

Résistance aux insecticides des moustiques vecteurs d'arbovirus en France

Fabrice CHANDRE



Introduction

- ▶ Arbovirus: arthropod borne viruses (Flaviviridae, Bunyaviridae, Togaviridae ...)

▶ Moustiques, Tiques, Phlébotomes, Culicoides

- ▶ Arbovirus potentiels transmis par les moustiques en France: Dengue, Chikungunya, Zika, West Nile, Fièvre Vallée du Rift, Fièvre jaune



Aedes aegypti



Aedes albopictus



Culex pipiens
Cx p. quinquefasciatus

Aedes aegypti et *Aedes albopictus*



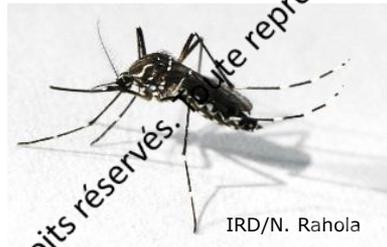
Martinique



Guadeloupe

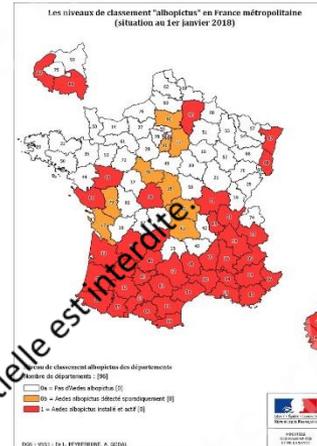


Guyane



IRD/N. Rahola

Aedes aegypti



IRD/N. Rahola

Aedes albopictus



Mayotte



La Réunion

Aedes aegypti et *Aedes albopictus*

- ▶ Très grande diversité des habitats larvaires

- ▶ Gîtes domestiques



- ▶ Gîtes péri-domestiques



- ▶ Gîtes naturels



- ▶ Plasticité physiologique et écologique des *Aedes*

- ▶ Anthropophile mais opportuniste (aux domestiques)
- ▶ Diurne, pique au lever du jour et en fin d'après midi
- ▶ La femelle pond qq œufs dans de nombreux gîtes
- ▶ En l'absence de pluies les œufs résistent à la dessiccation
- ▶ Diapause des œufs en hiver pour *A. albopictus*



Méthodes de lutte intégrée

- Élimination des gîtes larvaires

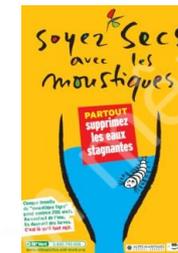


- Protection des réserves d'eau



- Information et mobilisation sociale

- Protection personnelle (répulsifs)



- Lutte insecticide par les opérateurs publics (ARS, CG, EID...) en cas de circulation virale

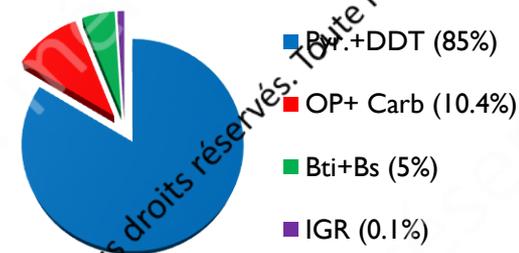


Insecticides en lutte antivectorielle

▶ 6 familles d'insecticides utilisées en LAV

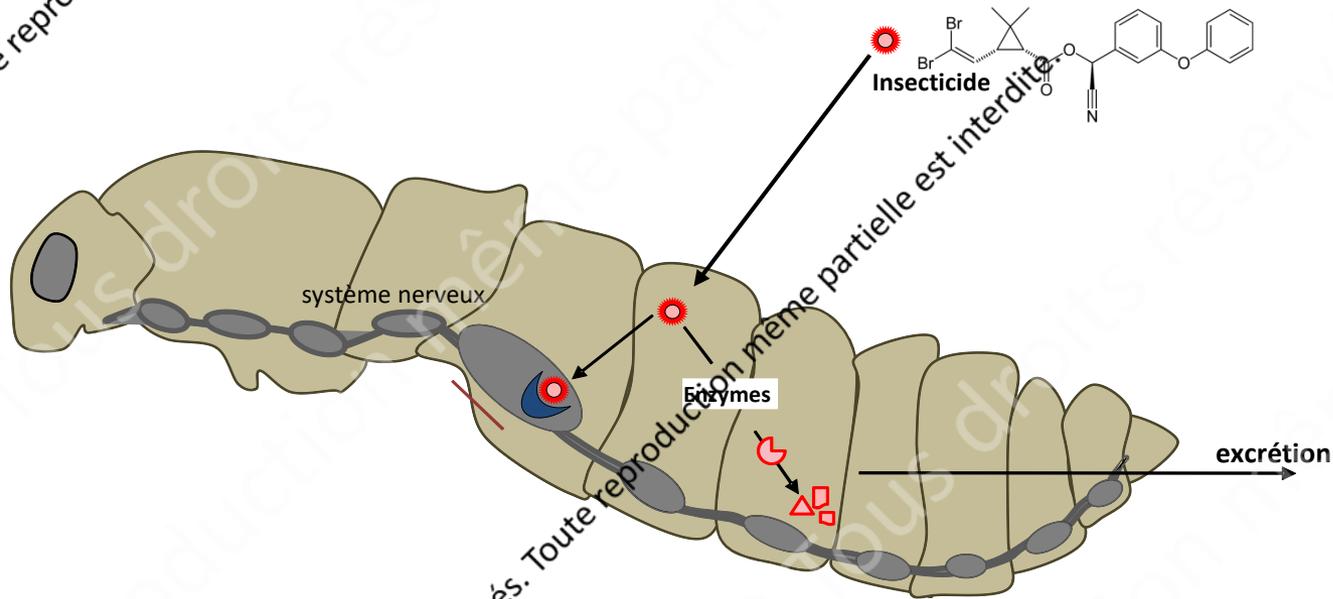
- ▶ Pyréthinoïdes et Organochloré (DDT)
 - ▶ Inhibiteurs du Canal Sodium Voltage dépendant
 - ▶ Action rapide (knockdown), effet irritant, adulticides
- ▶ Organophosphorés et Carbamates
 - ▶ Inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, adult-/larvicides
- ▶ Régulateurs de croissance
 - ▶ Analogues hormonaux,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

Neurotoxiques
95%
2 cibles !

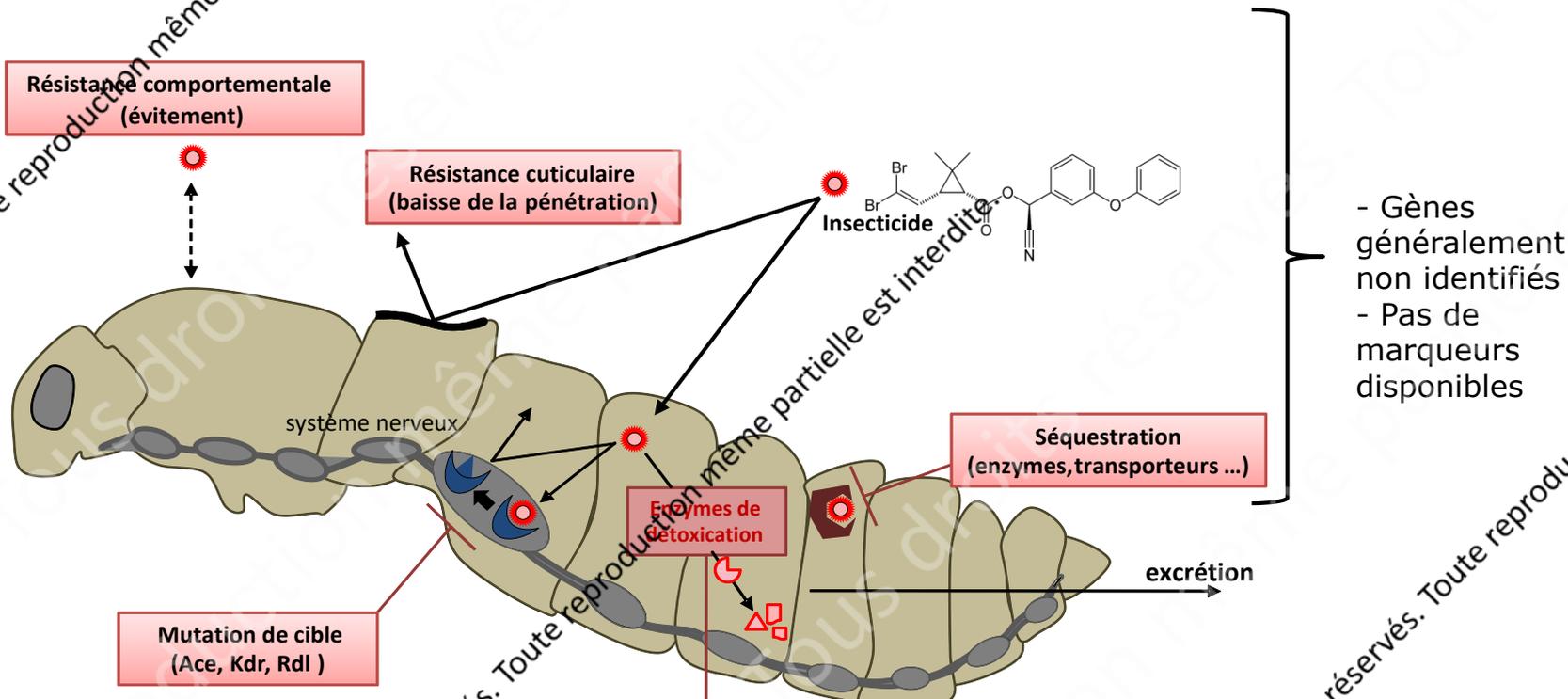


% tonnage annuel
WHO, 2011 Global Insecticide Use
for Vector-Borne Disease Control

Principaux mécanismes de résistance



Principaux mécanismes de résistance



- Gènes généralement non identifiés
- Pas de marqueurs disponibles

- Gènes cibles connus (Ace, VGSC, Gaba R) en nombre limité
- Mutations identifiées
- Marqueurs utilisables

Résistance métabolique
(P450s, Estérases, GSTs, ...)

- Très nombreux gènes (P450, estérases, GST)
- Partiellement identifiés
- Peu de marqueurs sf expression (ARNm, protéines)

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

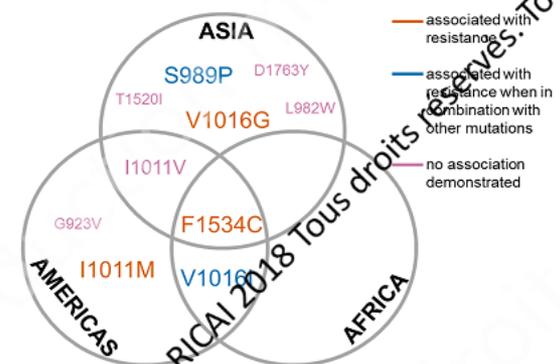
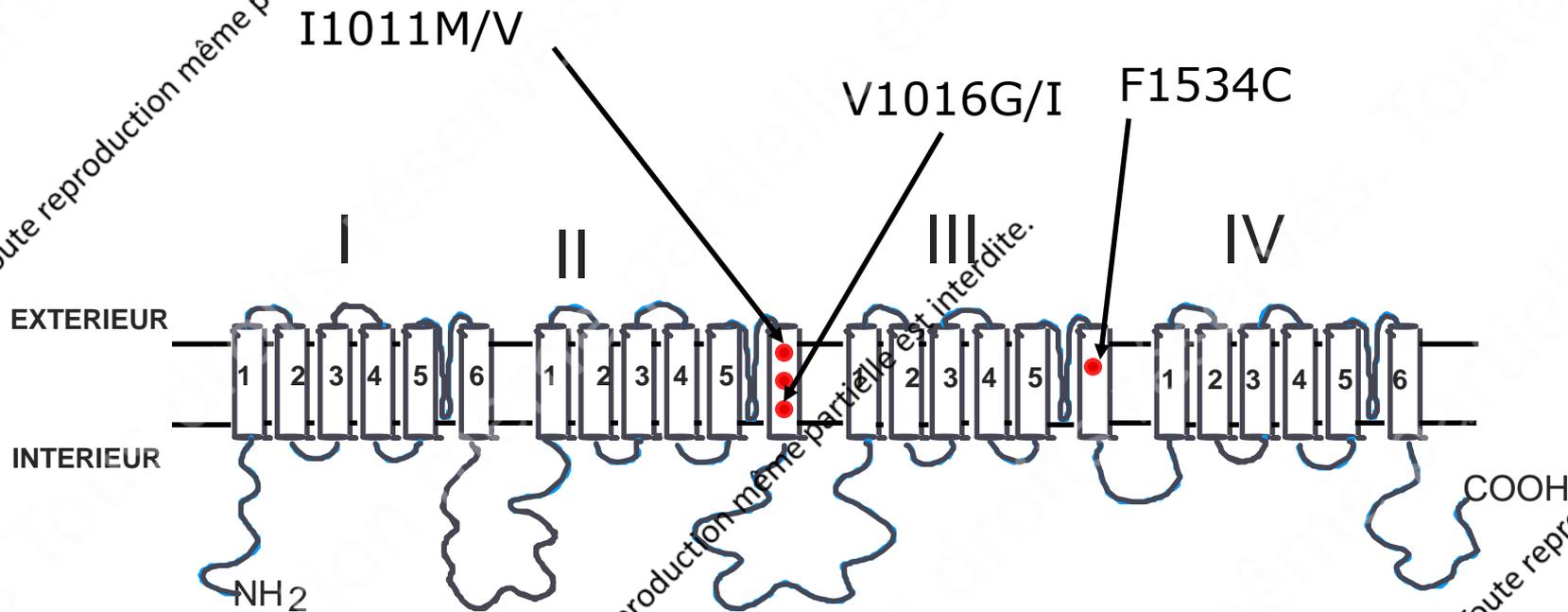


Fig 5. The geographical distribution of the 10 known voltage-gated sodium channel (VGSC) mutations in *Aedes aegypti* across the 3 continents in which they have been detected. Association of each mutation with pyrethroid resistance is shown in the key. Font size gives an indication of relative frequency.

Moyes et al. 2017 Plos NTD

Séquençage haut débit et marqueurs de résistance

Objectif : séquençage haut débit de gènes ciblés pour analyser les variations de nombres de copies de gènes et le polymorphisme associés à la résistance aux pyréthrinoides d'*Ae. aegypti*.

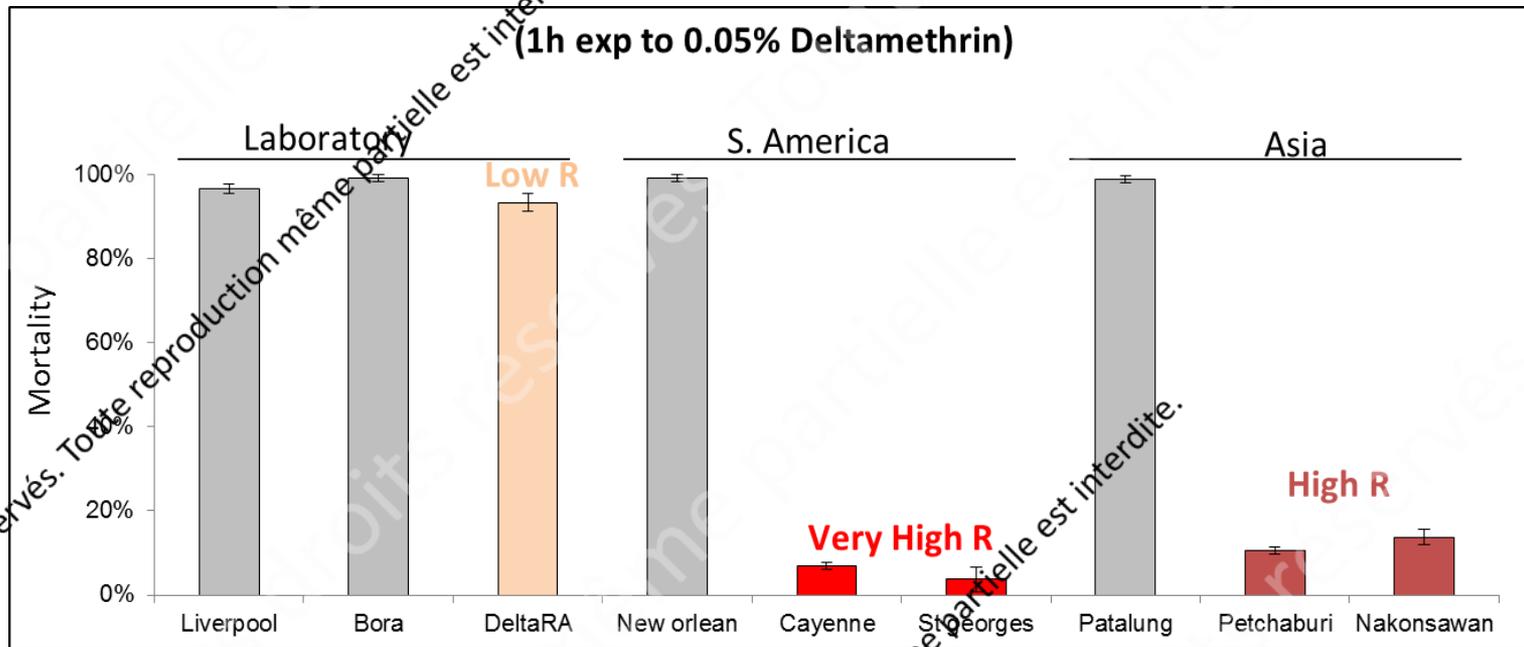
> screen de nouveaux marqueurs ADN de Résistance aux pyréthrinoides

- populations résistantes de Guyane et de Thaïlande + 1 souche sélectionnée au laboratoire (Bora-Bora > DeltaR).
- populations sensibles des mêmes zones (similar genetic background)



Faucon et al., Genome Research, 2015

Résistance des populations de Guyane et de Thaïlande à la deltaméthrine



Très forte résistance en Guyane Française (mortalité < 6 % and $KDT_{50} > 8h!$)

Forte résistance en Thaïlande (mortalité < 15 % and $KDT_{50} > 90$ min)

Faible résistance sur la souche sélectionnée au laboratoire

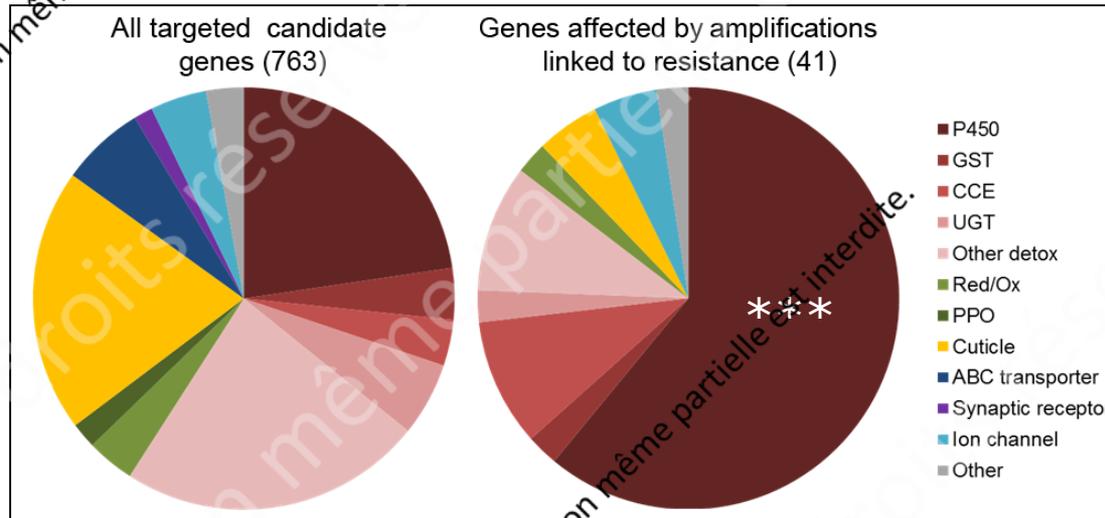
Bioessais dose-réponse sur les adultes

(1h exposition à des doses croissantes de deltaméthrine sur papiers imprégnés)

- Sensibles $LD_{50} = 0.001\%$
- populations Thai $LD_{50} = 0.25\%$
- populations Guyane $LD_{50} = 0.75\%$

Fauconnet et al., Genome Research, 2015

Variation du nombre de copies de gènes liées à la résistance à la deltaméthrine



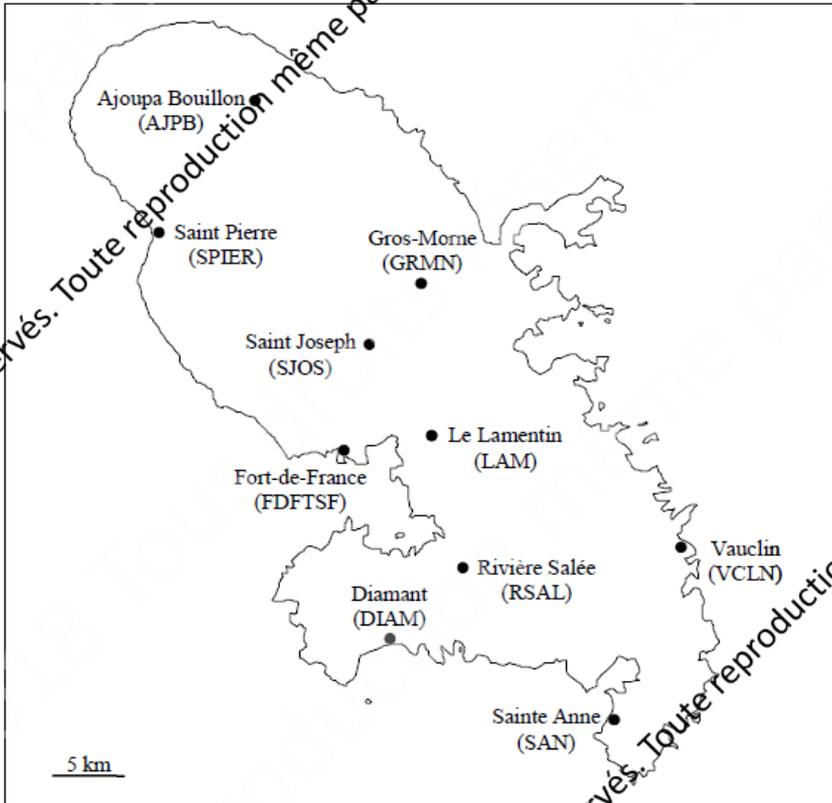
Faucon et al., Genome Research, 2015

41 associés à la résistance à la deltaméthrine ont un nombre de copies significativement plus élevés chez les résistants (amplification génique): surtout gènes de détoxification et en majorité P450 & carboxylestérases

Par ailleurs 55 variations non synonymes corrélées avec la résistance à la deltaméthrine (surtout gènes détoxification)

Résistance d'*Aedes aegypti* à la Martinique

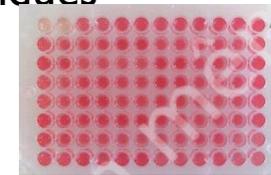
Marcombe et al., Plos One 2012



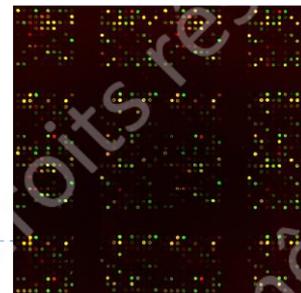
- ▶ 10 populations
- ▶ Bioessais larves/adultes



Tests biochimiques

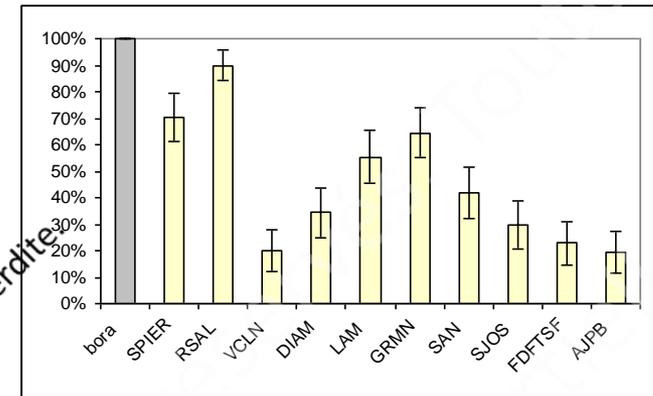


- ▶ Tests moléculaires
 - ↳ Séquençage (kdr/Ace I R)
 - ↳ Micro-arrays de tox chip



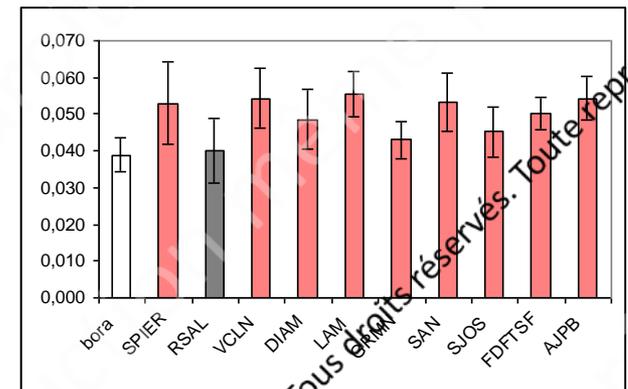
Résistance d'*Aedes aegypti* à la Martinique

- ▶ 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.

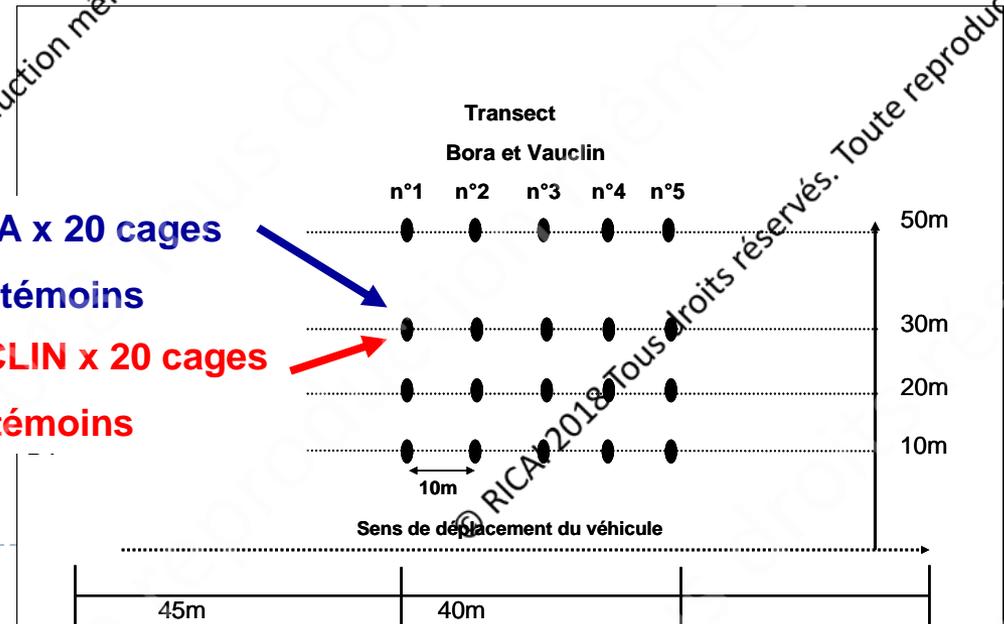
- ▶ Augmentation de la quantité de monooxygénases à cytochrome P450
- ▶ Rôles des α -estérases et GST
- ▶ Identification de plusieurs gènes de detox surexprimés par μ arrays
- ▶ Forte fréquence allélique de la mutation KDR Val1016Iso dans toutes les populations $0.87 < F(kdr) < 0.99$
- ▶ Absence mutations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



Qté moy d'oxygénases (en nmol P450U/mg)

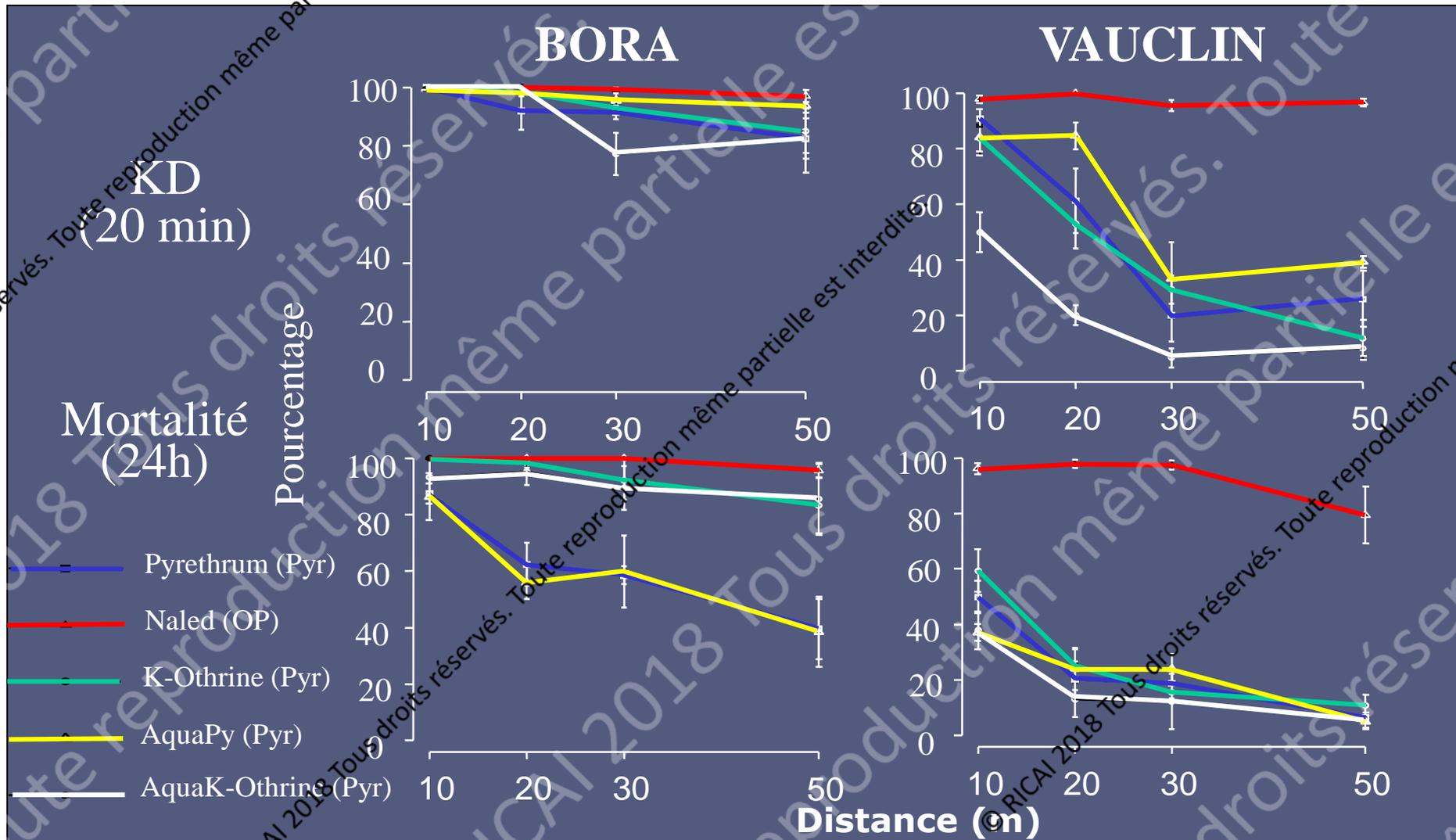
Impact des pulvérisations spatiales sur une population d'*Ae aegypti* résistante à la deltaméthrine (phase II)

Marcombe et al., AJTMH 2008

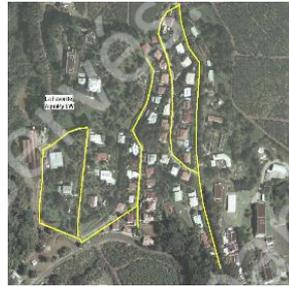


Impact des pulvérisations spatiales sur une population d'*Ae aegypti* résistante à la deltaméthrine (phase II)

Marcombe et al., AJTMH 2008



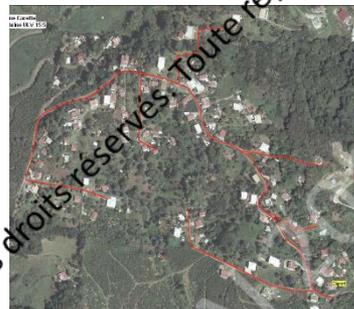
Efficacité des adulticides en aspersion spatiales (phase III)



AquaPy
(Pyrethrine+PBO)



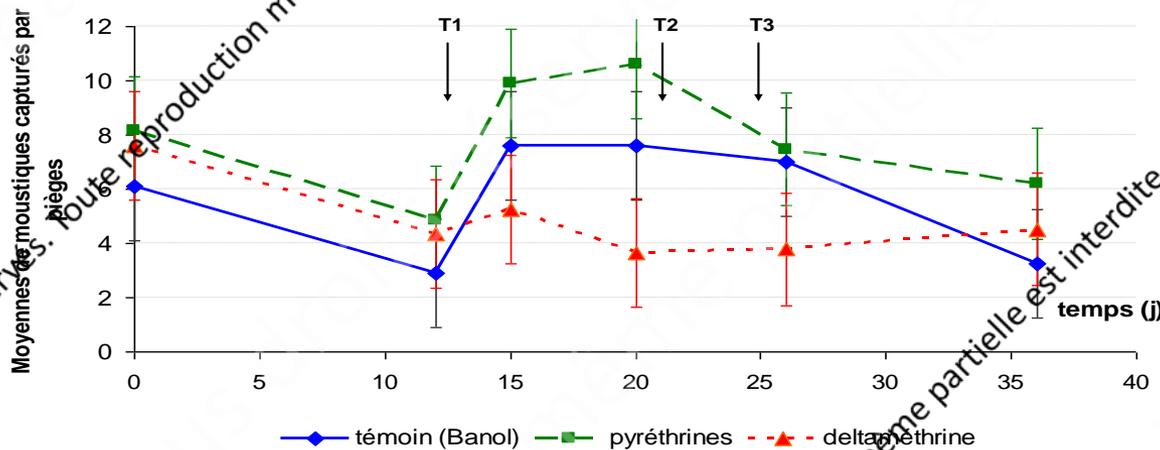
Témoign Banole



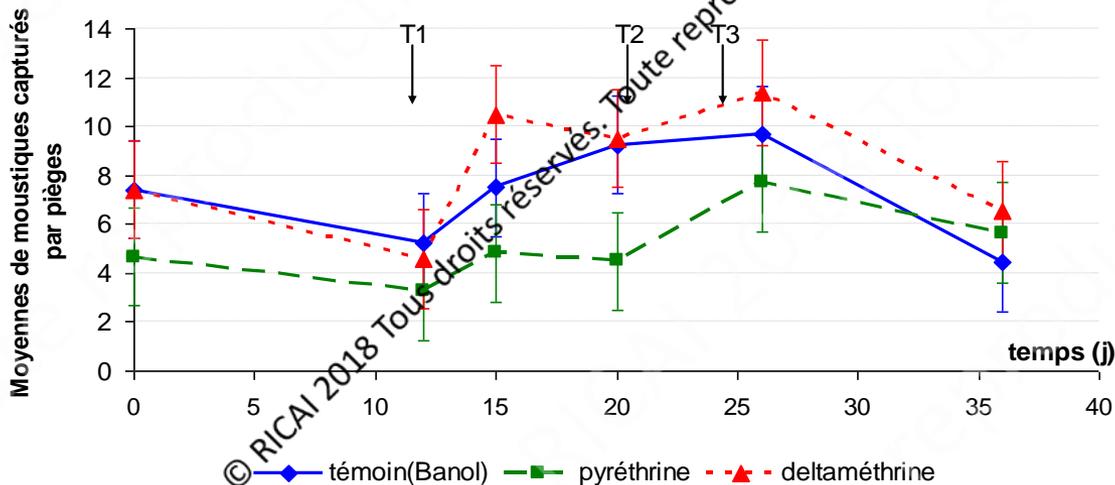
K-Othrine ULV
(deltaméthrine)

Efficacité des adulticides en aspersions spatiales (phase III)

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



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



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

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

Raréfaction des molécules biocides

Adulticide UE

Deltaméthrin (Pyr)

Adulticides OMS

Malathion (OP)

Fenitrothion (OP)

Pyrimiphos methyl (OP)

Bendiocarb (Carb)

Permethrin (Pyr)

Deltaméthrin (Pyr)

Bifenthrin (Pyr)

Cyfluthrin (Pyr)

Alpha-cyperméthrin (Pyr)

Lambda-cyhalothrin (Pyr)

Etofenprox (Pyr)

DDT (OC)

Larvicides UE

Bti (ins. bactérien)

Bs (ins. bactérien)

Pyriproxyfen (analog HJ)

Methoprene (analog HJ)

Diflubenzuron (Chitin Synt inhib)

Larvicides OMS

Bti (ins. bactérien)

Bs (ins. bactérien)

Chlorpyrifos (OP)

Fenthion (OP)

Terbufos (OP)

Pyrimiphos methyl (OP)

Diflubenzuron (Chitin Synt inhib)

Novaluron (Chitin Synt inhib)

Pyriproxyfen (analog HJ)

Spinosad (ins. bactérien)

Moustiquaires Imprégnées UE

Permethrin (Pyr)

Alpha Cyperméthrin (Pyr)

Moustiquaires Imprégnées OMS

Permethrin (Pyr)

Deltaméthrin (Pyr)

Cyfluthrin (Pyr)

Alpha-cyperméthrin (Pyr)

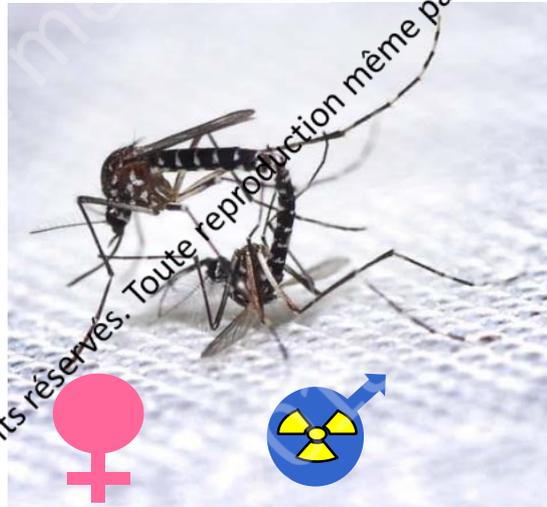
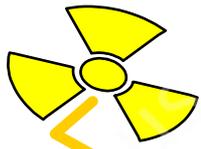
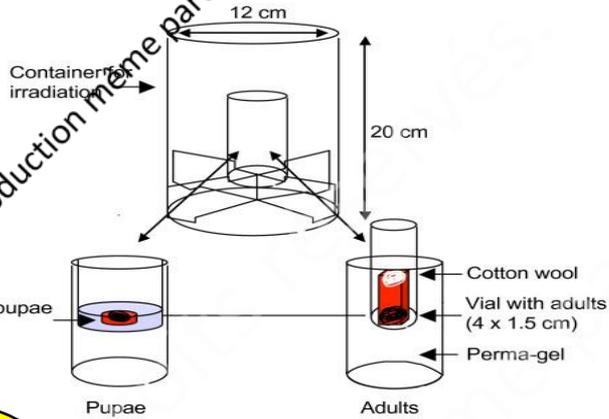
Lambda-cyhalothrin (Pyr)

Etofenprox (Pyr)

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

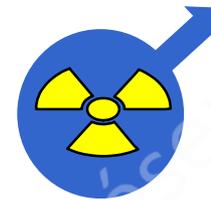
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Recherche de stratégies alternatives : lâcher de mâles de moustiques stérilisés d'*Aedes albopictus* (*Chikungunya, Dengue*) à la Réunion (IRD/DGS/Région)



Irradiation rayon gamma 40 à 100 Gy

Milieu naturel



Relâchés stériles

×



Sauvages



Pas de descendance

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés.



4 volets de recherche sur conditions opérationnelles

Volet 1: Biologie des vecteurs

Comportement sexuel, génétique des populations, compétition, dynamique...

Volet 2: Technologie

Elevage de masse, séparation des sexes (lâchers de mâles), technique de stérilisation

Volet 3: Modélisation et simulation

Compétition, fitness, dispersion, évaluation des risques, impact

Volet 4: Sciences sociales et humaines

Impact socio-économique et acceptation de la méthode à La Réunion

Exemples de résultats de recherche volet 1 et 2

COMPORTEMENT SEXUEL

Aedes albopictus male **NON** STERILISE peut s'accoupler avec **17** femelles différentes en 15 jours

Aedes albopictus male **STERILISE** peut s'accoupler avec **10** femelles :

LES IRRADIÉS SONT MOINS PERFORMANTS

LONGEVITE IDENTIQUE des males irradiés et non irradiés (gamma 40 grays)

Nouvelles stratégies: dispersion des inhibiteurs de croissance dans les gîtes larvaires par les femelles d'*Ae. aegypti* (Iquitos trial, Peru avec pyriproxifen)

Devine *et al.*, PNAS, 2009

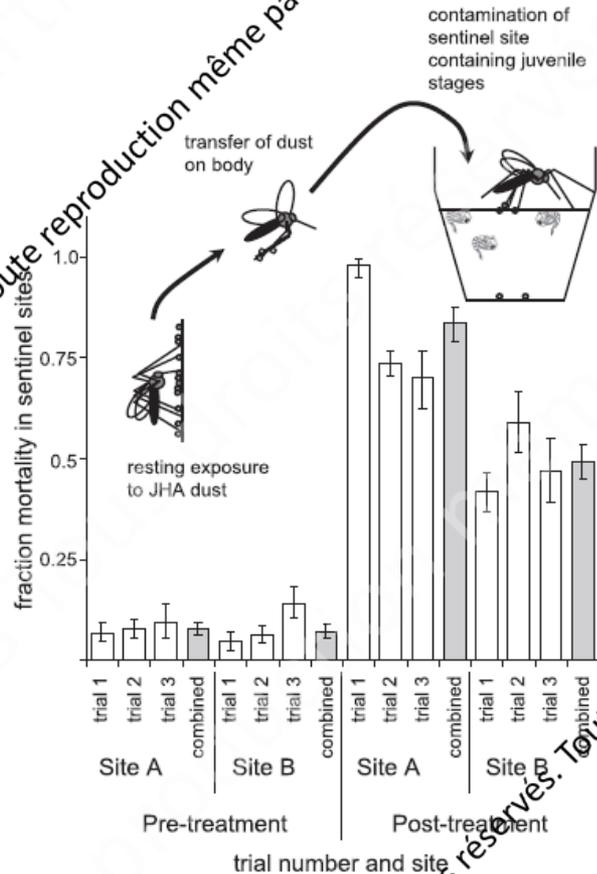
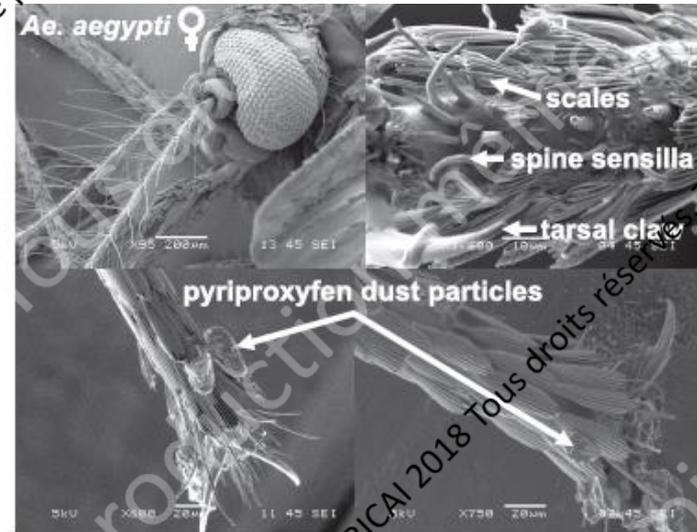
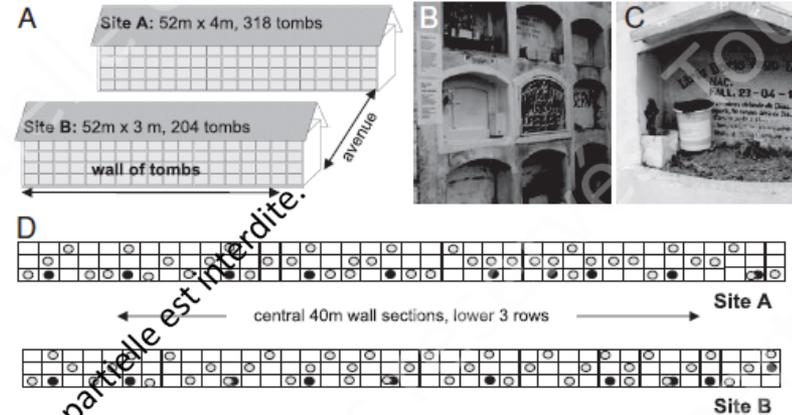


Fig. 2. Effect of the presence of JHA-treated dissemination stations on the mortality of juvenile cohorts developing in sentinel sites (mean \pm 95% confidence limits). Schematic shows how adults transfer JHA to the sentinel sites.

Site A : 84 % de mortalité
Site B : 49% de mortalité

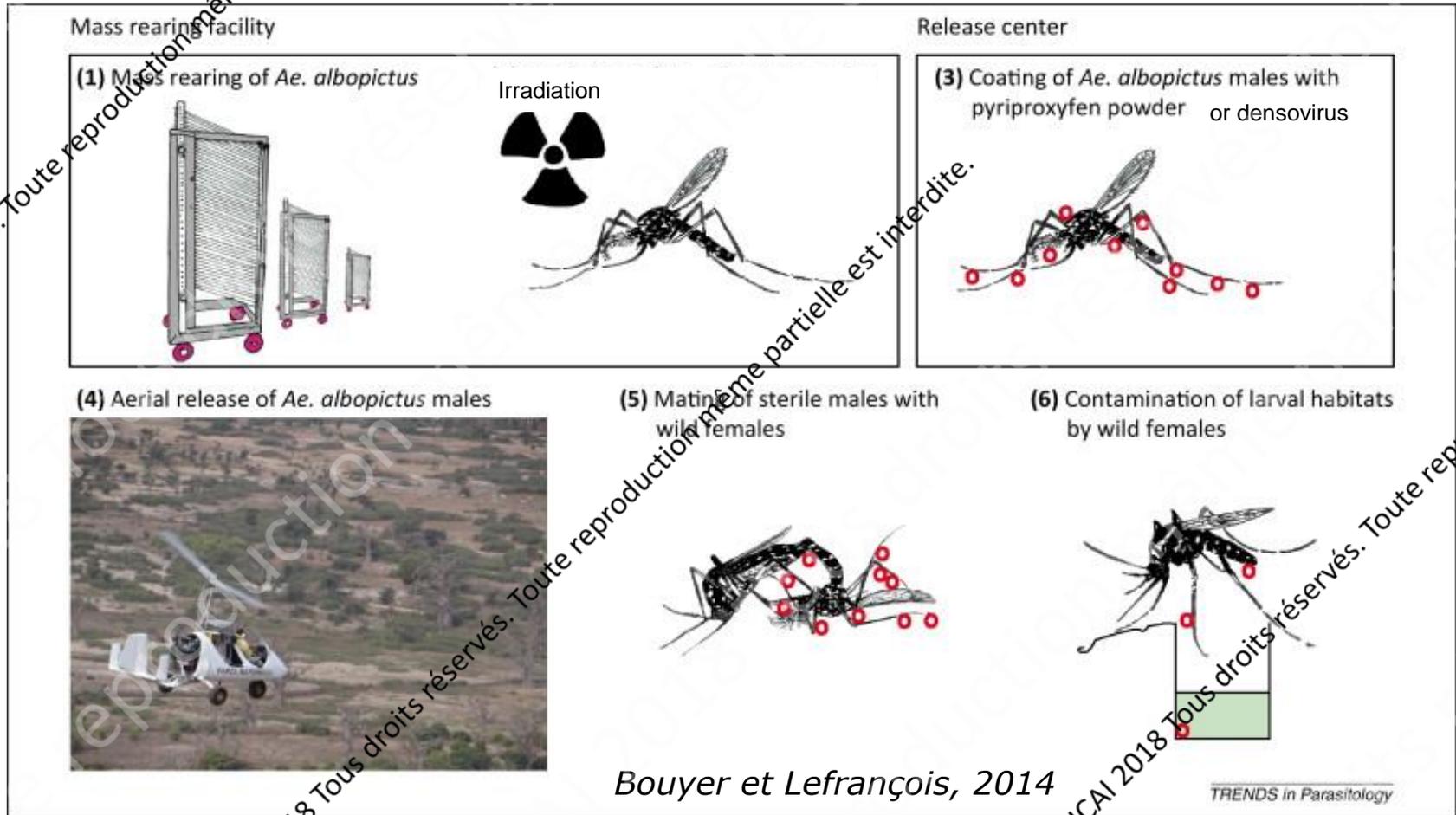


Roehampton Centre for Bio Imaging 2008

Fig. 5. SEM image of JHA particles adhering to the tarsi of an *A. aegypti* female. The large and complex surface area of a mosquito leg is ideal for such adhesion and transfer.

Combinaison de TIS + Autodissémination

Boosted SIT (Projet UE ERC Revolinc-CIRAD)



Conclusions

- ▶ **Résistance des vecteurs est une menace majeure pour les opérations de lutte visant à réduire la transmission des arbovirus**
- ▶ **Nombreuses voies de recherche**
 - ▶ Recherche sur les stratégies alternatives comme la TIS ou les bactéries endosymbiontes (Wolbachia)
 - ▶ Poursuite des recherches sur les associations d'insecticides
 - ▶ Etude des facteurs environnementaux, en particulier le lien entre pollution et résistance, ainsi que l'impact des autres usages (agriculture, particuliers, 3D)
 - ▶ Efficacité opérationnelle de nouveaux insecticides (GT ANSES, Industries, IVCC),
 - ▶ Sensibilité d'*Ae albopictus* aux insecticides et mécanismes éventuels si résistance
 - ▶ Développement de tests rapides pour la caractérisation des mécanismes de résistance
 - ▶ Etude des relations entre niveaux de résistances et impacts opérationnels (affiner les seuils d'alerte)
 - ▶ Evaluation économique du coût socio-économique (et bénéfices à long terme) de la gestion de la résistance

Worldwide Insecticide resistance Network (WIN) in mosquito vectors of emerging arboviruses



Distribution, mechanisms, dynamics and impact of insecticide resistance

Arbovirus Vector control: A comprehensive review

Insecticide Resistance Management strategies applicable to arbovirus vectors

Alternative methods for the control of mosquito vectors of arboviruses



11 RESEARCH CENTERS
7 UNIVERSITIES
13 NATIONALITIES

