



WHO/Mal/212  
WHO/Insecticides/85  
28 octobre 1958

ORIGINAL : ANGLAIS

RESISTANCE AUX INSECTICIDES CHEZ CERTAINES LARVES D'ANOPHELES

par

R. Elliott

Entomologiste, Malaria Service Medical Department,  
Fédération de la Nigeria

Introduction

L'introduction et l'utilisation d'une nouvelle méthode<sup>1</sup> pour l'examen de la réponse aux insecticides chez les larves des petits anophèles tropicaux, notamment d'A. gambiae (Elliott 1957, et sous presse), amènent à considérer l'utilité de cette méthode appliquée à des larves d'autres espèces manifestant ou pouvant éventuellement manifester une résistance spécifique aux insecticides. La présente étude rapporte les résultats de l'application de cette méthode, d'une part à deux espèces (A. sudaïcus et A. stephensi) dont certaines souches sont résistantes au DDT et, d'autre part, aux larves de A. gambiae melas et de A. funestus, et à certaines souches de A. gambiae sensu stricto capturées en Afrique occidentale.

Méthode expérimentale

La méthode appliquée était celle d'Elliott (1957) dans laquelle des larves au quatrième stade sont exposées pendant une heure à des dilutions aqueuses croissantes du toxique, puis reportées dans de l'eau pure et nourries, après quoi on calcule la mortalité au bout de cinq heures.

<sup>1</sup> Méthode d'épreuve standard de l'OMS comportant une exposition de 24 heures avant la détermination de la mortalité. En fait, la mortalité des témoins est négligeable, même chez A. gambiae dans d'autres régions. [ Note de l'éditeur ]

### Expériences sur *A. sudaïcus*

Le Ross Institute a envoyé des oeufs de deux souches de *A. sudaïcus*, l'une de Java, qui présentait de la résistance au DDT au stade adulte (Davidson 1957) et l'autre, de Malaisie, dont la sensibilité était normale. Les larves écloses de ces oeufs ont été élevées jusqu'au quatrième stade puis soumises à épreuve. Les survivants ont été tués car l'élevage de colonies d'anophèles tropicaux résistants aux insecticides est considéré comme trop dangereux dans la Nigeria,

Les larves étant trop peu nombreuses, il n'a été possible d'examiner que leur réaction au DDT; toutefois un petit nombre d'essais avec la dieldrine ont donné à penser que les deux souches réagissaient de façon analogue en présence de ce toxique, la  $CL_{50}$  étant voisine de 0,025 p.p.m.<sup>1</sup> Les résultats obtenus avec le DDT figurent au tableau I et font ressortir, pour la  $CL_{50}$ , des valeurs de 25 p.p.m (19-33 p.p.m.) pour la souche de Java, et de 0,35 p.p.m (0,26-0,47) pour la souche malaise. Le rapport de ces chiffres aux valeurs de la  $CL_{50}$  pour les adultes des mêmes souches, déterminées par la méthode Busvine-Nash, n'est pas sans intérêt.

Davidson (1957) estime que le rapport des valeurs de la  $CL_{50}$  pour les deux souches est de l'ordre de 1:40; le rapport chez les larves est de 1:71, soit 1:40 x 1,8. On peut donc considérer que le facteur 1,8 constitue l'indice de la différence entre les résultats obtenus avec les larves et ceux que donnent les adultes de la même souche. A cet égard, on peut comparer les résultats observés pour les adultes et les larves de *A. gambiae* présentant les trois catégories de résistance à l'HCH qui se rencontrent chez cette espèce. Ces catégories sont les suivantes : les résistants homozygotes (RR), les résistants hétérozygotes (RS) et les sensibles homozygotes (SS).

---

<sup>1</sup> p.p.m. signifie "parties par million". Les chiffres indiqués entre parenthèses indiquent les limites de confiance pour un coefficient de confiance de 95 %.

Adultes

(Davidson 1956)

$$\frac{CL_{50} \text{ RR}}{CL_{50} \text{ RS}} = \frac{0,21}{0,033} = 40$$

$$\frac{CL_{50} \text{ RS}}{CL_{50} \text{ SS}} = \frac{0,033}{0,007} = 7,6$$

Larves

(Elliott 1958a & b)

$$\frac{3,7}{0,06} = 62 \quad (40 \times 1,5)$$

$$\frac{0,6}{0,045} = 13,3 \quad (7,6 \times 1,75)$$

L'existence de ce rapport relativement constant entre la  $CL_{50}$  pour les adultes (exprimée en pourcentage de toxique en solution dans l'huile) et la  $CL_{50}$  pour les larves (exprimée en parties par million de toxique dans l'eau) fait penser que le même mécanisme physiologique fonctionne aux deux stades et confirme heureusement l'intérêt de la seconde méthode d'étude.

Expériences sur *A. stephensi*

Des épreuves ont été effectuées sur des larves de trois souches de *A. stephensi* : 1) une souche "S", de l'Inde; 2) une population sélectionnée à partir de cette souche en élevant à chaque génération les larves qui avaient survécu à l'exposition au DDT; et 3) une souche "R" d'Irak, toutes trois fournies par le Ross Institute. La souche sélectionnée a été exposée au DDT pendant vingt générations (Davidson 1958) puis élevée pendant douze autres générations sans nouvelle pression. Les résultats sont présentés dans les tableaux II, III et IV et les valeurs de la  $CL_{50}$ , avec des limites de confiance 19/20, sont les suivantes :

<u><i>A. stephensi</i></u>	DDT	Dieldrine	HCH
"S" indienne	11,5 p.p.m. (7,7 - 17,25)	0,084 p.p.m. (0,058 - 0,122)	-
Souche sélectionnée	22,5 p.p.m. (15,0 - 33,5)	0,17 p.p.m. (0,094 - 0,31)	-
"R" irakienne	150 p.p.m. (202 - 111)	0,04 p.p.m. (0,029 - 0,055)	0,088 p.p.m. (0,073 - 0,105)

On notera que la sensibilité de ces trois souches au DDT est faible par rapport à celle de A. gambiae ou à celle de la souche sensible de A. sudaïcus, ce qui pourrait indiquer que, même avant l'apparition de la résistance, les larves de A. stephensi étaient peut-être légèrement réfractaires à l'action du DDT. La souche sélectionnée est environ deux fois plus résistante au DDT que la souche indienne d'où elle provient, alors que la souche irakienne est à peu près 13 fois plus résistante. Il semble probable qu'une certaine partie de la tolérance acquise par la souche sélectionnée a disparu au cours des douze générations élevées sans contact avec le DDT; pendant la période de sélection, la  $CL_{50}$  (pour une exposition de 24 heures) est passée de 0,49 p.p.m. à 3 p.p.m., soit de 1 à 6.

Les résultats obtenus avec la dieldrine indiquent des différences à peine significatives entre les trois souches, mais la valeur  $CL_{50}$  la plus élevée est celle de la souche sélectionnée, si bien que la sélection a pu avoir pour résultat d'isoler une souche présentant une "vigour tolerance" généralisée, aussi bien à d'autres insecticides qu'au DDT.

Si la corrélation entre les résultats chez les adultes et chez les larves s'applique à A. stephensi comme à A. gambiae et à A. sudaïcus, le rapport entre les  $CL_{50}$  pour les adultes résistants et pour les adultes susceptibles se situerait entre 1:7,2 et 1:8,6, ce qui correspond à une concentration de DDT de 11,5 % à 13,7 %, avec l'exposition habituelle d'une heure. En pratique, ces concentrations ne peuvent pas être obtenues : les résultats cités par Davidson (1957), qui sont calculés par extrapolation, semblent indiquer une valeur sensiblement moins forte, encore que le chiffre de 11,4 % que donne cet auteur pour l'Oasis de Katif, soit voisin de notre propre calcul.

#### Expériences sur A. gambiae melas

Des larves de cette espèce ont été prélevées sur une colonie qui a été entretenue à Yaba pendant une partie de 1957. Cette colonie n'a jamais été élevée complètement sans apport extérieur, si bien que le matériel soumis à l'épreuve est en fait un échantillon de la population naturelle locale. Les résultats des épreuves effectuées avec le DDT et la dieldrine figurent au tableau V et les  $CL_{50}$  sont les suivantes :

DDT	0,21 p.p.m. (coefficient de confiance 95 % : limites de confiance 0,175 et 0,25)
Dieldrine	0,13 p.p.m. (0,10 et 0,17)

Lorsque ces chiffres ont été obtenus, les seules souches d'A. gambiae disponibles pour comparaison provenaient des colonies Lagos (SS) et Ambursa (RR). Les chiffres relatifs à A. gambiae melas donnaient pour la dieldrine une  $CL_{50}$  un peu plus élevée que la  $CL_{50}$  de la souche Lagos mais beaucoup plus faible que la  $CL_{50}$  de la souche Ambursa. On a soupçonné l'existence d'un certain lien entre la sensibilité plus faible de A. gambiae melas et sa résistance au sel; cependant, la souche Ambursa s'est également révélée aussi sensible à la salinité que la souche Lagos. Si l'on tient compte des résultats obtenus à Ibadan en soumettant A. gambiae à la dieldrine, ainsi que de certains autres résultats obtenus avec le DDT qui seront examinés plus loin, il apparaît que les chiffres relatifs à A. gambiae melas sont parfaitement compatibles avec ceux qui concernent A. gambiae non résistant.

#### Expériences sur A. funestus

La colonie de cette espèce, dont l'entretien a commencé à Yaba en 1957 (Service 1957) a fourni un petit nombre d'individus; les résultats d'épreuves au DDT sont donnés dans le tableau V; la  $CL_{50}$  était de 0,3 p.p.m. (0,21-0,44). On a obtenu des chiffres pour d'autres insecticides mais avec un petit nombre d'insectes; dans l'ensemble, ces chiffres sont plus élevés que pour A. gambiae, bien qu'il n'y ait pas de raisons de supposer que cette souche ne soit pas normalement sensible et bien que les adultes paraissent - à vrai dire sur la base de quelques épreuves seulement - comparables à ceux qui ont été étudiés par Ramakrishna et Elliott (1957) et qui provenaient du nord de la Nigeria. Les  $CL_{50}$  observées étaient alors de 0,32 % pour le DDT et de 0,0033 % pour l'HCH. (Dans la publication initiale, par suite d'une erreur dont nous sommes seul responsable, il avait été indiqué pour le DDT une  $CL_{50}$  de 1,32 %.) Il semble donc qu'une larve relativement résistante puisse se transformer en un adulte sensible; il faut plus de toxique pour qu'une exposition d'une heure perturbe irréversiblement

le métabolisme de la larve paresseuse et lente de A. funestus que dans le cas de la larve active, à croissance rapide, de A. gambiae, mais l'adulte correspondant est plus sensible comme l'indiqueraient sa taille plus petite et son comportement actif. La corrélation constatée chez les trois autres espèces entre la résistance chez les larves et la résistance chez les adultes ne peut être généralisée. De même, chez A. stephensi, bien que l'adulte soit 1,4 fois (HCH) à 3,3 fois (DDT) plus résistant que A. gambiae adulte, la larve est infiniment plus résistante au DDT (18 fois), encore que sa résistance à l'HCH ne soit que 2 fois plus forte. En présence de DDT, certaines des divergences peuvent être dues à des habitudes d'alimentation différentes, puisque, dans la phase aqueuse utilisée pour l'épreuve, ce toxique se trouve surtout en suspension et doit être ingéré pour produire son effet, alors que la dieldrine et l'HCH sont l'un et l'autre en solution véritable; A. funestus et A. stephensi doivent donc être protégés par une plus grande lenteur de l'absorption et une plus grande constance des processus métaboliques.

#### Expériences sur A. gambiae

L'apparition de la résistance au DDT chez cette espèce mettrait en grave danger tout l'avenir de la lutte antipaludique en Afrique; disons donc tout de suite qu'on n'a constaté jusqu'à présent aucun signe d'une véritable résistance physiologique spécifique au DDT. Néanmoins, comme on pouvait s'y attendre, certaines variations de la sensibilité à ce toxique ont été constatées dans différentes zones et la connaissance du registre normal de ces variations constituera un facteur important du dépistage de la résistance au DDT, si ce phénomène devait se présenter. Nous avons examiné du matériel provenant des régions suivantes : Lagos, Sokoto occidental, Kano et Ibadan dans la Nigeria et Freetown au Sierra Leone. Les  $CL_{50}$  (en p.p.m.) sont indiquées ci-dessous par ordre décroissant :

Ibadan "A"	3,8	(2,5 à 5,7)
Freetown	1,8	(1,2 à 2,7)
Colonie Ambursa	0,8	(0,66 à 0,96) (Elliott 1957)
Colonie Kano	0,68	(0,45 à 1,02)

Ibadan "C"	0,56	(0,40 à 0,78)
Ibadan "B"	0,20	(0,11 à 0,36)
Sokoto occidental	0,094	(0,069 à 0,127) (Elliott & Ramakrishna 1958)
Lagos, sauvage	0,070	(0,56 à 0,87)
Lagos, colonie	0,064	(0,056 à 0,073) (Elliott 1957)
Ibadan "D"	0,030	(0,023 à 0,038)

Les variations sont remarquablement larges et on notera que la  $CL_{50}$  la plus élevée et la plus faible concernent toutes deux des insectes venant de la ville d'Ibadan. Elliott (sous presse) a mentionné aussi que le lot "A" provenant d'Ibadan présentait une forte résistance à la dieldrine ; il était constitué dans sa totalité par la descendance d'une même femelle. Les lots "B" et "C" venant d'Ibadan ont pu contenir des représentants du même type, qui paraît présenter une forte tolérance aux insecticides en général, plutôt qu'une résistance spécifique. Les lots "A", "B" et "C" ont été obtenus entre mars et mai 1957; les échantillons ultérieurs de larves provenant d'Ibadan présentaient une résistance exceptionnellement faible au DDT mais normale à la dieldrine et ils constituent ensemble le groupe "D". A Ibadan, la lutte contre les moustiques s'est bornée à des opérations larvicides restreintes, au moyen de DDT.

Au deuxième rang vient le chiffre fourni par Freetown, où l'utilisation de larvicides à base de DDT pendant 12 ans a pu sélectionner une population relativement tolérante. Viennent ensuite certains chiffres donnés par le nord de la Nigéria et par les colonies Ambursa et Kano. La présence sporadique dans cette région d'une souche relativement tolérante semble être également établie par les résultats obtenus sur les adultes (Elliott et Ramakrishna 1956; Armstrong et col. 1956) mais cette souche n'est pas universelle et ne présente pas toujours le facteur de résistance à la dieldrine et à l'HCH que l'on observe aussi dans la région.

On notera qu'aucun échantillon de A. gambiae n'approche de la  $CL_{50}$  de A. stephensi et A. sudaïcus résistants au DDT ou même de celle de A. stephensi de sensibilité normale, si bien que le retour général à l'utilisation du DDT

dans les projets de lutte contre A. gambiae paraît justifié : il semble que toutes les larves examinées dans la présente étude pourraient être détruites en appliquant, au taux normal, un larvicide à base de DDT; mais la réponse des adultes aux traitements imagocides est moins certaine.

### Résumé

1. La méthode conçue en 1957 pour l'examen de la réponse des larves d'anophèles aux insecticides, a été appliquée aux larves de A. sudaïcus, A. stephensi, A. funestus et A. gambiae gambiae et A. gambiae melas (Elliott 1957).
2. Chez deux souches de A. sudaïcus, la résistance des larves au DDT présentait une corrélation avec celle des adultes. On a constaté que le rapport entre les valeurs de la  $CL_{50}$  pour les adultes d'une souche sensible et pour ceux d'une souche résistante présentait une relation simple avec le rapport des  $CL_{50}$  pour les larves. En employant le HCH, un coefficient analogue relie les mêmes rapports entre les valeurs de la  $CL_{50}$  pour les adultes et, d'autre part, pour les larves, de trois types génétiques de A. gambiae.
3. Chez A. stephensi, les larves de trois souches ont été soumises à épreuve et on a constaté qu'elles étaient toutes relativement plus résistantes au DDT que A. gambiae. En comparant les adultes et les larves d'une souche sensible avec ceux d'une souche résistante, on a constaté que la relation observée dans le cas de A. gambiae et de A. sudaïcus s'applique probablement aussi à A. stephensi.
4. Chez A. gambiae melas, la sensibilité au DDT et à la dieldrine reste dans les limites de variation des souches non résistantes de A. gambiae. Chez A. funestus, les larves paraissent être plus sensibles que n'aurait pu le faire penser la sensibilité des adultes correspondants. La relation entre la sensibilité des adultes et celle des larves ne concerne donc que des souches d'une même espèce et non des espèces différentes.
5. Chez A. gambiae provenant de diverses parties d'Afrique occidentale, on observe de grandes variations de la  $CL_{50}$  de DDT, mais la tolérance au DDT observée

dans les études sur les larves les plus résistantes est très inférieure à la tolérance à ce toxique manifestée par A. sudaïcus résistant au DDT ou même par A. stephensi sensible, et il ne semble pas qu'on ait constaté de véritable résistance spécifique au DDT.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Davidson G. (1956) Insecticide resistance in A. gambiae. Nature, 178, 705
- Davidson G. (1957) Etudes sur la résistance des moustiques anophèles aux insecticides. WHO/Mal/192; WHO/Insecticides/69
- Elliott, R. (1957) A technique for the investigation of susceptibility to insecticides in Anopheles larvae. PANS 3, 251
- Elliott, R. (In press) A method for the investigation of susceptibility to insecticides in Anopheles larvae. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.
- Ramakrishna, V. & Elliott, R. (1957) Normal resistance level of A. funestus to insecticides. Nature, 179, 1140
- Service, M. W. (1958) Successful colonization of A. funestus. Nature (In press).

#### REMERCIEMENTS

La plupart des travaux décrits ci-dessus ont été exécutés au Insecticide Resistance Reference Laboratory of the Malaria Service, Nigeria, sous les auspices du Gouvernement de la Fédération de la Nigeria et de l'Organisation mondiale de la Santé. J'adresse des remerciements à Sir Samuel L. A. Manuwa, C.M.G., O.B.E., LL.D. qui m'a autorisé à communiquer ces résultats, et au Dr L. J. Bruce-Chwatt qui m'a fait profiter de ses avis. Je suis également reconnaissant à M. G. Davidson qui a fourni les souches de A. sudaïcus et de A. stephensi.

TABLEAU I.

EFFETS DU DDT SUR LES LARVES DE DEUX SOUCHES DE A. SUNDAICUS

Concentration du DDT (p.p.m.)	Taux de mortalité au 4ème stade larvaire	
	Souche de Java	Souche malaise
100	89	-
60	84	-
40	53	100
20	49	-
10	25	100
6	14	-
4	0	100
2	-	86
1	-	83
0,6	-	66
0,4	-	49
0,2	-	35
0,1	-	16
0,06	-	14
0,04	-	7
0,02	-	0
Nombre moyen de sujets exposés à chaque concen- tration	33	25

TABLEAU II.

EFFETS DU DDT SUR LES LARVES DE TROIS SOUCHES DE A. STEPHENSI

Concentration de DDT (p.p.m.)	Taux de mortalité au 4ème stade larvaire		
	Souche indienne "S"	Souche sélectionnée (LXXL)	Souche "R" irakienne
200	-	-	60
100	-	-	30
60	-	-	30
40	71	53	13
20	72	56	2
10	39	42	0
6	48	28	-
4	19	10	-
2	20	7	-
1	13	0	-
0,6	0	-	-
Nombre moyen de sujets exposés à chaque concentration	30	40	40

TABLEAU III.

EFFETS DE LA DIELDRINE SUR LES LARVES DE TROIS SOUCHES DE A. STEPHENSI

Concentration de dieldrine (p.p.m.)	Taux de mortalité au 4ème stade larvaire		
	Souche indienne "S"	Souche sélectionnée (LXXL)	Souche "R" irakienne
2	100	100	-
1	100	100	-
0,6	88	100	-
0,4	75	55	100
0,2	69	17	100
0,1	44	75	74
0,06	47	25	60
0,04	33	19	50
0,02	31	23	47
0,01	17	0	12,5
0,006	5	-	-
0,004	0	-	-
Nombre moyen de sujets exposés à chaque concentration	20	20	30

TABLEAU IV  
EFFETS DE L'HCH SUR LES LARVES DE A. STEPHENSI

Concentration de l'HCH (p.p.m.)	Taux de mortalité au 4ème stade larvaire de la souche "R" irakienne
4	100
1	100
0,4	100
0,2	81
0,1	56
0,06	27
0,04	20
0,02	5
0,01	0
Nombre moyen de sujets exposés à chaque concentration	40

TABLEAU V  
 EFFETS DU DDT ET DE LA DIELDRINE SUR A. GAMBIAE ET A. FUNESTUS

Concentration du toxique (p.p.m.)	Taux de mortalité au 4ème stade larvaire		
	<u>A.g.melas</u> (dieldrine)	<u>A. g. melas</u> (DDT)	<u>A. funestus</u> (DDT)
4	100	-	100
2	100	100	97
1	90	87	75
0,6	79	77	68
0,4	80	66	51
0,2	70	56	40
0,1	48	39	30
0,06	30	14	25
0,04	30	0	18
0,02	0	-	-
0,01	-	-	0
Nombre moyen de sujets exposés à chaque concentration	50	80	63