

La lutte contre les moustiques (Diptera: Culicidae): diversité des approches et application du contrôle biologique

T. Bawin,¹ F. Seye, S. Boukraa, J.-Y. Zimmer, F. Delvigne, F. Francis

Résumé—Plusieurs espèces de moustiques (Diptera: Culicidae) sont des vecteurs de zoonoses d'incidence médicale et vétérinaire considérables. Une modification de la distribution géographique de ces vecteurs majoritairement engendrée par des facteurs anthropiques est actuellement accompagnée de (ré-)émergences de maladies infectieuses en Europe et en Amérique du Nord. Depuis l'avènement des insecticides de synthèse lors de la seconde guerre mondiale, les moustiques font l'objet de recherches de plus en plus étendues et approfondies. Dans une vision de lutte intégrée, les moyens de lutte anti-vectorielle se répartissent aujourd'hui selon quatre axes principaux: (1) la gestion environnementale et le contrôle physique, (2) le contrôle chimique, (3) le contrôle génétique, et (4) le contrôle biologique par le biais d'entomophages et de micro-organismes entomopathogènes. Dans ce contexte, ces derniers ont un potentiel intéressant car ils possèdent la capacité d'infecter et de tuer l'hôte avec une sélectivité plus ou moins prononcée. Cet article se propose de resituer le contrôle biologique parmi les autres techniques dans la lutte anti-vectorielle contre les moustiques, et de faire état des potentialités et des perspectives offertes par les bactéries, virus et champignons entomopathogènes. Leur utilisation sous forme de biopesticides est enfin discutée.

Abstract—Many mosquito (Diptera: Culicidae) species are zoonotic vectors responsible for numerous infectious diseases of medical and veterinary importance. Currently, changes in the vectors' geographical distribution induced chiefly by anthropogenic factors are accompanied by emerging and reemerging infectious diseases in Europe and North America. Since the advent of synthetic insecticides during the Second World War, mosquitoes are the object of considerably expanded and deepened research. In an integrated pest management context, means of control are now mainly classified as: (1) environmental management and physical control, (2) chemical control, (3) genetic control, and (4) biological control by means of entomophagous predators and entomopathogenic microorganisms. In this context, these last have significant potential because of their ability to infect and kill their host with more or less targeted selectivity. This article proposes to emphasize biological control among other techniques in mosquito control, and to assess the potential and the opportunities offered by entomopathogenic bacteria, viruses and fungi. Finally, their use as biopesticides is discussed.

La lutte anti-vectorielle: diversité des approches

Plusieurs espèces de moustiques (Diptera: Culicidae), appartenant notamment aux genres *Aedes* Meigen, *Culex* Linnaeus ou *Anopheles* Meigen, sont des vecteurs d'organismes

pathogènes responsables de zoonoses d'incidence médico-vétérinaire considérable (Goddard 2008). Les femelles, par le biais d'un repas de sang sur un hôte vertébré, sont capables de contracter et véhiculer trois types d'agents infectieux selon les espèces de moustiques: (1) des virus responsables de nombreuses arboviroses (dengue, chikungunya,

Received 4 June 2013. Accepted 15 May 2014. First published online 29 October 2014.

T. Bawin,¹ S. Boukraa, J.-Y. Zimmer, F. Francis, Entomologie fonctionnelle et évolutive, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Passage des Déportés 2, B-5030 Gembloux, Belgique

F. Seye, Entomologie fonctionnelle et évolutive, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Passage des Déportés 2, B-5030 Gembloux, Belgique; and Laboratoire de biologie de la reproduction, Faculté de Science et Technologie, Université Cheikh Anta Diop, B-5005, Fann, Dakar, Sénégal

F. Delvigne, Bio-industries/CWBI, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Passage des Déportés 2, B-5030 Gembloux, Belgique

¹Tél.: +32 81 622283; Fax: +32 81 622312; E-mail: entomologie.gembloux@ulg.ac.be.

Subject Editor: Kateryn Rochon

doi:10.4039/tce.2014.56

fièvre du Nil occidental, fièvre de la vallée du Rift, ou encore fièvre jaune), (2) des protozoaires du genre *Plasmodium* Marchiafava et Celli responsables du paludisme, et (3) des nématodes responsables de filarioses (en particulier la filariose lymphatique et la dirofilariose) (Goddard 2008; Mullen et Durden 2009). Actuellement, une modification de la distribution géographique de ces vecteurs majoritairement causée par des facteurs anthropiques est accompagnée de (ré) émergences de maladies infectieuses notamment en Europe et en Amérique du Nord (Reiter 2001; Jones *et al.* 2008; Gould et Higgs 2009; Randolph et Rogers 2010; Medlock *et al.* 2012; Bonizzoni *et al.* 2013).

Historiquement, la lutte anti-vectorielle fut une composante essentielle pour la gestion de la santé publique. Actuellement, la prise en compte des changements globaux (climatiques, démographiques et socio-économiques) et de la nécessité de développement durable constitue un nouveau défi. Pour répondre à ces attentes, la lutte anti-vectorielle doit aujourd'hui faire appel à l'utilisation de techniques variées. Tout comme dans les domaines agricoles et forestiers, un concept de lutte intégrée est désormais requis.

Gestion environnementale et contrôle physique

La base de toute lutte anti-vectorielle repose sur une gestion environnementale des populations de moustiques (Organisation mondiale de la Santé 1982) qui passe tant par une modification des habitats destinée à prévenir, limiter ou supprimer les gîtes larvaires potentiels (drainage de milieux humides, traitement des eaux usées, remblai) que par une adaptation du comportement humain en vue de réduire au mieux le contact hôte-vecteur (gestion des déchets, suppression ou bâchage de récipients d'eau potentiels). Cette technique de gestion élémentaire fut prépondérante jusqu'à l'avènement des insecticides de synthèse lors de la seconde guerre mondiale. Suivant les avancées scientifiques et technologiques du moment (Becker *et al.* 2010), elle a pu être renforcée par des moyens physiques et mécaniques, tels l'épandage d'huile à la surface des eaux ou encore le piégeage massif des adultes à proximité des habitations. L'importance de ces méthodes est capitale en milieu urbain car elles permettent la

prévention et la réduction de l'abondance des espèces anthropophiles dangereuses telles *Aedes aegypti* (Linnaeus) et *Aedes albopictus* (Skuse) (Fontenille *et al.* 2009). Cependant, cette technique peut être difficilement applicable dans le cas de zones rurales humides d'importance économique (rizières, marais salants). De même, son manque évident de sélectivité la rend peu intéressante lorsqu'il s'agit de conserver intacts des milieux humides naturels à valeur écologique. La gestion environnementale peut enfin être limitée par un coût parfois énorme et difficile à assumer malgré une protection efficace; cet investissement ne peut se justifier par rapport au coût d'autres méthodes de lutte que sur le long terme (p.ex. pratiquer le remblai d'une zone humide plutôt que de la pulvériser de façon récurrente) et/ou si des bénéfices supplémentaires (p.ex. le drainage d'un territoire qui profite à l'agriculture) peuvent être pris en compte.

Contrôle chimique

Les moyens de contrôle chimique se sont diversifiés dans le temps (Regnault-Roger 2005; Yu 2008; Rattner 2009; Becker *et al.* 2010; Tableau 1). Des insecticides inorganiques (notamment dérivés de l'arsenic) étaient utilisés en grande majorité jusqu'à la seconde guerre mondiale. C'est à ce moment que l'avènement des insecticides organiques de synthèse eut lieu, généralement associé à la découverte par Paul Hermann Müller en 1939 des propriétés insecticides d'un organochloré: le DDT (dichloro-diphényltrichloroéthane; Organisation mondiale de la Santé 1989). Dans un contexte de guerre, ce produit fut utilisé intensivement par les Alliés pour lutter contre les vecteurs du typhus et du paludisme, permettant de sauver des milliers de vies. Le DDT fut commercialisé par la suite à des fins agricoles et repris dans des programmes d'éradication de maladies infectieuses à travers le monde (notamment la « Campagne mondiale d'éradication du paludisme » initiée en 1955 par l'Organisation mondiale de la Santé). Plusieurs familles d'insecticides organiques de synthèse ont également vu le jour durant cette seconde moitié du 20^e siècle, permettant une lutte contre de nombreuses espèces d'insectes nuisibles tant en lutte anti-vectorielle qu'en agriculture. C'est ainsi que les organophosphorés furent développés peu après le DDT durant la seconde guerre

Tableau 1. Principaux groupes d'insecticides organiques de synthèse utilisés en lutte anti-vectorielle (d'après Yu 2008; Becker *et al.* 2010).

Familles chimiques	Mode d'action
Organochlorés	
Cyclodiènes: Aldrine, Dieldrine	Sn ¹ : perturbation transmission axonale
Dichloro-diphényl-trichloroéthanes (DDT)	Sn: perturbation transmission axonale
Hexachlorocyclohexanes (HCH): Lindane	Sn: perturbation transmission axonale
Organophosphorés	
Aliphatiques: Dichlorvos, Malathion, Naled	Sn: perturbation transmission synaptique
Carbocycliques: Fenitrothion, Fenthion, Parathion	Sn: perturbation transmission synaptique
Hétérocycliques: Chlorpyrifos, Diazinon, Téméphos	Sn: perturbation transmission synaptique
Carbamates	
Carbocycliques: Carbaryl, Propoxur	Sn: perturbation transmission synaptique
Hétérocycliques: Bendiocarb, Carbosulfan	Sn: perturbation transmission synaptique
Pyréthriinoïdes	
Bifenthrine, Cyperméthrine, Deltaméthrine, Perméthrine	Sn: perturbation transmission axonale
Néonicotinoïdes	
Dinotéfurane	Sn: perturbation transmission synaptique
Régulateurs de croissance d'insectes	
Diflubenzuron, Novaluron	Inhibiteurs de la synthèse de chitine
Méthoprène, Fenoxycarb, Pyriproxifen	Analogues de l'hormone juvénile

¹ Sn = Système nerveux

mondiale, et que les carbamates furent produits à grande échelle au cours des années 1950. L'efficacité remarquable de ces trois grandes familles, agissant toutes au niveau du système nerveux des insectes, a conduit à la suprématie des insecticides organiques de synthèse entre 1950 et 1970. Mais les dégâts collatéraux causés dans les écosystèmes aquatiques et terrestres par ces composés bioaccumulables et peu sélectifs (Rattner 2009; Mitra *et al.* 2011), de même que les problèmes sanitaires résultants de la pollution des eaux de surface et des nappes phréatiques (Becker *et al.* 2010; Roberts *et al.* 2012), furent mis en évidence dès le début des années 1960 (Carson 1962) justifiant le retrait de certains de ces insecticides (dont le DDT). Leur utilisation intensive fut également responsable d'une apparition de résistances dans certaines populations d'insectes, limitant leur efficacité (Hamon et Garret-Jones 1963; Hamon *et al.* 1968, 1970; Hemingway et Ranson 2000; Weill *et al.* 2003; Nauen 2007; Rivero *et al.* 2010; Ranson *et al.* 2011). Le besoin de méthodes alternatives fut dès lors mis en évidence. Une nouvelle génération d'insecticides apparut à partir des années 1970, tentant de pallier à ces inconvénients: ce sont les pyréthriinoïdes, les néonicotinoïdes et les régulateurs de croissance. Tout comme leurs prédécesseurs, ces insecticides se sont révélés d'une grande efficacité. Cependant, les

problèmes liés aux pollutions environnementales et aux résistances des insectes continuent à persister, et compromettent leur utilisation à long terme (N'Guessan *et al.* 2007; Temu *et al.* 2012; Ochomo *et al.* 2013; Riaz *et al.* 2013). Un exemple récent peut être donné par des souches d'*Aedes aegypti* d'Amérique latine résistantes à pas moins de six organophosphorés et quatre pyréthriinoïdes (Rodriguez *et al.* 2007).

Contrôle biologique

Le contrôle biologique peut être défini comme « la réduction d'une population par l'utilisation de compétiteurs, prédateurs, parasites, pathogènes ou de toxines dérivées de ceux-ci » (Woodring et Davidson 1996). Il s'agit ainsi de maintenir une population sous un seuil acceptable en termes de nuisance et de risque épidémique (dans le cas de la lutte anti-vectorielle) par l'intermédiaire d'un organisme (dit auxiliaire) ou de substances d'origine naturelle tout en évitant des effets délétères à l'écosystème. Ce concept est ancien: il remonterait à l'Égypte antique lors de la domestication du chat pour protéger les denrées alimentaires des rongeurs. L'appellation de « lutte biologique » en tant que telle ne fût néanmoins employée pour la première fois qu'au début du 20^e siècle (Regnault-Roger 2005).

Cependant, le développement et l'utilisation massive d'insecticides organiques de synthèse à partir de la seconde guerre mondiale furent un frein considérable à cette pratique. Ces produits, peu coûteux et simples d'utilisation, ne souffraient d'aucune concurrence tant dans les domaines de l'agriculture que de la lutte antivectorielle. Ce n'est que lors de la découverte des inconvénients majeurs de ces insecticides au début des années 1960 que le besoin d'agents de contrôle sélectifs fut mis en évidence et qu'un regain d'intérêt eu lieu pour la lutte biologique. Un tournant important fut la découverte de la toxicité sélective de certaines souches de *Bacillus thuringiensis* Berliner, rapidement développées sous forme de produits commerciaux insecticides (Regnault-Roger 2005; Becker *et al.* 2010). Par soucis de facilité, la distinction sera ici faite entre les organismes auxiliaires macroscopiques (les entomophages) et microscopiques (les entomopathogènes).

Les entomophages

La littérature scientifique regorge aujourd'hui d'utilisations à succès d'organismes entomophages. Cependant, cette pratique vaut essentiellement dans le domaine agricole (pensons à l'emblématique coccinelle et son puceron) et ne parvient pas à s'imposer en lutte antivectorielle (Kumar et Hwang 2006; Becker *et al.* 2010). Dans le cas qui nous occupe, l'utilisation d'organismes prédateurs de moustiques est limitée par une production massive difficile et coûteuse, une activité prédatrice peu spécifique, ainsi qu'un déséquilibre potentiel des écosystèmes. Mammifères, Oiseaux, Amphibiens, Cnidaires, Plathelminthes, Arachnides, ou encore Insectes aquatiques se sont ainsi révélés peu efficaces en termes de régulation de population des moustiques (Kumar et Hwang 2006; Raghavendra *et al.* 2008; Shaalan et Canyon 2009; Becker *et al.* 2010; Tableau 2). Notons toutefois l'utilisation à succès de Copépodes du genre *Mesocyclops* Sars dans des récipients de stockage d'eau permettant d'éliminer les stades immatures d'*Aedes aegypti* au Vietnam (Nam *et al.* 2012). Une exception peut encore être faite des poissons prédateurs tels la gambusie (*Gambusia affinis* (Baird et Girard)) et le guppy (*Poecilia reticulata* Peters) (Chandra *et al.* 2008), mais ils sont rarement employés dans des programmes de gestion.

Les entomopathogènes

Les organismes pathogènes ou parasites sont potentiellement plus intéressants dans le contrôle biologique des moustiques que les entomophages (Chapman 1974; Lacey et Undeen 1986; Becker *et al.* 2010; Abdul-Ghani *et al.* 2012). Le terme de « lutte microbiologique » sera préféré car l'organisme antagoniste sera un micro-organisme: un champignon, une bactérie, un virus ou encore un protozoaire. Les nématodes sont également considérés comme tels. Ce concept aurait été initié à la fin du 19^e siècle par Pasteur et de nombreux micro-organismes pathogènes envers divers insectes ont été mis en évidence depuis lors. Ces pathogènes possèdent la capacité de surpasser les défenses de l'insecte hôte et de l'infecter; ils s'y multiplient ensuite et provoquent sa mort à plus ou moins long terme que ce soit par l'émission de substances toxiques et/ou la destruction de certains tissus.

Contrôle génétique

Un contrôle génétique (c'est-à-dire par une altération ou un remplacement du matériel héréditaire) des moustiques selon deux stratégies est aussi envisageable (Alphey *et al.* 2002; Wilke *et al.* 2009; Becker *et al.* 2010; Resnik 2012). (1) La lutte autocide consiste à introduire des individus stériles dont les accouplements ne permettront pas de descendance dans la population ciblée. Cette méthode spécifique à l'espèce de moustique repose sur l'élevage intensif, la stérilisation des mâles (n'effectuant pas de repas de sang), et le relargage de ceux-ci dans l'environnement. Elle n'a cependant permis d'obtenir des résultats qu'en milieu insulaire (isolé) du fait du peu de compétitivité des mâles stériles et de l'immigration de nouvelles souches de moustiques depuis des zones non traitées. De plus, un grand nombre d'individus doit être relâché pour que cette technique soit efficace, ce qui la rend coûteuse et peu abordable. Ainsi, la réduction de près de 99% de la population indigène de *Culex quinquefasciatus* Say d'une petite île (<1 km²) de Floride a été obtenue après la libération quotidienne de plusieurs milliers d'individus stériles sur une période de 12 jours (Patterson *et al.* 1970). Au contraire, l'introduction de près de 85 000 mâles stériles de *Culex tarsalis* Coquillett dans un canyon semi-isolé de Californie n'a pas eu d'effet sur la population locale (Milby *et al.* 1983). (2) Le

Tableau 2. Principaux groupes d'entomophages utilisés contre les moustiques et exemples d'espèces (d'après Kumar et Hwang 2006; Becker *et al.* 2010).

Classe	Ordre	Espèce
Vertebrata		
Actinopterygii	Cyprinodontiformes	<i>Gambusia affinis</i> <i>Poecilia reticulata</i>
Amphibia	Urodela	<i>Triturus vulgaris</i>
	Anura	<i>Rana temporaria</i>
Aves	Anseriformes	<i>Anas platyrhynchos</i>
Mammalia	Chiroptera	<i>Myotis daubentonii</i>
Invertebrata		
Hydrozoa	Hydroida	<i>Chlorohydra viridissima</i>
Turbellaria	Rhabdocoela	<i>Mesostoma</i> species <i>Bothromesostoma</i> species
Arachnida	Araneae	<i>Argyroneta aquatica</i>
Crustacea	Notostraca	<i>Triops cancriformis</i>
	Copepoda Cyclopoida	<i>Mesocyclops aspericornis</i>
Insecta	Odonata	
	Aeshnidae	<i>Aeshna cyanea</i>
	Coenagrionidae	<i>Coenagrion puella</i>
	Libellulidae	<i>Sympetrum striolatum</i>
	Hemiptera	
	Corixidae	<i>Corixa punctata</i> <i>Cymatia coleoptrata</i>
	Naucoridae	<i>Ilyocoris cimicoides</i>
	Nepidae	<i>Nepa cinerea</i> <i>Ranatra linearis</i>
	Notonectidae	<i>Anisops assimilis</i> <i>Notonecta undulata</i> <i>Notonecta unifasciata</i>
	Pleidae	<i>Plea leachi</i>
	Gerridae	<i>Gerris lacustris</i>
	Hydrometridae	<i>Hydrometra stagnorum</i>
	Coleoptera	
	Dytiscidae	<i>Dytiscus marginalis</i> <i>Laccophilus</i> species <i>Rhantus pulverosus</i>
	Hydrophilidae	<i>Hydrophilus caraboides</i>
	Trichoptera	<i>Phryganea</i> species <i>Limnephilus</i> species
	Diptera	
	Chaoboridae	<i>Chaoborus albus</i> <i>Mochlonyx culiciformis</i>
	Culicidae	<i>Toxorhynchites</i> species

remplacement d'une population par des individus rendus non compétents vis-à-vis d'un pathogène par le biais de manipulations génétiques (et dès lors incapables de le transmettre) semble prometteuse mais pose des problèmes d'ordre éthique et légal dans la mesure où l'impact de moustiques

transgéniques sur l'environnement n'a pas été évalué (persistance des moustiques, apparition de phénotypes inattendus, expansion de maladies minoritaires non-ciblées). Par exemple, la sur-expression de protéines Akt dans l'intestin moyen du moustique *Anopheles stephensi* Liston a permis

de renforcer l'immunité de ce dernier et de réduire l'acquisition de sporozoïtes infectieux de *Plasmodium falciparum* Welch responsables du paludisme (Corby-Harris *et al.* 2010). Dans le même ordre d'idée, une nouvelle approche basée sur les micro-organismes symbiotiques du moustique permettrait d'annihiler sa capacité à transmettre un pathogène donné (Ricci *et al.* 2011): les symbiontes qui contribuent à cette capacité sont éliminés ou modifiés (paratransgénèse) de manière à rendre l'insecte incompetent vis-à-vis de l'agent infectieux. Parmi les symbiontes de moustiques connus, deux genres offrent des perspectives particulièrement intéressantes: *Wolbachia* Hertig et *Asaia* Yamada *et al.* Les défenseurs de cette approche revendiquent l'appellation de contrôle symbiotique.

La lutte microbiologique

La plupart des micro-organismes possèdent un spectre d'hôtes étroit de leur mode d'action spécifique, ce qui permet de limiter les effets sur les organismes non ciblés: c'est là leur atout commun. Le choix d'un agent de contrôle microbien dépend de l'espèce d'insecte ciblée, et par-delà des possibilités de conditionnement et d'application de l'agent lui-même. Plusieurs stratégies d'application de ces micro-organismes existent (Regnault-Roger 2005). Il peut s'agir de promouvoir les micro-organismes existant déjà dans l'environnement de l'insecte ciblé (augmentation), ou encore de les y introduire et les acclimater à long terme (inoculation). Mais les micro-organismes sont plus particulièrement indiqués pour être appliqués sous forme de biopesticides (inondation) pour un contrôle rapide des populations d'insectes.

Développement d'un biopesticide microbien

Que ce soit en agriculture ou en lutte antivectorielle, le développement d'un micro-organisme en tant qu'agent de contrôle suit le même schéma (Regnault-Roger 2005; Becker *et al.* 2010). (1) Celui-ci doit être isolé depuis l'environnement et caractérisé du point de vue taxonomique, écologique et physiologique. (2) Des milieux de culture adéquats doivent être développés. (3) Les souches les plus virulentes sont ensuite sélectionnées en laboratoire et en conditions

environnementales. Pour se faire, une relation dose/mortalité est établie et l'efficacité du micro-organisme envers l'insecte ciblé (larve et/ou adulte) est classiquement traduite par la CL₅₀ (concentration létale occasionnant 50% de mortalité), la DL₅₀ (dose létale occasionnant 50% de mortalité) ou encore le TL₅₀ (temps au cours duquel 50% de mortalité est observée). A cet égard, les larves de moustiques représentent une cible de choix car elles demeurent confinées dans les sites de ponte, à l'inverse des adultes qui tendent à se disperser dans l'environnement. Une série de recommandations a été publiée par l'Organisation mondiale de la Santé afin de standardiser les tests de toxicité (Organisation mondiale de la Santé 2005). (4) La virulence du micro-organisme envers les organismes non ciblés doit également être testée. (5) Une méthode de production massive des micro-organismes d'intérêt doit enfin être développée, de même que (6) une formulation (conditionnement) adéquate pour améliorer le stockage, augmenter l'efficacité, ou encore faciliter l'application du produit.

Les bactéries entomopathogènes

Diversité

Les bactéries entomopathogènes développées en tant qu'agents de lutte appartiennent pour la plupart aux familles des *Bacillaceae* Fischer et *Enterobacteriaceae* Rahn (Regnault-Roger 2005). Dans son ouvrage, Paillot (1933) reconnaissait déjà le pouvoir infectieux de ces micro-organismes: selon les espèces, les bactéries entomopathogènes ont la capacité d'infecter leur hôte par voie intestinale (via leur ingestion), par voie tégumentaire (via les blessures) ou encore par le biais d'un parasite (notamment des nématodes). L'infection peut alors demeurer localisée dans une partie du corps de l'insecte, ou gagner l'hémolymphe et se révéler septicémique. Dans certains cas, la production de toxines entraîne des lésions cellulaires et amène à la mort de l'insecte. Dans le cas des moustiques, les bactéries pathogènes les plus importantes appartiennent au genre *Bacillus* Cohn. Cette section se propose de se concentrer sur les principaux agents de lutte bactériens dirigés contre les moustiques: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* et *Bacillus sphaericus* Neide (Lacey 2007). Il convient cependant de signaler l'existence

d'autres souches d'intérêt, bien moins exploitées, pathogènes envers les moustiques; il en est ainsi de *Bacillus thuringiensis* var. *jegathesan*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *Bacillus laterosporus* Laubach ou encore de *Clostridium bifermentans* (Weinberg et Séguin) (Porter 1996; Charles et Nielsen-LeRoux 2000; Tableau 3).

Le genre *Bacillus*

Le genre *Bacillus* (*Bacillaceae*) correspond à un ensemble d'espèces de bactéries aérobies Gram positives; pour la grande majorité saprophyte, celles-ci se retrouvent dans le sol de nombreux environnements, formant des endospores en conditions défavorables. Si *Bacillus cereus* Frankland et Frankland et *B. anthracis* Cohn sont des pathogènes humains redoutés, certaines espèces démontrent un potentiel insecticide remarquable (Prescott *et al.* 2003). C'est notamment le cas de *Bacillus thuringiensis*, dont les formulations commerciales sont les plus vendues parmi les insecticides biologiques (Lacey 2007). Cette bactérie a la particularité de synthétiser une inclusion cristalline composée de toxines insecticides (les delta-endotoxines) pendant la phase de sporulation. Ces delta-endotoxines comprennent deux familles: les protéines Cry (possédant un haut niveau de spécificité) et Cyt. Suivant les souches, cette bactérie est ainsi utilisée pour le contrôle de Lepidoptera, Diptera et Coleoptera (Schnepf *et al.* 1998; van Frankenhuyzen 2009). Il est à noter que, actuellement, la classification des souches de *Bacillus thuringiensis* est basée sur le sérotypage des antigènes flagellaires et non le type de delta-endotoxines qu'elles produisent (de Barjac et Frachon 1990).

Bacillus thuringiensis var. *israelensis*

C'est en 1976 que Goldberg et Margalit (1977) isolèrent en Israël la bactérie *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* à partir de larves de *Culex pipiens* Linnaeus. Margalit et Deam (1985) établirent la sensibilité de nombreuses espèces de moustiques et simuliés (Diptera: Simuliidae), et cette liste fut encore augmentée par la suite (Glare et O'Callaghan 1998; Boisvert et Boisvert 2000). Cependant, le spectre d'activité de cette bactérie demeure restreint principalement au sous-ordre des Nématocères Culicomorphes. Son innocuité vis-à-vis d'autres organismes, y compris l'homme, est prouvée: l'ingestion sous

quelque forme que ce soit est sans danger (Boisvert et Boisvert 2000).

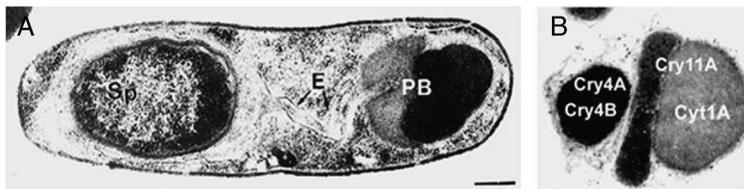
Cette spécificité de l'effet toxique fut d'un intérêt majeur et la bactérie (sérotypage H-14) est aujourd'hui à la base de produits commerciaux largement répandus (Lacey 2007). Comment l'expliquer? Il faut savoir que l'effet larvicide de la bactérie provient notamment du cristal formé lors de la sporulation (Aronson et Shai 2001; Bravo *et al.* 2007; Soberon *et al.* 2007; Otieno-Ayayo *et al.* 2008; Bravo *et al.* 2011; Fig. 1, extraite de Federici *et al.* 2003). Quatre étapes sont requises. (1) Tout d'abord, il est nécessaire que l'insecte puisse ingérer ces cristaux. (2) Ceux-ci doivent ensuite être dissout par le pH alcalin du mésentéron de la larve, libérant les précurseurs de toxines protéiques: les protoxines (ou delta-endotoxines). (3) Le clivage des régions N- et/ou C-terminales des protoxines par des protéases permet de générer quatre toxines actives: Cry4A, Cry4B, Cry11A et Cyt1A. (4) Ces toxines agissent en synergie et détruisent l'épithélium intestinal: elles se fixent spécifiquement à un récepteur membranaire à la surface des cellules épithéliales du mésentéron, et leur oligomérisation conduit à la formation de pores dans la membrane plasmique permettant ainsi l'entrée d'ions dans la cellule atteinte. Le potentiel transmembranaire détruit, une lyse cellulaire osmotique s'ensuit. Le tube digestif s'en retrouve ainsi perforé et paralysé, et la mort de l'insecte survient dans les 24 à 48 heures. Ce serait ainsi la capacité de l'organisme à activer les toxines et la présence/absence de récepteurs membranaires propres à celles-ci qui conditionnerait en grande partie la spécificité du potentiel létal de la bactérie envers les espèces cibles. Une fois le tube digestif perforé, les spores bactériennes peuvent germer et proliférer dans l'hémolymph, résultant en une septicémie.

Bacillus sphaericus

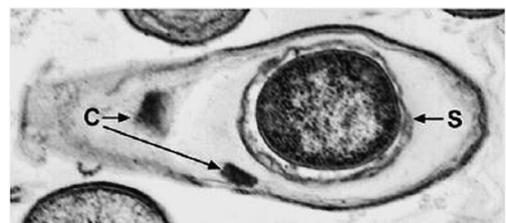
Bacillus sphaericus est une autre *Bacillaceae* commercialisée sous forme de biopesticide (Lacey 2007). La première souche pathogène vis-à-vis des moustiques fut découverte en 1965 mais démontra un faible pouvoir de contrôle; de nombreuses autres souches bien plus intéressantes furent découvertes par la suite, parmi lesquelles les souches 1593 (Wickremesinghe et Mendis 1980) et 2362 (Weiser 1984) appartenant au sérotypage flagellaire H5a5b. À la différence de

Tableau 3. Principaux groupes de bactéries affectant les moustiques, et espèces d'intérêt illustrant les genres concernés.

Famille	Espèce	Référence
Bacillaceae	<i>Bacillus laterosporus</i>	Orlova <i>et al.</i> (1998), Charles et Nielsen-LeRoux (2000)
	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	Goldberg et Margalit (1977)
	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>jegathesan</i>	Delécluse <i>et al.</i> (1995), Porter (1996)
	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	Ignoffo <i>et al.</i> (1981); Porter (1996)
	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>medellin</i>	Orduz <i>et al.</i> (1998), Charles et Nielsen-LeRoux (2000)
Clostridiaceae	<i>Bacillus sphaericus</i>	Wickremesinghe et Mendis (1980); Weiser (1984)
	<i>Clostridium bifermentans</i> var. <i>malaysia</i>	de Barjac <i>et al.</i> (1990), Porter (1996)
	<i>Clostridium bifermentans</i> var. <i>paraiba</i>	Seleena et Lee (1998)
Enterobacteriaceae	<i>Photobacterium luminescens</i>	da Silva <i>et al.</i> (2013)
	<i>Photobacterium temperata</i>	Ahn <i>et al.</i> (2013)
	<i>Xenorhabdus nematophila</i>	da Silva <i>et al.</i> (2013)

Fig. 1. (A) Cellule sporulante de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* et (B) inclusion cristalline montrant les toxines individuelles qui la composent (Cry4A, Cry4B, Cry11A, Cyt1A). Sp = spore; E = exosporium; PB = inclusion cristalline. Extraite de Federici *et al.* (2003).

Bacillus thuringiensis var. *israelensis*, cette bactérie produit une toxine unique (Bin) lors de la sporulation (Baumann *et al.* 1991; Charles *et al.* 1996; Park *et al.* 2010; Berry 2012). Cette toxine est composée de deux sous-unités (BinA et BinB), produites en concentration équimolaire, qui co-cristallisent en un corps parasporal (Fig. 2, extraite de Park *et al.* 2010). La spore bactérienne ingérée, les protéines BinA et BinB sont libérées sous pH alcalin et clivées par des protéases. Les peptides qui en résultent constituent la toxine active (Lacey 2007; Berry 2012). BinB représente le domaine de liaison et détermine la spécificité à l'hôte: il lie spécifiquement une α -glucosidase à la surface des microvillosités des cellules épithéliales intestinales. BinA représente quant à lui le domaine toxique et procède à la formation de pores dans les membranes ciblées. Ainsi, BinB ne peut entraîner de toxicité seule, tandis que BinA requiert cette dernière pour une activité optimale. Enfin, il est à noter également que plusieurs souches de *Bacillus*

Fig. 2. Vue en microscopie électronique d'une cellule sporulante de *Bacillus sphaericus* 2362. C = corps parasporal; S = spore. Extraite de Park *et al.* (2010).

sphaericus ont la capacité de produire des toxines Mtx dirigées exclusivement contre les moustiques (Park *et al.* 2010). Cependant, ces toxines ne se rencontrent pas dans les spores bactériennes: elles sont exclusivement produites durant la phase végétative et ne cristallisent pas. De plus, une fois ingérées, elles sont rapidement dégradées par des

protéases cellulaires. En conséquence, leur contribution à l'effet larvicide demeure limitée.

Potentiel biopesticide

Si le potentiel larvicide de ces bactéries a pu être exploité avec succès (Becker 1997), c'est dû en grande partie à leur capacité d'être aisément cultivées sur un milieu artificiel. Les bactéries sont produites par fermentation puis amenées à sporuler. Les cristaux sont récupérés et conditionnés sous quatre principales formes de produits commerciaux: poudres, granules, briquettes ou liquides. Le choix dépend de l'insecte ciblé, du milieu à traiter et de la persistance de l'effet toxique désirée. Cependant, si la bactérie ne produit qu'une seule spore à l'extrémité de la cellule et un seul cristal à l'autre, il n'y a pas de lien entre la quantité de toxines contenues dans les cristaux et le nombre de spores bactériennes présentes dans une formulation. C'est pour cette raison que le potentiel larvicide d'une formulation est exprimé sous forme d'Unité Internationale Toxique (UIT) par unité de poids (Boisvert et Boisvert 2000).

Tant *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* que *Bacillus sphaericus* induisent une mortalité larvaire dans les 24 à 48 heures suivant l'ingestion et peuvent être utilisés simultanément avec d'autres agents de contrôle. Cependant, ces deux bactéries présentent un spectre d'action différent. C'est en effet l'interaction entre les différentes toxines et leur récepteur respectif qui détermine la gamme d'hôtes potentiels. Bien que la susceptibilité d'un insecte puisse varier au sein d'un même genre suivant la souche bactérienne testée, il est généralement admis que les toxines de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sont actives tant contre les larves de moustiques appartenant aux genres *Culex* et *Aedes* (mais peu contre *Anopheles*) que de simuliés (Balaraman *et al.* 1983; Charles et Nielsen-LeRoux 1996). Quatre produits ont ainsi été commercialisés dans plusieurs pays pour le contrôle de moustiques et de simuliés, dont deux (sérotipe H-14) se sont révélés être des outils importants dans les programmes de lutte: VectoBac[®] et Teknar[®] (Valent BioSciences, Libertyville, Illinois, États-Unis d'Amérique). Au contraire, le spectre d'activité de *Bacillus sphaericus* est uniquement restreint aux moustiques et, d'une manière générale, ses toxines sont reconnues comme étant hautement pathogènes pour beaucoup d'espèces

d'*Anopheles* et de *Culex*, mais ne permet d'atteindre que des espèces d'*Aedes* d'intérêt marginal (Charles et Nielsen-LeRoux 1996). Cette bactérie a de plus l'avantage d'être plus efficace en eau polluée. Un seul produit, basé sur la souche 2362, a été commercialisé: VectoLex[®] (Valent BioSciences, Libertyville, Illinois, États-Unis d'Amérique).

Malgré son utilisation intensive dans de nombreux écosystèmes, aucun cas de résistance n'a été observé vis-à-vis de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Ceci s'explique par la diversité des toxines auxquelles sont soumises les populations ciblées (Likitvivatanavong *et al.* 2011). Cependant, des cas de résistances ont pu être induits en laboratoire (Charles et Nielsen-LeRoux 2000, Paris *et al.* 2011), suggérant un manque de sensibilité des outils diagnostics (Tetreau *et al.* 2013b). Le constat est plus alarmant dans le cas de *Bacillus sphaericus*: la toxine Bin agissant sur un récepteur bien défini, son utilisation en tant que composé principal dans les produits commerciaux a conduit à l'apparition de résistances dans les populations de moustiques en conditions de terrain dans plusieurs pays (Charles *et al.* 1996; Nielsen-LeRoux *et al.* 2002; Park *et al.* 2010). L'utilisation à long terme est donc remise en question. Afin de gérer ces apparitions, il serait nécessaire de pratiquer une rotation des traitements à base de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* et *Bacillus sphaericus*, ou encore d'utiliser simultanément les deux (VectoMax[®]) (Charles et Nielsen-LeRoux 1996; Park *et al.* 2010). Une autre possibilité serait de promouvoir le développement de souches recombinantes, c'est-à-dire modifiées génétiquement par l'introduction de nouveaux gènes, afin d'en augmenter l'efficacité. Il s'agirait ainsi d'allier les différentes toxines de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, *Bacillus sphaericus* ou toute autre souche d'intérêt en une seule bactérie: par leurs modes d'action différents, la résistance à l'une de ces toxines peut être palliée par les autres. Il est en effet plus difficile pour un insecte de développer une résistance simultanément contre plusieurs toxines plutôt qu'une seule (Federici *et al.* 2003; Federici 2010). Il est par exemple établi que Cyt1A a la capacité d'entrer en synergie non seulement avec les endotoxines de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* mais aussi avec la toxine Bin de *Bacillus sphaericus*, permettant alors de supprimer toute résistance envers cette dernière

Tableau 4. Principaux groupes de virus affectant les moustiques (d'après Becnel 2006; Becnel et White 2007).

Famille	Genre	Nom vulgaire français	Acide nucléique
Virus occlus			
Baculoviridae	<i>Nucleopolyhedrovirus</i>	Virus de la polyédrose nucléaire	ADNdb
Poxviridae	<i>Entomopoxvirus</i>	Virus entomopox	ADNdb
Reoviridae	<i>Cypovirus</i>	Virus de la polyédrose cytoplasmique	ARNdb
Virus non-occlus			
Iridoviridae	<i>Chloriridovirus</i>	Virus iridescents	ADNdb
Parvoviridae	<i>Brevidensovirus</i>	Virus de la denonucléose	ADNsb

(Wirth *et al.* 2000). Cependant, l'utilisation de bactéries génétiquement modifiées dans l'environnement pose à nouveau des problèmes d'ordre éthique et légal.

Les virus entomopathogènes

Diversité

Les souches virales entomopathogènes connues se répartissent au sein d'au moins sept familles: Baculoviridae, Iridoviridae, Poxviridae, Reoviridae, Parvoviridae, Picornaviridae et Rhabdoviridae (Prescott *et al.* 2003). Ces virus entomopathogènes peuvent être répartis au sein de deux grands groupes distincts: occlus et non-occlus (Becnel 2006; Becnel et White 2007; Tableau 4). Un virus est dit occlus lorsque les particules virales nouvellement produites sont enchâssées dans une matrice protéique cristalline (ou corps d'occlusion) de forme tridimensionnelle variant selon les espèces. Ce sont notamment, dans le cas des moustiques, des virus de la polyédrose nucléaire (Baculoviridae), des virus de la polyédrose cytoplasmique (Reoviridae) et des Entomopoxvirus (Poxviridae) (Becnel 2006; Becnel et White 2007). Au contraire, les particules virales nouvellement produites des virus non-occlus ne forment que de simples agrégats (réseaux) intracellulaires (ou corps d'inclusions paracrystallins) et ne possèdent pas de corps d'occlusion. Ce sont notamment (toujours dans le cas des moustiques) des virus iridescents (Iridoviridae) et des virus de la denonucléose (Parvoviridae) (Becnel 2006; Becnel et White 2007). C'est à ces derniers que cette section sera consacrée.

De nombreux virus de la denonucléose sont désormais connus pour infecter différentes espèces d'insectes réparties dans cinq ordres (Lepidoptera, Diptera, Orthoptera, Dictyoptera,

Odonata) et même certains crustacés (Bergoin et Tijssen 2000). Les virus de la denonucléose du moustique (mosquito denonucleosis viruses, MDV) appartiennent aux genres *Brevidensovirus* et *Densovirus*. Ces virus se répliquent dans le noyau de cellules de moustiques et y provoquent une hypertrophie (denonucléose) caractéristique à laquelle ils doivent leur nom. Les différentes souches sont nommées d'après l'espèce de moustique à partir de laquelle elles ont été isolées, souvent à partir d'un criblage en culture cellulaire. Cette désignation ne reflète donc pas nécessairement une spécificité de la souche virale (Carlson *et al.* 2006). Le premier MDV fut isolé en Russie à partir d'une colonie de laboratoire d'*Aedes aegypti* et baptisé AaeDNV (Lebedeva *et al.* 1972). Un second (AalDNV) fut isolé près de vingt ans plus tard à partir d'une culture cellulaire d'*Aedes albopictus* (Jousset *et al.* 1993), et de nombreuses autres souches furent mises en évidence dans les années qui suivirent.

Les virus de la denonucléose du moustique

Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires qui utilisent la machinerie cellulaire pour se répliquer; les virions nouvellement produits mènent souvent à la lyse de cette cellule et à la mort de l'organisme hôte (Prescott *et al.* 2003). Une particule virale de MDV (Fig. 3, d'après Carlson *et al.* 2006) d'environ 20 nm de diamètre, consiste en une nucléocapside icosaédrique dépourvue d'enveloppe (Fig. 3A). Le génome se compose de molécules d'ADN simple brin linéaires; celles-ci codent pour des protéines structurales de capsid (VP1 et VP2) et des protéines non-structurales (NS1 et NS2) (Carlson *et al.* 2006). Les papilles anales des larves constituent le site d'infection primaire. La réplication a lieu dans le noyau des cellules infectées (Fig. 3B) et le

Fig. 3. Vue en microscopie électronique de l'AaeDNV dans une larve d'*Aedes aegypti* infectée. (A) Particules virales d'AaeDNV. (B) Noyaux hypertrophiés (flèches) dans un corps gras. (C) Réseaux intracellulaires de virions. D'après Carlson *et al.* (2006).

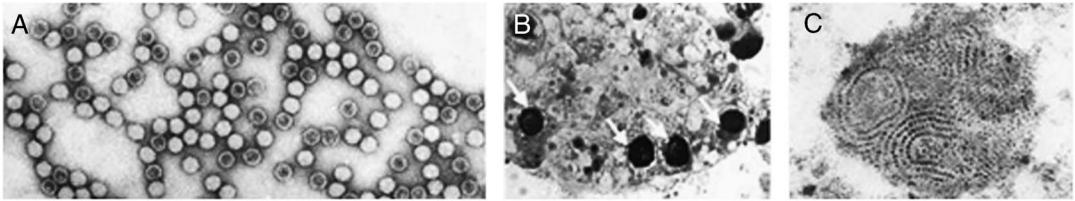
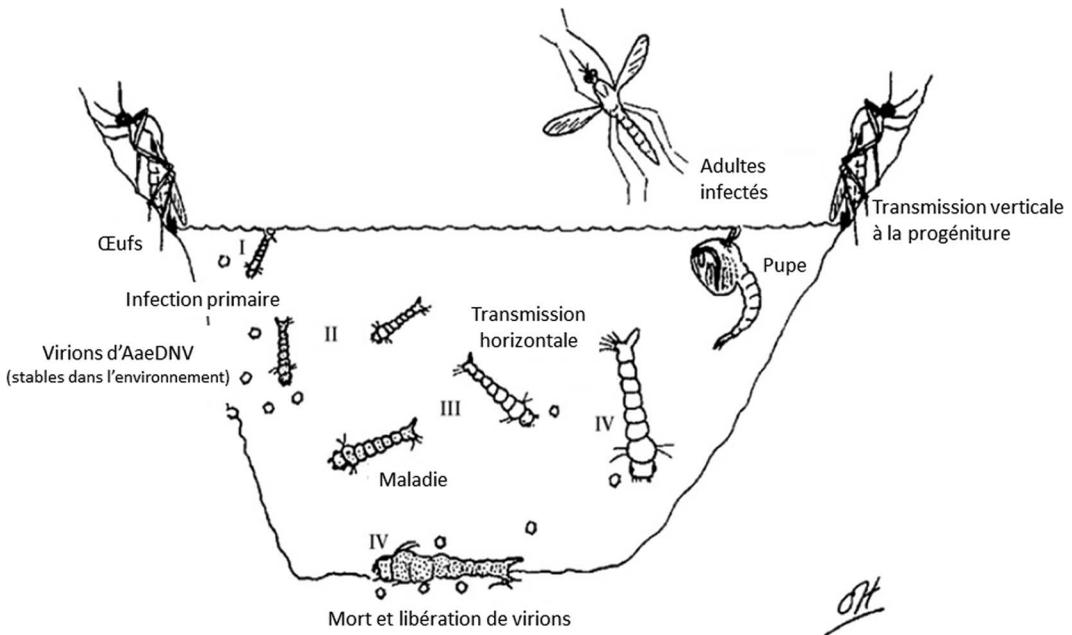


Fig. 4. Cycle d'un virus de la denoncléose du moustique. D'après Carlson *et al.* (2006).



brin sens négatif (c'est-à-dire complémentaire à l'ARNm) est repris pour former les virions. Ceux-ci s'agrègent sous formes d'inclusions paracrystallines au sein même de la cellule infectée (Fig. 3C). Les particules virales gagnent ensuite les corps gras puis la plupart des autres tissus (notamment l'hypoderme, le système nerveux et les muscles) (Becnel et White 2007). Une partie des virions nouvellement formés sont excrétés dans l'environnement (Fig. 4, d'après Carlson *et al.* 2006); une transmission horizontale du virus (c'est-à-dire d'une larve à l'autre) tant intra- qu'interspécifique est ainsi possible. À partir de là, deux issues sont reconnues: soit la larve infectée meurt, soit elle parvient

à se nymphoser et devenir adulte. Les adultes issus de larves infectées ont une durée de vie et une fécondité amoindries; les femelles sont également capables de transmettre le virus à la descendance (transmission verticale) et peuvent ainsi le disséminer d'un site de ponte à l'autre (Carlson *et al.* 2006). Enfin, les MDV ne semblent pas capables de se répliquer au sein de vertébrés: ces virus ciblent spécifiquement les moustiques (et même, certaines espèces) par des mécanismes d'infection et de répllication précis. Par exemple, AeDNV est connu pour infecter les genres *Aedes*, *Culex* et *Culiseta* Felt mais aucun cas évident n'a été reporté pour *Anopheles* (Carlson *et al.* 2006).

Potentiel biopesticide

Les potentialités des MDV dans le contrôle des moustiques sont discutées dans Becnel et White (2007). Leur relative stabilité dans l'environnement et leur mode d'action spécifique font des MDV des agents microbiens de grand intérêt pour les programmes de lutte intégrée. De plus, les possibilités de transmission verticale de ces virus permettraient d'atteindre les sites de ponte isolés et temporaires (pneus, canettes,...) d'ordinaire difficiles à traiter. Il serait également possible de modifier une souche virale pour en exacerber certaines caractéristiques d'intérêt (persistance, toxicité,...). Cependant, la production de particules virales représente la contrainte majeure de ces agents. À ce jour, une seule préparation (Viroden, basée sur l'AaeDNV) destinée au contrôle des moustiques fut développée. Ce produit s'est révélé efficace contre les larves d'*Aedes aegypti*: les populations soumises en conditions de terrain se sont vues réduites d'environ 77% (Buchatsky *et al.* 1987). De plus, son mode d'action spécifique le rendait sans danger pour les organismes à sang chaud (Vasil'eva *et al.* (1990) cité par Becnel et White (2007)). Bien que prometteur, les difficultés de production massive expliquent que le Viroden n'a jamais été testé à grande échelle. Ainsi, pour pouvoir utiliser de façon rentable les virus comme agents de contrôle, il est besoin d'affiner les méthodes de production (Becnel et White 2007). Actuellement, le développement de cultures continues de cellules C6/36 d'*Aedes albopictus* adaptées à une culture SFPFM ouvre des nouvelles perspectives. Ce procédé permet la production de grandes quantités de virus à bien moindre coût (Suchman et Carlson 2004). À cela peut s'ajouter une méthode de purification de MDV à large échelle au moyen de membranes échangeuses d'ions (Specht *et al.* 2004; Han *et al.* 2005).

Il est enfin à noter que cette stabilité et cette spécificité permettent d'utiliser les MDV en tant que vecteurs de transfert de gènes dans les larves de moustiques. Le processus peut être amplifié par la transmission horizontale des particules virales. Les MDV pourraient ainsi être utilisés comme outils de contrôle génétique: ils permettraient d'immuniser une population de moustiques vis-à-vis d'un pathogène d'importance médicale ou vétérinaire, ou du moins d'en réduire le potentiel vecteur (Carlson *et al.* 2006; Gu *et al.* 2011).

Dans le même ordre d'idée, certains auteurs vont jusqu'à imaginer utiliser les virus pour sensibiliser les moustiques aux insecticides: ceci permettrait de diminuer les doses employées et d'augmenter l'efficacité des traitements (Lapied *et al.* 2009).

Les champignons entomopathogènes

Diversité

De 700 à 800 espèces de champignons auraient été reconnues comme pathogènes d'insectes et/ou d'acariens (Regnault-Roger 2005). Leur répartition taxonomique est variée: Ascomycètes, Chytridiomycètes, Oomycètes (anciennement rattachés aux champignons), ou encore Zygomycètes. Le système de classification adopté, en constante évolution, sera celui de Kirk *et al.* (2008) (<http://www.speciesfungorum.org/>).

Dans la recherche d'alternatives aux insecticides, il n'est pas surprenant qu'un intérêt certain se soit également porté sur les champignons entomopathogènes. Les espèces utilisées en recherche appartiennent pour la plupart aux groupes des Zygomycètes (et plus particulièrement à l'ordre des Entomophthorales) et des Ascomycètes (notamment de l'ordre des Hypocreales) (Shah et Pell 2003; Charnley et Collins 2007). Certaines espèces sont désormais utilisées principalement en agriculture; malheureusement, l'emploi de ces champignons en lutte anti-vectorielle rencontre moins de succès. Scholte *et al.* (2004) résumant de façon remarquable les recherches de ces dernières décennies sur le contrôle des moustiques par des isolats fongiques et met plus particulièrement l'accent sur les genres *Lagenidium* Schenk (Oomycota), *Coelomomyces* Keilin (Chytridiomycota), *Entomophthora* Krenner (Zygomycota Entomophthorales), *Culicinomyces* Couch (Ascomycota Hypocreales), *Beauveria* Vuillemin (Ascomycota Hypocreales) et *Metarhizium* Sorokin (Ascomycota Hypocreales) (Tableau 5). Puisque les espèces de champignons ciblées pour le développement de myco-insecticides dans le contrôle des moustiques sont pour la plupart des Hypocreales (Butt *et al.* 2001), cette section sera principalement axée sur ceux-ci. Davantage d'informations sur la biologie et les voies d'infection des autres groupes de champignons sont données par Shah et Pell (2003), Scholte *et al.* (2004), Charnley et Collins (2007).

Tableau 5. Principaux groupes de champignons affectant les moustiques, et espèces d'intérêt illustrant les genres concernés (d'après Scholte *et al.* 2004; classification d'après Kirk *et al.* 2008).

Règne	Embranchement	Ordre	Espèce
Chromista	Oomycota	Peronosporales	<i>Crypticola clavulifera</i> <i>Lagenidium giganteum</i> <i>Pythium flevoense</i> <i>Pythium carolinianum</i>
		Saprolegniales	<i>Leptolegnia caudata</i> <i>Leptolegnia chapmanii</i>
Fungi	Chytridiomycota	Blastocladales	<i>Coelomomyces indicus</i> <i>Coelomomyces psorophorae</i> <i>Coelomomyces stegomyiae</i>
	Zygomycota	Entomophthorales	<i>Conidiobolus coronatus</i> <i>Entomophthora culicis</i> <i>Entomophthora destruens</i> <i>Erynia aquatica</i>
	Ascomycota	Harpellales	<i>Smittium morbosum</i>
Hypocreales		<i>Culicinomyces clavisporus</i> <i>Beauveria bassiana</i> <i>Beauveria brongniartii</i> <i>Metarhizium anisopliae</i> <i>Tolypocladium cylindrosporium</i>	

Les Hypocreales

Une large présentation de la biologie des Hypocreales et des aspects biochimiques liés au processus infectieux est donnée par Shah et Pell (2003) et Khachatourians et Qazi (2008). Les conidies (ou spores) de ces champignons filamenteux, issues d'une reproduction asexuée, sont généralement responsables de l'infection et sont dispersées passivement dans l'environnement depuis le cadavre d'un insecte. Bien que l'ingestion des conidies par un nouvel hôte et l'invasion de celui-ci à partir de son système digestif soit possible, la voie d'infection se fait généralement au travers du tégument externe. Ainsi, lorsque ces conidies entrent en contact avec la cuticule d'un nouvel insecte hôte, l'infection est initiée en quatre phases majeures. (1) La nature hydrophobe des conidies est principalement responsable de leur adhésion à la cuticule (interactions hydrophobes). Une fois celles-ci attirées, des systèmes de reconnaissance spécifiques (p.ex. lectines) peuvent renforcer l'attachement par des substances mucilageuses adhésives et faciliter la germination. (2) La germination des conidies est dépendante des conditions de l'environnement et de la nature (composition chimique) de l'hôte. Celles-ci doivent être hydratées pour germer, et la croissance du tube germinal est associée à la production

d'enzymes hydrolytiques extracellulaires (protéases et peptidases, chitinases, lipases et lipoxygénases) destinées à exploiter les molécules dérivées de l'hôte. Ces molécules serviront ainsi en tant que source d'énergie et pour la synthèse de macromolécules. (3) La phase de différenciation est caractérisée par la production d'appressoria (points d'ancrage) sur la surface cuticulaire. (4) La pénétration de la cuticule par le filament infectieux est permise par une pression tant mécanique qu'enzymatique. Celui-ci aboutit dans l'hémocoel; il y procède à une croissance et une multiplication menant à la production de corps hyphaux. Ces derniers envahissent les tissus de l'hôte et produisent des métabolites toxiques qui interfèrent avec les mécanismes de défense immunitaire. À la mort de l'insecte infecté, le champignon émerge du corps et procède à la sporulation (ou conidiogénèse): les conidies nouvellement produites sont dispersées dans l'environnement. Les champignons Hypocreales peuvent également former des structures d'hivernation basées sur des hyphes comprimées (sclerotia) ou des spores persistantes à paroi épaisse (chlamydo-spores).

Potentiel biopesticide

Certains champignons peuvent être produits massivement et conditionnés sous forme de

suspensions aqueuses de spores pour être ensuite vaporisés, parfois en combinaison avec des matériaux synthétiques destinés à augmenter leur persistance ou leur pouvoir infectieux. Suivant les souches, la persistance au sein de la population d'insectes ciblée permet de restreindre les applications dans l'environnement (Shah et Pell 2003). L'avantage majeur des champignons entomopathogènes est que, contrairement aux autres agents microbiens, ils ont la capacité d'infecter leur hôte par la voie transcutanée et ne nécessitent pas d'être ingérés par ce dernier. Ainsi, tous les stades de développement (œufs, larves, nymphes, adultes) peuvent être infectés. Ils représentent de ce fait un grand intérêt en agriculture dans la lutte contre les insectes piqueurs-suceurs tels que les pucerons, les aleurodes ou les thrips (Regnault-Roger 2005). Le spectre d'hôtes (moustiques ou autres) est généralement plus large que celui des autres micro-organismes entomopathogènes; cependant, un certain degré de sélectivité peut être distingué suivant les isolats fongiques et laisse entrevoir un potentiel de contrôle envers différentes gammes d'insectes (Regnault-Roger 2005). Enfin, bien que les insectes puissent s'adapter et réduire l'infection (production de toxines antifongiques, mélanisation, mue accélérée), il est à noter qu'aucun cas de résistance n'aurait été signalé. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le processus infectieux implique la sécrétion d'une large gamme d'enzymes et de toxines (Kanzok et Jacobs-Lorena 2006). Plusieurs souches de champignons produisent d'ailleurs des métabolites secondaires dont certains démontrent un pouvoir toxique intéressant, et qui pourraient être valorisés en tant que biopesticides à part entière (Butt et Copping 2000).

Il est cependant reproché aux champignons leur action lente sur les populations d'insectes ciblées en raison du délai de germination et de pénétration des filaments dans l'hémocoèle. Un biopesticide basé sur des spores de champignon entomopathogène ne sera efficace qu'après 2 à 5 jours d'exposition (parfois davantage), alors qu'un insecticide de synthèse ne mettra que 24 à 48 heures pour un même résultat (Thomas et Read 2007; Pereira *et al.* 2009; Blanford *et al.* 2011). Ceci traduit la nécessité de caractériser les enzymes et métabolites impliqués dans leur pathogénicité, et d'isoler les souches les plus virulentes. De plus, les performances réalisées en

laboratoire ne sont que rarement répétées sur le terrain et un même isolat fongique ne peut convenir qu'à une région particulière. Ceci s'explique par le fait que de nombreuses souches sont très dépendantes des conditions de l'environnement (température, humidité, rayons UV), mais aussi qu'une perte de pouvoir infectieux est souvent observée lors de la culture en milieu artificiel. La viabilité des conidies constitue un vrai défi. Ainsi, afin d'être capable de transposer les résultats de laboratoire sur le terrain, il est important de mettre au point les conditions de culture, de stockage et de conditionnement qui permettent de préserver ce pouvoir infectieux (Butt et Copping 2000).

Plusieurs préparations fongiques sont proposées pour lutter contre des insectes nuisibles en agriculture; c'est par exemple le cas de *Verticillium lecanii* Viegas (Vertalec[®], Koppert, Berkel en Rodenrijs, Pays-Bas), *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown et Smith (PreFeRal[®], Biobest, Westerlo, Belgique) ou encore *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin (Naturalis[®], Troy Biosciences, Phoenix, Arizona, États-Unis d'Amérique) destinés à lutter contre les pucerons et autres ravageurs apparentés (aleurodes, thrips) en Europe (Regnault-Roger 2005). Citons encore l'exemple de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin var. *acridum* récemment approuvé dans la lutte contre les criquets locustes et les sauterelles en Afrique, dont une production massive de conidies a pu être réalisée à partir d'une simple culture à base de riz (Mendonça 1992). Par contre, peu de préparations fongiques ont été proposées en lutte anti-vectorielle. Dans le cas des moustiques, un seul produit basé sur *Lagenidium giganteum* Couch fut commercialisé (Laginex[®], AgraQuest, Davis, California, États-Unis d'Amérique) pour lutter notamment contre les espèces de *Culex* aux États-Unis d'Amérique (Scholte *et al.* 2004, Kerwin 2007). Laginex avait l'avantage par rapport au *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* de persister en eau stagnante, permettant ainsi d'infecter plusieurs générations de moustiques. Un contrôle total de larves de *Culex quinquefasciatus* pouvait être assuré jusqu'à 20 jours après l'application du produit, en comparaison d'une formulation de Vectobac 12AS, qui nécessite un nouveau traitement après 10 jours (Hallmon *et al.* 2000). Cependant, Laginex ne fut commercialisé qu'entre 1997 et 1999: son manque de stabilité et sa durée de vie limitée par rapport

aux insecticides chimiques (problèmes d'hydratation du mycélium, de survie des zoospores limitée à 48 heures, de sensibilité à la température, et de contamination) du fait de l'absence de forme de résistance du champignon furent des contraintes majeures.

Scholte *et al.* (2004) discutent des potentialités offertes par les champignons entomopathogènes dans le contrôle des moustiques. Les champignons entomopathogènes naturellement associés aux moustiques appartiennent principalement aux Entomophthorales, mais la plupart de ces espèces (dont le genre *Entomophthora*) ne peuvent croître en fermentation: leur production massive est difficile. Dès lors, bien qu'ils ne soient pas spécifiquement adaptés aux moustiques, l'intérêt s'est porté sur les autres groupes. Certaines espèces y sont particulièrement intéressantes, mais aucune ne possède toutes les propriétés requises pour un contrôle efficace et de faible coût. Un champignon entomopathogène peut se révéler avantageux par rapport à *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* et *Bacillus sphaericus* notamment grâce à sa capacité d'infecter tous les stades. Idéalement, l'isolat fongique devrait donc se révéler pathogène tant vis-à-vis des stades larvaires qu'adultes et démontrer une bonne spécificité aux espèces ciblées. De par sa biologie, il serait intéressant qu'il puisse également être dispersé activement par les femelles adultes d'un site d'oviposition à l'autre. En effet, aucun transport de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* ou de *Bacillus sphaericus* n'est assuré d'un site à l'autre alors que les habitats larvaires des espèces vectrices les plus importantes sont temporaires et difficiles à traiter dans leur intégralité. Ainsi, la plupart des souches de *Lagenidium*, *Coelomomyces* et *Culicinomyces* ciblent les stades larvaires de moustiques et n'infectent pas les adultes: la dispersion au travers des habitats n'est que trop limitée. Une production massive rentable de ces champignons semble également difficile à assurer. Par contre, bien que de spectre plus large, *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* tuent tant les adultes que les larves en conditions de laboratoire et les nombreuses formulations commerciales déjà disponibles contre d'autres insectes prouvent qu'ils peuvent être produits massivement de façon rentable. Ces deux champignons sont considérés par de nombreux auteurs comme ayant un haut potentiel de contrôle de

moustiques vecteurs (Alves *et al.* 2002; Scholte *et al.* 2004; Kanzok et Jacobs-Lorena 2006; Pereira *et al.* 2009; Blanford *et al.* 2011; Lynch *et al.* 2012; Seye *et al.* 2012, 2013). Récemment, le pouvoir pathogène d'une souche d'*Aspergillus clavatus* Desmazières envers des larves d'*Aedes aegypti*, *Anopheles gambiae* Giles et *Culex quinquefasciatus* suggère que ce champignon pourrait également être utilisé dans le contrôle de populations de moustiques (Seye et Ndiaye 2008; Seye *et al.* 2009).

Metarhizium anisopliae compte parmi les champignons entomopathogènes les mieux caractérisés dans la littérature scientifique. Cette espèce possède un spectre d'hôtes large incluant plusieurs arachnides et pas moins de 200 espèces d'insectes réparties dans cinq ordres différents (Scholte *et al.* 2004). La sécrétion de diverses enzymes (protéases, chitinases, lipases) et métabolites (destruxines) reconnus comme facteurs de virulence a été mise en évidence (Schrank et Vainstein 2010; Liu et Tzeng 2012). Suivant les souches, ces composés auraient une sélectivité plus ou moins prononcée vis-à-vis de taxons d'insectes spécifiques (Bagga *et al.* 2004). Ce champignon aurait ainsi très peu d'impact sur les vertébrés (dont l'homme) et l'environnement (Zimmermann 2007). Bien que les moustiques ne figurent pas parmi les hôtes naturels de ce champignon, plusieurs études de laboratoire ont montré son potentiel en tant qu'agent de contrôle de nombreuses espèces (adultes ou larves) appartenant aux genres *Aedes*, *Culex* et *Anopheles*. Par exemple, Alves *et al.* (2002) ont montré des CL₅₀ de $1,97 \times 10^4$ et $3,01 \times 10^5$ conidies/ml de deux souches de *Metarhizium anisopliae* contre des larves de *Culex quinquefasciatus*, tandis que Pereira *et al.* (2009) ont montré une CL₅₀ de $3,16 \times 10^5$ conidies/ml contre des larves d'*Aedes aegypti*. Scholte *et al.* (2003) ont quant à eux montré la pathogénicité d'une souche contre des adultes *Anopheles gambiae* et *Culex quinquefasciatus*.

Perspectives de lutte anti-vectorielle

Gestion intégrée et contrôle biologique

L'éradication complète de chaque espèce de moustique et des maladies qui lui sont associées fut autrefois l'objectif visé. Néanmoins, cette

stratégie s'est souvent révélée irréalisable et rarement viable à long terme (Becker *et al.* 2010). Actuellement, la meilleure approche consiste en une gestion (ou lutte) intégrée des populations de moustiques (Lacey et Lacey 1990; Sucharit 1993; Rose 2001; Yoda *et al.* 2004; Keiser *et al.* 2005; Beier *et al.* 2008; Rey *et al.* 2012), définie par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (1967) comme un système de gestion des populations d'organismes nuisibles qui met en œuvre toutes les techniques appropriées pour les maintenir à des niveaux inférieurs à ceux causant des dommages d'importance économique et/ou sanitaire. Dans le cadre de la lutte anti-vectorielle, la gestion environnementale et les moyens physiques associés permettent une lutte durable et efficace des populations de moustiques, mais ils ne peuvent suffire à remplacer intégralement les autres méthodes appliquées au contrôle des maladies. Ces stratégies peuvent néanmoins consister en une bonne base en termes de gestion intégrée. En complément, des alternatives plus sécurisantes aux insecticides de synthèse sont requises en raison des effets désastreux engendrés par l'utilisation massive de ces derniers. Le contrôle génétique des moustiques, bien qu'offrant des perspectives intéressantes, a malheureusement montré ses limites en termes d'efficacité, de rentabilité, et de légalité. Il est de plus difficile à mettre en œuvre dans une optique de lutte intégrée. Par contre, le contrôle biologique au travers de l'utilisation de micro-organismes entomopathogènes (ou de produits dérivés) sous forme de biopesticides a déjà été réalisé dans d'autres domaines (Montesinos 2003; Leng *et al.* 2011). Cette approche possède ainsi le potentiel nécessaire pour être développée et valorisée en tant qu'alternative aux insecticides chimiques (ou du moins, en synergie avec ceux-ci) dans le cadre d'une lutte anti-vectorielle intégrée. Un exemple peut être donné par l'utilisation conjointe d'un adulticide chimique (cyperméthrine) et de larvicides biologiques (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Vectobac 12AS) et *Bacillus sphaericus* (Vectolex WG)) pour contrôler les populations du vecteur du paludisme *Anopheles balabacensis* Baisas en Malaisie (Seleena *et al.* 2004). De même, l'importation accidentelle de trois espèces invasives de moustiques (*Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, et *Aedes atropalpus*

(Coquillet) via des pneus usés aux Pays-Bas (Scholte *et al.* 2010) constitue un exemple récent par lequel gestion environnementale, contrôle chimique et biologique sont alliés efficacement en un même programme de gestion. Soulignons encore la production de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* dans un milieu de culture additionné de deltaméthrine capable d'agir en synergie, permettant d'obtenir un insecticide composite à l'activité augmentée (Tetreau *et al.* 2013a).

Les biopesticides face aux insecticides conventionnels

L'application de préparations commerciales de *Bacillus* demeure le seul exemple concret d'utilisation à succès d'un micro-organisme entomopathogène en lutte anti-vectorielle contre les moustiques. Pourtant, les avantages attendus par rapport aux insecticides conventionnels ne sont pas négligeables (Lacey *et al.* 2001; Glare *et al.* 2012). Outre la diminution des doses d'insecticides utilisées (et des résidus liés) dans l'environnement et l'amélioration consécutive des conditions sanitaires, la sélectivité des agents microbiens devrait favoriser la préservation de la biodiversité. De plus, l'étude de ces micro-organismes et de la diversité de molécules qu'ils produisent permettrait une meilleure gestion des résistances aux composés insecticides au sein des populations de moustiques. Néanmoins, le développement de nouveaux agents microbiens bénéficie de peu d'investissement par rapport aux insecticides de synthèse. En effet, leur utilisation souffre de certains inconvénients (Lacey *et al.* 2001; Glare *et al.* 2012): (1) un spectre d'action généralement trop étroit ou trop large pour être économiquement intéressant, (2) un temps d'action plus long que celui des insecticides chimiques, (3) une efficacité et une persistance souvent limitées par les stress environnementaux, (4) un coût de production excessif, et (5) un temps de stockage souvent réduit. Leur impact en tant qu'agents de lutte anti-vectorielle devra également être évalué à long terme.

Quel avenir pour les biopesticides?

Les moyens de contrôle biologique (dont les biopesticides microbiens) incarnent une gestion des populations d'insectes respectueuse de l'environnement qui cadre avec les courants de pensée de la

société occidentale actuelle. L'enjeu n'est donc pas de savoir s'ils parviendront à s'imposer en lutte anti-vectorielle, mais comment. Cependant, le développement de nouveaux produits dépend de la disponibilité en micro-organismes appropriés: moins de 1% des souches isolées auraient le potentiel de devenir un biopesticide à succès (Bailey et Falk 2011). Les contraintes précitées sont en effet autant d'obstacles. Les futurs agents de contrôle microbien devraient donc faire preuve de virulence, de rapidité d'action et de persistance accrues dans l'environnement. Par ailleurs, bien qu'un spectre d'activité limité puisse contribuer à préserver la biodiversité et l'équilibre sanitaire en termes de santé humaine, les biopesticides ne ciblant que quelques espèces ne possèdent généralement qu'une part limitée du marché (Ravensberg 2011; Glare *et al.* 2012). À l'image des produits à base de *Bacillus* qui visent une gamme d'insectes variée suivant les souches, les nouveaux biopesticides ne pourront s'imposer en lutte anti-vectorielle qu'à partir du moment où ils seront actifs envers un ensemble d'espèces vectrices de Diptera. Ces obstacles ne pourront être surmontés que par une sélection de ces micro-organismes répondant à ces critères (Tranchida *et al.* 2001; Dhindsa *et al.* 2002; Lopez Lastra *et al.* 2004; Seye *et al.* 2009; Hayes *et al.* 2011), mais aussi au travers du développement de formulations adéquates (Faria et Wraight 2007; Seye et Ndiaye 2008; Rosas-Garcia 2009; Bukhari *et al.* 2011; Seye *et al.* 2012). Des perspectives intéressantes sont également offertes par les techniques de génie génétique (fusion de protoplastes, induction de mutations ou encore manipulations génétiques) (Federici *et al.* 2007; St. Leger et Wang 2010), mais le développement et la commercialisation d'un biopesticide basé sur un micro-organisme génétiquement modifié restent délicats du fait des contraintes environnementales, éthiques, et juridiques (Glare *et al.* 2012).

Les composés bioactifs dérivés de micro-organismes entomopathogènes pourraient également être valorisés en tant que biopesticides à part entière, et utilisés seuls ou en synergie avec d'autres moyens de contrôle. Cette approche demeure cependant sous-évaluée en lutte anti-vectorielle. Pourtant, caractériser ces composés et optimiser leur production par des procédés de fermentation en bioréacteurs permettrait le développement à moindre coût de nouveaux

biopesticides selon un schéma comparable à celui qui s'opère pour les insecticides de synthèse (Glare *et al.* 2012). Mais par rapport à ces derniers (Srivastava *et al.* 2009), les composés bioactifs issus de certaines souches conserveraient leur avantage sélectif et pourraient potentiellement être biodégradables. C'est déjà le cas des cristaux produits et commercialisés à partir de *Bacillus*. Par ailleurs, les procédés de fabrication des pesticides microbiens génèrent moins de pollution. Enfin, cette stratégie permettrait d'exploiter les possibilités offertes par les manipulations génétiques (Glare *et al.* 2012). La surexpression de composés insecticides délivrés seuls dans l'environnement permettrait en effet une efficacité accrue du produit tout en évitant le rejet d'organismes génétiquement modifiés.

Les champignons entomopathogènes semblent particulièrement indiqués par la diversité des molécules qu'ils produisent. En effet, les métabolites extracellulaires sécrétés au cours de la croissance de certaines souches pourraient être valorisés sous forme de pesticides microbiens. Par rapport aux spores, ils présentent l'avantage d'être plus rapides (action en dedans de quelques heures) et moins dépendants des conditions de l'environnement (Butt et Copping 2000; Srivastava *et al.* 2009). Ainsi, Mishra *et al.* (1987) ont démontré les propriétés insecticides des métabolites de sept espèces de champignons sur des larves d'*Aedes aegypti*. Peu après, Vijayan et Balaraman (1991) ont testé les métabolites de 350 champignons et ont montré l'effet larvicide de 133 d'entre eux envers des larves de *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi* et *Aedes aegypti*. De la même façon, l'effet insecticide des métabolites secondaires contenus dans les filtrats de cultures de nombreuses souches entomopathogènes a été montré par la suite (Priyanka et Prakash 2003; Govindarajan *et al.* 2005; Vyas *et al.* 2007; Mohanty *et al.* 2008; Mohanty et Prakash 2009; Murugesan *et al.* 2009; Singh et Prakash 2011, 2012). De nombreux champignons entomopathogènes peuvent potentiellement être cultivés dans des bioréacteurs et les composés insecticides résultant peuvent être entreposés, purifiés, conditionnés et utilisés contre des insectes nuisibles ciblés dans le cadre d'une gestion durable de ceux-ci (Copping et Menn 2000). Cependant, le développement de procédés de production en bioréacteur efficaces et peu coûteux est un enjeu

impératif. D'une part, les composants nutritionnels ont un impact sur l'activité insecticide des filtrats de culture (Mohanty *et al.* 2008; Quesada-Moraga et Vey 2011) et les substrats les plus adéquats doivent être déterminés. À cet effet, l'évaluation de milieux de culture non-synthétiques à base de sous-produits agricoles (disponibles en quantité par le biais de chaînes de production déjà existantes et peu coûteux) pourrait dégager des perspectives intéressantes (Dorta *et al.* 1990; Sahayaraj et Namasivayam 2008). D'autre part se pose le choix du bioréacteur, avec ses avantages mais aussi ses contraintes techniques, et qui va influencer également sur le type de métabolites produits par les champignons au cours du processus de fermentation (Assamoi *et al.* 2009).

Contexte d'urgence sanitaire

Une gestion intégrée des populations de moustiques implique tant que possible l'emploi de méthodes alternatives aux insecticides chimiques en se basant notamment sur les moyens physiques, les produits larvicides et l'éducation des populations concernées. Cette lutte préventive est essentielle pour faire face aux risques liés aux maladies infectieuses telles la dengue, le chikungunya ou encore le paludisme. Cependant, l'utilisation d'insecticides chimiques demeure nécessaire dans un contexte d'urgence sanitaire comme une épidémie (Protopopoff *et al.* 2007) ou l'éradication d'un vecteur invasif (Paupy *et al.* 2009, Boukraa *et al.* 2013) compte tenu des moyens de lutte actuels disponibles. Ceci se justifie par leur efficacité et leur rapidité d'action en dépit des impacts environnementaux.

La surveillance (1) épidémiologique des maladies à transmission vectorielle et (2) entomologique des espèces vectrices est un prérequis essentiel à tout plan de gestion de celles-ci. Le recensement et la signalisation des cas suspects (et pas seulement confirmés) est nécessaire dans une optique de prévention. Il est en effet primordial d'intervenir à ce stade par le renforcement des moyens de protection personnelle (répulsifs, moustiquaires imprégnés) et l'emploi de produits insecticides (Centre National d'Expertise sur les Vecteurs 2012; Organisation mondiale de la Santé 2012). Un exemple récent de programme de gestion peut être donné par la résurgence de la dengue (2004) puis du chikungunya (2006) sur l'île de la

Réunion, se focalisant notamment sur le vecteur *Aedes albopictus* (Delatte *et al.* 2008).

La pulvérisation d'adulticides (notamment pyréthrinoïdes) contre les stades imaginaux des vecteurs est essentiellement réservée aux contextes d'urgence sanitaire; elle permet de diminuer immédiatement les populations de moustiques adultes autour des cas de maladie (ou d'invasion) suspectés et/ou confirmés pour limiter le contact hôte/vecteur (Centre National d'Expertise sur les Vecteurs 2012; Organisation mondiale de la Santé 2012). Toutefois, cette pratique n'est efficace qu'à court terme car elle ne permet pas d'en atteindre la source. Le traitement des gîtes larvaires anthropiques (sans enjeu environnemental) et non supprimables (vide sanitaire, fosse septique ou encore égouts) permet la destruction des milieux favorables au développement des stades immatures en milieu urbain (Centre National d'Expertise sur les Vecteurs 2012; Organisation mondiale de la Santé 2012). Cependant, l'apparition de résistances suite aux pressions de sélection exercées par les traitements successifs dans le cas d'épidémies répétées souligne l'importance des rotations et de la synergie des composés larvicides utilisés (Centre National d'Expertise sur les Vecteurs 2012). La résistance d'*Aedes albopictus* à de nombreux organophosphorés, pyréthrinoïdes et carbamates a par exemple été démontrée au Pakistan (Khan *et al.* 2011). À nouveau, les préparations commerciales de *Bacillus* demeurent le seul moyen de lutte biologique susceptible d'être utilisé dans un contexte d'urgence sanitaire.

La mise en place d'une logique de lutte intégrée constitue donc le garant de l'efficacité des plans de gestion sur le long terme en évitant l'apparition de résistances à ces insecticides chimiques. Le développement de nouveaux composés est primordial pour limiter tant que possible l'emploi de ces insecticides et, finalement, les remplacer.

Conclusions

Les problèmes générés ces dernières décennies par l'utilisation massive d'insecticides chimiques ont stimulé l'intérêt populaire pour une gestion intégrée des populations d'insectes vecteurs de maladies, dont les moustiques. Parmi les différentes méthodes de lutte envisageables, les micro-organismes entomopathogènes (bactéries, virus, champignons) offrent une multitude de possibilités

sous forme de biopesticides. Cependant, leur utilisation en lutte anti-vectorielle demeure encore limitée aux seuls cristaux de *Bacillus*. Afin d'intégrer plus efficacement les programmes de gestion, une virulence accrue des souches microbiennes ainsi que des procédés de production et de conditionnement plus rentables sont nécessaires. Dans cette optique, la valorisation de composés toxiques microbiens en tant que biopesticides à part entière pourrait permettre de dégager des perspectives intéressantes afin de pallier à ces inconvénients.

Références

- Abdul-Ghani, R., Al-Mekhlaifi, A.M., et Alabsi, M.S. 2012. Microbial control of malaria: biological warfare against the parasite and its vector. *Acta Tropica*, **121**: 71–84.
- Ahn, J.-Y., Lee, J.-Y., Yang, E.-J., Lee, Y.-J., Koo, K.-B., Song, K.-S., et Lee, K.-Y. 2013. Mosquitocidal activity of anthraquinones isolated from symbiotic bacteria *Photorhabdus* of entomopathogenic nematode. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **16**: 317–320.
- Alphey, L., Beard, C.B., Bittingsley, P., Coetzee, M., Crisanti, A., Curtis, C., et al. 2002. Malaria control with genetically manipulated insect vectors. *Science*, **298**(5591): 119–121.
- Alves, S.B., Alves, L.F.A., Lopes, R.B., Pereira, R.M., et Vieira, S.A. 2002. Potential of some *Metarhizium anisopliae* isolates for control of *Culex quinquefasciatus* (Dipt., Culicidae). *Journal of Applied Entomology*, **126**: 504–509.
- Aronson, A.I. et Shai, Y. 2001. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action. *FEMS Microbiology Letters*, **195**: 1–8.
- Assamoi, A.A., Destain, J., et Thonart, P. 2009. Aspects microbiologiques de la production par fermentation solide des endo- β -1,4-xylanases de moisissures: le cas de *Penicillium canescens*. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, **13**: 281–294.
- Bagga, S., Hu, G., Screen, S.E., et St Leger, R.J. 2004. Reconstructing the diversification of subtilisins in the pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Gene*, **324**: 159–169.
- Bailey, K.L. et Falk, S. 2011. Turning research on microbial bioherbicides into commercial products – a *Phoma* story. *Pest Technology*, **5**: 73–79.
- Balaraman, K., Balasubramanian, M., et Manonmani, L.M. 1983. *Bacillus thuringiensis* H-14 (VCRC B-17) formulation as mosquito larvicide. *Indian Journal of Medical Research*, **77**: 33–37.
- Baumann, P., Clark, M.A., Baumann, L., et Broadwell, A.H. 1991. *Bacillus sphaericus* as a mosquito pathogen: properties of the organism and its toxins. *Microbiological Reviews*, **55**: 425–436.
- Becker, N. 1997. Microbial control of mosquitoes: management of the Upper Rhine mosquito population as a model programme. *Parasitology Today*, **13**: 485–487.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Dahl, C., Boase, C., Lane, J., et Kaiser, A. 2010. Mosquitoes and their control. Springer-Verlag, Heidelberg, Allemagne.
- Becnel, J.J. 2006. Transmission of viruses to mosquito larvae mediated by divalent cations. *Journal of Invertebrate Pathology*, **92**: 141–145.
- Becnel, J.J. et White, S.E. 2007. Mosquito pathogenic viruses – the last 20 years. *The American Mosquito Control Association*, **23**: 36–49.
- Beier, J.C., Keating, J., Githure, J.I., MacDonald, M.B., Impoinvil, D.E., et Novak, R.J. 2008. Integrated vector management for malaria control. *Malaria Journal*, **7**: S4. Disponible sur <http://www.malariajournal.com/content/7/S1/S4> [consulté le 11 avril 2013].
- Bergoin, M. et Tijssen, P. 2000. Molecular biology of Densovirinae. *Contributions to Microbiology*, **4**: 12–32.
- Berry, C. 2012. The bacterium, *Lysinibacillus sphaericus*, as an insect pathogen. *Journal of Invertebrate Pathology*, **109**: 1–10.
- Blanford, S., Shi, W., Christian, R., Marden, J.H., Koekemoer, L.L., Brooke, B.D., et al. 2011. Lethal and pre-lethal effects of a fungal biopesticide contribute to substantial and rapid control of malaria vectors. *Public Library of Science One*, **6**(8): e23591. doi:10.1371/journal.pone.0023591.
- Boisvert, M. et Boisvert, J. 2000. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on target and nontarget organisms: a review of laboratory and field experiments. *Biocontrol Science and Technology*, **10**: 517–561.
- Bonizzoni, M., Gasperi, G., Chen, X., et James, A.A. 2013. The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future perspectives. *Trends in Parasitology*, **29**: 460–468.
- Boukraa, S., Raharimalala, F.N., Zimmer, J.-Y., Schaffner, F., Bawin, T., Haubruge, E., et Francis, F. 2013. Reintroduction of the invasive mosquito species *Aedes albopictus* in Belgium in July 2013. *Parasite*, **20**: 54. doi: 10.1051/parasite/2013054.
- Bravo, A., Gill, S.S., et Soberon, M. 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, **49**: 423–435.
- Bravo, A., Likitvivanavong, S., Gill, S.S., et Soberon, M. 2011. *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **41**: 423–431.
- Buchatsky, L.P., Kuznetsova, M.A., Lehednits, N.N., et Konoko, A.G. 1987. Development and basic properties of the viral preparation viroden. *Voprosy Virusologii*, **32**: 729–799.
- Bukhari, T., Takken, W., et Koenraadt, C.J.M. 2011. Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. *Parasites & Vectors*, **4**: 23. doi:10.1186/1756-3305-4-23.

- Butt, T.M. et Copping, L.G. 2000. Fungal biological control agents. *Pesticide Outlook*, **11**: 186–191.
- Butt, T.M., Jackson, C., et Magan, N. 2001. Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni.
- Carlson, J., Suchman, E., et Buchatsky, L. 2006. Dengovirus for control and genetic manipulation of mosquitoes. *Advances in Virus Research*, **68**: 361–392.
- Carson, R. 1962. *Silent spring*. Houghton Mifflin Company, Boston, Massachusetts, Les États-Unis d'Amérique.
- Centre National d'Expertise sur les Vecteurs. 2012. Optimisation de la surveillance et du contrôle d'*Aedes albopictus* en France [en ligne]. Disponible sur <http://www.cnev.fr/index.php/publications-et-outils/avis-du-cnev/981-rapport-relatif-a-la-surveillance-et-au-controle-daedes-albopictus> [consulté le 8 avril 2014].
- Chandra, G., Bhattacharjee, I., Chatterjee, S.N., et Ghosh, A. 2008. Mosquito control by larvivorous fish. *Indian Journal of Medical Research*, **127**: 13–27.
- Chapman, H.C. 1974. Biological control of mosquito larvae. *Annual Review of Entomology*, **19**: 33–59.
- Charles, J.-F. et Nielsen-LeRoux, C. 1996. Les bactéries entomopathogènes: mode d'action sur les larves de moustiques et phénomènes de résistance. *Annales de l'Institut Pasteur*, **7**: 233–245.
- Charles, J.-F. et Nielsen-LeRoux, C. 2000. Mosquitocidal bacterial toxins: diversity, mode of action and resistance phenomena. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, **95**: 201–206.
- Charles, J.-F., Nielsen-LeRoux, C., et Delécluse, A. 1996. *Bacillus sphaericus* toxins: molecular biology and mode of action. *Annual Review of Entomology*, **41**: 451–472.
- Charnley, A.K. et Collins, S.A. 2007. Entomopathogenic fungi and their role in pest control. *Dans The Mycota (Volume 4): environmental and microbial relationships. Sous la direction de C.P. Kubicek et I.S. Druzhinina*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, Allemagne. Pp. 159–187.
- Copping, L.G. et Menn, J.J. 2000. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science*, **56**: 651–676.
- Corby-Harris, V., Drexler, A., Watkins de Jong, L., Antonova, Y., Pakpour, N., Ziegler, R., et al. 2010. Activation of Akt signaling reduced the prevalence and intensity of malaria parasite infection and lifespan in *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Public Library of Science Pathogens*, **6**(8). doi: 10.1371/journal.ppat.1001003.
- da Silva, O.S., Prado, G.R., da Silva, J.L.R., Silva, C.E., da Costa, M., et Heermann, R. 2013. Oral toxicity of *Protorhabdus luminescens* and *Xenorhabdus nematophila* (Enterobacteriaceae) against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, **112**: 2891–2896.
- de Barjac, H. et Frachon, E. 1990. Classification of *Bacillus thuringiensis* strains. *BioControl*, **35**: 233–240.
- de Barjac, H., Sebald, M., Charles, J.-F., Cheong, W.H., et Lee, H.L. 1990. *Clostridium bif fermentans* serovar *malaysia*, a new anaerobic bacterium toxic to mosquito and blackfly larvae. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences – Série III*, **310**: 383–387.
- de Faria, M.R. et Wraight, S.P. 2007. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*, **43**: 237–256.
- Delatte, H., Paupy, C., Dehecq, J.S., Thiria, J., Failloux, A.B., et Fontenille, D. 2008. *Aedes albopictus*, vecteur des virus du chikungunya et de la dengue à la Réunion: biologie et contrôle. *Parasite*, **15**: 3–13.
- Delécluse, A., Rosso, M.-L., et Ragni, A. 1995. Cloning and expression of a novel toxin gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *jegathesan*, encoding a highly mosquitocidal protein. *Applied and Environmental Microbiology*, **61**: 4230–4235.
- Dhindsa, K.S., Sangodkar, U.M.X., et Kumar, A. 2002. Novel cost-effective method of screening soils for the presence of mosquito-pathogenic bacilli. *Letters in Applied Microbiology*, **35**: 457–461.
- Dorta, B., Bosch, A., Arcas, J.A., et Ertola, R.J. 1990. High level of sporulation of *Metarhizium anisopliae* in a medium containing by-products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **33**: 712–715.
- Federici, B.A. 2010. Recombinant bacterial larvicides for control of important mosquito vectors of disease. *Dans Vector biology, ecology and control*. Sous la direction de P. Atkinson. Springer Science+ Business Media, Heidelberg, Allemagne. Pp. 163–176.
- Federici, B.A., Park, H.-W., Bideshi, D.K., Wirth, M.C., et Johnson, J.J. 2003. Recombinant bacteria for mosquito control. *The Journal of Experimental Biology*, **206**: 3877–3885.
- Federici, B.A., Park, H.-W., Bideshi, D.K., Wirth, M.C., Johnson, J.J., Sakano, Y., et Tanq, M. 2007. Developing recombinant bacteria for control of mosquito larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **23**: 164–175.
- Fontenille, D., Lagneau, C., Lecollinet, S., Lefait Robin, R., Setbon, M., et al. 2009. La lutte antivectorielle en France. IRD éditions, Paris, France.
- Glare, T., Caradus, J., Gelernter, W., Jackson, T., Keyhani, N., Köhl, J., et al. 2012. Have biopesticides come of age? *Trends in Biotechnology*, **30**: 250–258. doi: 10.1016/j.tibtech.2012.01.003.
- Glare, T.R. et O'Callaghan, M. 1998. Environmental and health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Report for the Ministry of Health, Wellington, New Zealand.
- Goddard, J. 2008. Mosquito-borne diseases. *Dans Infectious diseases and arthropods*. Sous la direction de J. Goddard. Humana Press, Totowa, New Jersey, Les États-Unis d'Amérique. Pp. 31–79.
- Goldberg, L.H. et Margalit, J. 1977. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Mosquito News*, **37**: 355–358.

- Gould, E.A. et Higgs, S. 2009. Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **103**: 109–121.
- Govindarajan, M., Jebanesan, A., et Reetha, D. 2005. Larvicidal effect of extracellular secondary metabolites of different fungi against the mosquito, *Culex quinquefasciatus* Say. *Tropical Biomedicine*, **22**: 1–3.
- Gu, J., Liu, M., Deng, Y., Peng, H., et Chen, X. 2011. Development of an efficient recombinant mosquito densovirus-mediated RNA interference system and its preliminary application in mosquito control. *Public Library of Science One*, **6**(6): e21329. doi: 10.1371/journal.pone.0021329.
- Hallmon, C.F., Schreiber, E.T., Vo, T., et Bloomquist, M.A. 2000. Field trials of three concentrations of Lagenex as biological larvicide compared to Vectobac-12AS as a biocontrol agent for *Culex quinquefasciatus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **16**: 5–8.
- Hamon, J. et Garret-Jones, C. 1963. La résistance aux insecticides chez les vecteurs majeurs du paludisme et son importance opérationnelle. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, **28**: 1–24.
- Hamon, J., Mouchet, J., Brengues, J., et Chauvet, G. 1970. Problems facing anopheline vector control: vector ecology and behaviour before, during and after application of control measures. *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America*, **1**: 28–44.
- Hamon, J., Subra, R., Sales, S., et Coz, J. 1968. Présence dans le Sud-Ouest de la Haute-Volta de populations d'*Anopheles gambiae* « A » résistantes au DDT. *Médecine Tropicale*, **28**: 524–528.
- Han, B., Specht, R., Wickramasinghe, S.R., et Carlson, J.O. 2005. Binding *Aedes aegypti* densovirus to ion exchange membranes. *Journal of Chromatography A*, **1092**: 114–124.
- Hayes, S.R., Hudon, M., et Park, H-W. 2011. Isolation of novel *Bacillus* species showing high mosquitocidal activity against several mosquito species. *Journal of Invertebrate Pathology*, **107**: 79–81.
- Hemingway, J. et Ranson, H. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annual Review of Entomology*, **45**: 371–391.
- Ignoffo, C.M., Couch, T.L., Garcia, C., et Kroha, M.J. 1981. Relative activity of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and *B. thuringiensis* var. *israelensis* against larvae of *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, *Trichoplusia ni*, *Heliothis zea*, and *Heliothis virescens*. *Journal of Economic Entomology*, **74**: 218–222.
- Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L., et Daszak, P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, **451**: 990–993.
- Jousset, F.-X., Barreau, C., Boublik, Y., et Cornet, M. 1993. A parvo-like virus persistently infecting a C6/36 clone of *Aedes albopictus* mosquito cell line and pathogenic for *Aedes aegypti* larvae. *Virus Research*, **29**: 99–114.
- Kanzok, S.M. et Jacobs-Lorena, M. 2006. Entomopathogenic fungi as biological insecticides to control malaria. *Trends in Parasitology*, **22**: 49–51.
- Keiser, J., Maltese, M.F., Erlanger, T.E., Bos, R., Tanner, M., Singer, B.H., et Utzinger, J. 2005. Effect of irrigated rice agriculture on Japanese encephalitis, including challenges and opportunities for integrated vector management. *Acta Tropica*, **95**: 40–57.
- Kerwin, J.L. 2007. Oomycetes: *Lagenidium giganteum*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **23**: 50–57.
- Khachatourians, G.G. et Qazi, S.S. 2008. Entomopathogenic fungi: biochemistry and molecular biology. *The Mycota*, **6**: 33–61.
- Khan, H.A., Akram, W., Shehzad, K., et Shaalan, E.A. 2011. First report of field evolved resistance to agrochemicals in dengue mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), from Pakistan. *Parasites and Vectors*, **4**: 146. doi:10.1186/1756-3305-4-146.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., et Stalpers, J.A. 2008. *Dictionary of the Fungi*. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni.
- Kumar, R. et Hwang, J.-S. 2006. Larvicidal efficiency of aquatic predators: a perspective for mosquito biocontrol. *Zoological Studies*, **45**: 447–466.
- Lacey, L.A. 2007. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **23**: 133–163.
- Lacey, L.A., Frutos, R., Kaya, H.K., et Vail, P. 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? *Biological Control*, **21**: 230–248. doi: 10.1006/bcon.2001.0938.
- Lacey, L.A. et Lacey, C.M. 1990. The medical importance of riceland mosquitoes and their control using alternatives to chemical insecticides. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **2**: 1–93.
- Lacey, L.A. et Undeen, A.H. 1986. Microbial control of black flies and mosquitoes. *Annual Review of Entomology*, **31**: 265–296.
- Lapied, B., Pennetier, C., Apaire-Marchais, V., Licznar, P., et Corbel, V. 2009. Innovative applications for insect viruses: towards insecticide sensitization. *Trends in Biotechnology*, **27**: 190–198.
- Lebedeva, P.O., Zelenko, A.P., Kuznetsova, M.A., et Gudzorban, A.P. 1972. Studies on the demonstration of a viral infection in larvae of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Microbiology, Jacksonville State University*, **34**: 70–73.
- Leng, P., Zhang, Z., Pan, G., et Zhao, M. 2011. Applications and development trends in biopesticides. *African Journal of Biotechnology*, **10**: 19864–19873. doi: 10.5897/AJBX11.009.
- Likitvivanavong, S., Chen, J., Evans, A.M., Bravo, A., Soberon, M., et Gill, S. 2011. Multiple receptors as targets of cry toxins in mosquitoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**: 2829–2838.
- Liu, B.-L. et Tzeng, Y.-M. 2012. Development and applications of destruxins: a review. *Biotechnology Advances*, **30**: 1242–1254.

- Lopez Lastra, C.C., Scorsetti, A.C., Marti, G.A., et Garcia, J.J. 2004. Host range and specificity of an Argentinean isolate of the aquatic fungus *Leptolegnia chapmanii* (Oomycetes: Saprolegniales), a pathogen of mosquito larvae (Diptera: Culicidae). *Mycopathologia*, **158**: 311–315.
- Lynch, P.A., Grimm, U., Thomas, M.B., et Read, A.F. 2012. Prospective malaria control using entomopathogenic fungi: comparative evaluation of impact on transmission and selection for resistance. *Malaria Journal*, **11**: 383. doi: 10.1186/1475-2875-11-383.
- Margalit, J. et Dean, D. 1985. The story of *Bacillus thuringiensis israelensis* (B.t.i.). *Journal of the American Mosquito Control Association*, **1**: 1–7.
- Medlock, J.M., Hansford, K.M., Schaffner, F., Versteirt, V., Hendrickx, G., Zeller, H., et Van Bortel, W. 2012. A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, **12**: 435–447.
- Mendonça, A.F. 1992. Mass production, application and formulation of *Metarhizium anisopliae* for control of sugarcane froghopper *Mahanarva posticata* in Brazil. *Dans* Biological control of locusts and grasshoppers. Sous la direction de C.J. Lomer et C. Prior. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni. Pp. 239–254.
- Milby, M.M., Reisen, W.K., et Reeves, W.C. 1983. Intercanyon movement of marked *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, **20**: 193–198.
- Mishra, S.K., Keller, J.E., Miller, J.R., Heisey, R.M., Nair, M.G., et Putnam, A.R. 1987. Insecticidal and nematocidal properties of microbial metabolites. *Journal of Industrial Microbiology*, **2**: 267–276.
- Mitra, A., Chatterjee, C., et Mandal, F.B. 2011. Synthetic chemical pesticides and their effects on birds. *Research Journal of Environmental Toxicology*, **5**: 81–96.
- Mohanty, S.S. et Prakash, S. 2009. Effects of culture media on larvicidal property of secondary metabolites of mosquito pathogenic fungus *Chrysosporium lobatum* (Moniliales: Moniliaceae). *Acta Tropica*, **109**: 50–54.
- Mohanty, S.S., Raghavendra, K., Mittal, P.K., et Dash, A.P. 2008. Efficacy of culture filtrates of *Metarhizium anisopliae* against larvae of *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **35**: 1199–1202.
- Montesinos, E. 2003. Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *International Microbiology*, **6**: 245–252.
- Mullen, G. et Durden, L. 2009. *Medical and Veterinary Entomology*. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Pays-Bas.
- Murugesan, A.G., Sathesh Prabu, C., et Selvakumar, C. 2009. Bolarvicidal activity of extracellular metabolites of the keratinophilic fungus *Trichophyton mentagrophytes* against larvae of *Aedes aegypti* – a major vector for chikungunya and dengue. *Folia Microbiologica*, **54**: 213–216.
- Nam, V.S., Yen, N.T., Duc, H.M., Tu, T.C., Thang, V.T., Le, N.H., et al. 2012. Community-based control of *Aedes aegypti* by using *Mesocyclops* in Southern Vietnam. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **86**: 850–859.
- Nauen, R. 2007. Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. *Pest Management Science*, **63**: 628–633.
- N'Guessan, R., Corbel, V., Akogbéto, M., et Rowland, M. 2007. Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin. *Emerging Infectious Diseases*, **13**: 199–206.
- Nielsen-LeRoux, C., Pasteur, N., Prêtre, J., Charles, J.-F., Ben Sheikh, H., et Chevillon, C. 2002. High resistance to *Bacillus sphaericus* binary toxin in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): the complex situation of west Mediterranean countries. *Journal of Medical Entomology*, **39**: 729–735.
- Ochomo, E., Bayoh, M.N., Brodgon, W.G., Gimnig, J.E., Ouma, C., Vulule, J.M., et Walker, E.D. 2013. Pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* s.s. and *Anopheles arabiensis* in western Kenya: phenotypic, metabolic and target site characterizations of three populations. *Medical and Veterinary Entomology*, **27**: 156–164.
- Orduz, S., Realpe, M., Arango, R., Murillo, L.A., et Delécluse, A. 1998. Sequence of the *cry11Bb1* gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *medellin* and toxicity analysis of its encoded protein. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1388**: 267–272.
- Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. 1967. Report of the first session of the FAO panel of experts on integrated pest control. Report PL/1967/M/7, September 18–22, Plant Production and Protection Division, Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.
- Organisation mondiale de la Santé. 1982. Manual on environmental management for mosquito control with special emphasis on malaria vectors. World Health Organization Offset Publication, **66**: 1–283.
- Organisation mondiale de la Santé. 1989. DDT and its derivatives—environmental aspects. *Environmental Health Criteria*, **83**: 1–98.
- Organisation mondiale de la Santé. 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Organisation mondiale de la Santé. 2012. Global strategy for dengue prevention and control 2012–2020 [en ligne]. Disponible sur <http://www.who.int/iris/handle/10665/75303#sthash.SEToW8XH.dpuf> [consulté le 8 avril 2014].
- Orlova, M.V., Smirnova, T.A., Ganushkina, L.A., Yacubovich, V.Y., et Azizbekyan, R.R. 1998. Insecticidal activity of *Bacillus laterosporus*. *Applied and Environmental Microbiology*, **64**: 2723–2725.
- Otieno-Ayayo, Z.N., Zaritsky, A., Wirth, M.C., Manasherob, R., Khasdan, V., Cahán, R., et Ben-Dov, E. 2008. Variations in the mosquito larvicidal activities of toxins from *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis*. *Environmental Microbiology*, **10**: 2191–2199.

- Paillot, A. 1933. L'infection chez les insectes: immunité et symbiose. G. Patissier, Trévoux, France.
- Paris, M., Tetreau, G., Laurent, F., Lelu, M., Després, L., et David, J.-P. 2011. Persistence of *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) in the environment induces resistance to multiple Bti toxins in mosquitoes. *Pest Management Science*, **67**: 122–128.
- Park, H.-W., Bideshi, D.K., et Federici, B.A. 2010. Properties and applied use of the mosquitocidal bacterium, *Bacillus sphaericus*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **13**: 159–168.
- Patterson, R.S., Weidhaas, D.E., Ford, H.R., et Lofgren, C.S. 1970. Suppression and elimination of an island population *Culex pipiens quinquefasciatus* with sterile males. *Science*, **168**: 1368–1370.
- Paupy, C., Delatte, H., Bagny, L., Corbel, V., et Fontenille, D. 2009. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. *Microbes and Infection*, **11**: 1177–1185.
- Pereira, C.R., de Paula, A.R., Gomes, S.A., Pedra, P.C.O., et Samuels, R.I. 2009. The potential of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* isolates for the control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *Biocontrol Science and Technology*, **19**: 881–886.
- Porter, A.G. 1996. Mosquitocidal toxins, genes and bacteria: the hit squad. *Parasitology Today*, **12**: 175–179.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A., Bacq-Calberg, C.M., et Dusart, J. 2003. *Microbiologie*. De Boeck Université, Bruxelles, Belgique.
- Priyanka, et Prakash, S. 2003. Laboratory efficacy tests for fungal metabolites of *Chrysosporium tropicum* against *Culex quinquefasciatus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **19**: 404–407.
- Protopopoff, N., Van Herp, M., Maes, P., Reid, T., Baza, D., D'Alessandro, U., et al. 2007. Vector control in a malaria epidemic occurring within a complex emergency situation in Burundi: a case study. *Malaria Journal*, **6**: 93. doi: 10.1186/1475-2875-6-93.
- Quesada-Moraga, E. et Vey, A. 2011. Intra-specific variation in virulence and in vitro production of macromolecular toxins active against locust among *Beauveria bassiana* strains and effects of in vivo and in vitro passage on these factors. *Biocontrol Science and Technology*, **13**: 323–340.
- Raghavendra, K., Sharma, P., et Dash, A.P. 2008. Biological control of mosquito populations through frogs: opportunities & constraints. *Indian Journal of Medical Research*, **128**: 22–25.
- Randolph, S.E. et Rogers, D.J. 2010. The arrival, establishment and spread of exotic diseases: patterns and predictions. *Nature Reviews Microbiology*, **8**: 361–371.
- Ranson, H., N'Guessan, R., Lines, J., Moiroux, N., Nkuni, Z., et Corbel, V. 2011. Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control? *Trends in Parasitology*, **27**: 91–98.
- Rattner, B.A. 2009. History of wildlife toxicology. *Ecotoxicology*, **18**: 773–783.
- Ravensberg, W.J. 2011. A roadmap to the successful development and commercialization of microbial pest control products for control of arthropods. *Progress in Biological Control*, **10**: 357–376.
- Regnault-Roger, C. 2005. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Tec & Doc – Lavoisier, Paris, France.
- Reiter, P. 2001. Climate change and mosquito-borne disease. *Environmental Health Perspectives*, **109**: 141–161.
- Resnik, D.B. 2012. Ethical issues in field trials of genetically modified disease-resistant mosquitoes [en ligne]. *Developing World Bioethics*. doi: 10.1111/dewb.12011.
- Rey, J.R., Walton, W.E., Wolfe, R.J., Roxanne, C., O'Connell, S.M., Berg, J., Sakolsky-Hoopes, G.E., et Laderman, A.D. 2012. North American wetlands and mosquito control. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **9**: 4537–4605.
- Riaz, M.A., Chandor-Proust, A., Dauphin-Villemant, C., Poupardin, R., Jones, C.M., Strode, C., et al. 2013. Molecular mechanisms associated with increased tolerance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in the dengue vector *Aedes aegypti*. *Aquatic Toxicology*, **126**: 326–337.
- Ricci, I., Damiani, C., Rossi, P., Capone, A., Scuppa, P., Cappelli, A., et al. 2011. Mosquito symbioses: from basic research to the paratransgenic control of mosquito-borne diseases. *Journal of Applied Entomology*, **135**: 487–493.
- Rivero, A., Vézilier, J., Weill, M., Read, A.F., et Gandon, S. 2010. Insecticide control of vector-borne diseases: when is insecticide resistance a problem? *Public Library of Science Pathogens*, **6**(8): e1001000. doi: 10.1371/journal.ppat.1001000.
- Roberts, J.R., Karr, C.J., Paulson, J.A., Brock-Utne, A.C., Brumberg, H.L., Campbell, C.C., et al. 2012. Pesticide exposure in children. *Pediatrics*, **130**(6): e1765–e1788. doi:10.1542/peds.2012-2758.
- Rodriguez, M.M., Bisset, J.A., et Fernandez, D. 2007. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **23**: 420–429.
- Rosas-Garcia, N.M. 2009. Biopesticide production from *Bacillus thuringiensis*: an environmentally friendly alternative. *Recent Patents on Biotechnology*, **3**: 28–36.
- Rose, R.I. 2001. Pesticides and public health: integrated methods of mosquito management. *Emerging Infectious Diseases*, **7**: 17–23.
- Sahayaraj, K. et Namasivayam, S.K.R. 2008. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by products. *African Journal of Biotechnology*, **7**: 1907–1910.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., et al. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **62**: 775–806.

- Scholte, E.-J., Den Hartog, W., Dik, M., Schoelitsz, B., Brooks, M., Schaffner, F., et al. 2010. Introduction and control of three invasive mosquito species in the Netherlands, July–October 2010. *Eurosurveillance*, **15** (45). Disponible sur: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19710> [consulté le 15 Décembre 2012].
- Scholte, E.-J., Knols, B.G.J., Samson, R.A., et Takken, W. 2004. Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. *Journal of Insect Science*, **4**: 19.
- Scholte, E.-J., Takken, W., et Knols, B.G.J. 2003. Infection of malaria (*Anopheles gambiae* s.s.) and filariasis (*Culex quinquefasciatus*) vectors with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Malaria journal*, **2**: 29. Disponible sur <http://www.malariajournal.com/content/2/1/29> [consulté le 1 avril 2012].
- Schrank, A. et Vainstein, M.H. 2010. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*, **56**: 1267–1274.
- Seleena, P. et Lee, H.L. 1998. Mosquitocidal bacteria isolated from Malaysia. *Israel Journal of Entomology*, **32**: 155–158.
- Seleena, P., Lee, H.L., Chooi, K.H., et Junaidih, S. 2004. Space spraying of bacterial and chemical insecticides against *Anopheles balabacensis* basis for the control of malaria in Sabah, East Malaysia. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, **35**: 68–78.
- Seye, F., Faye, O., Ndiaye, M., Njie, E., et Afoutou, M. 2009. Pathogenicity of the fungus, *Aspergillus clavatus*, isolated from the locust, *Oedaleus senegalensis*, against larvae of the mosquitoes *Aedes aegypti*, *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Insect Science*, **9**: 1–7. Disponible sur <http://www.insectscience.org/9.53/i1536-2442-9-53.pdf> [consulté le 15 décembre 2012].
- Seye, F. et Ndiaye, M. 2008. Compatibilité entre *Aspergillus clavatus* (Hyphomycetes) et l'huile de neem (*Azadirachta indica*) contre le moustique vecteur de filarioses *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823) (Diptera: Culicidae). *Bacteriologia, virusologia, parazitologia, epidemiologia*, **53**: 43–48.
- Seye, F., Ndiaye, M., Faye, O., et Afoutou, J.M. 2012. Evaluation of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* formulated with suneem (neem oil) against *Anopheles gambiae* s.l. and *Culex quinquefasciatus* adults. *Malaria Chemotherapy, Control & Elimination*, **1**: 1–6. doi: 10.4303/icce/235494.
- Seye, F., Ndione, R.D., Touré, M., Ndiaye, M., Boukraa, S., Bawin, T., et al. 2013. Laboratory and semi-field environment tests for the control efficacy of *Metarhizium anisopliae* formulated with neem oil (suneem) against *Anopheles gambiae* s.l. adult emergence. *Academia Journal of Biotechnology*, **1**: 46–52.
- Shaalán, E.A.S. et Canyon, D.V. 2009. Aquatic insect predators and mosquito control. *Tropical Biomedicine*, **26**: 223–261.
- Shah, P.A. et Pell, J.K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **61**: 413–423.
- Singh, G. et Prakash, S. 2011. Studies on fungal cultural filtrates against adult *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) a vector of filariasis. *Journal of Parasitology Research*. Disponible sur <http://dx.doi.org/10.1155/2011/147373> [consulté le 10 novembre 2013].
- Singh, G. et Prakash, S. 2012. Lethal effects of *Aspergillus niger* against mosquitoes vector of filaria, malaria, and dengue: a liquid mycoadulcicide [en ligne]. *The Scientific World Journal*. Disponible sur <http://dx.doi.org/10.1100/2012/603984> [consulté le 10 novembre 2013].
- Soberon, M., Fernandez, L.E., Perez, C., Gill, S.S., et Bravo, A. 2007. Mode of action of mosquitocidal *Bacillus thuringiensis* toxins. *Toxicon*, **49**: 597–600.
- Specht, R., Han, B., Wickramasinghe, S.R., Carlson, J.O., Czermak, P., Wolf, A., et Reif, O.-W. 2004. Densonucleosis virus purification by ion exchange membranes. *Biotechnology and Bioengineering*, **88**: 465–473.
- Srivastava, C.N., Maurya, P., Sharma, P., et Mohan, L. 2009. Prospective role of insecticides of fungal origin. *Entomological Research*, **39**: 341–355.
- St. Leger, R.J. et Wang, C. 2010. Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve greater efficacy against insect pests. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **85**: 901–907.
- Sucharit, S. 1993. Recent advances in vector control in filariasis. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, **24**: 64–68.
- Suchman, E. et Carlson, J. 2004. Production of mosquito densonucleosis viruses by *Aedes albopictus* C6/36 cells adapted to suspension culture in serum-free protein-free media. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal*, **40**: 74–75.
- Temu, E.A., Maxwell, C., Munyekenye, G., Howard, A.F.V., Munga, S., Avicor, S.W., et al. 2012. Pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae*, in Bomi County, Liberia, compromises malaria vector control. *Public Library of Science One*, **7**(9): e44986. doi: 10.1371/journal.pone.0044986.
- Tetreau, G., Patil, C.D., Chandor-Proust, A., Salunke, B.K., Patil, S.V., et Després, L. 2013a. Production of the bioinsecticide *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* with deltamethrin increases toxicity towards mosquito larvae. *Letters in Applied Microbiology*, **57**: 151–156.
- Tetreau, G., Stalinski, R., David, J.-P., et Després, L. 2013b. Monitoring resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in the field by performing bioassays with each Cry toxin separately. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **108**: 894–900.
- Thomas, M.B. et Read, A.F. 2007. Can fungal biopesticides control malaria? *Nature Microbiology Reviews*, **5**: 377–383.

- Tranchida, M.C., Riccillo, P.M., Micieli, M.V., Garcia, J.J., et Rodriguero, M.S. 2001. Isolation, characterization and evaluation of mosquitocidal activity of *Lysinibacillus* strains obtained from *Culex pipiens* larvae. *Annals of Microbiology*, **61**: 575–584.
- van Frankenhuyzen, K. 2009. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystals proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*, **101**: 1–16.
- Vasil'eva, V.L., Lebedinets, N.N., Gurval', A.L., Chigir', T.V., Buchatskii, L.P., et Kuznetsova, M.A. 1990. [The safety of the preparation viroden for vertebrate animals]. *Mikrobiologicheskii zhurnal*, **52**: 73–79.
- Vijayan, V. et Balaraman, K. 1991. Metabolites of fungi & actinocytes active against mosquito larvae. *Indian Journal of Medical Research*, **93**: 115–117.
- Vyas, N., Dua, K.K., et Prakash, S. 2007. Efficacy of *Lagenidium giganteum* metabolites on mosquito larvae with reference to nontarget organisms. *Parasitology Research*, **101**: 385–390.
- Weill, M., Luffalla, G., Mogensen, K., Chandre, F., Berthomieu, A., Berticat, C., et al. 2003. Insecticide resistance in mosquito vectors. *Nature*, **423**: 136–137.
- Weiser, J. 1984. A mosquito-virulent *Bacillus sphaericus* in adult *Simulium damnosum* from northern Nigeria. *Zentralblatt für Mikrobiologie*, **139**: 57–60.
- Wickremesinghe, R.S.B. et Mendis, C.L. 1980. *Bacillus sphaericus* spore from Sri Lanka demonstrating rapid larvicidal activity on *Culex quinquefasciatus*. *Mosquito News*, **40**: 387–389.
- Wilke, A.B., Gomes, A., de, C., Natal, D., et Marrelli, M.T. 2009. Control of vector populations using genetically modified mosquitoes. *Revista de Saude Publica*, **43**: 869–874.
- Wirth, M.C., Walton, W.E., et Federici, B.A. 2000. Cyt1A from *Bacillus thuringiensis* restores toxicity of *Bacillus sphaericus* against resistant *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, **37**: 401–407.
- Woodring, J. et Davidson, E.W. 1996. Biological control of mosquitoes. *Dans The biology of disease vectors. Sous la direction de B.J. Beaty et W.C. Marquardt. University Press of Colorado, Boulder, Colorado, Les États-Unis d'Amérique. Pp. 530–548.*
- Yoda, T., Rakue, Y., et Mizota, T. 2004. Integrated pest management and surveillance of West Nile Virus infection in Louisiana, USA. *Journal of Tokyo Medical University*, **62**: 212–217.
- Yu, S.J. 2008. *The toxicology and biochemistry of insecticides. CRC Press, Boca Raton, Florida, Les États-Unis d'Amérique.*
- Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, **17**: 879–920.