

ENTOMOLOGIE MÉDICALE

Comportement d'*Anopheles gambiae* Kdr+ face à des moustiquaires bi-imprégnées d'insecticides pyréthri-noïde et organophosphoré.

F. Darriet (1)*, J. M. Hougard (2) & V. Corbel (1)

(1) Laboratoire de lutte contre les insectes nuisibles, 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34934 Montpellier Cedex 5, France.

(2) Centre IRD, 01 BP 4414, Cotonou, Bénin.

*Correspondance : Darriet Frédéric, Laboratoire de lutte contre les insectes nuisibles, 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34934 Montpellier Cedex 5, France.

Tél. : (33) 04 67 04 19 23, Fax (33) 04 67 54 20 44, E-mail : darriet@mpl.ird.fr

Manuscrit n° 2737. "Médecine et santé sous les tropiques". Reçu le 19 octobre 2004. Accepté le 15 mars 2005.

Summary: Effect of pyrethroid and organophosphate bi-treated nets on the behaviour of Kdr+ *Anopheles gambiae* mosquitoes.

The efficacy of mosquito nets treated with bifenthrin (pyrethroid) and chlorpyrifos-methyl (organophosphate), alone and in mixture, was evaluated against the pyrethroid-resistant strain (VKPR) of *Anopheles gambiae* using the tunnel test technique. Results first showed that bifenthrin and chlorpyrifos-methyl kept a good excito-repellency effect against resistant mosquitoes despite the low doses applied on nets. With the mixture, irritancy significantly increased, which consequently limited the duration of exposure of females to impregnated surface. This phenomenon most probably explained the absence of synergism between bifenthrin and chlorpyrifos-methyl concerning the insecticidal activity of this mixture. This study demonstrated the importance of the mosquito behaviour in the global effectiveness of insecticide treated materials and in the development of alternative strategies for vector control. Concerning the prospective insecticide mixtures, not only will we have to consider the insecticidal properties of each insecticide selected, but also their excito-repellency which affects the time of duration of mosquitoes on the treated surface.

Résumé :

Cette étude présente les essais réalisés en tunnel expérimental avec des tulle moustiquaires imprégnés de bifenthrine (pyréthri-noïde) et de chlorpyrifos-méthyl (organophosphoré), utilisés seuls et en mélange, sur la souche d'*Anopheles gambiae* résistante aux pyréthri-noïdes (VKPR). Les résultats montrent que la bifenthrine et le chlorpyrifos-méthyl utilisés seuls sont irritants vis-à-vis des moustiques résistants malgré les faibles doses utilisées. Avec le mélange, l'effet excito-répulsif s'accroît, ce qui écourte plus encore le temps de contact du moustique avec le tulle imprégné. Ce phénomène explique probablement le fait que nous n'ayons pas observé d'effet de synergie mais seulement un effet additif au niveau de la mortalité. Il ressort aussi de cette étude que le comportement du moustique s'avère capital dans l'efficacité globale des insecticides et, par conséquent, dans le développement de stratégies alternatives de lutte antivectorielle. En ce qui concerne l'élaboration des mélanges à venir, il faudra tenir compte non seulement de l'effet létal des insecticides retenus, mais aussi de leurs capacités excito-répulsives qui conditionnent le temps de contact des moustiques avec les supports imprégnés.

Introduction

Depuis plus de vingt ans, les moustiquaires imprégnées d'insecticides sont recommandées pour lutter contre les vecteurs du paludisme. Les pyréthri-noïdes sont les seuls insecticides proposés pour les imprégnations, compte tenu de leur rapidité d'action, de leur fort pouvoir répulsif et irritant vis-à-vis des moustiques et de leur faible toxicité pour l'homme. Malheureusement, la résistance aux pyréthri-noïdes du principal vecteur du paludisme en Afrique, *Anopheles gambiae* s. l. s'étend de plus en plus en Afrique sub-saharienne (7, 8) et représente par conséquent une menace pour l'efficacité des programmes de lutte antivectorielle basés sur cet outil. Depuis

quelques années, la recherche d'insecticides de remplacement est devenue une priorité et c'est dans cette optique que furent évalués en cases-pièges plusieurs composés appartenant aux familles chimiques des carbamates et des organophosphorés. En imprégnation de moustiquaires, ces insecticides se sont révélés efficaces pour réduire la densité des moustiques à l'intérieur des habitations (19, 15, 16, 3). Certains auteurs ont également montré que ces produits étaient moins irritants que les pyréthri-noïdes, générant ainsi un contact prolongé du moustique avec la moustiquaire et donc une mortalité plus importante (10). Cependant, cette action excito-répulsive moins forte permet aux insectes hématophages de piquer plus facilement à travers les tulle traités, ce qui confère une pro-

**Anopheles gambiae
bifenthrin
chlorpyrifos-methyl
bi-treated mosquito nets
Kdr mutation
tunnel test
irritancy**

**Anopheles gambiae
bifenthrine
chlorpyrifos-méthyl
moustiquaire bi-imprégnée
mutation Kdr
test tunnel
irritabilité**

tection personnelle d'autant plus faible que la moustiquaire est détériorée (23).

En tenant compte de toutes ces données recueillies sur les pyréthrinoides, les carbamates et les organophosphorés, il devenait intéressant d'évaluer les propriétés excito-répulsives et létales de combinaisons d'insecticides de classes et de modes d'action différents. Testés dans des cônes en polyéthylène, les premiers tulles moustiquaires imprégnés par un mélange de bifenthrine (pyréthrinoides) et de carbosulfan (carbamate) ont montré un effet de synergie intéressant sur la souche d'*An. gambiae* Kisumu, sensible aux insecticides (9). Une autre association composée de bifenthrine et de chlorpyriphos-méthyl (organophosphoré) a révélé à son tour une interaction synergique en application topique sur des souches d'*An. gambiae* sensible et résistante aux pyréthrinoides (VKPR) (5). Lorsque les tests ont été réalisés dans des cônes, nous avons toutefois constaté que le phénomène de synergie du mélange avait disparu sur la souche résistante aux pyréthrinoides, l'activité de la combinaison se traduisant par un simple effet additif de l'efficacité des deux insecticides pris séparément (12).

Dans l'étude présente, des tulles moustiquaires traités à la bifenthrine et au chlorpyriphos-méthyl seuls et en mélange, ont été évalués à l'aide de tunnels expérimentaux qui, en laboratoire, simulent des conditions de terrain bien plus proches de la réalité que les applications topiques et les tests en cônes (6). Les mélanges entre insecticides n'étant de surcroît justifiés que pour un contrôle plus efficace des populations d'anophèles résistantes aux pyréthrinoides, les essais n'ont été réalisés qu'avec la souche d'*An. gambiae* VKPR, homozygote résistante pour la mutation *Kdr*.

Matériel et méthodes

Les insecticides

La bifenthrine a été sélectionnée car cet insecticide s'est montré particulièrement efficace en laboratoire sur les vecteurs du paludisme (17). Comme tous les pyréthrinoides, ce composé agit en modifiant la cinétique d'inactivation des canaux sodium qui interviennent dans la transmission de l'influx nerveux le long des axones (20). La bifenthrine est peu toxique pour les mammifères (DL 50 pour le rat par ingestion de 54,5 mg/kg) (24) et ne présente pas d'effet irritant pour la peau ni les yeux. La formulation utilisée pour l'imprégnation des tulles moustiquaires est une suspension concentrée (SC) à 80 g m.a. par litre (Talstar®).

Le chlorpyriphos-méthyl qui appartient au groupe chimique des organophosphorés agit sur une cible différente des pyréthrinoides en inhibant l'acétylcholinestérase, enzyme intervenant dans la régulation de l'influx nerveux (2). Cet insecticide ne présente pas de toxicité sur les mammifères (dose létale 50 % pour le rat supérieure à 3 000 mg/kg) (24). La formulation expérimentale utilisée pour les tests est une suspension de microcapsules (CS) titrant 457 g m.a. par litre (GF934).

Le matériel biologique

Les tests ont été conduits avec la souche VKPR régulièrement sélectionnée à la perméthrine (13). Cette souche maintenue en insectarium depuis 1997 est homozygote résistante (RR) pour le gène *Kdr* (résistance croisée pyréthrinoides/DDT) (22) et homozygote sensible (SS) pour la mutation *Ace.1^R* (pas de résistance croisée organophosphorés/carbamates) (BREGUES, comm. pers).

L'imprégnation des tulles moustiquaires

Des tulles en polyester (100 deniers) non lavés de 0,25 m de côté (0,0625 m²) ont été imprégnés avec un volume de solution insecticide qui est égal à la capacité de rétention en eau de l'échantillon testé. Pour une surface de 0,0625 m², cette capacité d'absorption s'élève à 2,5 ml.

Les insecticides ont d'abord été testés seuls, à des concentrations qui n'induisent pas plus de 40 % de mortalité chez les moustiques. Au delà de cette valeur, il devient en effet difficile de mettre en évidence un phénomène de synergie car la mortalité attendue [calculée par $1 - (\% \text{ survivants avec la bifenthrine} \times \% \text{ survivants avec le chlorpyriphos-méthyl})$] serait peu différente de la mortalité observée, sauf en cas d'interaction négative où le pourcentage de mortalité observé serait inférieur au pourcentage de mortalité attendue (phénomène d'antagonisme).

La dose de bifenthrine retenue pour cette étude a été de 5 mg m.a./m², soit 1/10^e de la dose opérationnelle.

Pour le chlorpyriphos-méthyl, la dose retenue a été de 50 mg m.a./m².

Le mélange de bifenthrine et de chlorpyriphos-méthyl était donc composé de 5 mg/m² de bifenthrine et de 50 mg/m² de chlorpyriphos-méthyl.

Les tests en tunnels

Un tunnel expérimental est constitué d'une armature rectangulaire en verre (tunnel) de 0,25 m x 0,25 m de section et de 0,75 m de longueur. Le tunnel est divisé en deux compartiments séparés au deuxième tiers de sa longueur par un cadre en carton tendu d'un tulle moustiquaire imprégné d'insecticide, et dans lequel sont percés neuf trous d'un centimètre de diamètre.

Cent femelles âgées de 7 jours et n'ayant jamais pris de repas de sang sont placées dans le grand compartiment (C1) tandis qu'un cobaye maintenu en contention dans une cage grillagée est introduit dans l'autre (C2). Après une nuit (18h00 - 9h00) passée dans un environnement chaud et humide (27 °C - 80 % d'humidité relative), les moustiques sont prélevés dans les deux compartiments puis classés selon leur état physiologique (gorgés/non gorgés - vivants/morts). Pour estimer l'effet excito-répulsif des insecticides utilisés seuls et en mélange, nous comptabilisons comme « moustiques passés au travers de la moustiquaire » les effectifs à jeun et gorgés récoltés dans le compartiment C2 et ceux retrouvés gorgés en C1. Trois répliques d'une centaine de moustiques issus de générations différentes ont été testées pour chaque configuration témoin et traitée.

Résultats

Les résultats obtenus dans les tunnels expérimentaux sont présentés dans le tableau I.

Dans le tunnel pourvu d'un tulle moustiquaire non traité, le taux de passage des moustiques se chiffre à 75 %, ce qui se traduit par un pourcentage de gorgement de 57 % et une mortalité naturelle de 9 %. La mortalité relevée dans le tunnel témoin étant supérieure à 5 %, toutes celles observées dans les tunnels traités ont été corrigées par la formule d'ABBOTT (1). Avec la bifenthrine à 5 mg/m², les taux de passage (49,1 %) et de gorgement (26,8 %) sont réduits de, respectivement 35 % et 53 %, par rapport au témoin. Ces informations montrent que la bifenthrine, même utilisée à dose réduite, reste irritante pour les moustiques. C'est d'ailleurs cette action d'évitement du moustique face au substrat traité qui explique le faible

Tableau I.

Efficacité en tunnels expérimentaux, de la bifenthrine et du chlorpyrifos-méthyl seuls et en association, sur la souche d'*Anopheles gambiae* VKPR résistante aux pyréthrinoides.

Efficacy on tunnel test of mosquito nets impregnated with bifenthrin and chlorpyrifos-methyl, alone and in mixture, against a pyrethroid-resistant strain of *Anopheles gambiae* (VKPR).

	dose (mg/m ²)	N	% de passage	% de gorgement	% de mortalités observée (attendue)	χ ² P
non traité	-	284	75,4	56,7	8,5 (-)	-
bifenthrine	5	265	49,1	26,8	35,6 (-)	-
chlorp-mét	50	276	56,9	37	24,8 (-)	-
bifenthrin + chlorp-mét	5 + 50	270	33	21	46,1 (51,6)	0,02 P = 0,89

chlorp-mét : chlorpyrifos-méthyl

N : nombre de moustiquaires testées

pourcentage de femelles gorgées (26,8 %). La bifenthrine montre également une action insecticide non négligeable sur la souche VKPR résistante aux pyréthrinoides avec 35,6 % des anophèles trouvées mortes.

À la dose de 50 mg de chlorpyrifos-méthyl/m², les taux de passage (56,9 %) et de gorgement (37 %) sont diminués de 25 % et 35 % respectivement, révélant l'existence d'un pouvoir irritant chez ce composé. Par contre, la mortalité des anophèles s'élève à 24,8 % seulement et ce malgré la parfaite sensibilité de VKPR à cet organophosphoré.

Avec le mélange des deux insecticides, le taux de passage de 33 % (qui correspond à une réduction de 56 % par rapport au témoin) est significativement plus faible que ceux de la bifenthrine (49 %) et du chlorpyrifos-méthyl seuls (57 %) ($P < 0,001$). Cependant, ce plus fort effet irritant n'a pas eu de répercussion sur le taux de gorgement des moustiques. En effet, le pourcentage de femelles ayant pris un repas sanguin avec le mélange s'élève à 21 %, ce qui n'est pas significativement différent ($P = 0,12$) de celui enregistré avec la bifenthrine seule (26,8 %). Le mélange ne génère pas non plus d'effet de synergie au niveau de l'effet léthal. La mortalité observée de 46 % n'est pas significativement différente de la mortalité attendue (52 %) sous l'hypothèse d'indépendance d'action des deux composés ($P = 0,89$) (4).

Discussion

Avec les applications topiques où le contact du moustique avec l'insecticide est forcé, le mélange de bifenthrine et de chlorpyrifos-méthyl induit un effet de synergie sur les souches d'*An. gambiae* sensibles et résistantes aux pyréthrinoides (5). Lorsque les tests sont effectués à l'intérieur de cônes en polyéthylène, l'association testée induit toujours une action de synergie sur la souche sensible mais seulement un effet additif sur la souche résistante aux pyréthrinoides (12). Enfin, en tunnel expérimental, le mélange ne produit toujours pas de synergie sur la souche VKPR et ce malgré le temps de contact de 15 heures des anophèles avec le substrat traité. Les tests en tunnels ont permis de mettre en évidence les propriétés irritantes de la bifenthrine et du chlorpyrifos-méthyl. Avec le mélange des deux produits, cet effet irritant se renforce, ce qui écourte plus encore le temps de contact des moustiques avec le tulle traité. Cette relation directe de cause à effet a pour conséquence de ne pas induire d'effet de synergie mais seulement un effet additif au niveau de la mortalité.

Le comportement du moustique s'avère donc capital dans l'efficacité des insecticides utilisés seuls et en association. D'ailleurs, lors d'une étude menée en cases-pièges avec des moustiquaires imprégnées de deltaméthrine, il avait été montré à la station de Yaokoffikro en Côte-d'Ivoire (zone de résistance d'*An. gambiae* aux pyréthrinoides), que les moustiquaires traitées généraient un effet excito-répulsif moitié moins important que celui enregistré à la station de la Vallée du M'bé où sa population d'*An. gambiae* était sensible aux pyréthrinoides. Cette baisse de l'effet irritant des moustiquaires imprégnées sur les anophèles résistants favorise un contact plus long du moustique avec le substrat traité, donc une mortalité plus importante (14).

Même si un pyréthrinocide seul s'avère encore efficace sur une population d'*An. gambiae* présentant la mutation *Kdr*, il ne faut toutefois pas négliger la recherche de nouvelles stratégies de lutte antivectorielle, telles que les combinaisons insecticides. Les entomologistes médicaux savent qu'il leur sera impossible de fabriquer la combinaison « miracle » mais une association de plusieurs insecticides peut néanmoins s'avérer intéressante, notamment en terme de gestion de la résistance chez les insectes vecteurs de maladies et ravageurs des cultures (18, 21). En s'appuyant sur les résultats que révèle cet article sur le mélange bifenthrine et chlorpyrifos-méthyl, les combinaisons à venir devront montrer des propriétés moins irritantes capables de maintenir un contact suffisant entre le substrat traité et les moustiques, afin que ces derniers absorbent une dose mortelle. L'action qui réduit bien souvent l'effet léthal d'un insecticide est générée par son propre effet excito-répulsif. Cette action d'évitement n'est pas constante, elle varie non seulement d'un insecticide à un autre mais aussi selon la nature des matériaux traités (bois, paille, boue, ciment, moustiquaires...) (11). Il faut savoir toutefois qu'une diminution de l'effet excito-répulsif d'un insecticide (ou d'un mélange) peut faciliter la prise d'un repas sanguin par le moustique, particulièrement si celui-ci possède un gène de résistance (8) et, par conséquent, augmenter les chances de transmission d'un agent pathogène à l'homme.

Enfin, les mélanges présentent l'avantage de réduire les doses de traitement, avantages non négligeables en matière de santé publique où souvent les moyens financiers et techniques sont plus que limités. Il faut toutefois rester prudent quant à l'utilisation des insecticides en mélange car cette stratégie de lutte ne doit pas compromettre les règles de sécurité propres à l'utilisation des moustiquaires imprégnées. Un mélange de deux molécules doit être considéré comme un nouveau composé et donc satisfaisant aux exigences toxicologiques avant d'être utilisé en santé publique (25). C'est pourquoi dans les années à venir, il sera nécessaire d'utiliser pour l'élaboration des mélanges, des insecticides rigoureusement sélectionnés tant sur le plan toxicologique que sur le plan de leurs propriétés excito-répulsives et létales vis-à-vis des moustiques nuisants et vecteurs de maladies.

Remerciements

Nous remercions le Ministère français de la recherche (Programme PAL⁺ sur le paludisme) pour avoir financé ce travail, ainsi que les groupes FMC Corporation et AgroSciences pour nous avoir fourni, respectivement, les formulations de bifenthrine et de chlorpyrifos-méthyl.

Références bibliographiques

1. ABBOTT WS – A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entomol*, 1925, **18**, 265-267.
2. ALDRIDGE WN – Some properties of specific cholinesterase with particular reference to the mechanism of inhibition by diethyl p-nitrophenyl thiophosphate (E605) and analogues. *Biochem J*, 1950, **46**, 451-460.
3. ASIDI AN, N'GUESSAN R, HUTCHINSON RA, TRAORE-LAMIZANA M, CARNEVALE P *et al.* – Experimental hut comparisons of nets treated with carbamate or pyrethroid insecticides, washed or unwashed, against pyrethroid-resistant mosquitoes. *Med Vet Entomol*, 2004, **18**, 134-140.
4. BLISS CI – The toxicity of poisons applied jointly. *Ann Appl Biol*, 1939, **26**, 585-615.
5. BONNET J, CORBEL V, DARRIET F, CHANDRE F & HOUGARD JM – Topical applications of pyrethroid and organophosphate mixtures revealed positive interactions against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae*. *J Am Mosquito Control Ass*, 2004, **20**, 438-443.
6. CHANDRE F, DARRIET F, DUCHON S, FINOT L, MANGUIN S *et al.* – Modifications of pyrethroid effect associated with *Kdr* mutation in *Anopheles gambiae*. *Med Vet Entomol*, 2000, **14**, 81-88.
7. CHANDRE F, MANGUIN S, BRENGUES C, DOSSOU YOVO J, DARRIET F *et al.* – Current distribution of pyrethroid resistance gene (*Kdr*) in *Anopheles gambiae* complex from West Africa and further evidence for reproductive isolation for the Mopti form. *Parassitologia*, 1999, **41**, 319-322.
8. CORBEL V, CHANDRE F, BRENGUES C, AKOGBETO M, HOUGARD JM *et al.* – Dosage-dependent effects of permethrin treated net on the behaviour of *Anopheles gambiae* and the selection of pyrethroid resistance. *Malaria J*, 2004, **3**, 22
9. CORBEL V, DARRIET F, CHANDRE F & HOUGARD JM – Insecticides mixtures for mosquito net impregnation against malaria vector. *Parasite*, 2002, **9**, 255-259.
10. CURTIS CF & MNZAVA AEP – Comparison of house spraying and insecticide-treated nets of malaria control. *Bull Org mond santé*, 2000, **78**, 1389-1400.
11. DARRIET F – *La lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies*. Coéditions Karthala-Orstom, Collection économie et développement, 1998, 114 pages.
12. DARRIET F, CORBEL V & HOUGARD JM – Efficacy of mosquito nets treated with a pyrethroid-organophosphorous mixture against *Kdr*- and *Kdr+* malaria vector (*Anopheles gambiae*). *Parasite*, 2003, **10**, 359-362.
13. DARRIET F, GUILLET P, CHANDRE F, N'GUESSAN R, DOANNIO JMC *et al.* – *Présence et évolution de la résistance aux pyréthri-noïdes et au DDT chez deux populations d'Anopheles gambiae s.s. d'Afrique de l'Ouest*. Document miméographié OMS, 1997, WHO/CTD/VBC/97.1001 et WHO/MAL/97.1081, 15 pages.
14. DARRIET F, N'GUESSAN R, KOFFI AA, KONAN L, DOANNIO JMC *et al.* – Impact de la résistance aux pyréthri-noïdes sur l'efficacité des moustiquaires imprégnées dans la prévention du paludisme : résultats des essais en cas expérimentales avec la deltaméthrine SC. *Bull Soc Pathol Exot*, 2000, **93**, 131-134.
15. GUILLET P, N'GUESSAN R, DARRIET F, TRAORE-LAMIZANA M, CHANDRE F *et al.* – Combined pyrethroid and carbamate « two in one » treated mosquito nets: field efficacy against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*. *Med Vet Entomol*, 2001, **15**, 105-112.
16. HOUGARD JM, CORBEL V, N'GUESSAN R, DARRIET F, CHANDRE F *et al.* – Efficacy of mosquito nets with insecticide mixtures or mosaics against insecticide resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae) in Côte d'Ivoire. *Bull Entomol Res*, 2003, **93**, 491-498.
17. HOUGARD JM, DUCHON S, ZAIM M & GUILLET P – Bifenthrin: A useful pyrethroid insecticide for treatment of mosquito nets. *J Med Entomol*, 2002, **39**, 526-533.
18. HOUGARD JM, YAMEOGO L, SEKETILI A, BOATIN B & DADZIE KY – Twenty-two years of blackfly control in the onchocerciasis control programme in West Africa. *Parasitol Today*, 1997, **13**, 425-431.
19. KOLACZINSKI JH, FANELLO C, HERVE JP, CONWAY DJ, CARNEVALE P *et al.* – Experimental and molecular genetic analysis of the impact of pyrethroid and non pyrethroid insecticide impregnated bednets for mosquito control in area of pyrethroid resistance. *Bull Entomol Res*, 2000, **90**, 125-132.
20. LUND AE & NARAHASHI T – Kinetics of sodium channel modification as the basis for the variation in the nerve membrane effects of pyrethroid and DDT analogs. *Pestic Biochem Physiol*, 1983, **20**, 203-216.
21. MARTIN T, OCHOU GO, HALA-NKLO F, VASSAL JM & VAYSSAIRE M – Pyrethroid resistance in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, in West Africa. *Pest Manag Sci*, 2000, **56**, 546-554.
22. MARTINEZ-TORRES D, CHANDRE F, WILLIAMSON MS, DARRIET F, BERGE JB *et al.* – Molecular characterization of pyrethroids knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *Insect mol Biol*, 1998, **7**, 179-184.
23. MILLER JE, LINDSAY SW & AMSTRONG JRM – Experimental hut trials of bednets impregnated with synthetic pyrethroid or organophosphate insecticide for mosquito control in Tanzania. *Med Vet Entomol*, 1991, **5**, 465-467.
24. TOMLIN CDS – *The pesticide Manual*. 12th ed. British Crop Protection Council, 2000, London, UK, 1250 p.
25. ZAIM M, AITIO A & NAKASHIMA N – Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *Med Vet Entomol*, 2000, **14**, 1-5.