

LA RÉSISTANCE AUX INSECTICIDES CHEZ *Aedes aegypti* L. ET *Aedes albopictus* A PHNOM-PENH (CAMBODGE)

par
J. MOUCHET et C. CHASTEL
Maître de recherche à l'O.R.S.T.O.M. *Médecin Commandant Bactériologiste des Hôpitaux des Armées*

1. - INTRODUCTION

Bien qu'aucun cas de fièvre hémorragique n'ait encore été signalé à Phnom-Penh, le Cambodge de par sa position géographique se trouve concerné par cette affection (CHASTEL, 1964). On sait que les agents pathogènes en sont des arbovirus ; les différents types antigéniques du virus de la dengue associés

quelquefois au virus Chikungunya. Tous ces virus sont transmis par le moustique *Aedes aegypti* L. et, au moins en ce qui concerne le virus dengue type 2, *Aedes albopictus* Skuse (RUDNICK, 1965 - RUDNICK et CHAN, 1965).

Ces deux espèces se trouvent en abondance à Phnom-Penh et nous avons déterminé leur sensibilité aux insecticides usuels, donnée de base essentielle pour d'éventuelles campagnes de désinsectisation contre ces vecteurs. Ces recherches ne sont d'ailleurs qu'une partie d'un programme d'étude de la sensibilité d'*Ae. aegypti* à l'échelle mondiale, programme réalisé en étroite collaboration avec l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.) qui le subventionne. Nous avons testé 2 souches d'*Ae. aegypti*, l'une de Chruï Chang War et l'autre de Tuk Laak, deux quartiers de Phnom-Penh ; la souche d'*Ae. albopictus* provenait de Chruï Chang War. Aucun traitement régulier par insecticide n'a eu lieu dans ces agglomérations, mais il est possible que ces produits aient été utilisés à petite échelle ou à usage domestique.

Il est à noter que les œufs d'*Ae. aegypti* originaires de Phnom-Penh se conservent assez peu longtemps à sec. Au bout de 6 semaines, le pourcentage d'éclosion est inférieur à 20 p. 100 et au bout de 3 mois il est pratiquement nul.

2. - MÉTHODOLOGIE DES TESTS

trations ; cette approximation est toutefois suffisante pour le travail qui nous intéresse.

Les résultats des tests sont résumés dans les tableaux I et II en ce qui concerne respectivement *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*, et les représentations graphiques sur les figures 1, 2 et 3.

3. - INTERPRÉTATION DES TESTS

Une revue du problème de la résistance aux insecticides chez les *Aedes* a déjà été faite par l'un de nous (MOUCHET, 1966). Nous y avons puisé de très nombreuses informations qui nous ont permis de comparer les souches de Phnom-Penh aux souches sensibles et résistantes déjà étudiées de par le monde.

3.1. *AEDES ALBOPICTUS*

Il n'existe pas, à notre connaissance, de documents disponibles sur la sensibilité de base de cette espèce. Comme nous avons une souche de laboratoire originaire de Bangkok (*) très sensible aux insecticides chlorés, nous l'avons prise comme référence et comparée à celle de Phnom-Penh (tableau I et fig. 3).

TABLEAU I

Sensibilité aux insecticides des larves d'*Aedes albopictus* de Phnom-Penh et de Bangkok

Dieldrine	Origine de la souche	CL50	CL100	Observations
Insecticide	Phnom-Penh - Chrui Chang War	0,05	0,5	Probablem. sensible
	Bangkok S.E.A.T.O.	0,016	0,1	Sensible
D.D.T.	Phnom-Penh - Chrui Chang War	0,009	0,02	Sensible
	Bangkok S.E.A.T.O.	0,007	0,01	Sensible
Malathion	Phnom-Penh - Chrui Chang War	0,045	0,5	Sensible

3.1.1. Sensibilité au D.D.T.

La souche de Bangkok est très sensible et sa CL50 de 0,016 est comparable à celle des souches sensibles d'*Aedes aegypti* (MOUCHET, 1966).

La souche de Phnom-Penh est moins sensible (CL50 : 0,05 - CL100 : 0,5). Toutefois, nous ne pensons pas que cette légère augmentation de tolérance soit un indice de résistance. En effet, la ligne de régression reste une droite à forte pente. D'autre part, la CL50 est encore très éloignée de celle d'une souche résistante de Saïgon où elle dépassait 2,5 ppm (Do VAN QUY, 1963). Néanmoins, des essais de sélection sont en cours pour régler définitivement cette question. Mais la souche étant peu prolifique, les résultats n'en seront pas connus avant plusieurs mois. Nous considérons jusqu'à nouvel ordre cette souche comme sensible.

Il faut noter que les CL50 et CL100 de cette souche d'*Ae. albopictus* sont voisines de celles d'une souche d'*Ae. aegypti* de même provenance (cf. tableau II).

3.1.2. Sensibilité à la Dieldrine

Les deux souches sont très sensibles à cet insecticide ; leurs CL50 sont très voisines ; 0,009 ppm pour Phnom-Penh et 0,007 pour Bangkok.

(*) Nous remercions le laboratoire du S.E.A.T.O. à Bangkok et le Dr. SUJARDI JANATASEN qui ont eu l'amabilité de nous communiquer cette souche d'*Aedes albopictus*.

Ces résultats sont très comparables à ceux obtenus avec les souches sensibles d'*Ae. aegypti*.

3.1.3. Sensibilité au Malathion

Nous n'avons testé que la souche de Phnom-Penh. La CL50 de 0,045 et la CL100 inférieure à 0,5 ppm correspondent à une sensibilité normale par analogie avec *Ae. aegypti*.

3.2. Aedes Aegypti

3.2.1. Sensibilité au D.D.T.

Les deux souches de Phnom-Penh ont des réactions identiques en présence de D.D.T. Les CL50 sont respectivement de 0,067 et 0,07 et les CL100 inférieures à 0,5. Ces valeurs sont plus élevées que chez la plupart des souches sensibles où elles sont généralement inférieures à 0,02. Néanmoins, le phénomène ne peut être interprété comme une résistance. En effet, nous avons sélectionné cette souche par une concentration de 0,1 ppm de D.D.T. Les descendants des survivants présentaient une CL50 de 0,07 et une CL100 inférieure à 0,5 ppm, c'est-à-dire identique aux parents, ce qui exclut toute éventualité de résistance comme le laissait prévoir la physionomie de la courbe de régression à forte pente (fig. 1, tableau II).

Cette tolérance au D.D.T., toute relative d'ailleurs, des souches de Phnom-Penh, semble donc intrinsèque à ces populations, un phénomène de tolérance de vigueur ne pouvant être retenu en l'absence de traitements insecticides.

TABLEAU II

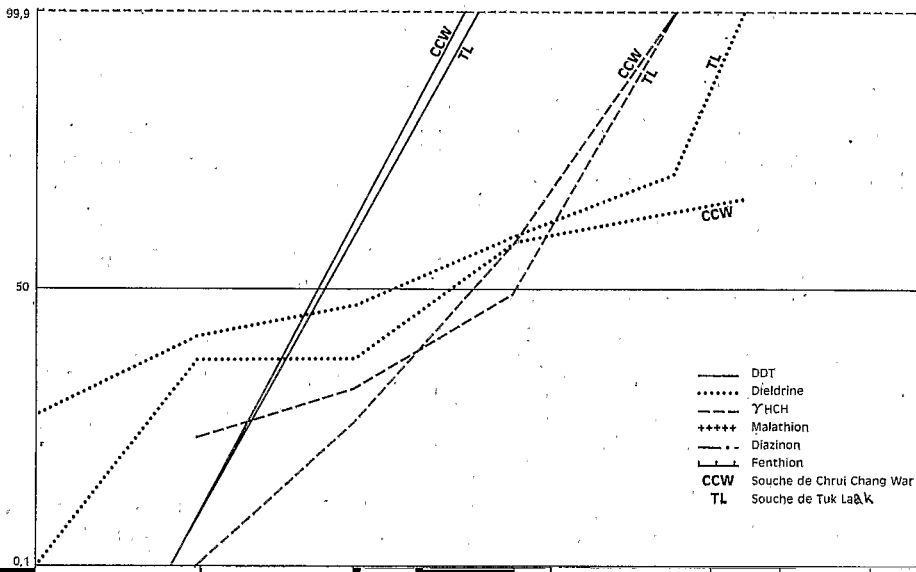
Sensibilité aux insecticides des larves d'*Aedes aegypti* de Phnom-Penh

Insecticide	Origine de la souche	CL50	CL100	Observations
D.D.T.	Chrui Chang War	0,067	< 0,5	Souches sensibles
	Tuk Laak	0,07	< 0,5	
Dieldrine	Chrui Chang War	0,15	> 2,5	Souches résistantes
	Tuk Laak	0,22	> 5	
γ HCH	Chrui Chang War	0,32	> 0,5	Souches résistantes
	Tuk Laak	0,5	> 0,5	
Fenthion	Chrui Chang War A	0,07	> 0,1	Tolérance
			< 0,5	
	Chrui Chang War B	0,0032	< 0,02	Sensibilité normale
	Tuk Laak	0,0033	< 0,02	Sensibilité normale
Malathion	Chrui Chang War	0,15	< 0,5	Sensibilité faible mais normale
	Tuk Laak	0,13	< 0,5	
Diazinon	Chrui Chang War	0,16	< 0,5	Sensibilité faible mais normale
	Tuk Laak	0,15	< 0,5	

3.2.2. Sensibilité à la Dieldrine.

Des CL50 de 0,15 et 0,22 ppm, ainsi que des CL100 supérieures à 2,5 ppm, signent une résistance manifeste à ce produit. Ce phénomène se traduit par une modification de la ligne de régression qui s'aplatit très nettement (fig. 1, tabl. II).

Nous discuterons plus loin la question de la résistance à la Dieldrine.



3.2.3. Sensibilité au γ HCH

Les CL50 de 0,32 et 0,5 ppm sont très élevées mais les CL100 restent inférieures à 2,5 ppm (fig. 1, tabl. II).

En général, *Aedes aegypti* est moins sensible à cet insecticide qu'aux deux précédents et il est difficile de porter un diagnostic dans le cas présent. Nous pencherons cependant vers une résistance au γ HCH car nous savons par ailleurs qu'il y a pratiquement toujours une résistance croisée avec la dieldrine.

3.2.4. Sensibilité au Fenthion

Cet insecticide est extrêmement actif sur les larves d'*Aedes aegypti*, la CL100 étant généralement inférieure à 0,02 ppm et la CL50 à 0,005 ppm. Dans une première série de tests effectués sur des larves de Chruï Chang War A, issues d'œufs provenant de femelles elles-mêmes issues de larves récoltées sur le terrain, nous avons obtenu une CL50 de 0,07 et une CL100 comprise entre 0,1 et 0,5 ppm.

Devant cette augmentation de 20 fois de la CL50, nous avons pensé à une possible résistance.

Nous avons refait les tests sur des larves de la génération suivante (Chruï Chang War B) élevées au laboratoire et nous avons observé une sensibilité normale avec une CL50 de 0,003 et une CL 100 inférieure à 0,02 (fig. 2; tabl. II).

La sensibilité était également normale et identique sur la souche de Tuk Laak.

Nous avons ensuite observé qu'une semblable tolérance au Fenthion disparaissait à la génération suivante sur une souche de Bobo-Dioulasso.

Ce phénomène demeure encore inexplicé car, ni dans un cas ni dans l'autre, il n'y avait eu une pression sélective récente d'insecticide susceptible de provoquer cette tolérance.

3.2.5. Sensibilité au Malathion

Même en l'absence de toute résistance, *Aedes aegypti* est relativement peu sensible au Malathion. Les CL50 de 0,13 et 0,15 ppm et une CL100 inférieure 0,5 ppm sont donc l'indice d'une sensibilité faible mais normale (fig. 2, tabl. II).

3.2.6. Sensibilité au Diazinon

Les remarques précédentes sont aussi valables en ce qui concerne le Diazinon. Des CL50 de 0,15 et 0,16 ppm et des CL100 inférieures à 0,5 ppm définissent donc encore une sensibilité faible mais normale (fig. 2, tabl. II).

4. - RÉSISTANCE A LA DIELDRINE

4.1. Données de base

Le mécanisme biochimique de la résistance à la dieldrine est encore pratiquement inconnu, mais son aspect génétique est assez bien connu, au moins en ce qui concerne certaines souches d'*Aedes aegypti*. En effet, KLASSEN et BROWN, travaillant sur une souche d'Amérique centrale (Isla Verde) résistante à la fois au D.D.T. et à la Dieldrine, ont montré que les deux phénomènes étaient monofactoriels, les gènes respectivement responsables étant voisins mais séparés. Le caractère de résistance était semi-dominant et les hétérozygotes avaient une sensibilité exactement intermédiaire entre celles des homozygotes sensibles et des résistants.

Les deux auteurs ont également séparé les différents génotypes par expo-

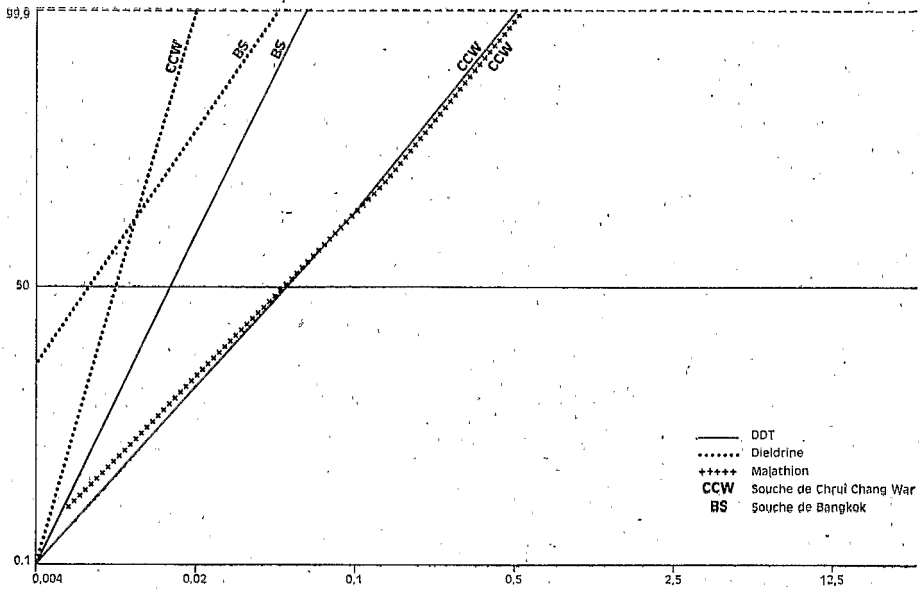


Fig. 3. — *Aedes albopictus*, Sensibilité aux insecticides

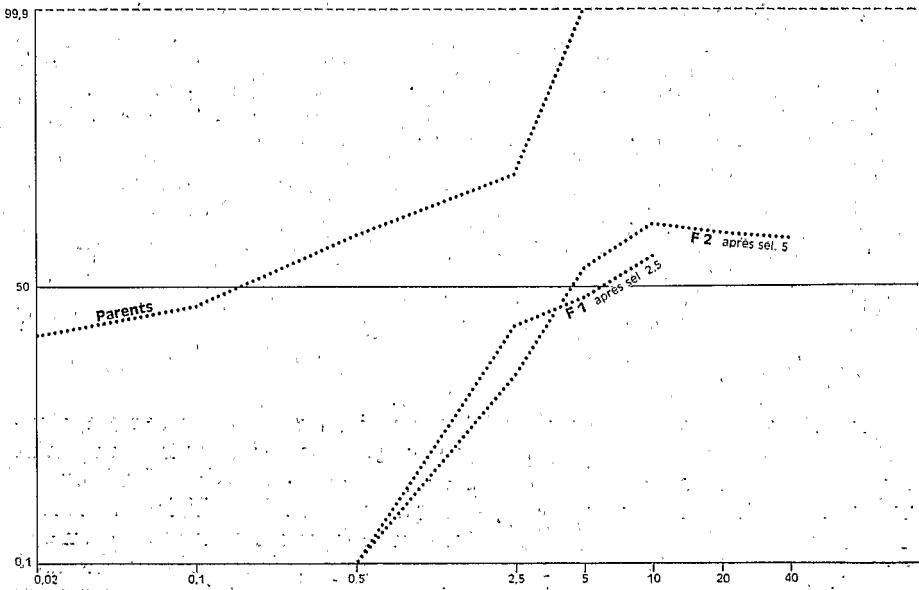


Fig. 4. — Tests sur différentes générations d'*Aedes aegypti* sélectionnées par Dieldrine

sition de 24 heures à des dosages discriminatifs de Dieldrine. La concentration de 0,08 ppm éliminait les homozygotes sensibles (SS) laissant survivre les hétérozygotes (RS) et les homozygotes résistants (RR). Une concentration de 5 ppm éliminait les SS et RS, ne laissant survivre que les résistants RR.

Par sélection pendant plusieurs générations par 5 ppm de dieldrine, ils obtinrent une souche pure d'homozygotes résistants qui, au bout de 24 heures d'exposition, ne présentait pratiquement pas de mortalité aux concentrations de dieldrine inférieures à 40 ppm.

La résistance à la dieldrine sur la souche de Isla Verde était ainsi bien caractérisée ; aussi, utilisant le travail de KLASSEN et BROWN comme référence, avons-nous essayé d'établir si la résistance observée sur les souches de Phnom-Penh était ou non identique à celle de la souche centro-américaine.

4.2. Expérimentation sur la souche de Phnom-Penh

Une seule des deux souches, celle de Tuk Laak, a été étudiée et pour ce faire nous avons essayé par des sélections successives d'obtenir le génotype résistant pur.

Sur 200 larves issues de cette souche parentale, une première sélection fut opérée par exposition de 24 heures à 2,5 ppm de Dieldrine. La mortalité au bout de ces 24 heures fut de l'ordre de 80 p. 100. Mais ensuite nombre de ces survivants périrent lors de la nymphose ou de l'émergence des adultes et finalement l'effectif de la F1 se ramena à 20 adultes.

TABLEAU III

Résultats des tests après sélections par la Dieldrine

Pourcentage de mortalité des larves après :							
Concentration de Dieldrine en p.p.m.	Parents avant sélection	F1 après 1 ^{re} sélection Dieldrine 2,5 p.p.m.	2 ^e sélection Dieldrine 5 p.p.m.	F2 après 2 ^e sélect. bis Dieldrine 5 p.p.m.	3 ^e sélection Dieldrine 10 p.p.m.	3 ^e sélection bis Dieldrine 5 p.p.m.	4 ^e sélection Dieldrine 5 p.p.m.
0,5	72	0	Seuls ♂♂	0	Aucun adulte	3 ♀♀ 2 ♂♂	Seuls ♂♂
2,5	90	35	issus	17	ne survit	survivent	issus
5	100	45	de la	59	à sélection	trop peu	de la
10		64	sélection	76		de larves	sélection.
20				73		pour tests	
40				80			

Les larves issues de cette F1 se montrèrent nettement plus résistantes que leurs parents (tableau III, fig. 3) ; aucune, notamment, n'était tuée à 0,1 ppm c'est-à-dire qu'il n'y avait pas d'homozygotes sensibles suivant les critères de KLASSEN et BROWN. Il faut noter aussi qu'il n'y avait que 64 p. 100 de morts à 10 ppm au bout de 24 heures. Or, lorsqu'un autre lot de larves issues de cette même F1 fut soumis à 5 ppm pour sélection, les larves, dont pourtant 30 p. 100 avaient survécu à 20 ppm dans les tests, périrent toutes lors de la nymphose ou de l'émergence, à l'exception de 5 mâles. Devant cet échec, un troisième lot de même origine fut alors sélectionné ; toujours à 5 ppm ; la mortalité fut un peu moins élevée que dans l'expérience précédente et finalement l'on obtint une F2 de 6 femelles et 4 mâles.

Les larves issues de la F2 montrèrent une résistance très voisine de celle de la F1. On les sélectionna une troisième fois par 10 ppm de dieldrine et aucun adulte viable n'en réchappa.

On reprit alors l'expérience sur un 2^e lot de larves issues de la F2 et on sélectionna seulement par 5 ppm. On obtint une F3 de 2 mâles et 3 femelles.

Les descendants de cette F3 furent trop peu nombreux pour que l'on pût tester leur résistance. Mais ils furent à nouveau sélectionnés par 5 ppm de dieldrine. On obtint une F4 uniquement composée de mâles et l'expérience se trouva donc arrêtée.

4.3. Caractéristiques de la résistance à la dieldrine à Phnom-Penh

L'expérimentation que nous avons conduite permet de dégager quelques conclusions :

a) Une très forte mortalité différée se manifeste après les tests lors de la nymphose et de l'émergence des adultes. Des observations similaires avaient été faites par SHIDRAWI (1957) et DUNCAN (1963).

Il en résulte comme première conséquence que la lecture des résultats des tests ne permet pas d'évaluer le pourcentage des différents génotypes, bien que l'on connaisse les concentrations discriminatives. En effet, la mortalité, au cours des tests, au bout de 24 heures, est tout à fait différente de la mortalité totale qui résulte de la sélection par dosages discriminatifs. La deuxième conséquence est que, pour évaluer réellement la mortalité lors des tests, il faudrait garder les survivants en observation jusqu'à l'émergence des adultes, ce qui semble très difficile lors des travaux sur le terrain, mais est recommandable pour les travaux de recherche en laboratoire.

Le test larvaire O.M.S. est donc peu précis dans l'absolu en ce qui concerne la sensibilité à la dieldrine. Nous ne pensons pas cependant qu'il doive être rejeté car, même sous sa forme actuelle, il permet tout de même de détecter facilement la résistance ; d'autre part, la généralisation de son emploi a permis de réunir une masse importante de données numériques comparables. Il serait toutefois souhaitable que dans l'avenir on revint, en ce qui concerne la dieldrine seulement, à l'ancienne méthode de tests avec 24 heures de contact suivis de 24 heures d'observations à la fin desquelles seraient lus les résultats.

b) La concentration discriminative de Dieldrine séparant les RR-DLN des hétérozygotes RS est probablement voisine de 0,5 ppm pour les souches de Phnom-Penh. En tout cas, la sélection par 2,5 ppm de la souche parentale a isolé une souche pure d'homozygotes résistants RR-DLN ; en effet, les croisements entre les spécimens F1 ainsi isolés n'ont pas donné d'individus sensibles comme ceci se serait produit si l'on avait opéré sur des hétérozygotes, le phénomène étudié étant considéré comme monofactoriel. La concentration de 5 ppm de Dieldrine marque chez les souches de Phnom-Penh la limite de tolérance que les larves peuvent acquérir par sélection ; en effet, les adultes qui en sont issus ont une viabilité très variable, voire nulle. Il faut noter que, parmi ces adultes survivants, il y a une majorité de mâles et même quelquefois uniquement des individus de ce sexe.

c) Il est évident que la souche de Isla Verde (Porto Rico) étudiée par KLASSEN et BROWN (cf. 4.1.) est plus résistante que celles de Phnom-Penh ; en effet, des spécimens viables ont survécu à la sélection par 5 ppm et se sont même reproduits régulièrement, ce qui a permis de poursuivre la sélection à cette concentration. Néanmoins, il est intéressant de comparer les souches de ces deux localités. Tout d'abord Brown (Comm. pers.) pense qu'une concen-

tration de 0,5 ppm de dieldrine serait également apte à isoler les RR-DLN dans la souche de Isla Verde, la concentration de 5 ppm n'ayant été préconisée que pour donner une large marge de sécurité dans l'élimination des hétérozygotes. Sur la souche de Isla Verde, après une première sélection par 5 ppm de Dieldrine qui a isolé des homozygotes RR-DLN, la F1 présente une courbe de régression où la mortalité débute entre 0,5 et 1 ppm, comme d'ailleurs sur la souche de Phnom-Penh. Les lignes de régression des deux souches au niveau de la F1 (fig. 3) ont d'ailleurs une certaine similitude de forme et sont relati-

zygotes résistants se situe aux environs de 0,5 ppm et en tout cas est inférieure à 2,5 ppm. La résistance à la Dieldrine apparaît comme un phénomène assez complexe au point de vue génétique, l'expression du gène de résistance étant probablement modifiée par d'autres composantes du patrimoine héréditaire, ce qui rend en fait la résistance polyfactorielle. On a noté une fois de plus la forte mortalité différée provoquée par la Dieldrine surtout aux concentrations élevées, phénomène qui doit entraîner une modification des méthodes de tests surtout lorsqu'il s'agit d'un travail de recherche ; il faudrait que la période d'exposition à cet insecticide soit suivie d'une période d'observation d'au moins 24 heures.

SUMMARY

Larval insecticide susceptibility of two *Ae. aegypti* strains and one *Ae. albopictus* strain from Phnom-Penh, Cambodia, has been tested by W.H.O. method.

Ae. albopictus was normally susceptible to DDT, Dieldrin and Malathion.

Ae. aegypti was Dieldrin and BHC resistant but yet DDT susceptible. Normal but low susceptibility to Malathion and Diazinon was observed. One strain had developed Fenthion tolerance which disappeared in the following colonized generation.

In selecting an *aegypti* strain by 2,5 and 5.0 ppm Dieldrin it was not possible to increase Dieldrin resistance until 5.0 ppm. The discriminative concentration to separate resistant homozygous RR from heterozygous RS is probably 0.5 ppm and certainly less than 2.5 ppm.

A strong delayed mortality was observed in carrying out these selections with Dieldrin and the mortality recorded in the tests is far lower than the real one. To achieve more realistic results in the tests with this insecticide it is suggested, at least in research work, a modification of the W.H.O. method ; the 24 h. exposure time has to be followed by an observation time of 24 hours more ; the results would be recorded at the end of this time.

REMERCIEMENTS

- O.M.S., 1963. — Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. — 13^e rapport du Comité O.M.S. d'Experts des insecticides. Sér. des Rapp. techn., n° 264, O.M.S. Genève.
- READ (D.C.) et BROWN (A.W.A.), 1966. — Inheritance of Dieldrin-Resistance and adult longevity in the cabbage maggot, *Hylemyia brassicae* (Bouché). — *Can. J. Genet. Cytol.*, 8, 71-84.
- RUDNICK (A.), 1965. — Studies of the ecology of dengue in Malaysia. — *J. Medical Entomology*, 2, 203.
- RUDNICK (A.) et CHAN (Y.C.), 1965. — Dengue type 2 virus in naturally infected *Aedes albopictus* in Singapore. — *Science*, 149, 638.
- SHIDRAWI (G.R.), 1957. — Laboratory tests on mosquito tolerance to insecticides and the development of resistance by *Aedes aegypti*. — *Bull. Org. Mond. Santé*, 17, 377-411.