

EFFICACITE ET REMANENCE DE DEUX PYRETHRINOIDES EN

### 3. Matériel biologique

*Anopheles gambiae* : les moustiques utilisés provenaient de l'insectarium du Service d'Entomologie Médicale de l'OCEAC. La souche est issue de larves récoltées en mai-juin 1989 au quartier Essos, Yaoundé.

*Culex quinquefasciatus* : pour la souche Yaoundé, les spécimens utilisés provenaient des pontes d'adultes d'une souche mise en élevage depuis plusieurs années au Centre Pasteur du Cameroun. Cette souche est issue de larves récoltées dans les caniveaux de Yaoundé.

La souche Douala est issue des larves récoltées dans les caniveaux de deux quartiers (Deido et Madagascar) en octobre 1990 et mises en élevage au laboratoire. Pour cette dernière souche les tests ont été pratiqués à partir des spécimens de 2<sup>ème</sup> génération.

## METHODES

### 1. Essais de rétention d'eau

Les tulles moustiquaires utilisés absorbent une certaine quantité d'eau retenue par les fibres du tissu. Cette quantité doit être connue avant l'opération d'imprégnation par trempage pour obtenir la concentration d'insecticide recherchée sur le tulle moustiquaire.

Pour connaître cette quantité d'eau (V), on immerge entièrement le tulle moustiquaire pendant 5 minutes dans une bassine contenant un volume d'eau connu (V1); puis on le retire, l'essore et le laisse sécher horizontalement sur une surface plane. Le volume d'eau restant dans la bassine (V2) est alors mesuré. Nous avons repris cette opération en 16 essais afin d'obtenir une moyenne.

(V) quantité d'eau retenue = (V1) volume initial - (V2) volume restant

### 2. Les imprégnations

#### Calcul des dilutions

##### a) la deltaméthrine :

\*La quantité de deltaméthrine EC 25 nécessaire pour imprégner un tulle moustiquaire de 2 m<sup>2</sup> est de :  $x = ((1 \text{ ml} \times (a : p)) \times 2$  où

a = quantité de matière active (en mg) pour obtenir la concentration recherchée sur 1 m<sup>2</sup> de tulle moustiquaire

p = concentration en matière active (en g/l) du produit commercial

\*La quantité d'eau nécessaire pour faire diluer la deltaméthrine pour un tulle moustiquaire de 2 m<sup>2</sup> est de :  $r = V - x$  où V = la quantité d'eau qu'absorbe un tulle de 2 m<sup>2</sup>

##### b) la perméthrine:

\*La quantité de perméthrine EC 20% (200/1000 m.a.) nécessaire pour imprégner un tulle moustiquaire de 2 m<sup>2</sup> est de :

$y = ((1000 \text{ ml} \times c) : 200) \times 2$  où c = quantité de matière active (en g) pour obtenir la concentration recherchée sur 1 m<sup>2</sup> de tulle moustiquaire

\*La quantité d'eau nécessaire pour faire diluer la perméthrine pour un tulle moustiquaire de 2 m<sup>2</sup> est de :  $t = V - y$

#### Technique d'imprégnation

La technique utilisée est l'imprégnation par trempage (dipping). L'imprégnation est réalisée dans un seau en acier inoxydable. Les tulles sont immergés pendant 5 minutes, essorés puis mis à sécher à plat pour éviter d'éventuels écoulements. Une fois secs, les tulles sont emballés dans un papier craft.

### 3. Les bio-essais

Ils sont réalisés à l'aide de cônes transparents standard OMS, fixés sur le tulle moustiquaire. Les moustiques à tester sont prélevés dans les cages d'élevage puis introduits dans les cônes pour un contact forcé de 3 minutes.

Au terme des trois minutes, les moustiques sont aspirés et mis dans les cages d'observation. Ces tests sont réalisés avec des femelles néonates de 2 à 3 jours à raison de 15 femelles par cône. Chaque série de tests comprend 4 cônes soit 60 femelles de moustiques. Pour chaque série de tests, il a été réalisé un témoin sur tulle non imprégné comprenant 2 x 15 femelles.

Il est par ailleurs introduit dans les cages d'observation autant de moustiques mâles que de femelles testées, ceci dans l'optique d'apprécier les éventuels effets secondaires (longévité et fécondité).

La mortalité immédiate ou effet "knock down" est appréciée à la fin des trois minutes du contact forcé.

Après 24 heures, les moustiques femelles morts et les survivants sont dénombrés pour déterminer le taux de mortalité retardée.

Les survivants sont remis en élevage pour l'observation de la longévité jusqu'à la mort de la dernière femelle.

Les moustiques sont gorgés chaque jour avec du sang de lapin pour les anophèles et du sang de poulet pour les culex. Les pontes sont par la suite dénombrées pour apprécier la fécondité.

Les résultats sur la longévité et la fécondité ont été interprétés par des tests d'analyse de variance.

La rémanence est évaluée en fonction de la morta-

lité induite dans le temps. L'efficacité est déterminée par rapport aux taux de mortalité dont le seuil requis est de 50%.

#### 4. Les tests d'irritation

Pendant la réalisation des bio-essais, l'effet irritant de l'insecticide peut amener les moustiques à éviter le contact. Nous avons réalisé les tests d'irritation en chronométrant dans l'intervalle des trois minutes le temps réel que le moustique passe au contact du tulle moustiquaire et donc de l'insecticide.

Une seule femelle est introduite dans le cône. Un chronomètre apprécie le temps d'exposition, un autre chronomètre est actionné chaque fois que le moustique se pose sur le tulle moustiquaire et arrêté lorsque le moustique quitte le tulle. Cette opération est reprise 20 fois avec des moustiques différents.

Le temps moyen de contact effectif est calculé pour chaque concentration et chaque insecticide, ceci à chaque période des tests.

#### 5. Programmation des tests

Les tests ont été réalisés 7, 30, 60, 90 et 120 jours après les imprégnations.

### RESULTATS

#### 1. Rétention d'eau

Les 16 essais de rétention d'eau effectués ont donné une moyenne de  $65,2 \pm 1,9$  ml par tulle moustiquaire (risque à 5%) soit 32,6 ml / m<sup>2</sup>. Les différents tests de rétention d'eau n'ont jamais dépassé des écarts de 5%. Le tableau 1 présente la récapitulation des volumes d'eau et des volumes d'insecticides en fonction des doses recherchées.

Tableau 1 : Récapitulation des volumes d'eau et des volumes d'insecticides en fonction des doses recherchées

Insecticides	Volume	Volume	Concentrations
	insecticide (ml)	d'eau (ml)	recherchées
deltaméthrine	1,2	64	15 mg/m <sup>2</sup>
	2,0	63,2	25 mg/m <sup>2</sup>
	4,0	61,2	50 mg/m <sup>2</sup>
perméthrine	2,5	62,7	0,25 g/m <sup>2</sup>
	5,0	60,2	0,50 g/m <sup>2</sup>
	7,5	57,7	0,75 g/m <sup>2</sup>

#### 2. Effet knock down

Aucun effet "knock down" n'a été observé dans la limite du temps d'exposition de 3 minutes, quelles que soient les concentrations d'insecticides utilisées et les souches culicidiennes observées.

#### 3. Mortalité retardée à 24 heures

a) deltaméthrine : jusqu'à 120 jours (*Anopheles gambiae*) et 90 jours (*Culex quinquefasciatus*) après les imprégnations, les taux de mortalité induits par la deltaméthrine restent supérieurs à 80% quelles que soient les concentrations utilisées (fig. 1,2 et 3).

Figure 1 : Evolution de l'efficacité adulticide de trois concentrations de deltaméthrine en fonction du temps sur *Anopheles gambiae*, souche Yaoundé

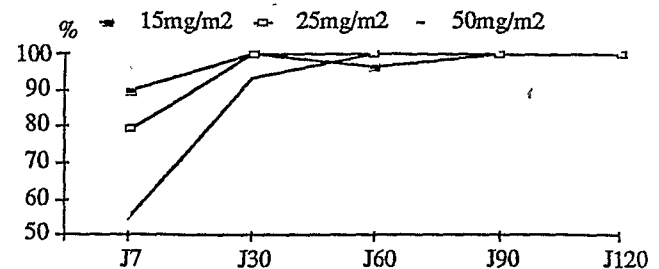


Figure 2 : Evolution de l'efficacité adulticide de trois concentrations de deltaméthrine en fonction du temps sur *Culex quinquefasciatus*, souche.

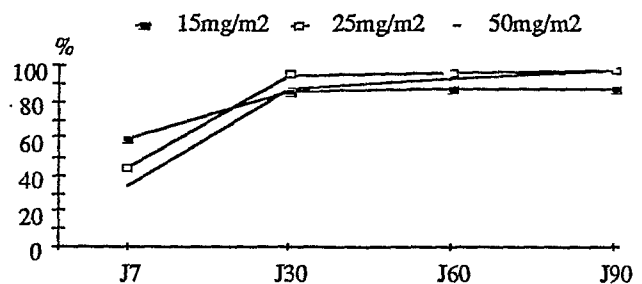
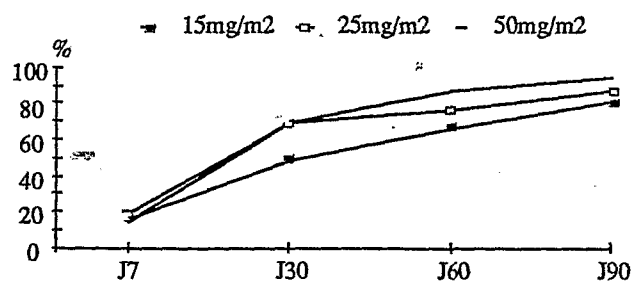


Figure 3 : Evolution de l'efficacité adulticide de trois concentrations de deltaméthrine en fonction du temps sur *Culex quinquefasciatus*, souche Douala



On observe cependant des faibles taux de mortalité à J7 : le plus bas taux est d'environ 20 % pour la concentration 50 mg / m<sup>2</sup> sur *C. quinquefasciatus* souche Douala. Ces taux à J7 sont par ailleurs inversement proportionnels par rapport à l'accroissement des concentrations d'insecticides.

b) perméthrine : pour toute la durée des tests, la perméthrine n'a pu induire des taux de mortalité supérieurs à 40 % sur *C. quinquefasciatus* quelle que soit la souche.

Avec *An. gambiae* les plus forts taux de mortalité sont observés à J30 (100 % pour 0,75g/m<sup>2</sup> et 93,3 % pour 0,50 g/m<sup>2</sup>).

Toutefois à partir de J60 la tendance est à la baisse pour toutes les concentrations à l'exception de 0,75 g/m<sup>2</sup> dont la baisse ne commence qu'à partir de J90 (fig. 4,5 et 6).

Figure 4 : Evolution de l'efficacité adulticide de trois concentrations de perméthrine en fonction du temps sur *Anopheles gambiae*, souche Yaoundé

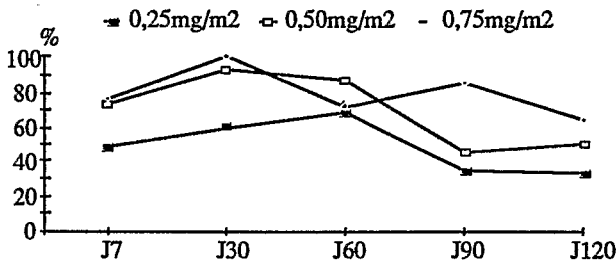


Figure 5 : Evolution de l'efficacité adulticide de trois concentrations de perméthrine en fonction du temps sur *Culex quinquefasciatus*, souche Yaoundé

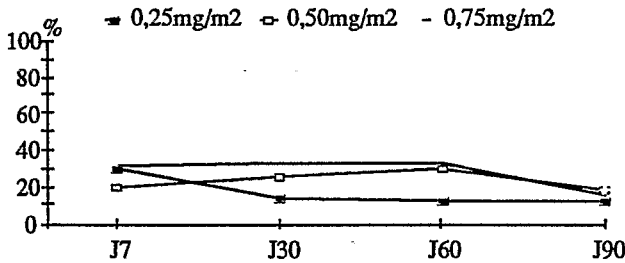


Figure 6 : Evolution de l'efficacité adulticide de trois concentrations de perméthrine en fonction du temps sur *Culex quinquefasciatus*, souche Douala

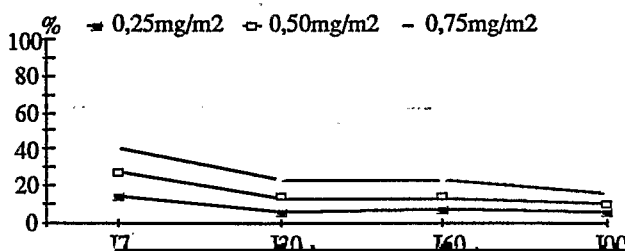


Tableau 2:

contact effectif des différentes espèces de moustiques avec le tulle moustiquaire imprégné de deltaméthrine rapportés à la mortalité induite

Périodicité et caractéristiques des tests	J 7				J 30				J 60				J 90				J 120			
	15 mg/m <sup>2</sup>	25 mg/m <sup>2</sup>	50 mg/m <sup>2</sup>	Tém.	15 mg/m <sup>2</sup>	25 mg/m <sup>2</sup>	50 mg/m <sup>2</sup>	Tém.	15 mg/m <sup>2</sup>	25 mg/m <sup>2</sup>	50 mg/m <sup>2</sup>	Tém.	15 mg/m <sup>2</sup>	25 mg/m <sup>2</sup>	50 mg/m <sup>2</sup>	Tém.	15 mg/m <sup>2</sup>	25 mg/m <sup>2</sup>	50 mg/m <sup>2</sup>	Tém.
Mortalité à 24 h en %	89,47	79,31	54,23	3,33	100	100	93,33	00	96,55	100	100	00	100	100	100	00	100	100	100	00
Temps moyen de contact effectif	2'46"	2'43"	2'31"	2'58"	2'50"	2'49"	2'46"	2'57"	2'48"	2'50"	2'48"	2'57"	2'48"	2'50"	2'49"	2'56"	2'54"	2'50"	2'50"	2'57"
Mortalité à 24 h en %	50,79	42,85	33,33	00	85,96	95	86,66	00	86,66	96,42	93,33	00	87,5	96,87	96,66	00	87,5	96,87	96,66	00
Temps moyen de contact effectif	2'32"	2'22"	2'11"	2'57"	2'37"	2'37"	2'34"	2'57"	2'37"	2'38"	2'35"	2'56"	2'44"	2'40"	2'38"	2'57"	2'44"	2'40"	2'38"	2'57"
Mortalité à 24 h en %	16,66	18,33	15	00	48,38	68,96	68,33	00	66,66	75	85,71	3,44	80	83,33	86,66	00	80	83,33	86,66	00
Temps moyen de contact effectif	2'16"	2'09"	1'58"	2'57"	2'35"	2'37"	2'30"	2'58"	2'38"	2'32"	2'29"	2'56"	2'44"	2'39"	2'31"	2'57"	2'44"	2'39"	2'31"	2'57"
																Tests non effectués				Tests non effectués

Tableau 3 :

Temps de contact effectif des différentes espèces de moustiques avec le tulle moustiquaire imprégné de perméthrine rapportés à la mortalité induite

Espèces culicidiennes testées	Périodicité et caractéristiques des tests	J 7				J 30				J 60				J 90				J 120			
		0,25 g/m <sup>2</sup>	0,50 g/m <sup>2</sup>	0,75 g/m <sup>2</sup>	Tém.	0,25 g/m <sup>2</sup>	0,50 g/m <sup>2</sup>	0,75 g/m <sup>2</sup>	Tém.	0,25 g/m <sup>2</sup>	0,50 g/m <sup>2</sup>	0,75 g/m <sup>2</sup>	Tém.	0,25 g/m <sup>2</sup>	0,50 g/m <sup>2</sup>	0,75 g/m <sup>2</sup>	Tém.	0,25 g/m <sup>2</sup>	0,50 g/m <sup>2</sup>	0,75 g/m <sup>2</sup>	Tém.
<i>Anopheles gambiae</i> ,	Mortalité à 24 h en %	48,33	72,88	76,88	3,44	60	93,33	100	00	67,85	87,50	71,42	00	35,29	45	84,21	00	33,33	50	63,33	00
Souche Yaoundé	Temps moyen de contact effectif	2'47"	2'45"	2'44"	2'57"	2'56"	2'55"	2'54"	2'57"	2'55"	2'56"	2'55"	2'58"	2'57"	2'55"	2'56"	2'57"	2'57"	2'56"	2'56"	2'57"
<i>Cx quinquefasciatus</i> ,	Mortalité à 24 h en %	30	20	31,66	00	13,33	25	33,33	00	12,5	30	33,33	00	11,66	18,33	16,12	00	11,66	18,33	16,12	00
Souche Yaoundé	Temps moyen de contact effectif	2'30"	2'33"	2'24"	2'57"	2'48"	2'45"	2'38"	2'56"	2'47"	2'48"	2'40"	2'56"	2'49"	2'46"	2'45"	2'56"	2'47"	2'46"	2'45"	2'56"
<i>Cx quinquefasciatus</i> ,	Mortalité à 24 h en %	15	27,77	40	3,51	6,89	13,79	23,33	3,44	23,33	13,33	23,33	00	6,45	10,34	16,66	00	6,45	10,34	16,66	00
Souche Douala	Temps moyen de contact effectif	2'29"	2'24"	2'14"	2'58"	2'43"	2'40"	2'40"	2'57"	2'46"	2'47"	2'46"	2'57"	2'47"	2'46"	2'47"	2'57"	2'47"	2'46"	2'47"	2'57"

Avec la perméthrine, les temps réels de contact varient de 2'44" à 2'57" pour *An. gambiae* et de 2'14" à 2'47" pour *C. quinquefasciatus* (Tableau 3).

### 5. Effets secondaires

a) longévité : la mise en exposition d'*An. gambiae* et de *C. quinquefasciatus* avec la deltaméthrine ou la perméthrine réduit fortement la longévité des survivants. Cette réduction s'accroît avec le vieillissement de l'imprégnation (Tableaux 4 et 5).

Tableau 4 : Comparaison des taux de survie des survivants d'*An. gambiae* après mise en exposition de 3 minutes avec du tulle imprégné de deltaméthrine en fonction des concentrations

Jours après l'imprégn.	Témoin	15 mg/m <sup>2</sup>	25 mg/m <sup>2</sup>	50 mg/m <sup>2</sup>	p**
J 7	15,8* 13,2-18,4	11,5* 5,4-17,6	13,3* 9,6-17	13,8* 12,2-15,4	N S
J 30	15,4* 13,1-17,7	0*	0*	4,2* 0,9-7,5	0,0004
J 60	17,7* 14,6-20,8	2,3* 1-3,6	0*	0*	0,005

\* longévité moyenne par individu en jours (intervalle de confiance)

\*\* Analyse de variance (test F). N S = Non Significatif

Tableau 5 : Comparaison des taux de survie des moustiques survivants après mise en exposition de 3 minutes avec du tulle imprégné de perméthrine en fonction des concentrations

espèces	Jours après l'imprégn.	Témoin	025 g/m <sup>2</sup>	050 g/m <sup>2</sup>	075 g/m <sup>2</sup>	p**
<i>Anopheles gambiae</i>	J7	15,8* (12,5-19,1)	10,8* (9-12,6)	7,6* (4,5-10,7)	10,2* (7-13,4)	0,002
	J30	2,2* (1,9-2,4)	11,2* (9,5-12,9)	5,2* (1,3-9,1)	0*	<10 <sup>-4</sup>
	J60	17,8* (15,5-20,1)	12,6* (10,2-15)	10* (6,6-13,4)	11,8* (10,2-13,4)	0,0002
	J90	20,4* (17,5-23,3)	13,6* (10,5-16,7)	17,4* (13,9-20,9)	8,6* (4,4-12,8)	0,002
<i>Culex quinquefasciatus</i>	J7	32,1* (27,6-36,6)	26,5* (22,6-30,4)	23* (18,7-27,3)	22,3* (17,7-26,9)	0,03
	J30	33,8* (29-38,6)	23,4* (19,5-27,3)	13,5* (10,5-16,5)	15,3* (7,7-14,7)	<10 <sup>-4</sup>
Souche Douala	J60	34,3* (28-40,6)	27,8* (23,3-32,3)	29,5* (24,5-34,5)	24,3* (19,2-29,4)	NS

\* longévité moyenne par individu en jours (intervalle de confiance)

\*\* Analyse de variance (test F). N S = Non Significatif

b) fécondité : les tests d'analyse de variance sur la fécondité moyenne par individu survivant ne mettent pas en évidence de modification de la fécondité après un contact avec la deltaméthrine ou la perméthrine.

## DISCUSSION

La deltaméthrine et la perméthrine sont des insecticides agissant par contact et éventuellement par ingestion. Trois minutes de mise en exposition ne sont pas suffisantes pour obtenir un effet knock-down sur les *Culicidae* que nous avons utilisés. LI ZUZI et al. (1989) tirent les mêmes conclusions dans un essai comparable effectué sur *An. sinensis* dans le District de Buji Ba'on country, Chine.

En ce qui concerne la mortalité retardée, nous n'avons pu travailler qu'avec un délai de 120 jours pour *An. gambiae* et 90 jours pour *C. quinquefasciatus*. La rémanence de la deltaméthrine n'a donc pu être déterminée dans ces délais. Par contre celle de la perméthrine s'est avérée de courte durée.

La formulation de deltaméthrine utilisée est très irritante. Cet effet irritant est d'autant plus évident que l'imprégnation est récente (J7 par ex). Ceci réduit le temps de contact d'où les faibles taux de mortalité observés à J7. *C. quinquefasciatus* s'est avéré plus sensible à l'irritation que *An. gambiae*.

Les trois concentrations de deltaméthrine (15, 25 et 50 mg/m<sup>2</sup>) induisent des taux de mortalité très satisfaisants ; la concentration appliquée a peu d'influence sur la mortalité. La concentration intermédiaire 25 mg/m<sup>2</sup> provoque un taux de mortalité acceptable sur *An. gambiae*.

Si la mise en exposition d'*An. gambiae* et de *C. quinquefasciatus* avec la deltaméthrine et la perméthrine a un impact sur la longévité des survivants, par contre ces deux insecticides n'ont pas d'effet tératogène sur l'embryogenèse des moustiques. Ceci rejoint les conclusions des expérimentations de ROUSSEL-UCLAF (1982) sur des souris.

## CONCLUSION

Au vu de résultats acquis au laboratoire sur les moustiques du Sud-Cameroun, il ressort que la mise en exposition de trois minutes avec les deux insecti-

sur les *An. gambiae* de Yaoundé. L'effet insecticide de la perméthrine est médiocre sur les *C. quinquefasciatus* de Yaoundé et de Douala.

L'effet répulsif des pyréthri-noïdes est une réalité. Néanmoins il est de courte durée et est plutôt positif pour celui qui dort sous la moustiquaire car l'évitement des piqûres est favorisé.

La longévité des moustiques qui ont contracté une dose subléthale est diminuée.

La rémanence de la perméthrine semble être plus courte que celle de la deltaméthrine.

En définitive, la deltaméthrine est recommandée pour l'imprégnation des moustiquaires dans le Sud-Cameroun.

## BIBLIOGRAPHIE

1. CARNEVALE P., ROBERT V., BOUDIN C., HALNA J.M., PAZART L., GAZIN P., RICHARD A. & MOUCHET J., 1988.- La lutte contre le paludisme par des moustiquaires imprégnées de pyréthri-noïdes au Burkina-Faso. Bull. Soc. Path. Ex., 81 : 832-846.
2. CARNEVALE P., ROBERT V., SNOW R. CURTIS C., RICHARD A., BOUDIN C., PAZART L., HALNA J.M. & MOUCHET J., 1991.- L'impact des moustiquaires imprégnées sur la prévalence et la morbidité liée au paludisme en Afrique sub-saharienne. Ann. Soc. belge Méd. Trop., 71, suppl. 1 : 127-150.
3. CASTANAZA LOPEZ L.A., 1980.- Evaluacion de un piretroid (K-othrina) para control de *Anopheles (N) albimanus*. - Ministerio de Salud Publica, SNEM Guatemala CA. Publication bilingue espagnol/anglais.
4. DESFONTAINE M., GELASH., GOGHOMOU A., KOUKA-BEMBA D. & CARNEVALE P., 1989.- Evaluation des pratiques et des coûts de lutte antivectorielle à l'échelon individuel et familial en Afrique Centrale, 1. Ville de Yaoundé (mars 1988). Bull. Soc. Path. Ex., 82 : 558-565.
5. GRAVES P. M., BRABIN B. J., CHARLWOOD J. D., BURKOTT R., CATTANI J. A., GINNY M., PAINO J., GIBSON F. D. & ALPERS M. P., 1987 Reduction in incidence and prevalence of *Plasmodium falciparum* in under-5 year old children by permethrin

6. LE GOFF G., VERHAVE J.P., ROBERT V., et CARNEVALE P., 1990.- Influence de la proximité d'un fleuve sur la transmission du paludisme dans la forêt du Sud-Cameroun *Bull. Soc. Franç. Parasitol.*, suppl. 8,2, 1180.
7. LINES L.D. , MYAMBA J. et CURTIS C.F., 1987.- Experimental huts trial of permethrin impregnated mosquito nets and eave curtains against malaria vectors in Tanzania. *Med. Vet. Entomol.*, 1 : 37-57.
8. LI-ZUZI, 1986.- Deltamethrin treated mosquito net efficacy against *Anopheles sinensis* and *Anopheles dirus*. - IVème Congrès sur la protection de la Santé Humaine et des cultures en milieu tropical, Marseille, 2-3-4 juillet 1986.
9. LI-ZUZI, ZHANG MANCHENG, WUYUGUANG, ZHONG BINGLIN, LIN GUANGYU & HUANG HUI, 1989.- Trial of deltamethrin impregnated bed nets for the control of malaria transmitted by *Anopheles sinensis* and *Anopheles anthropophagus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 40 : 356 - 359
10. HOSSAIN M., CURTIS C.F. et HEEKIN J.P., 1989.- Assays of permethrin impregnated fabrics and bioassays with mosquitoes (diptera, culicidae). *Bull. Ent. Res.* , 79: 299-308.
11. RANQUE P., TOURE Y., SOULA G., LEDU D., TRAORE O., DUFLO B. & BALIQUE H. 1984.- Use of mosquito nets with deltamethrin in malaria control. Abstract of XI International Congress of Tropical Medicine and Malaria, Calgary, Canada.
12. ROBERT V., 1989.- La transmission du paludisme humain : la zone des savanes d'Afrique de l'Ouest. - Thèse de Doctorat de l'Université Paris 6, spécialité : Entomologie médicale.
13. ROUSSEL-UCLAF, Division Agrovét. - La deltaméthrine. Monographie, ed. 1982.
14. SNOW R. W., ROWAN K. M. & GREENWOOD B. M., 1987.- A trial of permethrin treated bed nets in the prevention of malaria in gambian children. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 81 : 563 - 567.

*Ce travail, réalisé au Service d'Entomologie Médicale de l'OCEAC, Yaoundé Cameroun, a fait l'objet d'un mémoire soutenu le 18 septembre 1991 au Centre Inter-Etats d'Enseignement Supérieur en Santé Publique en Afrique Centrale (CIESPAC) à Brazzaville, Congo, pour l'obtention du diplôme de Technicien Supérieur en Santé Publique, option Entomologie Médicale.*

