

SYNTHESE

(destinée aux utilisateurs et gestionnaires publics)

DeltaSyn

Gestion de la résistance d'*Aedes aegypti* à la deltaméthrine par création *in silico* de synergistes

Programme Evaluation et réduction des risques liés à l'utilisation des Pesticides – APR 2014 « Résistances et pesticides : Résister aux bioagresseurs, vaincre les résistances au changement pour réduire les risques »

Responsable scientifique du projet :

Christophe LAGNEAU (EID Méditerranée, Partenaire 1)

Autres partenaires bénéficiaires :

James Devillers (CTIS, Partenaire 2)

Manuel ETIENNE (CEDRE Martinique, Partenaire 3)

Bruno LAPIED (SiFCIR, Université d'Angers, Partenaire 4)

CONTEXTE GENERAL

Les maladies vectorielles transmises par les moustiques connaissent une recrudescence importante dans de nombreuses régions du globe, dont l'Europe, suite aux changements climatiques, à la globalisation des échanges, aux phénomènes de résistance, à l'introduction d'espèces tropicales invasives compétentes pour la transmission d'arbovirus, tel que le moustique tigre, *Aedes albopictus*, etc. En l'absence le plus souvent de vaccins et de traitements thérapeutiques efficaces, le recours à la lutte anti-vectorielle (LAV), qui repose principalement sur l'emploi d'insecticides, reste un moyen efficace de protéger les populations. En France, la lutte contre les moustiques adultes se fait réglementairement au moyen des seuls pyréthrinoïdes, en particulier de la deltaméthrine, derniers insecticides encore disponibles pour les traitements adulticides. Cependant, le développement de phénomènes de résistance à ce pyréthrinoïde, comme c'est le cas chez l'espèce *Ae. aegypti* dans certains DOM (e.g., Guyane, Martinique) rend les opérations de LAV moins efficaces, voire inopérantes.

Pour pallier ce problème, il conviendrait d'utiliser de nouveaux insecticides présentant de nouveaux mécanismes d'action. Cette stratégie est longue et coûteuse. Une autre alternative consisterait à utiliser des molécules déjà commercialisées pour d'autres usages (agricoles, vétérinaires,...) mais dont l'intérêt en LAV est démontré. Dans ce cas, il est nécessaire de trouver des formulations convenant aux traitements spatiaux adulticides ce qui peut être difficile voire impossible. La dernière stratégie consiste à utiliser un synergiste permettant de restaurer, au moins en partie, l'efficacité de l'insecticide vis-à-vis duquel le moustique est devenu résistant. C'est cette stratégie que nous avons privilégiée en utilisant une approche méthodologique combinant des techniques *in silico* et des tests de laboratoire *in vivo* et *in vitro*.

OBJECTIFS GENERAUX DU PROJET

Le projet DeltaSyn a pour objectif de développer une nouvelle stratégie de traitement des moustiques adultes reposant sur l'utilisation de la deltaméthrine associée à des molécules connues afin d'obtenir des synergies d'actions. L'hypothèse sous-jacente est que la combinaison d'une molécule synergique à la deltaméthrine pour lever les problèmes de résistance est plus aisée et moins coûteuse à réaliser que la recherche d'une nouvelle substance active pour la remplacer. De plus, la mise en place opérationnelle d'un mélange synergique est également plus rapide que le remplacement d'un adulticide par un autre.

Enfin, cette approche méthodologique appliquée à la LAV ainsi que les résultats obtenus devraient être facilement transposables au domaine de la protection phytosanitaire du fait de l'utilisation massive des pyréthrinoïdes en agriculture, au rang desquels se retrouve la deltaméthrine, et des problèmes de résistance inhérents à leur emploi.

QUELQUES ELEMENTS DE METHODOLOGIE (ET EVENTUELLES DIFFICULTES RENCONTREES)

Modélisation

L'approche méthodologique utilisée par le Partenaire 2 (CTIS) reposait sur l'élaboration de modèles QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) permettant de trouver des molécules candidates, existant dans le commerce ou à synthétiser. La confirmation d'action de ces molécules était validée par la réalisation d'essais de laboratoire *in vivo*. A mi-parcours, il a été décidé d'effectuer également des tests *in vitro*. Enfin, les effets écotoxicologiques et le comportement dans l'environnement de la molécule sélectionnée devaient être estimés au moyen de modèles QSAR et QSPR (Quantitative Structure-Property Relationship) ainsi que d'essais au laboratoire sur l'abeille domestique (*Apis mellifera*). Ces différentes étapes sont reprises succinctement ci-dessous en soulignant à chaque fois l'intérêt de nos choix méthodologiques, les difficultés rencontrées et comment elles ont été surmontées.

Les principes d'élaboration et de fonctionnement d'un modèle QSAR sont simples (cf. **Figure 1**). Des molécules d'intérêt, pour lesquelles on connaît l'activité biologique, sont codées par

des descripteurs moléculaires permettant de rendre compte de leurs particularités structurales et/ou de leurs propriétés physico-chimiques. Une méthode statistique, linéaire ou non linéaire, est utilisée pour relier ces deux entités et des paramètres et tests statistiques spécifiques permettent d'évaluer la qualité du modèle QSAR élaboré. Celui-ci peut ensuite être utilisé pour estimer l'activité potentielle de nouvelles molécules sans qu'il soit nécessaire de les synthétiser puisque à partir de la structure 2D ou 3D des molécules, les descripteurs moléculaires nécessaires au fonctionnement du modèle peuvent être calculés et introduits dans celui-ci pour estimer l'activité biologique de ces molécules (Karcher and Devillers, 1990).

La première difficulté à laquelle nous nous sommes confrontés a été la constitution d'un échantillon de molécules présentant une diversité structurale suffisante et dont l'activité biologique était en rapport avec une action synergique avec la deltaméthrine.

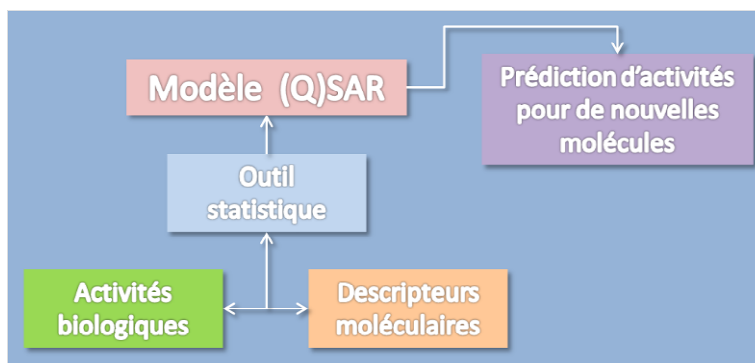


Figure 1 - Construction et fonctionnement d'un modèle QSAR.

Pour ceci, nous avons pris en compte les points suivants : le pipéronyle butoxide (PBO, cf. **Figure 2**) est le synergiste utilisé conjointement avec la deltaméthrine sur les moustiques résistants aux pyréthriinoïdes. Nous nous sommes donc intéressés aux molécules structurellement proches du PBO. Il a été également montré qu'un certain nombre des molécules répulsives (e.g., DEET) étaient également des synergistes des pyréthriinoïdes. Les molécules ayant ces différents caractères structuraux devaient également présenter une toxicité modérée. En effet, un synergiste est par définition une molécule modérément voire non toxique vis-à-vis de l'insecte cible mais qui, mis en présence d'un insecticide, va potentialiser la toxicité aiguë de celui-ci.

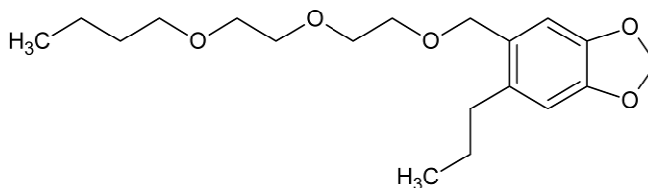


Figure 2 – Structure du PBO.

Notre choix s'est porté sur un échantillon de 74 molécules, remplissant les critères ci-dessus et dont la toxicité aiguë (dose létale 50 % (DL₅₀) en 24 heures par application topique sur des femelles adultes d'*Ae. aegypti* avait été mesurée dans les mêmes conditions rigoureuses par le même laboratoire (Pridgeon *et al.*, 2007, 2009, 2010). Un premier échantillon de 33 pipéridines a été utilisé pour évaluer la pertinence de différents types de descripteurs moléculaires ainsi que de la méthode statistique la plus adaptée aux données modélisées et aux objectifs du modèle produit. L'échantillon total de 74 molécules a été ensuite employé pour élaborer le modèle QSAR définitif.

Tests de laboratoire

Les tests *in vivo* sur *Ae. aegypti* ont été réalisés par le Partenaire 1 (EID Méditerranée). Le choix de la souche de référence s'est porté sur la souche Bora-Bora, bien connue pour sa parfaite sensibilité à toutes les familles connues d'insecticides. Pour la souche résistante, il a été décidé de partir des populations sauvages reconnues résistantes dans certaines

communes de La Martinique. Des larves et des œufs ont donc été collectés dès le début du projet par le Partenaire 3 (CEDRE, Martinique) dans les gîtes anthropiques des Anses d'Arlet, de La Trinité et de Vauclin. Un premier test de sensibilité sur la génération directement issue du terrain a confirmé la résistance de ces moustiques à la deltaméthrine.

Des changements au niveau de la direction du CEDRE Martinique, ont conduit le Partenaire 3 à se retirer du projet en décembre 2016 (voir rapport intermédiaire). Dès janvier 2017, ce dernier a donc envoyé des œufs des souches résistantes de Vauclin et Trinité au Partenaire 1 pour assurer l'élevage des souches résistantes et la réalisation des tests. Ainsi le Partenaire 1 a maintenu l'élevage de ces souches sur plus de 16 générations dans l'insectarium de l'EID Méditerranée.

La seconde étape a consisté à vérifier que les molécules d'intérêt sélectionnées par le Partenaire 2 ne présentaient pas de toxicité intrinsèque importante vis-à-vis de l'espèce *Ae. aegypti* pouvant les faire assimiler à des insecticides. Cette information a été obtenue au moyen d'un test par contact topique (World Health Organization, 2009) sur femelles de la souche sensible Bora Bora, consistant à appliquer sur le thorax de femelles anesthésiées des doses croissantes d'une molécule donnée diluées dans l'acétone et permettant d'obtenir une gamme de mortalité. Les résultats obtenus ont permis de calculer les doses létales DL_{50} et DL_{90} des molécules d'intérêt (cf. **Figure 3**).

La troisième étape a consisté à établir l'existence *in vitro* de propriétés synergiques des molécules d'intérêt les plus prometteuses basées sur une technique radiométrique d'imagerie calcique. Confiée au Partenaire 4 (SiFCIR, Angers), cette technique devait permettre de détecter un effet synergique en s'appuyant sur le fait que l'élévation de la concentration en calcium intracellulaire est responsable de l'activation de voies de signalisations intracellulaires dépendantes du calcium impliquées dans l'augmentation de la sensibilité aux insecticides des cibles membranaires neuronales. Les neurones utilisés sont préalablement isolés des têtes de moustiques femelles adultes, issues des œufs d'*Ae. aegypti* transmis par le Partenaire 1.

La quatrième étape visait à démontrer la synergie d'action en conditions *in vivo*. La méthode retenue initialement, le test en tube par contact tarsal (World Health Organization, 2009), devait permettre d'évaluer sur une période de 24 h la vitesse d'apparition de l'effet choc sur des lots de femelles exposés pendant 1 h à un papier filtre préalablement imprégné du mélange de deltaméthrine et d'une molécule d'intérêt à une concentration donnée. Les résultats obtenus ont permis de calculer les *knock-down times* KT_{50} et KT_{90} exprimés en minutes, qui sont ensuite comparés à ceux de la deltaméthrine seule, à la même dose.

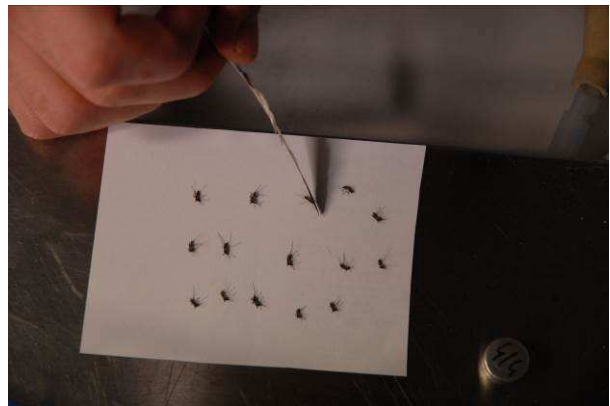


Figure 3 – Test par contact topique.

Une série de tests par contact tarsal a été réalisée sur les souches Bora Bora et Vauclin, mais la difficulté de détecter avec précision l'effet choc pendant toute la durée du test a conduit à abandonner ce test au profit du test par contact topique, plus simple à réaliser.

En référence à l'étude sur le potentiel synergique du PBO associé à la deltaméthrine conduite par Marcombe *et al.* (2009), les molécules d'intérêt ont d'abord été testées par contact topique à la dose unique de 1 µg par femelle sur la souche sensible Bora Bora. Cette dose a été ajoutée dans les solutions des différentes concentrations de la gamme de deltaméthrine permettant d'obtenir un gradient de mortalité entre 0 et 100 % et de calculer les DL_{50} et DL_{90} exprimée en ng de deltaméthrine/mg p.v. femelle. De multiples tests ont ensuite été réalisés pour réduire/ajuster les doses relatives des molécules d'intérêt en combinaisons binaires et ternaires avec la deltaméthrine. Pour les combinaisons ternaires, nous avons utilisé le répulsif IR3535. A notre connaissance, ce répulsif n'avait jamais été utilisé comme synergiste de la

deltaméthrine. Son choix a été motivé par sa structure, son activité répulsive et sa faible toxicité humaine.

Plusieurs étapes ont ensuite été nécessaires pour mettre en évidence sur l'espèce cible *Ae. aegypti* les propriétés synergiques des molécules les plus prometteuses en combinaison avec la deltaméthrine.

Enfin, les effets écotoxicologiques potentiels de la molécule la plus prometteuse ont été estimés à partir de la plateforme VEGA (2018) dont les modèles QSAR présentent des domaines d'applications étendus et sont très souvent mis à jour. Un test limite sur l'abeille domestique (*Apis mellifera*) a également été réalisé grâce à un contrat de sous-traitance prévu dans le programme (INRA, Station du Magneraud). Le comportement dans l'environnement de la molécule sélectionnée a également été évalué à partir de BioWin 1, BioWin 2 et KoWWin de l'EPA (Environmental Protection Agency) et d'AUTOLOGP (Devillers, 1999a).

RESULTATS OBTENUS

Un premier échantillon de 33 pipéridines testées par Pridgeon *et al.* (2007) a permis d'établir des modèles QSAR congénériques c'est-à-dire établis sur des séries homogènes de molécules. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à la structure 3D de ces molécules ce qui nous a conduits à considérer deux séries conformationnelles différentes pour les 33 pipéridines étudiées et à calculer des descripteurs physico-chimiques différents pour ces deux séries. Un réseau de neurones à apprentissage supervisé de type perceptron à trois couches a été utilisé (cf. **Figure 4**) pour construire un modèle QSAR pour chaque série.

Les meilleurs modèles de chaque série ont été hybridés afin d'obtenir un outil de simulation encore plus performant. Lors d'une seconde étude, à partir du même échantillon de 33 pipéridines nous avons évalué l'intérêt des descripteurs topologiques et de différentes approches statistiques linéaires et non linéaires couramment utilisées en SAR (e.g., activités Booléennes) et QSAR. Ces modèles ont fait l'objet de deux publications (cf. **Annexes 1 et 2**).

Ces études nous ont conduit à utiliser le perceptron à trois couches comme méthode statistique pour construire le modèle final car il permet de trouver des relations complexes entre les activités et les descripteurs moléculaires ce que ne peut pas faire les régressions linéaires (cf. **Figure 5**).

Pour coder les molécules du modèle final nous avons choisi la méthode d'autocorrélation (Devillers, 1999c, cf. **Figure 6**).

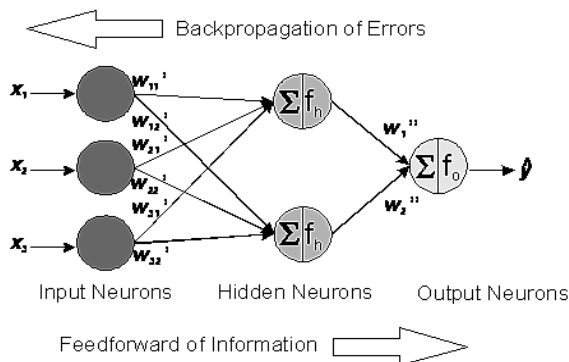


Figure 4 - Principe de fonctionnement d'un perceptron à 3 couches.

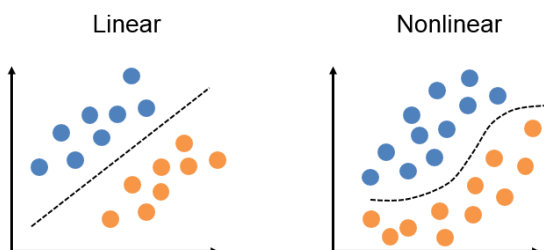


Figure 5 - Séparation linéaire et non linéaire d'objets.

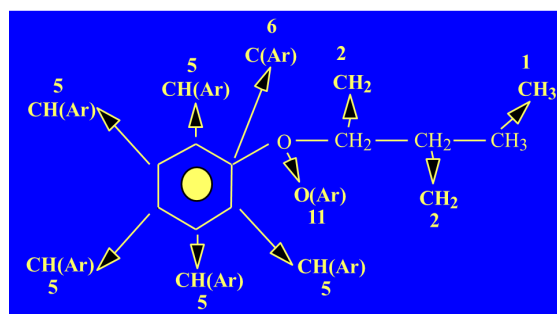


Figure 6 - Codage d'une molécule avec la méthode d'autocorrélation.

La méthode d'autocorrélation considère les molécules sous forme de graphes (comme pour une méthode topologique classique) mais l'algorithme prend en compte les contributions atomiques attribuées aux nœuds du graphe pour une propriété donnée (cf. **Figure 6**).

Le modèle final a été élaboré sur un échantillon de 74 molécules présentant des structures variées et pour lesquelles les DL₅₀ avaient été obtenues selon les mêmes conditions opératoires (Pridgeon *et al.*, 2007, 2009, 2010). Ce modèle, qui a subi un processus de validation complet a également fait l'objet d'une publication (cf. **Annexe 3**). Ces différents modèles, surtout le dernier, ont été utilisés pour proposer des molécules candidates. La stratégie utilisée était toujours la même.

Elle consistait à rechercher des motifs structuraux spécifiques (« scaffolds ») dans différentes banques de données par études de similarité. Le principe est illustré avec la **Figure 7** dont le « scaffold » n'a aucun rapport avec notre étude. Ainsi, à partir du modèle définitif sélectionné,

les motifs structuraux pour chercher les molécules candidates comportaient un cycle benzénique ou benzodioxole (i.e., cycle du PBO) unique c'est-à-dire sans cycle additionnel, incluant la pipéridine. Par contre, l'intérêt de la présence d'amines primaires, secondaires et tertiaires a été évalué. Une liste potentielle de molécules a été constituée et leur activité prédite par le modèle QSAR définitif. Celles présentant des structures et activités intéressantes ont été achetées. Des tests topiques ont été réalisés par le Partenaire 1 (EID Méditerranée) sur la souche sensible Bora Bora avec la deltaméthrine et avec chaque molécule candidate prise séparément, ainsi qu'avec le PBO, DEET, l'IR3535 et la pipérine.

Les résultats exprimés ng ou µg/ mg p.v. de femelle ont servi au calcul des doses létales DL₅₀ et DL₉₀ et de points de référence pour les tests en mélanges. Ils ont également permis de situer les résultats obtenus par le Partenaire 1 par rapport à ceux trouvés dans la littérature pour ces molécules ainsi que ceux utilisés par le Partenaire 2 pour construire le modèle final et tester ses performances prédictives.

Au cours de la première année, et avant de se retirer du projet en décembre 2016 pour raisons administratives, le Partenaire 3 (CEDRE-Martinique) a testé la deltaméthrine sur deux souches résistantes des localités des Anses d'Arlet et de La Trinité. Le Partenaire 1 a ensuite mis en place début 2017, dans ses insectariums sécurisés, un élevage des souches résistantes Trinité et Vauclin fournies au stade œuf par le Partenaire 3. A partir de ce moment-là, les tests *in vivo* sur souches résistantes ont été réalisés exclusivement au laboratoire de l'EID Méditerranée à Montpellier par le Partenaire 1.

Les tests *in vitro* conduits par le Partenaire 4 ont apporté une preuve mécanistique qu'une des molécules candidates, le PSM-05 à 10⁻¹⁰M, présentait en association avec la deltaméthrine à 10⁻¹¹M, une synergie d'action se traduisant par des variations de calcium intracellulaire comparés aux effets des composés testés seuls sur des neurones de femelles de la souche Bora Bora. Toutefois, le même mélange n'a pas permis, aux concentrations testées, de mettre en évidence un tel effet sur des neurones isolés de la souche résistante Vauclin. Malheureusement, il n'a pas été possible de réaliser plus d'essais sur la souche Vauclin et aucun sur la souche Trinité. L'utilisation des essais *in vitro* dans ce projet s'est avérée délicate. Bien qu'ils permettent effectivement de renseigner sur l'existence d'une synergie, les ratios de concentrations testés n'étaient pas transposables *in vivo*. C'est pourquoi, ils ont été abandonnés au profit des tests *in vivo*.

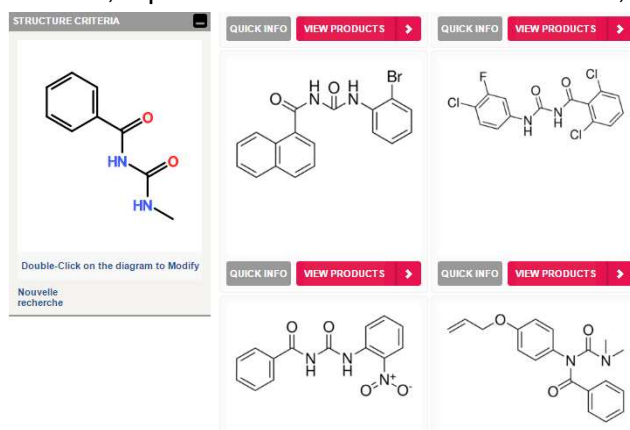


Figure 7 - « Scaffold » (gauche) permettant d'identifier des molécules par similarité structurale dans une banque de données.

Une première série de tests en tubes par contact tarsal a ainsi été effectuée sur la souche sensible Bora Bora. Les concentrations relatives testées entre la deltaméthrine et le PSM-05 s'appuient sur les observations des tests *in vitro*. Les KT_{50} et KT_{90} (exprimés en minutes) obtenus avec la deltaméthrine seule à la concentration de 0,05 % atteignent 8,8 et 14,0 minutes respectivement. Le PBO appliqué seul, tout comme le PSM-05 n'ont entraîné aucune mortalité. Ces deux molécules combinées chacune avec la deltaméthrine (0,05 %) à la même concentration relative que celle du test *in vitro*, permettent d'atteindre des KT_{50} et KT_{90} équivalents à 10,5 et 15 min et 9,8 et 18 min, ce qui ne diffère pas sensiblement de la deltaméthrine seule. Ce résultat contredit celui obtenu *in vitro* également sur Bora Bora et qui démontrait au contraire une synergie d'action. Les tests par contact tarsal sur la souche Vauclin ont permis de calculer des KT_{50} et KT_{90} pour la deltaméthrine seule (0,05 %) de 266 et 2.553 min soit 30,2 et 182,4 fois plus importants que sur la souche sensible Bora Bora. En présence de PBO à $1.10^{-10}M$, les KT_{50} et KT_{90} atteignent respectivement 276 et >1.440 min (soit 24 h, seuil au-delà duquel l'effet choc estimé est considéré comme inexistant). Dans le cas du PSM-05 $5.10^{-10}M$, ils s'élèvent respectivement à 136 et 615 min, ce qui est deux fois mieux que le mélange deltaméthrine + PBO à $1.10^{-10}M$. Du fait de la difficulté à dénombrer avec précision l'effet choc pendant toute la durée du test (24 h), les tests en tubes ont été délaissés au profit des tests topiques.

L'application topique de deltaméthrine associée à 1 µg PSM-05 sur femelles de la souche sensible Bora Bora n'a pas mis en évidence un effet indiquant une synergie d'action. La plus-value du PSM-05 a été évaluée alors directement sur les souches résistantes Vauclin ou Trinité (leur choix étant dicté par la disponibilité aléatoire de femelles en nombre suffisant). Associés l'un et l'autre à la deltaméthrine, le PSM-05 et le PBO ont également été testés en associations ternaires avec le diéthyl maléate ou l'IR3535 pour voir dans quelle mesure cela renforcerait la synergie d'action en ciblant d'autres mécanismes de résistance. En rajoutant 1 µg de PBO à la deltaméthrine, les DL_{50} et DL_{90} atteignent respectivement $0,79 \pm 0,43$ et $2,74 \pm 1,29$ ng/mg p.v. femelle de la souche Vauclin soit respectivement 1,4 et 3,5 fois moins que celles obtenues avec la deltaméthrine seule.

Le mélange deltaméthrine + 1 µg de PSM-05 donne des résultats similaires à ceux du PBO (DL_{50} et DL_{90} : $0,73 \pm 0,31$ et $5,37 \pm 4,60$ ng/mg p.v. femelle, respectivement). Le mélange deltaméthrine + 1 µg de diéthyl maléate n'apporte aucun gain d'efficacité. Par contre, ce même mélange, en présence de 1 µg de PBO, accentue la synergie d'action (DL_{50} et DL_{90} : 0,46 et 1,32 ng/mg, respectivement), de même dans le cas du mélange deltaméthrine + 1 µg PSM-05 (DL_{50} et DL_{90} : $0,35 \pm 0,11$ et $1,08 \pm 0,15$ ng/mg, respectivement). Le mélange deltaméthrine + PSM-05 (0,5 µg) + IR3535 (0,5 µg) permet d'obtenir des DL_{50} et DL_{90} intéressantes de 0,00313 et 0,06889 ng/mg p.v femelle. D'autres tests ont été réalisés en croisant plusieurs concentrations de chacun de ces composants sans parvenir à améliorer ce résultat, ni à fixer un ratio optimal de concentrations, le but étant de réduire au maximum les quantités utilisées de synergistes.

Le PSM-05 a également fait l'objet d'un test de répulsivité en tube selon la méthode Grieco *et al.* (2005). Le test n'a pas permis de mettre en évidence une telle propriété mais une seule dose a été testée. Il serait utile de poursuivre le test en augmentant la dose de 10 à 100 fois pour vérifier l'éventualité d'un effet dose dépendant.

Enfin, les profils écotoxicologiques du PBO et du PSM-05 établis par le Partenaire 2 apparaissent assez semblables. Par contre le comportement dans l'environnement du PSM-05 semble meilleur que celui du PBO. Cependant les résultats *in silico* obtenus pour le PSM-05 demandent à être confirmés expérimentalement. Le profil écotoxicologique de l'IR3535 est meilleur que ceux du PBO et du PSM-05 et son comportement dans l'environnement est comparable à celui de PSM-05.

IMPLICATIONS PRATIQUES, RECOMMANDATIONS, REALISATIONS PRATIQUES, VALORISATION

A l'issue de ce projet de Recherche, au-delà des résultats obtenus et des nouvelles connaissances qu'ils apportent, un retour d'expérience nous paraît intéressant à développer.

- *Implications pratiques :*

Utiliser un synergiste pour rétablir l'efficacité de la deltaméthrine sur les moustiques résistants à ce pyréthrianoïde est un procédé connu. Le plus souvent, le synergiste utilisé est le PBO. Puisque cette molécule pose questionnements, surtout pour ses effets adverses, l'objectif du projet était de proposer un nouveau synergiste pouvant se substituer au PBO. La stratégie consistait à construire des modèles QSAR permettant de proposer des molécules candidates dont l'activité théorique serait validée par différents essais de laboratoire. On peut considérer qu'avec la molécule PSM-05 associée au répulsif IR3535 l'objectif est atteint même si des tests sont encore nécessaires pour optimiser les concentrations à utiliser afin de réduire au maximum les quantités à utiliser dans le mélange.

Les résultats sont transposables à d'autres espèces de moustiques et très certainement à la protection phytosanitaire.

Cependant, un tel travail nécessite obligatoirement de maintenir des souches résistantes au laboratoire. Dans le cadre de ce projet, malgré la longue expérience pratique du Partenaire 1 dans l'élevage des moustiques et de leur utilisation en tests, il a été très difficile de maintenir les souches résistantes d'*Aedes* au laboratoire pour en avoir en quantité suffisante pendant toute la durée du programme et sans qu'il y ait une dérive au niveau du degré de résistance. Ce travail qui n'apparaît pas dans les résultats est pourtant indispensable car il évite d'utiliser directement des moustiques prélevés dans l'environnement, source de variabilité importante dans les résultats et qui cantonnent la réalisation de ces tests aux zones dans lesquelles se rencontrent ces moustiques résistants.

Le dépôt d'un synergiste avant celui de l'insecticide permet d'activer les effets du synergiste. Ce processus est difficilement réalisable lorsqu'on fait des tests topiques sur moustiques. D'une manière générale, les tests existants sur moustiques permettent mal de tester des mélanges. Il conviendrait de travailler sur les protocoles.

- *Recommandations et limites éventuelles :*

Les résultats du travail permettront à terme d'envisager une nouvelle stratégie pour gérer les problèmes de résistance avérés chez les moustiques en additionnant de manière extemporanée à la bouillie de pulvérisation à base de deltaméthrine le synergiste identifié (PSM-05) et l'IR3535. Toutefois, une telle recommandation devra être préalablement précédée d'une étude plus approfondie portant sur l'évaluation du risque d'exposition des applicateurs, de la population générale et de l'environnement de la combinaison des produits recommandée ainsi que de la faisabilité opérationnelle de manière à préconiser toutes mesures et précautions d'emploi appropriée pour gérer au mieux les risques identifiés.

- *Réalisations pratiques et valorisation :*

Le modèle QSAR définitif est opérationnel et il pourrait être utilisé de nouveau pour trouver de nouvelles molécules candidates (les modèles QSAR congénériques sont aussi opérationnels mais leur domaine d'application est plus limité).

Suite à la réalisation de ce programme de recherche, nous envisageons de déposer un brevet d'utilisation pour la molécule PSM-05. C'est la raison pour laquelle la structure de la molécule ne peut pas être dévoilée à ce stade car cela empêcherait tout dépôt de brevet éventuel.

Notre programme de recherche a permis de mettre au point une stratégie de mélange ternaire pour lutter contre les problèmes de résistance à la deltaméthrine chez les moustiques. Même si les proportions de synergistes restent à affiner pour limiter au maximum les quantités à utiliser, l'approche est originale.

Notre travail a déjà permis de réaliser trois publications et a été présenté dans un congrès national et cinq congrès internationaux. D'autres présentations orales et affichées sont prévues.

Enfin, notre projet a permis de former une personne à l'élevage et à la réalisation de tests sur moustiques.

PARTENARIATS MIS EN PLACE, PROJETS, ENVISAGES

Une collaboration a été établie avec le Pr. J.P. Doucet et le Pr. A. Panaye (Itodys, UMR 7086, Université Paris Diderot, Paris) pour la réalisation des modèles QSAR congénériques.

POUR EN SAVOIR PLUS (QUELQUES REFERENCES)

- D. Fontenille, C. Lagneau, S. Lecollinet, R. Lefait-Robin, M. Setbon, B. Tirel et A. Yébakima, 2009. *La Lutte Antivectorielle en France*. Collection Expertise collégiale, IRD Editions, p. 533 p. + CD-Rom.
- J. Devillers, 2018. *Computational Design of Chemicals for the Control of Mosquitoes and their Diseases*, CRC Press, Boca Raton, p. 458.

LISTE DES OPERATIONS DE VALORISATION ISSUES DU CONTRAT (ARTICLES DE VALORISATION, PARTICIPATIONS A DES COLLOQUES, ENSEIGNEMENT ET FORMATION, COMMUNICATION, EXPERTISES...)

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES	
Publications scientifiques parues	<ul style="list-style-type: none"> - J.P. Doucet, E. Papa, A. Doucet-Panaye, and J. Devillers, <i>QSAR models for predicting the toxicity of piperidine derivatives against Aedes aegypti</i>, SAR QSAR Environ. Res. 28 (2017), pp. 451-470. - J. Devillers, A. Doucet-Panaye, J.P. Doucet, C. Lagneau, S. Estaran, and A. Yébakima, <i>Predicting toxicity of piperidines against female adults of Aedes aegypti</i>, in <i>Computational Design of Chemicals for the Control of Mosquitoes and their Diseases</i>, J. Devillers, ed., CRC Press, Boca Raton, 2018, pp. 297-314.
Publications scientifiques à paraître	<ul style="list-style-type: none"> - J. Devillers, A. Larghi, and C. Lagneau, <i>QSAR modelling of synergists to increase the efficacy of deltamethrin against pyrethroid-resistant Aedes aegypti mosquitoes</i>, SAR QSAR Environ. Res. 29 (2018), sous presse.
Publications scientifiques prévues	<ul style="list-style-type: none"> - J. Devillers, C. Lagneau, and B. Lapied, <i>Use of synergists for the control of mosquitoes resistant to pyrethroids</i>. - J. Devillers, A. Larghi, C. Lagneau, B. Lapied, M. Etienne, and P. Aupinel, <i>A new synergist active on Aedes mosquitoes resistant to deltamethrin</i>.
COLLOQUES	
Participations passées à des colloques	<ul style="list-style-type: none"> 15 octobre 2015 : Séminaire de lancement de projets de recherche, Académie d'Agriculture de France, Paris (Présentation orale). 17-19 mai 2016 : 46e Congrès du Groupe Français des Pesticides, Bordeaux, C. Lagneau <i>et al.</i>, Management of the resistance of <i>Aedes aegypti</i> to deltamethrin by creation of synergists <i>in silico</i> (Poster). 12-16 mars 2017 : 8th European Mosquito Control Association (EMCA) Conference, Bečići, Montenegro, C. Lagneau <i>et al.</i>, Designing synergists to overcome problems of resistance of <i>Aedes aegypti</i> to deltamethrin (Poster). 07-11 mai 2017 : SETAC Europe 27th Annual Meeting, Brussels, Belgium, A. Panaye-Doucet <i>et al.</i>, Toxicity of piperidine derivatives to <i>Aedes aegypti</i> mosquitoes. QSAR prediction of lethal doses (Poster). 01-03 juin 2017 : 17th Hellenic Symposium on Medicinal

	<p>Chemistry: Designing Targeted and Safer Drugs, Thessaloniki, Greece, J. Devillers et al. Predicting the acute toxicity of chemicals against female adults of <i>Aedes aegypti</i> (Conférence plénière invitée).</p> <p>27-30 octobre 2017 : 9th International Symposium on Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources, Goa, India, J. Devillers <i>et al.</i> Designing synergists to enhance the efficacy of deltamethrin against pyrethroid-resistant <i>Aedes aegypti</i> (Poster).</p> <p>11-15 juin 2018 : 18th International Conference on QSAR in Environmental and Health Sciences, Bled (Slovenia), J. Devillers <i>et al.</i>, QSAR modelling of synergists to enhance deltamethrin toxicity against resistant mosquitoes (Poster).</p>
Participations futures à des colloques	<p>27-28 juin 2017 : Colloque de la SEFA (Société d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée), Agropolis International, Montpellier, J. Devillers <i>et al.</i>, Discovery of new synergists enhancing deltamethrin toxicity against resistant mosquitoes. Part 1. QSAR modelling ; A. Larghi <i>et al.</i>, Discovery of new synergists enhancing deltamethrin toxicity against resistant mosquitoes. Part 2. Laboratory tests (2 posters acceptés).</p> <p>23-26 September 2018 : 5th International Conference on Computation for Science and Technology (ICCST 2018), Antalya, Turquie, J. Devillers <i>et al.</i>, Modeling the effects of synergists against mosquitoes (présentation orale acceptée).</p>
THESES	
Thèses passées	
Thèses en cours	
ARTICLES DE VALORISATION-VULGARISATION	
Articles de valorisation parus	
Articles de valorisation à paraître	
Articles de valorisation prévus	
AUTRES ACTIONS VERS LES MEDIAS	
Actions vers les médias (interviews...) effectuées	
Actions vers les médias prévues	
ENSEIGNEMENT - FORMATION	
Enseignements/formations dispensés	Une personne, engagée en CDD, a été formée à la mise en place et à la gestion des élevages de souches de moustiques résistantes, à la réalisation et à la mise au point de tests <i>in vivo</i> par contact topique et par contact tarsal (Partenaire 1).
Enseignements/formations prévus	Le concept de l'ajout d'un synergiste développé dans le projet DeltaSyn a été abordé lors de plusieurs formations Certibiocide délivrées par C. Lagneau (l'EID Méditerranée est reconnu depuis le 9 mars 2017 comme Centre de formation habilité à dispenser les formations Certiphyto et Certibio).
EXPERTISES	
Expertises menées	Le projet a fait l'objet d'échanges lors des réunions d'expertise

	<p>suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Réunion du 28 mai 2018 du Groupe de travail « Lutte Anti-Vectorielle », MEDDE/DGPR, Paris-la-Défense (Partenaire 1, C. Lagneau). - Technical Consultation on vector-borne diseases prevention and control in the WHO European Region, 14-15 June 2018, Athens, Greece (Partenaire 1, C. Lagneau).
Expertises en cours	
Expertises prévues	
METHODOLOGIES (GUIDES...)	
Méthodologies produites	Devillers, J. (2018). <i>Computational Design of Chemicals for the Control of Mosquitoes and their Diseases</i> , CRC Press, Boca Raton, p. 458.
Méthodologies en cours d'élaboration	
Méthodologies prévues	
AUTRES	
Précisez...	Un dépôt de brevet est envisagé pour la molécule identifiée comme synergiste.