

PARASITOLOGIE ANIMALE. — *Activité antiplasmodique intravectérielle d'un pyréthrianoïde: la deltaméthrine.* Note de Pierre Régis Carle, Jean Coz, Nohal Elissa, Monique Gasquet, Christiane Sannier, Alain Richard et Pierre Timon-David, présentée par Constantin Vago.

In vitro, la deltaméthrine réduit la parasitémie de *Plasmodium falciparum* sur hématies humaines. *In vivo* et à des doses sublétales pour l'insecte, elle limite le développement du cycle sporogonique de *Plasmodium yoelii yoelii* chez *Anopheles stephensi*. Ce nouveau type d'activité antiplasmodique implique une voie intravectérielle originale et permet d'expliquer les surprenants effets antipaludiques observés plusieurs mois après traitement.

ANIMAL PARASITOLOGY. — Antiplasmodic intravectorial activity of a pyrethroid: deltamethrin.

In vitro tests, deltamethrin reduced the parasitemic index of Plasmodium falciparum on human red blood corpuscles. In vivo tests, at sublethal doses, deltamethrin limited the development of the sporogonic cycle of Plasmodium yoelii yoelii in Anopheles stephensi. This novel type of antiplasmodic activity involve an intravectorial route and gives an explanation about surprising antimalaria effects observed several months after treatment.

La deltaméthrine, pyréthrianoïde photostable possède une activité insecticide élevée par voie de contact et d'ingestion. En Afrique [2] comme en Amérique Centrale [4] les traitements antivectériels réalisés avec la deltaméthrine assurent durant plusieurs semaines une forte réduction de la densité anophélienne et une chute momentanée des transmissions du *Plasmodium*. Par la suite et alors même que l'effet insecticide regresse puis disparaît on note durant plusieurs mois une diminution significative des indices plasmodiques et des taux d'accès fébriles [2]. Simultanément sont signalés une réduction du taux de parturité des femelles d'anophèles [3], un abaissement de leur capacité vectérielle, une diminution de leur longévité imaginale et une baisse de leur taux d'infection [2].

Ces résultats ne sont pas dus au seul effet direct de l'insecticide car sa persistance aux doses normales d'emploi, n'excède pas quelques semaines. Ils ne sont pas la conséquence d'un effet répulsif du produit en fin de période d'activité car des fréquentations de femelles endophiles suivies de piqûres sont observées dans les lieux précédemment traités.

Aucune explication satisfaisante n'ayant pu être avancée, nous avons émis l'idée d'un effet indirect de la deltaméthrine sur l'agent du paludisme via son vecteur, en fin d'efficacité du traitement, donc à des doses non toxiques pour l'insecte. Cette hypothèse a été étudiée d'une part *in vitro* sur cultures de *Plasmodium falciparum*, d'autre part *in vivo* sur le cycle sporogonique de *Plasmodium yoelii yoelii* Landau et Killick-Kendrick transmis par *Anopheles stephensi* Liston.

1. ACTIVITÉ *IN VITRO* DE LA DELTAMÉTHRINE SUR CULTURES DE *P. falciparum*. — La culture *in vitro* de *Plasmodium falciparum* souche FCC2 est effectuée en cupules, sur plaques de polystyrène utilisées pour cultures de tissus. Elle est réalisée à 37° C, dans une étuve à CO₂ selon les techniques de [7] et [6] sur un milieu RPMI 1640 modifié [1] tamponné avec un mélange de tampon HEPES (40mmoles/l) de glucose (4g/l) et 10 p. cent de sérum humain.

Chaque cupule contient 0,7 ml d'une suspension de sang humain initialement parasité à un taux de 0,3%. Les tests sont réalisés à raison de trois répétitions par concentration de deltaméthrine ajoutée à ce milieu en solution aqueuse. L'incubation se poursuit durant 48 h sans renouvellement du milieu. Après incubation puis frottis coloré au MGG, un dénombrement des hématies parasitées par le *Plasmodium* (trophozoïtes, schizontes et mérozoïtes) est effectué sur une moyenne de 3000 hématies par cupule.

Dans ces tests *in vitro* d'activité directe, la deltaméthrine présente un effet antiplasmodique qui se traduit par une diminution significative du taux de parasitémie des hématies

TABLEAU I
 Activité *in vitro* de la deltaméthrine sur *Plasmodium falciparum*
 (CS: concentré suspension à 25 g. ma/l)
 In vitro activity of deltamethrin on *Plasmodium falciparum*
 (CS: suspension concentrate 25 g/l)

Conditions	Concentrations deltaméthrine (mcg/ml)	Hématies dénombrées	Taux de parasitémie (%)	Parasitémies rapportées au témoin (%)
Solution stérilisée s/millipore.	0,75	9400	1,59	53
	0,375	9500	1,90	66
	0,125	9600	3	100
	0,0125	9300	3	100
Solution non stérilisée	0,75	9400	1,26	42
	0,375	9550	1,47	49
	0,125	10500	2,40	80
	0,0125	9650	3	100
Matrice du CS.	—	9900	3	100
Témoin	—	9900	3	100

(tableau I). Cette activité se manifeste à des doses extrêmement faibles, proches des doses de chloroquine actives dans ces mêmes tests.

2. ACTIVITÉ ANTIPLASMODIQUE *IN VIVO* DE LA DELTAMÉTHRINE SUR LARVES D'ANOPHÈLES. — Le modèle expérimental choisi est le couple *Anopheles stephensi-Plasmodium yoelii yoelii* [souches 17X (chloroquine-sensible) et 265 BH (chloroquine-résistante)]. *A. stephensi* est élevé à $29 \pm 1^\circ\text{C}$ en phases larvaire et nymphale et à $24 \pm 1^\circ\text{C}$ en phase adulte. Les souches de *P. y. yoelii* sont maintenues sur souris blanche OF1 par inoculation intraveineuse de sporozoïtes obtenus après broyage et centrifugation de femelles du moustique infectées ou par inoculation intrapéritonéale de formes sanguines du parasite.

Les tests sont réalisés en milieu aqueux par contact toxique d'au moins 24 h sur larves de 3^e et 4^e stade, à des concentrations de deltaméthrine causant de 0 à 50% de morts (CL 0 à CL 50); des lots témoins sont maintenus en eau permutée. Les larves ayant survécu sont rincées à l'eau permutée puis élevées jusqu'à l'obtention d'adultes. 3 à 7 jours après leur émergence, les femelles sont mises à gorger sur souris porteuses de gamétocytes infectieux du *Plasmodium*. 2 semaines plus tard, les moustiques sont disséqués pour dénombrement des oocystes sur les parois de l'estomac et/ou des sporozoïtes dans les glandes salivaires.

Dix séries contenant chacune au moins un lot d'insectes traités et témoins ont été successivement réalisées en faisant varier les principaux paramètres biologiques contrôlables. Une moyenne de 30 femelles ont été disséquées par lot, traité ou témoin.

Les résultats (tableau II) témoignent d'une réduction importante et statistiquement significative de l'infection par la souche chloroquine-sensible, des femelles de plusieurs séries traitées à la deltaméthrine durant leur phase larvaire, comparativement aux femelles non traitées. Cette diminution se manifeste à la fois par une réduction numérique et par une baisse d'intensité du parasitisme des femelles parasitées. Elle est particulièrement nette aux concentrations de deltaméthrine supérieures à la DL 5 et sur jeunes larves de 4^e stade plutôt que sur larves âgées (séries 8, 9 et 10). En revanche, les deux essais réalisés avec la forme chloroquine-résistante du parasite (souche 265BH) ne traduisent aucun effet. La durée de contact des larves avec le toxique paraît influencer sur la manifestation du phénomène (série 5). Enfin, aux concentrations sublétales utilisées sur larves, une certaine mortalité résiduelle survient à l'émergence imaginale. Elle résulte d'un effet différé

TABLEAU II
 Activité *in vivo* de la deltaméthrine sur larves d'anophèles
 In vivo activity of deltamethrin on Anopheles larvae

Essai	Stade traité	Contact toxique (h)	Concentrations (mg ma/1)	Niveau de CL	Réduction des
1	IV	24	2.10^{-4}	50	Oocytes
	IV	24	1.10^{-5}	0	Rien
2	IV	24	2.10^{-4}	50	Sporozoïtes
	IV	24	2.10^{-5}	30	Sporozoïtes
3	IV	24	$2,5.10^{-5}$	5	Rien
4	IV	24	5.10^{-5}	40	Oocytes
5	III	120	2.10^{-6}	?	Oocytes
6 ^(a)	IV ^(b)	24	6.10^{-5}	30	Rien
7 ^(a)	IV	24	5.10^{-5}	5	Rien
8	IV ^(b)	48	1.10^{-4}	0	Rien
9	IV	24	1.10^{-4}	30	Rien
10	IV	24	5.10^{-3}	25	Oocytes et sporozoïtes

(^a) Souche 265 BH chloroquine-R; (^b) L IV âgées de *A. stephensi*.

du pyréthrianoïde qui se traduit chez les individus survivants par un intense déséquilibre physiologique. De tels bouleversements internes peuvent justifier chez ces individus leur moindre réceptivité au *Plasmodium*.

3. ACTIVITÉ ANTIPLASMODIQUE *IN VIVO* SUR ANOPHÈLES FEMELLES. — Les femelles utilisées proviennent des élevages conduits dans les conditions décrites ci-dessus. L'imprégnation toxique par contact est réalisée à l'aide soit d'un tube OMS à deux compartiments, l'un comportant un papier filtre imprégné de la solution de deltaméthrine à éprouver, l'autre étant parfaitement propre (essai 1), soit par pulvérisation directe à la tour de POTTER (essai 2). 24 h après le contact toxique, les femelles ayant survécu sont mises à gorger durant 12 h sur une souris donneuse de gamétocytes de *Plasmodium*.

Dans un premier essai et à une dose de deltaméthrine de 1 mg ma/m² avec un temps de contact de 30 à 60 mn, aucun effet létal n'a été observé chez les femelles traitées. En revanche, après dissection des glandes salivaires aucune des 14 femelles traitées n'était porteuse de sporozoïte alors que 6 femelles témoins sur 18 en possédaient.

Dans un deuxième essai et pour une dose de deltaméthrine (0,01 mg/l) assurant une mortalité de 50 p. cent, 11 femelles du lot traité étaient exemptes d'oocyste et 9 en possédaient en nombre très réduit (moins de 10) alors que toutes les femelles du lot témoin en étaient porteuses et que 15 d'entre elles étaient fortement contaminées (plus de 40 oocystes/femelle). En outre, l'examen des glandes salivaires montrait, dans le lot traité que seulement 5 femelles sur 20 disséquées possédaient des sporozoïtes alors que dans le lot témoin 13 femelles sur 20 en contenaient en grande quantité.

CONCLUSION. — *In vitro*, et en culture sur hématies humaines, les faibles concentrations de deltaméthrine réduisent la parasitémie du *Plasmodium falciparum*. *In vivo*, sur larves et sur femelles de moustiques, des doses sublétales de deltaméthrine limitent le développement du cycle sporogonique de *Plasmodium yoelii yoelii* chez *Anopheles stephensi*.

Ces résultats suggèrent une explication aux surprenantes baisses d'indices sporozoïtiques et à la remarquable amélioration des indicateurs cliniques et parasitologiques constatées plusieurs mois durant, après la perte d'efficacité des traitements à la deltaméthrine. Ils

indiquent d'une part, une possible activité antiplasmodique directe du pyréthrianoïde et d'autre part, une forte réduction de réceptivité au *Plasmodium* des femelles d'anophèles après un contact non mortel avec le pyréthrianoïde. Ce dernier cas représente probablement un type d'effet toxique original de la deltaméthrine intervenant par voie intravectérielle sur l'agent pathogène unicellulaire sans détruire l'insecte vecteur ni réduire de façon sensible sa nuisance directe.

Reçue le 17 juillet 1986.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] P. AZOULAY, M. GASQUET et P. TIMON-DAVID, *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 1, 71-74.
- [2] G. P. BITSINDOU, *Thèse Doctorat 3^e cycle*, Université Paris-Sud, 1983, 102 p.
- [3] N. RISHIKESH, J. L. CLARKE, H. L. MATHIS, J. PEARSON et S. J. OBANEWA, Document WHO/VBC 79.712, 1979, 25 p.
- [4] RAPPORT ROUSSEL-UCLAF, C.T.D.Z., Amérique centrale, nov. 1984, 10 p.
- [5] W. TRAGER, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 27, 1978, p. 216-222
- [6] W. TRAGER et J. B. JENSEN, *Science*, 193, 1976, p. 673-675.
- [7] W. TAGER et J. B. JENSEN, *Nature (London)*, 273, 1978, p. 621-622.

P.R.C. : *Entomologie C.R.B.A. Procida/Roussel-Uclaf*,
Saint-Marcel, 13367 Marseille Cedex 11;

J.C., N.E., C.S. et A.R. : *Entomologie O.R.S.T.O.M.*, 70-74, route d'Aulnay, 93160 Bondy;

M.G. et P.T. : *Laboratoire de Parasitologie*,
Faculté de Pharmacie, 27, boulevard Jean-Moulin, 13385 Marseille Cedex 5.