

# Doses discriminatives pour la résistance d'*Aedes aegypti* aux insecticides organophosphorés et étude de quelques éléments susceptibles de modifier les résultats des tests.

**J. MOUCHET**

Entomologiste médical de l'O.R.S.T.O.M.,  
S.S.C. Bondy.

**J. DÉJARDIN**

Biométricien de l'O.R.S.T.O.M.,  
S.S.C. Bondy.

**J. BARATHE, C. SANNIER**

Techniciennes d'Entomologie médicale de l'O.R.S.T.O.M.

**S. SALES**

Laboratoire d'Entomologie médicale de l'O.C.G.G.E..  
Bobo-Dioulasso, Hte-Volta.

## ABSTRACT

The authors have made an attempt to give diagnostic dosages for susceptibility or resistance of *Aedes aegypti* to organophosphorus insecticides. After statistical analysis of these results obtained with 200 strains they propose to consider the critical LC 50 shown in the tables as limits of tolerance or resistance to six organophosphorus compounds namely malathion, fenitihion, abate, bromophos, dursban and fenitrothion.

On the other hand they noticed that using tap water treated with calcium hypochloride for susceptibility tests produced an oxygenation of fenitihion. As a result the LC 50 increased by hundred fold.

## INTRODUCTION.

A la différence de ce qui a été observé avec le DDT et la dieldrine aucune résistance aux organophosphorés, de niveau très élevé, n'a été observée chez *Aedes aegypti*.

BROWN et ABEDI (1960) réussirent par sélection à augmenter la CL50 du malathion d'une souche de Penang, Malaysia, jusqu'à 1,5 ppm ; ils considèrent que cette résistance était due à l'intervention de plusieurs processus physiologiques reliés à différents gènes, donc plurifactorielle (BROWN, 1967). A la différence de ce qui se produit lors de la résistance au DDT, il n'intervenait pas, dans ce cas, de processus biochimique de détoxification. Aucun fait nouveau n'est venu à l'encontre de ces hypothèses en ce qui concerne *Aedes aegypti*.

En divers points du globe, notamment aux Caraïbes, il a été fréquemment enregistré des baisses de sensibilité aux organophosphorés, bromophos, Abate et fenitihion. Quelquefois la CL50 atteignait 25 fois les CL50 normales (MOUCHET, 1968). Précisément les limites de la sensibilité normale ont été déterminées par MOUCHET *et al.* (1969) sur une centaine de souche ; la CL50 à un même produit présentait des variations assez importantes de l'ordre de 6 à 9 fois sans qu'une résistance puisse être soupçonnée pour autant.

Comme on n'a jamais pu isoler de souches d'*Aedes aegypti* homozygotes pour la résistance à l'un quelconque des insecticides organophosphorés, il a été impossible d'établir les doses discriminatives permettant de les séparer à coup sûr des souches sensibles. Nous avons tenté d'atteindre ce but par le calcul statistique en établissant les limites au-delà desquelles la probabilité, pour que la souche soit normale, devient insignifiante.

## DETERMINATION DE DOSES DISCRIMINATIVES.

Dans le programme de l'évaluation globale<sup>1</sup> de la résistance aux insecticides d'*Aedes aegypti* nous avons eu l'occasion de tester environ 250 souches provenant de toutes les parties du monde.

A partir de ce très nombreux matériel nous avons sélectionné de 150 à 200 souches d'Afrique et d'Asie, peu susceptibles d'être résistantes ; nous essayons ici d'établir le taux normal de variation des CL50 et à

(1) Ce programme a bénéficié de 1965 à 1968 d'une subvention de l'O.M.S., Biologie et Contrôle des Vecteurs.

l'aide de calculs statistiques, de déterminer les seuils qui peuvent être considérés comme significatifs d'une tolérance ou d'une résistance.

Dans les tableaux 1 à 6, deuxième colonne, nous donnons les effectifs des souches dont la CL50 se situe dans la classe définie dans la première colonne par sa valeur centrale. Dans la figure 1 nous avons tracé les histogrammes de distribution des CL50 pour les différents insecticides.

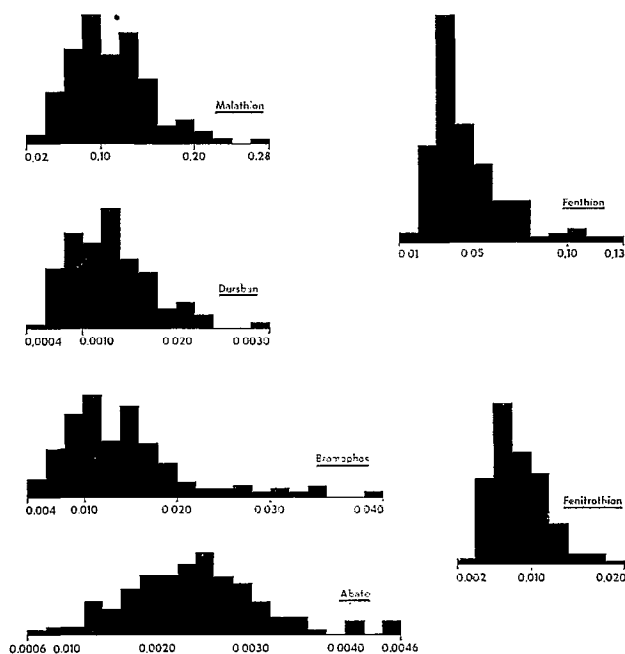


FIG. 1. — Histogrammes de la distribution des CL<sub>50</sub>

La loi de distribution des CL 50 est la lognormalité<sup>1</sup>. Après des transformations logarithmiques nous avons calculé la moyenne et les deux limites de tolérance qui laissent au-dessus d'elles respectivement  $P = 10^{-2}$  et  $P = 10^{-5}$  de la population des log CL50. Ce calcul statistique mérite quelques explications.

Une limite de tolérance, au sens statistique, est une limite qui, dans notre cas, laisse au-dessus d'elle une certaine proportion P de la population. Comme cette population n'est pas entièrement spécifiée à l'avance mais seulement connue par échantillonnage, la limite ne peut être affirmée avec certitude ( $\gamma = 1$ ) mais seulement avec une quasi certitude inférieure à 1 ; nous avons choisi  $\gamma = 0,95$ .

Par exemple la valeur 0,0029 lue à la ligne 1, colonne 5 du tableau 7 est la valeur de la CL50 au Dursban qui ne laisse au-dessous d'elle qu'un pour cent ( $P = 10^{-2}$ ) des souches sensibles, affirmation faite à la quasi certitude 0,95. Ceci peut approximativement se traduire par : on a, au plus, 1 chance sur 100 de trouver une souche d'*Aedes aegypti* sensible au Dursban dont la CL50 soit supérieure à 0,0029 ppm. On aurait de même une chance sur 100.000 ( $P = 10^{-5}$ ) de trouver une souche sensible au Dursban dont la CL50 dépasserait la valeur 0,005 ppm lue toujours à la ligne 1 du même tableau dans la colonne 6.

Nous proposons de considérer comme tolérantes ou intermédiaires les souches dont la CL50 est comprise entre les 2 limites  $P = 10^{-2}$  et  $P = 10^{-5}$  et comme résistantes celles dont la CL50 se situe au-delà de la deuxième valeur. Ces valeurs sont exprimées pour chaque insecticide au bas du tableau des effectifs et récapitulées au tableau 7.

Résumées, elles s'établissent comme suit :

(1) Nous tenons à remercier M<sup>me</sup> SCHWARTZ, technicienne du service de Biométrie de l'O.R.S.T.O.M. qui a exécuté une grande partie des calculs.

	souches sensibles	souches tolérantes	souches résistantes
Dursban .....	0,0005 < CL 50 < 0,0029	0,0029 < CL 50 < 0,005	CL 50 > 0,005
Abate .....	0,0007 < CL 50 < 0,0045	0,0053 < CL 50 < 0,010	CL 50 > 0,010
Fenthion .....	0,0015 < CL 50 < 0,012	0,01 < CL 50 < 0,026	CL 50 > 0,026
Fenitrothion .....	0,002 < CL 50 < 0,019	0,02 < CL 50 < 0,042	CL 50 > 0,42
Bromophos .....	0,005 < CL 50 < 0,041	0,041 < CL 50 < 0,098	CL 50 > 0,098
Malathion .....	0,03 < CL 50 < 0,27	0,30 < CL 50 < 0,69	CL 50 > 0,69

ETUDE DES LIMITES DE LA CL100.

Nous avons seulement déterminé les limites entre lesquelles se situaient les CL100 et de ce fait l'interprétation statistique de ces valeurs est très difficile.

Néanmoins une élévation sensible de la CL100 au-dessus des valeurs indiquées dans les tableaux 1 à 6 devraient être prise en considération comme un signe d'apparition de la résistance.

RESISTANCE D'*Aedes Aegypti* AUX INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

TABLEAU 1

Répartition des CL 50 et CL 100 au malathion de 196 souches d'*Aedes aegypti*. Interprétation statistique des résultats

CL 50				CL 100	
Concentration (en ppm) Centre de la classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées	Limites des CL 100	Effectif
0,03	3	3	1,5	CL 100 < 0,1	8
0,05	17	20	10,2	0,1 < CL 100 < 0,5	170
0,07	31	51	26,09	0,5 < CL 100 < 2,5	18
0,09	42	93	47,4		
0,11	29	122	62,2		
0,13	36	158	80,6		
0,15	21	179	91,3		
0,17	5	184	93,9		
0,19	7	191	97,4		
0,21	3	194	99,09		
0,23	1	195	99,59		
0,27	1	196	100		

Limites observées : 0,03 et 0,27.  
 Coefficient de variation : 9 %.  
 Moyenne retransformée corrigée : 0,10.  
 Ecart-type<sup>1</sup> 0,3970.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).  
 $P = 10^{-2}$  (souches tolérantes ou intermédiaires) en ppm : 0,30.  
 $P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,69.

TABLEAU 2

Répartition des CL 50 et CL 100 au bromophos de 172 souches d'*Aedes aegypti*. Interprétation statistique des résultats

CL 50				CL 100	
Concentration (en ppm) Centre de la classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées	Limites des CL 100	Effectif
0,005	5	5	2,9	CL 100 < 0,001	1
0,007	16	21	12,2	0,01 < CL 100 < 0,02	45
0,009	24	45	26,2	0,02 < CL 100 < 0,05	93
0,011	33	78	45,3	0,05 < CL 100 < 0,1	33
0,013	18	96	55,8		
0,015	29	125	72,7		
0,017	17	142	82,6		
0,019	11	153	88,9		
0,021	4	157	91,3		
0,023	2	159	92,4		
0,025	2	161	93,6		
0,027	3	164	95,3		
0,029	1	165	95,9		
0,031	2	167	97,1		
0,033	1	168	97,7		
0,035	3	171	99,4		
0,041	1	172	100		

Limites observées : 0,005 et 0,041.  
 Coefficient de variation : 8,2 %.  
 Moyenne retransformée corrigée des CL 50 : 0,014.  
 Ecart-type : 0,4157.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).  
 $P = 10^{-2}$  (souches tolérantes ou intermédiaires) en ppm : 0,041.  
 $P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,098.

(1) Les écarts-types et coefficients de variation donnés dans les tableaux 1 à 6 sont ceux des log CL 50.

TABLEAU 3

Répartition des CL 50 et CL 100 au fénitrothion de 170 souches d'*Aedes aegypti*. Interprétation statistique des résultats

CL 50				CL 100	
Concentration (en ppm) Centre de la classe	Effectifs de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées	Limites des CL 100	Effectif
0,003	2	2	1,2	CL 100 < 0,01	6
0,005	28	30	17,6	0,01 < CL 100 < 0,02	120
0,007	53	83	48,8	0,02 < CL 100 < 0,05	44
0,009	37	120	70,6		
0,011	30	150	88,2		
0,013	13	163	95,9		
0,015	3	166	97,6		
0,017	3	169	99,4		
0,019	1	170	100		

Limites observées : 0,003 et 0,019.  
 Coefficient de variation : 6,3 %.  
 Moyenne retransformée corrigée : 0,0086.  
 Ecart-type : 0,3376.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).  
 $P = 10^{-2}$  (souches tolérantes ou intermédiaires) en ppm : 0,020.  
 $P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,042.

TABLEAU 4

Répartition des CL 50 et CL 100 au fenthion de 206 souches d'*Aedes aegypti*. Interprétation statistique des résultats

CL 50				CL 100	
Concentration (en ppm) Centre de la classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées	Limites des CL 100	Effectif
0,0015	3	3	1,5	CL 100 < 0,004	6
0,0025	31	34	16,5	0,004 < CL 100 < 0,01	98
0,0035	74	108	52,4	0,01 < CL 100 < 0,02	88
0,0045	38	146	70,9	0,02 < CL 100 < 0,05	18
0,0055	25	171	83,0		
0,0065	13	184	89,3		
0,0075	13	197	95,6		
0,0085	1	198	96,1		
0,0095	2	200	97,1		
0,0105	4	204	99		
0,0115	1	205	99,0		
0,0125	1	206	100		

Limites observées : 0,0015 et 0,0125.  
 Coefficient de variation : 8,3 %.  
 Moyenne retransformée corrigée : 0,0044.  
 Ecart-type : 0,3838.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).  
 $P = 10^{-2}$  (souches tolérantes ou intermédiaires) en ppm : 0,011.  
 $P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,026.

RESISTANCE D'*Aedes Aegypti* AUX INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

TABLEAU 5

Répartition des CL 50 et CL 100 à l'Abate de 186 souches d'*Aedes aegypti*. Interprétation statistique des résultats

CL 50				CL 100	
Concentration (en ppm) Centre de la classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées	Limites des CL 100	Effectif
0,0007	1	1	0,5	CL 100 < 0,002	3
0,0009	3	3	1,6	0,002 < CL 100 < 0,004	73
0,0011	2	5	2,7	0,004 < CL 100 < 0,01	107
0,0013	10	15	8,1	0,01 < CL 100 < 0,02	3
0,0015	8	23	12,3		
0,0017	14	37	19,9		
0,0019	19	56	30,1		
0,0021	19	75	40,4		
0,0023	22	97	52,2		
0,0025	26	123	66,1		
0,0027	18	141	75,8		
0,0029	16	157	84,4		
0,0031	10	167	89,8		
0,0033	5	172	92,5		
0,0035	5	177	95,2		
0,0037	1	178	95,7		
0,0041	4	182	97,8		
0,0045	4	186	100		

Limites observées : 0,0007 et 0,0045.  
 Coefficient de variation : 6,4 %.  
 Moyenne retransformée corrigée : 0,0023.  
 Ecart-type : 0,3152.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).  
 $P = 10^{-2}$  (souches tolérantes ou intermédiaires) en ppm : 0,0053.  
 $P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,010.

TABLEAU 6

Répartition des CL 50 et CL 100 au Dursban de 172 souches d'*Aedes aegypti*. Interprétation statistique des résultats

CL 50				CL 100	
Concentration (en ppm) Centre de la classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées	Limites des CL 100	Effectif
0,0005	1	1	0,6	CL 100 < 0,0008	1
0,0007	14	15	8,7	0,0008 < CL 100 < 0,002	38
0,0009	31	46	26,7	0,002 < CL 100 < 0,004	121
0,0011	28	74	43,0	0,004 < CL 100 < 0,01	12
0,0013	39	113	65,7		
0,0015	23	136	79,1		
0,0017	17	153	89,0		
0,0019	6	159	92,4		
0,0021	8	167	97,1		
0,0023	4	171	99,4		
0,0029	1	171	100		

Limites observées : 0,0005 et 0,0029.  
 Coefficient de variation : 5,8 %.  
 Moyenne retransformée corrigée : 0,0012.  
 Ecart-type : 0,3168.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).  
 $P = 10^{-2}$  (souches tolérantes ou intermédiaires) en ppm : 0,0029.  
 $P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,0057.

TABLEAU 7  
Etablissement des doses discriminatives pour les composés organophosphorés

Produit	Effectif	Limites des CL 50 observées	Moyenne retransformée corrigée des CL 50	Ecart-type *	Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ )	
					P = 10 <sup>-2</sup> (souches tolérantes ou intermédiaires) (exprimé en CL 50)	P = 10 <sup>-5</sup> (souches résistantes) exprimé en CL 50)
Dursban .....	172	0,0005 à 0,0029	0,0012	0,3168	0,0029	0,005
Abate .....	186	0,0007 à 0,0045	0,0023	0,3152	0,0053	0,010
Fenthion .....	206	0,0015 à 0,012	0,0044	0,3838	0,011	0,026
Fenitrothion .....	170	0,003 à 0,019	0,0086	0,3376	0,020	0,042
Bromophos .....	172	0,005 à 0,041	0,014	0,4157	0,041	0,098
Malathion .....	196	0,03 à 0,27	0,10	0,3970	0,30	0,69

\* de la distribution des log CL 50.

#### FACTEURS EXOGENES DE VARIATION.

Certains facteurs exogènes dégradant les insecticides organophosphorés peuvent provoquer des abaissements brutaux de la sensibilité qu'une interprétation hâtive pourrait faire identifier comme l'apparition d'une résistance.

##### a) Présence des hypochlorites.

Les eaux de boisson sont souvent traitées par des hypochlorites qui dégradent certains organophosphorés notamment le fenthion (METCALF *et al.*, 1963).

A Bobo-Dioulasso, à la suite du manque d'eau distillée nous avons dû utiliser l'eau du robinet pour exécuter les tests sur les larves de *Culex fatigans* et d'*Aedes aegypti*. Nous avons alors observé des CL50 au fenthion de 0,2 ppm qui aurait pu faire croire à une très forte résistance de l'ordre de 50 fois. Les 2 souches testées à nouveau en France avec de l'eau distillée et le même lot d'insecticides présentaient une sensibilité normale. Il devenait logique d'incriminer l'eau du robinet utilisée dans les premiers essais.

L'eau de boisson à Bobo-Dioulasso est traitée par l'hypochlorite de calcium à la dose de 2 ppm et à la chaux éteinte. Ce dernier produit n'a aucune action dégradante sur le fenthion. Mais en exécutant les tests avec une solution à 2 ppm d'hypochlorite de calcium nous avons observé une forte augmentation de la CL50 jusqu'à 0,3 ppm pour *C. fatigans* et 0,25 ppm pour *Ae. aegypti*. Le rôle de l'hypochlorite de calcium comme agent dégradant du fenthion se trouvait confirmé. Nous n'avons, par contre, pas observé d'action de ce produit vis-à-vis des autres organo-phosphorés.

Les conditions de travail sur le terrain imposent souvent l'utilisation d'eau de provenance non contrôlée. Nous ne saurions trop conseiller aux expérimentateurs de s'entourer de toutes les précautions et d'être très prudents lorsqu'ils détectent une résistance au fenthion.

##### b) Vieillessement des solutions.

La stabilité des solutions d'insecticides pour les tests n'est pas constante. L'Abate notamment, même conservée au réfrigérateur perd graduellement une partie de son activité. Il faudrait refaire fréquemment les solutions à partir du produit technique et en cas

d'abaissement de sensibilité refaire les tests avec des solutions fraîches.

CONCLUSIONS ET RÉSUMÉ.

Nous avons essayé de définir statistiquement les valeurs de CL50 au malathion, bromophos, fenitrothion, Fenthion, Abate et Dursban qui permettraient de séparer les souches d'*Aedes aegypti* tolérantes ou résistantes à ces produits.

Par ailleurs, nous avons relaté l'action de certains agents, notamment les hypochlorites qui, contenus dans les eaux urbaines, sont susceptibles de fausser les résultats des tests et d'augmenter les CL50. On pourrait alors croire à tort à l'apparition de résistance.

*Manuscrit reçu au S.C.D. le 23 avril 1972.*

BIBLIOGRAPHIE

BROWN (A. W. A.), 1967. — Mechanism and inheritance

of resistance and selection of resistance potential in *Aedes aegypti*. *Bull. Org. mond. Santé*, **36**, 578-580.

BROWN (A. W. A.) et ABEDI (Z. H.), 1960. — Cross resistance characteristics of a Malathion tolerant strain developed in *Aedes aegypti*. *Mosq. News*, **20**, 118-124.

METCALF (R. L.), FUKUTO (T. R.) et WINTON (M. Y.), 1963. — Chemical and Biological Behaviour of Fenthion Residues. *Bull. Org. mond. Santé*, **29**, 219-226.

MOUCHET (J.), 1968. — Résistance des Culicinés aux insecticides. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd.*, **6** (3-4), 225-235.

MOUCHET (J.), BARATHE (J.) et SANNIER (C.), 1969. — Sensibilité d'*Ae. aegypti* aux insecticides organophosphorés. *Doc. ronéot. OMS, WHO/VBC/69.137*.