

Utilisation des insecticides et gestion de la résistance



Citation proposée :

Centre national d'Expertise sur les Vecteurs. 2014. Utilisation des insecticides et gestion de la résistance.

Crédits photos :

Tests en tubes et test topique : CNEV. Test en plots *in situ* : INRA Rennes.

Constitution du groupe de travail

Thierry BALDET, UMR CMAEE (Cirad – INRA)

Fabrice CHANDRE, UMR MIVEGEC (IRD – CNRS – Université Montpellier 1 – Université Montpellier 2), Président du groupe de travail

Frédéric DARRIET, UMR MIVEGEC (IRD – CNRS – Université Montpellier 1 – Université Montpellier 2)

Jean-Philippe DAVID, UMR LECA (CNRS – Université Joseph Fourier – Université de Savoie)

Isabelle DUSFOUR, Institut Pasteur de la Guyane

Michel FRANC, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Arezki IZRI, Hôpital Avicenne – Université Paris 13

Pierrick LABBE, UMR ISEM (CNRS – Université Montpellier 2- IRD)

Laurent LAGADIC, UMR ESE (INRA – Agrocampus Ouest)

Christophe LAGNEAU, EID Méditerranée

Contributeurs

Sarah BONNET, USC Bartonella – Tiques (INRA – Anses),

Gérard DUVALLET, UMR CEFE (CNRS – Université Montpellier 2),

Didier FONTENILLE, UMR MIVEGEC (IRD – CNRS – Université Montpellier 1 – Université Montpellier 2),

Romain GIROD, Institut Pasteur de la Guyane,

Pierre GUILLET, Consultant (anciennement IRD),

Grégory L'AMBERT, EID Méditerranée,

Vincent ROBERT, UMR MIVEGEC (IRD – CNRS – Université Montpellier 1 – Université Montpellier 2),

Lise ROY, UMR CEFE (CNRS – Université Montpellier 2),

Antoine SCHWOERER, Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie.

Coordination de l'expertise

Frédéric JOURDAIN, Centre National d'Expertise sur les Vecteurs,

Yvon PERRIN, Centre National d'Expertise sur les Vecteurs.

Remerciements

Katia GRUCKER, Centre National d'Expertise sur les Vecteurs, pour l'organisation des travaux du groupe.

Sommaire

Résumé exécutif.....	5
Introduction.....	8
1. La résistance aux insecticides: Définition et mécanismes	9
2. Etat des lieux de la résistance des vecteurs en France.....	16
3. Difficultés associées à la gestion des insecticides	17
4. Anticiper et prévenir les échecs du contrôle des vecteurs par l'utilisation d'insecticides ...	26
5. Stratégies de gestion de la résistance aux insecticides.....	35
6. Recommandations et axes de recherche à développer.....	41
7. Références	47
Annexe 1 : enquête auprès de services de démoustication concernant la résistance des principales espèces ciblées.....	61
Annexe 2 : recherche bibliographique sur la « résistance aux insecticides/acaricides » pour les différentes espèces de vecteurs d'intérêt en France.....	63

Résumé exécutif

La résistance des insectes peut être définie comme une diminution héréditaire de la sensibilité à un insecticide. Il s'agit d'une adaptation au nouvel environnement créé par la présence des insecticides, selon un processus de sélection naturelle. Un état des lieux sur la résistance des différents vecteurs d'importance médicale et vétérinaire en France a été dressé, montrant une connaissance parcellaire des niveaux de sensibilité de certaines populations de vecteurs, et des niveaux de résistance importants pour *Aedes aegypti* dans les départements français d'Amérique, et de *Culex pipiens* sur la plupart des territoires français.

Outre les traitements réalisés dans le cadre de la lutte antivectorielle, les arthropodes vecteurs sont également soumis, selon leur écologie, à la pression insecticide issue de l'agriculture ou des usages domestiques, accélérant ainsi l'apparition du phénomène et la diffusion des allèles résistants au sein des populations de vecteurs, avec comme conséquence une perte d'efficacité des traitements.

Afin de garantir la pérennité des actions de lutte, il est indispensable de considérer que la gestion de la résistance, tout comme l'anticipation des impacts non intentionnels doivent être systématiquement intégrées à toute politique de lutte contre les vecteurs. Un logigramme est proposé à ce titre dans ce document. Cette surveillance, basée sur la réalisation de bioessais et la recherche de mécanismes de résistance, doit permettre d'adapter la stratégie de lutte en fonction des résultats observés. Ainsi, le coût d'un programme de suivi et de gestion de la résistance ne devrait pas être considéré à court terme mais doit utilement permettre d'apprécier les gains à long terme apportés par la conservation de l'efficacité des insecticides disponibles. Plusieurs stratégies existent pour la gestion de la résistance, mais la plupart reposent sur la combinaison ou l'alternance d'insecticides de familles différentes dans le temps ou dans l'espace. Toutefois, la réduction drastique du panel d'insecticides disponibles pour la santé publique limite actuellement les possibilités de leur mise en œuvre. La place de ces différentes stratégies dans les différents contextes rencontrés en France est discutée en fonction des vecteurs et des territoires concernés. Ainsi, l'utilisation de substances insecticides en cas de résistance ne devrait être poursuivie que si les modalités de lutte basées sur ces molécules demeurent efficaces.

Des recommandations à l'attention des acteurs publics sont également formulées, notamment pour favoriser l'intégration de substances alternatives au niveau opérationnel. La mise en place d'un observatoire de la résistance est également suggérée. Dans le domaine de la recherche, il paraît nécessaire d'étudier l'impact opérationnel de la résistance, d'évaluer l'impact des facteurs environnementaux (pollution, autres usages insecticides) sur l'évolution de la résistance et de développer des tests rapides pour la caractérisation des mécanismes de résistance.

Recommandations à l'attention des acteurs publics pour améliorer la gestion de la résistance :

- Clarification de la question de la responsabilité du suivi de la résistance, en particulier en métropole,
- Intégration aux stratégies de contrôle de la mise en œuvre d'un programme de suivi de la sensibilité aux insecticides utilisés,
- Soutien des pouvoirs publics aux industriels pour faciliter la mise à disposition de nouvelles substances. Partenariat public-privé à développer pour le développement de nouvelles substances actives,
- Suivi d'indicateurs d'impact sur la faune non-cible en fonction des contextes d'intervention,
- Intégrer dès à présent au niveau opérationnel des substances larvicides alternatives au Bti (choix à définir selon les usages, cf. expertise Anses),
- Limiter l'utilisation des pyréthrinoïdes,
- Evaluer l'efficacité des traitements à base de pyréthrinoïdes dans les territoires où les vecteurs sont résistants,
- Intégrer les tests sur souches de référence résistantes dans le cadre du dispositif d'évaluation des produits biocides,
- Evaluation de la sensibilité des espèces non-cibles aux biocides de substitution et évaluation de la vulnérabilité des communautés d'invertébrés non-cibles,
- Tester les différentes molécules identifiées lors de l'expertise Anses,
- Mettre en place une veille sur les phénomènes de résistance aux insecticides des principaux vecteurs ciblés par la LAV : création d'un observatoire de la résistance.

Identification de questions prioritaires de recherche à encourager

a. Recherche fondamentale et appliquée (secteurs public et privé)

- Réévaluation des résistances croisées à différentes familles d'insecticides,
- Développer des associations d'insecticides à mode d'action différents (mélanges, mosaïques, micro-mosaïque) avec recherche de synergismes potentiels. et évaluation de l'impact de leur utilisation sur la sélection des gènes de résistance (tests au laboratoire et sur le terrain à échelle réduite),
- Etude des facteurs environnementaux, en particulier le lien entre pollution et résistance métabolique, ainsi que l'impact des autres usages des insecticides (agriculture, usage domestique),
- Concernant plus particulièrement le Bti, étude plus approfondie du rôle et de l'action de chaque toxine, anticipation des mécanismes de résistance,
- Développement de tests rapides pour la caractérisation des mécanismes de résistance.

b. Recherche en partenariat avec les opérateurs

- Evaluation économique du coût (et des bénéfices à long terme) de la gestion de la résistance,
- Elevage et maintien de souches de référence (sensibles et résistantes) pour chaque espèce d'arthropode visée par la LAV,
- Etude des relations entre niveaux de résistance et impacts opérationnels afin d'affiner les seuils d'alerte.

Introduction

Parmi les différentes méthodes de lutte antivectorielle, l'utilisation de biocides conserve une place importante, voire prépondérante. Cependant, la réduction du nombre de substances actives disponibles, l'émergence de résistances aux principales familles d'insecticides et la nécessité de respecter au mieux l'environnement, justifient la mise en œuvre d'une réflexion approfondie sur l'utilisation de ces substances et la gestion des phénomènes de résistance chez les vecteurs.

C'est dans ce cadre que s'inscrit le présent document. Celui-ci vise à présenter les principaux mécanismes de résistance aux insecticides ainsi que sur la situation actuelle en termes de résistance aux insecticides chez les principaux vecteurs en France métropolitaine et outre-mer. Sur cette base, des propositions sont émises pour une utilisation raisonnée des insecticides et une stratégie durable de gestion des phénomènes de résistance. Des questions de recherche jugées comme prioritaires sont également identifiées.

1. La résistance aux insecticides: Définition et mécanismes

La résistance des vecteurs de pathogènes à l'origine de maladies humaines ou animales aux insecticides affecte à la fois l'économie et la santé publique et vétérinaire à l'échelle mondiale: elle oblige à augmenter les quantités d'insecticides utilisées et à développer de nouvelles molécules ou formulations (entraînant donc une hausse des coûts). Elle rend inefficace les produits disponibles et les stratégies de lutte contre les vecteurs, entraînant donc une prévalence accrue des pathogènes et des maladies qu'ils transmettent (Georghiou & Lagunes-Tejeda, 1991; Nauen, 2007; Whalon, Mota-Sanchez, & Hollingworth, 2008). L'agriculture, dans le cadre de la lutte contre les ravageurs des cultures ou des stocks alimentaires, reste de loin le secteur qui utilise le plus d'insecticides. Environ 3 millions de tonnes de pesticides sont appliqués dans le monde chaque année pour un montant annuel d'environ 40 milliards US\$. La résistance des ravageurs induit un surcoût de 1,5 milliard US\$ par an pour l'agriculture aux Etats-Unis (Pimentel, 2005). Par contre, très peu de données économiques sont disponibles concernant le coût de la résistance des principaux vecteurs d'agents pathogènes d'intérêt humain ou vétérinaire. Le premier cas de résistance date de 1908 chez le ravageur *Aspidiotus perniciosus*, une cochenille, résistant à la chaux soufrée (Melander, 1914). Un siècle plus tard (Whalon et al, 2008), 553 espèces d'arthropodes sont signalées comme résistantes à au moins un insecticide, parmi lesquelles de nombreux vecteurs de pathogènes comme les moustiques, poux, punaises, triatomes, puces, et tiques.

La résistance d'une espèce cible peut être définie comme une **diminution héréditaire de la sensibilité à un insecticide** (Nauen, 2007). Au plan fondamental, il s'agit d'une adaptation au nouvel environnement sélectionnée par la pression exercée par un ou plusieurs insecticides, selon un processus de sélection naturelle. Les individus résistants sont porteurs d'une ou plusieurs mutations géniques (on parle alors d'allèles de résistance) codant pour des protéines qui interagissent avec l'insecticide. Ainsi, les protéines mutées empêchent l'insecticide d'atteindre sa cible, par exemple en le dégradant, ou en modifiant cette cible permettant aux insectes porteurs de ces mutations de survivre à des doses d'insecticide normalement létales. Les insecticides ne provoquent pas l'apparition de ces mutations directement, mais sélectionnent les individus qui les portent car ils sont aptes alors à survivre et à se reproduire en présence de ces insecticides. En conséquence, la fréquence du ou des allèles de résistance augmente dans les populations exposées à l'insecticide au fur et à mesure des générations. Certaines espèces peuvent être résistantes à une très large gamme de composés chimiques, on parle alors de résistance « croisée » lorsque un seul mécanisme confère la résistance à différents insecticides et de résistance « multiple » lorsque plusieurs mécanismes distincts confèrent la résistance à différents insecticides (Whalon et al, 2008).

Lorsque la résistance est suspectée, par exemple suite à une baisse d'efficacité des traitements insecticides sur le terrain contre une espèce cible, le niveau de résistance de la population est tout d'abord évalué par des tests toxicologiques en laboratoire (bio-essais) qui permettent d'établir des niveaux ou rapports de résistance (RR^1) par comparaison avec une souche sensible de référence de la même espèce. Il est également possible de rechercher les gènes ou les marqueurs biochimiques connus pour intervenir dans la résistance afin de déterminer leur fréquence et de suivre leur évolution dans les populations cibles.

Plusieurs types de mécanismes de résistance peuvent être distingués (cf. figure 1 et tableau 1).

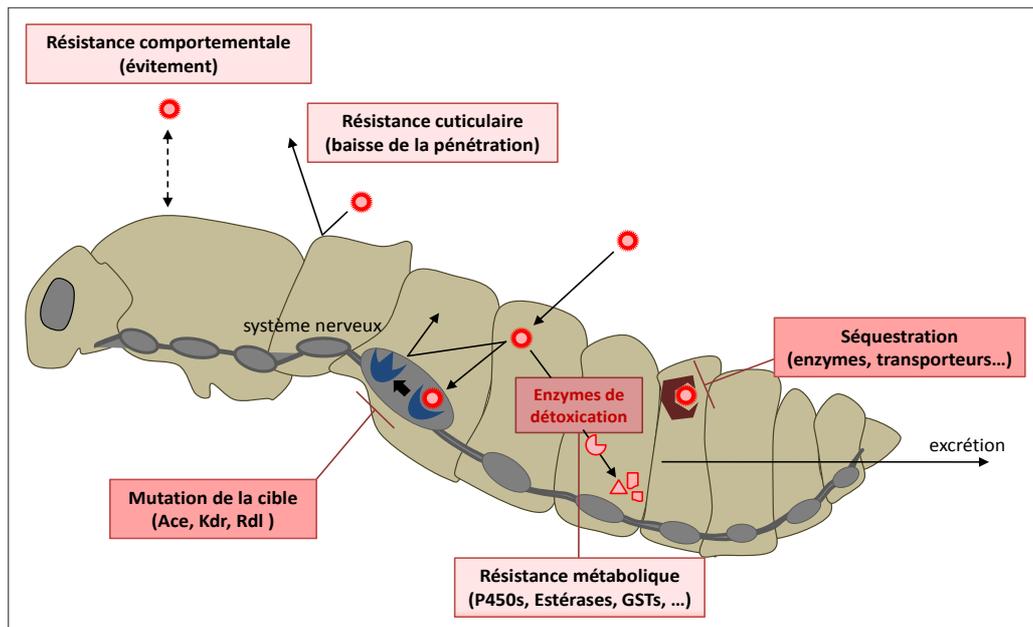


Figure 1. Principaux mécanismes de résistance aux insecticides chimiques (selon J.P. David, H.M. Ismail et M.I. Paine,)

Les mécanismes entraînant une pénétration réduite de l'insecticide dans le corps de l'arthropode, son excrétion accrue ou sa séquestration sont mal documentés et ne semblent pas jouer un rôle prépondérant dans la résistance chez les insectes vecteurs de pathogènes. En revanche, les mécanismes touchant les processus biochimiques (mutation de la cible et dégradation métabolique de l'insecticide) sont plus fréquents et peuvent aboutir à des niveaux de résistance considérables (Hollingworth & Dong, 2008; Pedrini et al, 2009; Roberts & Andre, 1994; Scott, 1999). La plupart des études se concentrent donc sur ces deux types de mécanismes qui peuvent être la conséquence de mutations nucléotidiques ponctuelles dans des gènes effecteurs, d'une amplification génique (augmentation du nombre de copies du gène) ou bien d'une modification de l'expression de certains gènes due à une altération de leur régulation.

¹ Rapport de Résistance (RR): nombre par lequel une dose d'insecticide doit être multipliée afin d'obtenir la même mortalité que pour une population sensible de référence.

Tableau I. Principaux insecticides utilisés contre les vecteurs et mécanismes de résistance associés connus

Familles d'insecticides	Cible biochimique				Mécanismes de résistance connus			
	Canaux sodium	AChE	Recepteur GABA	Récepteur ACh	Mutation de la cible ^a		Métaboliques	
							COE	GST
Organochlorés	X				<i>kdr</i>		++	+
Cyclodiènes			X		<i>Rdl</i>			+
Organophosphorés		X			<i>ace R</i>		++	+
Carbamates		X			<i>ace R</i>		++	+
Néo-nicotinoïdes				X	Mu nAChR			++
Pyréthrinoïdes	X				<i>kdr</i>		+	+
Phénylpyrazoles			X		<i>Rdl</i>			+
Avermectines			X		non décrite			+
Spinosad			X	X	Mu nAChR			+
Régulateurs de croissance (IGR)		Récepteurs hormonaux			mutation des récepteurs			+
Toxines de <i>Bti</i>		Récepteurs de la paroi intestinale des larves de diptères			mutations des récepteurs		altération des toxines ? immunité ? autres ?	
Toxine de <i>Bs</i>		Récepteurs de la paroi intestinale des larves de diptères			mutations des récepteurs		altération des toxines ? immunité ? autres ?	

^a *kdr*: knockdown resistance, *Rdl*: Resistance dieldrin, *ace R*: acetylcholinesterase insensible, Mu nAChR: Mutations du récepteur nicotinique de l'acétylcholine

1.1. Résistance métabolique

Cette catégorie regroupe les mécanismes biochimiques entraînant une dégradation de l'insecticide en métabolites moins toxiques ou inactifs et plus facilement excrétables (plus faible lipophilie), diminuant ainsi la quantité d'insecticide atteignant la cible. Cette dégradation est causée par des enzymes dites de « détoxification » comme les monooxygénases à cytochrome P450 (P450s ou *CYP* pour les gènes correspondants), les glutathion S-transférases (GSTs) ou bien les carboxylestérases (COEs). Les P450s peuvent catalyser un grand nombre de réactions chimiques comme des hydroxylations, dealkylations, epoxydations, oxydations etc. Les GSTs catalysent l'addition d'un groupement glutathion par conjugaison, mais peuvent aussi catalyser la déchloration des organochlorés comme le DDT. Enfin, les estérases catalysent l'hydrolyse de liaisons ester. Ces enzymes peuvent avoir une action individuelle sur la molécule insecticide mais aussi agir successivement lorsque la détoxification de l'insecticide implique plusieurs phases (par exemple hydroxylation par les P450s suivie d'une conjugaison par les GSTs). On peut noter que d'autres familles d'enzymes peuvent également être impliquées dans la détoxification mais cela reste assez peu documenté. Des cas de résistance métabolique vis-à-vis de la plupart des familles d'insecticides chimiques ont été décrits chez la plupart des insectes ravageurs et les vecteurs de pathogènes avec de nombreuses données disponibles chez les moustiques (Tableau I).

Bien que les fondements moléculaires et biochimiques des résistances métaboliques soient connus et que des tests toxicologiques (bioessais avec inhibiteurs enzymatiques) et biochimiques (activités enzymatiques globales) permettent de les mettre en évidence, l'identification des gènes impliqués dans la résistance métabolique aux insecticides chez les différentes espèces de vecteurs reste problématique. En effet, ces enzymes sont codées par des superfamilles géniques comprenant plusieurs dizaines de membres (plus de 150 gènes codants des P450s chez le moustique *Aedes aegypti*) dont les séquences d'ADN sont parfois très semblables et dont l'activité vis-à-vis des insecticides peut être spécifique (une

enzyme métabolisant un ou plusieurs insecticides) mais aussi redondantes (plusieurs enzymes métabolisant un seul insecticide). Par ailleurs, l'expression de ces gènes est souvent régulée par d'autres gènes qui peuvent donc être indirectement impliqués dans la résistance. A cela s'ajoutent les phénomènes de surexpression de ces gènes (quantité d'ARN messagers et de protéines) chez certains individus résistants. Le travail sur la résistance métabolique s'avère donc techniquement plus complexe que la détection des mutations connues comme impliquées dans la modification des cibles des insecticides. Les avancées récentes des méthodes d'analyse de l'expression des gènes (« transcriptomique ») ont permis d'identifier plusieurs gènes codant des enzymes potentiellement impliquées dans la résistance métabolique des moustiques comme les gènes *GSTe2* et *CYP6Z1* impliqués dans le métabolisme du DDT (Ortelli, Rossiter, Vontas, Ranson, & Hemingway, 2003 ; Lumjuan, McCarroll, Prapanthadara, Hemingway, & Ranson, 2005 ; Chiu, Wen, Rupasinghe, & Schuler, 2008) ou bien les gènes *CYP6M2*, *CYP6P3* liés au métabolisme des pyréthriinoïdes (Muller et al, 2008; Stevenson et al, 2011). Malgré ces avancées, l'identification de marqueurs moléculaires de la résistance métabolique reste difficile et représente aujourd'hui un enjeu majeur de la recherche sur la résistance des vecteurs aux insecticides, notamment lorsque le génome de ces vecteurs n'est pas séquencé. En effet, la vérification de l'implication réelle des gènes candidats (identifiés par les méthodes de transcriptomique) dans la résistance nécessite d'utiliser des approches de biologie fonctionnelle (ARN interférent, transgénèse ou bien expression d'enzymes en systèmes hétérologues et étude du métabolisme des insecticides *in vitro*) qui restent du domaine de la recherche. Enfin, il est intéressant de noter que l'expression des enzymes de détoxification peut être modulée par des polluants. Ainsi, il a été montré que l'exposition des moustiques à certains polluants (dont HAP et herbicides) peut augmenter leur tolérance aux insecticides chimiques (Suwanhaichinda & Brattsten, 2002 ; Poupardin et al, 2008; Riaz et al, 2009;). Dans ce contexte, l'étude de l'impact des polluants organiques urbains, industriels et agricoles sur les mécanismes de résistance métabolique aux insecticides revêt un intérêt appliqué pour le contrôle des vecteurs.

1.2. Résistance par modification de la cible

La résistance par modification de la cible est due à des mutations ponctuelles qui limitent l'affinité de la protéine cible pour l'insecticide (revue dans Hollingworth & Dong, 2008). Les insecticides chimiques ont un nombre limité de protéines cibles, généralement localisées dans le système nerveux des insectes (Tableau 1): les récepteurs GABA (gène *Rdl*, pour *Résistance à la dieldrine*), cibles des cyclodiènes et des phényl-pyrazoles, les canaux sodium voltage-dépendants (gène *kdr*, pour *knockdown resistance*), cibles des organochlorés (dont le DDT) et des pyréthriinoïdes, l'acétylcholinestérase (gènes *ace-1* et *ace-2*), cible des organophosphorés et des carbamates, et les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, cible des néonicotinoïdes et du spinosad. Dans la plupart des cas, une mutation portant sur un seul acide aminé est responsable de la résistance. Les mêmes mutations ont souvent été sélectionnées indépendamment chez différentes espèces. Par ailleurs une même espèce peut présenter des allèles de résistance pour chacun de ces gènes de façon concomitante, générant des phénomènes de résistance multiples. La résistance conférée par la mutation *kdr* est très étudiée chez le moustique *Anopheles gambiae*. Ce moustique vecteur majeur de l'agent du paludisme, en particulier en Afrique subsaharienne et à Mayotte est en effet principalement ciblé par les moustiquaires imprégnées de pyréthriinoïdes. Plusieurs mutations indépendantes du gène *kdr* ont été décrites mais l'impact de ce mécanisme de résistance sur l'efficacité de la lutte par moustiquaires imprégnées reste cependant encore sujet à controverse (Darriet et al., 2000; Henry et al. 2005) vs (N'Guessan et al., 2007; Trape et al., 2011). La résistance aux organophosphorés et aux carbamates par mutation de l'acétylcholinestérase est également

très étudiée chez de nombreux vecteurs, et en particulier chez les moustiques *An. gambiae* et *Culex pipiens s.l.* avec la mutation G119S du gène sur l'AChE1 (gène *ace-1*) (Weill et al., 2002, 2003; Huchard et al., 2006; Labbé et al., 2007; Alout et al., 2008). Pour ces deux espèces, la résistance observée est forte ($RR > 100$) et un coût sélectif² est associé à la mutation (Bourguet et al., 1997; Lenormand et al., 1999; Berticat et al., 2002; Berticat et al., 2004; Bourguet et al., 2004; Duron et al., 2006). Dans le cas de la mutation G119S du locus *ace-1*, une compensation partielle de ce coût par duplication du gène a été observée chez les 2 espèces de moustiques (Lenormand, Guillemaud, Bourguet, & Raymond, 1998; Labbé et al., 2007; Djogbénou et al., 2009; Alout et al., 2010). Par ailleurs, il a été montré que la présence simultanée des mutations de résistance aux loci *ace-1* et *kdr* entraînait une synergie diminuant de façon conséquente le coût de chacune de ces mutations (Berticat et al., 2008). Ces types de compensation peuvent mettre en péril les stratégies de contrôle de la résistance car l'un des fondements des stratégies de gestion de la résistance est que les mutations qui en sont responsables ont un coût significatif et que leur fréquence tend donc à diminuer en l'absence de pression sélective.

1.3. Résistance aux toxines bactériennes (*Bacillus thuringiensis israelensis* et *Bacillus sphaericus*)

Les toxines de *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) et de *Bacillus sphaericus* (*Bs*) sont utilisées comme larvicides contre certains insectes vecteurs. Ces bio-insecticides ont un mode d'action complexe qui n'est pas totalement élucidé, impliquant notamment une activation des toxines après leur ingestion puis leur fixation sur des récepteurs spécifiques du tube digestif des larves d'insectes. Le *Bs* produit une seule toxine (Bin) tandis que le *Bti* produit plusieurs toxines (principalement Cry4A, Cry4B, Cry11 et Cyt1A) avec des modes d'action différents et connues pour leur action synergique. La résistance aux toxines bactériennes est rare sur le terrain et les mécanismes ne sont pas toujours connus (Griffitts et al., 2001; Mittal, 2003). Elle a été principalement étudiée dans le secteur agricole notamment pour *Bacillus thuringiensis kurstaki*, utilisé contre les ravageurs de culture. Chez les vecteurs, les principales données disponibles proviennent des moustiques contre lesquels ces bio-insecticides sont utilisés comme larvicides en milieu aquatique.

Ainsi, la résistance au *Bs* a été décrite chez *Cx. pipiens* en zone tempérée et subtropicale et chez *Cx. quinquefasciatus* en zone tropicale (Su & Mulla, 2004 ; Chalegre et al., 2009). Elle s'est développée très rapidement dès la première année de traitement en Inde ($10 < RR < 155$ (Mittal, 2003)) et en Tunisie ($RR > 5000$ (Nielsen-Leroux et al., 2002)). L'utilisation du *Bs* contre les moustiques a débuté dans les années 1990 dans le sud de la France et le premier échec a été signalé chez *Cx. pipiens* en 1994 à Port-Saint-Louis-du-Rhône (Bouches du Rhône). Cette résistance a également été signalée en 1996 à Perpignan (avec un $RR > 10000$). Elle est aujourd'hui présente dans le monde entier (Mittal, 2003). Elle est due à un gène récessif.

Concernant le *Bti*, le seul rapport de résistance établi sur le terrain pour un vecteur concerne une résistance détectée dans une population naturelle de *Cx. pipiens* de New York ($RR = 33$ (Paul, Harrington, Zhang, & Scott, 2005)). Cependant, aucune autre étude n'a confirmé cette résistance et les mécanismes n'ont pas été caractérisés. L'absence de résistance des moustiques et des simules malgré l'emploi massif et depuis plusieurs décennies du *Bti* est souvent expliquée par le fait que plusieurs toxines agissent comme une mixture, voire en synergie, la sélection de populations résistantes à plusieurs toxines étant moins probable qu'à une seule. Cette multiplicité des toxines et leur effet synergique pourraient aussi générer des phénomènes de résistance plus complexes et probablement multifactoriels. Des

² Une mutation conférant une résistance tout en altérant le fonctionnement normal de la cible peut entraîner un effet négatif sur la valeur sélective en absence d'insecticide (i.e. succès reproducteur), appelé coût sélectif.

résistances aux toxines individuelles de *Bti* ont été obtenues en quelques générations au laboratoire sur *Cx. quinquefasciatus* (3<RR<913 (Georghiou & Wirth, 1997)) et sur *Ae. aegypti* (3<RR<30 (Paris, David, & Després, 2011)) ce qui confirme l'avantage d'avoir une combinaison de toxines avec des modes d'action différents. Toutefois, il est possible que des mécanismes de résistance à chacune des toxines du *Bti* apparaissent de manière séquentielle et cryptique (pas d'effet observable sur la résistance globale au *Bti*) dans les zones où ce bio-insecticide est utilisé de façon massive.

1.4. Principes généraux sur la résistance aux insecticides chez les vecteurs

Malgré la diversité des mécanismes de résistance et le manque de données concernant certains types de résistances ou bien certaines espèces de vecteurs, quelques tendances générales peuvent être dégagées:

a) La résistance est un phénomène global reposant sur les mécanismes adaptatifs semblables à ceux de la sélection naturelle. Elle se rencontre fréquemment chez les vecteurs vis-à-vis des insecticides car la pression de sélection dans leur environnement est souvent forte et le nombre annuel de générations est élevé, notamment dans les zones tropicales. Elle peut dans certains cas réduire sensiblement l'efficacité des opérations de lutte pour le contrôle des maladies à transmission vectorielle (Marcombe et al, 2011; L McCarroll & Hemingway, 2002; Lynn McCarroll et al, 2000; Vontas et al, 2004).

b) La résistance est un phénomène évolutif : présente mais le plus souvent indétectable avant la mise en évidence sur le terrain d'échecs de traitements insecticides, elle résulte de la sélection d'allèles existants mais initialement rares au sein des populations ou de l'apparition de nouvelles mutations, localement ou importées par migration des insectes cibles.

c) Une résistance apparue localement comme un phénomène *a priori* isolé peut se propager très rapidement (Brogdon & McAllister, 1998): un allèle de résistance d'origine unique peut avoir une très large distribution (Etang et al., 2009; Ffrench-Constant et al., 2000; Ffrench-Constant et al., 2004) voire se disperser rapidement à travers le monde entier (Raymond et al., 2001).

d) La diversité génétique liée aux modifications de la cible semble assez limitée car les mutations doivent se situer sur des acides aminés qui jouent un rôle clé dans l'interaction avec l'insecticide sans compromettre le fonctionnement normal de la protéine cible des insecticides (Bregues et al, 2003; M Weill et al, 2004). A l'inverse, la multiplicité des enzymes impliquées dans la résistance métabolique, leur redondance fonctionnelle et les phénomènes de régulation de leur expression engendrent une diversité plus importante des mécanismes de détoxification et des modalités de sélection de génotypes qui diffèrent selon les espèces concernées et les contextes locaux.

e) Le phénomène de résistance croisée entre différents insecticides est courant car les insecticides d'une même famille visent la même protéine cible. En cas de mutation de cible, l'arthropode résiste à l'ensemble des molécules qui agissent sur la même cible, qu'elle soit de la même famille ou d'une autre famille d'insecticides. Par exemple, les mutations du gène *kdr* entraînent une résistance croisée entre le DDT et les pyréthriinoïdes (Chandre et al, 1999). Concernant les mécanismes métaboliques, bien que ces phénomènes ne soient encore que partiellement élucidés, une enzyme peut par exemple métaboliser plusieurs insecticides différents, appartenant ou non à une même famille chimique (Chiu et al, 2008; Feyereisen, 2011; McLaughlin et al, 2008). Ces phénomènes de résistance croisée réduisent le nombre d'insecticides utilisables et doivent être pris en compte dans la gestion de la résistance.

f) Malgré les progrès récents, une analyse exhaustive de la résistance demeure difficile en raison d'interactions et de pléiotropie³, car plusieurs mécanismes de résistance et/ou allèles de résistance coexistent souvent chez un vecteur donné (Hollingworth & Dong, 2008). Les interactions entre résistances multiples (allèles mutants situés sur des loci différents) restent insuffisamment connues mais des compensations du coût de fitness entre protéines mutées ont déjà été observées (Berticat et al, 2008; Hardstone & Scott, 2009).

g) Les mécanismes de résistance aux toxines de *Bti* restent mal compris. Le fait que cet insecticide soit basé sur l'action combinée et peut-être synergique de plusieurs toxines limite a priori les risques de développement de la résistance. A ce jour, aucune résistance au Bti n'a été observée dans le monde, malgré l'utilisation quasi-exclusive depuis plusieurs années de ce biocide dans certaines régions, notamment contre des espèces nuisantes en zone tempérée (France, Allemagne, Québec, Etats-Unis...). Néanmoins, on ne peut pas exclure que l'utilisation croissante de cet insecticide puisse engendrer une résistance chez les vecteurs, notamment par la sélection séquentielle de mécanismes de résistance aux différentes toxines.

1.5. Conclusions

Bien que les mécanismes généraux conduisant à la résistance aux insecticides chez les vecteurs soient de mieux en mieux connus, ils ne sont pas tous caractérisés au niveau moléculaire pour chaque espèce et pour chaque molécule, ce qui peut compromettre la détection précoce de la résistance sur le terrain. La détection des mutations de cibles connues visées par les insecticides actuellement disponibles est aujourd'hui possible grâce à l'utilisation de tests moléculaires simples. Toutefois, ces tests moléculaires ne sont pas encore disponibles pour toutes les espèces d'intérêt médical, vétérinaire et économique. Les connaissances sont plus parcellaires dans le cas de la résistance métabolique. Des recherches sont encore nécessaires pour 1) identifier les gènes impliqués dans ce type de résistance et mieux évaluer leur impact réel sur la résistance au niveau opérationnel sur le terrain et 2) mettre au point des tests diagnostiques de manière à détecter et caractériser la résistance de manière précoce avant qu'elle ne soit plus gérable de manière opérationnelle. Il est également important de comprendre les mécanismes de résistance aux toxines du *Bacillus thuringiensis israelensis* afin de mettre au point des tests de diagnostic permettant de suivre l'apparition éventuelle d'une résistance à une ou plusieurs de ces toxines et suivre l'évolution et l'impact opérationnel de cette résistance sur le terrain.

De manière générale, l'identification des mécanismes de résistance chez les vecteurs contribuera à améliorer l'usage des insecticides dans la lutte anti-vectorielle. Mieux comprendre les mécanismes de la résistance aux insecticides pour mieux la détecter et la gérer apparaît comme un enjeu majeur, mais demande un effort de recherche important. Cet effort doit être mené sur le long terme en coordination étroite avec les opérateurs impliqués sur le terrain dans le contrôle des vecteurs.

³ Pléiotropie : mode d'hérédité où un seul gène affecte plusieurs modifications du phénotype

2. Etat des lieux de la résistance des vecteurs en France

Un état des lieux de la résistance aux insecticides des différents arthropodes vecteurs faisant l'objet d'une lutte antivectorielle en France métropolitaine et outre-mer a été dressé. Pour ce faire, il a été réalisé, d'une part, une enquête auprès des services opérationnels (cf. annexe 1) et, d'autre part, une recherche bibliographique focalisée sur la « résistance aux insecticides/acaricides » pour les différentes espèces de vecteurs d'intérêt en France (cf. annexe 2). Ces éléments montrent une connaissance parcellaire de la résistance tant au niveau géographique que des vecteurs considérés. Toutefois, dans le cas d'absence de données en France, un élargissement des zones d'intérêt aux pays limitrophes où les arthropodes ont développé des résistances à la plupart des insecticides utilisés.

Une très large majorité des données recueillies concernent les culicidés. *Aedes aegypti* est logiquement l'espèce dont la résistance est la mieux renseignée, en particulier aux Antilles (Martinique, Guadeloupe) et en Guyane, où elle fait l'objet d'une lutte régulière du fait de son rôle de vecteur du virus de la dengue. Dans ces trois départements, une résistance à la deltaméthrine (ainsi qu'au téméphos, qui bénéficie d'une dérogation en lutte larvicide pour les départements d'outre-mer jusqu'en 2014 mais qui dans les faits n'est plus utilisé) est en particulier observée.

En métropole, les données concernent essentiellement *Cx. pipiens* et aucune donnée publiée n'est disponible concernant *Ae. albopictus*, espèce invasive installée en France métropolitaine depuis 2004. Le *Bti* est le larvicide utilisé de manière quasi exclusive, essentiellement dans le cadre d'une lutte contre les nuisances. L'ensemble des culicidés ciblés restent sensibles à celui-ci. Des résistances à des larvicides qui ne sont désormais plus autorisés sont observées chez *Cx. pipiens*. C'est en particulier le cas pour des organochlorés, les organophosphorés (fénitrothion, chlorpyrifos, téméphos). Une résistance à *Bacillus sphaericus* a également été observée chez *Cx. pipiens* dès 1994 dans le sud de la France.

Dans l'océan Indien, de nombreuses données sont disponibles, en particulier à Mayotte où de nombreux tests ont été réalisés récemment dans le cadre d'une étude financée par l'ANSES. *Ae. albopictus* s'avère être sensible aux insecticides aussi bien à Mayotte qu'à la Réunion, et aucun mécanisme de résistance n'a été détecté jusqu'ici, excepté la mutation Rdl (résistance à la dieldrine) présente chez un grand nombre de vecteurs, et qui n'a pas de conséquences opérationnelles avec les insecticides actuellement utilisés. Une résistance au téméphos et à la deltaméthrine a également été observée chez *Cx. quinquefasciatus* à Mayotte et à la Réunion, où *An. gambiae* est également résistant au téméphos (estérase). *Anopheles gambiae* reste sensible à la deltaméthrine et au *Bti*.

Le volet bibliographique de l'enquête permet de compléter cet état des lieux pour les moustiques et les autres groupes de vecteurs.

Ainsi, en France métropolitaine, une résistance à la perméthrine a été mise en évidence chez le pou de tête (*Pediculus humanus capitis*) ainsi que chez les punaises de lit (*Cimex lectularius*).

Enfin, s'agissant des vecteurs d'intérêt vétérinaire, très peu de données sont disponibles à l'exception de la tique du bétail, *Amblyomma variegatum*, aux Antilles, où celle-ci semble rester sensible aux principaux acaricides et de *Stomoxys calcitrans* dont des populations de La Réunion et de métropole présentent une résistance aux pyréthrinoïdes (pas de mécanisme identifié).

3. Difficultés associées à la gestion des insecticides

3.1. Raréfaction des produits biocides disponibles

L'Union européenne a défini un cadre réglementaire concernant la mise sur le marché des produits biocides afin d'assurer un haut niveau de protection pour l'homme et l'environnement ainsi qu'une harmonisation de la réglementation au sein de l'Union européenne. Ce cadre réglementaire est principalement constitué par le Règlement (UE) n°528/2012 du parlement européen et du conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides (abrogeant et remplaçant la directive 98/8/CE), transposé en droit français aux articles L.522-1 et suivants du code de l'environnement. Dans ce cadre, les substances actives biocides font l'objet d'une évaluation relative (i) à leur toxicité vis-à-vis de la santé humaine, (ii) à leur écotoxicité et (ii) à leur efficacité en fonction des usages considérés. Suite à cette évaluation, les produits biocides contenant ces substances sont soumis à une autorisation de mise sur le marché.

Les exigences en matière d'innocuité pour l'homme et l'environnement d'une part et le coût associé à une telle évaluation d'autre part ont conduit les industriels à ne plus soutenir un nombre important de substances qui étaient ou auraient pu être utilisées en lutte antivectorielle.

Le retrait du marché du fait d'un profil toxicologique ou éco-toxicologique défavorable est bien entendu parfaitement justifié.

En revanche, le retrait pour des motifs purement économiques d'une substance présentant des intérêts pour la santé publique est regrettable. Ainsi, comme le souligne un rapport de l'Assemblée Nationale (Commission des Affaires Européennes, 2010), un tel retrait « entraîne une réduction de l'offre et de la diversité des produits. Il en résulte donc une tendance à l'augmentation des prix et des difficultés de lutte contre les espèces cibles, lesquelles s'accoutument à un produit donné, ce qui implique de changer périodiquement de traitement selon le principe de la rotation. D'autre part, il présente le risque de laisser l'utilisateur final sans solution de remplacement pour lutter contre certains organismes nuisibles ». De plus, selon le Malaria Eradication Agenda (MalERA Consultative Group on Vector Control, 2011), des modèles basés sur des données issues du contrôle de ravageurs agricoles et d'autres programmes de contrôle des vecteurs à grande échelle indiquent que les stratégies de gestion de la résistance basées sur l'utilisation d'insecticides nécessitent de disposer d'au moins trois substances actives ayant des modes d'action différents. Enfin, une telle situation peut également conduire à interdire l'utilisation des produits les mieux adaptés en termes d'efficacité et d'innocuité, lorsque ceux-ci ne sont pas déclarés pour l'usage recherché. Un tel exemple est fourni pour le contrôle de certains lépidoptères urticants, tel *Hylesia metabus*, agent de la papillonite en Guyane française, et l'impossibilité d'utiliser les formulations à base de *Bacillus thuringiensis kurstaki* (*Btk*), produit pourtant jugé comme le plus adapté (en termes d'efficacité intrinsèque, de formulation et d'innocuité) mais non autorisé au titre de la directive 98/8/CE (désormais abrogée et remplacée par le Règlement (UE) n°528/2012) (CNEV, 2011). Le *Btk* est toutefois largement utilisé dans le cadre de la protection des parties aériennes de nombreuses cultures ainsi qu'en foresterie (forêt plantée).

Par conséquent, le retrait d'un grand nombre de substances actives en l'absence de solution de substitution conduit non seulement à une réduction drastique de l'éventail des produits biocides utilisables à des fins de santé publique et vétérinaire, mais également à la difficulté, voire l'incapacité, de mettre en œuvre des stratégies efficaces de gestion de la résistance aux insecticides, stratégies basées sur l'alternance d'insecticides aux modes d'action différents. Cette situation concerne les substances larvicides mais plus encore les substances adulticides puisqu'à l'heure actuelle, seules des substances actives appartenant à la famille des pyréthrinoïdes sont autorisées et utilisées à cette fin par les services opérationnels.

C'est dans ce cadre qu'une expertise de l'Anses a été réalisée afin de dresser un inventaire des différentes substances actives potentiellement utilisables en lutte antivectorielle et présentant un profil toxicologique et écotoxicologique acceptable. Les travaux de l'Anses ont notamment permis d'identifier 32 substances actives potentiellement utilisables en LAV. Pour ce faire, le groupe de travail « Insecticides de LAV » de l'Anses a utilisé la méthode SIRIS, qui permet de hiérarchiser les substances actives en fonction de la possibilité d'exposition et des effets biologiques induits par ces molécules (Anses, 2013). Les 32 substances ainsi identifiées par l'Anses sont proposées au sein du tableau II.

Tableau II. Classement des 32 substances actives en trois classes selon le niveau de connaissances sur l'efficacité sur moustiques (Anses, 2013).

Classe A				Classe B		Classe C	
Larvicides		Adulticides		Larvicides	Adulticides	Larvicides	Adulticides
Gîtes naturels	Gîtes « hors sol »	Spatial	Résiduel				
<i>Bti</i> * (+ <i>Bs</i> *)	<i>Bti</i> * (+ <i>Bs</i> *)	Deltaméthrine*	Deltaméthrine*	Cyromazine*	Alléthrine*	Dicyclanil	-
<i>Pyriproxyfène</i> *	Diflubenzuron*	Malathion	Malathion	Imidaclopride*	Dinotefuran*	Hydroprène	
<i>Téméphos</i> **	Spinosad*		Fenthion		Imidaclopride*	Spinetoram	
	Pyriproxyfène*		Chlorpyrifos-méthyl		Indoxacarbe*		
	Téméphos**		Bendiocarbe*			Acétamipride*	
	Triflumuron*					Chlorantraniliprole	
	Chlorpyrifos-méthyl					Clothianidine*	
						Cycloprothrine	
						Ethiprole	
						Formothion	
						Imiprothrine*	
						Métaflumizone	
						Nitenpyram	
						Silafluofen	
						Thiaclopride	
						Thiamethoxam*	

* autorisée ou en cours d'évaluation dans le cadre de la réglementation européenne biocides

** peut éventuellement bénéficier d'une dérogation d'utilisation jusqu'en 2014

La classe A réunit les substances actives déjà bien connues en LAV au niveau mondial, pour lesquelles les connaissances et données actuelles sont suffisamment robustes et étayées pour envisager une utilisation en LAV à court terme (zéro à un an). Les classes B et C regroupent les substances pour lesquelles les connaissances et données actuelles doivent être renforcées sur un ou plusieurs critères d'efficacité, de toxicité ou d'écotoxicité pour envisager une utilisation en LAV à moyen terme (classe B : un à quatre ans) ou à long terme (classe C : quatre ans et plus).

Il est important de souligner que le domaine de la lutte antivectorielle ne constitue pas un marché attractif pour les entreprises privées qui développent de nouvelles molécules insecticides. Ainsi, à l'exception notoire du DDT, du téméphos et du Bti, tous les produits utilisés en lutte antivectorielle ont initialement été développés pour le marché agrochimique, beaucoup plus lucratif. Au niveau mondial, le secteur agricole domine le marché des insecticides alors que la santé publique représente seulement une part de 1,3% du marché global des insecticides (Bill and Melinda Gates Foundation and Boston Consulting Group, 2007). Les insecticides utilisés en santé publique et vétérinaire sont par conséquent quasi-systématiquement des produits issus du secteur agricole. Les conséquences d'une telle situation suggèrent par ailleurs, selon certains auteurs, qu'un durcissement du cadre réglementaire communautaire de mise sur le marché des produits phytosanitaires pourrait également avoir un impact négatif quant à la mise à disposition pour la santé publique et vétérinaire de produits insecticides (Campaign for Fighting Diseases, 2009). En effet, une telle évolution ne peut que fragiliser le soutien au développement de nouvelles substances et augmenter les coûts des produits utilisés en santé publique et vétérinaire.

Outre les conclusions mentionnées précédemment, l'expertise coordonnée par l'Anses a permis d'identifier différentes initiatives actuellement en cours visant à répondre à la diminution du nombre de substances actives disponibles en lutte antivectorielle. Ces initiatives, qui visent à développer de nouvelles molécules ou de nouvelles formulations sont mises en œuvre entre autres par :

- l'Innovative Vector Control Consortium (IVCC)⁴.
- le Global Collaboration for Development of Pesticides for Public Health (GCDPP), coordonnée par l'OMS/ WHOPEs⁵,

Le rôle de la France reste toutefois marginal au sein de ces instances. Un partenariat public-privé devrait être développé.

Les insecticides constituent toujours une composante essentielle (voire unique) des stratégies de lutte intégrée contre les vecteurs d'agents pathogènes. Ils doivent donc être considérés également comme un outil de santé publique et vétérinaire et non pas uniquement comme une menace potentielle du fait d'un risque éventuel pour l'homme ou l'environnement. Ainsi, lorsque ces produits sont utilisés dans la lutte contre les maladies à transmission vectorielle, il est nécessaire d'adopter une démarche bénéfique/risque. A ce titre, les autorités publiques devraient soutenir le développement de nouvelles molécules et/ou de nouvelles formulations de produits insecticides en tant qu'outil / politique de santé publique et vétérinaire (Miller & Tren, 2012). Cette démarche pourrait se traduire par un soutien à l'innovation, ainsi que par l'adaptation des procédures réglementaires de mise sur le marché. En particulier, une meilleure articulation entre les réglementations sectorielles (notamment les réglementations relatives aux biocides et aux phytosanitaires) serait souhaitable. Ainsi, l'extension d'un usage en LAV des produits insecticides autorisés dans le cadre phytosanitaire pourrait être encouragée, voire facilitée.

⁴ <http://www.ivcc.com>

⁵ <http://www.who.int/whopes/gcdpp/en/>

En conclusion, la raréfaction des insecticides utilisés en santé publique est due à plusieurs facteurs :

- une demande sociétale de plus en plus contraignante en termes de protection de la santé de l'homme et de l'environnement,
- la faible rentabilité du secteur de la santé publique au sein du marché des produits insecticides
- le durcissement du cadre réglementaire accompagnant la mise sur le marché ainsi qu'une relative faible implication des autorités, du secteur industriel et des structures finançant le développement de nouvelles substances.

Plusieurs pistes d'amélioration peuvent toutefois être envisagées.

Il est nécessaire de mieux considérer la notion de bénéfice-risque au sein du processus d'évaluation des produits, en particulier pour les biocides utilisables à des fins de santé publique et vétérinaire, qui plus est pour des produits qui pourraient être restreints à une utilisation professionnelle. Ceci nécessite d'une part de ne pas considérer uniquement le danger mais également d'évaluer le risque. Une telle amélioration repose sur une meilleure définition des conditions d'utilisations et par conséquent une caractérisation des expositions plus réalistes. D'autre part, il est nécessaire de prendre en considération les bénéfices attendus. D'une manière générale, en ce qui concerne les moustiques, la lutte est assimilée à une lutte de confort pour la majorité des Etats-Membres de l'Union européenne. La situation est cependant toute différente pour les territoires situés en zone tropicale et au sein desquels des agents pathogènes transmis par les moustiques (virus de la dengue, du chikungunya, plasmodies) circulent selon un mode endémique ou épidémique. De fait, ce risque ne concerne plus seulement que les zones tropicales puisque la France métropolitaine a récemment connu ses premiers cas autochtones de dengue et de chikungunya qui ne sont sans nul doute pas les derniers. D'autre part, on note depuis 2000 une recrudescence du virus West Nile en Méditerranée ainsi que, du côté vétérinaire, l'émergence en France métropolitaine et dans toute l'Europe de la fièvre catarrhale ovine et du virus Schmallenberg, maladies animales transmises par les Culicoides.

Les changements globaux (changement climatique, introduction d'espèces invasives tel qu'*Ae albopictus*) contribuent pour beaucoup à cette évolution pour le moins préoccupante. Or à ce jour, dans le processus de mise sur le marché, rien ne permet de prendre en compte en termes de bénéfices attendus les différences entre lutte de confort et lutte contre les maladies initialement tropicales.

La non-utilisation de certaines substances insecticides mises à disposition des services de lutte contre les moustiques fait que certains industriels concernés ne déposent ou ne re-déposent pas de dossier dans le cadre d'une autorisation de mise sur le marché (AMM). C'est le cas notamment du spinosad où les formulations qui auraient pu être utilisées depuis 2010 dans la lutte contre les moustiques ne l'ont pas été et sont, faute de dépôt de dossier, interdites d'utilisation en France depuis le 1er novembre 2013.

Les travaux d'identification de produits de substitution, notamment conduits par l'Anses, pourraient être mieux valorisés et devraient conduire les pouvoirs publics (Ministères chargés de la santé, de l'agriculture et de l'environnement) à une démarche directe et proactive pour encourager les industriels disposant de produits commerciaux à base de telles substances dans leur gamme à déposer des demandes d'autorisation de mise sur le marché. Certaines actions ont cependant déjà été entreprises, telles que l'exonération des frais de dossier d'autorisation de mise sur le marché. Ces mesures vont dans le bon sens mais pourraient être renforcées. Par exemple, une communication plus importante pourrait être faite quant à l'existence de cette exonération. De la même manière, il serait utile

d'envisager la possibilité de faciliter l'inscription de produits autorisés pour d'autres usages (notamment agricole).

Le Règlement (UE) n°528/2012 prévoit également le partage des données entre industriels pour réduire l'expérimentation animale au sein du dispositif biocides. Ce partage est par conséquent de nature à faciliter la mise sur le marché de certains produits biocides. Néanmoins, une extension du partage de telles données n'est envisagée que pour les données fournies au titre de la directive 98/8/CE ou du Règlement (UE) n°528/2012. Une extension d'un tel partage de données aux autres dispositifs (phytosanitaire ou même REACH) faciliterait aussi l'utilisation en LAV de produits insecticides actuellement utilisés pour d'autres usages.

La mise sur le marché de nouvelles substances actives est un processus long et coûteux et semble peu réaliste pour le marché restreint que constituent les produits de lutte antivectorielle. Par contre, il est envisageable de travailler sur les formulations des produits existants. Cette démarche pourrait être soutenue par des fonds publics.

3.2. Multiplication des utilisateurs

- Agriculture :

L'utilisation d'insecticides en lutte antivectorielle représente une proportion très faible des volumes d'insecticide épandus chaque année dans le monde, la très grande majorité étant utilisée à des fins agricoles. Pour exemple, en 2007, 404 000 tonnes d'insecticides ont été épandues dans le monde. Comme mentionné précédemment, leur utilisation à des fins de santé publique a représenté 1,3% de ce total. La pression de sélection que représente cette utilisation d'insecticides en agriculture est d'autant plus importante que les molécules utilisées en lutte antivectorielle sont très souvent les mêmes que celles utilisées contre les ravageurs de culture (van den Berg *et al*, 2012).

Il est désormais admis que les traitements agricoles favorisent la sélection de populations de vecteurs résistantes de manière plus ou moins directe. Il peut s'agir de traitements réalisés directement sur les gîtes larvaires contre d'autres cibles que les vecteurs (cas des rizières par exemple), de l'entraînement des insecticides appliqués sur les cultures par la pluie et qui contaminent les gîtes larvaires ou encore par la contamination des gîtes de repos (Mouchet et Brengues, 1990). Par ailleurs, les autres composés chimiques utilisés en agriculture (herbicides, fongicides, engrais...), bien qu'a priori non toxiques pour les insectes, peuvent moduler leur système de détoxification et ainsi augmenter leur tolérance aux insecticides (Nkya *et al*, 2013).

L'impact de l'agriculture sur la résistance des vecteurs a été particulièrement étudié chez les anophèles. De nombreux articles font état de résistances chez des populations d'anophèles issues de zones de culture du coton (El Gaddal *et al.*, 1985; Roberts et Andre, 1994 ; Diabate *et al.*, 2002 ; Chouaïbou *et al.*, 2008 ; Fane *et al.*, 2011; Yadouleton *et al.*, 2011 ; Bigoga *et al.*, 2012), de rizières (Kamau & Vulule, 2006 ; Tia *et al*, 2006 ; Perera *et al.*, 2008) ou d'autres types de culture (Overgaard *et al*, 2005 ; Antonio-Nkondjio *et al*, 2011 ; Seidahmed *et al*, 2012).

Du fait de leur caractère plus urbain, les vecteurs d'arboviroses que sont *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* sont probablement moins soumis à la pression insecticide issue de l'agriculture que les anophèles. Pour autant, des phénomènes de résistance imputables aux traitements agricoles ont déjà été observés pour ces deux espèces. Ainsi en Martinique, au cours d'une étude sur la résistance d'*Ae. aegypti* sur l'île, une corrélation a été établie entre la culture de la canne à sucre et la résistance au téméphos (organophosphoré) (Marcombe *et al*, 2012). Concernant *Ae. albopictus*, des niveaux de résistance élevés à plusieurs familles

d'insecticides ont été observés au Pakistan chez une population provenant d'une zone de culture du coton où la pression insecticide agricole est très importante (Khan et al, 2011). C'est à ce jour la seule publication mentionnant une résistance élevée aux insecticides chez *Ae. albopictus*.

Concernant les vecteurs d'intérêt vétérinaires comme les culicoïdes ou les stomoxes, que l'on retrouve majoritairement en milieu rural, on peut légitimement penser que l'usage agricole des insecticides ait un rôle dans la sélection de la résistance, même si cela n'a jamais été documenté.

- Particuliers et entreprises 3D :

Lorsqu'il s'agit des milieux urbanisés, c'est à un véritable cocktail de substances chimiques auquel sont exposés les vecteurs, en particulier les moustiques. Parmi ces substances, il faut compter les biocides et les répulsifs sous toutes les formes utilisées par les résidents eux-mêmes.

Les insecticides domestiques utilisés par la population (bombes, serpentins, plaquettes...) ont des répercussions au niveau de la gestion de la résistance, compliquant la faisabilité d'une gestion effective.

Dans ce même registre, il faut souligner l'importance croissante du rôle que peuvent jouer les entreprises privées prestataires de désinfection, désinsectisation et dératisation (communément appelées 3D). Leurs activités englobent la lutte contre les nuisibles pouvant porter atteinte à la santé de l'Homme, mais aussi la protection des ressources alimentaires, économiques et environnementales. Cela concerne les commerces, les établissements publics, les écoles, les hôpitaux, les hôtels, les salles de spectacle, les industries agroalimentaires et autres, les immeubles d'habitations collectifs ou individuels. Sont visés les insectes nuisibles, les rongeurs, les oiseaux (dépigeonnage) en recourant à des techniques plus ou moins spécifiques à caractère préventif et/ou curatif. L'exercice de telles activités est désormais encadré par l'arrêté du 9 octobre 2013 relatif aux conditions d'exercice de l'activité d'utilisateur professionnel et de distributeur de certains types de produits biocides. Cet arrêté définit les conditions d'obtention d'un certificat individuel pour l'activité « utilisateur professionnel et distribution de certains types de produits biocides destinés exclusivement aux professionnels » et vise à permettre « des conditions d'utilisation et d'application des produits biocides plus sûres et plus efficaces ainsi qu'à responsabiliser les entreprises concernées ». On comptabilise environ 1200 entreprises 3D en France, dont 125 sont adhérentes de la Chambre Syndicale des 3D (CS3D), ce qui représente 10% en termes de nombre d'entreprises mais entre 75 et 80% en nombre d'agents de terrain. Il existe un autre syndicat (Syndicat National de l'Hygiène, SNH) qui compte environ 30 adhérents, pour la plupart localisés dans le sud-est de la France. Ces deux syndicats ont pour objectifs d'informer les entreprises, de participer à la professionnalisation des applicateurs et au développement de méthodes de lutte plus performantes et plus respectueuses de l'environnement. Ils ont établi leur charte respective dans le but de garantir à leurs clients des prestations de qualité respectant l'environnement et la législation en vigueur. Aucune donnée ne permet à l'heure actuelle d'estimer la part que représente ce secteur dans les quantités d'insecticides épandus en milieu urbain, les traitements contre les vecteurs ne représentant qu'une faible part de l'activité de ces entreprises. Cependant, l'expansion de la zone colonisée par *Aedes albopictus* dans le sud de la métropole crée une forte demande sociale qui peut pousser les habitants à se tourner vers des entreprises 3D dans une perspective de confort. Néanmoins, l'arrêté du 9 octobre 2013 mentionné précédemment prévoit également que les personnes exerçant l'activité de distributeur de produits biocides tiennent un registre de vente comprenant notamment les produits et les quantités achetées. Un tel registre permettrait de mieux connaître la pression insecticide liée à cet usage, ainsi que son évolution.

3.3. Impacts sur les organismes non cibles

Dans le contexte de la gestion des insecticides en cas de développement de la résistance, la principale difficulté à laquelle se trouve confrontée la gestion des risques environnementaux réside vraisemblablement dans l'état des connaissances sur les risques écotoxicologiques des biocides ou associations de biocides utilisés comme alternative aux produits vis-à-vis desquels les moustiques sont devenus résistants.

De façon relativement schématique, mais réaliste d'un point de vue opérationnel, trois cas de figure peuvent être envisagés :

- les insecticides alternatifs ont déjà été utilisés dans le contexte de la lutte antivectorielle et un certain nombre de données sont disponibles quant à leurs effets *in situ* sur les organismes non cibles. En combinant ces données avec celles des tests d'écotoxicité fournies dans le cadre réglementaire (*i.e* pour la procédure d'autorisation de mise sur le marché), il est possible d'identifier les groupes d'organismes non cibles les plus à risque, et de mettre en place un suivi environnemental spécifiquement destiné à identifier des effets potentiellement indésirables des produits de lutte antivectorielle sur ces organismes.
- les insecticides alternatifs n'ont jamais été utilisés dans le contexte de la lutte antivectorielle, mais font l'objet d'une utilisation dans d'autres contextes, notamment en phytoprotection. Dans ce cas, les informations sur leurs effets sur les organismes non cibles reposent essentiellement sur les données acquises dans le cadre réglementaire. Ces dernières concernent cependant un nombre restreint d'espèces qui, de plus, ne sont pas nécessairement représentatives des taxons rencontrés dans les milieux soumis aux traitements antivectoriels. En outre, même si les préparations commerciales d'une substance active sont utilisées en phytoprotection, le développement, à partir de la même substance active, de préparations commerciales spécifiquement destinées à la lutte antivectorielle rend quasiment inexploitable les données d'écotoxicité existantes. Dans ces conditions, l'acquisition de connaissances sur l'écotoxicité des formulations adaptées à la lutte antivectorielle sera donc un préalable indispensable à la mise en place de suivis *in situ*.
- les insecticides alternatifs n'ont jamais été utilisés dans le contexte de la démoustication, ni dans aucun autre contexte. Il s'agit ici de biocides ou associations de biocides spécifiquement développés pour les besoins de la lutte antivectorielle, et pour lesquels il sera nécessaire de prévoir d'importants efforts pour l'acquisition de données d'écotoxicité (notamment pour les associations de produits), avant d'envisager la mise en place de suivis *in situ*.

Cette distinction est inspirée des derniers travaux du Groupe de Travail "Insecticides de LAV" de l'Anses qui, sur saisine de ministères, a proposé un classement des 32 molécules potentiellement intéressantes pour la LAV qui étaient ressorties d'une expertise précédente (Anses, 2011 ; Anses 2013).

La gestion des risques environnementaux potentiellement associés à l'emploi d'insecticides alternatifs doit porter en priorité sur les organismes les plus exposés, de façon directe, à ces biocides, à savoir les invertébrés qui cohabitent avec les moustiques, larves ou adultes. En l'occurrence, les invertébrés non-cibles qui partagent les biotopes des moustiques jouent le rôle d'organismes sentinelles dont les réactions aux traitements peuvent servir de signaux d'alerte. Secondairement, en cas d'impacts avérés sur les invertébrés, les effets indirects devront être évalués. L'évaluation des risques des produits ou associations de produits destinés à la lutte antivectorielle sur les invertébrés non-cibles peut s'envisager en deux étapes :

- Etape 1 : estimation *a priori* de la vulnérabilité des communautés d'invertébrés non-cibles

Les dossiers d'autorisation de mise sur le marché de produits insecticides ou biocides comportent un certain nombre d'informations sur leur écotoxicité. Dans la très grande majorité des cas, ces informations reposent sur les résultats de tests normalisés sur un certain nombre d'espèces standards (e.g. abeille, coccinelle, chrysope, collembole pour le milieu terrestre ; daphnie, chironome, aselle, hyalelle pour le milieu aquatique). Toutefois, ces espèces ne sont pas nécessairement représentatives des communautés d'invertébrés qui peuplent les biotopes où peuvent se trouver les moustiques. En particulier, pour le milieu aquatique, les espèces standards sont des espèces d'eau douce alors que les traitements de démoustication ont lieu, pour une large part en ce qui concerne les *Aedes* de zone rurale en France, dans les milieux d'eau saumâtre. Il est donc indispensable de compléter les tests d'écotoxicité sur espèces standards par des tests sur espèces résidentes, issues des milieux susceptibles de faire l'objet de traitements de démoustication. *ASTM International* (American Society for Testing and Materials) a récemment publié un certain nombre de recommandations pour sélectionner des espèces résidentes pour des tests d'écotoxicité. En associant les données d'écotoxicité sur des espèces standards et sur des espèces résidentes, il est possible d'estimer, *a priori*, la vulnérabilité d'une communauté d'invertébrés non-cibles en place aux produits ou associations de produits destinés à la lutte antivectorielle. De cette manière, avant qu'ils aient été utilisés sur le terrain, les produits potentiellement les plus nocifs pourront être écartés au profit d'insecticides dont le profil d'écotoxicité est plus favorable.

- Etape 2 : suivi pluriannuel *in situ* des communautés d'invertébrés non-cibles

L'utilisation en lutte antivectorielle de produits au profil écotoxicologique *a priori* favorable ne dispense pas du suivi de leurs éventuels impacts dans un contexte opérationnel. Pour ce faire, un certain nombre de méthodes existent, qui ont été validées sur le terrain, parfois depuis plus d'une dizaine d'années, pour le suivi des communautés d'invertébrés aquatiques non-cibles inféodés aux biotopes des larves de moustiques (Caquet *et al.*, 2011 ; Lagadic *et al.*, 2013). Ces méthodes de suivi ont récemment été déployées sur la quasi-totalité des secteurs d'intervention des opérateurs publics de démoustication à l'échelle du territoire national, DOM (Martinique et Guyane) compris (Roucaute *et al.* 2013). En ce qui concerne le suivi des effets des adulticides sur les espèces non-cibles, des méthodes ont été mises au point et en grande partie validées sur le terrain pour les abeilles dans le cadre du programme Life+ (Devillers et Decourtye, comm pers.). Cependant, pour la plupart des espèces animales non cibles, qu'il s'agisse d'invertébrés (arthropodes terrestres, par exemple) ou à plus forte raison de vertébrés (poissons, reptiles et oiseaux, notamment), aucune méthode n'est jusqu'à présent opérationnelle pour appréhender leurs réponses aux produits utilisés pour la lutte antivectorielle.

Le suivi des effets non intentionnels des produits ou associations de produits destinés à la lutte antivectorielle doit faire partie intégrante du programme de lutte, et être mis en place de manière simultanée au début des interventions. L'utilisation des invertébrés non-cibles en tant qu'organismes sentinelles peut permettre, en cas d'impact avéré, la mise en place de mesures correctives concernant, en premier lieu, le respect des bonnes pratiques. Dans le cadre de la gestion des risques environnementaux, ces mesures correctives peuvent s'appliquer aux conditions d'utilisation des insecticides, en agissant notamment sur les doses, fréquences et périodes de traitement, mais aussi en ayant recours à la rotation des produits ou associations de produits. Par ailleurs, la prise en compte d'effets directs ou indirects sur des groupes animaux autres que les invertébrés peut conduire à la mise en place de suivis spécifiques nécessitant le développement de méthodologies appropriées. La figure 2 propose un processus pour le suivi des effets non intentionnels de la lutte antivectorielle.

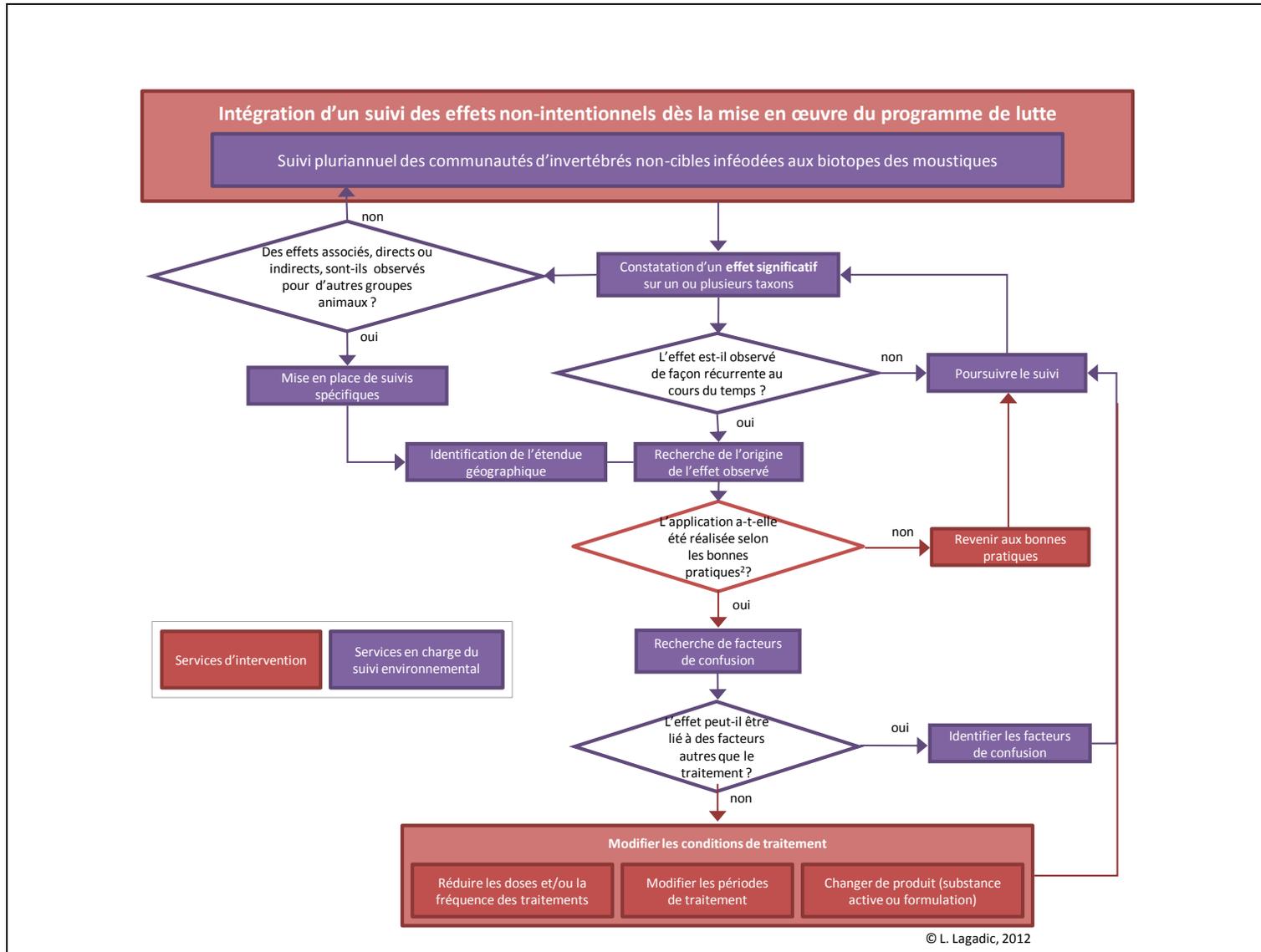


Figure 2 : logigramme de suivi des effets non-intentionnels de la lutte anti-vectorielle

4. Anticiper et prévenir les échecs du contrôle des vecteurs par l'utilisation d'insecticides

L'observation d'une résistance aux insecticides dans une population de vecteurs n'est pas obligatoirement associée des échecs de traitement. En effet, la résistance doit être largement répartie dans la population cible pour avoir un impact opérationnel visible. De plus, certains insecticides ont, en plus de leur action létale, une action répulsive. Pour la perméthrine par exemple, dont l'effet majeur repose sur la répulsion, la résistance peut n'avoir qu'un effet limité sur l'efficacité globale de l'intervention. Or, il est indispensable de détecter au plus vite l'apparition de résistance, afin de permettre aux opérateurs d'adapter leur stratégie de lutte, aussi bien en termes de choix de la substance active que de méthodes d'application qui peuvent varier en fonction du produit et de sa formulation.

D'après les résultats obtenus par le biais du questionnaire (annexe 1), la mise en œuvre des méthodes de suivi de la sensibilité des espèces cibles aux insecticides est très variable selon les opérateurs publics. Si certains réalisent régulièrement des tests aussi bien sur les larves que les adultes, et tentent de caractériser les mécanismes impliqués dans la résistance en partenariat avec des laboratoires de recherche, la plupart ne réalisent que des bioessais larvaires dont la fréquence est variable. D'autres se basent uniquement sur l'évaluation de l'efficacité des traitements pour évaluer la sensibilité. S'agissant des opérateurs privés (3D), aucun suivi n'est réalisé. A noter qu'un tel suivi n'est pas requis par les bonnes pratiques (chartes) définies par les représentations syndicales de la profession.

Face à la réduction du nombre de substances actives disponibles en lutte antivectorielle, il devient de plus en plus impératif de préserver l'efficacité des molécules existantes, celles-ci étant difficilement substituables en cas d'apparition de résistance chez les vecteurs ciblés. Ainsi, l'OMS encourage l'élaboration de stratégies de gestion de la résistance aux insecticides avant même qu'une résistance ne soit signalée. Une telle anticipation doit être partie intégrante des programmes de contrôle de vecteurs.

A cet effet, un logigramme d'action pour la surveillance de la résistance est proposé (figure 3). Celui-ci précise pour chaque étape de la surveillance les processus à mettre en place et les ressources mobilisables, l'objectif étant de prévenir d'éventuels échecs opérationnels par l'anticipation. Il propose également une réponse graduée en fonction du niveau d'alerte et identifie les acteurs impliqués à chaque étape du processus de surveillance.

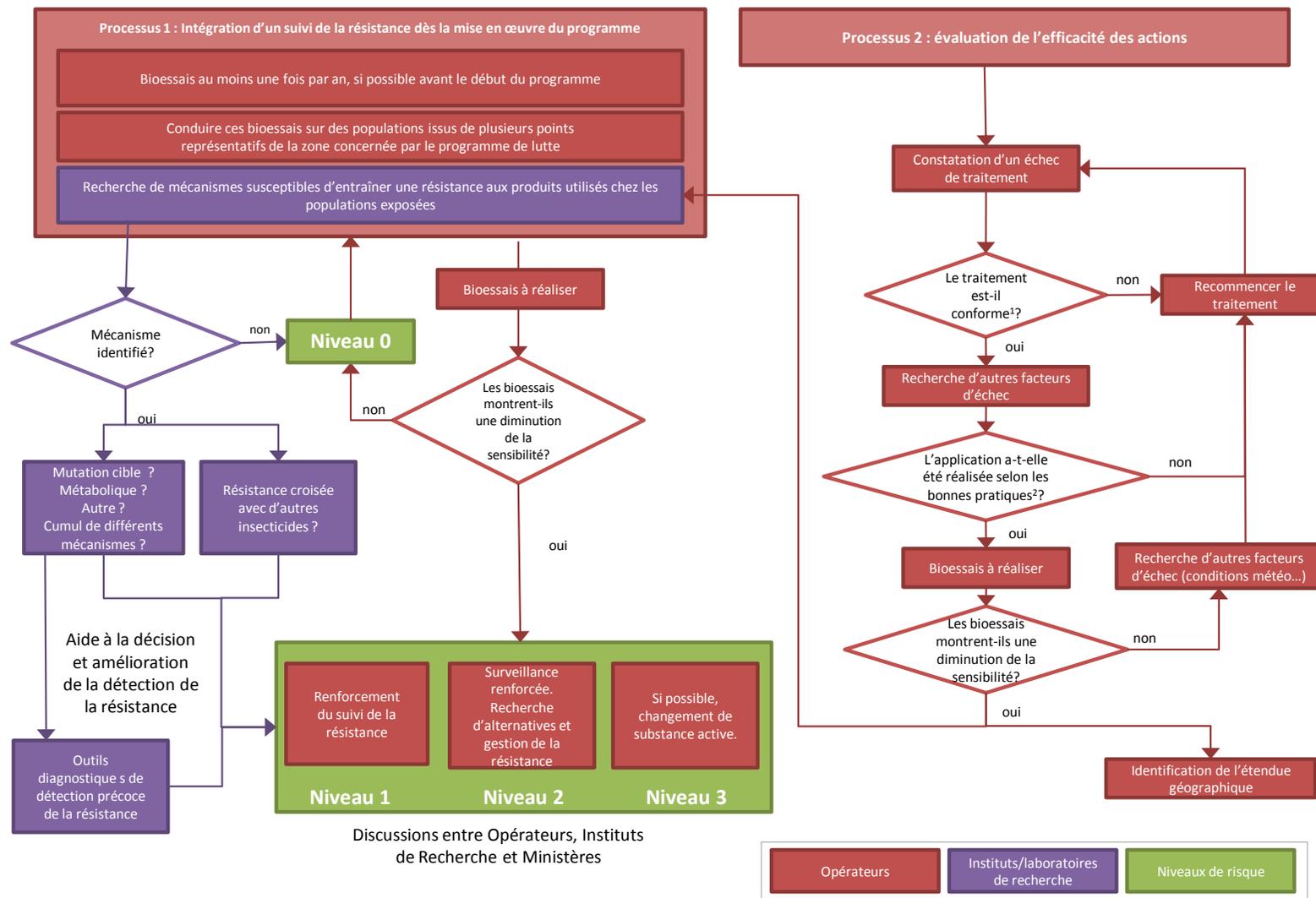


Figure 3 : logigramme d'action pour le suivi de la résistance dans un programme de lutte antivectorielle

¹Le terme de « traitement conforme » désigne une préparation insecticide respectant les points suivants :

- Dosage correspondant à la surface traitée
- Solvant choisi conforme aux prescriptions du fabricant
- Utilisation de produits non périmés

²Un traitement respectant les bonnes pratiques doit au minimum remplir les conditions suivantes :

- Etalonnage régulier de l'appareil de traitement
- Qualification du personnel
- Formulation adaptée au stade de développement et à la méthode d'épandage
- Pour les traitements adulticides non rémanents, traitement aux heures d'activité de l'espèce

Idéalement, la recherche des mécanismes de résistance doit être concomitante aux bioessais : tous les survivants aux concentrations diagnostiques doivent être utilisés pour la recherche de gènes de résistance connus. Toutefois, ceci est difficilement réalisable en routine en l'absence d'outils diagnostiques simples et rapides.

4.1. Techniques de référence

Il existe de nombreuses méthodes pour le suivi de la sensibilité des populations d'insectes aux insecticides. Ces méthodes dépendent de l'espèce cible, de l'insecticide qui peut agir plus ou moins rapidement, du stade de l'insecte qui est visé ainsi que des effectifs d'insectes que l'on peut espérer récolter sur le terrain. A titre d'exemple nous présenterons ici les principaux tests⁶ utilisés pour les moustiques mais des méthodes spécifiques sont disponibles pour les autres groupes d'arthropodes d'importance médicale et vétérinaire. En particulier, la FAO (2004) recommande deux protocoles standardisés pour l'évaluation de la résistance des tiques aux acaricides : le « Larval Packet Test (LPT) » et le « Adult Immersion Test (AIT) ». Ces méthodes ont été initialement décrites respectivement par Stone & Haydock (1962) et Drummond *et al.* (1973). D'autres méthodes sont proposées dans la littérature comme alternatives : le « Larval Immersion Test (LIT) » (Shaw, 1966 ; Sabatini *et al.*, 2001 ; Klafke *et al.*, 2006), le « Larval Immersion Microassay (LIM) » (White *et al.*, 2004), le « Larval Tarsal Test (LTT) » (Lovis *et al.*, 2011). Des méthodes sont également en cours de développement pour l'évaluation de la résistance aux insecticides chez les culicoïdes (Venail *et al.*, 2011).

Echantillonnage

En général pour les moustiques on travaille avec des larves collectées sur le terrain ou des œufs récoltés par pondoirs pièges ou des nacelles pour les *Culex*. Les essais doivent être réalisés sur les générations F0 ou F1 de plusieurs populations représentatives des zones traitées. Les gîtes doivent être représentatifs de l'espèce et du lieu et le matériel biologique doit être prélevé dans plusieurs gîtes si possible suffisamment éloignés les uns des autres. Le nombre d'individus prélevés dans chaque point doit être le plus élevé possible. Les tests peuvent être faits sur la descendance de femelles gravides collectées sur le terrain (au moins 30 femelles/site).

Pour les adultes, quand cela est possible, ne pas utiliser ceux collectés directement sur le terrain car leur âge n'est pas connu mais ceux de la F1.

⁶ Les procédures de tests sur les moustiques sont proposées par l'OMS (WHO, 2005 ; WHO, 2006 ; WHO, 2013).

Les bioessais

Les essais biologiques sont indispensables au suivi de la résistance aux insecticides. Ils sont essentiels dans le choix de la stratégie à adopter et dans la décision de changer d'insecticides lors d'une campagne de lutte. Le principe des bioessais consiste à exposer des lots d'insectes à évaluer, et des lots de références témoins sensibles (en général de la même espèce), à des doses croissantes d'insecticide pendant un temps donné ou à une dose donnée d'insecticide en augmentant le temps d'exposition. Les bioessais sont réalisés avec des insecticides sous forme de matière technique afin d'éviter tout effet lié à la formulation. Les lots d'insectes doivent être les plus homogènes possibles en termes de stade larvaire ou d'âge et de statut physiologique pour les adultes.

La sensibilité des populations de terrain doit être comparée à celle de souches de référence sensibles aux insecticides de la même espèce lorsque celles-ci sont disponibles. Les souches de références les plus couramment utilisées sont S-Lab pour *Culex pipiens sl.*, Kisumu pour *Anopheles gambiae sl.* ou Bora Bora pour *Aedes aegypti*. A l'heure actuelle, il n'existe pas de souche de référence pour *Aedes albopictus*, ni pour les espèces de culicoïdes d'intérêt vétérinaire.

- Larvicides

Les tests sont réalisés à partir de solution stocks de matière technique en solution dans l'éthanol ou l'acétone, à l'exception du *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) et du *Bacillus sphaericus* (Bs) pour lesquels les bioessais sont effectués avec une formulation dispersable dans l'eau.

Des lots de 25 larves (stade 3 âgé/4 jeune) sont répartis dans des gobelets contenant 99 ml d'eau distillée auxquels sont ajoutés 1 ml de solution insecticide. 4 répliques de 25 larves sont effectuées par dose. La mortalité est relevée après 24 heures (48h pour le Bs et le Bti). Pour l'interprétation des données, il est nécessaire d'avoir au moins 5 concentrations avec une mortalité comprise entre 0% et 100%. Les témoins sont constitués de 4 répliques de 25 larves recevant 1 ml de solvant sans insecticide. Si plus de 20% des larves témoins meurent au cours du test ou si plus de 10% des larves témoins se transforme en nymphe au cours du test, celui-ci doit être refait. La mortalité dans les gobelets traités est corrigée par la mortalité des témoins en utilisant la formule d'Abbott.

La relation dose-mortalité est déterminée par une analyse log-probit qui permet de déterminer les concentrations létales (CL50, CL95) et de comparer plusieurs populations entre elles.

Pour les IGR, qui agissent sur le développement larvaire ou inhibent la mue imaginale, les tests se déroulent sur plusieurs jours jusqu'à déterminer le pourcentage d'inhibition de l'émergence.

- Adulticides

Le suivi de la sensibilité des moustiques adultes se fait généralement par l'utilisation du Test Kit de l'OMS. Le principe est d'exposer des moustiques pendant une heure dans un tube contenant un papier imprégné d'insecticide à une dose diagnostique. La dose diagnostique est définie comme le double de la dose minimale suffisante pour tuer 100% des individus sensibles de l'espèce considérée. Après une heure d'exposition, les moustiques sont transférés dans un tube d'observation où la mortalité est évaluée après 24 heures. Ce temps peut toutefois être rallongé pour les produits à action lente comme par exemple les néonicotinoïdes.

Une gamme de papiers imprégnés des différents adulticides aux concentrations diagnostiques est disponible auprès de l'OMS, mais en pratique, pour les pyréthri-noïdes, la

priorité sera donnée à la deltaméthrine (0.05%), les autres insecticides n'étant pas recommandés en Europe par la réglementation encadrant les produits biocides. Les tests sont pratiqués avec des lots de femelles adultes non gorgées âgées de 2 à 5 jours i) obtenues à partir de larves/d'œufs collectés sur le terrain puis mis en élevage au laboratoire ii) de la première génération (F1) issue d'un échantillon représentatif de femelles sauvages gravides collectées sur le terrain.

Pour les pyréthrinoïdes, le décompte des moustiques "assommés" (knockdown) à intervalles réguliers au cours de l'exposition au papier imprégné (1h) permet de déterminer la relation entre le pourcentage de moustiques knockdown et le temps d'exposition, et de calculer le temps de Kd50 ou Kd95. Ces paramètres sont des indicateurs d'une baisse de la sensibilité des moustiques plus précoces que la mortalité, en cas de résistance de type kdr.

L'interprétation des résultats selon l'OMS après 24 heures est:

- 90-98% Mortalité: population sensible
- 80-97% Mortalité: résistance possible à confirmer par des tests complémentaires
- <80% Mortalité : population résistante

L'interprétation basée sur la mortalité à 24 heures présente toutefois des limites notamment pour les gènes récessifs (comme la mutation *kdr*). Lorsque la résistance apparaît dans une population, la majorité des individus porteurs de l'allèle résistant sont sous forme hétérozygotes et dans le cas d'un gène récessif sont tués comme les parents sensibles. Ainsi la fréquence allélique de la résistance nécessite de passer un seuil assez élevé avant de se manifester par une mortalité significativement réduite.

En cas de résistance métabolique, une exposition préalable des moustiques à des papiers imprégnés de synergistes peut apporter des indications sur la nature des mécanismes impliqués. Les synergistes sont des inhibiteurs des mécanismes enzymatiques pouvant intervenir dans la résistance. Les plus utilisés sont le PBO qui inhibe principalement les oxydases, et le DEF inhibiteur des estérases.

Caractérisation des mécanismes de résistance

Des tests biochimiques ou moléculaires peuvent également être utilisés pour caractériser les mécanismes de résistance. Ils nécessitent moins d'individus que les tests biologiques classiques et permettent de détecter la présence de plusieurs mécanismes sur le même individu. Toutefois ils nécessitent d'être pratiqués dans des laboratoires de recherches disposant des compétences ainsi que de l'équipement et des réactifs nécessaires.

Les tests biochimiques

Ces tests visent à détecter une augmentation de l'activité des enzymes potentiellement impliquées dans la résistance (monooxygénases à cytochrome P450, estérases, GST). Ils peuvent aussi être utilisés pour la caractérisation de l'acétylcholinestérase insensible en mesurant la baisse d'inhibition de l'AChE1 par les carbamates et les organophosphorés.

Ils sont réalisés sur des extraits de moustiques déposés dans des microplaques. Ils font appel à des substrats spécifiques de chaque famille enzymatique dont le produit de dégradation est révélé par un colorant. L'intensité de la réaction est évaluée par la densité optique de chaque puits, mesurée par spectrophotométrie ou spectrofluorimétrie. La comparaison à des courbes étalons permet pour chaque moustique de mesurer l'activité des estérases, des oxydases, ou des GST rapportée au mg de protéines contenu dans l'échantillon.

A l'exception de l'acétylcholinestérase insensible, ces tests manquent toutefois de spécificité dans la mesure où chaque famille d'enzymes correspond à plusieurs dizaines de gènes qui peuvent jouer d'autre rôle que la résistance aux insecticides. Ils doivent donc être interprétés au regard des résultats des bioessais et/ou d'un suivi dans le temps des populations naturelles. Toutefois, pour *Culex pipiens s.l.*, des électrophorèses de protéines permettent l'identification des différents allèles d'estérases impliqués dans la résistance aux organophosphorés.

Les tests moléculaires

Les tests moléculaires sont les outils diagnostiques les plus précis dans le suivi de la résistance mais ils ne sont utilisables que pour les mutations ou les gènes qui sont déjà connus et validés fonctionnellement pour leur rôle dans la résistance.

Il existe des tests PCR (réaction de polymérisation en chaîne) spécifiques pour détecter plusieurs des mutations *kdr* ou la mutation *Ace.1R* chez les moustiques. Ces tests permettent de déterminer le génotype de chaque moustique et donc de suivre la fréquence des allèles de résistance dans une population soumise à un traitement. Ces tests sont aussi particulièrement utiles pour les gènes de résistance récessifs car ils révèlent l'apparition d'hétérozygotes dans une population avant d'observer une baisse de sensibilité par les bioessais classiques.

Il n'existe pour le moment pas de tests moléculaires spécifiques simples pour détecter les mécanismes de résistance métabolique. Ceux-ci font appel à des approches lourdes et coûteuses comme les puces à ADN ou bien la PCR quantitative, peu utilisables en routine. L'identification des mutations liées à la résistance métabolique est une condition essentielle pour la mise au point de tests diagnostiques.

4.2. Connaissance de l'état initial

Tout nouveau programme de contrôle devrait être précédé de la réalisation d'un état initial concernant la sensibilité des populations visées aux insecticides utilisés.

L'état initial doit également impliquer la recherche de mécanismes de résistance pour lesquels on dispose d'un outil diagnostique même lorsque les bioessais indiquent une bonne sensibilité. Des individus peuvent être conservés à -80°C pour la caractérisation ultérieure de mécanismes jusque-là inconnus ou pour lesquels on ne dispose pas encore d'outil diagnostique.

Une telle opération devrait également être l'occasion de récolter et conserver une souche de référence locale, lorsque la biologie de l'espèce visée rend cela possible.

4.3. Processus 1 : Suivi de la résistance

L'objectif de ce processus est de mettre en place une surveillance de la résistance basée sur la réalisation de bioessais à fréquence régulière. Cette action doit être réalisée par l'opérateur. Il convient également de rechercher dans les populations exposées des mécanismes susceptibles d'entraîner une résistance aux produits utilisés, De par la technicité plus importante que requiert cette action, celle-ci doit être réalisée par des laboratoires de recherche spécialisés, ou par l'opérateur lui-même s'il dispose des compétences et des ressources techniques nécessaires.

La réalisation de bioessais permet de connaître la sensibilité intrinsèque des populations cibles aux insecticides utilisés par rapport à une souche sensible de référence. Le suivi à long terme permet ainsi de détecter toute diminution de cette sensibilité. La fréquence des bioessais doit être adaptée à la fréquence des traitements. Cependant, il est préférable dans la mesure du possible de réaliser ces tests au minimum une fois par an.

La recherche de mécanismes susceptibles d'entraîner une résistance aux produits utilisés chez les populations d'insectes cibles permet de détecter l'apparition de résistance avant que celle-ci ne se traduise par des échecs opérationnels. En cas de détection, cela peut permettre de donner suffisamment de temps aux opérateurs pour adapter leur programme de lutte si cela est possible. Tout comme les bioessais, il convient de réaliser ces tests au minimum une fois par an.

Les résultats obtenus suite à ces différents tests permettent de déterminer un niveau d'alerte. Des mesures d'adaptation de la surveillance de la résistance, voire de la stratégie de lutte, doivent être mises en place et graduées en fonction du niveau d'alerte.

4.4. Processus 2 : Evaluation de l'efficacité des actions

Ce processus vise à détecter d'éventuels échecs opérationnels, et à identifier les causes de ces échecs. Il s'agit concrètement de réaliser des bioessais après chaque échec de traitement, en ayant au préalable étudié toutes les causes possibles de cet échec (erreur de dosage, application incorrecte, conditions météorologiques...).

Il serait trop lourd de rechercher des mécanismes pouvant entraîner une résistance après chaque échec de traitement. Ceux-ci ne doivent être recherchés qu'en cas de constatation d'une diminution de la sensibilité par les bioessais.

Les résultats de ces bioessais vont également permettre de définir des niveaux d'alerte, et par conséquent des adaptations à mettre en place.

4.5. Niveaux d'alerte

Il convient de préciser qu'une même population de vecteurs peut présenter des niveaux d'alerte différents selon l'insecticide concerné. Par exemple, une population résistante aux pyréthrinoïdes peut être parfaitement sensible au *Bti*.

Les critères définissant les différents niveaux d'alerte sont présentés dans le tableau III.

- Niveau 0 :

Le niveau 0 qualifie une population pour laquelle aucune diminution de la sensibilité ni aucun mécanisme pouvant conférer une résistance n'ont été observés. Aucune adaptation n'est donc nécessaire.

- Niveau 1 :

Le niveau 1 correspond à une population dont la sensibilité à un insecticide donné est équivalente à celle de la souche sensible de référence, mais au sein de laquelle un mécanisme pouvant conférer une résistance a été observé.

L'atteinte de ce niveau d'alerte nécessite de renforcer la surveillance de l'apparition de la résistance au sein de la population. Il convient dans un premier temps d'étendre, si possible, la zone et la fréquence d'échantillonnage pour la réalisation des bioessais et la recherche des mécanismes de résistance. Il s'agit là de déterminer à quelle échelle géographique le mécanisme est répandu dans la population.

Tableau III. Niveaux d'alerte de la résistance d'une population d'arthropodes vecteurs vis-à-vis d'un insecticide

Niveau de résistance de la population	Seuils larvicides ⁷	Seuils adulticides ⁸	Détection d'un mécanisme pouvant induire une résistance
Niveau 0	RR50<5 RR95<10	97%<mortalité<100%	non
Niveau 1	RR50<5 RR95<10	97%<mortalité<100%	oui
Niveau 2	RR50<5 RR95>10 ou RR50>5	90%<mortalité<97%	oui
Niveau 3	RR50>10	mortalité<90%	oui

- **Niveau 2 :**

A partir du niveau 2, on constate une diminution de la sensibilité à un insecticide donné chez la population cible. Pour les larvicides, il s'agit d'une population dont le RR50 est supérieur à 5, ou d'une population dont le RR50 est inférieur à 5 mais dont le RR95 est supérieur à 10. En effet, un RR95 significativement supérieur au RR50 suggère qu'une proportion des individus a un niveau de résistance plus élevé que la moyenne et que le maintien de la pression sélective entrainera en quelques générations une augmentation significative du phénotype résistant dans la population (cf. figure 4). Pour les adulticides, la mortalité causée par l'insecticide testé est comprise entre 90% et 97%.

Il convient, à ce niveau d'alerte, de renforcer considérablement la surveillance. Le nombre de points à échantillonner doit être équivalent à celui du niveau 1. La fréquence des bioessais doit être augmentée à 2 ou 3 tests par an. En parallèle, il est nécessaire de rechercher des alternatives aux produits utilisés, et de mettre en place une stratégie de gestion de la résistance (cf. chapitre 4) si cela s'avère possible.

⁷ Les seuils larvicides proposés sont des niveaux proposés d'après l'expertise des membres du groupe de travail et sont destinés à être réévalués en fonction des données opérationnelles disponibles.

⁸ D'après WHO, 2013.

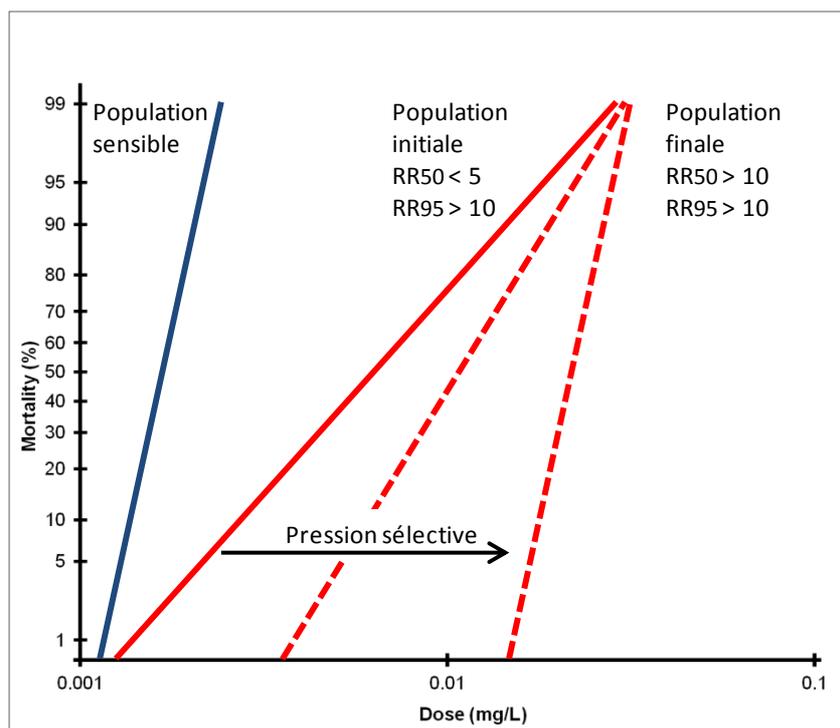


Figure 4: Accroissement du niveau de résistance d'une population initialement résistante soumise à une pression sélective par les traitements insecticides.

- Niveau 3 :

Le niveau d'alerte 3 caractérise une population dont la sensibilité à l'insecticide utilisé est fortement réduite. Cela correspond à un RR50 supérieur à 10 pour les larvicides, et à une mortalité inférieure à 90% pour les adulticides.

A ce niveau de sensibilité, on peut considérer la population comme résistante à l'insecticide testé. Ce dernier devrait théoriquement ne plus être utilisé, et remplacé par d'autres molécules. Cependant, il est possible qu'il n'existe aucune alternative dans le panel des insecticides utilisables en LAV, en particulier pour les adulticides, les pyréthriinoïdes étant la seule famille d'insecticides autorisée à l'heure actuelle. Dans, ce cas, l'utilisation de cet insecticide doit être réservée aux situations épidémiques. Il est nécessaire d'augmenter la fréquence des bioessais en fonction du contexte épidémiologique afin de vérifier que les niveaux de résistance n'atteignent pas des seuils au-delà des quels les traitements seraient totalement inefficaces.

Si le produit n'est plus utilisé, l'évolution de la sensibilité de la population peut être suivie à un rythme équivalent au niveau 2, soit 2 à 3 fois par an. L'insecticide pourrait ainsi à nouveau être utilisé si les niveaux de sensibilité redeviennent acceptables.

5. Stratégies de gestion de la résistance aux insecticides

La mise en place de stratégies de gestion de la résistance aux insecticides – ou de préservation de la sensibilité aux insecticides - est désormais incontournable du fait de l'augmentation du nombre d'espèces développant des mécanismes de résistance aux insecticides et de la diminution du nombre de substances utilisables

La gestion de la résistance aux insecticides nécessite la mise en œuvre d'une stratégie de lutte intégrée reposant sur les diverses méthodes de contrôle disponibles et permettant de limiter autant que possible le recours aux substances actives biocides. La gestion de la résistance doit être une partie intégrante de toute stratégie de lutte. Dans le contexte actuel de raréfaction des insecticides utilisables en santé publique et vétérinaire, la gestion de la résistance doit être vue avant tout comme un outil de **prévention** et ne doit pas seulement être considérée comme la possibilité de restaurer la sensibilité des vecteurs une fois que la résistance est installée.

Différentes stratégies permettent de prendre en compte l'émergence de phénomènes de résistance. Ces stratégies sont présentées ci-dessous, essentiellement dans le contexte de la lutte contre les moustiques. Ces différentes approches ne sont pas exclusives. Idéalement, un programme de gestion de la résistance devrait faire appel à l'ensemble des outils disponibles.

Enfin, l'application de ces stratégies dans le contexte entomologique et réglementaire français est discutée.

5.1. Généralités

Le développement de la résistance dans les populations d'insectes est un phénomène évolutif basé sur les mécanismes adaptatifs de la sélection naturelle. Ce n'est pas l'utilisation d'insecticides qui crée la résistance, mais elle sélectionne les individus porteurs d'allèles de résistance (apparus par mutation spontanée ou par migration) qui survivent au traitement et dont la descendance sera "avantagée" par rapport à celle des individus sensibles. Si la pression insecticide est maintenue sur plusieurs générations alors la fréquence des individus porteurs d'allèles de résistance augmente progressivement à chaque génération. Ce processus de sélection est sous la dépendance de facteurs dépendant de la biologie de l'insecte, des gènes de résistance et des traitements opérationnels:

- Facteurs biologiques: les insectes qui ont un temps de développement court, de nombreuses générations par an et une forte prolificité (stratégie r, exemple des moustiques) deviennent plus rapidement résistants que les insectes au développement long, avec un nombre limité de générations et de descendants (stratégie K, exemple des glossines). Le degré d'isolement des populations est aussi un facteur important de l'évolution de la résistance, les flux géniques entre populations favorisant la diffusion des gènes de résistance ;

- Facteurs liés aux gènes de résistance: ils concernent la fréquence allélique initiale de la résistance, le degré de dominance, l'interaction entre gènes de résistance, l'avantage sélectif procuré en présence de traitements et le coût génétique associé aux gènes de résistance qui réduit la fitness des résistants en l'absence des traitements ;
- Facteurs opérationnels regroupant : l'historique des traitements insecticides et pas seulement contre les vecteurs qui peuvent avoir présélectionné des gènes de résistance, de l'insecticide utilisé, de la dose et du rythme des applications, de la rémanence (plus un insecticide est rémanent plus le nombre de générations d'insectes soumis à la pression sélective sera élevé), de la nature des traitements (un traitement larvicide induit une plus forte pression de sélection qu'un traitement ciblé comme les moustiquaires imprégnées qui ne touchent que les femelles anthropophiles et endophages), de l'existence d'autres sources de pressions sélectives (traitements agricoles, insecticides domestiques, polluants organiques...).

Les stratégies de gestion de la résistance devraient être basées sur l'ensemble de ces facteurs mais, en pratique, seuls les facteurs opérationnels peuvent être modifiés par les opérateurs de la lutte. Toutefois dans de nombreux cas (élevage industriel, moustiques urbains, amélioration de l'habitat...) les mesures d'aménagement de l'environnement limitant la prolifération des insectes sont des compléments particulièrement efficaces aux programmes de lutte permettant ainsi de limiter les quantités d'insecticides et donc la pression sélective sur les populations d'insectes (lutte intégrée).

Parmi les différentes initiatives visant à mettre en œuvre une gestion de la résistance, il est utile de souligner celle du GPIRM (*Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors*) (WHO, 2012), qui est un plaidoyer pour une intégration systématique de la gestion de la résistance au sein de toute politique publique de lutte contre le paludisme. Cette stratégie est notamment proposée du fait de l'augmentation importante de la résistance des vecteurs du paludisme aux pyréthriinoïdes à travers le monde et des risques au niveau des impacts opérationnels. Un plan d'action est ainsi proposé fixant des priorités à court, moyen et long terme et nécessitant la mobilisation de toutes les parties prenantes (responsables gouvernementaux, milieux industriels et universitaires, OMS, organisations non gouvernementales, secteur agricole). Cette stratégie globale repose sur les cinq piliers suivants :

1. Planifier et appliquer des stratégies de gestion de la résistance aux insecticides dans les pays endémiques.
2. Veiller au suivi entomologique en temps utile, à la surveillance de la résistance et à une gestion efficace des données.
3. Élaborer des outils novateurs de lutte antivectorielle.
4. Comblent les lacunes de connaissances au niveau des mécanismes de résistance aux insecticides et de l'impact des stratégies actuelles de gestion de la résistance.
5. Veiller à mettre en place des mécanismes (plaidoyer, ressources humaines et financières) créant des conditions favorables.

La stratégie préconisée par le GPIRM a à la fois un périmètre géographique plus large que celui de ce document et un périmètre entomologique plus ciblé. Celle-ci va toutefois dans le même sens et peut être utilement déclinée au contrôle de tout vecteur faisant appel à des substances insecticides.

5.1.1. Rotation d'insecticides

Ce type de stratégie repose sur une utilisation de plusieurs insecticides à modes d'action différents, en alternance dans le temps. Une telle approche est basée sur le fait que l'émergence d'une résistance induit un coût au niveau des vecteurs ciblés, si bien que l'installation de différents mécanismes de résistance est peu probable si on ne laisse pas le temps à un mécanisme en particulier de s'installer du fait de son coût génétique.

La rotation doit être effectuée à une fréquence suffisamment courte. Dans le cas des traitements des vecteurs de maladies humaines, une rotation annuelle est en général suffisante.

Le programme OCP (Onchocerciasis Control Programme) en Afrique de l'Ouest est l'exemple le plus emblématique d'une stratégie réussie de gestion de la résistance des vecteurs en Santé Publique. Après l'apparition de premiers cas de résistance au téméphos (OP) chez les simulies en 1980, une rotation de 7 insecticides appartenant à 4 familles fut mise en place pour les traitements anti-larvaires. Cette stratégie permit la régression de la résistance aux OP et le maintien de la sensibilité des simulies à ces 4 familles insecticides pendant les 20 années suivantes du programme en assurant ainsi l'efficacité sur le long terme des opérations de lutte antivectorielle, jusqu'à l'arrêt du programme (Yameogo et al. 2003).

Des échecs opérationnels de traitements par des pyréthrinoïdes en aspersion intradomiciliaire ont été enregistrés en Afrique du Sud et en Guinée Equatoriale. Les populations d'anophèles fortement résistantes aux pyréthrinoïdes ont pu être contrôlées par l'utilisation de carbamates ou de DDT (Maharaj *et al.*, 2005; Sharp *et al.*, 2007).

5.1.2. Mélanges et combinaisons d'insecticides

Le recours à des mélanges d'insecticides à modes d'action différents résulte de la faible probabilité de l'émergence concomitante de plusieurs mécanismes de résistance. Il s'agit du même principe que celui utilisé pour les multithérapies contre certaines bactéries ou encore le VIH. Par conséquent, une utilisation simultanée, soit dans la même bouillie, soit par une application successive est de nature à préserver la sensibilité des insectes vecteurs aux insecticides.

Le recours à ce type de stratégie nécessite théoriquement son utilisation préalablement à toute installation d'une résistance à l'une des substances utilisées.

Des associations insecticides-insecticides, insecticides-synergistes ou bien encore insecticides-répulsifs permettent de produire un effet synergique capable d'augmenter la durée d'efficacité des substances actives, de diminuer les doses efficaces et présente également une action insecticide sur les insectes résistants à l'insecticide lorsque celui est utilisé seul.

L'utilisation de mélange est courante en agriculture soit pour contrôler plusieurs espèces de ravageurs soit pour prévenir l'apparition de résistance. En santé publique, il n'existe à l'heure actuelle qu'une seule formulation en mélange associant le Bti et le Bs. Par contre de nombreuses études expérimentales ont montré l'intérêt des mélanges pour le contrôle des moustiques:

- comme larvicides, des mélanges méthoprène+Bti (Lawler et al. 2000) ou pyriproxifène + spinosad (Darriet et al. 2010), ont été testés dans les gîtes à *Aedes* avec des rémanences de plusieurs mois dans des fûts ou des marécages traités ;
- comme adulticides, des mélanges d'insecticides (Hougard et al. 2003, Darriet et Chandre, 2013) ou d'un insecticide et d'un répulsif (Pennetier et al, 2008) permettent de restaurer l'efficacité des moustiquaires imprégnées vis-à-vis de moustiques résistants aux pyréthrinoides au laboratoire et sur le terrain.

Il faut noter la nécessité pour les industriels de repasser les homologations pour tout mélange même si les substances qui le constituent sont déjà homologuées, en raison de risque synergisant, ce qui implique des coûts de développement supplémentaires.

Ces stratégies peuvent être mises en œuvre par l'utilisation de plusieurs insecticides pour imprégner les différentes parties d'une moustiquaire ou d'une habitation. Des essais à petite échelle de moustiquaires bi-traitées en mosaïque (Guillet et al., 2001) ou d'associations moustiquaires et imprégnation intra-domiciliaire (Djenontin et al., 2009) ont montré de bons résultats contre des moustiques résistants aux pyréthrinoides. Toutefois leur intérêt à ralentir le développement de la résistance à l'échelle opérationnelle n'a pas encore été démontré (Corbel et al., 2012).

5.1.3. Mosaïques

L'utilisation d'insecticides en mosaïque fait également appel à une combinaison d'insecticides, utilisés ici selon une alternance spatiale. La population d'insecte d'une zone traitée est soumise à un insecticide, tandis que la population de la zone adjacente est soumise à un autre insecticide.

Cette stratégie est relativement complexe à mettre en œuvre et à gérer en santé publique car elle nécessite de traiter des villages/quartiers avec des insecticides différents. Un essai à large échelle a été mené dans des villages du Chiapas au Mexique contre le vecteur local du paludisme *An. albimanus* (Penilla et al., 1998) mais les résultats ont été peu probants dans la mesure où la résistance aux pyréthrinoides faible au départ a augmenté dans tous les villages même si l'augmentation a été un peu plus forte dans les villages traités uniquement aux pyréthrinoides (IRAC).

5.1.4. Mise en place de zone(s) refuge(s)

La délimitation de zones non-traitées, dites « zones refuges », permet de préserver des individus sensibles aux insecticides à proximité directe des zones traitées. Ces individus, non soumis aux traitements insecticides, vont ainsi pouvoir réintroduire régulièrement des allèles sensibles, limitant ainsi l'émergence de résistance et préservant l'efficacité des insecticides. L'efficacité de ce type de mesure sera fortement influencée par la taille de la zone refuge, comparativement à la zone traitée, ainsi qu'à la capacité de dispersion des espèces d'arthropodes ciblées.

Cette stratégie n'est pas envisageable dans les cas de vecteurs de maladies pour des raisons éthiques dans la mesure où les populations des zones non traitées ne sont pas protégées de la transmission d'agents pathogènes. Dans les endroits où les moustiques ne sont pas vecteurs et où les traitements visent à limiter la nuisance, certains modèles

permettent de déterminer une zone de traitement optimale empêchant la sélection des gènes de résistance comme cela a été étudié dans le sud de la France (Lenormand et Raymond, 1998). Dans la pratique cette stratégie risque de se heurter au fait que d'autres pressions de sélection peuvent s'exercer en zone "non traitée", comme l'utilisation agricole ou domestique d'insecticides ou la présence de polluants qui peuvent sélectionner des mécanismes de détoxification, et réduire l'efficacité attendue.

5.2. Place de ces stratégies dans les différents contextes rencontrés en France

Les principales stratégies de gestion de la résistance reposent sur l'utilisation de plusieurs insecticides. Si celles-ci sont envisageables pour les traitements larvicides, pour lesquels plusieurs substances actives aux modes d'actions différents sont autorisées, le problème se pose pour les traitements adulticides, étant donné que seule la famille des pyréthrinoïdes peut être utilisée.

La possibilité de mettre en œuvre ces différentes stratégies de gestion de la résistance va dépendre de plusieurs facteurs (écologie des espèces cibles, panel d'insecticides à disposition, résistances croisées éventuelles...). Le choix de la stratégie doit également tenir compte de paramètres qui ne sont pas directement liés à la résistance des populations de vecteurs, mais qui peuvent conditionner la mise en place d'une ou plusieurs méthodes de lutte (contexte socio-économique, situation épidémiologique...).

Ainsi, il convient de définir la place de chacune de ces stratégies dans les différents contextes rencontrés en France. Le tableau IV propose des recommandations pour l'utilisation de larvicides et d'adulticides contre les moustiques vecteurs, en fonction du territoire concerné, du contexte épidémique et de l'espèce cible. Si certaines de ces recommandations ne correspondent pas aux stratégies de gestion citées précédemment, l'objectif n'en reste pas moins de limiter le risque d'apparition de résistance au sein des populations. Des méthodes de lutte sans utilisation d'insecticides sont également préconisées.

Compte tenu de la résistance d'*Aedes aegypti* aux pyréthrinoïdes dans les DFA et de l'absence d'alternatives à la deltaméthrine, la poursuite de son utilisation n'est justifiée que si une efficacité, même partielle, sur la densité vectorielle et/ou la transmission est avérée. Une évaluation de l'efficacité et de l'efficience des actions de lutte à l'aide de cette substance est par conséquent indispensable à toute prise de décision concernant le maintien ou non des traitements tels qu'ils sont pratiqués actuellement. Il est important de souligner que plusieurs techniques de pulvérisation adulticide existent. Aussi, cette évaluation doit être réalisée pour chaque modalité de traitement, leur efficacité pouvant être différente.

En cas d'abandon de cette substance, la seule alternative adulticide envisageable à ce jour est le recours à d'anciennes substances (organophosphorés par exemple), par régime dérogatoire tel que prévu par le règlement 528/2012. Néanmoins, une telle demande de dérogation nécessiterait d'être anticipée en amont de toute menace sanitaire qui la justifierait en associant notamment les décideurs locaux (en charge de la définition de la stratégie de lutte antivectorielle), l'Anses (en charge de la coordination de l'évaluation des produits biocides), le ministère chargé de l'environnement (autorité compétente française pour les produits biocides) et le ministère de la santé.

Enfin, ce constat rappelle qu'en matière de lutte contre ces vecteurs, le recours à une lutte intégrée est fondamentale : lutte larvicide, mobilisation de la population pour la destruction mécanique des gîtes et l'adoption de mesures de protection individuelle (cf. tableau 4).

Tableau 4. Stratégies de contrôle des vecteurs envisageables selon les territoires.

Vecteurs	lieux géographiques	Stratégies à privilégier			
		Larvicides	Adulticides	Autres méthodes	
<i>Aedes albopictus</i>	Mayotte	lutte de fond, traitement depuis la voie publique par nébulisation (pulvérisations spatiales) ou à domicile avec <i>Bti</i> ou <i>Bti+Bs</i> + traitement des gros gîtes / gîtes artificiels (fûts, citernes, gîtes liés au bâti...) avec du methoprène, pyriproxyfen et diflubenzuron en formulation longue durée. Mise en place d'une rotation de ces insecticides	utilisation de pyrèthre ou de deltaméthrine (seule ou en association avec de l'esbiothrine) en traitement spatial dans les deux cas de figure suivants et uniquement si une efficacité est avérée : (1) risque de circulation autochtone (traitement autour des cas) et (2) possibilité d'élimination d'une espèce invasive (extension de l'aire d'implantation d' <i>Ae albopictus</i> en métropole à distance de la zone colonisée ou introduction en territoire indemne) ET Distribution ciblée de MIILD ⁹ pour les nourrissons et les jeunes enfants, les femmes enceintes et les malades (y compris en milieu hospitalier).	destruction physique de tous les petits gîtes larvaires - éducation sanitaire et mobilisation communautaire en utilisant la radio, la télévision, les journaux, sensibilisation des enfants dans les écoles - utilisation de substances répulsives ¹⁰	
	La Réunion				
	France métropolitaine				
	Corse				
<i>Aedes aegypti</i>	Mayotte	lutte de fond, traitement depuis la voie publique par nébulisation (pulvérisations spatiales) ou à domicile avec <i>Bti</i> ou <i>Bti+Bs</i> + traitement des gros gîtes / gîtes artificiels (fûts, citernes, gîtes liés au bâti...) avec du methoprène, pyriproxyfen et diflubenzuron en formulation longue durée. Mise en place d'une rotation de ces insecticides	utilisation de pyrèthre ou de deltaméthrine (seule ou en association avec de l'esbiothrine) en traitement spatial dans les deux cas de figure suivants et uniquement si une efficacité est avérée : (1) risque de circulation autochtone (traitement autour des cas) et (2) possibilité d'élimination d'une espèce invasive (extension de l'aire d'implantation d' <i>Ae albopictus</i> en métropole à distance de la zone colonisée ou introduction en territoire indemne) ET Distribution ciblée de MIILD ⁹ pour les nourrissons et les jeunes enfants, les femmes enceintes et les malades (y compris en milieu hospitalier).	destruction physique de tous les petits gîtes larvaires - éducation sanitaire et mobilisation communautaire en utilisant la radio, la télévision, les journaux, sensibilisation des enfants dans les écoles - utilisation de substances répulsives ¹⁰	
	Martinique				
	Guadeloupe				
	Guyane				
<i>Anopheles gambiae</i>	Mayotte	Traitement des gîtes larvaires à l'intérieur et autour des villages et des villes avec <i>Bti+Bs</i>	distribution généralisée des MIILD	poissons larvivores dans les gîtes larvaires pérennes, destruction des gîtes larvaires lorsque ceci est possible, éducation sanitaire et mobilisation communautaire en utilisant la radio, la télévision, les journaux, sensibilisation des enfants dans les écoles - utilisation de substances répulsives	
<i>Anopheles funestus</i>					
<i>Anopheles darlingi</i>					Guyane
<i>Anopheles albimanus</i>					Martinique
<i>Anopheles labranchiae</i>					Corse
<i>Anopheles arabiensis</i>					Réunion
<i>Culex pipiens</i> <i>Cx. quinquefasciatus</i>	Mayotte	traitement des gîtes larvaires (caniveaux, puisards, latrines, regards...) avec du <i>Bti+Bs</i> , pyriproxyfen, méthoprène et diflubenzuron formulés en DT et SC	Mise à profit des MIILD destinées à la protection contre les anophèles. En fonction des contextes, un traitement spatial en cas d'épidémie peut être envisagé	Bien étanchéfier les fosses septiques, les regards et les puisards - éducation sanitaire et mobilisation communautaire en utilisant la radio, la télévision, les journaux, sensibilisation des enfants dans les écoles - utilisation de substances répulsives	
	Guyane				
	Martinique				
	Guadeloupe				
	Réunion				
	France métropolitaine				
	Corse				
<i>Culex modestus</i>	France métropolitaine	traitement des gîtes larvaires avec du <i>Bti</i> ou <i>Bti+Bs</i>	Un traitement spatial en cas d'épidémie peut être envisagé mais reste difficile à mettre en œuvre du fait des impacts potentiels.	contrôle des mises en eau lorsque possible	
	Corse				

⁹ MIILD : moustiquaire imprégnée d'insecticide à longue durée d'action

¹⁰ Voir les recommandations Protection Personnelle de la Société de Médecine des Voyages <http://www.medecine-voyages.fr/publications/ppavtextecourt.pdf>

6. Recommandations et axes de recherche à développer

La recherche et le suivi de la résistance constituent un préalable indispensable à la mise en place de tout programme de lutte contre des vecteurs faisant appel à l'utilisation de substances insecticides. Ce suivi implique un coût supplémentaire, à mettre en regard des bénéfices attendus en termes d'efficacité et de pérennité des programmes de lutte antivectorielle, d'anticipation et, par conséquent, des avantages attendus d'ordre sanitaire et économique à plus long terme.

La LAV ne représente qu'une partie de la pression insecticide exercée sur les populations d'arthropodes vecteurs. L'impact des traitements agricoles a été largement documenté, et l'usage domestique des insecticides peut également interférer avec la LAV voire en réduire l'efficacité. On peut également évoquer les traitements destinés à limiter la nuisance, qui peuvent viser les mêmes populations d'arthropodes mais avec des objectifs différents. Cette multiplicité des acteurs rend nécessaire la prise en compte d'une approche holistique de la résistance des vecteurs dans un cadre national et interministériel.

La mise en place d'un système de suivi de la résistance n'a cependant d'intérêt opérationnel que si les résultats obtenus débouchent sur la mise en place d'une stratégie de gestion de cette résistance et d'une adaptation des actions de lutte. Il est donc indispensable que les opérateurs puissent disposer d'un panel d'outils le plus large possible. La situation actuelle en Europe est à ce titre préoccupante : une seule famille autorisée pour les adulticides, et 4 molécules larvicides dont une seule recommandable en milieu naturel (*Bti*).

Partant de ce constat, des recommandations à l'attention des différents acteurs impliqués dans la LAV sont proposées, accompagnées de priorités identifiées en matière de recherche fondamentale ou appliquée.

Certaines de ces recommandations ont déjà été faites dans le cadre du travail de l'Anses relatif à la recherche de substituts insecticides utilisables en LAV.

6.1. Recommandations à l'attention des acteurs publics pour améliorer la gestion de la résistance

- Clarification de la question de la responsabilité du suivi de la résistance, en particulier en métropole

Selon la loi n° 64-1246 du 16 décembre 1964 relative à la lutte contre les moustiques, le suivi de la résistance des populations cibles aux insecticides utilisés en LAV est sous la responsabilité de l'Agence Régionale de Santé concernée, uniquement dans les départements où est constatée l'existence de conditions entraînant le développement de maladies humaines transmises par l'intermédiaire d'insectes (1° de l'article 1). Dans tous les autres cas de figure, et plus particulièrement en France continentale, aucun suivi de la résistance n'est demandé. Il convient donc de définir clairement la responsabilité du suivi de la résistance, notamment dans les départements métropolitains colonisés par *Ae. albopictus*.

- Intégration aux stratégies de contrôle de la mise en œuvre d'un programme de suivi de la sensibilité aux insecticides utilisés

Outre une clarification sur la responsabilité, les modalités du suivi de la résistance aux insecticides doivent être précisées pour chaque programme de lutte. Cela peut être intégré aux arrêtés préfectoraux encadrant la LAV, en s'appuyant sur toute l'expertise disponible, notamment par des collaborations avec les organismes de recherche.

- Soutien des pouvoirs publics aux industriels pour faciliter la mise à disposition de nouvelles substances. Partenariat public-privé à développer pour le développement de nouvelles substances actives

A ce jour, la mise sur le marché de produits biocides repose exclusivement sur les entreprises privées. Ces entreprises doivent principalement répondre à des enjeux économiques qui ne sont pas (toujours) compatibles avec des objectifs de santé publique. Un soutien des pouvoirs publics pour faciliter la mise sur le marché est donc nécessaire lorsque ces produits biocides sont destinés à lutter contre des vecteurs d'agents pathogènes.

Plusieurs initiatives réglementaires ou administratives récentes vont dans le bon sens (exonération des frais de dossiers pour les substances identifiées par l'Anses, partage des données des études sur animaux prévu par le règlement 528/2012).

Toutefois, il est possible d'aller plus loin, notamment en facilitant l'inscription de substances déjà évaluées pour un usage phytosanitaire ou en élargissant le partage des données des études sur animaux obtenues dans d'autres cadres réglementaires (REACH).

- Suivi d'indicateurs d'impact sur la faune non-cible en fonction des contextes d'intervention.

Le suivi des effets non intentionnels des produits ou associations de produits destinés à la lutte anti-vectorielle doit faire partie intégrante du programme de lutte, et être mis en place de manière simultanée au début des interventions. La priorité doit être donnée à l'identification des effets directs, en choisissant les organismes les plus vulnérables aux produits utilisés dans les milieux ciblés par les traitements : invertébrés aquatiques pour les traitements anti-larvaires, abeilles et arthropodes terrestres pour les traitements spatiaux adulticides. Pour ces différentes communautés d'invertébrés, les indicateurs actuellement validés contribuent à évaluer les atteintes potentielles à la biodiversité. Le contexte urbain / rural et la prise en compte d'effets indirects sur des groupes animaux autres que les invertébrés peut conduire à la mise en place de suivis spécifiques nécessitant le développement de méthodologies appropriées.

- Intégrer dès à présent au niveau opérationnel des substances larvicides alternatives au Bti (choix à définir selon les usages, cf. expertise Anses)

Même si plusieurs substances actives larvicides sont autorisées au niveau européen, dans les faits, les opérateurs publics de LAV utilisent quasi-exclusivement le *Bti*, en raison de sa sélectivité et de son faible impact sur la faune non-cible. Cependant, les autres substances, en particulier les IGR, pourraient être utilisées au niveau opérationnel, notamment dans les gîtes hors sol où la faune associée est plus réduite. Cela pourrait permettre d'éviter le non-dépôt de dossiers d'homologation par des industriels, faute de marché, comme pour l'exemple du spinosad évoqué précédemment.

- Limiter l'utilisation des pyréthriinoïdes

La famille des pyréthriinoïdes étant la seule autorisée actuellement au niveau européen pour les traitements adulticides, il est nécessaire de préserver la sensibilité des populations d'arthropodes cibles à cette famille d'insecticides, donc de réserver ce type de traitements aux seuls cas de circulation d'agents pathogènes.

- Evaluer l'efficacité des traitements à base de pyréthriinoïdes dans les territoires où les vecteurs sont résistants

L'absence d'alternative adulticide à la deltaméthrine nécessite de reconsidérer les pratiques actuelles de lutte contre *Aedes aegypti* à l'aide de cette substance lorsque l'espèce présente des niveaux de résistance susceptibles d'impacter l'efficacité des actions de lutte (Départements français d'Amérique en particulier). La mise en place d'actions d'évaluation de ces mesures de contrôle des vecteurs par pyréthriinoïdes est par conséquent urgente et indispensable afin de juger de leur pertinence.

La mise en évidence d'une absence d'efficacité des traitements adulticides sur la densité vectorielle et/ou la transmission ou d'une balance coût/efficacité défavorable devrait conduire à modifier toutes ou certaines des pratiques actuelles basées sur l'utilisation de la deltaméthrine, voire à arrêter les modalités de traitement jugées inefficaces.

- Intégrer les tests sur souches de référence résistantes dans le cadre du dispositif d'évaluation des produits biocides

Comme évoqué précédemment, peu de molécules sont utilisables actuellement, avec pour certaines populations d'arthropodes vecteurs des niveaux de résistance élevés. La mise sur le marché d'une nouvelle substance sera donc d'autant plus intéressante que celle-ci présente un mode d'action différent des molécules déjà autorisées, limitant ainsi le risque de résistance croisée. Il conviendrait donc d'intégrer des tests sur souches résistantes lors de l'évaluation des substances biocides.

- Evaluation de la sensibilité des espèces non-cibles aux biocides de substitution et évaluation de la vulnérabilité des communautés d'invertébrés non-cibles

L'utilisation conjointe des données d'écotoxicité sur espèces standards (i.e, disponibles dans les dossiers d'autorisation de mise sur le marché) et sur espèces résidentes (i.e, présentes dans les milieux ciblés pour les interventions de démoustication, selon les recommandations d'*ASTM International*), devrait permettre d'estimer, *a priori*, la vulnérabilité d'une communauté d'invertébrés non-cibles en place aux produits ou associations de produits destinés à la lutte anti-vectorielle. De cette manière, avant qu'ils aient été utilisés sur le terrain, les produits les plus à risque pourraient être écartés au profit de ceux dont le profil d'écotoxicité est plus favorable.

- Tester les différentes molécules identifiées lors de l'expertise Anses (cf. tableau 2)

L'expertise Anses a permis d'identifier plusieurs candidats insecticides qui pourraient être intégrés à moyen terme à l'arsenal des produits utilisables en LAV. Un tel inventaire constitue une étape primordiale. Il convient désormais de continuer cette démarche et de tester les différentes molécules identifiées afin de préciser celles qui pourraient constituer les meilleures options au niveau opérationnel.

- Mettre en place une veille sur les phénomènes de résistance aux insecticides des principaux vecteurs ciblés par la LAV : création d'un observatoire de la résistance

La résistance aux insecticides est un phénomène évolutif et dynamique. En ce sens, il serait utile de disposer d'une veille concernant notamment la résistance aux insecticides des principaux vecteurs d'agents pathogènes afin d'anticiper l'apparition de ces résistances de manière globale et de contribuer à l'ajustement des mesures de gestion. A cet effet, un observatoire dédié à la résistance des vecteurs aux insecticides pourrait être mis en place. Cet observatoire aurait pour mission de collecter les données existantes, de les organiser au sein d'une base de données, de suivre l'évolution de ce phénomène tout en facilitant le partage de l'information.

6.2. Identification de questions prioritaires de recherche à encourager

a. Recherche fondamentale et appliquée (secteurs public et privé)

- Réévaluation des résistances croisées à différentes familles d'insecticides

Les phénomènes de résistance croisée sont bien connus pour les mutations de cibles et relativement prévisibles selon le mode d'action des insecticides. D'autres mécanismes moins spécifiques comme la résistance cuticulaire, la séquestration ou la résistance métabolique peuvent être responsables de résistance à plusieurs molécules de la même famille ou de familles différentes. Ces recherches viseront à déterminer si les mécanismes présents dans des populations naturelles multi-résistantes peuvent conduire à des résistances significatives aux nouvelles molécules/familles utilisables à terme en santé publique et à caractériser la nature des gènes impliqués.

- Développer des associations d'insecticides à mode d'action différents (mélanges, mosaïques, micro-mosaïque) avec recherche de synergismes potentiels. et évaluation de l'impact de leur utilisation sur la sélection des gènes de résistance (tests au laboratoire et sur le terrain à échelle réduite)

Plusieurs associations d'insecticides se sont révélées efficaces sur les moustiques que ce soit en tant que larvicides ou adulticides. L'intérêt des associations est de pouvoir réduire les doses d'applications ou d'augmenter la rémanence des traitements en cas de synergie, voire pour les populations résistantes de restaurer l'efficacité des traitements. Ces recherches demandent à être poursuivies afin de tester d'autres combinaisons et surtout leur potentiel en tant qu'outil de gestion de la résistance.

- Etude des facteurs environnementaux, en particulier le lien entre pollution et résistance métabolique, ainsi que l'impact des autres usages des insecticides (agriculture, usage domestique)

Dans de nombreux cas la sélection de la résistance dans les populations d'arthropodes vecteurs n'est pas le seul fait de leur utilisation en santé publique et vétérinaire mais de pressions sélectives externes liées à d'autres activités humaines (agriculture, usages domestiques). La compréhension des différents facteurs environnementaux susceptibles d'influer sur la réponse adaptative des populations d'insectes est un préalable à la mise en place de stratégies de gestion de la résistance. Elle permet aussi de déterminer dans quelle mesure l'utilisation d'insecticides en santé publique et vétérinaire peut avoir un impact sur la résistance engendrée par des pressions sélectives dont certaines ne sont pas liées à ces opérations

- Concernant plus particulièrement le Bti, étude plus approfondie du rôle et de l'action de chaque toxine, anticipation des mécanismes de résistance

Bien qu'aucune étude n'ait confirmé le développement d'une résistance au *Bti* dans les populations naturelles, son utilisation quasi-exclusive comme larvicide contre les moustiques en France nécessite de mener en amont des recherches sur les mécanismes potentiels de résistance à cet insecticide. Le développement de résistance aux toxines individuelles est possible au laboratoire. La caractérisation des mécanismes impliqués et l'étude fine du mode

d'action de chaque toxine permettrait de savoir si la résistance à l'ensemble des toxines est possible ou au contraire d'expliquer pourquoi elle ne peut se produire dans la nature.

- Développement de tests rapides pour la caractérisation des mécanismes de résistance

La caractérisation des mécanismes de résistance reste encore une activité réservée à un nombre limité de laboratoires de recherches notamment pour les mécanismes de résistance métabolique pour lesquels ils n'existent pas de marqueurs moléculaires fiables. Le développement de tests rapides permettrait un meilleur suivi de la résistance dans les populations cibles pour anticiper les échecs de traitements ou valider l'efficacité de stratégies de gestion de la résistance.

b. Recherche en partenariat avec les opérateurs

- Evaluation économique du coût (et des bénéfices à long terme) de la gestion de la résistance

La mise en place de stratégies de gestion de la résistance induit un surcoût des opérations de lutte qui dépend des méthodes de lutte utilisées et des insecticides choisis comme alternatives. Des simulations économiques en fonction de différents scénarios de traitements pourraient permettre d'anticiper les conséquences de ce coût pour les opérateurs. Par ailleurs des bénéfices à plus ou moins long terme pourront aussi être estimés sur la base de l'amélioration attendue en termes d'efficacité épidémiologique des traitements.

- Elevage et maintien de souches de référence (sensibles et résistantes) pour chaque espèce d'arthropode visée par la LAV.

La résistance d'une population naturelle est définie par rapport à la réponse à l'insecticide d'individus sensibles appartenant à la même espèce. Il est donc nécessaire de pouvoir assurer le maintien en insectarium de souches sensibles de référence des espèces visées par la LAV. Ces souches sensibles servent aussi à déterminer l'efficacité intrinsèque de nouveaux insecticides et à contrôler que des formulations insecticides sont biologiquement actives ou non. Ces souches doivent être maintenues en continu sur plusieurs dizaines d'années et sont d'autant plus précieuses que pour certaines espèces ils n'existent plus sur le terrain de populations naturelles sensibles.

- Etude des relations entre niveaux de résistances et impacts opérationnels afin d'affiner les seuils d'alerte.

L'une des difficultés majeures que pose la résistance aux insecticides est de savoir quel impact opérationnel celle-ci peut avoir sur l'efficacité d'une méthode de lutte. Cette question est d'autant plus cruciale que même en l'absence de résistance il existe peu d'indicateurs fiables de l'efficacité d'une méthode de lutte. Des recherches doivent donc être menées afin d'évaluer l'impact opérationnel de la résistance en fonction du niveau de résistance des populations cibles, des mécanismes impliqués, de la bio-écologie du vecteur et des méthodes de lutte utilisées.

7. Références

Textes réglementaires cités

[Règlement \(UE\) n°528/2012 du parlement européen et du conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides](#)

[Directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides \(abrogée\).](#)

[Arrêté du 9 octobre 2013 relatif aux conditions d'exercice de l'activité d'utilisateur professionnel et de distributeur de certains types de produits biocides](#)

Bibliographie

Alout H, Djogbénu L, Berticat C, Chandre F, & Weill M. (2008). Comparison of *Anopheles gambiae* and *Culex pipiens* acetylcholinesterase 1 biochemical properties. *Comp Biochem Phys B*, 150(3), 271–277.

Alout H, Labbé P, Pasteur N, & Weill M. (2010). High incidence of *ace-1* duplicated haplotypes in resistant *Culex pipiens* mosquitoes from Algeria. *Insect Biochem Molec*, 41(1), 29–35.

Anses. (2013). Hiérarchisation des insecticides potentiellement utilisables en lutte antivectorielle (LAV). Avis de l'Anses et Rapport d'expertise collective. Juin 2013. Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Edition scientifique.

Antonio-Nkondjio C, Fossog BT, Ndo C, Djantio BM, Togouet SZ, Awono-Ambene P, Costantini C, Wondji CS, Ranson H. (2011). *Anopheles gambiae* distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): influence of urban agriculture and pollution. *Malaria J*. 10:154.

Barre N, Garris G, Aprelon R (1993). Acaricides for eradication of the tick *Amblyomma variegatum* in the Caribbean. *Rev Elev Med Vet Pays Trop*. 46(1-2):349-54.

Barré N (1997). Les tiques des ruminants dans les Petites Antilles : biologie, importance économique, principes de lutte. *INRA Prod. Anim*. 10(1):111-119

Berticat C, Bonnet J, Duchon S, Agnew P, Weill M, & Corbel V. (2008). Costs and benefits of multiple resistance to insecticides for *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. *BMC Evol Biol*, 8.

Berticat C, Boquien G, Raymond M, & Chevillon C. (2002). Insecticide resistance genes induce a mating competition cost in *Culex pipiens* mosquitoes. *Genet Res*, 79, 41–47.

Berticat C, Duron O, Heyse D, & Raymond M. (2004). Insecticide resistance genes confer a predation cost on mosquitoes, *Culex pipiens*. *Genet res*, 83(3), 189–196. doi:10.1017/S0016672304006792

Bigoga JD, Ndangoh DN, Awono-Ambene PH, Patchoke S, Fondjo E, Leke RG. (2012). Pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* from the rubber cultivated area of Niéte, South Region of Cameroon. *Acta Trop*. 124: 210-214.

Bill and Melinda Gates Foundation and Boston Consulting Group. (2007). Report: Market Assessment for Public Health Pesticide Products..

Bisset J, Rodríguez MM, Fernández D. Selection of insensitive acetylcholinesterase as a resistance mechanism in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Santiago de Cuba. *J Med Entomol.* 2006 Nov;43(6):1185-9.

Bisset JA, Rodriguez MM, Hemingway J, Diaz C, Small GJ, Ortiz E (1991). Malathion and pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* from Cuba: efficacy of pirimiphos-methyl in the presence of at least three resistance mechanisms. *Med Vet Entomol.* 5(2):223-8.

Bisset JA, Rodríguez MM, Ricardo Y, Ranson H, Pérez O, Moya M, Vázquez A (2011). Temephos resistance and esterase activity in the mosquito *Aedes aegypti* in Havana, Cuba increased dramatically between 2006 and 2008. *Med Vet Entomol.* 25(3):233-9.

Bourguet D, Guillemaud T, Chevillon C, & Raymond M (2004). Fitness costs of insecticide resistance in natural breeding sites of the mosquito *Culex pipiens*. *Evolution*, 58(1), 128–35.

Bourguet D, Roig A, Toutant JP, & Arpagaus M (1997). Analysis of molecular forms and pharmacological properties of acetylcholinesterase in several mosquito species. *Neurochem Int*, 31(1), 65–72.

Bouvresse S, Berdjane Z, Durand R, Bouscaillou J, Izri A, Chosidow O (2012). Permethrin and malathion resistance in head lice: Results of ex vivo and molecular assays. *J Am Acad Dermatol.* 67(6):1143-50.

Bracco JE, Barata JM, Marinotti O (1999). Evaluation of insecticide resistance and biochemical mechanisms in a population of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 94(1):115-20.

Braga IA, Lima JB, Soares Sda S, Valle D (2004). *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 99(2):199-203.

Bregues C, Hawkes NJ, Chandre F, Mccarroll L, Duchon S, Guillet P, Hemingway J (2003). Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Med Vet Entomol*, 17(1), 87–94.

Brogdon WG, & McAllister JC (1998). Insecticide resistance and vector control. *Emerg Infect Dis*, 4, 605–613.

Brogdon WG, Barber AM (1990). Fenitrothion-deltamethrin cross-resistance conferred by esterases in Guatemalan *Anopheles albimanus*. *Pest Biochem Physiol.* 37:130–39

Brogdon WG, McAllister JC, Corwin AM (1999). Independent selection of multiple mechanisms for pyrethroid resistance in Guatemalan *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *J Eco. Entomol.* 92:298–302

Brown AWA, Pal R (1971). Insecticide resistance in arthropods. *World Health Organization Monograph Series* n°38. Geneva. 491 pp.

Brown AWA (1986). Insecticide Resistance Mosquitoes: A Pragmatic Review. *J Am Mosq Control Assoc.* 2:123–140.

Campaign for Fighting Diseases. (2009). The EU's Nasty Bite How the EU's new pesticide regulations will harm the fight against malaria. *Campaign for Fighting Diseases discussion paper no. 5.* International Policy Press. 12 p.

Caquet T, Roucaute M, Le Goff P, Lagadic L (2011). Effects of repeated field applications of two formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target saltmarsh invertebrates in Atlantic coastal wetlands. *Ecotoxicol Environ Saf.* 74(5):1122-30.

Casimiro S, Coleman M, Hemingway J, Sharp B (2006). Insecticide resistance in *Anopheles arabiensis* and *Anopheles gambiae* from Mozambique. *J Med Entomol.* 43(2):276-82.

Chalegre KD, Romão TP, Amorim LB, Anastacio DB, de Barros RA, de Oliveira CM, Regis L, de-Melo-Neto OP, Silva-Filha MH (2009). Detection of an allele conferring resistance to *Bacillus sphaericus* binary toxin in *Culex quinquefasciatus* populations by molecular screening. *Appl Environ Microbiol.* 75(4):1044-9

Chandre F, Darriet F, Manguin S, Brengues C, Carnevale P, & Guillet P (1999). Pyrethroid cross resistance spectrum among populations of *Anopheles gambiae* s.s. from Cote d'Ivoire. *J Am Mosq Control Assoc*, 15(1), 53–59.

Chevillon C, Bernard C, Marquine M, Pasteur N (2001). Resistance to *Bacillus sphaericus* in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): interaction between recessive mutants and evolution in southern France. *J Med Entomol.* 38(5):657-64.

Chiu TL, Wen Z, Rupasinghe SG, & Schuler MA (2008). Comparative molecular modeling of *Anopheles gambiae* CYP6Z1, a mosquito P450 capable of metabolizing DDT. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(26), 8855–8860. doi:10.1073/pnas.0709249105

Chosidow O, Chastang C, Brue C, Bouvet E, Izri M, Monteny N, Bastuji-Garin S, Rousset JJ, Revuz J (1994). Controlled study of malathion and d-phenothrin lotions for *Pediculus humanus* var *capitis*-infested schoolchildren. *Lancet.* 344:1724-7.

Chosidow O, Giraudeau B, Cottrell J, Izri A, Hofmann R, Mann SG, Burgess I (2010). Oral ivermectin versus malathion lotion for difficult-to-treat head lice. *N Engl J Med.* 11;362(10):896-905.

Chouaïbou M, Etang J, Brévault T, Nwane P, Hinzoumbé CK, Mimpfoundi R, Simard F. (2008). Dynamics of insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae* s.l. from an area of extensive cotton cultivation in Northern Cameroon. *Trop Med Int Health.* 13(4): 476-486.

CNEV. (2011). Avis relatif aux « Stratégies et méthodes de lutte optimales contre *Hyleisia metabus*, agent de la papillonite en Guyane Française ».

Commission des Affaires Européennes. (2010). Rapport d'information n°2497 sur la proposition de règlement sur les biocides (E 4532). Assemblée nationale.

Corbel V, Akogbeto M, Damien GB, Djenontin A, Chandre F, Rogier C, Moiroux N, Chabi J, Banganna B, Padonou GG, Henry MC (2012). Combination of malaria vector control interventions in pyrethroid resistance area in Benin: a cluster randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* 12: 617-626.

Coto MM, Lazcano JA, de Fernández DM, Soca A (2000). Malathion resistance in *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* after its use in *Aedes aegypti* control programs. *J Am Mosq Control Assoc.* 16(4):324-30.

Coz J, Combescot-Lang C, Verdier V (1993). Résistance du pou de tête *Pediculus capitis* L. 1758 aux Pyréthrinoides: D-Phénothrine et Perméthrine en France. *Bul. Soc Fr Parasitol.* 11(2):245-252

Coz J, Hamon J, Mouchet J (1965). Importance pratique de la résistance aux insecticides chez les anophèles. In Parasitologie. *Cahiers ORSTOM. Série Entomologie Médicale et Parasitologie.* p. 127-135.

Darriet F & Chandre F. (2013) . Efficacy of six neonicotinoid insecticides alone and in combination with deltamethrin and piperonyl butoxide against pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag Sci* 69: 905-910.

Darriet F, R N'Guessan, AA Koffi, L Konan, JMC Doannio, F Chandre, P Carnevale. (2000). Impact de la resistance aux pyrethrinoides sur l'efficacite des moustiquaires impregnees dans la prevention du paludisme: resultats des essais en cases experimentales avec la deltamethrine SC. *Bull Soc Pathol Exot* 93: 131-134.

Darriet F, Marcombe S, Etienne M, Yebakima A, Agnew P, Yp-Tcha MM & Corbel V (2010). Field evaluation of pyriproxyfen and spinosad mixture for the control of insecticide resistant *Aedes aegypti* in Martinique (French West Indies). *Parasit Vectors* 3: 88.

Davies TG, Field LM, Williamson MS (2012). The re-emergence of the bed bug as a nuisance pest: implications of resistance to the pyrethroid insecticides. *Med Vet Entomol.* 26(3):241-54.

De Zulueta J (1959). Insecticide resistance in *Anopheles sacharovi*. *Bull World Health Organ.* 20(5): 797–822.

Diabate A, Baldet T, Chandre F, Akogbeto M, Guiguemde TR, Darriet F, Brengues C, Guillet P, Hemingway J, Small G, Hougard JM (2002). The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae* s/l in Burkina Faso. *Am J Trop Med Hyg*, 67 (6): 617-622.

Djenontin, A, Chabi J, Baldet T, Irish S, Pennetier C, Hougard JM, Corbel V, Akogbeto M & Chandre F. (2009). Managing insecticide resistance in malaria vectors by combining carbamate-treated plastic wall sheeting and pyrethroid-treated bed nets. *Malar J* 8: 233.

Djogbénou L, Labbé P, Chandre F, Pasteur N, & Weill M (2009). *Ace-I* duplication in *Anopheles gambiae*: a challenge for malaria control. *Malaria J*, 8, 70. doi:10.1186/1475-2875-8-70

Drali R, Benkouiten S, Badiaga S, Bitam I, Rolain JM, Brouqui P (2012). Detection of a knockdown resistance mutation associated with permethrin resistance in the body louse *Pediculus humanus corporis* by use of melting curve analysis genotyping. *J Clin Microbiol.* 50(7):2229-33.

Drummond RO, Ernst SE, Trevino JL, Gladney WJ, Graham OH. (1973). *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: Laboratory Tests of Insecticides. *J Econ Entomol*, 66(1), 130-133.

Durand R, Cannet A, Berdjane Z, Bruel C, Haouchine D, Delaunay P, Izri A (2012). Infestation by pyrethroids resistant bed bugs in the suburb of Paris, France. *Parasite.* 19(4):381-7.

Durand R, Millard B, Bouges-Michel C, Bruel C, Bouvresse S, Izri A (2007). Detection of pyrethroid resistance gene in head lice in schoolchildren from Bobigny, France. *J Med Entomol.* 44(5):796-8.

Duron O, Labbé P, Berticat C, Rousset F, Guillot S, Raymond M, & Weill M (2006). High *Wolbachia* density correlates with cost of infection for insecticide resistant *Culex pipiens* mosquitoes. *Evolution*, 60(2), 303–14

Dusfour I, Thalmensy V, Gaborit P, Issaly J, Carinci R, Girod R. Multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations compromises the effectiveness of dengue vector control in French Guiana. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011 May;106(3):346-52.

el Gaddal AA, Haridi AA, Hassan FT, Hussein H (1985). Malaria control in the Gezira-Managil Irrigated Scheme of the Sudan. *J Trop Med Hyg.* 88(2):153-159.

Etang J, Vicente JL, Nwane P, Chouaibou M, Morlais I, do Rosario, VE (2009). Polymorphism of intron-1 in the voltage-gated sodium channel gene of *Anopheles gambiae* s.s. populations from Cameroon with emphasis on insecticide knockdown resistance mutations. *Mol Ecol*, 18(14), 3076–3086.

Fane M, Cissé O, Traore CS, Sabatier P (2011). *Anopheles gambiae* resistance to pyrethroid-treated nets in cotton versus rice areas in Mali. *Acta Trop.* 122(1): 1-6.

FAO. (2004). Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants. Animal Production and Health Division, Agriculture Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

Feyereisen R (2011). Arthropod CYPomes illustrate the tempo and mode in P450 evolution. *Biochim Biophys Acta*, 1814(1), 19–28.

Ffrench-Constant RH, Anthony N, Aronstein K, Rocheleau T, Stilwell G, & Richard H (2000). Cyclodiene Insecticide Resistance: From Molecular to Population Genetics. *Annu Rev Entomol*, 45(1), 449–466.

Ffrench-Constant RH, Daborn PJ & Le Goff, G (2004). The genetics and genomics of insecticide resistance. *Trends Genet*, 20(3), 163–170

Floch H (1954). Quelques remarques au sujet des « résistances » de divers insectes (notamment *Anopheles darlingi*) au D. D. T. et autres insecticides. *Bull Soc pathol exot.* 47:555-560.

Fonseca-González I, Cárdenas R, Quiñones ML, McAllister J, Brogdon WG (2009b). Pyrethroid and organophosphates resistance in *Anopheles* (N.) *nuneztovari* Gabaldón populations from malaria endemic areas in Colombia. *Parasitol Res.* 105(5):1399-409.

Fonseca-González I, Quiñones ML, Lenhart A, Brogdon WG (2011). Insecticide resistance status of *Aedes aegypti* (L.) from Colombia. *Pest Manag Sci.* 67(4):430-7.

Fonseca-González I, Quiñones ML, McAllister J, Brogdon WG (2009a). Mixed-function oxidases and esterases associated with cross-resistance between DDT and lambda-cyhalothrin in *Anopheles darlingi* Root 1926 populations from Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104(1):18-26.

Garris GI, Barré N (1990). Acaricide susceptibility of *Amblyomma variegatum* (Acari : Ixodidae) from Puerto Rico and Guadeloupe. *Exp. Appl. Acarol.*1991;12:171-179.

Georghiou GP & Lagunes-Tejeda A (1991). *The occurrence of resistance to pesticides in arthropods* (p. 318). Rome: Food and Agriculture Organization.

Georghiou GP, & Wirth MC (1997). Influence of Exposure to Single versus Multiple Toxins of *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* on Development of Resistance in the Mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Appl Environ Microb*, 63(3), 1095–1101.

Georghiou GP, Ariaratnam V, Pasternak ME, Lin CS (1975). Organophosphorus multiresistance in *Culex pipiens quinquefasciatus* in California. *J Econ Entomol.* 68(4):461-7.

Georghiou GP, Wirth M, Tran H, Saume F, Knudsen AB (1987). Potential for organophosphate resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Caribbean area and neighboring countries. *J Med Entomol.* 24(3):290-4.

Gordon JR, Ottea J. Association of esterases with insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J Econ Entomol*. 2012 Jun;105(3):971-8.

Griffitts JS, Whitacre JL, Stevens DE, & Aroian RV (2001). Bt toxin resistance from loss of a putative carbohydrate-modifying enzyme. *Science*, (293(5531), 860–4.

Guerrero FD, Lovis L, Martins JR (2012). Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2012 21(1):1-6.

Guillet, P, N'Guessan R, Darriet F, Traore-Lamizana M, Chandre F & Carnevale P. (2001). Combined pyrethroid and carbamate 'two-in-one' treated mosquito nets: field efficacy against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*. *Med Vet Entomol* 15: 105-112.

Hamon J, Grjebine A, Coz J, Klein JM, Michel R (1959). Observations sur le niveau de sensibilité aux insecticides de quelques moustiques du littoral méditerranéen. Présence d'une souche de *Culex pipiens* L. résistance au dieldrin. *Bull Soc Path exot*. 52:199-208.

Hardstone MC & Scott JG (2009). A review of the interactions between multiple insecticide resistance loci. *Pesticide Biochem Physiol*, doi:10.101(2), 123–128.

Henry MC, SB Assi, C Rogier, J Dossou-Yovo, F Chandre, P Guillet, P. Carnevale. (2005). Protective Efficacy of Lambda-Cyhalothrin Treated Nets in *Anopheles Gambiae* Pyrethroid Resistance Areas of Cote D'ivoire. *Am J Trop Med Hyg* 73: 859-864.

Hollingworth RM & Dong K (2008). The biochemical and molecular genetic basis of resistance in arthropods. In M. E. Whalon, D. Mota-Sanchez, & R. M. Hollingworth (Eds.), (p. 192). Cambridge, MA: CAB International.

Hougard JM, Corbel V, N' guessan R, Darriet F, Chandre F, Akogbeto M, Baldet T, Guillet P, Carnevale P & Traore-Lamizana M (2003). Efficacy of mosquito nets treated with insecticide mixtures or mosaics against insecticide resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Côte d'Ivoire. *Bull Entomol Res* 93: 491-498.

Huchard E, Martinez M, Alout H, Douzery EJP, Lutfalla G, Berthomieu A, Weill M (2006). Acetylcholinesterase genes within the Diptera: takeover and loss in true flies. *Proc Biol sci*, 273(1601), 2595–604.

Izri MA, Brière C (1995). Premiers cas de résistance de *Pediculus capitis* Linné 1758 au malathion en France. *La Presse Med*, 24(31):1444

Jones CM, Toé HK, Sanou A, Namountougou M, Hughes A, Diabaté A, Dabiré R, Simard F, Ranson H (2012). Additional selection for insecticide resistance in urban malaria vectors: DDT resistance in *Anopheles arabiensis* from Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. *PLoS One*. 7(9):e45995.

Kamau L, Vulule JM (2006). Status of insecticide susceptibility in *Anopheles arabiensis* from Mwea rice irrigation scheme, Central Kenya. *Malaria J*. 5: 46.

Khan HA, Akram W, Shehzad K, Shaalan EA (2011). First report of field evolved resistance to agrochemicals in dengue mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), from Pakistan. *Parasit. Vectors*. 4:146.

Klafke GM, Sabatini GA, de Albuquerque TA, Martins JR, Kemp DH, Miller RJ, Schumaker TT (2006). Larval immersion tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from State of Sao Paulo, Brazil. *Vet parasitol*, 142(3), 386-390.

Kolaczinski JH, Fanello C, Hervé JP, Conway DJ, Carnevale P & Curtis CF (2000). Experimental and molecular genetic analysis of the impact of pyrethroid and non-pyrethroid insecticide impregnated bednets for mosquito control in an area of pyrethroid resistance. *Bull Entomol Res*, 90(02), 125–132.

Labbé P, Berthomieu A, Berticat C, Alout H, Raymond M, Lenormand T, & Weill M (2007). Independent duplications of the acetylcholinesterase gene conferring insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*. *Mol Biol Evol*, 24(4), 1056–1067. doi:10.1093/molbev/msm025

Labbé P, Berticat C, Berthomieu A, Unal S, Bernard C, Weill M, Lenormand T (2007). Forty Years of Erratic Insecticide Resistance Evolution in the Mosquito *Culex pipiens*. *PLoS Genet*. 3(11): e205.

Labbé P, Sidos N, Raymond M, Lenormand T (2009). Resistance Gene Replacement in the Mosquito *Culex pipiens*: Fitness Estimation From Long-Term Cline Series. *Genetics*. 182(1):303-312.

Lagadic L, Roucaute M, Caquet T (2013). *Bti* sprays do not adversely affect non-target aquatic invertebrates in French Atlantic coastal wetlands. *J Appl Ecol*. Epub 2013 Sept 20.

Lawler SP, Dritz DA & Jensen T (2000). Effects of sustained-release methoprene and a combined formulation of liquid methoprene and *Bacillus thuringiensis israelensis* on insects in salt marshes. *Arch Environ Contam Toxicol* 39: 177-182.

Lenormand T & Raymond M (1998). Resistance management: the stable zone strategy. *Proc R Soc Lond B* 265: 1985-1990.

Lenormand T, Bourguet D, Guillemaud T & Raymond M (1999). Tracking the evolution of insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*. *Nature*, 400, 861–864.

Lenormand T, Guillemaud T, Bourguet D & Raymond M (1998). Appearance and sweep of a gene duplication: adaptive response and potential for new functions in the mosquito *Culex pipiens*. *Evolution*, 52(6), 1705–1712.

Leveque C, Hougard JM. (2003), Trente ans de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. Traitements larvicides et protection de l'environnement IRD Editions, ISBN : 2-7099-1523-5

Lima EP, Paiva MH, de Araújo AP, da Silva EV, da Silva UM, de Oliveira LN, Santana AE, Barbosa CN, de Paiva Neto CC, Goulart MO, Wilding CS, Ayres CF, de Melo Santos MA (2011). Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasit Vectors*. 12;4:5.

Louis L, Perret JL, Bouvier J, Fellay JM, Kaminsky R, Betschart B, Sager H (2011). A new *in vitro* test to evaluate the resistance level against acaricides of the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Vet Parasitol*, 182(2), 269-280.

Lumjuan N, McCarroll L, Prapanthadara L, Hemingway J & Ranson H (2005). Elevated activity of an Epsilon class glutathione transferase confers DDT resistance in the dengue vector, *Aedes aegypti*. *Insect Biochem Molec*, 35(8), 861–871.

Macoris Mde L, Andrighetti MT, Takaku L, Glasser CM, Garbeloto VC, Bracco JE (2003). Resistance of *Aedes aegypti* from the state of São Paulo, Brazil, to organophosphates insecticides. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 98(5):703-8.

Mahara, R, Mthembu DJ & Sharp BL (2005). Impact of DDT re-introduction on malaria transmission in KwaZulu-Natal. *S Afr Med J* 95: 871-874.

MalERA Consultative Group on Vector Control (2011). A research agenda for malaria eradication: vector control. *PLoS Med.* 25;8(1)

Marcombe S, Darriet F, Agnew P, Etienne M, Yp-Tcha MM, Yébakima A, Corbel V (2011). Field efficacy of new larvicide products for control of multi-resistant *Aedes aegypti* populations in Martinique (French West Indies). *Am J Trop Med Hyg.* 84(1):118-26.

Marcombe S, Darriet F, Tolosa M, Agnew P, Duchon S, Etienne M, Yébakima A (2011). Pyrethroid resistance reduces the efficacy of space sprays for dengue control on the island of Martinique (Caribbean). *PLoS Neglect Trop D,* 5(6),

Marcombe S, Mathieu RB, Pocquet N, Riaz MA, Poupardin R, Sélior S, Darriet F, Reynaud S, Yébakima A, Corbel V, David JP, Chandre F (2012). Insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* from Martinique: distribution, mechanisms and relations with environmental factors. *PLoS One.* 7(2).

Matambo TS, Abdalla H, Brooke BD, Koekemoer LL, Mnzava A, Hunt RH, Coetzee M (2007). Insecticide resistance in the malarial mosquito *Anopheles arabiensis* and association with the kdr mutation. *Med Vet Entomol.* 21(1):97-102.

McCarroll L & Hemingway J (2002). Can insecticide resistance status affect parasite transmission in mosquitoes? *Insect Biochem Molec,* 32(10), 1345–1351.

McCarroll L, Paton MG, Karunaratne SHPP, Jayasuryia HTR, Kalpage KSP & Hemingway J (2000). Insecticides and mosquito-borne disease. *Nature,* 407(6807), 961–962.

McLaughlin LA, Niazi U, Bibby J, David JP, Vontas J, Hemingway J, Paine MJI (2008). Characterization of inhibitors and substrates of *Anopheles gambiae* CYP6Z2. *Insect Mol Biol,* 17(2), 125–135.

Melander A (1914). Can insects become resistant to sprays? *J Econ Entomol,* 7, 167–172.

Miller MW, Tren R (2012). Implications of public-health insecticide resistance and replacement costs for malaria control: challenges and policy options for endemic countries and donors. *Res Rep Trop Med.* 3:1–19.

Miller RJ, George JE, Guerrero F, Carpenter L, Welch JB (2001). Characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (latreille) (Acari: Ixodidae) collected from the Corozal Army Veterinary Quarantine Center, Panama. *J Med Entomol.* 38(2):298-302.

Mittal PK (2003). Biolarvicides in vector control: challenges and prospects. *J Vector Dis,* 40, 20–32.

Molina D, Figueroa LE (2009). Metabolic resistance to organophosphate insecticides in *Anopheles aquasalis* Curry 1932, Libertador municipality, Sucre State, Venezuela. *Biomedica.* 29(4): 604-615.

Morel PC (1967). Etude sur les tiques du bétail en Guadeloupe et Martinique. 3. Resistance de la tique *Boophilus microplus* contre le gammexane aux Antilles françaises. *Rev Elev Med Vet Pays Trop.* 20(3):451-6.

Mouatcho JC, Munhenga G, Hargreaves K, Brooke BD, Coetzee M, Koekemoer LL (2009). Pyrethroid resistance in a major African malaria vector *Anopheles arabiensis* from Mamfene, northern KwaZulu-Natal, South Africa. *S Afr J Sci*. 105:127-131.

Mouchet J, Brengues J (1990). Les interfaces agriculture-santé dans les domaines de l'épidémiologie des maladies à vecteurs et de la lutte antivectorielle. *Bull Soc Path Ex*, 83 : 376-393

Muller P, Warr E, Stevenson BJ, Pignatelli PM, Morgan JC, Steven A, Donnelly MJ (2008). Field-caught permethrin-resistant *Anopheles gambiae* overexpress CYP6P3, a P450 that metabolises pyrethroids. *PLoS Genet*, 4(11)

N'Guessan R, Corbel V, Akogbéto MC & Rowland MW (2007). Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin. *Emerg Infect Dis*, 13(2), 199–206.

Nauen R (2007). Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. *Pest Manag Sci*, 63(7), 628–633.

Nicoli RM, Sautet J (1955). Rapport sur la fréquence et la sensibilité aux insecticides de *Pediculus h. humanus* K. Linnaeus, 1758 (Anoplura) dans le sud-est de la France. Monographie de l'Institut national d'Hygiène n°8. Paris.

Nielsen-Leroux C, Pasquier F, Charles JF, Sinègre G, Gaven B, Pasteur N (1997). Resistance to *Bacillus sphaericus* involves different mechanisms in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) larvae. *J Med Entomol*. 34(3):321-7.

Nielsen-Leroux C, Pasteur N, Prêtre J, Charles J, Sheikh HB & Chevillon C (2002). High Resistance to *Bacillus sphaericus* Binary Toxin in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): The Complex Situation of West Mediterranean Countries. *J Med Entomol*, 39(5), 729–735.

Nielsen-LeRoux C, Rao DR, Murphy JR, Carron A, Mani TR, Hamon S, Mulla MS (2001). Various levels of cross-resistance to *Bacillus sphaericus* strains in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) colonies resistant to *B. sphaericus* strain 2362. *Appl Environ Microbiol*. 67(11):5049-54.

Nkya TE, Akhouayri I, Kisinza W, David JP (2013). Impact of environment on mosquito response to pyrethroid insecticides: Facts, evidences and prospects. *Insect Biochem Mol Biol*. 43(4):407-416

Omardeen TA (1961). Susceptibility tests in Trinidad with *Anopheles aquasalis* Curry, *Aedes aegypti* (L.) and *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, using the standard WHO mosquito adult test kit. *Bull World Health Organ*. 24(4-5): 495–507.

Ortelli, F Rossiter LC, Vontas J, Ranson H & Hemingway J (2003). Heterologous expression of four glutathione transferase genes genetically linked to a major insecticide-resistance locus from the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochem. J*, 373(3), 957–963.

Overgaard HJ, Sandve SR, Suwonkerd W (2005). Evidence of anopheline mosquito resistance to agrochemicals in northern Thailand. *SE Asian J Trop Med*. 36(4): 152-157.

Paris M, David JP & Després L (2011). Fitness costs of resistance to Bti toxins in the dengue vector *Aedes aegypti*. *Ecotoxicology*, 20(6), 1184–94.

Paul A, Harrington LC, Zhang L & Scott JG (2005). Insecticide resistance in *Culex pipiens* from New York. *J Am Mosquito Contr*, 21(3), 305–309.

Pedrini N, Mijailovsky SJ, Girotti JR, Stariolo R, Cardozo RM, Gentile A, Juarez MP (2009). Control of Pyrethroid-Resistant Chagas Disease Vectors with Entomopathogenic Fungi. *Plos Neglect Trop D*, 3(5), 11.

Penilla RP, Rodríguez AD, Hemingway J, Torres JL, Arredondo-Jiménez JI, Rodríguez MH (1998). Resistance management strategies in malaria vector mosquito control. Baseline data for a large-scale field trial against *Anopheles albimanus* in Mexico. *Med Vet Entomol*. 12(3):217-33.

Penilla RP, Rodríguez AD, Hemingway J, Torres JL, Solis F, Rodríguez MH (2006). Changes in glutathione S-transferase activity in DDT resistant natural Mexican populations of *Anopheles albimanus* under different insecticide resistance management strategies. *Pest Biochem Physiol*. 86:63–71

Penilla RP, Rodríguez AD, Hemingway J, Trejo A, Lopez AD, Rodríguez MH (2007). Cytochrome P450-based resistance mechanism and pyrethroid resistance in the field *Anopheles albimanus* resistance management trial. *Pest. Biochem. Physiol*. 89:111–17

Pennetier C, Costantini C, Corbel V, Licciardi S, Dabire RK, Lapied B, Chandre F & Hougard JM. (2008). Mixture for controlling insecticide-resistant malaria vectors. *Emerg Infect Dis* 14: 1707-1714.

Perera MD, Hemingway J, Karunaratne SP (2008). Multiple insecticide resistance mechanisms involving metabolic changes and insensitive target sites selected in anopheline vectors of malaria in Sri Lanka. *Malaria J*. 7:168.

Pimentel D (2005). Environmental and Economic Costs of the Application of Pesticides Primarily in the United States. *Environ Dev Sustain*, 7(2), 229–252.

Poupardin R, Reynaud S, Strode C, Ranson H, Vontas J & David JP (2008). Cross-induction of detoxification genes by environmental xenobiotics and insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*. Impact on larval tolerance to chemical insecticides. *Insect Biochem Mol*, 38(5), 540–551.

Ranson H, Abdallah H, Badolo A, Guelbeogo WM, Keraf-Hinzoumbé C, Yangalbé-Kalnoné E, Sagnon N, Simard F, Coetzee M (2009). Insecticide resistance in *Anopheles gambiae*: data from the first year of a multi-country study highlight the extent of the problem. *Malar J*. 8:299.

Rawlins SC (1998). Spatial distribution of insecticide resistance in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and its significance. *Rev Panam Salud Publica*. 4(4):243-51.

Raymond M, Berticat C, Weill M, Pasteur N & Chevillon C (2001). Insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*: what have we learned about adaptation? *Genetica*, 112-113(In A. P. Henry & M. T. Kiniso (Eds). Special issue: Contemporary microevolution: rate, pattern, process.), 1–10.

Raymond M, Chevillon C, Guillemaud T, Lenormand T, Pasteur N (1998). An overview of the evolution of overproduced esterases in the mosquito *Culex pipiens*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 29;353(1376):1707-11.

Raymond M, Fournier D, Bride JM, Cuany A, Berge J, Magnin M, Pasteur N (1986). Identification of resistance mechanisms in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) from southern France: insensitive acetylcholinesterase and detoxifying oxidases. *J Econ Entomol*. 79(6):1452-8.

Riaz MA, Poupardin R, Reynaud S, Strode C, Ranson H & David JP (2009). Impact of glyphosate and benzo[a]pyrene on the tolerance of mosquito larvae to chemical insecticides. Role of detoxification genes in response to xenobiotics. *Aquat Toxicol*, 93(1), 61–69.

Rivet Y, Raymond M, Rioux JA, Delalbre A, Pasteur N (1994). Resistance monitoring in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) from central-eastern France. *J Med Entomol.* 31(2):231-9.

Roberts DR & Andre RG (1994). Insecticide Resistance Issues in Vector-Borne Disease Control. *American J Trop Med Hyg*, 50(6_Suppl), 21–34.

Rodríguez MM, Bisset J, de Fernandez DM, Lauzán L, Soca A (2001). Detection of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba and Venezuela. *J Med Entomol.* 38(5):623-8.

Rodríguez MM, Bisset J, Ruiz M, Soca A (2002). Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. *J Med Entomol.* 39(6):882-8.

Roman E (1966). Sensibilité au DDT des larves du moustique citadin a Lyon de 1945 a aujourd'hui; durée de résistance de ces formes jeunes maintenues a l'abri des insecticides. *Bull Soc Pathol Exot.* 59(3):376-83.

Roucaute M, Harnois S, Louis-Jean L, Bertrand C, Fayolle S, Garnier R, Daubercies A, Simonnet I. (2013). Rapport final. Programme Life+ IMCM (Integrated Mosquito Control Management). Tâche 5.1 : Etude d'indices biocoenotiques et de biodiversité sur les communautés d'invertébrés aquatiques. 64 p.

Rozeboom LE, Johnson R (1961). Inheritance of resistance to dieldrin in *Anopheles albimanus* Wiedemann. *Am J Trop Med Hyg*, 10:775–81

Salem A, Bouhsira E, Lienard E, Melou AB, Jacquet P. & Franc M (2012). Susceptibility of Two European strains of *Stomoxys calcitrans* (L.) to Cypermethrin, Deltamethrin, Fenvalerate, lambda-cyhalothrin, Permethrin and Phoxim. *Int J Appl Res in Vet M*, 10, 249-257.

Sabatini GA, Kemp DH, Hughes S, Nari A, Hansen J (2001). Tests to determine LC50 and discriminating doses for macrocyclic lactones against the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Vet Parasitol*, 95(1), 53-62.

Saume F (1996). Resistance of *Anopheles aquasalis* to the synthetic pyrethroids, deltamethrin and lambda-cyhalothrin, in Sucre State, Venezuela. *J Am Mosquito Contr.* 12(3): 462-462.

Scott JG (1999). Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochem Mol*, 29(9), 757–777.

Seidahmed OM, Abdelmajed MA, Mustafa MS, Mnzava AP (2012). Insecticide susceptibility status of the malaria vector *Anopheles arabiensis* in Khartoum city, Sudan: differences between urban and periurban areas. *East Mediterr Health J.* 18(7): 769-776.

Sharp BL, Ridl FC, Govender D, Kuklinski J & Kleinschmidt I (2007). Malaria vector control by indoor residual insecticide spraying on the tropical island of Bioko, Equatorial Guinea. *Malar J* 6: 52.

Shaw RD (1966). Culture of an organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. *Bull Entomol Res*, 56(03), 389-405.

Sinegre G, Jullien JL, Crespo O (1976). Resistance de certaines populations de *Culex pipiens* (L.) au chlorpyrifos en Languedoc-Roussillon.. Cah. ORSTOM Entomol. *Med Parasitol*, 14(1):49-59.

Sinegre G (1984). La résistance des diptères culicidés en France. *in* Colloque sur la Réduction d'Efficacité des Traitements Insecticides et Acaricides et Problèmes de Resistance. *Société française de phytiatrie et de phytopharmacie*. Paris, pp. 47-58.

Sinegre,G., M.Babinot, J.-M.Quermel, and B.Gaven (1994). First field occurrence of *Culex pipiens* resistance to *Bacillus sphaericus* in southern France, pp. 17, Proceedings, 8th European Meeting of Society for Vector Ecology,5-8 September 1994, Barcelona, Spain. Society for Vector Control ,Santa Ana, CA.

Small GJ, Karunaratne SH, Chadee DD, Hemingway J (1999). Molecular and kinetic evidence for allelic variants of esterase Estbeta1 in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Med Vet Entomol*. 13(3):274-81.

Stevenson BJ, Bibby J, Pignatelli PM, Muangnoicharoen S, O'Neill PM, Lian, LY (2011). Cytochrome P450 6M2 from the malaria vector *Anopheles gambiae* metabolizes pyrethroids: Sequential metabolism of deltamethrin revealed. *Insect Biochem Molecular*, 41(7), 492–502.

Stone BF, Haydock KP. (1962). A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Can.). *Bull Entomol Res*, 53 : 563–578

Su T, Mulla MS (2004) Documentation of high-level *Bacillus sphaericus* 2362 resistance in field populations of *Culex quinquefasciatus* breeding in polluted water in Thailand. *J Am Mosq Control Assoc*. 20(4):405-11.

Suarez MF, Quinones ML, Palacios JD, Carrillo A (1990). First record of DDT resistance in *Anopheles darlingi*. *J Am Mosq Cont Assoc*. 6(1): 72-74.

Suwanchaichinda C, & Brattsten LB (2002). Induction of microsomal cytochrome P450s by tire-leachate compounds, habitat components of *Aedes albopictus* mosquito larvae. *Arch Insect Biochem*, 49(2), 71–79.

Tantely ML, Tortosa P, Alout H, Berticat C, Berthomieu A, Rutee A, Dehecq JS, Makoundou P, Labbé P, Pasteur N, Weill M (2010). Insecticide resistance in *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Aedes albopictus* mosquitoes from La Réunion Island. *Insect Biochem Mol Biol*. 40(4):317-24.

Tia E, Akogbeto M, Koffi A, Toure M, Adja AM, Moussa K, Yao T, Carnevale P, Chandre F (2006). Situation de la résistance d'*Anopheles gambiae* s.s. (Diptera : Culicidae) aux pyrétrinoïdes et au DDT dans cinq écosystèmes agricoles de Côte-d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot*. 99(4): 278-282.

Trape JF, A Tall, N Diagne, O Ndiath, AB Ly, J Faye, F Dieye-Ba, C Roucher, C Bouganali, A Badiane, FD Sarr, C Mazenot, A Toure-Balde, D Raoult, P Druilhe, O Mercereau-Puijalon, C Rogier, C Sokhna (2011). Malaria morbidity and pyrethroid resistance after the introduction of insecticide-treated bednets and artemisinin-based combination therapies: a longitudinal study. *Lancet Infect Dis*, 11(12), 925-932.

van den Berg H, Zaim M, Yadav RS, Soares A, Ameneshewa B, Mnzava A, Hii J, Dash AP, Ejov M. (2012). Global trends in the use of insecticides to control vector-borne diseases. *Environ Health Perspect*, 120(4): 577-582.

Vargas F, Cordova O, Alvarado A (2006). Determinación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* and *Lutzomyia peruensis* procedentes del Norte Peruano. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 23:259-264.

Vassena CV, Picollo MI, Zerba EN (2000). Insecticide resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. *Med Vet Entomol*. 14(1):51-5.

Venail R, Mathieu B, Setier-Rio ML, Borba C, Alexandre M, Viudes G, Garros C, Allene X, Carpenter S, Baldet T, Balenghien T (2011). Laboratory and field-based tests of deltamethrin insecticides against adult *Culicoides* biting midges. *J Med Entomol.* 48(2):351-7.

Vontas JG, McCarroll L, Karunaratne SHPP, Louis C, Hurd H, & Hemingway J (2004). Does environmental stress affect insect-vectored parasite transmission? *Phys Entomol*, 29(3), 210–213.

Weill M, Fort P, Berthomieu A, Dubois MP, Pasteur N & Raymond M (2002). A novel acetylcholinesterase gene in mosquitoes codes for the insecticide target and is non-homologous to the *ace* gene in *Drosophila*. *Proc Biol Sci*, 269(1504), 2007–16.

Weill M, Lutfalla G, Mogensen K, Chandre F, Berthomieu A, Berticat C, Raymond M (2003). Insecticide resistance in mosquito vectors. *Nature*, 423, 423–426.

Weill M, Malcolm C, Chandre F, Mogensen K, Berthomieu A, Marquine M & Raymond M (2004). The unique mutation in *ace-1* giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect molecular biology*, 13(1), 1–7.

Whalon ME, Mota-Sanchez D, Hollingworth RM (2008). Global Pesticide Resistance in Arthropods. 169 pp. Oxford University Press, Oxford, UK.

White WH, Plummer PR, Kemper CJ, Miller RJ, Davey RB, Kemp DH, Hughes S, Smith CK 2nd, Gutierrez JA (2004). An in vitro larval immersion microassay for identifying and characterizing candidate acaricides. *J Med Entomol.* 41(6):1034-42.

WHO (2005). Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. World Health Organization, Geneva. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13.

WHO (2006). Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets. World Health Organization, Geneva WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.3.

WHO (2012). Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors (GPIRM). World Health organization, Geneva. ISBN 978 92 4 156447 2.

WHO (2013). Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors. World Health Organization, Geneva. ISBN: 9789241505154.

Witzig C, Parry M, Morgan JC, Irving H, Steven A, Cuamba N, Kera-Hinzoumbé C, Ranson H, Wondji CS (2013). Genetic mapping identifies a major locus spanning P450 clusters associated with pyrethroid resistance in *kdr*-free *Anopheles arabiensis* from Chad. *Heredity*, 9. [Epub ahead of print]

Wood RJ, Pasteur N, Sinegre G (1984). Carbamate and organophosphate resistance in *Culex pipiens* L.. (Diptera: Culicidae) in southern France and the significance of Est-3A. *Bull Ent Res* 74:677-87.

Yadouleton A, Martin T, Padonou G, Chandre F, Asidi A, Djogbenou L, Dabiré R, Aïkpon R, Boko M, Glietho I, Akogbeto M. (2011). Cotton pest management practices and the selection of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* population in northern Benin. *Parasit Vectors.* 4(60).

Yebakima A, Marquine M, Rosine J, Yp-Tcha MM, Pasteur N (2004). Evolution of resistance under insecticide selection pressure in *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera, Culicidae) from Martinique. *J Med Entomol.* 41(4):718-25.

Annexe 1 : enquête auprès de services de démoustication concernant la résistance des principales espèces ciblées

Espèces	Stade	Substance active	Formulation	Fréquence des traitements	Durée d'utilisation (années)	Milieu ciblé (urbain, rural,...)	Suivi d'efficacité	Méthode de suivi	Efficacité du produit (bonne, mauvaise,...)	Résistance observée	Méthodes / Tests utilisés	RR50	RR95	Mutation(O/N)	Si oui, lesquelles? Fréquence?	Résistance métabolique observée	Si oui, laquelle?	
GUADELOUPE																		
<i>Aedes aegypti</i>	Adultes	Deltaméthrine	Aqua K-Othrine	ponctuel	2 (antérieurement K-Othrine LVLV 15-5)	urbain et rural	oui	test d'efficacité en cage	mauvaise	oui								
<i>Aedes aegypti</i>	Larves	Bti	Vectobac 12AS	> 1 fois / an	2	urbain et rural	oui	Gîtes positifs avant/après traitement	bonne	non	test d'efficacité larvaire (doses emploi)							
GUYANE																		
<i>Aedes aegypti</i>	Adultes	Deltaméthrine	Aqua K-Othrine	ponctuel, autour des cas de dengue; une à 2 fois par mois ou une fois tous les deux mois pour les autres cas	3	urbain et rural	oui	tests en cages ressentis de la population	bonne lors d'épandage directement à l'intérieur des habitations	oui	Test en tube OMS	-	-					
<i>Aedes aegypti</i>	Larves	Bti	Vectobac 12AS	toute l'année, en fonction des gîtes positifs	11	urbain et rural	oui	Gîtes positifs avant/après traitement	bonne	non	Bio essai larvaire	-	-					
MAYOTTE																		
<i>An gambiae</i>	Adulte	Deltaméthrine	Aqua K-Othrine	2 fois par an (traitement intradomiciliaire) et autour d'un cas de paludisme	20	rural	non			non	Test en tube OMS	1.00	1.06	non		oui	estérase alpha	
<i>An gambiae</i>	larve	Bti	Vectobac	15 jours si présence de larves	2	rural	oui	Observation visuelle : présence ou non de larves		Non	Bio essai larvaire	0.95	0.89				estérase beta	
<i>An gambiae</i>	larve	diflubenzuron	dimilin/dobol	15 jours si présence de larves	2	rural	oui	Observation visuelle : présence ou non de larves		-								
<i>An gambiae</i>	larve	temephos	abate	15 jours si présence de larves	20	rural	oui	Observation visuelle : présence ou non de larves		Oui	Bio essai larvaire	4.82	18.09					
<i>Cx quinquefasciatus</i>	Adulte	deltaméthrine	Aqua K-Othrine	2 fois par an (traitement intradomiciliaire)	20	urbain	non			Oui	Test en tube OMS	4	4.70	oui		oui	Kdr (1) fixée	
<i>Cx quinquefasciatus</i>	larve	Bti	Vectobac	En cas de nuisance	2	urbain	non			Non	Bio essai larvaire	1.35	1.08				rdl (1) fixée	
<i>Cx quinquefasciatus</i>	larve	diflubenzuron	dimilin/dobol?	En cas de nuisance	2	urbain	non			-							ace 1 (0,61)	
<i>Cx quinquefasciatus</i>	larve	temephos	abate	En cas de nuisance	20	urbain	non			Oui	Bio essai larvaire	15.63	22.14				GST	
<i>Ae aegypti</i>	adulte	deltaméthrine	Aqua K-Othrine	1) En cas de nuisance 2) autour d'un cas d'arbovirose (action ponctuelle)	6	urbain	non			non	Test en tube OMS	1.09	1.00				estérase alpha	
<i>Ae aegypti</i>	larves	Bti	Vectobac	1) En cas de nuisance 2) dans le cadre d'un traitement de quartier (action ponctuelle) 3) autour d'un cas d'arbovirose (action ponctuelle)	3	urbain	non			non	Bio essai larvaire	0.82	0.78				estérase beta	
<i>Ae albopictus</i>	adultes	deltaméthrine	Aqua K-Othrine	1) En cas de nuisance 2) autour d'un cas d'arbovirose (action ponctuelle)	6	urbain	non			non	Test en tube OMS	0.93	0.78					
<i>Ae albopictus</i>	larves	Bti	Vectobac	1) En cas de nuisance 2) dans le cadre d'un traitement de quartier (action ponctuelle) 3) autour d'un cas d'arbovirose (action ponctuelle)	3	urbain	non			non	Bio essai larvaire	1.56	1,18					
LA REUNION																		
<i>Aedes albopictus</i>	Adultes	Deltaméthrine	Aqua K-Othrine	ponctuel	5	urbain	oui	bio essais	bonne	non	Test en tube OMS			aucune détection kdr ou Ace1 MAIS fréquence Rdl jusqu'à 95% homozygote		non étudiée		
<i>Aedes albopictus</i>	Larves	Bti	Vectobac WG	10 fois par an	5	urbain & ravines	oui	bio essais	bonne	non	Bio essai larvaire							non défini
<i>An arabiensis</i>	Larves	Bti	Vectobac WG	ponctuel si gîtes productifs	5	rural + naturel (ravine)	non		mauvaise	??	gîtes artificiels sur terrain							non défini
<i>Cx quinquefasciatus</i>	Larves	Bti	Vectobac WG	ponctuel si gîtes productifs	5	urbain & ravines	non		non défini									non défini
autres espèces culicidiennes	Larves si forte densité	Bti	Vectobac WG	très ponctuel si forte densité	5	urbain & ravines	non		non défini									non défini
France métropolitaine pourtour méditerranéen																		
<i>Culex pipiens molestus</i>	larves	fénitrothion	Paluthion 500 g/l EC	fréquent	de 1968 à 2000 (interdit depuis 2010)	urbain	oui	prélèvement larvaire	perte d'efficacité avérée	oui	Biotests WHO	>100	>100	oui	Ace.1 st en 1978; Ace.1 st duplication en 1993 (cf. Chevillon et al. 1999)	oui	Ester ¹ en 1972, Ester ² en 1990 (cf Chevillon et al. 1999)	
<i>Culex pipiens molestus</i>	larves	Bsp	Sphérimos	fréquent	de 1990 à 2000 (n'est plus utilisée)	urbain	oui	prélèvement larvaire	perte d'efficacité avérée	oui	Biotests WHO	>1000	>1000	oui	Voir travaux de David Pauron (INRA Antibes)	non		
<i>Culex pipiens molestus</i>	larves	Bti	Vectobac 12AS	10 fois par an	3	urbain	oui	prélèvement larvaire	bonne	non	Biotests WHO	0,95	0,82	non		non		
<i>Aedes albopictus</i>	adultes	deltaméthrine	Aqua K-Othrine	extrêmement ponctuel (prime introduction et LAV)	depuis 2006	urbain et péri urbain (aires d'autoroutes, péfifocal)	oui	Piégeage avant/après traitement	bonne	non	Biotests WHO (à faire en 2012)			non		non		
<i>Aedes albopictus</i>	larves	Bti	VectoBac 12AS VectoBac DT VectoBac G VectoMax G	extrêmement ponctuel (prime introduction et LAV)	depuis 2006	urbain et péri-urbain (aires d'autoroutes, péfifocal)	oui	prélèvement larvaire	bonne	non	Biotests WHO (à faire en 2012)			non		non		
<i>Aedes caspius</i>	larves	Bti	Vectobac 12AS Aquabac 1200 XL	1 à 15 fois/an	depuis 2000	rural	oui	prélèvement larvaire	bonne à moyenne	non	Biotests WHO			non		non		
<i>Aedes detritus</i>	larves	Bti	Vectobac 12AS Aquabac 1200 XL	1 à 4 fois/an	depuis 2000	rural	oui	prélèvement larvaire	bonne à moyenne	non	Biotests WHO			non		non		
France métropolitaine région Rhône-Alpes																		
<i>Aedes albopictus</i>	Adultes	Deltaméthrine	Aqua K-Othrine	ponctuel	3	urbain	oui	Piégeage avant/après traitement	bonne									
<i>Aedes albopictus</i>	Larves	Bti	Vectobac WG	ponctuel	3	urbain	oui	Gîtes positifs avant/après traitement	bonne									
<i>Aedes albopictus</i>	Larves	Bti/Bs	VectoMaw G	9 fois /an	3	urbain	oui	Gîtes positifs avant/après traitement	bonne									
France métropolitaine façade Atlantique																		
<i>Aedes sp.</i>	Adultes	deltaméthrine	K-Othrine 1,5 forêts, K-Othrine WG, Aqua K-Othrine	ponctuel	10	rural	oui	Piégeage-capture avant/après traitement	bonne	non	néant							
<i>Aedes sp.</i>	Larves	Bti	Vectobac TP, 12AS et WG	10 à 20 fois par an	25	rural	oui	Gîtes positifs avant/après traitement - méthode de Carron	bonne	non	néant							
<i>Culex pipiens</i>	Adultes	deltaméthrine	K-Othrine 1,5 forêts, K-Othrine WG, Aqua K-Othrine	ponctuel	10	urbain	oui	Piégeage-capture avant/après traitement	bonne	non	néant							
<i>Culex pipiens</i>	Larves	Bti	Vectobac TP, 12AS et WG	5 à 10 fois par an	5	urbain	oui	Gîtes positifs avant/après traitement - méthode de Carron	bonne	non	néant							
<i>Aedes albopictus</i>	Adultes	deltaméthrine	K-Othrine WG, Aqua K-Othrine	ponctuel	10	urbain	oui	Piégeage-capture avant/après traitement	bonne	non	néant							
<i>Aedes albopictus</i>	Larves	Bti	Vectobac 12AS et WG	ponctuel	10	urbain	oui	Gîtes positifs avant/après traitement - méthode de Carron	bonne	non	néant							
Corse Sud																		
<i>Aedes sp. Cx pipiens, Anophèles</i>	Larves	Bti	Vectobac 12AS	régulier	4	urbain, naturel	oui	Gîtes positifs avant/après traitement	bonne	non	bio essai larvaire							
<i>Aedes sp. Cx pipiens, Anophèles</i>	Larves	Bti	Vectobac G	régulier	4	urbain, naturel	oui	Gîtes positifs avant/après traitement	bonne	non								
<i>Aedes albopictus, Cx pipiens</i>	Adultes	Deltaméthrine	Aqua K-Othrine	très ponctuel	4	urbain	oui	gîtes positifs avant/après traitement	bonne	non								
<i>Aedes albopictus, Cx pipiens</i>	Adultes	Deltaméthrine	K-Othrine	très ponctuel	4	urbain	oui	gîtes positifs avant/après traitement	bonne	non								
<i>Aedes albopictus, Cx pipiens</i>	Adultes	Pyréthrinés	Aquapy	très ponctuel	4	urbain	oui	gîtes positifs avant/après traitement	bonne	non								

Annexe 2 : recherche bibliographique sur la « résistance aux insecticides/acaricides » pour les différentes espèces de vecteurs d'intérêt en France

Région	Groupe de vecteurs	Espèce	Insecticides	Résistance	Mécanismes	Impact opérationnel	Observations hors France	Références	
France Métropolitaine	Moustiques	<i>Culex pipiens</i>	Organophosphorés	Avérée	métabolique, Ace1R	oui		ISEM et al ; Labbe et al., 2007 ; Labbé et al., 2009 Sinegre et al., 1976 ; Sinegre 1984 Raymond et al., 1986 Wood et al., 1984 Rivet et al, 1994 ; Raymond et al., 1998 Wood et al., 1984 ; Raymond et al., 1986	
			Carbamates	Avérée	Ace1R (métabolique)	non utilisé		Wood et al., 1984 ; Raymond et al., 1986	
			Bacillus thuringiensis i	Non					
			Bacillus sphaericus	Avérée	récepteur toxine	oui			Sinègre 1994 Nielsen-LeRoux et al, 1997 ; Nielsen-Leroux et al., 2001 ; Chevillon et al., 2001 ; Nielsen- LeRoux et al, 2002
			pyréthrinoïdes						Sinegre 1984 (utilisation de deltaméthrine en antilarvaire)
			organochlorés (DDT)	signalée (historique)					Hamon et al., 1959 ; Roman, 1966
			<i>Aedes albopictus</i>	Bacillus thuringiensis i pyréthrinoïdes	Non non documentée				Des populations seraient résistantes à la plupart des familles d'insecticides utilisés au Pakistan.
<i>Anopheles maculipennis</i>	non documenté					Résistance aux organochlorés et organophosphorés en Roumanie et en Grèce	Zulueta, 1959 ; Brown & Pal, 1971 ; Brown 1986		
<i>Anopheles labranchiae</i>	non documenté					résistance aux organochlorés, au DDT et à la dieldrine (Magrheb), aux organophosphorés (Italie)	Brown & Pal, 1971 ; Brown 1986		

Région	Groupe de vecteurs	Espèce	Insecticides	Résistance	Mécanismes	Impact opérationnel	Observations hors France	Références	
France Métropolitaine (suite)	Poux	<i>Pediculus h humanus</i>	Organochlorés (DDT/cyclodiène)	Avéréé				Nicoli & Sautet 1955	
			pyréthrines	suspectée	kdr			Nicoli & Sautet 1955 ; Drali et al., 2012	
		<i>Pediculus h capitis</i>	Organophosphoré (malathion)	suspectée (Izri & Briere 1995) mais non généralisée (Chosidow et al., 2010 ; Bouvresse et al., 2012)			oui	Izri & Briere 1995 ; Chosidow et al., 2010 ; Bouvresse et al., 2012 ;	
				Pyréthinoïdes	Avérée	kdr		oui	Coz et al., 1993 ; Chosidow et al., 1994 ; Bouvresse et al., 2012 ; Durand et al., 2007
	Culicoïdes	<i>Culicoides obsoletus</i>	pyréthrinoïdes						Venail et al. 2011
		<i>Culicoides imicola</i>	pyréthrinoïdes						Venail et al. 2011
	Punaises de lit	<i>Cimex sp.</i>	pyréthrinoïdes	probable	kdr-like gene mutation	probable		Multirésistance sur de nombreux continents	Durand et al., 2012 ; Davies et al., 2012
Tiques	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>						résistances observées aux pyréthrinoïdes, aux OP et aux OC	Miller et al., 2001	
Stomoxes	<i>Stomoxys calcitrans</i>	pyréthrinoïdes	Avérée					Salem et al., 2012	

Région	Groupe de vecteurs	Espèce	Insecticides	Résistance	Mécanismes	Impact opérationnel	Observations hors France	Références
Martinique	Moustiques	<i>Aedes aegypti</i>	Organophosphorés	Avérée	métabolique	oui		Marcombe et al., 2009 ; Marcombe et al., 2012
			Carbamates	Non	résistance au propoxur sans Ace1 (résistance métabolique probable)	non utilisé		(Weill M, comm pers)
			Bacillus thuringiensis i	Non				Marcombe et al., 2012
			pyréthrinoïdes	Avérée	métabolique, kdr	oui		Marcombe et al., 2009 ; Marcombe et al., 2012
			naturalyte (spinosad)	Non				Marcombe et al., 2011
		benzoylurées (diflubenzuron) analogues de l'hormone juvénile (pyriproxyfen)	Non				Marcombe et al., 2012	
			tolérance				Marcombe et al., 2011	
		<i>Culex quinquefasciatus</i>	Organophosphorés	Avérée	métabolique, Ace1R	oui		Yébakima et al., 2004
			Carbamates	Avérée	Ace1R (métabolique)	non utilisé		Yébakima et al., 2005
			Bacillus thuringiensis i	Non				Yébakima et al., 2006
	pyréthrinoïdes		Avérée	kdr? Métabolique?			Yébakima et al., 2007	
		<i>Anopheles aquasalis</i>	non documenté				résistance à la dieldrine et dans une moindre mesure au DDT (Trinidad, Brésil), résistance aux OP au Venezuela	Omardeen, 1961 ; Brown & Pal, 1971 ; Brown, 1986 ; Saume, 1996 ; Molina & Figueroa, 2009 ; Coz et al., 1965
		<i>Anopheles albimanus</i>	non documenté				Multirésistance dans plusieurs pays d'Amérique latine	Rozeboom & Johnson, 1961 ; Brogdon et al., 1990 ; Brogdon et al., 1999 ; Brown, 1986 ; Penilla et al., 2006 ; Vargas et al., 2006 ; Penilla et al., 2007
	Tiques	<i>Rhipicephalus microplus</i>	organochlorés (HCH)				résistance et multirésistance aux principaux acaricides. Cette espèce est classée au 7ème rang des arthropodes résistant à différentes substances actives (43 substances actives) selon Whalon et al., 2008.	Morel, 1967

Région	Groupe de vecteurs	Espèce	Insecticides	Résistance	Mécanismes	Impact opérationnel	Observations hors France	Références
Guadeloupe	Moustiques	<i>Aedes aegypti</i>	non documenté				Nombreuses populations multirésistantes dans d'autres pays d'Amérique du Sud et des Caraïbes	Bisset et al., 2011 ; Bisset et al., 2006 ; Braga et al., 2004 ; Dusfour et al., 2011 ; Fonseca-González et al., 2011 ; Georghiou et al., 1987 ; Lima et al., 2011 ; Macoris et al., 2003 ; Rawlins, 1998 ; Rodríguez et al., 2001 ; Rodríguez et al., 2002
		<i>Culex quinquefasciatus</i>	non documenté				Nombreuses populations multirésistantes dans d'autres pays d'Amérique du Sud et des Caraïbes	Bisset et al., 1991 ; Bracco et al., 1999 ; Brown & Pal, 1971 ; Brown, 1986 ; Coto et al., 2000 ; Georghiou et al., 1975 ; Gordon et al., 2012 ; Small et al., 1999 ; Yébakima et al., 2004
	Tiques	<i>Rhipicephalus microplus</i>	organochlorés (HCH)	oui			résistance et multirésistance aux principaux acaricides. Cette espèce est classée au 7ème rang des arthropodes résistant à différentes substances actives (43 substances actives selon Whalon et al., 2008).	Morel, 1967 ; Whalon et al., 2008
		<i>Amblyomma variegatum</i>		non				Garris et Barré, 1990 ; Barré et al., 1993 ; Barré 1997

Région	Groupe de vecteurs	Espèce	Insecticides	Résistance	Mécanismes	Impact opérationnel	Observations hors France	Références		
Guyane	Moustiques	<i>Aedes aegypti</i>	organophosphorés	oui	métabolique?	possible	Nombreuses populations multirésistantes dans d'autres pays d'Amérique du Sud et des Caraïbes	Dusfour et al., 2011 ; cf. annexe 2		
			pyréthrinoides	oui	kdr?, métabolique?	possible			Nombreuses populations multirésistantes dans d'autres pays d'Amérique du Sud et des Caraïbes	Dusfour et al., 2011 ; cf. annexe 3
			Bacillus thuringiensis i	non						
			<i>Anopheles darlingi</i>	non documenté				résistance DDT pyréthrinoides au Pérou et Colombie	Suarez et al., 1990 ; Fonseca-Gonzales et al., 2009a	
			<i>Anopheles aquasalis</i>	non documenté				résistance à la dieldrine et dans une moindre mesure au DDT (Trinidad, Brésil), résistance aux OP au Venezuela	Omardeen, 1961 ; Brown & Pal, 1971 ; Saume, 1996 ; Molina & Figueroa, 2009 ; Coz et al., 1965	
			<i>Anopheles nuneztovari</i>	non documenté				résistance aux organophosphorés et aux pyréthrinoides en Colombie	Fonseca-Gonzales et al., 2009b	
			<i>Culex quinquefasciatus</i>	non documenté				Nombreuses populations multirésistantes dans d'autres pays d'Amérique du Sud et des Caraïbes	Bisset et al., 1991 ; Bracco et al., 1999 ; Brown, 1986 ; Brown & Pal, 1971 ; Coto et al., 2000 ; Georghiou et al., 1975 ; Gordon et al., 2012 ; Small et al., 1999 ; Yébakima et al., 2004	
	Phlébotomes		<i>Lutzomyia umbratilis</i>	non documenté						
			<i>Lutzomyia flaviscutella</i>	non documenté						
	Triatomes		<i>Rhodnius prolixus</i>	non documenté				Résistance métabolique aux pyréthrinoides et résistance à la dieldrine au Venezuela	Vassena et al., 2000	
		<i>Panstrongylus geniculatus</i>	non documenté							
		<i>Rhodnius robustus</i>	non documenté							
		<i>Rhodnius pictipes</i>	non documenté							
Puces		<i>Ctenocephalides Canis</i>	DDT	avérée			Floch, 1954			

Région	Groupe de vecteurs	Espèce	Insecticides	Résistance	Mécanismes	Impact opérationnel	Observations hors France	Références
La Réunion	Moustiques	<i>Culex quinquefasciatus</i>	Organophosphorés	Avérée	métabolique, Ace1R	possible	Ace1R résistance carbamate	Tantely et al. 2010
			pyréthrinoides	Avérée	kdr, métabolique	possible		Tantely et al. 2010
			cyclodiènes	Avérée	Rdl	non utilisé en SP		Tantely et al. 2010
	<i>Aedes albopictus</i>	Organophosphorés	non					Jacquet 2010 (M2)
		Bacillus thuringiensis i	non					
		pyréthrinoides	non					
		cyclodiènes	modérée	Rdl	non utilisé en SP		Tantely et al. 2010	
	<i>Anopheles arabiensis</i>	non documenté					résistances documentées dans d'autres pays aux pyréthrinoides, aux OP, aux OC, ainsi que, à de faibles niveaux, aux carbamates	Brown, 1986 ; Casimiro et al., 2006 ; Matambo et al., 2007 ; Mouatcho et al., 2009 ; Ranson et al., 2009 ; Jones et al., 2012 ; Witzig et al., 2013
	Stomoxes	<i>Stomoxys calcitrans</i>	pyréthrinoides	Avérée		possible		Erhardt, 2006
	Mayotte	Moustiques	<i>Culex quinquefasciatus</i>	Organophosphorés	Avérée	métabolique, Ace1R	possible	Ace1R résistance carbamate
pyréthrinoides				Avérée	kdr	possible		Pocquet 2013
cyclodiènes				Avérée	Rdl	non utilisé en SP		Pocquet 2013
<i>Aedes albopictus</i>		pyréthrinoides	non				Pocquet (en cours)	
<i>Aedes aegypti</i>		Organophosphorés	non					Pocquet (en cours)
		pyréthrinoides	non					Pocquet (en cours)
		IGR	non					Pocquet (en cours)
<i>Anopheles gambiae</i>		organophosphorés	oui	métabolique	possible			Pocquet (en cours)
		pyréthrinoides	non					Pocquet (en cours)
		Bti	non					Pocquet (en cours)
<i>Anopheles funestus</i>	non documenté							

