



DOSES DISCRIMINATIVES POUR LA RESISTANCE
D'Aedes aegypti AUX INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES
ET ETUDE DE QUELQUES ELEMENTS SUSCEPTIBLES DE
MODIFIER LES RESULTATS DES TESTS

par

Mouchet, J.,¹ Dejardin, A.,² Barathe, J.,³ Sannier, C.³ et Sales, S.³

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 & Abedi (1960) réussirent par sélection à augmenter les CL₅₀ au 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 pluri-factorielle (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 fenthion. 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 souches; 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 des 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 globale⁴ 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.

¹ Entomologiste médical ORSTOM.

² Biométricien ORSTOM.

³ Techniciennes d'entomologie médicale de l'ORSTOM.

⁴ Ce programme a bénéficié de 1965 à 1968 d'une subvention de l'OMS, service Biologie et Contrôle des vecteurs.

The issue of this document does not constitute formal publication. It should not be reviewed, abstracted or quoted without the agreement of the World Health Organization. Authors alone are responsible for views expressed in signed articles.

13 FEVR 1975
Ce document ne constitue pas une publication. Il ne doit faire l'objet d'aucun compte rendu ou résumé ni d'aucune citation sans l'autorisation de l'Organisation Mondiale de la Santé. Les opinions exprimées dans les articles signés n'engagent que leurs auteurs. Collection de Référence

7367 Eul. Ped.

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 CL_{50} et à 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 CL_{50} 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 CL_{50} pour les différents insecticides.

La loi de distribution des CL_{50} est la lognormalité.¹ 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. CL_{50} . 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 CL_{50} du 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, une chance sur 100 de trouver une souche d'Aedes aegypti sensible au Dursban dont la CL_{50} 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 CL_{50} 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 CL_{50} est comprise entre les deux limites $P = 10^{-2}$ et $P = 10^{-5}$ et comme résistantes celles dont la CL_{50} 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 :

	CL_{50}		
	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	$0,03 < CL_{50} < 0,27$	$0,30 < CL_{50} < 0,69$	$CL_{50} > 0,69$

¹ Nous tenons à remercier Madame Schwartz, technicienne du service de Biométrie de l'ORSTOM, qui a exécuté une grande partie des calculs.

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 devrait être prise en considération comme un signe d'apparition de la résistance.

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 auraient pu faire croire à une très forte résistance de l'ordre de 50 fois. Les deux souches testées à nouveau en France avec de l'eau distillée et le même lot d'insecticide 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 de 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 organophosphorés.

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 de résistance refaire les tests avec des solutions fraîches.

CONCLUSIONS ET RESUME

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 CL_{50} . On pourrait alors croire à tort à l'apparition de résistance.

Summary

The authors have made an attempt to give diagnostic dosages for susceptibility or resistance of Aedes aegypti to organo-phosphorus insecticides. After statistical analysis of the 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 organo-phosphorus compounds, namely : malathion, fenthion, Abate, bromophos, Dursban and fenitrothion.

On the other hand, they noticed that using tap water treated with calcium hypochloride for susceptibility tests resulted in oxydation of fenthion. As a result the LC_{50} increased by hundred fold and one could arrive at the wrong conclusions regarding fenthion resistance.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 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. & 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. & Winton, M. Y. (1963) Chemical and biological behaviour of fenthion residues, Bull. Org. mond. Santé, 29, 219-226
- Mouchet, J. (1968) Résistance des Culicidés aux insecticides, Cah. ORSTOM, Sér. Ent. Méd., 6, (3-4), 225-235
- Mouchet, J., Barathe, J. & Sannier, C. (1969) Sensibilité d'Ae. aegypti aux insecticides organophosphorés, Doc. ronéot. OMS, WHO/VBC/69.137

TABLEAU 1. REPARTITION DES CL₅₀ ET CL₁₀₀ AU MALATHION DE 196 SOUCHES D'Aedes Aegypti
INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS

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	26,00	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	99,00		
0,23	1	195	99,50		
0,27	1	196	100		

Limites observées : 0,03 et 0,27
 Coefficient de variation : 9
 Moyenne retransformée corrigée : 0,10
 Ecart type : 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. REPARTITION DES CL₅₀ ET CL₁₀₀ AU BROMOPHOS DE 172 SOUCHES D'AEDES AEGYPTI
INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS

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 CL₅₀ : 0,014
 Ecart type : 0,4157
 Limites de tolérance retransformées corrigées (γ = 0,95)
 P = 10⁻² (souches tolérantes ou intermédiaires) en ppm : 0,041
 P = 10⁻⁵ (souches résistantes) en ppm : 0,098.

TABEAU 3. REPARTITION DES CL₅₀ ET CL₁₀₀ AU FENITROTHION DE 170 SOUCHES D'Aedes Aegypti
INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS

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. REPARTITION DES CL_{50} et CL_{100} AU FENTHION DE 206 SOUCHES D'AEDES AEGYPTI
INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS

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	83,00		
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	99,5		
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.

TABLEAU 5. REPARTITION DES CL₅₀ ET CL₁₀₀ A L'ABATE DE 186 SOUCHES D'AEDES AEGYPTI.
INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS

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	0,54	CL ₁₀₀ < 0,002	3
0,0009	2	3	1,60	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. REPARTITION DES CL_{50} ET CL_{100} AU DURS BAN DE 172 SOUCHES D'AEDES AEGYPTI
INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS

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 COMPOSES ORGANOPHOSPHORES

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 ⁻² (souches tolérantes ou intermédiaires) (exprimé en CL ₅₀)	P = 10 ⁻⁵ (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. CL₅₀.

HISTOGRAMME de la DISTRIBUTION des CL 50

Fig. 1

