

Surveillance de la résistance aux insecticides des moustiques vecteurs d'arbovirus

9 Mars 2022

Fabrice CHANDRE



Introduction

- ▶ Principaux arbovirus transmissibles à l'homme par les moustiques en France:
Dengue, Chikungunya, Zika, West Nile, Fièvre Vallée du Rift, Fièvre jaune



IRD/N. Rahola

Aedes aegypti

Martinique, Guadeloupe, St Martin, Guyane, Nouvelle Calédonie, Polynésie fr., Mayotte, (La Réunion)



IRD/N. Rahola

Aedes albopictus

La Réunion, Mayotte France métropolitaine



ILM-J. MARIE

Aedes polynesiensis

Polynésie fr.



IRD/N. Rahola

Culex p. pipiens (z. tempérée)
Culex p. quinquefasciatus (z. tropicale)

Tous territoires



Introduction

▶ Lutte antivectorielle

- ▶ Lutte physique: environnement, habitat, élimination des gîtes
- ▶ Lutte insecticide: chimiques, bactériens
- ▶ Lutte biologique: prédateurs, entomopathogènes
- ▶ Lutte génétique: TIS, *Wolbachia*, MGM

▶ Lutte insecticide contre les moustiques



Larvicide



Traitement spatial



Aspersion intra-domiciliaire



Moustiquaires imprégnées

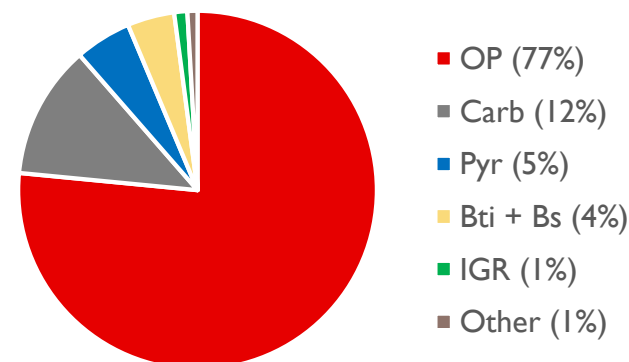


Insecticides en lutte antivectorielle

▶ Principales familles d'insecticides utilisées en LAV

- ▶ Pyréthrinoïdes (et DDT Organochloré)
 - ▶ Inhibiteurs du Canal Sodium Voltage dépendant
 - ▶ Action rapide (knockdown), effet irritant, adulticides
- ▶ Organophosphorés et Carbamates
 - ▶ Inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, adult-/larvicides
- ▶ Régulateurs de croissance
 - ▶ Analogues hormonaux, perturbation du développement, larvicides
- ▶ Insecticides d'origine bactérienne (*Bti*, *Bs*)
 - ▶ Toxique/ingestion, épithélium intestinal, larvicides

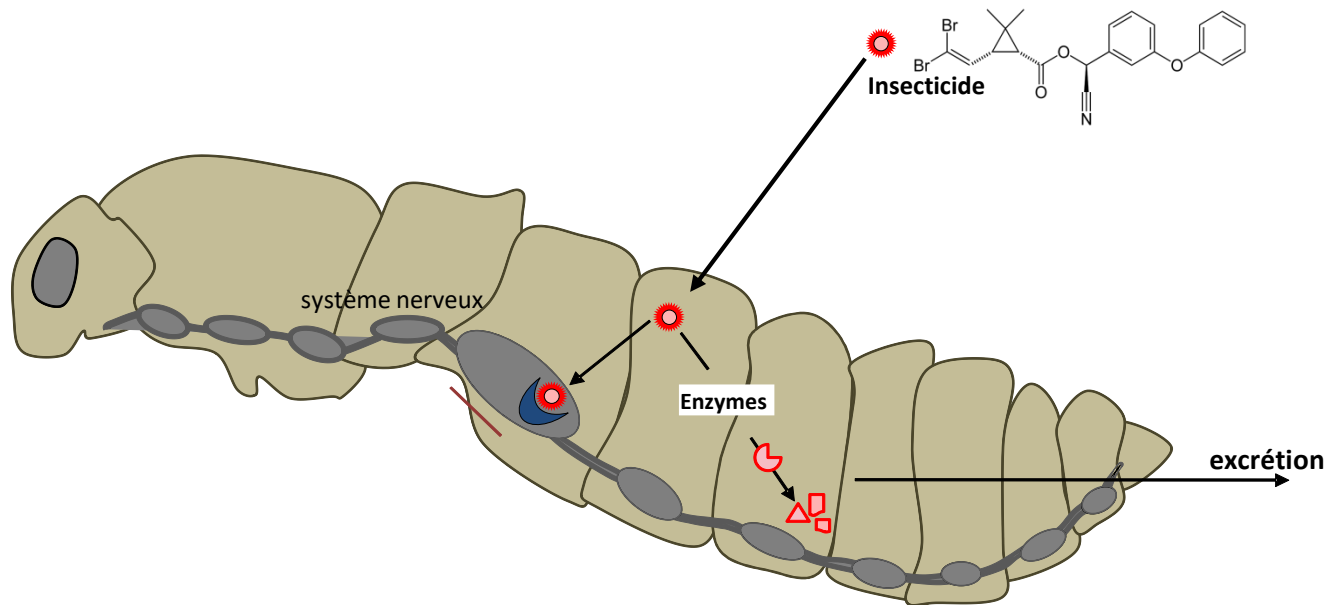
94% agissent sur 2 cibles !



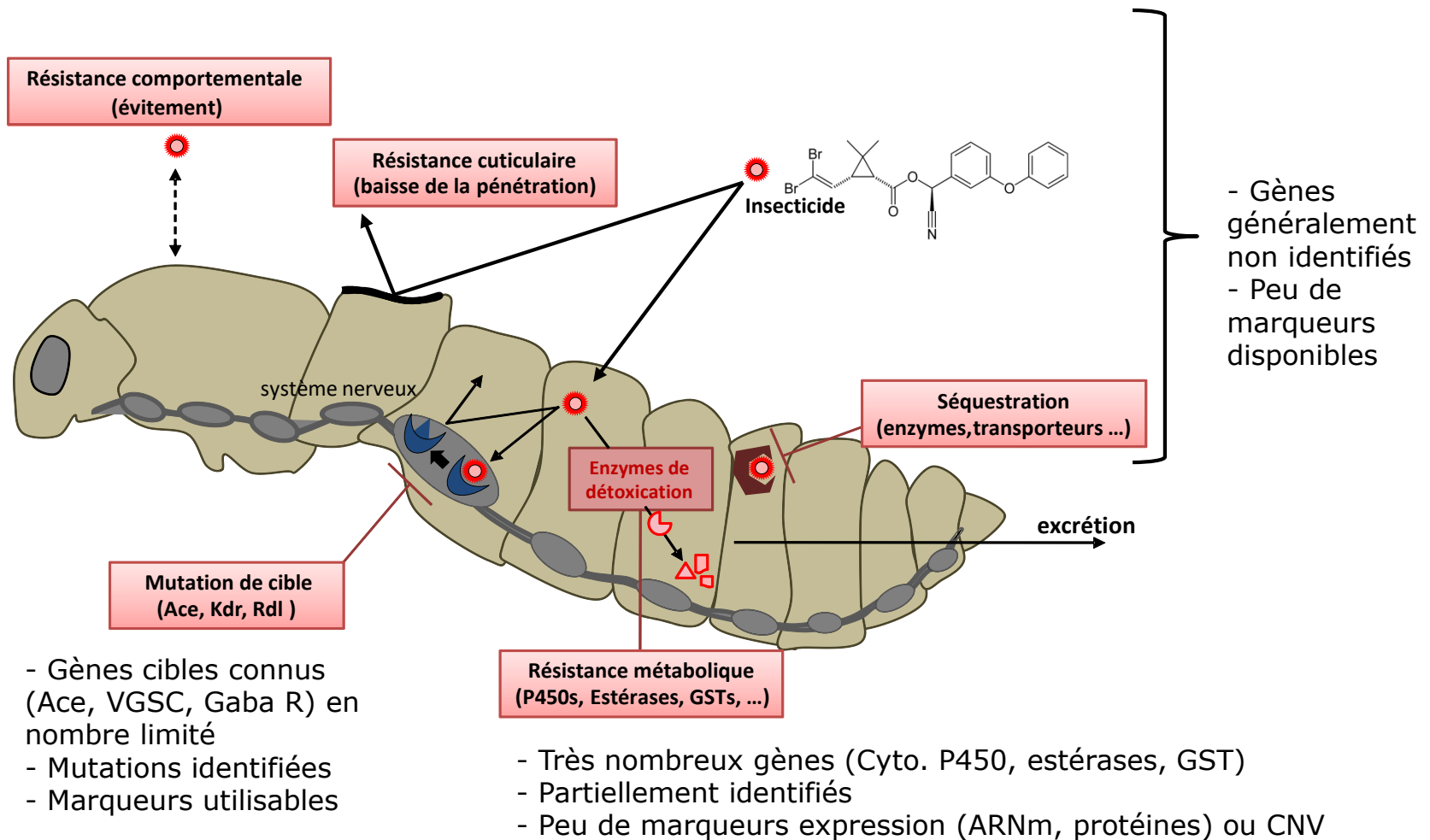
% tonnage annuel 2010-2019 pour le contrôle des vecteurs d'arbovirus

WHO, 2021 Global Insecticide Use for Vector-Borne Disease Control, 6th Ed.

Principaux mécanismes de résistance



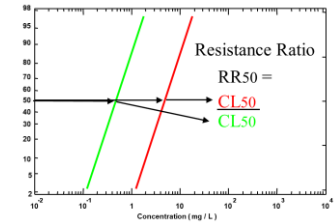
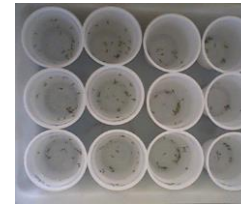
Principaux mécanismes de résistance



Méthodes de détection de la résistance

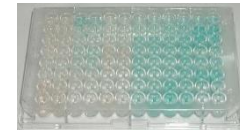
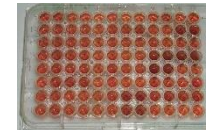
▶ Tests biologiques (standardisés OMS)

- ▶ Résistance phénotypique, quantification
- ▶ Doses réponses ou doses diagnostiques
- ▶ Larvicides: tests en gobelets
- ▶ Adulticides: tests en tubes OMS (papiers imprégnés, bouteilles)
- ▶ Utilisation possible de synergistes



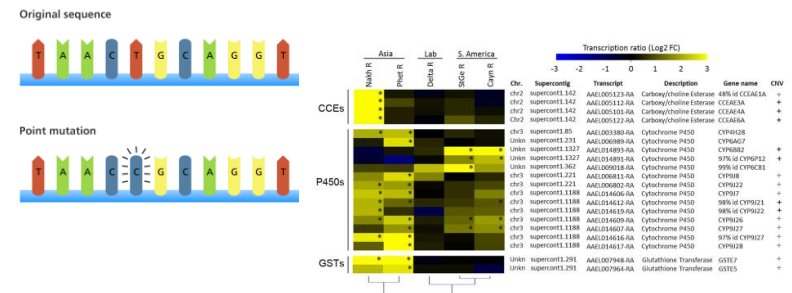
▶ Tests Biochimiques

- ▶ Activité ou quantification enzymes de détoxication



▶ Tests Moléculaires

- ▶ Mutations de cibles
- ▶ Expression des enzymes de détoxication
- ▶ Variation nombre copies de gènes (CNV)



Avantages et limites des méthodes de détection de la résistance

Table 1. Advantages and disadvantages of methods for detection and monitoring of resistance in populations of insects (modified from [32]).

Methods	Advantages	Disadvantages	References
Biological assays			
<i>Diagnostic concentrations</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Standardized • Simple and rapid to perform • Detect resistance phenotype 	<ul style="list-style-type: none"> • Lack of sensitivity • No information on level or type of resistance • Few diagnostic doses available for <i>Aedes</i> spp. • Require live mosquitoes • Require universal quality insecticides 	[31, 33]
<i>Dose-response assays</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Measure resistance levels 	<ul style="list-style-type: none"> • Require large number of live mosquitoes • Require a susceptible reference colony 	[34, 35]
<i>Assays using synergists</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Information on the potential mechanisms responsible for resistance 	<ul style="list-style-type: none"> • Lack of sensitivity and specificity • Require large number of live mosquitoes 	[33]
Biochemical assays measuring enzyme activities	<ul style="list-style-type: none"> • Information on mechanisms responsible for resistance • Several mechanisms tested on a single individual 	<ul style="list-style-type: none"> • Require a cold chain • Not available for all resistance mechanisms • Lack of sensitivity/specificity 	[36]
Molecular assays to detect resistant alleles	<ul style="list-style-type: none"> • Very sensitive • Several mechanisms tested on single individuals • Detect recessive alleles and provide an “early warning” of future resistance 	<ul style="list-style-type: none"> • Require specialized and costly equipment • Only available for a limited number of resistance mechanisms • Are not always easily linked to resistance levels 	[37–40]

Résistance d'*Aedes aegypti* à la deltaméthrine (Pyr) (*Moyes et al., 2017, Plos NTD*)

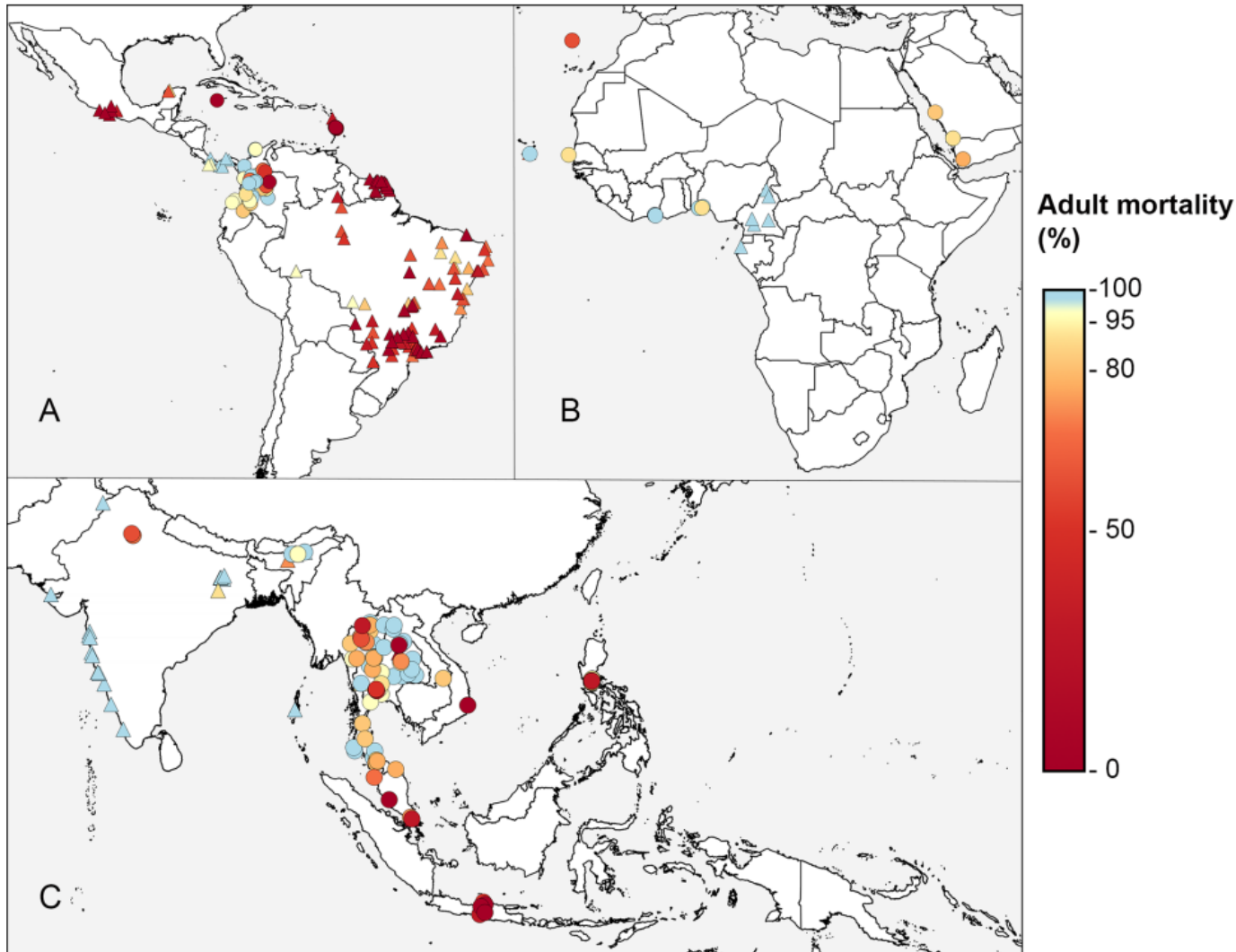


Fig 2. The frequency of resistance to deltamethrin in *Ae. Aegypti*, 2006–2015. Adult bioassays using 0.05% insecticide for 1 hour are denoted as circles and results from nonstandard adult bioassays (including different diagnostic doses and exposure periods) are denoted as triangles. The map is zoomed to the 3 regions with data. (A) Americas. (B) Africa/Arabian Peninsula. (C) Asia.

Résistance d'*Aedes aegypti* au téméphos (OP)

(Moyes et al., 2017, Plos NTD)

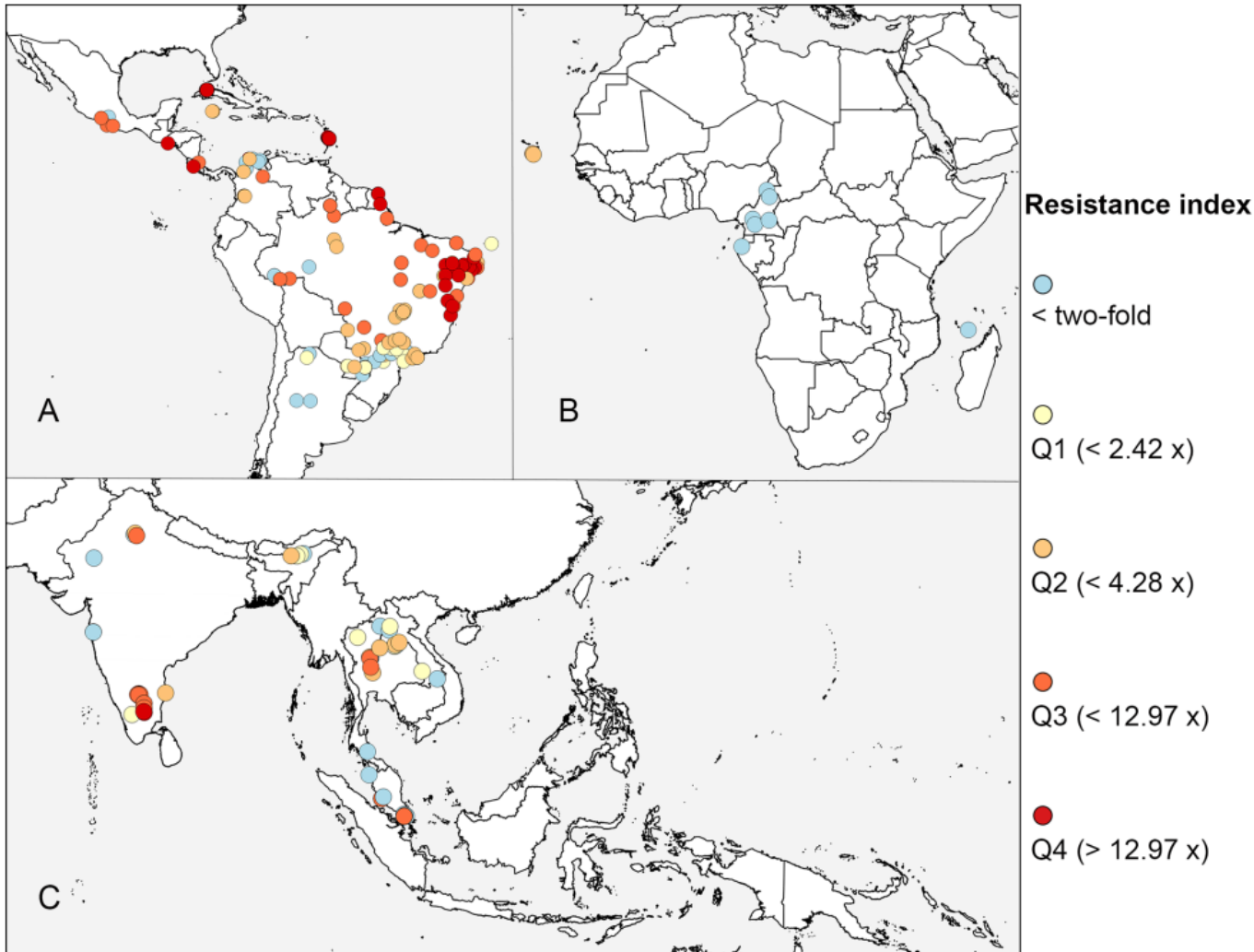
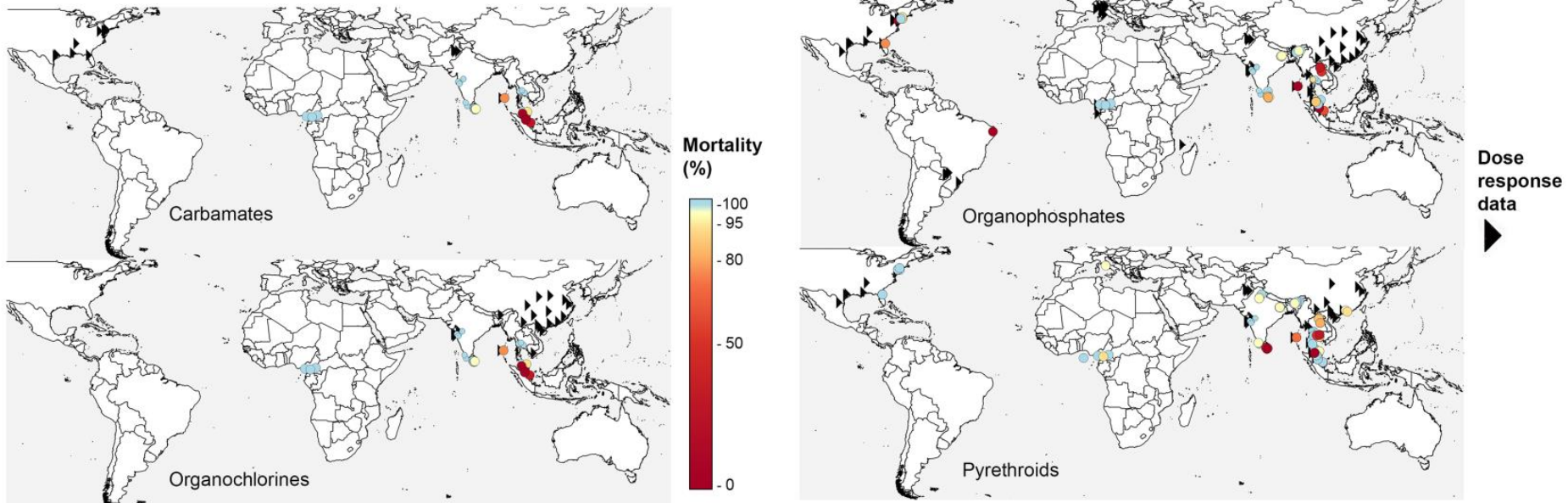
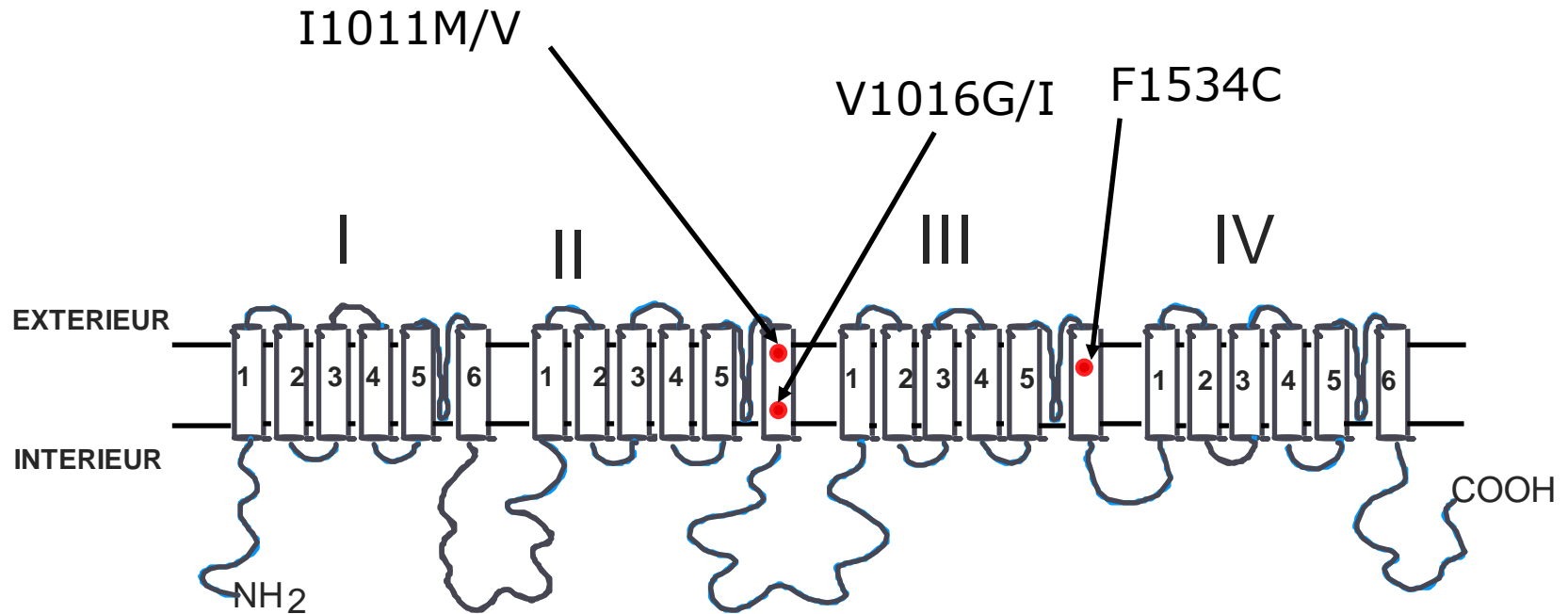


Fig 3. The level of *Ae. aegypti* resistance to temephos, 2006–2015. The ratio of the lethal concentration required to kill half of the sample (LC_{50} value) obtained by each study to the value obtained for the Rockefeller susceptible strain across studies was calculated. The ratios were then split into 5 classes: values less than 2-fold higher than Rockefeller and each quartile of the remaining distribution. The map is zoomed to the 3 regions with data. (A) Americas. (B) Africa. (C) Asia.

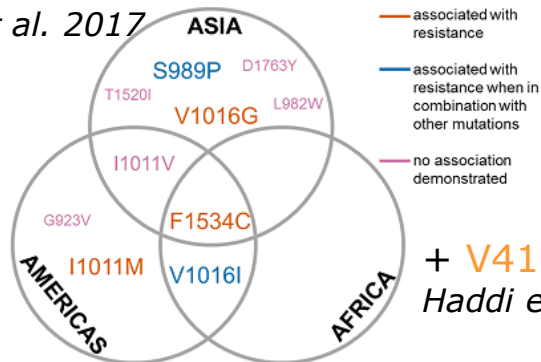
Résistance d'*Aedes albopictus* aux principaux insecticides (*Moyes et al., 2017, Plos NTD*)



Canal sodium et mutations *kdr* chez *Aedes aegypti*



Moyes et al. 2017
Plos NTD



+ V410L
Haddi et al. 2017

V1016G, F1534C aussi présentes
chez *Ae. albopictus*

Fig 5. The geographical distribution of the 10 known voltage-gated sodium channel (VGSC) mutations in *Aedes aegypti* across the 3 continents in which they have been detected. Association of each mutation with pyrethroid resistance is shown in the key. Font size gives an indication of relative frequency.

Enzymes impliquées dans la résistance métabolique (validation fonctionnelle) – Anses 2021

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

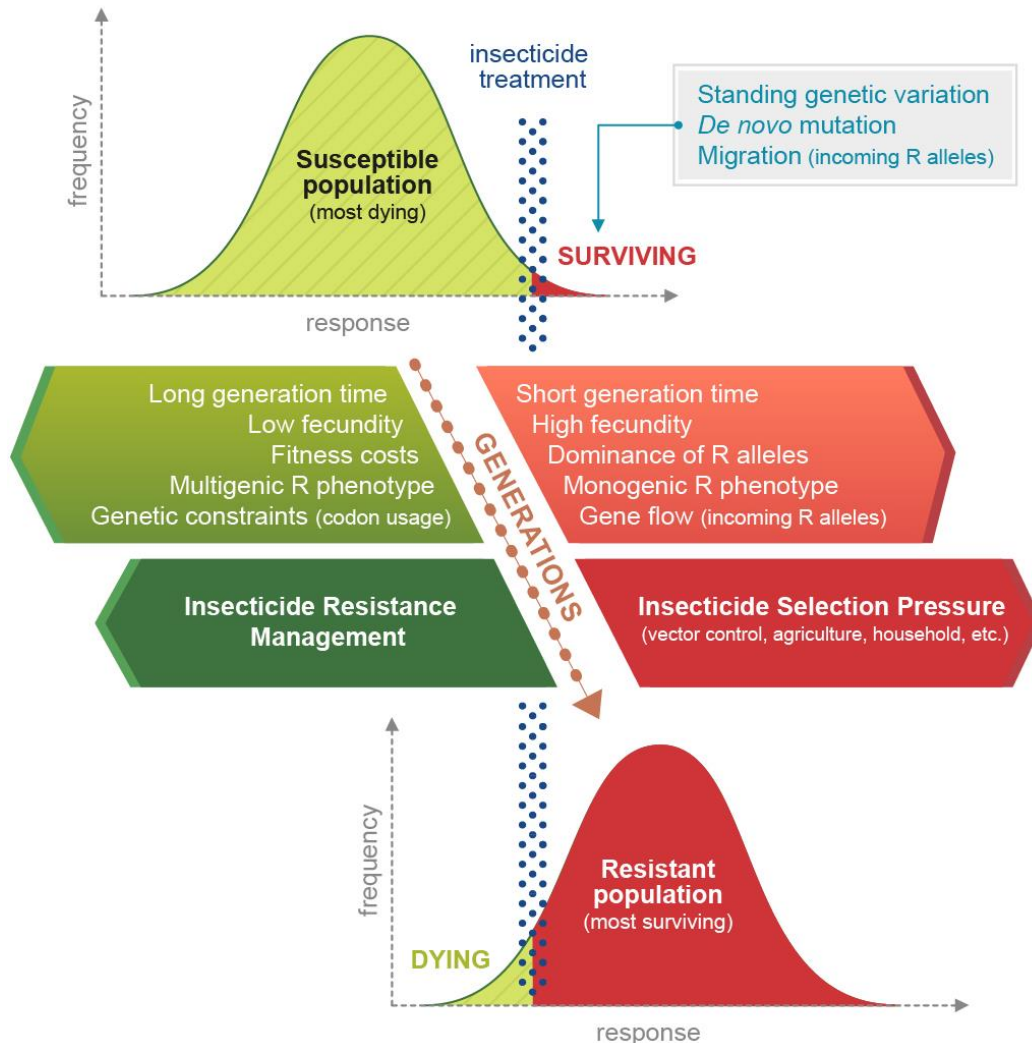
Espèce	Gène ¹	Famille Enzymatique	Insecticides	CNV détecté ²	Références
<i>Ae. aegypti</i>	CYP9J32	P450	PYR	oui	Stevenson <i>et al.</i> 2012, Kasai <i>et al.</i> 2014, Faucon <i>et al.</i> 2015, Smith <i>et al.</i> 2016*, Moyes <i>et al.</i> 2017*, Faucon <i>et al.</i> 2017, Cattell <i>et al.</i> 2020a,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



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

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

Facteurs influant la sélection de la résistance dans les populations naturelles



- ▶ La population majoritairement sensible meurt du fait des traitements, qq survivants grâce à un mécanisme résistance déjà présent ou apparu par migration/mutation
- ▶ En rouge: facteurs favorisant la sélection de la résistance
- ▶ En vert: facteurs contre sélectionnant la résistance, y compris stratégies IRM (Insecticide Resistance Management)
- ▶ Après plusieurs générations de sélection aux insecticides, la proportion d'individus résistants est majoritaire et peut conduire à un échec opérationnel de la lutte

Stratégies de gestion de la résistance en santé publique

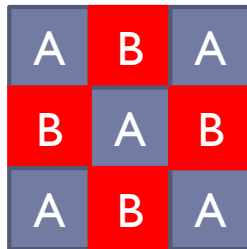
- ▶ Utilisation d'insecticides à mode d'action différent ou pour lesquels il n'y a pas de mécanismes métaboliques (ou autres) conférant une résistance croisée

Rotation



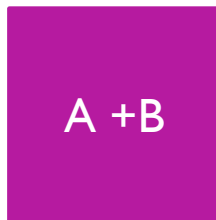
Onchocerciasis Control Programme - IRS Bioko

Mosaïque



Projet IRAC Mexique

Mélange



Essai IGR+Bti - IGR+spinosad en Martinique



Raréfaction des molécules biocides utilisables en santé publique

Adulticides OMS

Malathion (OP)

Fenitrothion (OP)

Pyrimiphos methyl (OP)

Bendiocarb (Carb)

Permethrin (Pyr)

Deltamethrin (Pyr)

Pyrethrins (Pyr)

Bifenthrin (Pyr)

Trans-Cyphenothrin (Pyr)

Alpha-cypermethrin (Pyr)

Lambda-cyhalothrin (Pyr)

Transfluthrin (Pyr)

Prallethrin (Pyr)

Etofenprox (pseudo-Pyr)

DDT (OC)

Imidacloprid (Neonic)

Clothianidin (Neonic)

Flupyradifurone (Buten)

Larvicides OMS

Bti (ins. bactérien)

Bs (ins. bactérien)

Chlorpyrifos (OP)

Temephos(OP)

Pyrimiphos methyl (OP)

Diflubenzuron (Chitin Synt inhib)

Novaluron (Chitin Synt inhib)

Pyriproxyfen (analog HJ)

Spinosad (ins. bactérien)



Raréfaction des molécules biocides utilisables en santé publique

Adulticides OMS

Malathion (OP)

Fenitrothion (OP)

Pyrimiphos methyl (OP)

Bendiocarb (Carb)

Permethrin (Pyr)

Deltamethrin (Pyr)

Pyrethrins (Pyr)

Bifenthrin (Pyr)

Trans-Cyphenothrin (Pyr)

Alpha-cypermethrin (Pyr)

Lambda-cyhalothrin (Pyr)

Transfluthrin (Pyr)

Prallethrin (Pyr)

Etofenprox (pseudo-Pyr)

DDT (OC)

Imidacloprid (Neonic)

Clothianidin (Neonic)

Flupyradifurone (Buten)

Adulticides UE

Deltamethrin (Pyr)

Pyrethrins (Pyr)

Alpha-cypermethrin (Pyr)

Larvicides OMS

Bti (ins. bactérien)

Bs (ins. bactérien)

Chlorpyrifos (OP)

Temephos(OP)

Pyrimiphos methyl (OP)

Diflubenzuron (Chitin Synt inhib)

Novaluron (Chitin Synt inhib)

Pyriproxyfen (analog HJ)

Spinosad (ins. bactérien)

Larvicides UE

Bti (ins. bactérien)

Bs (ins. bactérien)

Diflubenzuron (Chitin Synt inhib)

Methopren (analog HJ)

Pyriproxyfen (analog HJ)

Utilisation des tests biologiques pour définir des indicateurs de risque (Anses, 2021)

- ▶ Sélection de sites sentinelles basée sur risque épidémiologiques, entomologiques, utilisation des insecticides, accessibilité sites
- ▶ Suivi via tests biologiques (et des mécanismes si possible) au moins une fois par an

Bioessais (OMS)	Statut	Niveau de résistance
Mortalité $\geq 98\%$ DD OMS (adultes) ou RR50 < 5 (larves)	Sensible	0
	Sensible mais présence d'allèles de résistance à faible fréquence	1
Mortalité $< 98\%$ à 5 fois DD et $\geq 98\%$ à 10xDD OMS (adultes) ou ou $5 \leq \text{RR50} \leq 10$ (larves)	Résistance modérée	2
Mortalité $< 98\%$ à 10 fois DD OMS (adultes) ou ou RR50 > 10 (larves)	Résistance forte	3



Stratification du Risque de Résistance (RiR) à l'échelle d'un territoire (Anses, 2021)

Proportion de sites à l'échelle du territoire

	Sites isolés (< 10 %)	Sites multiples (10-50 %)	Majorité des sites (> 50 %)
1	RiR 0	RiR 1	RiR 1
2	RiR 1	RiR 2	RiR 2
3	RiR 2	RiR 2	RiR 3



- ▶ RiR0: surveillance de routine maintenue, LAV inchangée
- ▶ RiR1: renforcement de la surveillance, LAV inchangée mais conceptualisation d'un plan de gestion de la résistance
- ▶ RiR2: Modifications modérées des actions LAV (alternance d'insecticides autorisés, tests avec molécules alternatives autorisées ou utilisables à titre dérogatoire, méthodes complémentaires)
- ▶ RiR3 : Modifications importantes des actions LAV (arrêt du traitement, recours à des molécules alternatives autorisées ou utilisables à titre dérogatoire, stratégies innovantes ayant prouvées leur efficacité)

Exemple de stratification du risque de résistance pour certains territoires français (Anses, 2021)

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

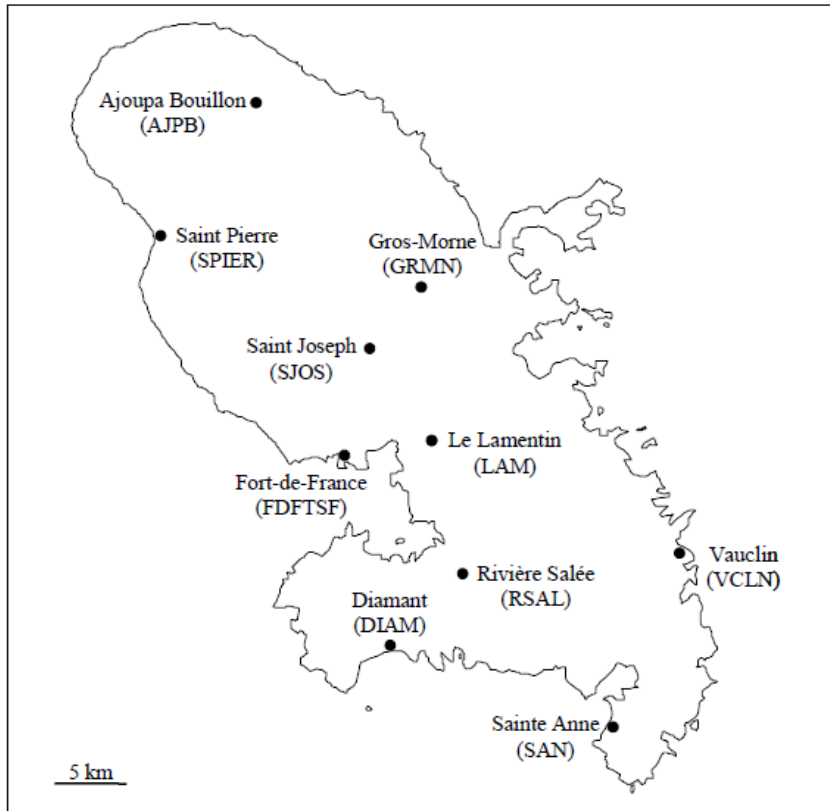
		Proportion de sites à l'échelle du territoire		
		Sites isolés (< 10 %)	Sites multiples (10-50 %)	Majorité des sites (> 50 %)
Niveau de résistance à l'échelle du site	1	RiR 0 : Mayotte, Polynésie Française, La Réunion	RiR 1	RiR 1
	2	RiR 1	RiR 2	RiR 2 Martinique
	3	RiR 2 : Nouvelle-Calédonie	RiR 2	RiR 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

Résistance d'*Aedes aegypti* à la Martinique

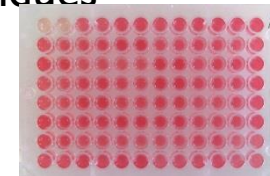
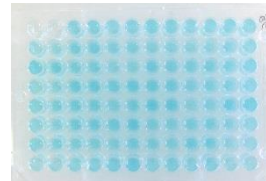
Marcombe et al., Plos One 2012



- ▶ 10 populations
- ▶ Bioessais larves/adultes



- ▶ Tests biochimiques

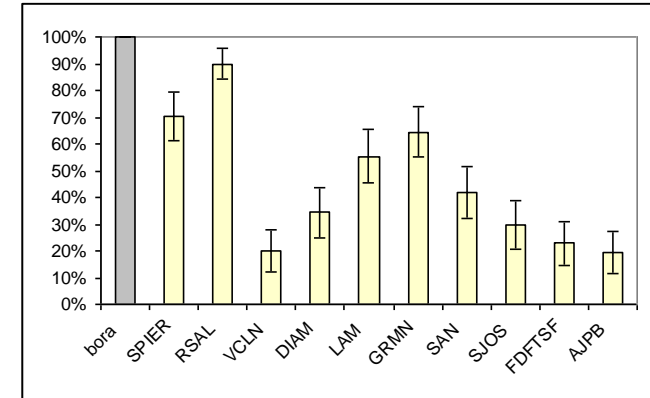


- ▶ Tests moléculaires
 - Séquençage (kdr/Ace I R)
 - Expression ARNm de gènes détoxication



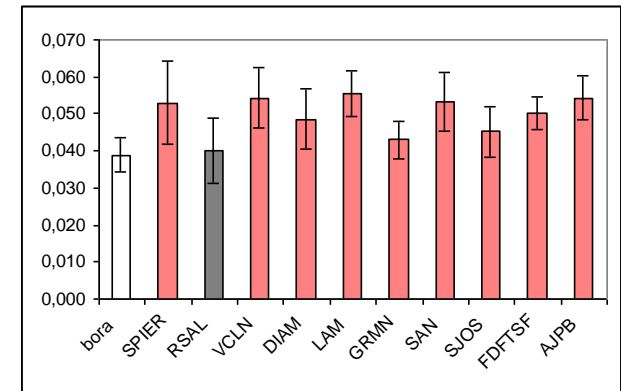
Résistance d'*Aedes aegypti* à la Martinique

- ▶ Résistance de toutes les populations au téméphos, RR95: 25-150 fois
- ▶ Pops sensibles au *Bti*, RR95: 1-2
- ▶ Résistance de toutes les populations à la deltaméthrine
Mortalité 20-90% TKd50: 4-10 fois



% Mortalité deltaméthrine à 24 heures.

- ▶ Augmentation de la quantité de monooxygénases à cytochrome P450
- ▶ Rôles des α -estérases et GST
- ▶ Identification de plusieurs gènes de détoxification surexprimés
- ▶ Forte fréquence allélique de la mutation KDR Val1016Iso dans toutes les populations: $0.87 < F(kdr) < 0.99$
- ▶ Absence mutations *Ace1R* (G119S, F290V)



Qté moy d'oxydases (en nmol P450U/mg)

Impact des pulvérisations spatiales sur une population d'*Ae aegypti* résistante à la deltaméthrine (phase II)

Marcombe et al., AJTMH 2008

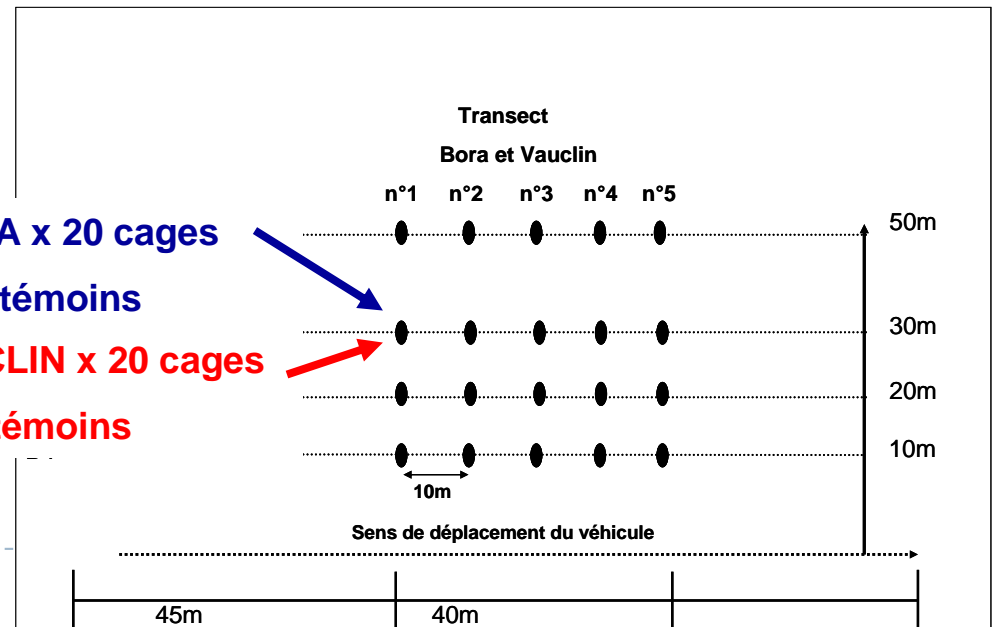


20 ♀ BORA x 20 cages

+ 5 cages témoins

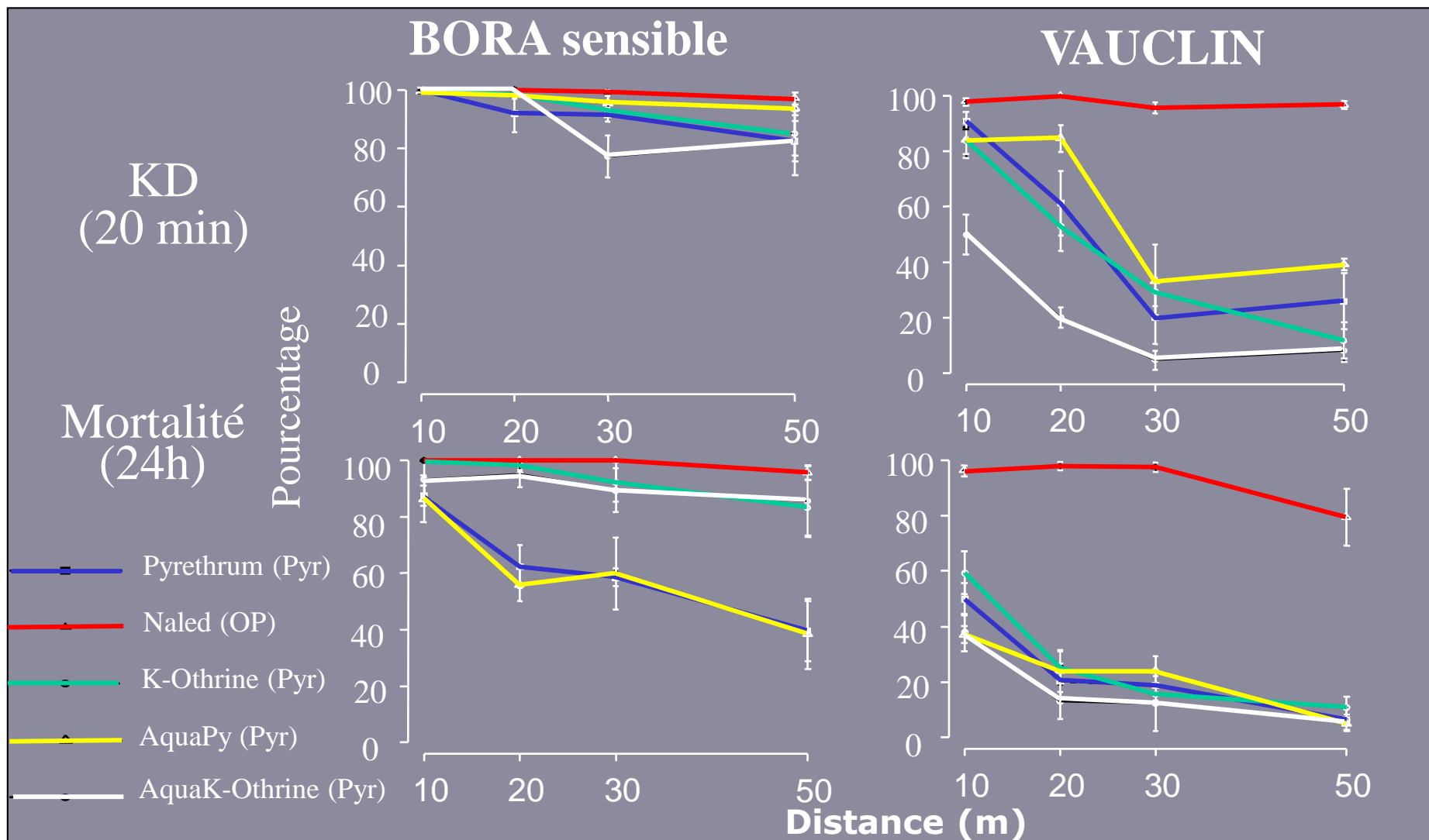
20 ♀ VAUCLIN x 20 cages

+ 5 cages témoins

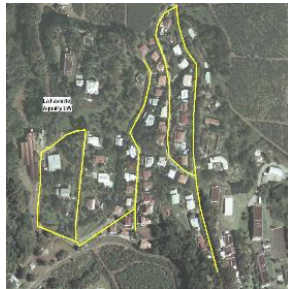


Impact des pulvérisations spatiales sur une population d'*Ae aegypti* résistante à la deltaméthrine (phase II)

Marcombe et al., AJTMH 2008



Efficacité des adulticides en aspersion spatiales (phase III en Martinique)



AquaPy
(Pyrethrine+PBO)



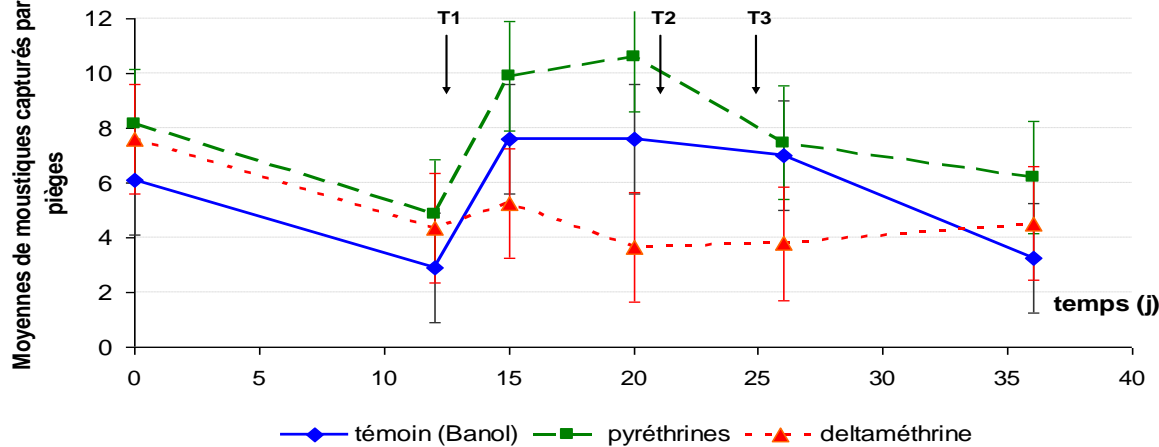
Témoign Banole



K-Othrine ULV
(deltaméthrine)

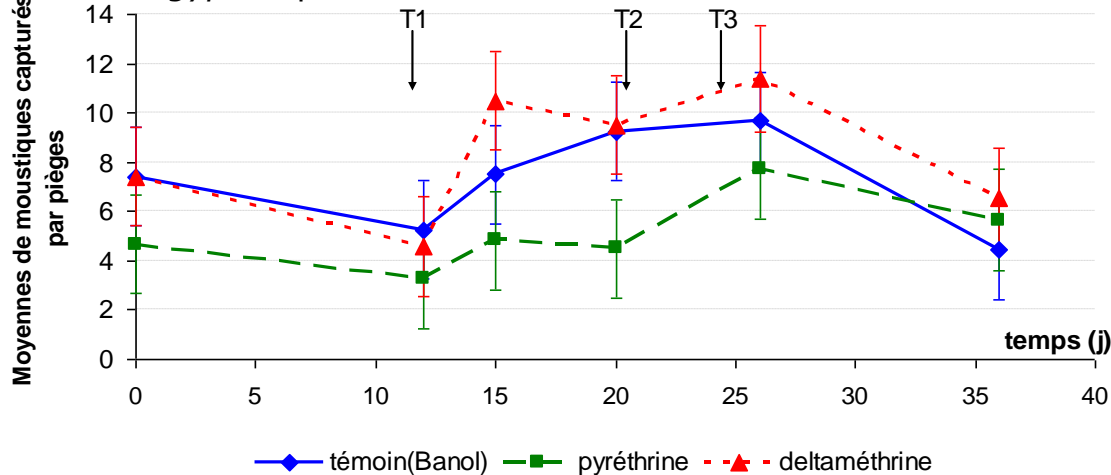
Efficacité des adulticides en aspersions spatiales (phase III)

Nb d'*Ae. aegypti* capturés à l'intérieur des maisons



Impact limité de la deltaméthrine à l'intérieur des maisons, et pas d'impact à l'extérieur

Nb d'*Ae. aegypti* capturés à l'extérieur des maisons



Impact limité également des pyréthrine mais déplacement des adultes vers l'intérieur des maisons

Conclusions

- ▶ Résistance des vecteurs est une menace majeure pour les opérations de lutte visant à réduire la transmission des arbovirus
- ▶ Mettre œuvre un plan de surveillance intégré de la résistance dans l'ensemble des territoires français et créer un observatoire national de la résistance (Anses, 2021)
- ▶ Renforcer les recherches fondamentales et appliquées sur
 - ▶ Dynamique de la résistance, des mécanismes et stratégies de gestion de la R
 - ▶ Impacts opérationnels de la résistance sur l'efficacité des mesures de LAV
 - ▶ Caractérisation de nouvelles molécules insecticides, synergistes ou de nouvelles cibles
 - ▶ Efficacité opérationnelle de nouveaux insecticides
 - ▶ Stratégies alternatives comme la TIS (La Réunion, Polynésie Fr.), les Wolbachia (Nouvelle Calédonie), lutte biologique (densovirus)
- ▶ Evaluation du coût socio-économique et des bénéfices à long terme de la gestion de la résistance



Pour plus d'informations

- ▶ Anses, 2021. Résistance des moustiques vecteurs aux insecticides. Rapport d'expertise collective

- ▶ <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIOCIDES2020SA0029Ra.pdf>



- ▶ Publications du réseau WIN (Worldwide Insecticide resistance Network)

- ▶ <https://win-network.ird.fr/content/view/full/253224>

