARD H.J., CORBEL V., THANISPONG K., CHAREONVIRIYAPHAP T. et MANGUIN S. (2020). Species diversity and insecticide resistance within the *Anopheles hyrcanus* group in Ubon Ratchathani Province, Thailand. *Parasites & Vectors*, vol.13(1) :525.

SUWANCHAICHINDA C. et BRATTSTEN L.B. (2002). Induction of microsomal cytochrome P450s by tire-leachate compounds, habitat components of *Aedes albopictus* mosquito larvae. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, vol.49(2) : p.71-79.

TAN W.L., WANG Z.M., LI C.X., CHU H.L., XU Y., DONG Y.D., WANG Z.C., CHEN D.Y., LIU H., LIU D.P., LIU N., SUN J. et ZHAO T. (2012). First report on co-occurrence knockdown resistance mutations and susceptibility to beta-cypermethrin in *Anopheles sinensis* from Jiangsu Province. China. *PLoS ONE*, vol.7(1) : e29242.

TANTELY M.L., TORTOSA P., ALOUT H., BERTICAT C., BERTHOMIEU A., RUTEE A., DEHECQ J.S., MAKOUNDOU P., LABBÉ P. et PASTEUR N. (2010). Insecticide resistance in *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Aedes albopictus* mosquitoes from La Réunion island. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, vol.40 : p.317–324.

VERHAEGHEN K., BORTEL W.V., ROELANTS P., BACKELJAU T. et COOSEMANS M.. (2006). Detection of the East and West African kdr mutation in *Anopheles gambiae* and *Anopheles arabiensis* from Uganda using a new assay based on FRET/Melt Curve analysis. *Malaria Journal*, vol.5 :16.

VEZENEGHO S., CARINCI R., ISSALY J., NGUYEN C., GABORIT P., FERRARO L., LACOUR G., MOSNIER E., POMMIER DE SANTI V., EPELBOIN Y., GIROD R., BRIOLANT S. et DUSFOUR I. (2020). Variation in pyrethroid resistance phenotypes in *Anopheles darlingi* from residual malaria transmission area: warning on suspected resistance built-up in French Guiana. Preprint. *Zoology*. <https://doi.org/10.1101/2020.12.21.423491>.

VILLANUEVA-SEGURA K., PONCE-GARCIA G., LOPEZ-MONROY B., MORA-JASSO E., PERALES L., GONZALEZ-SANTILLAN F.J., ONTIVEROS-ZAPATA K., DAVILA-BARBOZA J.A. et FLORES A.E. (2020). Multiplex PCR for simultaneous genotyping of kdr mutations V410L, V1016I and F1534C in *Aedes aegypti* (L.). *Parasites & Vectors*, vol.13(1) :325.

VONTAS J. et MAVRIDIS K. (2019) Vector population monitoring tools for insecticide resistance management: Myth or fact? *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol.161 : p.54-60.

WEILL M., BERTICAT C., RAYMOND M. et CHEVILLON C. (2020). Quantitative polymerase chain reaction to estimate the number of amplified esterase genes in insecticide-resistant mosquitoes. 2000. *Analytical Biochemistry*, vol.285(2) : p.267-270.

WEILL M., BERTHOMIEU A., BERTICAT C., LUTFALLA G., NEGRE V., PASTEUR N., PHILIPS A., LEONETTI J.P., FORT P. et RAYMOND M. (2004). Insecticide resistance: a silent base prediction. *Current Biology*, vol.14(14) : p.R552–R553.

WEILL M., MALCOLM C., CHANDRE F., MOGENSEN K., BERTHOMIEU A., MARQUINE M. et RAYMOND M. (2004). The unique mutation in *ace-1* giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect Molecular Biology*, vol.13(1) : p.1-7.

WIRTH M.C., DELECLUSE A. et WALTON W.E. (2004). Laboratory selection for resistance to *Bacillus thuringiensis subsp. jegathesan* or a component toxin, Cry11B, in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, vol.41(3) : p.435-441.

WIRTH M.C., PARK H.W., WALTON W.E. et FEDERICI B.A. (2005). Cyt1A of *Bacillus thuringiensis* delays evolution of resistance to Cry11A in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Applied and Environmental Microbiology*, vol.71(1) : p.185-189.

WIRTH M.C. (2010). Mosquito Resistance to Bacterial Larvicidal Toxins. *The Open Toxinology Journal*, vol.3 : p.126-140.

WONDJI C.S., DABIRE R.K., TUKUR Z., IRVING H., DJOUAKA R. et MORGAN J.C. (2011). Identification and distribution of a GABA receptor mutation conferring dieldrin resistance in the malaria vector *Anopheles funestus* in Africa. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, vol.41(7) : p.484-491.

World Health Organization. Control of Communicable Diseases. (1998). Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces : report of the WHO informal consultation, Geneva, 28-30 September 1998. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/64879>

World Health Organization. (1998). Techniques to detect insecticide resistance mechanisms (field and laboratory manual). World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/83780>

World Health Organization. (2003). Space spray application of insecticides for vector and public health pest control: A practitioner's guide. World Health Organization. [https://www.who.int/whopes/resources/who\\_cds\\_whopes\\_gcdpp\\_2003.5/en/](https://www.who.int/whopes/resources/who_cds_whopes_gcdpp_2003.5/en/)

World Health Organization. (2005). Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69101>

World Health Organization. (2006). Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69296>



World Health Organization. (2009). Guidelines for efficacy testing of insecticides for indoor and outdoor, ground-applied space spray applications. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70070>

World Health Organization. Global Malaria Programme. (2012). Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44846>

World Health Organization. (2013). Malaria entomology and vector control. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/85890>

World Health Organization. (2016). WHO Pesticide Evaluation Scheme Discriminating concentrations of insecticides for adult mosquitoes. World Health Organization. [https://www.who.int/neglected\\_diseases/vector\\_ecology/resources/en/Diagnostic\\_concentrations.pdf?ua=1](https://www.who.int/neglected_diseases/vector_ecology/resources/en/Diagnostic_concentrations.pdf?ua=1)

World Health Organization. (2016). Monitoring and managing insecticide resistance in *Aedes* mosquito populations: interim guidance for entomologists. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204588>

World Health Organization. (2016). Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes, 2nd ed. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/250677>

World Health Organization. (2017). Framework for a national plan for monitoring and management of insecticide resistance in malaria vectors. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/254916>. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

World Health Organization. (2020). List of WHO Prequalified Vector Control Products. World Health Organization. [https://www.who.int/pq-vector-control/prequalified-lists/VCP\\_PQ-List\\_26August2020.pdf?ua=1](https://www.who.int/pq-vector-control/prequalified-lists/VCP_PQ-List_26August2020.pdf?ua=1)

World Health Organization. (2020). Report of a WHO consultation to review results of the multi-centre study on determination of insecticide discriminating concentrations for monitoring of resistance in mosquitoes, 15-18 December 2020 (virtually organised by WHO, Geneva, Switzerland).

WULIANDARI J.R., LEE S.F., WHITE V.L., TANTOWIJOYO W., HOFFMANN A.A. et ENDERSBY-HARSHMAN N.M. (2015). Association between Three Mutations, F1565C, V1023G and S996P, in the Voltage-Sensitive Sodium Channel Gene and Knockdown Resistance in *Aedes aegypti* from Yogyakarta, Indonesia. *Insects*, vol.6(3) : p.658-685.

YANOLA J., SOMBOON P., WALTON C., NACHAIWIENG W., SOMWANG P. et PRAPANTHADARA L.A. (2011). High-throughput assays for detection of the F1534C mutation in the voltage-gated sodium channel gene in permethrin-resistant *Aedes aegypti* and the distribution of this mutation throughout Thailand. *Tropical Medicine and International Health*, vol.16(4) : p.501–509.

YEBAKIMA A. (1991). Recherche sur *Aedes aegypti* et *Culex pipiens* en Martinique : écologie larvaire, résistance aux insecticides, application à la Lutte. Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences, Université de Montpellier 2, 210 p.

YEBAKIMA A., MARQUINE M., ROSINE J., YP-TCHA M.M. et PASTEUR N. (2004). Evolution of Resistance under Insecticide Selection Pressure in *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera, Culicidae) from Martinique. *Journal of Medical Entomology*, vol.41(4) : p.718-725.

YUNTA C., GRISALES N., NÁSZ S., HEMMINGS K., PIGNATELLI P., VOICE M., RANSON H. et PAINE M.J. (2016). Pyriproxyfen is metabolized by P450s associated with pyrethroid resistance in *An. gambiae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, vol.78 : p.50-57.

ZHU C.Y., ZHAO C.C., WANG Y.G., MA D.L., SONG X.P., WANG J. et MENG F.X.. (2019). Establishment of an innovative and sustainable PCR technique for 1534 locus mutation of the knockdown resistance (kdr) gene in the dengue vector *Aedes albopictus*. *Parasites & Vectors*, vol.12(1) :603.

---

# ANNEXES

---

## Annexe 1 : Lettre de saisine

2020-SA-0029



COURRIER ARRIVE

20 FEV. 2020

DIRECTION GENERALE

MINISTÈRE DE LA TRANSITION  
ÉCOLOGIQUE ET SOLIDAIREMINISTÈRE DES SOLIDARITES  
ET DE LA SANTÉ

Paris le 18 FEV. 2020

Le Directeur général  
de la prévention des risques

Le Directeur général de la santé

à

Monsieur le Directeur général de l'Agence  
Nationale de Sécurité Sanitaire de  
l'Alimentation, de l'Environnement et du  
Travail  
27-31 Avenue du Général Leclerc  
94701 Maisons-Alfort**Objet : Saisine du GT Vecteurs de l'ANSES**

Comme prévu au programme de travail de l'ANSES, nous vous sollicitons, pour proposer des lignes directrices pour la surveillance de la résistance des moustiques vecteurs (*Aedes*, *Anophèles* et *Culex*) aux insecticides en tenant compte de la nécessité de mieux identifier des possibles effets synergiques sur l'augmentation des résistances. Dans les territoires où aucune résistance aux insecticides n'est connue, le suivi de la résistance porte sur les biocides utilisables en lutte antivectorielle en France. Sur les territoires où des résistances sont connues (notamment les Territoires Français d'Amérique ou TFA), cette surveillance porte également sur les anciennes molécules utilisées (par exemples le Malathion et le Téméphos) et sur les produits biocides identifiés par l'ANSES, ne disposant pas d'autorisation en UE, mais utilisables en lutte antivectorielle dans le cadre d'une dérogation qui serait mise en place pour faire face à une épidémie (étape 1).

Dans un second temps, nous vous demandons de proposer pour chaque territoire (étape 2) :

- une stratégie d'utilisation des produits biocides utilisables en accord avec la réglementation européenne 528/2012 sur les produits biocides en inter-épidémie ;
- une stratégie d'utilisation des produits biocides existants en épidémie, notamment dans les territoires où des résistances sont avérées chez les espèces impliquées dans l'épisode épidémique. Les résultats pourront s'appuyer sur la saisine n°2017-SA-0122 relative à l'évaluation d'insecticides anti-moustiques adulticides dont l'utilisation pourrait être autorisée par voie dérogatoire actualisée et sur l'état des lieux des substances utilisées par les pays voisins (hors UE). Enfin, il sera mis en évidence les freins qui limitent le nombre de produits biocides autorisés en lutte antivectorielle en France.

Ces lignes directrices tiendront compte notamment des différents mécanismes connus de résistance des moustiques et de la nécessité d'utiliser des produits biocides contenant des substances synergistes.

14, avenue Duquesne – 75350 Paris 07 SP – Tél. 01 40 56 60 00

Pour mener à bien ce travail vous pourrez vous appuyer sur le suivi de la résistance des moustiques *Aedes albopictus* en métropole dans le cadre de la convention DGS/EID-méditerranée, et sur le travail de suivi de cette résistance réalisé dans les territoires ultra-marins.

Nous vous saurions gré de bien vouloir nous rendre un rapport répondant à l'étape 1 d'ici 18 mois. Votre rapport étant nécessaire pour la rédaction de l'arrêté ministériel de suivi de la résistance aux insecticides prévu par l'article R. 3114-14 du Code de la santé publique, nous avons décidé de sursoir à la publication de cet arrêté dans l'attente de celui-ci. L'étape 2 fera l'objet d'un second rapport 12 mois après le rendu du rapport de l'étape 1.

Nous vous prions d'agréer, Monsieur le directeur général, l'expression de notre considération distinguée.

Le directeur général de la santé

Jérôme SALOMON

Le directeur général de la prévention  
des risques

Cédric BOURILLET

Copie : Monsieur Bruno FERREIRA - Directeur général de l'Alimentation  
Monsieur Yves STRUILLOU - Directeur général du travail

## Annexe 2 : Exemple de stratification du risque de résistance pour certains territoires français

Tableau 31. Position de certains territoires (Guadeloupe, Saint-Martin, Guyane, La Réunion, Martinique, Mayotte et Polynésie Française) au regard de la résistance de *Culex quinquefasciatus* à la deltaméthrine

		Proportion de sites à l'échelle du territoire		
		Sites isolés (< 10 %)	Sites multiples (10-50 %)	Majorité des sites (> 50 %)
Niveau de résistance à l'échelle du site	1	RiR 0 : Polynésie Française	RiR 1 : La Réunion	RiR 1 : Mayotte
	2	RiR 1	RiR 2	RiR 2
	3	RiR 2	RiR 2	RiR 3 : Guadeloupe, Saint-Martin, Martinique, Guyane

Tableau 32. Position de certains territoires (Guadeloupe, Saint-Martin, Guyane, La Réunion, Mayotte, Nouvelle-Calédonie, Polynésie Française) au regard de la résistance d'*Aedes aegypti* à la deltaméthrine

		Proportion de sites à l'échelle du territoire		
		Sites isolés (< 10 %)	Sites multiples (10-50 %)	Majorité des sites (> 50 %)
Niveau de résistance à l'échelle du site	1	RiR 0 : Mayotte, Polynésie Française, La Réunion	RiR 1	RiR 1
	2	RiR 1	RiR 2	RiR 2 Martinique
	3	RiR 2 : Nouvelle-Calédonie	RiR 2	RiR 3 : Guadeloupe, Saint-Martin, Guyane

Tableau 33. Position de certains territoires (Hexagone et Corse, Mayotte et La Réunion) au regard de la résistance d'*Aedes albopictus* à la deltaméthrine

		Proportion de sites à l'échelle du territoire		
		Sites isolés (< 10 %)	Sites multiples (10-50 %)	Majorité des sites (> 50 %)
Niveau de résistance à l'échelle du site	1	RiR 0 : Hexagone et Corse, Mayotte	RiR 1	RiR 1 : La Réunion
	2	RiR 1	RiR 2	RiR 2
	3	RiR 2	RiR 2	RiR 3

Tableau 34. Position de certains territoires (Martinique, Guadeloupe, Mayotte et Polynésie Française) au regard de la résistance d'*Aedes aegypti* au téméphos

		Proportion de sites à l'échelle du territoire		
		Sites isolés (< 10 %)	Sites multiples (10-50 %)	Majorité des sites (> 50 %)
Niveau de résistance à l'échelle du site	1	RiR 0 : Mayotte, Polynésie Française	RiR 1	RiR 1
	2	RiR 1	RiR 2	RiR 2
	3	RiR 2 :	RiR 2	RiR 3 : Martinique, Guadeloupe

Tableau 35. Position de certains territoires (Guyane, Guadeloupe, Nouvelle-Calédonie et Polynésie Française) au regard de la résistance d'*Aedes aegypti* au malathion

		Proportion de sites à l'échelle du territoire		
		Sites isolés (< 10 %)	Sites multiples (10-50 %)	Majorité des sites (> 50 %)
Niveau de résistance à l'échelle du site	1	RiR 0 : Nouvelle-Calédonie, Polynésie Française	RiR 1	RiR 1 : Guadeloupe, Guyane
	2	RiR 1	RiR 2	RiR 2
	3	RiR 2	RiR 2	RiR 3

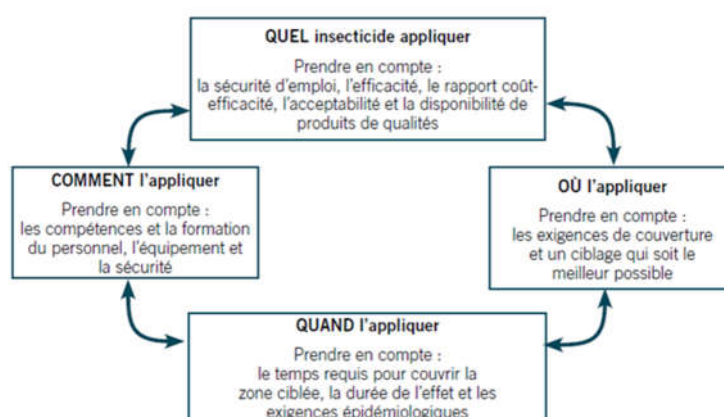
## Annexe 3 : Gestion des résistances aux insecticides

Tableau 36. Exemples de stratégies utilisables pour gérer les résistances aux insecticides (WHO, 2012)

- ▶ Alternance des insecticides/Programmes de rotations des insecticides. Sur la base d'au moins deux insecticides ayant des modes d'action différents, on les permute tous les ans afin de limiter les pressions de sélection dans le temps.
- ▶ Combinaison d'interventions. Deux interventions différentes, ou plus, de lutte antivectorielle combinée en un même lieu, basées sur des insecticides à modes d'action différents (par exemple des pyréthrinoides sur les moustiquaires et un insecticide d'une classe différente en aspersion intra ou extra domiciliaire), de sorte que le moustique aura une probabilité accrue d'entrer en contact avec le second insecticide s'il survit à l'exposition au premier.
- ▶ Pulvérisations en mosaïque. Un insecticide est utilisé dans une zone géographique et un autre insecticide est utilisé dans les zones adjacentes, les deux appartenant ayant des modes d'action différents.
- ▶ Mélanges. Deux substances actives insecticides ou plus ayant des modes d'action différents sont mélangés pour faire un seul produit (ou formulation unique), de façon à garantir que le moustique entre en contact avec les deux classes d'insecticides en même temps.

Tableau 37. Utilisation raisonnée des insecticides

- ▶ Quel insecticide (composé et formulation) à appliquer ? Il faut choisir le produit le plus approprié, en tenant compte de la sécurité d'emploi, de l'efficacité, de l'acceptabilité, du coût, de la disponibilité et de l'impact environnemental.
- ▶ Où appliquer l'insecticide ? Il s'agit là de déterminer les zones géographiques prioritaires et les endroits spécifiques pour avoir un ciblage optimal et limité et répondre aux exigences de couverture.
- ▶ Quand appliquer l'insecticide ? On se réfère ici au moment de l'année ou au moment de la journée, ainsi qu'aux exigences épidémiologiques et aux conditions climatiques et géographiques en tenant compte de la durée de l'effet et du temps requis pour couvrir la zone ciblée.
- ▶ Comment appliquer l'insecticide ? Quels sont les compétences et les équipements nécessaires pour garantir une application efficace en toute sécurité ?







## Notes

---





# anses

**CONNAÎTRE, ÉVALUER, PROTÉGER**

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
de l'alimentation, de l'environnement et du travail

14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex  
Tél : 01 42 76 40 40  
[www.anses.fr](http://www.anses.fr) — @Anses\_fr