

Sensibilité des Populations de Anophèles Gambiae aux Pyréthriinoïdes, Principal Vecteur du Paludisme dans la Région de Natitingou au Nord -Ouest du Bénin

YADOULETON Anges^{1,2*}; AGBANRIN Ramziyath²; Jean-Robert KLOTOE¹; AHISSOU Fabrice²; HOUNDETON Geraldo²; TCHIBOZO Carine³; AKOGBETO Martin^{2,3}.

¹ Ecole Normale Supérieure de Natitingou ; Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques (UNSTIM) d'Abomey

² Centre de Recherche Entomologique de Cotonou

³ Faculté des Sciences et Techniques - Université d'Abomey-Calavi



Résumé - La lutte anti-vectorielle basée sur l'utilisation des matériaux imprégnés, notamment les moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILD) est, en proie depuis quelques années, à une baisse d'efficacité. Cette baisse d'efficacité serait due à l'émergence de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides notamment les pyréthriinoïdes.

Sans apporter des preuves concrètes, on cite l'utilisation des insecticides dans le domaine agricole comme principal facteur à l'origine de cette résistance. Dans le but de vérifier cette hypothèse, nous avons évalué la résistance des populations d'*An. gambiae* s.l issues de la commune de Natitingou aux organochlorés (OC) et aux pyréthriinoïdes (PY) de Juillet – octobre 2017. Au début de l'étude, nous avons effectué une enquête sur la nature des pesticides utilisés contre les ravageurs des cultures, leur origine et les doses appliquées tant en zone rurale que urbaine.

Dans un second temps, nous avons étudié la sensibilité des anophèles issus de la zone d'étude aux papiers imprégnés de deltaméthrine (0,05 %), de perméthrine (0,75%) de DDT (4%), et de lambdacyhalothrine (0,5%)

Au terme des travaux :

i)- les résultats des enquêtes sociologiques montrent que plus de 90% des paysans interrogés déclarent utiliser les pesticides chimiques contre les ravageurs des cultures lesquels provenaient des structures illégales de vente ; ii)- ces pesticides en majorité des PY sont utilisés de façon anarchique par les paysans pour contrôler les ravageurs des cultures ; iii)- les populations d'*An. gambiae* quelle que soit la zone de provenance ont développé une résistance vis-à-vis des OC et des PY.

Cette étude confirme une fois encore que l'utilisation anarchique des insecticides en agriculture est un des facteurs responsables de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides. Il est urgent de mettre en place des stratégies de lutte intégrée et raisonnée permettant de mieux gérer la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides dans cette localité.

Mots clés - Bénin ; Natitingou ; Insecticides ; résistance ; paludisme ; *Anopheles gambiae*.

Abstract - Vector control programme based on deployment of insecticide treated nets (ITNs) has become the main method for malaria prevention in many endemic countries across Africa. However, the threat of pyrethroid resistance in West Africa is increasingly becoming a serious concern for the future usefulness of ITNs.

Without sufficient evidence, the emergence of insecticide resistance in insect vectors has been partly attributed to the abusive use of insecticides against household and agricultural pests.

To explore this hypothesis further, Knowledge Attitude-Practice (KAP) surveys were organized in the study sites (urban and rural areas) from July to October 2017. In each site, leaders of farmers organizations were interviewed using semi-structured questionnaires that focused on the treatment strategies, and the use of insecticides in the farms. Furthermore, qualitative data were collected through direct observations, in-depth interviews and focus group discussions. This was complemented by bioassay tests to assess the susceptibility of *An. gambiae* to various insecticides such as deltamethrin (0.05 %), permethrin (0.75%), DDT (4%), and lambdacyhalothrine (0.05%).

Results from this study showed that: i)- More than 90% of the farmers interviewed used pesticides which were not registered for pest control; ii)- most of the farmers did not respect the dose recommended for treatment; iii)- *An. gambiae* populations developed a high resistance against pyrethroids and organochlorine regardless the areas of collection.

This study confirms once again that the use of insecticide in an improper manner to control vegetable pests in agriculture is one of the factors responsible for the selection of insecticide resistance in malaria vectors.

Measure must be taken by agriculture authorities to the management of pesticides in agriculture hence reducing the selection pressure of insecticides on *An. gambiae* populations.

Keywords - Benin; Natitingou; Insecticides; resistance; malaria ; *Anopheles gambiae*.

I. INTRODUCTION

Première affection parasitaire mondiale, le paludisme constitue aujourd'hui un réel problème de santé publique qui menace plus d'un milliard de personnes situées dans la ceinture de la pauvreté [1]. Plus de deux milliards de personnes (environ 40% de la population mondiale) vivent dans des zones à risques de paludisme, notamment en Asie, en Amérique latine et en Afrique. Plus de 500 millions de cas cliniques sont recensés chaque année, causant une forte morbidité et mortalité.

Plusieurs stratégies de lutte sont utilisées dont la lutte anti-vectorielle basée sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action et les pulvérisations intra-domiciliaires d'insecticides à effet rémanent [2]. En effet ces moyens de lutte contre le paludisme ont montré qu'on pouvait réduire la morbidité palustre de 50 à 60% et la mortalité générale de 20% en Afrique [3- 4].

Au Bénin, le principal moyen de lutte anti-vectorielle repose essentiellement sur l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action [6]. Beaucoup d'efforts ont été consentis pour augmenter l'accessibilité des populations aux moustiquaires imprégnées, en particulier aux enfants de moins de cinq ans et aux femmes enceintes. Malheureusement, des problèmes importants subsistent mettant en danger les objectifs et la pérennité des réalisations. La résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides constitue un handicap à l'utilisation des matériaux imprégnés.

Suite à la baisse observée de sensibilité d'*An. gambiae* aux pyréthrinoïdes, la résistance des vecteurs aux insecticides est devenue un domaine de recherche prioritaire en Afrique depuis quelques années [7- 9].

En Afrique et particulièrement au Bénin, les pyréthrinoïdes sont utilisés de façon intense dans les zones de culture du coton, du riz et du sorgho contre les insectes ravageurs, les punaises et les acridiens [10-12] (Akogbéto et al., 2005 ; Yadouléton et al., 2009 ; Martin et al., 2010).

Ces mêmes insecticides sont également utilisés en zones urbaines et rurales contre la nuisance des insectes. Les travaux de Yadouléton et al. (2011), Tripet et al. (2003) montrent que la plupart des pesticides utilisés pour contrôler les ravageurs du cotonnier sont aussi utilisés en santé publique, ce qui pourrait augmenter le niveau de résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides. Cette situation a probablement contribué à l'apparition de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides et pourrait être un handicap à l'utilisation des matériaux imprégnés et par conséquent compromettre l'espoir que les autorités sanitaires placent dans cette stratégie de protection des populations contre le paludisme.

Qu'en est il à Natitingou, une région céréalière située au Nord-Ouest du Bénin, caractérisée par une forte utilisation de pesticides chimiques par les paysans [13] sur le niveau de résistance de *An. gambiae* ? C'est donc pour répondre à ce questionnement que le présent sujet a été initié dans le but de connaître la sensibilité des populations d'*Anopheles gambiae* aux pyréthrinoïdes dans la région de Natitingou, au Nord -Ouest du Bénin.

II. MATERIEL ET METHODES.

2.1- Zones de collecte des données

La collecte des données a eu lieu dans le département de l'Atacora plus précisément dans la commune de Natitingou (1°23 E, 10°18 N) de juillet-octobre 2017. Quatre points de collecte ont été choisis non loin des zones agricoles. Le choix de la ville de Natitingou se justifie par le fait que depuis 2010, le Programme National de lutte contre le Paludisme utilise une gamme variée de pesticides chimiques en aspersions intra domiciliaire dans cette commune et ceci, dans le but de lutter contre les moustiques adultes [14]. En plus de cela, les paysans, dans le souci de mieux contrôler les ravageurs des cultures, ces derniers utilisent de façon anarchique plusieurs types de pesticides et ceci sans aucun respect des doses recommandées [13].

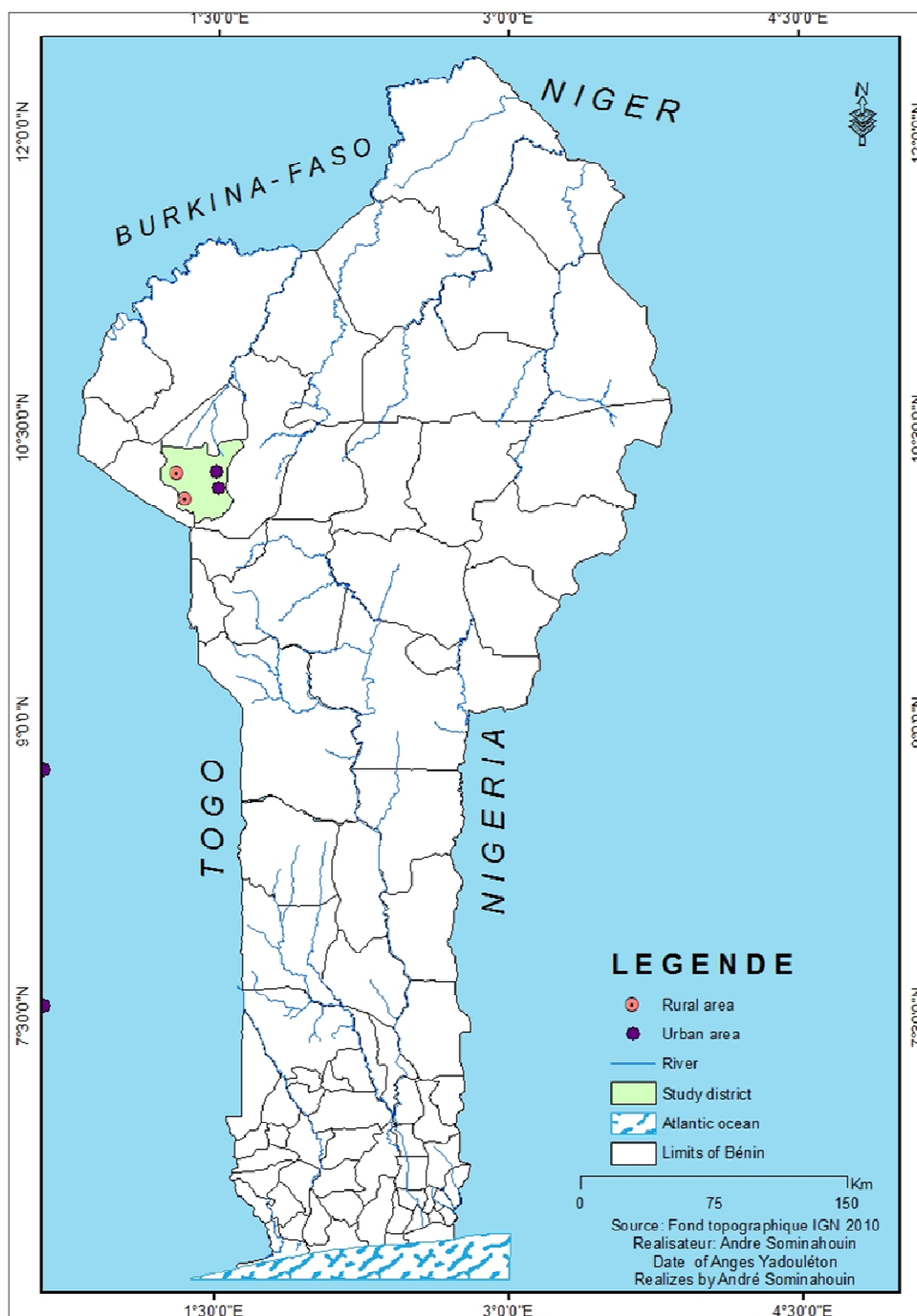


Figure 1. Carte de la zone d'étude

2.2- Enquêtes CAP

Dans le but de connaître les pesticides utilisés par les paysans contre les ravageurs des cultures, une enquête CAP (Connaissance, Attitude, Pratique) sur l'utilisation de pesticides a été initiée auprès de ces derniers. La taille de l'échantillon a été déterminée suivant la méthode de Anderson [15] et le choix des individus à interviewer au niveau de chacun des points de collecte a été fait suivant la technique de bouteille [16]. Cette technique consiste à jeter la bouteille de façon quelconque. Le bout de la bouteille indique donc le sens qu'il faut utiliser pour aller interroger. Les outils de recueil des données qualitatives ont également porté sur l'observation directe sur le terrain et sur des entretiens individuels et collectifs (groupes de parole). Les enquêteurs ont travaillé en binômes : pendant que l'un faisait dérouler le questionnaire quantitatif, l'autre recueillait les données qualitatives.

2.3- Tests de sensibilité

Les adultes femelles âgés de 2-5 jours issus des larves collectées ont été utilisés pour les tests de sensibilité. Les tests ont été réalisés avec des papiers imprégnés de deltaméthrine (0.05%) et de la lambdacyhalothrine (0.05%). Le choix des doses diagnostiques des papiers imprégnés repose sur les recommandations de l'OMS en matière de ces tests [17]. La sensibilité des moustiques à ce produit (deltaméthrine) a été comparée à celle d'un autre pyréthrinoïde : la perméthrine à 0,75% et d'un organochloré, le DDT à 4% (dose diagnostique). Nous avons testé le DDT pour vérifier s'il existe une résistance croisée entre les pyréthrinoïdes et les organochlorés. Le temps d'exposition des moustiques aux papiers imprégnés est de 60 minutes et le temps d'observation avant la lecture des résultats est de 24 heures. Dès l'exposition des moustiques à l'insecticide, le nombre de moustiques "Knock-down" (*kd*), c'est-à-dire qui tombent inanimés au fond des tubes OMS est noté après 10, 15, 20, 30, 45, 60 minutes. Après les tests, les moustiques morts et vivants ont été conservés séparément sur du silicagel dans des tubes eppendorf et stockés à -20°C (congélateur) pour la recherche des mécanismes de résistance.

Dans le cadre de notre étude, nous avons considéré comme population sensible toute population dont la mortalité est supérieure ou égale à 97%. Lorsque la mortalité est inférieure à 80% la population est considérée comme résistante. Entre les deux valeurs, il s'agit d'une suspicion de résistance (baisse de sensibilité) [17].

III. RESULTATS

3.1- Utilisation des insecticides

Les données quantitatives et qualitatives obtenues avec les résultats des entretiens individuels et collectifs auprès des paysans accompagnés des observations dans les champs céréaliers et vivriers montrent que bon nombre des cultures vivrières ne peuvent être produites sans une utilisation de pesticides agricoles. Au cours de nos investigations, 95% des paysans interrogés déclarent avoir fait recours aux pesticides chimiques. 70% de ces paysans disent se procurer de ces pesticides dans des structures illégales de vente ("marché noir") contre 30% dans les structures agréées par l'Etat. Par ailleurs, lors des traitements phytosanitaires, moins de 20% des paysans respectent les doses des traitements recommandées par les encadreurs. En cas d'attaque avancée des cultures par les insectes, la dose recommandée est augmentée à volonté par les paysans ou remplacées par des insecticides (des carbamates pour la plupart) qu'ils qualifient de "très forts" et qui sont souvent les insecticides chimiques de coton.

3.2- Sensibilité d'*Anopheles gambiae* aux insecticides

3.2-1. Niveau de résistance des populations d'anophèles aux insecticides

Plus de 1000 moustiques d'*Anopheles gambiae* âgés de 2- 5 jours ont été mis au contact des papiers imprégnés d'insecticide de perméthrine à 0,75%, de deltaméthrine à 0,05%, lambdacyhalothrine 0,05% de DDT à 4%. Il ressort que :

- *An. gambiae* a développé une résistance vis-à-vis du DDT avec un taux moyen de 15% de mortalité dans les zones non urbanisées. Par contre, lorsque les populations proviennent des zones urbanisées, on note une légère augmentation du taux de mortalité (3%) par rapport aux précédents ($P > 0,005$) (Figure 2).
- Concernant les pyréthrinoïdes (perméthrine, deltaméthrine et la lambdacyhalothrine), *An. gambiae* a développé une résistance vis-à-vis de ces insecticides quelle que soit leur zone de provenance. En effet, le taux de mortalité est de 32%, 36% et 38% respectivement pour la perméthrine, la deltaméthrine et la lambdacyhalothrine lorsque les populations proviennent des zones rurales. Par contre, lorsque les moustiques proviennent des zones urbaines, on note une légère augmentation. En effet, 33%, 37% et 40% des populations de *An. gambiae* issues des zones urbaines sont mortes lorsqu'elles sont mises en contact respectivement avec les papiers imprégnés à la

perméthrine, deltaméthrine et à la lambdacyhalothrine

((Figure 3-5).

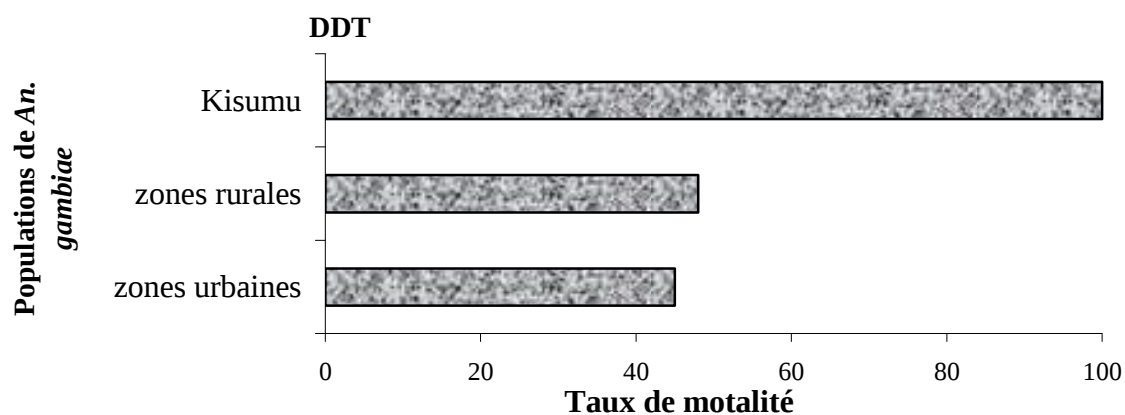


Figure 2. Mortalité observée après exposition des populations d'*An. gambiae* au DDT

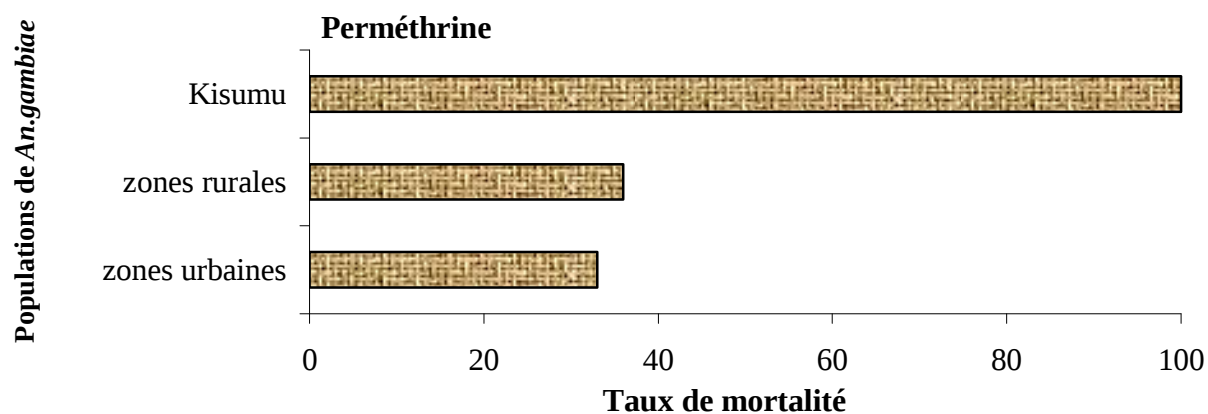


Figure 3. Mortalité observée après exposition des populations d'*An. gambiae* à la perméthrine

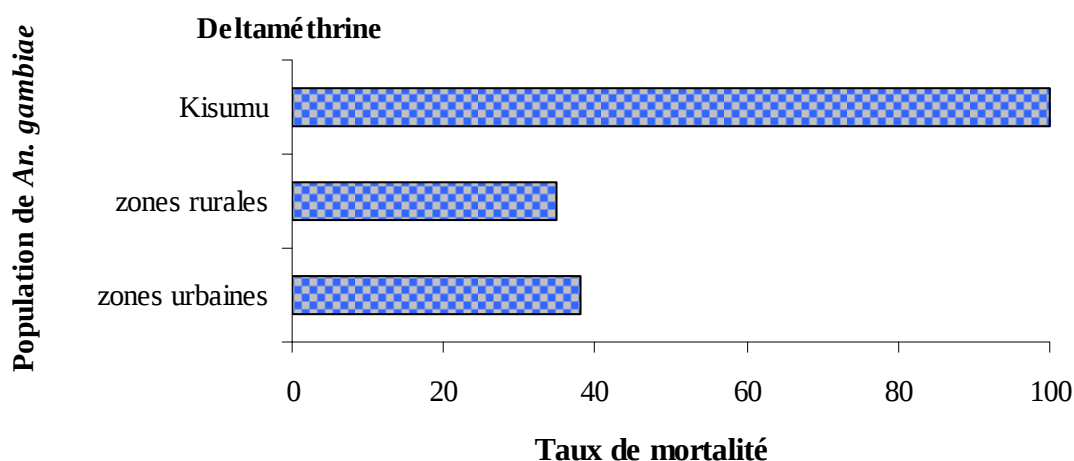


Figure 4. Mortalité observée après exposition des populations d'*An. gambiae* à la deltaméthrine

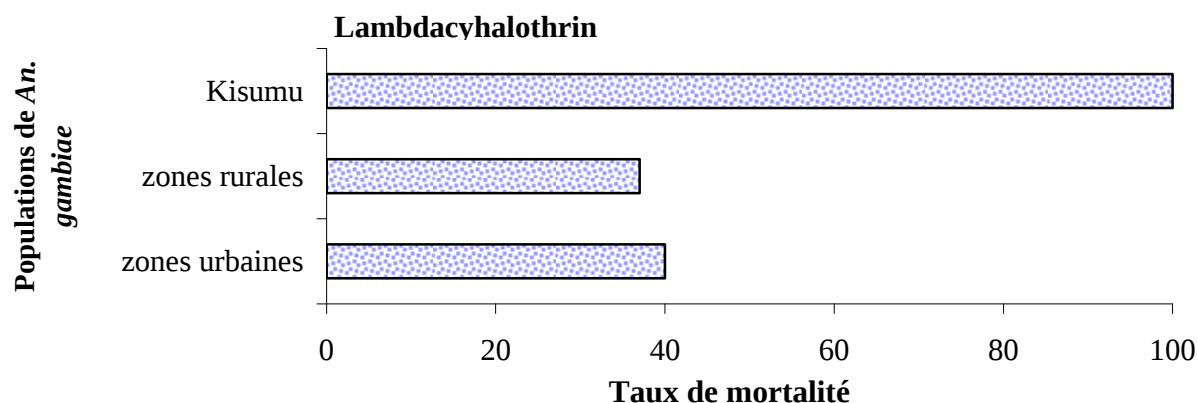


Figure 5. Mortalité observée après exposition des populations d'*An. gambiae* à la lambdacyhalothrine.

IV. DISCUSSION

Les résultats de nos travaux de recherche montrent que les pratiques phytosanitaires en agriculture constituent un facteur de sélection de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides.

En effet, si les résultats de l'enquête ont montré que l'utilisation des insecticides agricoles est une réalité au Bénin, la plupart de ces insecticides restent non recommandés pour l'agriculture. Ceci pourrait s'expliquer par la libéralisation du secteur de vente des intrants en République du Bénin et par le coût élevé que pratiquent les magasins agréés par l'Etat et qui, malheureusement, se trouvent souvent en rupture de stocks. Cette situation ajoutée au faible niveau intellectuel de la plupart des paysans pourrait être une des raisons du non respect du choix des pesticides chimiques et de la mauvaise application des doses recommandées.

Ces traitements qui s'effectuent toutes les semaines envoient des particules d'insecticides dont certaines sont en contact avec le sol et les gîtes, et par conséquent avec les larves de moustiques [10]. La pression exercée par ces insecticides pourrait conduire au développement de la résistance des moustiques, en particulier d'*An. gambiae* vis-à-vis de ces insecticides [18]. Cette résistance reste et continue d'être un handicap à la lutte anti- vectorielle depuis quelques années, suite à la baisse de sensibilité observée chez *An. gambiae* aux pyréthriinoïdes. Les pyréthriinoïdes utilisés par les paysans sont en partie les mêmes que ceux utilisés en santé publique pour combattre les moustiques adultes. Or, ces produits sont les seuls insecticides utilisés dans l'imprégnation des matériaux imprégnés et constituent aujourd'hui la principale arme de protection individuelle et

collective contre les piqûres de moustiques. Parmi ces pyréthriinoïdes, la deltaméthrine reste sans doute le produit le plus utilisé dans l'imprégnation des moustiquaires mais aussi celui qui est le plus utilisé par les paysans. Ainsi, cette utilisation massive des produits phytosanitaires en agriculture a pendant plusieurs années provoquée la contamination de l'environnement notamment des gîtes des moustiques. A la suite de leur application, des molécules de pesticides sont susceptibles de quitter leur site d'application et se comporter comme des micropolluants organiques à l'origine de la pollution de tous les compartiments environnementaux [19].

Nos résultats confirment ceux de Djègbe et *al.* [20] qui ont montré que l'utilisation anarchique des insecticides en agriculture est un des facteurs responsables de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides. Il est urgent de mettre en place des stratégies de lutte intégrée et raisonnée permettant de mieux gérer la résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme

V. CONCLUSION

Cette étude confirme une fois encore que l'utilisation anarchique des insecticides en agriculture est un des facteurs responsables de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides. Il est urgent de mettre en place des stratégies de lutte intégrée et raisonnée permettant de mieux gérer la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides dans cette localité.

REFERENCES

- [1] WHO (2010): World Malaria Report 2009. World Health Organization, Geneva
- [2] Kelly-Hope L, Ranson H, Hemingway J: Lessons from the past : managing insecticide resistance in malaria control and eradication programmes. *Lancet Infectious Disease*. 2008, 8:387 – 9.
- [3] Alonso P L, Lindsay SW, Armstrong S, Keita K, Gomez P, Shenton FC, Hill A, David PH, Fegan G, Cham K: A malaria control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of the Gambia, west Africa. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1993, 2: 37-44.
- [4] Alonso PL, Lindsay SW, Armstrong JR, Conteh M, Hill AG, David PH, Fegan G, de Francisco A., Hall AJ, Shenton FC: The effect of insecticide-treated bed nets on mortality of Gambian children. *Lancet*. 1991, 337: 1499-1502.
- [5] Binka FN, Kubaje A, Adjuik M, Williams LA, Lengeler C, Maude GH, Armah G E, Kajihara B, Adiamah JH, and Smith PG: Impact of permethrin impregnated bednets on child mortality in Kassena-Nankana district, Ghana: a randomized controlled trial. *Tropical Medicine & International Health*. 1996, 1:147-154.
- [6] Ministère de la Santé : Annuaire des statistiques sanitaires 2006. Direction de la Programmation et de la Prospective Cotonou 2007, 209 pages.
- [7] Ndiath MO, Mazenot C, Sokhna C, Trape J-F. How the malaria vector *Anopheles gambiae* adapts to the use of insecticide-treated nets by African populations. *PLoS One*. 2014;9:e97700
- [8] Mathias DK, Ochomo E, Atieli F, Ombok M, Nabie Bayoh M, Olang G, et al. Spatial and temporal variation in the kdr allele L1014S in *Anopheles gambiae* s.s. and phenotypic variability in susceptibility to insecticides in western Kenya. *Malaria Journal*. 2011;10:10
- [9] Jones CM, Toé HK, Sanou A, Namountougou M, Hughes A, Diabaté A, et al. Additional selection for insecticide resistance in urban malaria vectors: DDT resistance in *Anopheles arabiensis* from Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. *PLoS One*. 2012;7:e45995.
- [10] Akogbeto M C, Djouaka, Noukpo H: Use of agricultural insecticides in Benin. *Bull Soc Pathol Exot* 2005, 98: 4005.
- [11] Yadouleton AW M, Asidi A, Rousseau FD, Braïma J, Agossou CD, and Akogbeto MC: Development of vegetable farming: a cause of the emergence of insecticide resistance in populations of *Anopheles gambiae* in urban areas of Benin. *Malaria Journal*. 2009, 8: 103.
- [12] Martin T, Assogba-Komlan F, Sidick I, Ahle V, Chandre F: An acaricide-treated net to control phytophagous mites. *Crop Protection*. 2010, 5: 470-475.
- [13] Yadouleton AW, Martin T, Padonou G, Chandre F, Alex A, Djogbenou L, Dabiré R, Aïkpon R, Glitoh I, Akogbeto MC: Cotton pest management strategies on the selection of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* populations in northern Benin . *Parasites and Vectors* 2011, 4:60
- [14] Akogbéto M, Padonou GG, Gbénou D, Irish S, Yadouleton A. Bendiocarb, a potential alternative against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* in Benin, West Africa. *Malaria Journal*.. 2010, 9: 204
- [15] Anderson N, Hobo L: Sociologie des sans-abris. *Paris Nathan*, 1993
- [16] Snedecor GW, Cochran WG : Méthodes statistiques. *Association de Coordination Technique Agricole (Ed.)*, 1971 ; 649 p
- [17] WHO. Evaluation de la santé. *Rapport sur la Santé dans le monde. La vie au 21^e siècle, une perspective pour tous*, *World Health Organisation (ed)*, Genève Suisse, 1998, 43-65.
- [18] Akogbeto M C, Djouaka RF, and Kinde-Gazard DA: Screening of pesticide residues in soil and water samples from agricultural settings. *Malaria Journal*. 2006, 5: 22
- [19] Carletto J, Martin T, Vanlerberghe-Masutti F, Brévault T: Insecticide resistance traits differ among and within host races in *Aphis gossypiti*: *Pest management science*. 2010, 66 (3): 301-307
- [20] Djegbe I, Boussari O, Sidick A, Martin T, Ranson H, Chandre F, Akogbeto M, Corbel V. Dynamics of insecticide resistance in malaria vectors in Benin: first evidence of the presence of L1014S kdr mutation in *Anopheles gambiae* from West Africa. *Malaria Journal*. 2011;10:261.