

## ARTICLES ORIGINAUX

# Résistance à l'Hexachlorocyclohexane d'une souche de la Tique *Boophilus microplus* (Canestrini) à Madagascar — Essais préliminaires sur sa sensibilité à quelques autres ixodicides

par G. UILENBERG

WHITNALL et Coll. (1949) semblent avoir été les premiers à signaler une résistance à l'hexachlorocyclohexane chez des tiques du genre *Boophilus*. Depuis, le développement d'une telle résistance a été noté dans plusieurs pays, mais n'était pas encore connu à Madagascar.

En février 1962, un fermier de la région de la Sakay (province de Tananarive) nous informait que le détiqage de ses bovins à l'H. C. H. ne donnait plus, depuis quelques temps, de résultats satisfaisants. Sa ferme fait partie du « Bureau pour le développement de la production agricole outre-mer » (B. D. P. A.) qui a commencé ses activités dans cette région en 1952 ; jusqu'en 1962 l'H. C. H. seul (en pulvérisation) a été employé pour la lutte contre les tiques.

Une inspection sur place nous a montré une infestation relativement importante du troupeau par des *Boophilus microplus*, parmi lesquels plusieurs femelles gorgées, bien vivantes. A part les *Boophilus*, il y avait quelques *Amblyomma variegatum* (Fabricius), adultes, desséchés. Le propriétaire nous assurait qu'il avait traité ses animaux trois fois pendant la semaine précédente, par pulvérisation, avec de l'H. C. H. ; d'après la dilution qu'il disait avoir utilisée et étant donné le contenu en isomère gamma du produit qu'indique le fabricant, le détiqage avait été fait à une concentration de presque 0,06 p. 100 d'isomère gamma. Le fermier disait avoir augmenté la concentration parce que celle préconisée par

le fabricant (0,0125 à 0,025 p. 100 d'isomère gamma) n'avait plus d'effet.

Un essai *in vitro*, avec un échantillon de l'H. C. H. qui se trouvait encore à la ferme, sur des femelles gorgées de *B. microplus* récoltées sur des bœufs à l'abattoir de Tananarive, a permis d'écarter la possibilité d'un manque d'activité du produit : ces tiques, recueillies sur des animaux qui n'avaient sans doute jamais été détiqués, ou, au plus, très irrégulièrement, se montraient bien sensibles à une dilution de l'échantillon correspondant à 0,0125 p. 100 d'isomère gamma.

Des larves, descendant de femelles gorgées, récoltées sur les bovins de la ferme du B. D. P. A., ont ensuite été placées sur deux veaux, au laboratoire, à l'abri d'autres tiques. Après vingt jours, une première femelle gorgée a été remarquée, pendant qu'un grand nombre d'autres femelles à différents stades de gorgement étaient visibles ainsi que de nombreux mâles. Les animaux ont alors été traités à l'H. C. H. à une concentration de 0,02 p. 100 d'isomère gamma (à partir d'un liquide émulsionnable de la même marque que celle utilisée à la ferme de la Sakay et qui nous avait toujours donné pleinement satisfaction), appliqué soigneusement au pulvérisateur. Le lendemain aucune diminution dans le nombre de tiques n'était apparente et les femelles se gorgeaient normalement les jours suivants ; des mâles vivants ont même été trouvés quatre jours après le détiqage.

Nous avons ensuite éprouvé l'H. C. H. et d'autres ixodicides *in vitro*, sur la souche de *B. microplus* en provenance de la ferme, compa-

rant les résultats à ceux obtenus sur la même espèce en provenance de bovins de l'abattoir de Tananarive.

## MÉTHODES DE TRAVAIL

Nous avons limité les épreuves aux larves à jeun, écloses au laboratoire, et aux femelles gorgées. Les tiques aux autres stades de développement ont une moindre valeur pour les expériences parce que les témoins non traités meurent souvent trop rapidement *in vitro* pour permettre de tirer des conclusions.

Pour les essais sur les larves à jeun, nous avons provisoirement adopté une méthode simple, basée sur celle de FIEDLER (1952), mais légèrement modifiée.

Une solution de l'ixodicide à tester, dans l'acétone, à quantité et concentration connues, est mise dans une boîte de Pétri. Après évaporation de l'acétone, l'ixodicide reste sur le fond, sous forme de cristaux. La quantité moyenne du produit par  $\text{cm}^2$  peut donc être calculée. A l'intérieur du bord du couvercle on applique une couche de vaseline. Quelques centaines de larves sont mises sur le fond de la boîte et celle-ci est fermée. Le temps compris entre le début de l'observation et le moment où aucune des larves n'est plus capable de faire de mouvements coordonnés (marcher), est le critère de la sensibilité du lot de larves en question (le moment de « knock-down » de Fiedler). Des témoins peuvent continuer à marcher normalement dans des boîtes non traitées, fermées à la vaseline, pendant au moins 26 heures. Les boîtes sont gardées à la température du laboratoire (qui variait à l'époque où les essais ont été faits, entre un maximum moyen de  $25^{\circ}\text{C}$  (24-27) et un minimum moyen de  $22^{\circ}\text{C}$  (20,5-23). On observe les larves toutes les cinq minutes, en cas de doute, sous la loupe. Il est préférable de traiter également l'intérieur du couvercle à la même concentration que le fond, parce que quelques larves réussissent toujours à s'échapper à travers la vaseline et marchent sur l'intérieur du couvercle, sans être alors en contact continu avec l'ixodicide ; elles peuvent fausser les résultats quand elles tombent sur le fond.

Les tests ont été exécutés avec trois tubes différents, contenant chacun les descendants

de 5 à 8 femelles pour la souche de Sakay et avec quatre tubes, contenant chacun les descendants de 8 à 11 femelles pour la souche de l'abattoir (A vrai dire, les tiques de l'abattoir ne constituent pas une seule souche puisqu'elles proviennent de plusieurs animaux, originaires de différentes régions). La ponte et l'incubation avaient lieu à une température approximative de  $27^{\circ}\text{C}$  et une humidité relative d'environ 90 p. 100. Les larves étaient âgées de 2 à 6 semaines environ. Nous avons l'impression que les larves les plus âgées étaient légèrement plus sensibles, ce qui peut expliquer une partie des divergences que l'on trouve dans les chiffres obtenus avec une même souche, dans les mêmes circonstances ; de toute façon, les essais ont toujours été effectués parallèlement et des larves du même âge ont été utilisées pour chaque série d'expériences comparatives (Sakay abattoir).

Cette méthode ne permet pas d'utiliser la mortalité des larves comme critère, parce que le moment de la mort est très difficile ou impossible à déterminer, et aussi parce que les observations dureraient plusieurs jours : presque toutes les larves d'une souche sensible à l'H. C. H. montraient encore de faibles mouvements après 20 heures dans des boîtes contenant des quantités aussi élevées que 0,07 mg de lindane par  $\text{cm}^2$  et après 26 heures dans des boîtes contenant respectivement 0,13 mg de Sevin et 0,14 mg de D. D. T. technique par  $\text{cm}^2$  ; même après trois jours dans des boîtes à 0,07 mg de lindane par  $\text{cm}^2$ , quelques larves bougeaient encore.

La méthode est loin d'être parfaite. La répartition des cristaux de l'ixodicide sur le verre après évaporation de l'acétone est très irrégulière et la quantité d'ixodicide à laquelle sont exposées les larves dans une boîte, prises individuellement, ne peut être constante ; ceci pourrait expliquer pour une grande part les divergences dans les chiffres obtenus sur une même souche. Ces différences sont vraisemblablement nivelées par les déplacements des larves, qui traversent peut-être, en moyenne, la même quantité d'ixodicide.

En dépit de ses défauts évidents, cette méthode nous a permis de tirer des conclusions valables sur la résistance ou la sensibilité des larves. Une résistance doit toutefois être assez forte avant qu'elle donne des résultats nettement différents de ceux d'une souche normale et la méthode ne

nous semble pas convenir pour révéler une faible résistance, les chiffres obtenus sur une même souche étant trop divergents. Mais c'est une méthode simple, réalisable avec l'équipement des plus petits laboratoires, et qui convient parfaitement pour révéler une résistance d'ordre pratique.

Nous n'avons malheureusement pas pu faire les essais sur de grands nombres de femelles gorgées. Pour élever nos tiques nous ne disposions que de quelques veaux splénectomisés ; nous avons à deux reprises perdu un veau qui servait d'hôte pour les larves de la souche Sakay par une forme foudroyante de babésiose (*Babesia argentina*), évidemment transmise par ces tiques, puisque ces veaux n'avaient pas montré cet hématozoaire dans le sang après leur splénectomie, lors des examens effectués presque quotidiennement pendant plusieurs mois. Ces animaux, très sensibles, ont été trouvés morts soudainement, avant que les tiques fussent gorgées (La souche Sakay a transmis le même protozoaire à deux autres veaux qui ont pu être sauvés.) Nous espérons reprendre les essais sur les femelles, dès que nous aurons les moyens d'élever de grands nombres de tiques de chaque souche ; les résultats obtenus ne constituent qu'une première indication pour quelques-uns des ixodicides.

Le traitement des femelles consistait en une immersion pendant cinq minutes dans la solution à éprouver ; ensuite les tiques étaient rapidement séchées sur papier buvard et mises dans des boîtes de Pétri, sur du papier semblable (L'immersion pendant une minute n'était pas entièrement satisfaisante, les résultats étant trop irréguliers ; le traitement de cinq minutes donnait des différences beaucoup plus nettes entre les deux souches.) Les boîtes contenant les tiques étaient gardées à une température d'environ 27°C et une humidité relative d'environ 90 p. 100. L'effet du traitement était suivi par l'observation des tiques à la loupe binoculaire (grossissement de 12 1/2) sous une forte lumière concentrée. Les tiques vivantes se trahissent presque toujours, quand une forte lumière est braquée sur elles, par des mouvements, ne serait-ce que par de faibles agitations du rostre ou des crochets des pattes, etc..., par contraction ou distension du corps, ou par des mouvements des organes internes que l'on voit à travers le tégument. L'excitation par la lumière concentrée est impor-

tante, les tiques vivantes pouvant rester parfaitement immobiles sans cela ; une irritation mécanique du tégument peut aider à faire réagir les tiques. Néanmoins, il n'est pas toujours possible d'être sûr qu'une tique soit morte ou non. Une parfaite immobilité, sous lumière concentrée avec irritation mécanique, n'est pas une preuve absolue de la mort ; nous avons vu, bien que rarement, des tiques considérées comme mortes, donner des signes de vie le lendemain. La mort n'est certaine que lorsque le corps devient dur et que les pattes perdent leur élasticité. Nous n'avons donc pas indiqué la mortalité, mais seulement l'immobilité. Quelques ixodicides ne causent pas (ou peu) de mortalité des femelles gorgées, mais empêchent la ponte ; celle-ci est donc un critère très important pour l'évaluation de la sensibilité à une solution donnée ; selon qu'il y a ponte ou non, selon le nombre d'œufs et leur viabilité.

L'observation des femelles cessait le 20<sup>e</sup> jour ; l'éclosion des œufs et la viabilité des larves jusqu'à un mois après l'éclosion, étaient ensuite notées. La plupart des larves descendant d'une femelle non traitée vivent normalement au moins deux mois dans notre étuve pour l'élevage des tiques (à une température d'environ 27° et une humidité relative d'environ 90 p. 100). Sur 53 observations de femelles non traitées, il n'y avait que deux cas où la plupart des larves étaient mortes et desséchées après deux mois ; le plus souvent la plupart des larves d'un lot vivent environ 2 mois 1/2 à 3 mois, moment où la mortalité commence à devenir importante et il est assez rare de trouver encore des larves vivantes après quatre mois.

Les témoins étaient traités par immersion dans de l'eau de robinet pendant cinq minutes. Tous les ixodicides ont été employés en solution ou suspension aqueuse. Pour tous les tests, un même échantillon de chaque produit a été utilisé, afin d'éviter des divergences qui pourraient exister entre différents lots d'un produit commercial. Les tiques étaient soumises aux essais le jour même ou le lendemain de la récolte sur l'hôte, qui était pour la souche Sakay un veau du laboratoire à l'abri des tiques de l'extérieur ; les tiques de l'abattoir étaient récoltées en partie directement à l'abattoir, en partie recueillies également au laboratoire après élevage sur un veau.

Tableau I

	Concentration	Temps (en minutes)		Rapport
		Provenance Sakay	Provenance abattoir	
H.C.H.	0,01	304 ( $\sigma = 128$ ) (extrêmes : 105 - 555)	24 ( $\sigma = 7,7$ ) (extrêmes : 10 - 35)	12,7
Dieldrine	0,015	386 ( $\sigma = 65$ ) (extrêmes : 300 - 490)	71 ( $\sigma = 10,7$ ) (extrêmes : 60 - 90)	5,4
Malathion	0,01	52 ( $\sigma = 19$ ) (extrêmes : 30 - 75)	73 ( $\sigma = 29$ ) (extrêmes : 35 - 100)	$\frac{1}{1,4}$
D.D.T.	0,01	46 ( $\sigma = 28$ ) (extrêmes : 20 - 95)	60 ( $\sigma = 25$ ) (extrêmes : 25 - 90)	$\frac{1}{1,3}$
Sevin	0,01	31 ( $\sigma = 4,2$ ) (extrêmes : 25 - 35)	32,5 ( $\sigma = 13$ ) (extrêmes : 20 - 55)	1,0

Les épreuves *in vitro*, tant sur les adultes que sur les larves, ne permettent pas de tirer de conclusions précises sur ce qui se passe lors des traitements des bovins ; ils permettent toutefois de comparer la sensibilité de différentes souches de tiques à un ixodicide donné et de comparer, dans une certaine mesure, l'efficacité des différents ixodicides entre eux.

## RÉSULTATS

### Larves.

Le tableau des résultats indique les concentrations en ixodicides en mg par cm<sup>2</sup>. La colonne des minutes désigne le nombre de minutes entre le début du test et le moment du « knock-down ». Le rapport exprime le nombre de minutes pour la souche Sakay, divisé par le nombre de minutes pour la souche de l'abattoir.

Les résultats des tests sur les larves ont été statistiquement exploités avec la méthode de FISHER pour la comparaison des moyennes de petits échantillons (voir LAMOTTE, 1957).

Nous n'avons pas pu utiliser pour les larves tous les ixodicides expérimentés sur les femelles, parce que plusieurs des préparations commerciales étaient sous forme d'un liquide émulsion-

nable ; dans ce cas le solvant formait, après évaporation de l'acétone, une couche visqueuse sur le fond de la boîte, empêchant les larves de marcher normalement. Les sources des ixodicides utilisés sont les suivantes :

- H. C. H. : lindane à 99,5-100 p. 100 d'isomère gamma de la Maison Philips-Duphar,
- Dieldrine : poudre mouillable (Shell),
- Malathion : poudre mouillable (Rhône-Poulenc).
- D. D. T. : D. D. T. technique (Procidia),
- Sevin\* (1-naphthyl-N-méthyl carbamate) : poudre mouillable (Procidia).

Le tableau I indique la moyenne des résultats obtenus sur chaque souche par des essais au nombre 9 avec l'H. C. H., 5 avec la Dieldrine, le Malathion et le D. D. T. et 4 avec le Sevin.

Les différences entre les deux souches sont très significatives statistiquement ( $P < 0,01$ ) pour l'H. C. H. et la Dieldrine, mais ne le sont pas ( $P > 0,05$ ) pour le Malathion, le D. D. T. et le Sevin.

FIEDLER utilisait une concentration d'environ 0,05 mg/cm<sup>2</sup> (50 mg par pied carré) ; pour

(\*) Marque déposée par Union Carbide U. S. A.

nos essais des concentrations beaucoup plus fortes que 0,01 mg de lindane par cm<sup>2</sup> ne convenaient pas ; par exemple, à une concentration de 0,035 mg/cm<sup>2</sup>, le moment de « knock-down » venait après 50 minutes pour les larves de la souche Sakay, après 15 minutes pour celles de la souche de l'abattoir ; à 0,07 mg/cm<sup>2</sup>, le nombre de minutes était respectivement 20 et 15. La différence causée par la résistance est alors trop faible pour permettre des comparaisons valables.

### Femelles.

Les concentrations en matière active ont été calculées d'après les indications des fabricants des produits commerciaux, qui sont :

- *H. C. H.* : liquide émulsionnable (Cooper).
- *Dieldrine* : poudre mouillable (Shell).
- *Toxaphène* : liquide émulsionnable (Procida).
- *Endrine* : liquide émulsionnable (Melchemie).
- *D. D. T.* : poudre mouillable contenue en différents isomères non indiqués (Melchemie).
- *Malathion* : liquide émulsionnable (Rhône-Poulenc).
- *Sevin* : poudre mouillable (Procida).
- *Polychlorocamphane* : liquide émulsionnable (S. O. F. C. A.).
- *Arsenic* : liquide soluble (à base d'arsénite de soude) (Cooper). Concentration exprimée en AS<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Pour pouvoir faire des comparaisons valables entre les deux souches, nous avons indiqué les limites de confiance ( $P < 0,05$ ) des pourcentages de l'immobilité et de la ponte ; ces limites ont été calculées d'après les tables de LAMOTTE (1957).

La quantité totale des œufs d'un lot est exprimée en pourcentage approximatif de ce que serait la quantité normale (estimée).

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Les essais pratiqués sur les larves ont montré une résistance de la souche Sakay à l'*H. C. H.* et à la *Dieldrine* ; par contre, il n'y avait pas de différence statistiquement significative avec la souche de l'abattoir dans sa sensibilité au *Malathion*, au *D. D. T.* et au *Sevin*.

Les épreuves sur les femelles ont confirmé

la résistance à l'*H. C. H.* et à la *Dieldrine* et ne nous ont également pas permis de trouver une résistance au *Malathion*, au *D. D. T.* et au *Sevin*. Les tests sur les femelles ont en outre montré une résistance de la souche Sakay au *toxaphène* et à l'*endrine* ; cette souche semblait également légèrement moins sensible à l'*arsenic* que la souche de l'abattoir, tandis qu'il n'y avait pas de différence significative en ce qui concerne le *polychlorocamphane*.

### *H. C. H.*

La différence de sensibilité entre les larves des deux souches est très significative ( $P < 0,01$ ).

Sur les femelles, nous trouvons de très fortes différences statistiquement significatives (en se basant sur les limites de confiance des pourcentages trouvés), tant dans la mortalité (immobilité) que dans la ponte.

La résistance de la souche Sakay est comparable à celle trouvée par HITCHCOCK (1953) sur une souche résistante de *B. microplus*, d'Australie (avec cette réserve que HITCHCOCK pratiquait l'immersion des femelles durant deux minutes seulement, tandis que nous avons préféré cinq minutes). La concentration en isomère gamma, nécessaire pour empêcher 50 p. 100 des femelles de la souche résistante de HITCHCOCK de pondre des œufs viables, était de 0,74 p. 100, la concentration pour sa souche non résistante, de 0,004 p. 100 ; sur cette base HITCHCOCK trouve que la souche résistante est 185 fois moins sensible que l'autre souche. Nous ne pouvons pas établir de chiffres précis, à cause du nombre peu élevé de tiques ; toutefois, la résistance de la souche Sakay, sur cette base, semble être également de cet ordre, puisque la concentration nécessaire pour empêcher 50 p. 100 des femelles de pondre des œufs viables, est entre 0,2 et 2 p. 100, tandis que celle pour la souche de l'abattoir est entre 0,001 et 0,003 p. 100.

### *Dieldrine.*

La différence en sensibilité entre les larves des deux souches est très significative ( $P < 0,01$ ).

En ce qui concerne les femelles : il y a une différence significative entre nos deux souches dans le pourcentage de ponte, mais non dans la mortalité. La souche Sakay ne semblait aucunement influencée par 0,05 p. 100 de *Dieldrine*.

Tableau n° II

PRODUITS	SOUCHE	N	I	P	Q	E	V
Eau (témoins)	Sakay	17	1 ( 6 p.100; 0,2 - 28,4 p.100 )	17 (100 p.100; 80,7 - 100 p.100 )	100 p.100	100 p.100	Normale
Eau (témoins)	abattoir	38	10 ( 26 p.100; 13,4 - 43,0 p.100 )	37 ( 97 p.100; 86,3 - 99,9 p.100 )	100 p.100	100 p.100	Normale
<u>Isomère gamma d'H.C.H.</u>							
10 p.100	Sakay	9	9 (100 p.100; 66,4 - 100 p.100 )	0 ( 0 p.100; 0 - 33,6 p.100 )	-	-	-
2 p.100	Sakay	19	7 ( 37 p.100; 16,4 - 61 p.100 )	9 ( 47 p.100; 24,8 - 70,1 p.100 )	10 p.100	< 10 p.100	Toutes mortes en une semaine.
0,2 p.100	Sakay	34	19 ( 56 p.100; 38,1 - 72,8 p.100 )	30 ( 88 p.100; 72,6 - 96,7 p.100 )	80 p.100	70 p.100	Normale, mais la plupart des larves peu vigoureuses.
0,07 p.100	Sakay	17	0 ( 0 p.100; 0 - 19,3 p.100 )	17 (100 p.100; 80,7 - 100 p.100 )	80 p.100	80 p.100	Normale.
0,02 p.100	Sakay	45	13 ( 29 p.100; 16,4 - 44,2 p.100 )	45 (100 p.100; 92,1 - 100 p.100 )	70 p.100	90 p.100	Normale
0,02 p.100	abattoir	37	26 ( 70 p.100; 53,1 - 84,1 p.100 )	0 ( 0 p.100; 0 - 9,5 p.100 )	-	-	-
0,0125 p.100	abattoir	12	7 ( 58 p.100; 29,4 - 84,6 p.100 )	0 ( 0 p.100; 0 - 26,1 p.100 )	-	-	-
0,005 p.100	abattoir	26	15 ( 58 p.100; 44,3 - 76,5 p.100 )	7 ( 27 p.100; 11,6 - 47,5 p.100 )	< 10 p.100	70 p.100	Normale
0,001 p.100	abattoir	38	12 ( 32 p.100; 17,6 - 48,5 p.100 )	30 ( 79 p.100; 62,7 - 90,5 p.100 )	50 p.100	90 p.100	Normale
0,0004 p.100	abattoir	30	14 ( 47 p.100; 28,4 - 65,6 p.100 )	30 (100 p.100; 88,4 - 100 p.100 )	80 p.100	> 90 p.100	Normale
<u>Dieldrine</u>							
0,05 p.100	Sakay	14	1 ( 7 p.100; 0,2 - 33,3 p.100 )	14 (100 p.100; 77,2 - 100 p.100 )	90 p.100	> 90 p.100	Normale
0,05 p.100	abattoir	20	5 ( 25 p.100; 8,7 - 49,1 p.100 )	0 ( 0 p.100; 0 - 16,8 p.100 )	-	-	-
<u>Toxaphène</u>							
0,25 p.100	Sakay	17	2 ( 12 p.100; 1,4 - 35,9 p.100 )	17 (100 p.100; 80,7 - 100 p.100 )	80 p.100	80 p.100	La plupart des larves à mouvements incoordonnés et faibles dès l'éclosion, mais vivantes après un mois.
0,25 p.100	abattoir	20	6 ( 30 p.100; 11,9 - 54,3 p.100 )	10 ( 50 p.100; 27,2 - 72,8 p.100 )	10 p.100	70 p.100	Toutes les larves à mouvements incoordonnés et faibles dès l'éclosion et plus de la moitié mortes après un mois.
<u>Endrine</u>							
0,1 p.100	Sakay	9	0 ( 0 p.100; 0 - 33,6 p.100 )	9 (100 p.100; 66,4 - 100 p.100 )	100 p.100	100 p.100	Normale
0,1 p.100	abattoir	8	0 ( 0 p.100; 0 - 36,9 p.100 )	0 ( 0 p.100; 0 - 36,9 p.100 )	-	-	-

N = nombre de tiques - I = nombre de tiques immobiles (probablement mortes après 20 jours) - P = nombre de tiques ayant pondu après 20 jours - Q = quantité totale des oeufs du lot - E = éclosion - V = viabilité des larves -

Tableau n° III

PRODUITS	SOUCHE	N	I	P	Q	E	V
<u>D.D.T.</u>							
0,5 p.100	Sakay.	9	1 ( 11 p.100; 0,3 - 48,3 p.100 )	3 ( 33 p.100; 7,5 - 70,1 p.100 )	< 10 p.100	0 p.100	-
0,5 p.100	abattoir	8	7 ( 88 p.100; 47,3 - 99,7 p.100 )	0 ( 0 p.100; 0 - 36,9 p.100 )	-	-	-
0,1 p.100	Sakay.	10	6 ( 60 p.100; 26,2 - 87,8 p.100 )	10 ( 100 p.100; 69,2 - 100 p.100 )	50 p.100	50 p.100	Larves à mouvements incoordonnés et faibles dès l'éclosion et la plupart mortes en deux semaines.
0,1 p.100	abattoir	10	9 ( 90 p.100; 55,5 - 99,7 p.100 )	10 ( 100 p.100; 69,2 - 100 p.100 )	80 p.100	60 p.100	Larves à mouvements incoordonnés et faibles dès l'éclosion et la plupart mortes en trois semaines.
<u>Malathion</u>							
0,5 p.100	Sakay	14	14 ( 100 p.100; 77,2 - 100 p.100 )	2 ( 14 p.100; 1,8 - 41,9 p.100 )	< 10 p.100	0 p.100	-
0,5 p.100	abattoir	14	8 ( 57 p.100; 31,3 - 82 p.100 )	2 ( 14 p.100; 1,8 - 41,9 p.100 )	< 10 p.100	0 p.100	-
<u>Sevin</u>							
0,075 p.100	Sakay	19	11 ( 58 p.100; 34,3 - 79,6 p.100 )	1 ( 5 p.100; 0,1 - 25,9 p.100 )	< 10 p.100	0 p.100	-
0,075 p.100	abattoir	25	20 ( 80 p.100; 59,5 - 93,2 p.100 )	10 ( 40 p.100; 21,3 - 60,9 p.100 )	10 p.100	50 p.100	La plupart des larves mortes en un mois.
<u>Polychloro-camphane.</u>							
0,275 p.100	Sakay	20	16 ( 80 p.100; 56,3 - 94,3 p.100 )	1 ( 5 p.100; 0,1 - 24,9 p.100 )	< 10 p.100	0 p.100	-
0,275 p.100	abattoir	20	11 ( 55 p.100; 31,5 - 76,9 p.100 )	0 ( 0 p.100; 0 - 16,8 p.100 )	-	-	-
<u>Arsenic</u>							
0,126 p.100	Sakay	17	3 ( 18 p.100; 3,8 - 42,7 p.100 )	15 ( 88 p.100; 64,1 - 98,6 p.100 )	40 p.100	0 p.100	-
0,126 p.100	abattoir	18	17 ( 94 p.100; 72,9 - 99,9 p.100 )	1 ( 6 p.100; 0,1 - 27,1 p.100 )	< 10 p.100	0 p.100	-
0,084 p.100	abattoir	10	6 ( 60 p.100; 26,2 - 87,8 p.100 )	2 ( 20 p.100; 2,5 - 55,6 p.100 )	10 p.100	0 p.100	-
0,036 p.100	Sakay	20	3 ( 15 p.100; 3,2 - 37,9 p.100 )	20 ( 100 p.100; 83,2 - 100 p.100 )	80 p.100	20 p.100	Normale
0,036 p.100	abattoir	20	3 ( 15 p.100; 3,2 - 37,9 p.100 )	20 ( 100 p.100; 83,2 - 100 p.100 )	80 p.100	20 p.100	Normale

N = nombre de tiques - I = nombre de tiques immobiles ( probablement mortes après 20 jours ) - P = nombre de tiques ayant perdu après 20 jours - Q = quantité totale des œufs du lot. - E = éclosion - V = viabilité des larves.

**Endrine.**

Il y a une différence significative entre les deux souches dans la ponte, mais non dans la mortalité. La souche Sakay ne semblait pas du tout influencée par 0,1 p. 100 d'endrine.

**Toxaphène.**

Il y a une différence significative entre les deux souches dans la ponte, mais non dans la mortalité. La résistance au toxaphène semble toutefois moins grande qu'à la Dieldrine et à l'endrine, parce que la plupart des descendants des femelles de la souche résistante présentaient, dès l'éclosion, des mouvements incoordonnés et, en même temps, la différence dans la ponte entre les deux souches était moins grande que celle trouvée dans les tests à la dieldrine et à l'endrine.

**Arsenic.**

La souche Sakay semble posséder une certaine résistance à l'arsenic. Il y a des différences significatives avec la souche de l'abattoir dans la mortalité et la ponte à la concentration de 0,126 p. 100 de  $As_2O_3$ . Le nombre de femelles qui ne pondent pas est même significativement plus élevé dans la souche de l'abattoir à 0,084 p. 100 que dans la souche Sakay à 0,126 p. 100. Toutefois, la résistance n'est pas grande, parce que les œufs ne sont pas viables, à 0,126 p. 100, et le pourcentage d'éclosion à 0,036 p. 100 est peu élevé et égal pour les deux souches. OMER-COOPER et Whitnall (1945) signalent que 95 p. 100 de femelles gorgées d'une souche de *B. decoloratus*, résistante à l'arsenic, pondaient après traitement à 0,16 p. 100 ( $As_2O_3$ ), et que 76 p. 100 pondaient des œufs viables ; même à une concentration de 64 p. 100, 35 p. 100 des tiques pondaient des œufs viables. La résistance de la souche Sakay est donc, en comparaison, assez minime.

Il est possible que la faible résistance de la souche Sakay à l'arsenic ne soit pas une résistance spécifique et que le détiqage régulier à l'H. C. H. ait causé une sélection des souches les plus vigoureuses, phénomène connu chez les insectes (comme l'ont mentionné MOOREFIELD, 1960, et DOBY et FRITEAU, 1960). Il est d'ailleurs également connu, dans le domaine des insectes, qu'une résistance à un insecticide donné peut amener une résistance, quelquefois plus forte

encore, à divers insecticides d'autres groupes classiques de résistance croisée (comme l'a décrit MELTZER, 1956 et 1958).

D'autres essais seront nécessaires pour confirmer la légère résistance à l'arsenic et évaluer son importance. Même en se basant sur les limites de confiance des pourcentages, ce test limité n'est pas obligatoirement concluant, étant donné qu'on travaille sur un matériel biologique, où divers facteurs incontrôlables, autres que l'ixodicide, peuvent intervenir.

Signalons encore que l'arsenic n'a jamais été utilisé à la ferme du B. D. P. A., mais qu'il existe, à 15 km de là, un Centre de recherches zootechniques qui utilise depuis 1928 le bain arsenical pour le détiqage ; jusqu'ici aucun signe de résistance à l'arsenic n'y a été constaté, ni ailleurs à Madagascar.

**DISCUSSION GÉNÉRALE**

D'une façon générale, nos résultats sont conformes à ceux obtenus par d'autres auteurs sur les tiques du genre *Boophilus*.

La résistance à l'H. C. H. a amené une résistance croisée à d'autres insecticides du groupe des hydrocarbures chlorés, *in casu* la Dieldrine, l'endrine et le toxaphène ; aucun des trois produits n'a jamais été employé au B. D. P. A. Il ne semble pas y avoir de résistance croisée au D. D. T., au Sevin et au Malathion, et seulement une faible résistance à l'arsenic, qui reste à être confirmée. Enfin, la résistance à l'H. C. H. ne semble pas avoir amené une résistance au polychlorocamphane.

Plusieurs auteurs (que nous n'énumérons pas ici) signalent la résistance croisée chez *B. de coloratus* et *B. microplus* entre des insecticides du groupe des hydrocarbures chlorés : H. C. H., Dieldrine, toxaphène, aldrine, chlordane, auxquels nous pouvons ajouter l'endrine. D'une façon générale, les auteurs sont également d'accord sur le fait qu'une résistance à l'H. C. H. et autres hydrocarbures chlorés n'amène pas nécessairement une résistance croisée au D. D. T. (et analogues, tel le Dilan), aux organophosphorés, à l'arsenic et au Sevin, et vice-versa, bien qu'une résistance combinée à différents groupes d'ixodicides puisse se développer indépendamment. Seul FIEDLER croit avoir trouvé



chez les larves résistantes à l'H. C. H., une faible résistance croisée (rapport des temps jusqu'au « knock-down » de 2 fois 1/2) à un insecticide du groupe des organo-phosphorés (le parathion); mais il ne signale pas si la différence avec la souche normale est statistiquement significative ou non et ne donne que la moyenne de 4 épreuves sur chaque souche, sans indiquer l'écart-type, ni les extrêmes; il est donc difficile de juger de l'importance de cette trouvaille isolée.

Au début, les auteurs sud-africains avaient tendance à croire que la résistance à l'H. C. H. était toujours associée à une résistance à l'arsenic, puisqu'ils ne la trouvaient que parmi les populations de tiques résistantes à l'arsenic (Whitnall et Coll. 1949 et 1952). Mais, comme le montrent les travaux de BEKKER (1953) et Whitehead (1958) qui trouvaient des souches de *B. decoloratus* résistantes à l'H. C. H. mais sensibles à l'arsenic, ces résistances ne sont pas nécessairement combinées. Nous ne pouvons pas encore nous prononcer sur la signification de la faible résistance à l'arsenic qui semble exister chez la souche Sakay.

Une observation accidentelle, dont la mention nous semble intéressante, tient dans le fait, signalé ci-dessus, que la souche résistante s'est montrée capable de transmettre *B. argentine*. Certes, il serait étonnant qu'il en soit autrement, mais les preuves expérimentales du pouvoir vecteur de tiques résistantes semblent rares ou non existantes.

L'H. C. H. doit être remplacé aux fermes du B. D. P. A. par un autre ixodicide, d'autant plus que la souche résistante s'est actuellement répandue dans plusieurs fermes de la région, comme en témoignent les plaintes des fermiers. Etant donné la résistance croisée avec d'autres hydrocarbures chlorés, nous pouvons exclure le toxaphène, la dieldrine, etc... Le D. D. T.

pourrait être utilisé, mais, dans d'autres pays, notamment l'Afrique du Sud et l'Australie, il y a déjà plusieurs exemples de résistance des *Boophilus* au D. D. T.; aussi nous préférons des produits contre lesquels le développement de résistance des tiques n'est pas encore connu. Puisqu'il est souvent difficile de faire observer les précautions à prendre lors de l'usage de produits dangereux, il est très important que l'ixodicide soit peu toxique; nous sommes opposés à l'emploi de produits dangereux par les éleveurs, même dans les pays où l'élevage est plus évolué qu'à Madagascar. En plus, il doit être actif contre *Amblyomma variegatum*, la seule autre tique importante du bétail dans le pays, et qui est le vecteur de la heart water à Madagascar, maladie existant dans la Sakay.

Nos recherches se portent actuellement surtout sur le Sevin, peu toxique et dont les premiers effets, tant sur le terrain qu'*in vitro*, sont encourageants; la bibliographie est également prometteuse. Des expériences avec le Malathion, un des moins toxiques des organo-phosphorés, sont également en cours. Nous espérons également pouvoir tester le polychlorocamphane, sur lequel nous ne possédons d'ailleurs presque aucune donnée, mais qui semble également peu toxique (SERRES, 1953). Enfin, l'association de différents ixodicides pourrait être tentée.

Comme nous l'a suggéré notre confrère, le Docteur H. SERRES, il serait aussi très souhaitable de pouvoir incorporer à l'ixodicide un produit actif contre la streptothricose cutanée, maladie très importante des bovins de plusieurs régions du pays, ou, mieux, de trouver un ixodicide qui pourrait, lui-même, empêcher le développement de cette maladie.

Laboratoire central de l'élevage  
« Joseph Carougeau » à Tananarive  
Service d'entomo-pratozoologie

## SUMMARY

Resistance to hexachlorocyclohexan of a *Boophilus Microplus* (Canestrini) strain in Madagascar  
Preliminary trails on the sensitivity of a few other ixodicides

Trails « in vitro » with engorged females and non-fed larvae of a *Boophilus microplus* strain in Madagascar have shown resistance to H. C. H. This resistance brought about a crossed resistance to Dieldrin with toxaphene, and to endrin; slight resistance to arsenic which this strain also seems

to possess has still to be proven by further trials. This tick population seems to be as sensitive to D. D. T., malathion, Sevin and polychlorocamphane as ticks, from other regions, which are not resistant to H. C. H. The resistant strain proves to be capable of transmitting *Babesia argentina*.

## RESUMEN

**Resistencia al hexaclorociclohexano de una estirpe de la Garrapata *Boophilus Microplus* (Canestrini), de Madagascar. Ensayos preliminares sobre su sensibilidad a algunos otros ixodicidas**

Las pruebas *in vitro*, sobre hembras saciadas y larvas en ayuno, han servido para demostrar una fuerte resistencia al H. C. H. en la estirpe de *Boophilus microplus*, de Madagascar. Esta resistencia ha dado lugar a una resistencia cruzada a la Dieldrina al toxafeno y a la endrina. Una resistencia reducida al arsénico, que parece igualmente existir en esta estirpe, queda aún por ser confirmada por otras pruebas. Esta población de garrapatas parece también ser sensible al D. D. T., al malathion, al Sevin y al policlorocanfano, del mismo modo que las demás garrapatas de otras regiones, no resistentes al H. C. H. La estirpe resistente ha demostrado su capacidad para transmitir *Babesia argentina*.

## BIBLIOGRAPHIE

- BEKKER (P. M.). — **A blue tick resistant to B. H. C., but not to arsenic.** *Farming in South Africa*, 1953, **28** : 119-20 et 136.
- DOBY (J. M.), FRITEAU (M.). — **Etude de la résistance croisée D. D. T. — Lindane acquise en laboratoire par une souche d'*Aedes aegypti*.** *Bull. Soc. Path. exot.*, 1960, **53** : 557-63.
- FIEDLER (O. G. H.). — **The lethal effect of some insecticides on the B. H. C. — resistant blue tick, *Boophilus decoloratus* Koch.** *Onderstepoort. J. Vet. Res.*, 1952, **25**, 65-7.
- HITCHCOCK (L. F.). — **Resistance of cattle tick (*Boophilus microplus* (Canestrini)) to benzene hexachloride.** *Austr. J. agric. Resear.*, 1953, **4** : 360-64.
- LAMOTTE (M.). — **Initiation aux méthodes statistiques en biologie.** 144 pages. Masson et Cie, Editeurs, Paris, 1957.
- MELTZER (J.). — **Multiresistentie bij de Kamervlieg, *Musca domestica* L. opgewekt door selectie met insecticiden.** *Mededeelingen van de Landbouwhogeschool en van de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, 1956, **21** : 459-82.
- MELTZER (J.). — **Unspecific resistance mechanisms in the house fly, *Musca domestica* L.** *Ind. J. Malariaology*, 1958, **12** : 579-88.
- MOOREFIELD (H. H.). — **Insect resistance to the carbamate insecticides.** *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America*, 1960, **2**, 145-52.
- OMER-COOPER (J.), WHITNALL (A. B. M.). — **An arsenic resistant tick.** *Nature*, 1945, **156** : 450-1.
- SERRES (A.). — **Le terpinéol et son association au polychloro-camphane (PCC) dans la désinfection en médecine vétérinaire.** Thèse. 67 pages, 1953 (voir pp. 25-28). Imprimerie Ouvrière, Toulouse.
- WHITEHEAD (G. B.). — **Acaricide resistance in the blue tick, *Boophilus decoloratus* (Koch). Part I.** *Bull. ent. Res.*, 1958, **49** : 661-73.
- WHITNALL (A. B. M.), BRADFORD (B.), MC-HARDY (W.), WHITEHEAD (G. B.) et MEERHOLZ (F.). **A benzene hexachloride-resistant tick.** *South African J. of Science*, 1949, **45**, 113-4.
- WHITNALL (A. B. M.), THORBURN (J. A.), MC HARDY (W. M.), WHITEHEAD (G. B.) et MEERHOLZ (F.). — **A. B. H. C. — resistant tick.** *Bull. Ent. Research.*, 1952, **43**, 51-65.
- WHITNALL (A. B. M.), THORBURN (J. A.), WHITEHEAD (G. B.), MC HARDY (W. M.) et MEERHOLZ (F.). — **A tick resistant to *y*-benzene hexachloride.** *Nature*, 1949, **164** : 956-7.