

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
ET TECHNIQUE OUTRE-MER

24, Rue Bayard - PARIS VIIIème

SENSIBILITE RESISTANCE AUX INSECTICIDES DES
INSECTES D'INTERET MEDICAL

LA MESURE DE LA SENSIBILITE DES INSECTES AUX INSECTICIDES :

PRINCIPES ET FACTEURS DE VARIATION

par

J. HAMON

&

J. MOUCHET

INTRODUCTION

Dans le monde entier, les insecticides sont de plus en plus employés pour protéger les récoltes ou à des fins de santé publique.

Cet emploi massif d'insecticides a rapidement entraîné, en différents points du globe, l'apparition de populations d'insectes résistantes aux produits employés, entraînant un remaniement important des campagnes en cours et parfois même leur abandon.

Dans son septième rapport, le Comité d'Experts des Insecticides de l'Organisation Mondiale de la Santé a donné de la résistance la définition suivante : "Par résistance aux insecticides on entend l'apparition, dans une souche d'insectes, de la faculté de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet léthal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce. L'expression résistance due au changement de comportement désigne l'apparition d'une aptitude de l'insecte à éviter une dose qui serait léthale pour lui (in O. M. S. 1960.)

Nous ne nous intéressons, dans cet article, qu'à la résistance physiologique, la résistance due à un changement de comportement étant un problème distinct. L'affirmation de la présence de

populations d'insectes résistantes ne peut se faire au jugé, d'après le nombre des insectes présents. De nombreux facteurs autres que la résistance peuvent en effet influencer sur cette densité, notamment des conditions météorologiques favorables, une formulation insecticide de mauvaise qualité ou mal appliquée, une activité de l'insecticide plus marquée sur les parasites ou les prédateurs de l'insecte que sur cet insecte lui même, etc...

La mise en évidence de la résistance physiologique suppose pose connue la sensibilité des populations normales, qui est utilisée comme niveau de référence, et, donc, des méthodes pour mesurer cette sensibilité. Il ne suffit pas de découvrir la présence de populations résistantes, il faut aussi pouvoir mesurer cette résistance, la plupart des recherches de laboratoire sur la génétique, la physiologie, et la prévention de la résistance dépendant des méthodes de mesure précises et sûres de cette résistance.

La normalisation des méthodes de mesure, indispensable à tout échange fructueux d'informations entre divers laboratoires exige une connaissance détaillée des facteurs susceptibles d'influencer cette mesure et des principes d'interprétation des résultats; nous allons exposer successivement l'état de nos connaissances actuelles ces deux points

FACTEURS INFLUENCANT LA MESURE DE LA SENSIBILITE AUX INSECTICIDES

A. Méthode Générale. La mesure de la sensibilité est effectuée à l'aide d'essais biologiques. L'insecticide est soit appliqué à l'insecte de façon topique ou par immersion, soit absorbé par l'insecte au cours d'un autodosage. Si l'application de l'insecticide est basée sur une méthode d'autodosage, l'insecte se déplace sur ou dans un milieu contenant une solution, une suspension, ou une poudre d'insecticide (ou avec les fumigants, un gaz insecticide) et s'administre lui même le toxique au cours de ses déplacements, les conditions d'expérimentation devant être telles que chaque insecte d'un lot absorbe approximativement la même dose d'insecticide. Les facteurs de variations

sont liés, soit à l'insecte, soit à la technique.

B. Facteurs liés à l'insecte.

L'activité des insectes, conditionnée elle même par la température, l'humidité, l'éclairement, et par le nombre d'individus groupés en une même enceinte, influe directement sur l'autodosage.

Lors des études sur les moustiques adultes, un accroissement du nombre des moustiques dans chaque lot en expérience accroît la mortalité (RAFFAELE & COLUZZI, 1957 a - RAFFAELE, COLUZZI et ZULUETA, 1958). Dans les essais sur larves de moustiques, au contraire, PARKER (1957 b) constate que si l'on met plus de 20 larves par 100 cc de suspension d'insecticide la mortalité diminue quelque soit la durée de contact, alors que des lots de 5 à 20 larves ont des mortalités comparables pour des contacts de 1 heure, mais décroissant avec le nombre de larves pour des contacts de 24 heures. Ces phénomènes sont probablement dus à la diminution de la quantité d'insecticide disponible pour chaque larve, et sont particulièrement sensibles aux faibles concentrations. Les observations de PARKER ont été confirmées par celles de SCHMIDT & WEIDHAUS (1959), alors que SHIDRAWI (1957) ne trouve pas de variations sensibles de la mortalité en fonction de la densité des larves lors des essais. Cette discordance est peut être due aux concentrations plus élevées d'insecticides employées par SHIDRAWI.

Les males sont généralement plus sensibles que les femelles, le phénomène étant très net chez les mouches (HARRISON, 1951) et les moustiques adultes (HADAWAY & BARLOW, 1956 - SHIDRAWI, 1957), cette différence étant sensible chez les nymphes (JOHNSTON, 1949 (JONES 1960) mais pas chez les larves (JONES, 1957). Chez les punaises des lits, au contraire, les femelles sont plus sensibles que les males (BUSVINE, 1958). Dans certains cas la différence de sensibilité entre les sexes a pu être attribuée à leur différence de taille, et chez les mouches HARRISON (1951) a observé qu'à l'intérieur d'un même sexe les plus grosses étaient moins sensibles que les plus petites.

L'âge des insectes influe sur la sensibilité. Le phénomène déjà sensible chez les moustiques et les mouches adultes (HARRISON, 1951 - HADAWAY & BARLOW, 1957 b - RAFFAELE et coll., 1957 b et 1958) est encore plus marqué chez les larves de moustiques. Chez ces dernières la sensibilité diminue très fortement d'un stade à l'autre, les plus âgés étant les moins sensibles, et au cours du 4ème stade diminue au fur et à mesure que la nymphose approche (YATES, 1950 - PARKER, 1957 a). En outre la toxicité relative des insecticides entre eux varie d'un stade à l'autre (PARKER, 1957 a). Les nymphes semblent peu sensibles, mais peuvent cependant être tuées, notamment par le gamma HCH (JOHNSTON, 1949 - SAUTET & VUILLET, 1956 - THEVASAGAYAN, 1957 - SHIDRAVI, 1957). Cette faible sensibilité des nymphes de moustiques ne semble pas due à une absence d'absorption du toxique, mais à une absence temporaire de sensibilité physiologique, car il n'est pas rare que les adultes meurent peu après des nymphes survivantes (JONES 1960).

La nourriture et l'état de réplétion modifie la sensibilité aux insecticides, et il faut éviter de mélanger des insecticides à jeun, qui sont les plus sensibles (BUSVINE, 1956) à des insectes gorgés ou gravides. Chez les femelles de mouches et les moustiques HADAWAY & BARLOW (1957 b 1956) ont observé que la sensibilité variait de façon régulière au cours du cycle gonotrophique et était, chez les moustiques, la plus faible 24 heures après le repas de sang, l'origine du sang ingéré semblant sans importance. La nourriture des larves de moustiques semble également influencer sur leur sensibilité, celles nourries de féculents étant moins intoxiquées que celles nourries avec de la levure, du lait ou des algues (DOBY, DEBLOCK & GAEREMYNCK, 1956) les différences ne semblant pas liées au taux des lipides contenus dans les larves.

L'absorption de l'insecticide peut être influencée par des particularités morphologiques dues à l'origine des insectes (DOBY, GAEREMYNCK & DEBLOCK, 1957), et selon GARNHAM (1958) le parasitisme par certains protozoaires modifie aussi la sensibilité aux insecticides.

Les conditions de température et d'humidité dans lesquelles sont élevés ou maintenus les insectes avant leur exposition aux toxiques ne semblent pas influencer de façon nette sur la sensibilité (HADAWAY & BARLOW, 1957 b).

Certains chercheurs ont observé, au moins chez les moustiques, des variations saisonnières importantes de sensibilité. Des écarts de la CL 50 de 3 à 17 fois ont été enregistrés chez les anophèles du groupe maculipennis entre la période d'activité et le début de l'hibernation par ZULUETA et coll., (1957), RAFFAELE et coll. 1957 et DUPORT & SANDULESCO (1958). Des variations plus faibles, de l'ordre de 2 fois, ont été constatées chez une espèce tropicale, Anopheles gambiae, Giles par HOLSTEIN et coll. KELLER et collaborateurs (1956) avaient déjà signalé des variations saisonnières de sensibilité chez des larves d'Aedes, mais dans des conditions qui n'excluent pas la possibilité d'apparition d'une tolérance de vigueur (I), la sensibilité au printemps, avant tout traitement insecticide étant plus grande qu'en fin d'été après plusieurs traitements.

C. Facteurs liés aux techniques.

La concentration disponible du toxique est un facteur très important. Sous réserve d'une homogénéité de présentation de l'insecticide, la mortalité, dans une population normale, croît avec le logarithme de la concentration (FINNEY, 1942 - PRADHAN, 1949 a). On opère généralement avec des solutions ou des suspensions d'insecticides qui permettent une bonne homogénéité de la présentation. Les dépôts secs, obtenus par évaporation d'un solvant sont très peu utilisés car ils permettent pas de faire varier les concentrations.

(I) - le terme : Tolérance de vigueur -(de l'anglais "Vigour toerance") a été introduit par HOSKINS & CORDON (1956) pour désigner les cas où une tolérance accrue, d'une souche d'insectes à un insecticide, résulte d'une grande vigueur de ces insectes plutôt que de l'apparition d'un mécanisme spécifique de défense (traduit de BROWN, 1958, page 23)

En outre la taille des cristaux, qui influe beaucoup sur la mortalité varie avec la nature du solvant et sa vitesse d'évaporation, rendant difficile toute standardisation (BUSVINE & BARNES, 1947 - HADAWAY & BARLOW, 1951).

La durée du contact insecte-insecticide est un autre facteur majeur. D'après PRADHAN (1949 a) la mortalité croit avec le logarithme du temps de contact, mais les observations de BUSVINE (1958) et de WEIDHAAS & SCHMIDT (1960 a) montrent que les doses reçues par l'insecte, et donc la mortalité, ne croissent pas selon une relation simple avec la durée de contact. Le temps de contact doit être assez court pour éviter des changements physiologiques importants de sensibilité de l'insecte durant l'essai. Il doit être assez long pour que chaque insecte ait des chances d'entrer en contact suffisamment avec l'insecticide, et pour que les doses correspondant aux concentrations les plus élevées entraînent des mortalités de 100% chez les populations normales (JOHNSTON, 1949). Des expositions très courtes, de l'ordre de quelques minutes, permettent à certains individus d'éviter presque complètement le contact avec l'insecticide et entraînent de grandes irrégularités dans la mortalité, surtout chez les souches peu sensibles (SAUTET et coll., 1958).

La durée de mise en observation après le contact insecticide influe sur les résultats. Si on a utilisé des toxiques à action lente, comme la dieldrine, la mortalité va augmenter après la fin du contact, alors qu'avec des insecticides à action rapide comme le DDT ou le gamma HCH certains insectes apparemment morts à la fin du contact vont recouvrer une activité normale (PARKER, 1957 a) BROWN 1957). Le phénomène est beaucoup plus sensible avec les temps de contact courts, de l'ordre de 1 heure, qu'avec les temps longs. Si le contact avec le toxique atteint ou dépasse 24 heures l'importance d'une période de mise en observation avant la lecture de la mortalité n'est plus très grande (PARKER, 1957 a). Du fait de la différence de vitesse d'action existant entre les insecticides l'efficacité relative des toxiques entre eux varie selon la durée d'exposition et

de mise en observation, un contact bref suivi de la lecture immédiate de la mortalité et un contact long suivi d'une mise en observation pouvant par exemple donner, dans le premier cas, l'avantage au DDT, et dans le second l'avantage à la dieldrine.

L'humidité relative semble n'avoir que peu d'action sur la toxicité des insecticides (PRADHAN, 1949 c - HADAWAY & BARLOW, 1957 a et b). Par contre la température joue un rôle notable. Pendant l'exposition au toxique, un accroissement de température augmente la toxicité du DDT (PRADHAN, 1949 b), quoique THEVASAGAYAN (1957) dise le contraire et celle de la dieldrine (BRANSBY-WILLIAMS, 1959). Après l'exposition au toxique un accroissement de la température pendant la période de mise en observation diminue la mortalité dans le cas du DDT (PRADHAN, 1949 b, HADAWAY & BARLOW, 1957 a), l'augmente dans le cas de la dieldrine et du diazinon, et est sans effet dans le cas du gamma HCH (HADAWAY & BARLOW, 1957 a). Ces phénomènes sont probablement dus à des vitesses différentes d'absorption et de détoxification des insecticides selon la température (PRADHAN, 1949 b).

Si l'insecticide est appliqué sous la forme d'une poudre, la taille des particules insecticides doit être comprise entre certaines limites. La nature du diluant peut interférer avec les résultats, car s'il est abrasif il facilite la pénétration de l'insecticide et accroît la mortalité. Le diluant peut également, par sa présence, diminuer l'accessibilité de l'insecticide. Lorsque l'on utilise les poudres insecticides on observe rarement une relation stricte entre le logarithme de la concentration et la mortalité, les augmentations de concentration ne se traduisant pas par des augmentations correspondantes de mortalité, aussi tend on à les abandonner dans les essais biologiques standardisés (BUSVINE, 1960).

Si l'insecticide est employé en solution, par applications topiques à l'aide d'une micropipette (UNGUREANU & UNGUREANU, 1959) ou d'une microseringue (BUSVINE, 1951) la nature du solvant interfère avec les résultats. Le solvant évidemment ne doit pas être toxique aux doses utilisées et se prêter à l'établissement d'une large

gamme de concentrations. Beaucoup des expérimentations anciennes ont été faites avec du pétrole. Actuellement l'huile Shell Risella est le solvant le plus couramment employé, (OMS, 1960) malheureusement il dissout assez mal les produits organophosphorés. Pour ces derniers l'huile d'olive est un excellent solvant (NGUY & BUSVINE, 1960) mais elle varie de composition selon les origines et ne se prête donc pas à une standardisation. Aussi est on à la recherche de nouvelles produits, qui, en plus des qualités précitées, ne doivent pas attaquer les matières plastiques constituant une grande partie des récipients dans lesquels sont exécutés les essais biologiques standards de l'O. M. S. (1960). Pour des propriétés physiques analogues des solvants les insecticides sont plus efficaces si le solvant est une paraffine, que s'il s'agit d'un ester aliphatique à longue chaîne, et ils sont encore moins efficaces dissous dans des esters aromatiques. L'ordre dans lequel les solvants "activent" les insecticides semble le même pour tous les insecticides mais le degré d'amplitude varie avec l'insecticide et donc les toxicités relatives des insecticides entre eux dépendent de la nature du solvant utilisé. Il n'y a pas de relation entre la solubilité de l'insecticide dans les solvants et le pouvoir "activant" de ceux ci. Le solvant joue visiblement un rôle dans le passage de l'insecticide à travers la cuticule (HADAWAY & BARLOW, 1958).

Si l'insecticide est employé sous forme de dépôt sec, ce dépôt est plus efficace s'il provient d'une suspension que s'il provient d'une solution (BARLOW & HADAWAY, 1952). S'il provient d'une suspension l'agent mouillant accompagnant l'insecticide diminue d'autant plus son efficacité que la surface portant le dépôt est moins absorbante, l'inactivation maxima étant observé sur des parois de verre (HADAWAY & BARLOW, 1951). Si le dépôt provient de l'évaporation d'une solution, le type de surface influe moins, tandis que la nature du solvant et la vitesse d'évaporation jouent un rôle de premier plan, une évaporation rapide favorisant la formation de petits cristaux, biologiquement plus actifs que les gros, et risquant moins de se détacher de l'insecte lorsqu'il se déplace (BARLOW & HADAWAY, 1951)

Lorsque l'on emploie des suspensions, celles-ci sont préparées à l'aide de solutions mères dans un solvant qui doit être non toxiques aux concentrations utilisées, miscible à l'eau, et pas trop volatil afin que le titre des solutions mères ne se modifie pas très facilement par évaporation. Pour cette dernière raison l'acétone, autrefois très employée, est généralement remplacée maintenant par l'éthanol (O.M. S.;1960). La confection aux fins d'essais biologiques, de suspensions à l'aide de poudres nouillables n'est pas à recommander, car celles-ci contiennent d'assez grosses particules qui n'ont jamais été destinées à rester très longtemps en suspension dans l'eau et sédimentent à bref délai. Le mélange de solutions mères à de l'eau donne au contraire des suspensions colloïdales qui ne tendent pas à sédimenter que lorsque la concentration atteint ou dépasse 1 partie par million dans le cas du DDT (BOWMAN et coll., 1959) qui semble être l'insecticide le moins stable en suspension. L'eau servant à la mise en suspension ne doit évidemment pas contenir de sels dissous ou de particules organiques susceptibles d'interférer avec l'insecticide.

Dans les suspensions les différentes concentrations ne sont pas rigoureusement comparables, car l'état physique de l'insecticide n'est pas le même, sauf s'il est soluble dans l'eau. Aux concentrations les plus faibles il s'agit le plus souvent d'une solution dans l'eau, alors que les concentrations moyennes sont des suspensions colloïdales et que les plus fortes concentrations contiennent des cristaux plus gros, donc moins actifs biologiquement et, comme nous venons de le voir, sujets à se sédimenter. Les concentrations réellement disponibles sont inférieures aux concentrations théoriques, surtout dans le cas du DDT, le phénomène étant moins sensible avec la dieldrine, le gamma HCH et les insecticides organophosphorés. Il se produit en effet une concentration du DDT sur les interfaces et il disparaît par codistillation avec l'eau (BOWMAN et coll.,1959), les pertes à des concentrations de 0,004-0,01 p.p.m. atteignant 60% en 24 heures (WEIDHAAS, SCHMIDT & BOWMAN, 1960). La forme du récipient dans lequel on opère et la nature de ses parois, influent sur la répartition de l'insecticide en suspension,

les récipients les moins "actifs" à ce sujet étant ceux émaillés ou en verre (BROWN, 1957 - SCHMIDT & WEIDHAAS, 1959 - WEIDHAAS, SCHMIDT & BOWMAN, 1960). Le solvant employé dans la solution mère peut influencer directement sur la toxicité de l'insecticide en modifiant la perméabilité cuticulaire de l'insecte, ou l'aspect physique du toxique, mais généralement à des concentrations très supérieures à celles utilisées lors des essais biologiques (HAWKINS, 1956 - PARKER, 1957 b - MUIRHEAD THOMSON, 1957 - DOBY & RAULT, 1959).

D. Conclusions.

Un très grand nombre de facteurs biologiques et physico-chimiques interfèrent lors des essais biologiques d'insecticides, avec la relation relativement simple qui lie, chez les êtres vivants, la dose de toxique reçue et la mortalité.

Pour rendre les observations aussi comparables que possible les unes aux autres il faut donc utiliser des méthodes comportant le minimum d'interférences incontrôlables, et en standardiser l'emploi. Il faut évidemment mentionner de façon détaillée dans les comptes rendus d'expérimentation, toutes les informations permettant de reproduire les conditions de travail à des fins de comparaison ou de contrôle. Lorsque des méthodes standardisées existent à l'échelon international, comme c'est le cas pour la majorité des groupes d'insectes d'importance médicale, grâce à l'action coordinatrice de l'O. M. S., il est souhaitable que ces méthodes soient utilisées chaque fois que cela est possible, certaines recherches de base continuant lorsque c'est nécessaire à faire appel à des techniques spéciales.

L'emploi délibéré, par négligence ou par ignorance, de méthodes non standardisées dans un domaine aussi important que celui de la résistance des insectes aux insecticides ne peut que ralentir l'amélioration de nos connaissances en ce domaine, avec pour corollaire une moindre résistance de l'humanité devant les insectes destructeurs de cultures et vecteurs de maladies.

PRINCIPES DE MESURE DE LA SENSIBILITE AUX INSECTICIDES.

A. Enregistrement des résultats.

Chaque essai de sensibilité aux insecticides consiste à exposer, des lots d'insectes pendant un temps constant, à des concentrations de toxique croissant en progression géométrique, ou bien à exposer ces lots d'insectes à une concentration constante pendant des durées croissant en progression géométrique. Dans le premier cas on établit des concentrations léthales (CL) caractéristiques, et dans le second cas des temps léthaux (TL) caractéristiques. La première façon de procéder est plus rationnelle car la relation concentration d'insecticide/mortalité est, comme nous l'avons vu précédemment, mieux connue que la relation temps d'exposition/mortalité. Certains auteurs, cependant, préfèrent faire varier le temps de contact et enrégistrent la durée moyenne de contact avant l'étourdissement (VARGAS et coll., 1959) ou avant la mort (JONES, 1957). Cette dernière manière de procéder a un avantage, c'est qu'un seul lot, à une seule concentration, suffit à fournir une courbe de mortalité ou d'étourdissement, sous réserve de suivre le devenir des spécimens un à un. Par contre il est difficile de comparer deux souches entre elles puisqu'il n'y a pas de relation stricte entre la durée du contact et la dose d'insecticide absorbée.

D'autres auteurs, après un contact bref, de l'ordre de quelques minutes, font une mise en observation avec une étude continue de la mortalité, sans limitation de temps, jusqu'à disparition de tous les spécimens soumis à l'expérimentation (SAUTET et coll., 1958). Outre le fait que la dose est assez irrégulière d'un spécimen à l'autre, du fait de l'exposition trop brève à l'insecticide, ce procédé est très lent, puisque la survie des insectes, si la mise en observation est faite dans de bonnes conditions, peut durer plusieurs semaines, voire plusieurs mois, mais chaque lot fournit une courbe. Les auteurs soulignent d'ailleurs que "le temps de contact des adultes avec la couche de DDT (variant de 3 à 5 minutes) ne semble pas avoir une très grosse influence sur la mortalité ce qui souligne bien les difficultés d'in-

terprétation d'une telle méthode.

L'étourdissement n'est pas toujours suivi de la mort, chez la mouche domestique, on connaît des souches ayant à peu près le même niveau de résistance aux insecticides, et présentant des temps moyens d'étourdissement très différents (BUSVINE, 1951); il est certain que ces deux caractères sont génétiquement différents. La mort en elle même est facile à apprécier, mais des doutes s'élèvent pour les spécimens encore vivants, bien que n'ayant plus des réflexes normaux, que l'on classe parmi les mourants. Autrefois le nombre des mourants, divisé par un coefficient supérieur à un, était incorporé dans le nombre des morts. Actuellement la tendance est d'ajouter les mourants aux morts pour calculer la mortalité (O. M. S., 1960).

Pour évaluer la mortalité inhérente à l'espèce étudiée, et entraînée par les différentes manipulations, on fait appel à des lots témoins qui ne diffèrent des lots traités que par l'absence d'insecticides dans les milieux d'exposition. La mortalité dans ces lots témoins doit être aussi basse que possible. On corrige la mortalité des lots traités avec la formule d'ABBOTT :

$$\text{mortalité corrigé \%} = \frac{\text{mortalité brute \%} - \text{mortalité témoin \%}}{100 - \text{mortalité du témoin \%}} \times 100$$

Si la mortalité d'un des lots traités est inférieure à la mortalité du lot témoin c'est elle qui est utilisée dans la formule d'ABBOTT à la place de la mortalité témoin. Certains expérimentateurs n'utilisent pas de témoins et prennent comme lot témoin le lot traité qui a eu la plus faible mortalité, mais ceci n'est pas à conseiller. Dans le cas des insectes d'importance médicale toute expérimentation, dans laquelle la mortalité témoin atteint ou dépasse 20%, doit être refaite (O. M. S., 1960). Dans le cas où l'on ne peut pas recommencer, ou si la répétition des essais donne régulièrement une mortalité témoin supérieure à 20% il est possible d'interpréter les résultats par la méthode des probits (FINNEY, 1952).

Pour limiter l'ampleur des variations dues au hasard il convient de faire plusieurs essais à chaque concentration, soit simultanément, soit ce qui est mieux, à quelques jours d'intervalle.

B. Présentation des résultats.

En règle générale chaque essai biologique comporte une ou plusieurs séries de lots exposés à des concentrations géométriquement croissantes d'insecticides, et des lots témoins. On détermine, dans les conditions normalisées d'exposition à l'insecticide et de mise en observation la mortalité brute, puis la mortalité corrigée, correspondant à chaque concentration.

La répartition, sur un papier semi-logarithmique, des logarithmes des concentrations en abscisses, et des mortalités différentielles entraînées par chaque concentration en ordonnées, se fait, pour le caractère de sensibilité à l'insecticide d'une population homogène selon une courbe en cloche de GAUSS. (fig. ~ A). Comme on observe en fait pour chaque concentration, non la mortalité différentielle, mais la mortalité cumulée, la représentation sur un papier sémi-logarithmique se fait selon une sigmoïde (fig. I B). La sigmoïde, pas plus que la courbe de GAUSS, ne se prête à une interpolation à partir de quelques points, aussi fait on ordinairement la représentation sur un papier gausso-logarithmique qui a la propriété de transformer la sigmoïde en une droite (fig. 2). Ce papier gausso-logarithmique porte en ordonnées les probabilités (ou probits) de mortalité, et en abscisses les logarithmes des concentrations d'insecticides. La droite résultante s'appelle la ligne de régression et peut être caractérisée par sa pente et un de ses points, ou par deux de ses points. On utilise généralement pour cela les concentrations correspondant aux mortalités de 50% et de 90% que l'on appelle les CL 50 et CL 90. Ces mortalités ne se rencontrant pas exactement lors des expérimentations on les déduit graphiquement.

Les figures I et 2 correspondent à la représentation graphique de la sensibilité moyenne au malathion des larves 4ème stade jeune du moustique Culex pipiens ssp. fatigans Wied en Côte d'Ivoire, Haute Volta et Mali d'après les enquêtes menées par des équipes du Laboratoire d'Entomologie du Centre MURAZ. Les résultats chiffrés correspondants sont présentés dans le tableau I.

Une autre concentration très caractéristique de la sensibilité à un insecticide d'une population est la concentration la plus faible qui, dans les conditions normalisées, entraîne une mortalité de 100%. On l'appelle par abréviation le CL 100, et elle ne doit en aucun cas être estimée par extrapolation de la ligne de régression, mais au contraire être observée dans l'expérimentation. Les survivants aux concentrations les plus élevées peuvent en effet appartenir à une fraction résistante de la population qui ne serait pas tuée par une augmentation importante de la concentration maxima utilisée.

Sous réserve que les populations étudiées soient homogènes, le rapport entre les CL 50, les CL 90 ou les CL 100 de deux populations différentes de la même espèce permet d'évaluer leur sensibilité relative ou leur degré de résistance, compte tenu des variations normales autour de la moyenne dues aux conditions d'expérimentation, si les méthodes d'étude employées sont les mêmes.

Une méthode mathématique, élaborée par FINNEY (1952) permet de calculer les paramètres de la ligne de régression et leurs intervalles de confiance, et de déterminer si les données de l'expérimentation ne sont pas trop hétérogènes et permettent de tracer une ligne de régression, à partir des seules données numériques concentration/mortalité. Une autre méthode, due à LICHTFIELD & WILCOXON (1949) permet d'obtenir les mêmes informations, d'une façon plus rapide, à partir des données numériques et du tracé provisoire d'une ligne de régression sur papier gaussien-logarithmique.

C. Interprétation des résultats.

L'interprétation des résultats est parfois assez déli-

cate. Très souvent une pression sélective, sur le terrain ou au laboratoire, entraîne une augmentation sensible des CL 50 et CL 90 d'une génération à l'autre, sans que pour autant la ligne de régression ait tendance à s'aplatir ou à se terminer en plateau. Généralement cette diminution de sensibilité n'est pas spécifique et se manifeste aussi bien vis à vis d'insecticides appartenant à des groupes chimiques différents. Cette diminution de sensibilité disparaît en quelques générations, souvent même en une seule, lorsque cesse la pression insecticide. Un tel phénomène n'est pas de la résistance, mais de la tolérance de vigueur (HOSKINS & GORDON, 1956 - BUSVINE & PAL, 1958), car la résistance aux insecticides est spécifique ou limitée aux membres d'un même groupe chimique. Cette tolérance de vigueur est probablement due à un accroissement temporaire des génotypes hybrides, pour tous les caractères, entraînant un phénomène général d'augmentation de vigueur des individus par hétérosis.

La meilleure méthode, pour détecter la résistance physiologique, consiste à déterminer la ligne de régression de populations normalement sensibles, soit avant tout traitement, soit dans des zones non traitées, et à établir aussi soigneusement que possible, sur un grand nombre de spécimens, quelle est la CL 100. Lors des enquêtes ultérieures, la présence de survivants à cette concentration est un signal d'alarme. L'exactitude scientifique exigerait que, dans ce cas, les insectes survivants soient mis en élevage pour établir la ligne de régression de leur descendance; si elle survivait en forte proportion à la CL 100 précédemment établie, ce serait une très forte présomption de résistance. Ceci étant rarement possible, on peut alors à défaut, effectuer des essais à la concentration immédiatement supérieure à la CL 100; s'il n'est pas possible d'obtenir cette concentration du fait de la saturation du solvant en insecticide, on peut doubler la durée du temps de contact avec l'insecticide au niveau de la CL 100. S'il n'y a plus de survivants à ce stade, il s'agissait probablement, précédemment, d'une variation due au hasard.

Si on observe régulièrement des survivants à des concentrations nettement supérieures à la CL 100 il y a lieu d'établir une nouvelle ligne de régression. Si cette ligne est rectiligne, à peu près parallèle à la ligne de régression de référence et si l'écart des CL 50 est faible (I), il s'agit probablement de tolérance de vigueur ou de variations saisonnières de sensibilité; on peut confirmer le fait en vérifiant si le phénomène apparaît également vis à vis d'un autre groupe d'insecticides. Si la nouvelle ligne de régression est beaucoup plus horizontale que la ligne de référence, ou si l'écart des CL 50 est très important, ou s'il est impossible d'obtenir des CL 90 ou des CL 100 (courbe en plateau) il s'agit très probablement d'une population résistante ou contenant quelques individus résistants (MATHIS et coll., 1959, - BUSVINE, 1960 - O. M. S., 1960).

La pente de la ligne de régression fournit à elle seule des informations précieuses. Si la population étudiée est homogène par rapport à la sensibilité à un insecticide déterminé, la pente de la ligne de régression est très forte. Si la population est hétérogène (sans que cela implique automatiquement la présence d'individus résistants) la pente est faible. Chez certaines souches résistantes, notamment chez les mouches, on observe souvent des lignes de régression à très faible pente. Cela peut expliquer par deux mécanismes se renforçant mutuellement : une plus grande variabilité entre la concentration d'insecticide disponible et la dose réellement reçue, et une plus grande variation individuelle de l'efficacité du mécanisme de détoxification (HEWLETT, 1958).

Dans la figure 3 nous présentons, à titre d'illustration, quelques lignes de régression correspondant à des populations

- (I) - On entend par écart faible, un écart qui ne dépasse pas 2 à 3 fois la CL 50 initiale lorsqu'il s'agit d'essais avec des solutions huileuses ou 10 fois avec des suspensions aqueuses.

de C.p. fatigans d'Afrique occidentale exposées à la dieldrine, dans les conditions standard de l'O. M. S.;, sous forme de larves au quatrième stade jeune. La courbe A (à lire avec l'échelle inférieure des concentrations) correspond à une population sensible, bien qu'hétérogène dans sa réponse à la dieldrine; les courbes B et C (à lire avec l'échelle supérieure des concentrations) correspondent respectivement à une population résistante, homogène dans sa réponse à la dieldrine, et à une population résistante, hétérogène dans sa réponse à la dieldrine, avec une fraction très résistance se traduisant par la présence d'un plateau au niveau de mortalité 91%.

Lorsque c'est possible il est intéressant d'étudier simultanément les sensibilités aux insecticides chez les larves et chez les adultes. Les variations se font dans le même sens, mais l'ampleur des variations n'est généralement pas la même, bien que les mécanismes de résistance en cause soient probablement les mêmes. Pour d'ultimes vérifications on peut recourir à l'application topique d'insecticides qui permet seule de connaître exactement la dose reçue par chaque individu et rend possible les plus délicates recherches de laboratoire.

CONCLUSIONS

De nombreuses méthodes permettent d'évaluer de façon précise la sensibilité des insectes aux insecticides, en limitant au maximum les variations dues à l'insecte et aux techniques d'application de l'insecticide. Ces méthodes ne visent pas à reproduire les conditions naturelles dans lesquelles vivent les insectes auxquelles elles s'adressent, mais au contraire à être aussi constantes que possible en différents temps et lieux. Une standardisation internationale existe déjà en ce qui concerne les méthodes d'études destinées aux insectes d'importance médicale, et l'on ne peut que souhaiter la généralisation de l'emploi de telles méthodes standardisées pour l'étude des parasites des cultures et des denrées emmagasinées, le prin-

cipal espoir de surmonter les phénomènes de résistance aux insecticides résidant dans une analyse détaillée des phénomènes physicochimiques de détoxification.

Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre Mer, PARIS.

Laboratoire d'Entomologie médicale du Centre MURAZ (O. C. C. G. E.),

Bobo Dioulasso.

RESUME

Cet article est une mise au point sur deux problèmes relatifs à la mesure de la sensibilité (ou de la résistance) des insectes aux insecticides.

Tout d'abord on passe en revue les différents facteurs qui influencent les pourcentages de mortalité des insectes lors des tests biologiques destinés à déterminer la sensibilité. En dehors des phénomènes de résistance physiologique, plusieurs facteurs liés à l'insecte influencent sa sensibilité : nombre des insectes mis en expérience à chaque essai, leur sexe, leur âge, leur nourriture et leur état de réplétion, les conditions de température avant et après l'expérimentation, la saison. D'autres facteurs de variation sont liés aux techniques de mesure : concentration de l'insecticide, durée du contact insecte/toxique, durée de la mise en observation, taille des particules d'insecticide et nature du solvant.

Dans une deuxième partie, sont exposés les principes de mesure de la sensibilité; : détermination et calcul de la mortalité brute et corrigée, représentation graphique des résultats, inter-

prétation de ces résultats et détermination, s'il y a lieu de l'apparition de phénomènes de résistance.

Une bibliographie comportant plus de soixante références termine cette note.

BIBLIOGRAPHIE

- BARKER (R.J.). 1957. - DDT absorption and degradation in houseflies of varied age. J.econ.Ent., 50, 499-500
- Add. I et 2
page 28
- BOWMAN (M.C.), Acree (F.), SCHMIDT (C.H.) et BEROZA (M.) 1959. - Fate of DDT in larvicide suspensions. J.econ. Ent., 56, 1038-1042.
- BRANSBY-WILLIAMS (W.R.). 1959. - Effect of change of temperature on the susceptibility to dieldrin of adult Aedes aegypti. Bull.Org.mond.Santé, 20, 149-150.
- BROWN (A.W.A.) 1957. - Methods employed for determining insecticide resistance in mosquito larvae. Bull.Org.mond.Santé, 16, 201-204.
- BROWN (A.W.A.) 1958. - Insecticide resistance in arthropods. Org.mond.Santé, Série Monogr., 38.
- Add. 3
page 28
- BUSVINE (J.R.) 1951. - Mechanism of resistance to insecticide in house flies. Nature, 168, 193-195.
- BUSVINE (J.R.) 1957. - A critical review of the techniques for testing insecticides. Publ.Comm.Inst.Ent., London.
- Add. 4
Page 28
- BUSVINE (J.R.) 1960. - Testing for insecticide resistance. SPAN, 3, 69-72.
- BUSVINE (J.R.) & BARNES (S.). 1947. - Observations on mortality among insects exposed to dry insecticidal films Bull.ent.Res., 38, 81-90.
- BUSVINE (J.R.) & PAL (R.). 1958. - Resistance of insects to insecticides, a note on terminology. Indian J.Aal., 12, 265-267.
- DOBY (J.M.) & DEBLOCK (S.). 1957. - La sensibilité aux insecticides de synthèse. Aperçu des différents facteurs qui la conditionnent. Bull.Soc.Scient.Bretagne, 32, 128-189.
- DOBY (J.M.) DEBLOCK (S.) & GAEREMYNCK (L.). 1956. - Régime alimentaire et sensibilité des larves d'Aedes

- aegypti au DDT. Influence du taux des lipides dans l'organisme. Bull.Soc.Path.exot., 49, 56-64.
- DOBY (J.M.), GAEREMYNCK (L.) & DEBLOCK (S.). 1957. - Influence de la teneur en chlorure de sodium du gîte larvaire sur la sensibilité d'Aedes aegypti au DDT en relation avec le développement des papilles anales. Bull.Soc.Path.exot., 50, 957-970.
- DOBY (J.M.) & RAULT (B.). 1959. - Influence de la concentration en solvant intermédiaire (éthanol) dans le maintien en suspension des insecticides de synthèse (DDT) utilisés en préparations liquides. Bull.Soc.Pharm.Ouest., 4, 75-78.
- DUPORT (M.) & SANDULESCO (M.). 1958. - Sensibilité de certains anophèles au DDT et au HCH en relation avec la saison et la température. Bull.Org.mond.Santé., 19, III2-III4.
- FINNEY (D.J.). 1952. - Probit analysis : a statistical treatment of the sigmoid response curve. Seconde Ed., Cambridge Univ. Press.
- GARNHAM (P.C.C.). 1958. - Some natural protozoal parasites of mosquitoes with special reference to critidia. Trans.I.Int.Conf.Insect.Pathology and Biol.Control, Praha, 287-294.
- HADAWAY (A.B.) & BARLOW (F.). 1951. - Studies on aqueous suspensions of insecticides. Part II. Quantitative determination of weights of DDT picked up and retained. Bull.ent.Res., 42, 769-777.
- HADAWAY (A.B.) & BARLOW (F.). 1956. - Effects of age, sex and feeding on the susceptibility of mosquitoes to insecticides. Ann.trop.Med.Parasit., 50, 438-443.
- HADAWAY (A.B.) & BARLOW (F.). 1957 a. - The influence of temperature and humidity on the action of insecticides. I. During the post-treatment period. Ann.trop.Med.Parasit., 51, 187-193.
- HADAWAY (A.B.) & BARLOW (F.). 1957 b. - The influence of temperature and humidity on the action of insecticides. II. Temperature during the pre-treatment period. Ann.trop.Med.Parasit., 51, 194-200.
- HADAWAY (A.B.) & BARLOW (F.). 1958. - Some aspects of the effects of the solvent on the toxicity of solutions of insecticides. Ann.appl.Biol., 46, 133-148.
- HARRISON (M.). 1951. - DDT resistance in an Italian strain of Musca domestica L. Bull.ent.Res., 42, 761-768.

- HAWKINS (W.B.). 1956. - The joint action of DDT and ethyl alcohol upon anopheline larvae in bioassay suspensions. J.econ.Ent., 49, 433.
- H EWLETT (P.S.). 1958. - Interpretation of dosage-mortality data for DDT-resistant house flies. Ann.appl.Biol., 46, 37-46.
- HOLSTEIN (M.H.), CULLEN (J.R.) & RIVOLA (E.). 1960. - Variations saisonnières de la susceptibilité d'Anopheles gambiae à la dieldrine. WHO/Mal/269, Genève.
- HOSKINS (W.M.) & GORDON (H.T.). 1956. - Arthropod resistance to chemicals. Annu.Rev.Ent., I, 89-122.
- Add. 5
Page 28
- JONES (J.C.). 1957. - A new standard for the rapid detection of DDT tolerance on Anopheles quadrimaculatus larvae and pupae. Mosquito News, 17, 1-9.
- JONES (J.C.). 1960. - Some effects of dieldrin on Anopheles mosquitos. Bull.Org.mond.Santé, 20, 987-990.
- KELLER (J.C.), LABRECQUE (G.C.), CHAPMAN (H.C.) & DAVIS (A.N.). 1956. Seasonal variations in suseptibility of salt-marsh mosquito larvae to insecticides. Mosquito News, 16, 20-21.
- KOSHI (T.) & RANGANATHAN (S.K.). 1958. - Influence of relative humidity on the normal tolerance of the mosquito Culex fatigans Wied., to DDT. Indian J.Mal., 12, 589-600.
- LICHTFIELD (J.T.) & WILCOXON (F.). 1949. - A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J.Pharmacol, exp.Ther., 96, 99-113.
- MATHIS (W.), SCHOOF (H.F.) & FAY (R.W.). 1959. - Method for the field determination of susceptibility levels of adult mosquitoes. Mosquito News, 19, 247-255.
- MUIRHEAD-THOMSON (R.C.). 1957. - Laboratory studies on the reaction of Simulium larvae to insecticides. II. The reactions of Simulium damnosum larvae to DDT. Am.J. trop.Med.Hyg., 16, 926-932.
- NGUY (V.N.) & BUSVINE (J.R.). 1960. - Studies on the genetics of resistance to parathion and malathion in the housefly. Bull.Org.mond.Santé, 22, 531-542.
- O. M. S. 1960. - Insecticide resistance and control. Tenth report of the expert committee on insecticides. Wld.Hlth.Org., techn.Rep.Ser., 191.

- PAL (R.), McCAULEY (R.H.) & FAY (R.W.). 1952. - The relation between the physical forms of DDT and their biological effectiveness on water surfaces. Indian J.Mal., 6, 225.
- PARKER (A.H.). 1957 a. - The susceptibility of Aedes aegypti larvae of different ages to DDT and dieldrin. Ann.trop. Med.Parasit., 51, 201-215.
- PARKER (A.H.). 1957 b. - The effects of acetone concentration and larval density on the mortality of Aedes aegypti larvae exposed to DDT and dieldrin. Ann.trop. Med.Parasit., 51, 368-373.
- PRADHAN (S.). 1949 a. - Studies on the toxicity of insecticide films. I. Preliminary investigations on concentration-time-mortality relation. Bull.ent.Res., 40, 1-25.
- PRADHAN (S.). 1949 b. - Studies on the toxicity of insecticide films. II. Effect of temperature on the toxicity of DDT films. Bull.ent.Res., 40, 239-265.
- PRADHAN (S.). 1949 c. - Studies on the toxicity of insecticide films. III. Effect relative humidity on the toxicity of DDT films. Bull.ent.Res., 40, 431-444.
- RAFFAELE (G.) & COLUZZI (M.). 1957 a. - Ricerche sul problema della resistenza degli anofeli agli insetticidi. Nota I. Alcune osservazioni sulle modalita di attuazione del metodo di BUSVINE e NASH. Riv.Malariol. 36, 157-166.
- RAFFAELE (G.) & COLUZZI (M.). 1957 b. - Ricerche sul problema della resistenza degli anofeli agli insetticidi. Nota II. Su alcune variazioni della sensibilita degli anofeli al DDT. Riv.Malariol., 36, 167-176.
- RAFFAELE (G.) COLUZZI (A.) & ZULUETA (J. de). 1958. - Observations on the effect of numbers and age on the susceptibility of mosquitoes to DDT. Bull.Org.mond.Sante., 18, 464-468.
- SAUTET (J.), ALDIGHIERI (R.), ALDIGHIERI (J.) & ARNAUD (G.) 1958. - Comparaison de la sensibilité au DDT des adultes de plusieurs souches d'Aedes aegypti. Bull.Soc. Path.exot., 51, 404-412.
- SAUTET (J.) & VUILLET (F.). 1956. - Sensibilité des larves de deux souches d'Aedes aegypti aux insecticides chlorés. Bull.Soc.Path.exot., 49, 333-335.

- SCHMIDT (C.H.) & WEIDHAAS (D.E.). 1959. - Effect of varying conditions in a laboratory testing technique on the mortality of mosquito larvae. J.econ.Ent., 52, 977-979.
- SHIDRAWI (G.R.). 1957. - Laboratory tests on mosquito tolerance to insecticides and the development of resistance by Aedes aegypti. Bull.Org.mond.Santé., 17, 377-412.
- THEVASAGAYAN (E.S.). 1957. - Toxicity of some newer insecticides to larvae and pupae of Culex fatigans Wiedemann. Bull.Org.mond.Santé., 17, 413-437.
- UNGUREANU (E.). 1959. - Observations on the susceptibility of Anopheles gambiae to dieldrin assessed by topical application. Bull.Org.mond.Santé., 20, 990-994.
- UNGUREANU (E.) & UNGUREANU (L.). 1959. - Une micropipette pour l'application topique de très petites quantités d'insecticides. Bull.Org.mond.Santé., 20, 1005-1006.
- VARGAS (L.), ROMAN y CARILLO (G.) & DIAS NAJERA (A.). 1959. - Nuevas técnicas para estudiar la susceptibilidad de artrópodos a insecticidas persistentes. Rev.Inst.Salubr.Enferm.trop.(Mex.) 19, 19-65.
- WEIDHAAS (D.E.) & SCHMIDT (C.H.). 1960. - Toxicological action of DDT on three species of mosquito larvae. J.econ Ent., 53, 106-110.
- WEIDHAAS (D.E.), SCHMIDT (C.H.) & BOWMAN (M.C.). 1960; - The effects of heterogeneous dispersion and codistillation on the results of mosquito larvicide tests with DDT and other insecticides. J.econ.Ent., 53, 121-125.
- YATES (W.W.). 1950. - Comparative resistance of different instars of Aedes mosquitos to chlorinated hydrocarbon insecticides. J.econ.Ent., 43, 944-945.
- ZULUETA (J. de), JOLIVET (P.), THYMAKIS (K.) & CAPRARI (P.). 1957.- Seasonal variations in susceptibility to DDT of Anopheles maculipennis in Iran. Bull.Org.mond.Santé., 16, 475-479.
- Add. 1 & 2 pour la page 22.
- BARLOW (F.) & HADAWAY (A.B.). 1951. - Studies on aqueous suspensions of insecticides. Part II. Quantitative determination of weights of DDT picked up and retained. Bull.ent.Res., 42, 769-777.

BARLOW (F.) & HABAWAY (A.B.). 1952. - Some factors affecting the availability of contact insecticides. Bull.ent. Res., 43, 91-99.

Add. 3 pour la page 22

BUSVIBE (J.R.). 1956. - Significance of insecticide resistant strains, with special reference to pests of medical importance. Bull.Org.mond.Santé., 15, 389-401.

Add. 4 pour la page 22

BUSVINE (J.R.). 1958. - Insecticide resistance in bed-bugs. Bull. Org.mond.Santé., 19, 1041-1052.

Add. 5 pour la page 24

JOHNSON (A.N.). 1949. - Studies on the action of DDT on anopheline mosquitoes and house flies. Bull.ent.Res., 40, 447-452.

TABLEAU I.

Mortalités enregistrées chez des larves 4ème stade jeune de C.p. fatigans après 24 heures d'exposition à une solution de malathion (méthode O. M. S.).

Concentration de malathion en parties par million	Mortalité cumulée %	Mortalité différentielle %
0,004	0	0
0,010	1	1
0,015	6	5
0,020	16	10
0,030	52	36
0,040	76	24
0,055	92	18
0,070	98	6
0,100	100	2
0,250	100	0

TEXTE DES ILLUSTRATIONS

- Figure 1. Représentation graphique sur du papier semilogarithmique de la mortalité des larves 4ème stade jeune de C.p.fatigans en fonction de la concentration en malathion, ligne de régression mortalité/concentration
- A. Mortalités différentielles : La se rapproche d'une courbe de GAUSS.
ligne de régression mortalité/concentration
- B. Mortalités cumulées : la est une sigmoïde.
- Figure 2. Représentation graphique sur du papier gaussien-logarithmique des mortalités cumulées des larves 4ème stade jeune de C.p.fatigans en fonction de la concentration en malathion. La ligne de régression mortalité/concentration est une droite.
- Figure 3. Lignes de régression, sur du papier gaussien-logarithmique, de diverses populations de C.p.fatigans exposées à la dieldrine sous forme de jeunes larves 4ème stade.
- A. population sensible, quoique assez hétérogène dans sa réponse à la dieldrine, provenant de Karankasso (Haute-Volta) (échelle inférieure de concentrations).
- B. Population résistante, homogène dans sa réponse à la dieldrine, provenant de Man (Côte d'Ivoire) (échelle supérieure de concentrations).
- C. Population résistante, hétérogène dans sa réponse à la dieldrine, la présence d'une fraction très résistante se traduisant par la présence d'un plateau au niveau de mortalité 91% provenant de Bouaké (Côte d'Ivoire) (échelle supérieure de concentrations).





