

L'APPARITION D'UNE RESISTANCE A LA DIELDRINE CHEZ
ANOPHELES MINIMUS FLAVIROSTRIS AUX PHILIPPINES

par

C. Y. Chow,

Entomologiste, OMS, Bureau régional du Pacifique occidental

Introduction

L'auteur du présent mémoire a séjourné dans l'île de Mindanao (Philippines) du 15 au 24 juillet 1959, pour y enquêter sur l'acquisition possible d'une résistance à la dieldrine par Anopheles minimus flavirostris, principal vecteur du paludisme dans l'archipel. Les constatations faites en 1958 par les paludologues du service national donnaient à penser que l'emploi de l'insecticide n'avait pas produit les résultats escomptés. La même année, le Dr J. B. Mendoza, Chef du Bureau philippin de Recherches sur le Paludisme, avait procédé à quelques tests préalables dont il semblait ressortir que la sensibilité de A. minimus flavirostris à la dieldrine avait légèrement diminué.

Les moustiques utilisés pour les essais ont été capturés dans deux localités où des pièges employant le buffle (carabao) comme appât existaient depuis plusieurs années :

- 1) Malasila - village de 2067 habitants, "municipalité" de Malasila, province de Cotabato, île de Mindanao;
- 2) Kidapawan - petit bourg situé à 11 kilomètres de Malasila.

Plusieurs séries de pulvérisations d'insecticides ont eu lieu dans la région. Au titre de la lutte contre les parasites agricoles, des avions ont en 1952-1953, puis en 1958, répandu de l'ECH contre les acridiens dans la zone de Polomolok, dans le sud de la province de Cotabato (à une centaine de kilomètres de Kidapawan). Au début de 1959, des pulvérisateurs à pression préalable ont été

employés pour traiter au DDT 25 hectares de plantations près de Kidapawan. Aux fins de la lutte antipaludique, Malasila a fait l'objet de pulvérisations de DDT (2 g par m²) en février 1956 et de dieldrine (0,5 g par m²) en mai 1957, avril 1958 et février 1959. L'agglomération de Kidapawan n'a jamais été traitée mais la zone la plus proche (Saguing, à 500 mètres) l'a été à l'aide de DDT (2 g par m²) en février 1956 et de dieldrine (0,5 g par m²) en avril 1957 et mai 1958.

A Malasila, on a enregistré chez les enfants de deux à dix ans les indices spléniques et parasitaires ci-après :

Date d'examen	Indice splénique		Indice parasitaire	
	Nombre de sujets examinés	Pourcentage de cas de splénomégalie	Nombre de sujets examinés	Pourcentage de sujets présentant des parasites
Mars 1956 (un mois après les premières pulvérisations)	33	21	33	12
Mars 1957	32	9,3	31	3,2
Mars 1958	52	7,1	51	3,9
Juillet 1959	182	7,1	182	1,1

Un petit groupe de nourrissons a fait l'objet d'examens avant et après les pulvérisations d'insecticides à action rémanente; on n'a trouvé chez aucun d'eux de parasites du paludisme. Lors du séjour de l'auteur de ces lignes, le même résultat a été obtenu pour douze nourrissons examinés par les paludologues du Service.

A Malasila, le seul vecteur est Anopheles minimus flavirostris dont la population atteint sa densité maximum en juin-juillet. Avant les pulvérisations à effet rémanent, on avait en plein jour capturé au plus 0,5 flavirostris par heure à l'intérieur des habitations et 15,4 par heure à l'extérieur. Pour la nuit, les taux les plus élevés étaient de 16,5 par heure pour les pièges utilisant le buffle comme appât, et de 0,05 par heure pour les pièges utilisant l'homme comme appât.

Depuis le début de 1959, des collectes de moustiques ont été pratiquées hebdomadairement la nuit dans deux maisons traitées de Malasila. Dans l'une d'elles on a, une nuit de mars 1959, pris 96 femelles de flavirostris et, une nuit d'avril de la même année, 98 individus de cette espèce (2 mâles et 96 femelles). Dans l'autre, le maximum a été de 41 femelles de flavirostris une nuit de juin 1959.

Lorsqu'il a eu connaissance de ces chiffres élevés de captures dans des habitations traitées un ou deux mois auparavant à la dieldrine, le Dr J. B. Mendoza a chargé une équipe d'enquêter à Malasila et dans les environs. L'équipe, dont tous les membres appartenaient à l'Institut de Paludologie de Tala, a commencé ses travaux au début de juin 1959. Les premières constatations ont fait apparaître la possibilité de l'acquisition par A. minimus flavirostris d'une résistance à la dieldrine.

Recherches en laboratoire et sur le terrain

On a testé la sensibilité d'anophèles aux insecticides dans le laboratoire non traité de l'agglomération de Kidapawan. Pendant toute la durée des essais, la température de la pièce a varié entre 75 et 87° F et le degré d'humidité entre 70 et 90 %. Tous les tests ont été effectués par MM. Dentis et Del Rosario que l'auteur de ces lignes avait au préalable spécialement formés. Il a personnellement dirigé les travaux de ces deux chercheurs pendant la période du 15 au 23 juillet 1959.

Les moustiques adultes, pris au début de la matinée dans des pièges utilisant le buffle comme appât, ont été soumis aux épreuves après une à deux heures de séjour en cage. Seules des femelles gorgées ont été utilisées. On s'est efforcé d'isoler les flavirostris, mais en raison de difficultés pratiques, il a été impossible d'éviter de temps à autre un mélange d'espèces anophéliennes dans un même tube.

La deuxième série de tests (15-23 juillet 1959) a eu lieu une semaine environ après que les papiers imprégnés de dieldrine à 4 % avaient, en principe, cessé d'être actifs. Toutefois, des expériences à l'aide de ces papiers sur un

groupe témoin d'Aedes aegypti (souche de Tala) élevés en laboratoire ont donné des morts 24 heures après exposition à des concentrations de 4 %, 1,6 % et 0,8 %.

Le tableau I indique les résultats des tests pratiqués sur des anophèles adultes. Moins de 50 % des A. minimus flavirostris de Malasila ont été tués par la dieldrine à 0,8 %, 1,6 % et 4 %; 30 % à 57 % ont été tués par le DDT à 0,5 %. Les sujets de la même espèce pris à Kidapawan ont accusé un taux de mortalité de 57 % pour la dieldrine à 1,6 % et à 4 %, et de 59 % pour le DDT à 0,5 %. Le DDT à 2 % a tué un petit nombre d'anophèles de chaque localité.

Dans le cas des A. vagus limosus des deux localités, il n'y a eu que 49 % à 65 % de tués par la dieldrine à 1,6 %, mais 92 % à 94 % de tués par le DDT à 2 %. Quant aux A. maculatus, la mortalité a été de près de 100 % pour la dieldrine à 0,8 %, de 100 % pour la dieldrine à 1,6 % et à 4 %.

Quelques autres espèces anophéliennes ont aussi été soumises aux épreuves mais le nombre des sujets était trop faible pour permettre des conclusions valables. On peut toutefois, à titre de renseignement préliminaire, signaler que tous les A. kochi et les A. tessellatus ont été tués par la dieldrine à 0,8 %, à 1,6 % et à 4 %; les concentrations de dieldrine à 0,8 % et 1,6 % ont donné respectivement 71 % et 93 % de morts chez A. ludlowi, 75 % et 93 % chez A. subpictus indefinitus.

Sur 9 flavirostris, 5 seulement sont morts après avoir été exposés pendant deux heures au lieu d'une heure comme d'habitude, à des papiers imprégnés de dieldrine à 4 %.

TABEAU I
Tests de sensibilité aux insecticides d'anophèles adultes

Espèce	Localité	Date	Groupe témoin	Dieldrine à				DDT à			
				0,8 %	1,6 %	4,0 %	0,5 %	1,0 %	2,0 %		
			Nbre % m. mort.	Nbre % m. mort.	Nbre % m. mort.	Nbre % m. mort.	Nbre % m. mort.	Nbre % m. mort.	Nbre % m. mort.	Nbre % m. mort.	Nbre % m. mort.
<u>A. minimus flavirostris</u>	Malasila	19-30/6/59	90 1	106 25	119 44	- -	88 57	34 80	22 100		
		16-23/7/59	37 5	99 25	80 35	65 36	- -	- -	- -		
	Kidapawan	16-23/7/59	18 0	42 40	21 57	21 57	22 59	13 100	10 100		
<u>A. vagus limosus</u>	Malasila	16-23/7/59	- -	27 59	33 49	11 82	42 50	34 85	12 92		
	Kidapawan	16-23/7/59	21 5	56 36	52 65	44 90	63 44	15 80	17 94		
<u>A. maculatus</u>	Malasila	16-23/7/59	24 4	75 99	50 100	33 100	36 58	12 83	- -		

Nbre m. = nombre de moustiques soumis aux essais
% mort. = pourcentage de mortalité observé

Des essais spéciaux ont été pratiqués sur deux groupes de flavirostris nés de larves qui avaient survécu à une exposition de 24 heures à des solutions de dieldrine à 0,02 p.p.m., 0,1 p.p.m. et 0,5 p.p.m. ou d'HCH à 0,02 p.p.m. et 0,1 p.p.m. Les résultats ont été les suivants :

TABLEAU II

Expositions successives d'adultes nés de larves ayant survécu à des tests

Date d'exposition à des papiers imprégnés	A. m. flavirostris nés de larves ayant survécu à des essais à l'aide de :							
	Dieldrine à 0,02, 0,1 ou 0,5 p.p.m.				HCH à 0,02 ou 0,1 p.p.m.			
	♀	♀	♂	♂	♀	♀	♂	♂
	Nombre de mous- tiques	Morts	Nombre de mous- tiques	Morts	Nombre de mous- tiques	Morts	Nombre de mous- tiques	Morts
1) 20/7/59 - dieldrine à 1,6 %	6	0	7	0	3	0	5	0
2) 21/7/59 - mêmes sujets - dieldrine à 4 %	6	0	7	0	3	0	5	0
3) 22/7/59 - mêmes sujets - DDT à 0,5 %	6	1	7	1	3	0	5	2
4) 23/7/59 - survivants - DDT à 1 %	5	3	6	4	3	3	3	2

Ces chiffres laissent supposer qu'une lignée plus ou moins résistante de flavirostris s'est trouvée isolée après l'exposition de larves à des solutions de dieldrine et d'HCH. Tous les adultes issus de ces larves ont survécu après avoir été exposés successivement à de la dieldrine à 1,6 % et à de la dieldrine à 4 %.

Aux fins d'expériences sur des larves d'anophèles, on a pris dans un ruisseau des environs de Malasila des flavirostris au quatrième stade larvaire qu'on a étudiés conformément à la méthode de l'OMS. Les solutions d'insecticides ont été essayées sur des larves d'aegypti élevées en laboratoire et se sont révélées satisfaisantes. Le tableau III donne les résultats obtenus

TABLEAU III
Expériences sur des larves d'A. m. flavirostris et d'Aedes aegypti

Insecticide	<u>flavirostris</u>		<u>aegypti</u>	
	Nombre de sujets soumis aux essais	% de mortalité	Nombre de sujets soumis aux essais	% de mortalité
Dieldrine à 0,02 p.p.m.	119	10	40	100
0,1 p.p.m.	125	31	45	100
0,5 p.p.m.	133	70	-	-
HCH gamma à 0,02 p.p.m.	106	7	19	100
0,1 p.p.m.	132	60	25	100
0,5 p.p.m.	64	100	-	-
DDT à 0,004 p.p.m.	127	43	22	0
0,02 p.p.m.	132	90	40	75
0,1 p.p.m.	61	100	45	100
Groupe témoin	147	3	38	0

Dans le cas des flavirostris, les essais, effectués entre le 16 et le 21 juillet 1959, ont été répétés sept fois (chaque fois avec 20 à 25 larves) sauf pour l'HCH à 0,5 p.p.m. et le DDT à 0,1 p.p.m., pour lesquels ils ne l'ont été que trois fois; dans le cas des aegypti, les essais, effectués les 20 et 21 juillet 1959, ont été répétés une fois ou deux seulement.

Il ressort du tableau III qu'une concentration de dieldrine aussi forte que 0,1 p.p.m. n'a pu tuer que 31 % des flavirostris alors que l'HCH gamma à 0,1 p.p.m. en a détruit 60 % et le DDT à 0,1 p.p.m. 100 %.

Le taux de nulliparité dans quatre espèces anophéliennes a été étudié par l'examen des trachéoles des ovaires selon la méthode de Detinova (1945). Les recherches ont été faites par Mlle Cagampang sous le contrôle direct de l'auteur du présent mémoire. Tous les sujets provenaient de Malasila et de Poblacion. Le tableau IV donne les résultats des dissections opérées.

TABLEAU IV
Détermination des taux de nulliparité d'après l'état
des trachéoles des ovaires

Espèce	Nombre de femelles disséquées	Pourcentage de femelles ayant pondu	"P" (probabilité pour le moustique de survivre une journée)
<u>A.m. flavirostris</u>	164	91	0,96
<u>A. vagus limosus</u>	126	79	0,89
<u>A. maculatus</u>	59	81	0,90
<u>A. ludlowi</u>	26	73	0,86

Autrement dit, le taux quotidien de mortalité était de 4 % pour flavirostris, 10 % pour maculatus, 11 % pour limosus et 14 % pour ludlowi.

Discussion

1. Résistance aux insecticides chez les anophèles adultes

On ne disposait pas de données de base concernant la CL_{50} pour les flavirostris dans les zones non traitées par pulvérisations. Cependant, pour des anophèles de la même espèce capturés dans une des localités (Kidapawan), où l'auteur de ces lignes vient de séjourner, la publication ATME No 4 de l'OMS (octobre-novembre 1957) indiquait la dieldrine à 0,03 % comme concentration létale pour la moitié des sujets. Ce chiffre avait été obtenu dans la zone après un cycle de pulvérisations de DDT et un cycle de pulvérisations de dieldrine.

Il ressort des dernières constatations qu'à Malasila, la CL_{50} pour les flavivirostris se situe au-dessus de la dieldrine à 4 %. Cela signifie que la résistance de l'anophèle à la dieldrine dans cette localité a augmenté d'au moins 100 fois par rapport au niveau "normal" (concentration à 0,03 %). De leur côté, les flavivirostris de Kidapawan ont manifesté une résistance à la dieldrine représentant plus de 50 fois le chiffre de base.

Il est assez étonnant d'avoir obtenu la même mortalité de flavivirostris pour deux concentrations de dieldrine : 1,6 % et 4 %. Le phénomène tient peut-être à ce que les sujets étudiés constituaient une population hétérogène dont les individus sensibles (et, le cas échéant, les hybrides) ont été tués par l'un ou l'autre des deux préparations, alors que les résistants ont survécu à l'exposition aux deux. Si tel est le cas, les moustiques résistants homozygotes sont actuellement dans la proportion d'à peu près 64 % à Malasila, d'à peu près 43 % à Kidapawan.

La CL_{50} du DDT pour les flavivirostris résistants à la dieldrine s'est établie à environ 0,5 %. Il semble que cette espèce ait accru d'approximativement cinq fois sa tolérance au DDT par rapport au chiffre de 0,09 % enregistré comme CL_{50} pour une souche normale d'un anophèle très voisin, A. minimus minimus, à Taiwan. Cette tolérance plus grande au DDT est probablement liée à la résistance à la dieldrine. A Java, l'auteur du présent mémoire a constaté qu'A. subpictus subpictus résistant à la dieldrine présentait une tolérance quadruple au DDT.

En ce qui concerne A. vagus limosus, la résistance observée à la dieldrine est 50 fois plus grande que la normale indiquée par des expériences sur A. vagus vagus à Java (CL_{50} : 0,035 % pour la dieldrine). Toutefois, A. vagus limosus est resté sensible au DDT.

Il n'est pas non plus sans intérêt de noter qu'après sélection des larvès au moyen d'insecticide, les jeunes flavivirostris à jeun peuvent tous survivre à l'exposition à de la dieldrine à 1,6 % puis à 4 %. Après avoir été exposés à du DDT à 0,5 %, les moustiques ont été transportés de Kidapawan à Davao en auto (trois heures de trajet), puis le lendemain matin, de Davao à Manille en avion (deux heures et demie de trajet); la plupart d'entre eux ont survécu.

2. Résistance aux insecticides chez les larves de A.m. flavirostris

On doit, en règle générale, soupçonner l'existence d'une résistance si la CL_{50} observée pour les larves est, dans le cas du DDT, supérieure à 0,1 p.p.m. Le chiffre est beaucoup plus bas pour la dieldrine.

Dans les derniers essais, la CL_{50} enregistrée pour les larves de flavirostris a été d'environ 0,2 p.p.m. dans le cas de la dieldrine, d'un peu moins de 0,1 p.p.m. dans celui de l'HCH gamma. Il est donc manifeste que les larves de flavirostris ont acquis une forte résistance à la dieldrine et manifestent une résistance croisée à l'HCH. Malheureusement, on ne possédait pas de chiffres de base permettant des comparaisons.

3. Longévité plus grande des flavirostris résistants à la dieldrine

Dans la publication ATME N° 4 de l'OMS (1957), Macdonald estimait à 0,91 la probabilité de survivre pendant un jour pour une souche sensible de flavirostris des Philippines; il se fondait sur les indices sporozoïtiques et les taux d'infection totale signalés par Manalang. Le chiffre obtenu cette fois-ci, en utilisant la méthode mise au point en URSS d'examen de l'état des trachéoles des ovaires pour distinguer les femelles nullipares des femelles ayant déjà pondu, est de 0,96 pour les flavirostris résistants à la dieldrine. Il s'ensuit que le taux de mortalité quotidienne n'est que de 4 % pour la souche résistante à la dieldrine, contre 9 % pour la souche sensible.

4. Les flavirostris résistants à la dieldrine et le programme d'éradication du paludisme aux Philippines

Dans les premiers temps de l'exécution du programme de lutte antipaludique aux Philippines, on utilisait du DDT. Après un ou deux cycles de pulvérisations, on résolut, pour des raisons indépendantes de la sensibilité des anophèles aux insecticides, de recourir à la dieldrine. Depuis la fin de 1958, on est revenu au DDT dans certaines zones du pays, mais dans d'autres on continue à employer de la dieldrine pour épuiser les stocks.

A la suite de la découverte de flavirostris résistants à la dieldrine, il a été décidé d'interrompre immédiatement les pulvérisations de dieldrine dans l'ensemble du pays et de remplacer cet insecticide par le DDT. Afin de savoir jusqu'à quel point les flavirostris de la souche résistante à la dieldrine sont répandus aux Philippines, une équipe nationale doit prochainement procéder à des expériences dans plusieurs zones, notamment à Palawan, Mindoro et dans le nord de Luzon. Ultérieurement, cette équipe se rendra à Leyte, dans une zone non traitée, pour obtenir des données de base sur la sensibilité des anophèles locaux aux insecticides.

Conclusions

Anopheles minimus flavirostris, principal vecteur du paludisme aux Philippines, a acquis dans les deux localités de Mindanao où a eu lieu l'enquête une forte résistance à la dieldrine, une certaine résistance croisée à l'HCH et probablement une tolérance accrue au DDT. C'est peut-être en raison de ce phénomène que les efforts déployés pour interrompre la transmission du paludisme dans certaines régions des Philippines ont échoué jusqu'ici.

Remerciements

L'auteur présente ses remerciements à la Division du Paludisme du Gouvernement philippin, au Chef régional du Service de Paludologie, aux paludologues du Service et à leurs collaborateurs de Mindanao qui ont aimablement mis tous les moyens voulus à sa disposition et ont collecté des moustiques adultes et des larves pour les essais; il est également reconnaissant à M. F. E. Baisas qui a assuré la direction technique du personnel national de l'équipe de Kidapawan et a aidé à identifier les moustiques, ainsi qu'au Dr J. McDowell de l'International Co-operation Administration qui a recueilli des données épidémiologiques à Kidapawan.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Detinova, T. S. (1945) Détermination de l'âge physiologique des femelles d'anophèles d'après les modifications du système trachéal des ovaires (en russe). Parasit. Médic. et Mal. paras., Moscou, 14, 45. (Une description de cette méthode sera publiée prochainement dans la présente série de documents (WHO/Mal/238).)