

## Données récentes sur la sensibilité d'*Anopheles arabiensis* et d'*Anopheles funestus* aux pyréthri-noïdes et au DDT sur les Hautes Terres Centrales de Madagascar - Résultats préliminaires montrant une absence de la mutation *kdr* chez *An. arabiensis*

Ratovonjato J<sup>1</sup>, Le Goff G<sup>1,2</sup>, Rajaonarivelo E<sup>1</sup>, Rakotondraibe EM<sup>3</sup>, Robert V<sup>1,2</sup>

**RESUME** : *Anopheles arabiensis* et *Anopheles funestus* sont les vecteurs principaux du paludisme sur les Hautes Terres Centrales de Madagascar. Dans le cadre des CAID (Campagnes d'Aspersions Intradomiciliaires) d'insecticide, ces deux espèces de moustiques ont été ou sont encore en contact depuis plusieurs années avec des insecticides. Le suivi de la sensibilité de ces deux vecteurs aux insecticides est essentiel pour les directives de lutte anti-vectorielle. Cet article rapporte des études faites entre 2000 et 2003 sur :

- des tests de sensibilité d'*An. arabiensis* et l'observation de l'effet knock down contre cinq papiers imprégnés de pyréthri-noïdes ( $\alpha$ -cyperméthrine 0,025%, cyfluthrine 0,150%, deltaméthrine 0,050% et perméthrine 0,250%) et de DDT 4% dans trois villages du Moyen-Ouest (district de Tsiroanomandidy) et dans un village de la plaine d'Antananarivo;

- des tests de sensibilité d'*An. funestus* dans un village du district de Miandrivazo contre quatre papiers imprégnés de pyréthri-noïdes (cyfluthrine 0,150%, deltaméthrine 0,050% et  $\lambda$ -cyhalothrine 0,050%) et de DDT 4%;

- les résultats préliminaires sur l'absence d'une éventuelle mutation *kdr*, responsable de la résistance au DDT et aux pyréthri-noïdes, chez une population d'*An. arabiensis* de la plaine d'Antananarivo résistante au DDT.

Les populations d'*An. arabiensis* du Moyen-Ouest et de la plaine d'Antananarivo montrent une baisse de sensibilité, voire une résistance au DDT 4%; cette baisse de sensibilité a été confirmée par l'allongement du Temps kd 99. Aucune mutation de type *kdr* n'a été mise en évidence parmi les anophèles résistants.

Ces anophèles sont sensibles à la perméthrine (0,250%) et montrent une légère, mais néanmoins surprenante, baisse de sensibilité à un autre pyréthri-noïde, l' $\alpha$ -cyperméthrine.

Dans le district de Miandrivazo, *An. funestus* reste parfaitement sensible aux pyréthri-noïdes et au DDT.

En conclusion, sur les Hautes Terres Centrales de Madagascar, *An. arabiensis* est généralement sensible aux pyréthri-noïdes et peu sensible, voire résistant au DDT (comme dans la plaine d'Antananarivo). Au contraire, *An. funestus* est sensible à tous les insecticides testés; cette observation est essentielle puisque c'est *An. funestus* qui est la cible prioritaire des CAID.

**Mots-clés** : Pyréthri-noïdes - DDT - Sensibilité - Effet knock-down - Mutation *kdr* - *Anopheles arabiensis* - *Anopheles funestus* - Madagascar.

**ABSTRACT** : "Recent observations on the sensitivity to pyrethroids and DDT of *Anopheles arabiensis* and *Anopheles funestus* in the central Highlands of Madagascar; preliminary results on the absence of the *kdr* mutation in *An. arabiensis*". *Anopheles arabiensis* and *Anopheles funestus* are the principal vectors of malaria on the central highlands of Madagascar. These two species of mosquito are directly or indirectly the targets of indoor insecticide spread. The survey of the susceptibility of these two vectors to insecticides is essential specifying for the anti-vectorial current directives and for the future programs. This paper describes :

- the recent tests of susceptibility and the study of the knock-down effect of four pyrethroids (deltamethrin 0.50%, permethrin 0.250%,  $\alpha$ -cypermethrin 0.025%, cyfluthrin 0.150%) and DDT 4% on *An. arabiensis* collected from December 2002 to May 2003 in three villages on the district of Tsiroanomandidy and in Alasora, a rural area near the capital, Antananarivo.

- the susceptibility tests of *An. funestus* realised in Morafeno, against cyfluthrin 0.150%, deltamethrin 0.050%,  $\lambda$ -cyhalothrin 0.050% and DDT4%.

- the preliminary study of the *kdr* gene mutation, which might account for the pyrethrinoid and DDT resistance, of *An. arabiensis* in Alasora.

<sup>1</sup> Groupe de Recherche sur le Paludisme, Institut Pasteur de Madagascar, BP 1274 - 101 Antananarivo - Madagascar.

<sup>2</sup> Institut de Recherche pour le Développement, BP 434 - 101 Antananarivo - Madagascar.

<sup>3</sup> Service de Lutte contre le Paludisme et la Peste, Ministère de la Santé, BP 460 - 101 Antananarivo - Madagascar.

The data indicate a decrease in the efficiency of  $\alpha$ -cypermethrin 0.025% (Tkd99 = 21 mn) and of DDT 4% (Tkd99 = 191.5 mn) on *An. arabiensis* in Analamiranga. Nevertheless, the effectiveness of permethrin 0.250% has been notified. In Soanierana,  $\alpha$ -cypermethrin 0.025% was effective against *An. arabiensis*, whilst the ineffectiveness of the DDT 4% (Tkd99= 116 mn) in Andranonahoatra was observed. In Alasora, a fall in the effectiveness of  $\alpha$ -cypermethrin 0.025% (Tkd99 = 21 mn) and the resistance to DDT 4% (Tkd99 = 6894 mn) was noted. No *kdr* mutation was detected on the *kd* gene of *An. arabiensis* resistant to the  $\alpha$ -cypermethrin 0.025% and to DDT 4%, collected in Alasora.

*An. funestus* collected in the district of Miandrivazo is susceptible to pyrethroids and to DDT. To conclude, in the Malagasy Central Highlands, *An. arabiensis* is ordinary sensitive to pyrethroid and poorly sensitive, or even resistant to DDT (as observed in Antananarivo plain). However, *An. funestus* remains sensitive to all tested insecticides; this observation is crucial because this anopheles vector is the first target of the campaigns of indoor spraying insecticides.

Key-words : Insecticides - Susceptibility - Knock-down - *kdr* mutation - *Anopheles arabiensis* - *Anopheles funestus* - Madagascar.

## INTRODUCTION

Depuis son utilisation en 1949, le DDT reste l'insecticide de choix dans le cadre du programme national de lutte contre le paludisme à Madagascar [1]. Les dernières études faites sur la sensibilité des deux principaux vecteurs du paludisme : *Anopheles gambiae* *sl* et *An. funestus* au DDT et aux pyréthrinoïdes ont été menées après la grande campagne de pulvérisation de DDT dans le cadre de l'OPID (Opération de Pulvérisation IntraDomiciliaire) de 1993 à 1997 sur les Hautes Terres Centrales (HTC) de Madagascar [2].

A Madagascar, les informations sur la sensibilité des moustiques vecteurs aux insecticides sont souvent partielles.

Depuis 1997, le cycle des aspersions intradomiciliaires de DDT menées sur les HTC de Madagascar a tendance à s'espacer. [Raharimanga R - Ministère de la Santé Madagascar - communication personnelle].

Cet article présente les résultats des essais biologiques réalisés en 2000, 2002 et 2003 et les résultats de l'étude de la possible association de la résistance des vecteurs au DDT à celle des pyréthrinoïdes mentionnée depuis 1998 chez *An. gambiae* d'Afrique de l'Ouest [3]. Les résultats des études préliminaires des mécanismes de résistance aux insecticides sont également rapportés.

## MATERIEL ET METHODES

### Moustiques

La spécificité moléculaire des spécimens d'*An. gambiae* *sl* n'a pas été vérifiée pour la totalité des femelles testées lors des bio-essais; en revanche, elle a été systématique pour tous les spé-

cimens qui ont survécu à la période d'exposition à l'insecticide puis de mise en observation de 24 heures. Par ailleurs, une étude récente centrée sur la répartition des membres du complexe *An. gambiae* à Madagascar [4] a rapporté la présence de la seule espèce *An. arabiensis* (sur 777 spécimens testés) dans les mêmes villages et aux mêmes périodes où nous avons travaillé. C'est pourquoi, dans cet article, nous prenons le risque raisonné d'attribuer les résultats de la sensibilité des membres du complexe *An. gambiae* dans le Moyen-Ouest et dans la plaine d'Antananarivo à *An. arabiensis*.

### *Anopheles arabiensis*

Les adultes d'*An. arabiensis* (génération F0, moustiques sauvages) testés en bio-essais ont été des femelles gorgées, collectées en puits de Muirhead-Thomson, en décembre 2002 et en février 2003, dans trois villages du district de Tsiroanomandidy : Andranonahoatra (19°00'34"S; 46°25'21"E), Analamiranga (19°14'35"S; 46°16'22"E) et Soanierana (19°08'42"S; 46°25'26"E).

Ces trois villages se trouvent à des altitudes comprises entre 885 et 920 m.

Les adultes femelles d'*An. arabiensis* (génération F1, moustiques mis en élevage à l'insectarium de l'Institut Pasteur de Madagascar [IPM]) testés en bio-essais ont été des femelles à jeun âgées de 2 à 5 jours, obtenues à partir de pontes de femelles sauvages capturées en puits de Muirhead-Thomson à Analamiranga, Andranonahoatra et Soanierana et dans des étables à Alasora (18°56'60"S; 47°34'00"E, district d'Antananarivo), de mars à mai 2003.

### *Anopheles funestus*

Les tests ont été réalisés sur des femelles d'*An. funestus* sauvages gorgées collectées au

repos, le matin dans des chambres à coucher dans le village de Morafeno du district de Miandrivazo (19°30'36"S; 45°27'36"E) en mars 2000.

### Insecticides

Six insecticides (sur papiers imprégnés) appartenant à deux familles ont été testés aux concentrations suivantes :

- deltaméthrine 0,050% (pyréthrianoïde),
- $\alpha$ -cyperméthrine 0,025% (pyréthrianoïde),
- $\lambda$ -cyhalothrine 0,050% (pyréthrianoïde),
- cyfluthrine 0,150% (pyréthrianoïde),
- perméthrine 0,250% (pyréthrianoïde),
- DDT 4% (organochloré).

Les papiers ont été imprégnés au laboratoire de lutte contre les insectes nuisibles (LIN) à Montpellier à des doses diagnostiques validées par l'OMS [5]; sauf pour l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025%. (Au LIN, F. Darriet utilise 0,005% comme dose diagnostique sur *An. gambiae* souche Kisumu).

### Tests de sensibilité

Les essais biologiques ont été réalisés pour une période d'exposition d'une heure, selon le standard OMS [6].

L'effet létal de l'insecticide est évalué après une mise en observation de 24 heures.

Les critères d'interprétation utilisés sont les suivants :

- résistant si mortalité < 80%
- résistance probable à confirmer (ou baisse de sensibilité) si mortalité entre 80% et 97%
- sensible si mortalité > 97% [7,8].

Pour une bonne interprétation des résultats, la mortalité du lot témoin doit être inférieure à 5%; en cas de mortalité comprise entre 5% et 20%, la formule d'Abbot qui corrige la mortalité des moustiques exposés, permet encore l'exploitation des données [9]. Si la mortalité du lot témoin est > 20%, le test est à refaire.

### Observation de l'effet "knock-down"

Le nombre de moustiques morts ou paralysés au fond du tube (moustiques "knocked-down") est noté toutes les 5 minutes pendant le temps d'exposition diagnostique (60 minutes) pour rechercher une éventuelle relation entre le niveau de résistance et le temps d'apparition de l'effet "knock-down" (*kd*) de l'insecticide testé. Nous avons comparé l'effet *kd* des pyréthrianoïdes et du DDT chez les mêmes populations de moustiques.

L'effet *kd* se mesure par la brièveté de la période au cours de laquelle 50% (ou 99%) des moustiques testés tombent "knocked-down", définissant ainsi le temps *kd* 50 = *Tkd* 50 (ou *Tkd* 99).

Les résultats ont été calculés et analysés à l'aide du logiciel Probit analysis et la comparaison des pourcentages de mortalité a été effectuée avec le test  $\chi^2$  de Mantel.

### Détection de la mutation *kdr* par la méthode PCR

L'extraction de l'ADN de moustiques a été effectuée individuellement en utilisant 2 à 3 pattes de chaque spécimen selon la méthode d'extraction de l'ADN de Cornel & Collins [10]. La méthode et les amorces définies par Martinez-Torres *et al.* ont été utilisées pour mettre éventuellement en évidence la mutation leucine-phénylalanine du gène "canal sodium voltage dependant" qui signe une mutation *kdr*. Les couples d'amorces Agd1/Agd2, Agd1/Agd3 et Agd2/Agd4 amplifient respectivement le contrôle interne correspondant à la bande 293 pb, l'allèle résistant de taille 195 pb et l'allèle sensible de 137 pb [3].

## RESULTATS

### Sensibilité des moustiques aux insecticides

Les résultats de la sensibilité aux insecticides d'*An. arabiensis* ont été résumés dans le tableau I.

Tableau I : Sensibilité d'*An. arabiensis* aux pyréthrianoïdes et au DDT à Analamiranga, Andranonahoatra, Alasora et à Soanierana

IPM, décembre 2002 - mai 2003

Localités	Date	Insecticides	Témoins (% morts)	Testés (% morts*)	Origine	Résultats
Analamiranga	04-06/02/03	DDT 4%	119 (10)	94 (87)	F1	RPC
	10/02/03	$\alpha$ -CPM 0,025%	40 (0)	91 (92)	F1	RPC
	04/12/02	PM 0,250%	21 (1)	41 (100)	F0	S
	30/01/03	PM 0,250%	49 (0)	100 (100)	F1	S
	10/02/03	PM 0,250%	40 (0)	21 (100)	F1	S
Andranonahoatra	10/12/02	DDT 4%	21 (0)	32 (81)	F0	RPC
	07/12/02	$\alpha$ -CPM 0,025%	43 (14)	86 (100)	F0	S
Alasora	07/03/03	DDT 4%	41 (0)	69 (9)	F1	R
	03/03/03	$\alpha$ -CPM 0,025%	48 (8)	68 (100)	F1	S
	22/05/03	$\alpha$ -CPM 0,025%	51 (0)	104 (93)	F1	RPC

$\alpha$ -CPM 0,025% : alpha-cyperméthrine 0,025%  
PM 0,250% : perméthrine 0,250%

\* : % morts corrigés

F0 : génération F0, capturée dans les puits de Muirhead-Thomson

F1 : génération F1, issue des F0 après élevage

RPC : résistance probable à confirmer

S : sensible

R : résistant

Dans le district de Tsiroanomandidy, *An. arabiensis* présente une baisse de sensibilité vis-à-vis du DDT 4% (moyenne mortalité = 84%). Par ailleurs, aucune différence significative n'a été

trouvée ( $p=0,587$  test  $\chi^2$ ) sur le taux de mortalité des moustiques F0 collectés dans les puits de Muirhead-Thomson (mortalité = 81%) et celui de la génération F1 de cette même population de moustiques (mortalité = 87%) avec le DDT 4%.

Les résultats des tests réalisés avec l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025% ont montré que les souches F1 d'*An. arabiensis* du village d'Analamiranga ont présenté une baisse de sensibilité (mortalité = 92%) à cet insecticide. En revanche, les femelles F1 d'*An. arabiensis* du village de Soanierana se sont avérées être tout à fait sensibles (mortalité : 100%) (tableau I).

Les trois séries de tests réalisés en décembre 2002, janvier et février 2003 ont montré une parfaite sensibilité (100% de mortalité) des générations F1 d'*An. arabiensis* à la perméthrine 0,250%.

A Alasora, *An. arabiensis* a été résistant au DDT 4% (taux de mortalité = 9%). Parmi les deux séries de tests réalisés avec l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025%, une baisse d'efficacité de cet insecticide a été observée avec une des deux séries de tests (93% de mortalité) (tableau I).

Le tableau II présente les résultats des tests de sensibilité d'*An. funestus* de Miandrivazo.

Cette espèce a été parfaitement sensible au DDT 4% comme aux trois pyréthriinoïdes testés (deltaméthrine 0,050%, cyfluthrine 0,150% et  $\lambda$ -cyhalothrine 0,050%). Le taux de mortalité après 24 heures de mise en observation a été égal à 100%.

Tableau II : Mortalités dues aux pyréthriinoïdes des *An. funestus* collectés à l'intérieur des maisons à Morafeno

IPM, décembre 2002 - mai 2003

Date	Insecticides	Témoins (% morts)	Testés (% morts*)	Résultats
17/03/00	$\lambda$ -cyhalothrine 0,050%	25 (4)	49 (100)	S
03-04 et 06/03/00	deltaméthrine 0,050%	73 (1)	148 (100)	S
03/03/00	cyfluthrine 0,150%	25 (4)	49 (100)	S
07-09/03/00	DDT 4%	72 (3)	139 (100)	S

\* : % morts corrigés

### Etude de l'effet "knock-down"

Le Tkd 50 (temps nécessaire pour que 50% des moustiques testés soient "knocked-down") du DDT 4% sur la génération F0 d'*An. arabiensis* à Analamiranga (figure 1 et tableau III) a été de 41,7 mn et le Tkd 99 de 116 mn. Ces temps ont été allongés pour un temps d'exposition de 60 mn. Par contre, à Soanierana et à Andranonahoatra les Tkd 50 et les Tkd 99 obtenus avec la perméthrine 0,250% et l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025% pour la génération F0 ont été inférieurs à 18 mn et 35 mn (figure 1 et tableau III).

Figure 1 : Evolution de l'effet kd (knock-down) aux *An. arabiensis* collectés dans des puits de Muirhead-Thomson du Moyen-Ouest

Les tests ont été pratiqués avec la génération F0 gorgée avec de la perméthrine 0,25% (Analamiranga), de l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025% (Soanierana) et du DDT 4% (Andranonahoatra).

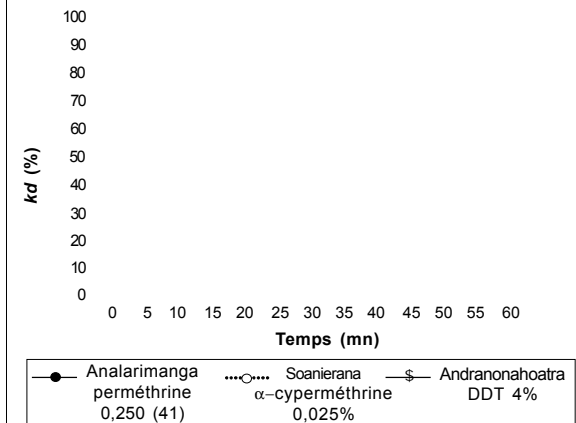


Figure 2 : Evolution de l'effet kd (knock-down) aux *An. arabiensis* collectés dans des puits de Muirhead-Thomson du Moyen-Ouest

Les tests ont été pratiqués avec la génération F1 à jeun avec de la perméthrine 0,25%, de l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025% et du DDT 4% (Analamiranga).

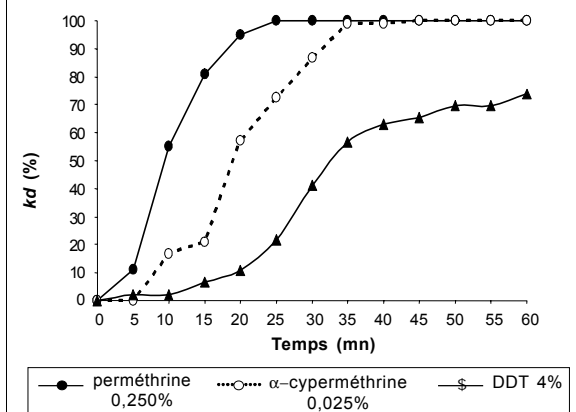
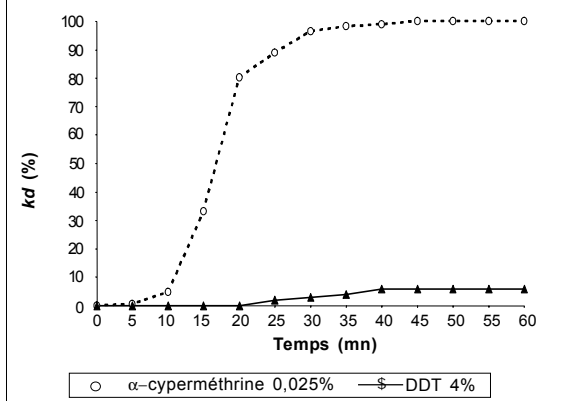


Figure 3 : Evolution de l'effet kd (knock-down) aux *An. arabiensis* collectés dans des étables de la plaine d'Antananarivo

Les tests ont été pratiqués avec la génération F1 à l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025% et au DDT 4% (Alasora).



Pour la génération F1 d'*An. arabiensis* à jeun (figure 2 et tableau III), le Tkd 50 = 34,3 mn et le Tkd 99 = 191,5 mn avec le DDT 4% et le Tkd 50 = 18,8 mn et Tkd 99 = 48,8 mn avec l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025%. Ces derniers ont été al-

longés par rapport au temps d'exposition diagnostique de 60 mn. Avec la perméthrine 0,025%, le *Tkd* 99 a été inférieur à 30 mn.

A Alasora, l'effet *kd* pour *An. arabiensis* a été pratiquement nul avec le DDT 4% tandis qu'avec l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025% le *Tkd* 99 a été de 38 mn (figure 3 et tableau III).

Tableau III : Temps *kd*50 et 99 des *An. arabiensis* d'Alasora, d'Analamiranga, de Soanierana et d'Andranonahoatra

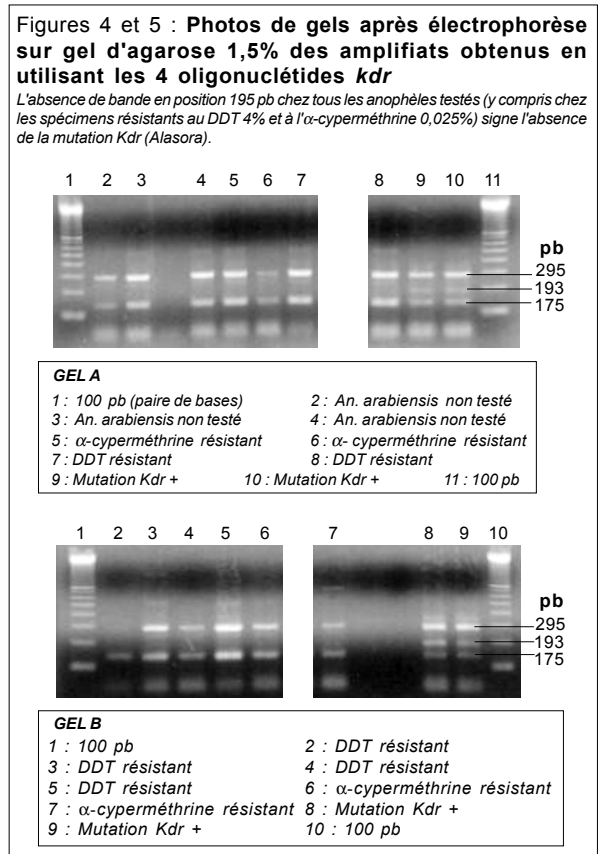
IPM, décembre 2002 - mai 2003

Localités	Origine	Insecticides	<i>Tkd</i> 50 (min)	<i>Tkd</i> 99 (min)
Alasora	F1	$\alpha$ -CPM 0,025%	21,1 [15,2-29,2]	38 [20,1-71,4]
	F1	DDT 4%	321 [-]	
Analamiranga	F0	PM 0,250%	6 [4,43-7,4]	34,9 [22,3-99,2]
	F1	$\alpha$ -CPM 0,025%	18,8 [16,2-20,4]	48,8 [37,9-63,2]
	F1	DDT 4%	34,3 [31,4-37,6]	191,5 [144,6-285,7]
Soanierana	F1	PM 0,250%	9,3 [8,6-10,0]	29,8 [25,4-37,0]
	F0	$\alpha$ -CPM 0,025%	17,0 [16,1-17,9]	29,8 [27,1-34,6]
Andranonahoatra	F0	DDT 4%	41,7 [38,1-45,5]	116 [87,2-216,8]

*Tkd* 50 ou 99 : temps pour que 50 ou 99% des moustiques testés soient "knocked-down"  
 $\alpha$ -CPM 0,025% : alpha-cyperméthrine 0,025%  
 PM 0,250% : perméthrine 0,250%  
 F0 : génération F0 capturée dans les puits de Muirhead-Thomson  
 F1 : génération F1, issue des F0 après élevage  
 IC 95% : intervalle de confiance à 95%

### Amplification par la méthode PCR de la mutation au niveau du gène *kdr*

Aucun allèle *kdr* n'a été détecté parmi les spécimens d'*An. arabiensis* collectés à Alasora et testés résistants à l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025% et au DDT 4% (figures 4 et 5).



L'étude de la sensibilité et l'étude de l'effet *kd* d'*An. arabiensis* aux différents pyréthri-noïdes et au DDT ont été conduites dans des zones de la "Campagne d'Aspersions Intradomiciliaires de DDT" (CAID) à Madagascar où les insecticides pyréthri-noïdes n'ont jamais été utilisés en santé humaine.

La présence de spécimens résistants à l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025% collectés dans le village d'Analamiranga et confirmée par l'allongement du *Tkd* 99 fait suspecter une baisse de l'efficacité de cette molécule, avant même son utilisation en santé publique sur les Hautes Terres. De plus, il faut noter qu'en absence de directive de l'OMS sur la dose recommandée, la dose diagnostique utilisée pour notre étude a été 10 fois plus élevée que celle utilisée pour tester la sensibilité d'*An. gambiae* de Côte d'Ivoire résistants à la perméthrine et à la deltaméthrine [11]. Avant de tirer des conclusions, cette baisse de sensibilité devra être confirmée à l'avenir.

La baisse de l'efficacité des pyréthri-noïdes vis-à-vis d'*An. arabiensis* a déjà été mentionnée dans les études réalisées dans plusieurs districts des HTC de Madagascar après la campagne de pulvérisation de DDT de 1993 à 1997 [2].

La parfaite sensibilité d'*An. arabiensis* d'Analamiranga à la perméthrine 0,250%, en dépit de la baisse de l'efficacité de l' $\alpha$ -cyperméthrine et du DDT 4%, permet d'envisager que :

- les mécanismes impliqués dans la résistance d'*An. arabiensis* à ces deux pyréthri-noïdes pourraient être différents;

- la baisse d'efficacité de l' $\alpha$ -cyperméthrine vis-à-vis d'*An. arabiensis* n'est probablement pas associée à la résistance de cette espèce au DDT. Cette dernière hypothèse semble être confirmée par l'existence d'un effet *kd* proche pour les deux pyréthri-noïdes. Au contraire, le DDT présente un effet *kd* retardé, voire nul dans la plaine d'Antananarivo. Cette possible différence de niveau de sensibilité des vecteurs aux différents pyréthri-noïdes a été déjà évoquée dans une étude réalisée sur des *An. gambiae* de Côte d'Ivoire [12].

Les taux de mortalité et les *Tkd* d'*An. arabiensis* du district de Tsiroanomandidy au DDT ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre les générations F0 et F1 : l'âge physiologique moyen et l'état de réplétion des spécimens n'ont pas, apparemment, influencé les résultats.

A notre connaissance, aucune mention de la présence d'une mutation *kdr* n'a été faite chez l'espèce *An. arabiensis*. Cette mutation, largement

répandue chez de nombreuses espèces d'insectes (*Blatella germanica*, *Musca domestica*, *Drosophila melanogaster*; par exemple), est également présente dans la famille des Culicidae : elle a été détectée chez des populations de *Culex quiquefasciatus*, mais également chez *An. gambiae s.s.* (formes moléculaires M et S) en Afrique de l'Ouest [13,14,15]. A Madagascar, les quelques spécimens d'Alasora, résistants à l' $\alpha$ -cyperméthrine 0,025% ne présentent pas cette mutation. La résistance des populations d'*An. arabiensis* de la plaine d'Antananarivo au DDT est déjà largement répandue depuis plusieurs années mais ne semble donc pas attribuable à une résistance de type *kdr*.

Pour autant, nous n'excluons pas totalement ce mécanisme de résistance car une autre mutation (sérine en phénylalanine) a été nouvellement détectée chez une population d'*An. gambiae* du Kenya résistante au DDT et à la perméthrine [16]. Cette nouvelle mutation fera l'objet d'une recherche spécifique chez les populations malgaches de vecteurs du paludisme, comme cela a été le cas au Ghana et au Nigeria pour les espèces *An. gambiae* et d'*An. arabiensis* [17].

Les résultats des études de la sensibilité d'*An. funestus* collectés à Morafeno dans le district de Miandrivazo à 3 pyréthriinoïdes corroborent ceux observés en 1999 sur les marges occidentales des HTC [2] et confirment la parfaite efficacité des insecticides de la famille des pyréthriinoïdes contre ce vecteur majeur de paludisme à Madagascar.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats des tests de sensibilité d'*An. arabiensis* des trois villages du Moyen-Ouest de Madagascar ont montré une baisse d'efficacité du DDT et une moindre sensibilité pour l' $\alpha$ -cyperméthrine, insecticide qui n'a jamais été utilisé à Madagascar pour lutter contre les vecteurs du paludisme. Par contre, la perméthrine a été efficace vis-à-vis de cette espèce.

*An. arabiensis* de la plaine d'Antananarivo reste fortement résistant au DDT et une baisse d'efficacité de l' $\alpha$ -cyperméthrine a également été notée.

En général, sur les HTC et probablement dans toute la plaine d'Antananarivo :

- la faible sensibilité, voire la résistance d'*An. arabiensis* au DDT semble rester à un niveau stable dans le temps en dépit des pressions insecticides lors des CAID successives;

- *An. arabiensis* est globalement sensible aux pyréthriinoïdes. La légère baisse de sensibilité de

cette espèce à l' $\alpha$ -cyperméthrine est donc surprenante et devra être confirmée.

Les premiers résultats des études des mécanismes de résistance d'*An. arabiensis* résistants à l' $\alpha$ -cyperméthrine et au DDT ont montré que la mutation leucine-phénylalanine ne semblait pas être impliquée dans cette résistance.

*An. funestus* de Morafeno (Miandrivazo) reste sensible aux pyréthriinoïdes et au DDT. C'est une information essentielle puisque cette espèce est le vecteur majeur du paludisme sur les HTC et est la cible prioritaire des actuelles CAID d'insecticide.

Un programme de suivi de la sensibilité et des études des mécanismes de résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides doit être mis en place pour disposer, non seulement, des données fiables mais surtout, d'avoir un outil d'aide à la décision dans le cadre de la stratégie nationale de lutte antivectorielle.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions le Laboratoire IRD de Lutte contre les insectes nuisibles, à Montpellier, qui nous a gracieusement procuré la souche *kdr*; et Arthur Talman pour la révision de l'abstract.

## REFERENCES

- 1- **Bernard PM.** Trois ans de luttes antipaludiques à Madagascar. *Bull Madagascar* 1954; **96** : 387 - 458.
- 2- **Rakotondraibe ME, Le Goff G, Rajaonarivelo E, Romi R, Raharimanga R, Rajaonarivelo V, Rabarison P.** Sensibilité aux insecticides des vecteurs du paludisme sur les Hautes Terres de Madagascar après 5 années de lutte antivectorielle. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 2000; **66** : 32-35.
- 3- **Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson MS, Darriet F, Bergé JB, Davoshire AL, Guillet P, Pasteur N, Pauron D.** Molecular characterisation of pyrethroid Knock-down resistance (*Kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae s.s.* *Insect Mol Biol* 1998; **7** : 179-184.
- 4- **Leong Pock Tsy JM, Duchemin JB, Marrama L, Rabarison P, Le Goff G, Rajaonarivelo V, Robert V.** Distribution of the species of the *Anopheles gambiae* complex, and first evidences of *An. merus* as malaria vector in Madagascar. *Malaria Journal* 2003; **2** : 33.
- 5- **WHO.** Bio-efficacy and persistence of insecticides on treat surfaces. Report of WHO informal consultation. (28-30 september 1998). Geneva : WHO, 1998. (WHO/COS/CPC/MAL/98.12).
- 6- **OMS.** Méthode à suivre pour déterminer la sensibilité ou la résistance des moustiques aux insecticides. Genève : OMS, 1981. (WHO/VBC/81.815).
- 7- **OMS.** Critères et signification des épreuves pour la détermination de la sensibilité ou de la résistance des insectes aux insecticides. Genève : OMS, 1981. (VBC/81.6).
- 8- **OMS.** Résistance aux pesticides des vecteurs et réservoirs de Maladies : dixième rapport du comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle. Genève : OMS, 1986. (Série Rapports Techniques, OMS, n°737).

- 9- **Abbot WS.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Economic Entomol* 1925; **18** : 265-267.
  - 10- **Cornel AJ, Collins FH.** PCR of the ribosomal DNA intergenic spacer regions as a method for identifying mosquitoes in the *Anopheles gambiae* complex. *Methods Mol Biol* 1996; **50** : 321-332.
  - 11- **Koffi AA, Darriet F, N'Guessan R, Doannio JMC, Carnevale P.** Evaluation au laboratoire de l'efficacité insecticide de l'alpha-cyperméthrine sur les populations d'*Anopheles gambiae* de Côte d'Ivoire résistantes à la perméthrine et à la deltaméthrine. *Bull Soc Pathol Exot* 1999; **92** : 62-66.
  - 12- **Chandre F, Darriet F, Manguin S, Brengues C, Carnevale P, Guillet P.** Pyrethroid cross resistance spectrum among populations of *An. gambiae s.s.* from Côte d'Ivoire. *J Am Mosq Control Assoc* 1999; **15** : 53-59.
  - 13- **Chandre F, Manguin S, Brengues C, Dossou Yovo J, Darriet F, Diabaté A, Carnevale P, Guillet P.** Current distribution of the pyrethroid resistance gene (*kdr*) in *Anopheles gambiae* complex from West Africa and further evidence for reproductive isolation of the mopti form. *Parassitologia* 1999; **41** : 319-322.
  - 14- **Weill M, Chandre F, Brengues C, Manguin S, Akogbeto M, Pasteur N, Guillet P, Raymond M.** The *kdr* mutation occurs in the Mopti form of *Anopheles gambiae s.s.* through introgression. *Insect Mol Biol* 2000; **9** : 451-455.
  - 15- **Diabaté A, Baldet T, Chandre F, Guiguemdé RT, Brengues C, Guillet P, Hemingway J, Hougard JM.** First report of the *kdr* mutation in *Anopheles gambiae* M from Burkina Faso, West Africa. *Parassitologia* 2002; **44** : 157-158.
  - 16- **Ranson H, Jensen B, Vulule JM, Wang X, Hemingway J, Collins FH.** Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and pyrethroids. *Insect Mol Biol* 2000; **9** : 491-497.
  - 17- **Kristan M, Fleischmann H, Torre AD, Stich A, Curtis CF.** Pyrethroid resistance/susceptibility and *An. gambiae s.s.* malaria vector in Nigeria and Ghana. *Med Vet Entomol* 2003; **17** : 326-332.
-