

O.C.C.G.E. - CENTRE MURAZ
LABORATOIRE D'ENTOMOLOGIE

MISSION ENTOMOLOGIQUE
O.R.S.T.O.M. AUPRES DE L'O.C.C.G.E.

N° 78 / ENT.70 du 24.3.70

ETUDE DE LA RELATION EXISTANT, CHEZ LES MOUSTIQUES ADULTES, ENTRE LA DUREE
D'EXPOSITION A UN INSECTICIDE ET LA MORTALITE RESULTANTE

par J. HAMON^o & S. SALES⁺

Laboratoire d'Entomologie du Centre Muraz (O.C.C.G.E.),
Mission entomologique O.R.S.T.O.M. auprès de l'O.C.C.G.E.

^o Entomologiste médical de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique
Outre-Mer, B.P. 171, Bobo-Dioulasso, Haute-Volta

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

72 170 1970

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 13884/1

1. INTRODUCTION.

Lors de la détermination de la sensibilité ou de la résistance aux insecticides des arthropodes d'importance médicale l'O.M.S. a toujours recommandé d'employer un temps d'exposition à l'insecticide constant et de faire varier les concentrations employées, afin de déterminer les caractéristiques de la population de vecteur étudiée sous forme de concentrations létales 50%, 95% ou 100% (CL.50, CL.95 ou CL.100) (HAMON & MOUCHET, 1961 - ANONYME, 1963). L'O.M.S. fournissant, sur simple demande, des papiers imprégnés normalisés et l'équipement spécialisé nécessaire il était ainsi possible d'opérer de la même façon en tous lieux, les informations obtenues étant parfaitement comparables entre elles. Cette manière d'aborder le problème était simple mais se heurtait en pratique à un certain nombre de difficultés.

La sensibilité intrinsèque des différentes espèces de vecteurs aux insecticides usuels varie d'une façon considérable et la gamme des concentrations à employer est très large. Par ailleurs les populations résistantes supportent parfois des concentrations plusieurs centaines de fois plus élevées que celles constituant la CL.100 des populations sensibles. La caractérisation des populations résistantes, comme l'étude de la dynamique et du déterminisme^{génétique}/de la résistance nécessaire situaient souvent l'emploi de concentrations intermédiaires ou beaucoup plus élevées que celles existant dans les trousseaux O.M.S., amenant la fabrication artisanale de papiers imprégnés et l'emploi de solvants différents de celui utilisé par l'O.M.S. (HOSKINS, 1960 - PENNELL & HOSKINS, 1964) ou bien l'utilisation d'autres durées d'exposition à l'insecticide que celle recommandée par l'O.M.S. (DAVIDSON, 1964). Les informations obtenues n'étaient plus toujours comparables entre elles.

La situation n'était cependant pas très grave tant que l'on travaillait avec les insecticides organochlorés, DDT et dieldrine, qui sont très peu volatils et dont la stabilité chimique est excellente, les papiers imprégnés pouvant se conserver sans précaution spéciale pendant de longues périodes. Le développement de la résistance aux insecticides organochlorés (HAMON & PAL, 1968) et la tendance à l'interdiction de ces composés

jugés trop rémanents entraînent la mise au point et l'emploi de plus en plus fréquent d'insecticides appartenant à d'autres familles chimiques, principalement des organophosphates et des carbamates (ANONYME, 1968 a & b - COZ & al, 1969 - FRITZ, 1969). La généralisation de l'emploi des carbamates et des organophosphates a rendu la situation critique car les papiers imprégnés de ces insecticides se détériorent assez rapidement quelques/soient^{que} les précautions prises au cours de leur stockage (HAMON & SALES, 1963 - BRENGUES & SALES, 1967). La gamme d'insecticides à fournir devenant en même temps assez large, l'O.M.S. ne pouvait matériellement plus disposer, en permanence, d'un stock de papiers fraîchement imprégnés à toutes les concentrations susceptibles d'être requises.

Le dix-septième comité O.M.S. d'experts des insecticides a donc décidé, à la suggestion de J.R.BUSVINE, d'explorer la possibilité de caractériser la sensibilité et la résistance des vecteurs aux organophosphates et aux carbamates par les temps d'expositions létaux (TL.50, TL.95 et TL.100), en employant une concentration constante et des durées d'exposition variables. Il serait alors possible de n'employer qu'une gamme très réduite de concentrations par insecticide (probablement 2); ainsi la production et le stockage des papiers imprégnés ne poseraient plus de problème grave. Cette proposition était basée sur un certain nombre d'expérimentations récentes montrant que la relation "logarithme du temps d'exposition/probabilité de mortalité" était tout aussi linéaire que celle "logarithme de la concentration/probabilité de mortalité" sur laquelle étaient basées toutes les méthodes normalisées par l'O.M.S. (HAMON, 1963 - FRENCH & KITZMILLER, 1963 - BRENGUES, 1964 - HAMON & al., 1967 - HAMON, in ROSEN, 1967).

2. METHODES DE TRAVAIL.

Les opérations ont été conduites, dans le sud-ouest de la Haute-Volta, comme elles pourraient l'être lors d'enquêtes de routine sur le terrain. Les papiers imprégnés d'organophosphates ou de carbamate ont été fournis par l'O.M.S.. Les moustiques, à l'exception d'Aedes aegypti, étaient

des femelles à jeun, gorgées, semi-gravides et gravides capturées dans des habitations et appartenant à deux des principaux vecteurs de la région de Bobo-Dioulasso, Anopheles gambiae "A" et Culex pipiens fatigans. Les échantillons testés avaient ainsi une constitution hétérogène quant à l'âge et à l'état de réplétion, ce qui pouvait compliquer l'interprétation des résultats (HADAWAY & BARLOW, 1956 - BRANSBY-WILLIAMS & WEBLEY, 1965) mais correspondait étroitement aux conditions habituelles d'exécution des tests sur le terrain. Le matériel utilisé était celui de l'O.M.S.

Les durées d'exposition employées ont varié de 15 à 240 minutes, l'amplitude lors d'un même test ne dépassant pas 12 fois. Il a été considéré que des durées inférieures à 15 minutes risquaient de manquer de précision, les moustiques restant agités pendant un certain temps après leur introduction dans les enceintes traitées. La lecture de la mortalité a été faite uniformément 24 heures après la fin du contact avec les papiers imprégnés. Les lots témoins, mis seulement en contact avec des papiers imprégnés de solvant, ont généralement été exposés les uns pendant 60 minutes, les autres pendant la durée d'exposition la plus longue employée lors du test; une mortalité témoin moyenne fut déterminée en totalisant les deux séries de résultats.

Les résultats ont été reportés sur papier gaussien-logarithme avec détermination graphique des TL.50. Ils ont été ensuite analysés par le calculateur électronique IBM.360 de l'O.M.S. selon un programme comparable à celui utilisé pour la détermination des caractéristiques des lignes de régression "concentration/mortalité"; ont ainsi été obtenus le TL.50, avec son intervalle de confiance à 95%, le TL.95, la pente de la ligne de régression, et le facteur d'hétérogénéité.

3. RESULTATS ET DISCUSSION.

Les résultats sont résumés dans les tableaux 1 à 6, concernant respectivement Ae. aegypti et le malathion, A. gambiae "A" et le malathion, le fenthion, le Baygon et le fénitrothion, C.p. fatigans et le fénitrothion.

La pente des lignes de régression est très satisfaisante, étant comprise entre 4,60 et 8,35 selon les tests. Le facteur d'hétérogénéité est toujours faible, variant de 1 à 4,3. Ces résultats se comparent très favorablement avec ceux obtenus en employant la méthode normalisée de l'O.M.S. et des populations de moustiques sensibles à l'insecticide étudié. Ils confirment entièrement les résultats favorables déjà obtenus dans des conditions voisines en utilisant Ae.aegypti, la dieldrine et le malathion (HAMON, 1963). La suggestion faite par J.R.BUSVINE semble donc parfaitement acceptable.

Si l'on admet que la gamme des durées d'exposition employées peut atteindre sans difficulté 16 fois (de 15 à 240 minutes) on peut en déduire qu'en fournissant, pour chaque insecticide, des papiers imprégnés à deux concentrations choisies dans un rapport de 16:1 l'O.M.S. permettrait d'étudier des variations de sensibilité importante (amplitude dépassant 100 fois). La souplesse de cette nouvelle méthode serait donc supérieure à celle précédemment employée, l'amplitude des concentrations disponibles n'étant que de 40 fois pour les papiers imprégnés de DDT, de 80 fois pour ceux imprégnés de dieldrine et de 32 fois pour ceux imprégnés de fenthion ou de malathion (ANONYME, 1963).

Au lieu d'employer plusieurs lots exposés chacun pendant un laps de temps différent, on pourrait également envisager de faire une lecture périodique de la mortalité (ou plus exactement du knock-down) à l'intérieur d'un même lot soumis à une exposition continue à l'insecticide. Une telle méthode permet d'effectuer des tests avec un nombre très réduit d'individus, ce qui constitue un avantage considérable, tant pour des enquêtes de routine sur le terrain que pour les recherches de laboratoire. Elle a déjà été employée avec succès chez les larves de moustiques (FRENCH & KITZMILLER, 1963 - BRENGUES, 1964 - HAMON & al., 1967 - HAMON, in ROSEN, 1967) mais s'est avérée d'une manipulation plus délicate chez les moustiques adultes (HAMON & al., 1967), chaque lecture partielle perturbant sérieusement le comportement des survivants et le classement des individus en morts, moribonds et vivants n'étant pas toujours aisé.

4. CONCLUSIONS.

En employant des concentrations d'insecticides en nombre très limité, mais soigneusement choisies, et des temps d'exposition de durée variable, il paraît parfaitement possible de caractériser la sensibilité des moustiques adultes aux organophosphates et aux carbamates par les temps de contact létaux, TL.50, TL.95 et TL.100. Les lignes de régression "temps de contact/mortalité" peuvent être analysées graphiquement sur papier gaussien-logarithmique sans plus de difficulté que celles "concentration/mortalité" établies jusqu'à présent. L'analyse automatique des résultats par ordinateur ne semble pas avoir posé de problème particulier.

Il conviendrait maintenant d'étudier si, en employant les mêmes concentrations que celles requises pour les études sur les moustiques adultes, cette méthode est généralisable à d'autres groupes d'arthropodes d'importance médicale.

5. REMERCIEMENTS.

Tous nos remerciements vont au Service de la Biologie et du Contrôle des vecteurs de l'O.M.S. qui nous a fourni l'ensemble du matériel nécessaire à l'exécution de cette étude. Ils vont aussi à MM. R.PAL et B.GRAB qui ont étudié et résolu les problèmes posés par l'analyse automatique des résultats et n'ont négligé aucun effort pour nous adresser dans les plus brefs délais leurs commentaires et les résultats des analyses.

6. SUMMARY.

With the development of organophosphate and carbamate insecticides, W.H.O. has standardized the production of papers impregnated with some of these compounds for adult mosquito susceptibility testing. However these papers cannot be stored for very long periods without losing their characteristics and it does not appear reasonable to encourage the production of papers impregnated with a full scale of concentrations for each important O.P. and carbamate compound. Authors have investigated the possibility of

using a restricted number of concentrations by exposing mosquitoes for a variable period of time to only one insecticide concentration. The resulting "exposure time/mortality" regression lines on gauusso-logarithmic paper can be analyzed graphically in the same way as the traditional "concentration/mortality" regression lines, whereas numeric data can be analyzed through the W.H.O. computer program. Results dealing with Ae.aegypti, A.gambiae "A", C.p.fatigans and with malathion, fenthion, Baygon and fenitrothion are presented and show that this new method of measuring susceptibility to O.P. and carbamate insecticides is sound and can be recommended for routine use.

7. BIBLIOGRAPHIE.

ANONYME, 1963.- Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs.

Treizième rapport du Comité OMS d'experts des insecticides. Org.mond. Santé Sér.Rapp. techn., 265, 242 pp., Genève.

ANONYME, 1968 a.- Evaluation of insecticides for vector control, 1968. Part I.

Compounds evaluated in 1960-67. Document ronéotypé O.M.S., WHO/VBC/68.66, 201 pp., Genève.

ANONYME, 1968 b.- Evaluation of insecticides for vector control, 1968. Part II.

Problems in the evaluation of insecticides. Document ronéotypé O.M.S. WHO/VBC/68.66 a, 49 pp., Genève.

BRANSBY-WILLIAMS (W.R.) & WEBLEY (C.), 1965.- The effects of age and feeding

on the susceptibility to insecticides of adult female Anopheles gambiae, Aedes aegypti and Culex pipiens fatigans. Ann.trop.Med.Parasit., 59, 95-98.

BRENGUES (J.), 1964.- Etude de la relation existant chez les larves (quatrième

stade) d'Aedes aegypti L. entre la durée d'exposition à un insecticide et la mortalité résultante. Bull.Soc.Path.exot., 57, 339-350.

- BRENGUES (J.) & SALES (S.), 1967.- Etude de la stabilité des papiers imprégnés de solutions huileuses d'O.M.S.33 (carbamate) et d'O.M.S.43 (organophosphoré). Sensibilité à l'O.M.S.33 et à l'O.M.S.43 des femelles de différentes espèces de Culicidés africains. Cah.O.R.S.T.O.M., sér.Ent.méd., 5, (1), 21-42, Paris.
- COZ (J.), SMITH (A.), PANT (C.P.) & HAMON (J.), 1969.- Evaluation de nouveaux insecticides en Afrique tropicale. Cah.O.R.S.T.O.M., sér.Ent.méd.& Parasitol., 7, (2), 129-135.
- DAVIDSON (G.), 1964.- D.D.T.-resistance and dieldrin-resistance in Culex pipiens fatigans Wiedemann. Ann.trop.Med.Hyg., 58, 180-188.
- FRENCH (W.L.) & KITZMILLER (J.B.), 1963.- Determination of genotypes for dieldrin resistance in anopheline larvae. Proc.15th.Ann.Meet.New Jersey Mosq.Exterm.Ass., 241-250.
- FRITZ (R.F.), 1969.- Large scale field trials. Stages VI and VII. Cah.O.R.S.T.O.M., sér.Ent.méd.& Parasitol., 7, (2), 143-150.
- 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.
- HAMON (J.), 1963.- Etude de la relation existant, chez Aedes aegypti L. entre la durée d'exposition à un insecticide et la mortalité résultante. Bull.Soc.ent.France, 68, 226-233.
- HAMON (J.) & PAL (R.), 1968.- Practical implications of insecticide resistance in arthropods of medical and veterinary importance. Document ronéotypé O.M.S., WHO/VBC/68.106, 11 pp., Genève.

- HAMON (J.) & MOUCHET (J.), 1961.- La mesure de la sensibilité des insectes aux insecticides: principes et facteurs de variation. Bull.Soc.ent. France, 66, 172-188.
- HAMON (J.) & SALES (S.), 1963.- Sensibilité au malathion et au fenthion (Baytex) d'A.gambiae, A.funestus, A.rufipes, Ae.aegypti, C.p.fatigans, M.uniformis et M.africana. Etude de la stabilité des papiers imprégnés de solutions huileuses de ces insecticides. Méd.trop.(Marseille), 23, 621-635.
- HAMON (J.), SALES (S.) & SUBRA (R.), 1967.- La résistance à la dieldrine de Culex pipiens fatigans dans la ville de Bobo-Dioulasso (Haute-Volta). Méthodes d'étude et déterminisme génétique. Cah.O.R.S.T.O.M., sér.Ent. méd., 5, (4), 229-261.
- HOSKINS (W.M.), 1960.- Use of the dosage-mortality curve in quantitative estimation of insecticides resistance. Misc.Publ.Ent.Soc.America, 2, (1), 85-91.
- FENNELL (J.T.) & HOSKINS (W.M.), 1964.- The monofactorial inheritance of resistance to dieldrin in larval and adult Culex quinquefasciatus Say. Bull.Org.mond.Santé, 31, 669-677.
- ROSEN (P.), 1967.- The susceptibility of Culex pipiens fatigans larvae to insecticides in Rangoon, Burma. Bull.Org.mond.Santé, 37, 301-316.

Tableau n°1

Sensibilité au malathion de femelles à jeun d'Aedes aegypti de la souche Kongolekan (Haute-Volta) élevées au laboratoire (durée du contact variable avec des papiers imprégnés à 0,4% de malathion, lecture de la mortalité faite 24 heures après la fin du contact).

Durée du contact en minutes	Concentration %	Nombre de femelles testées	mortes	Mortalité corrigée %
60	0	51	2	} 0
240	0	50	1	
40	0,4	101	6	3
60	0,4	100	9	6
90	0,4	102	10	7
120	0,4	129	28	20
180	0,4	101	77	75
240	0,4	101	95	94

Caractéristiques calculées de la ligne de régression :

TL.50 : 153,3 (intervalle de confiance 145,3 - 161,6)

TL.95 : non déterminable sans extrapolation

pente : 8,35

hétérogénéité : 1

Tableau n°2

Sensibilité au malathion de femelles gorgées et gravides d'Anopheles gambiae "A" capturées dans le village de Pala, Haute-Volta, en Septembre 1969 (durée du contact variable avec des papiers imprégnés à 0,8% de malathion, lecture de la mortalité faite 24 heures après la fin du contact).

Durée du contact en minutes	Concentration %	Nombre de femelles testées	mortes	Mortalité corrigée %
60	0	100	4	} 0
180	0	95	0	
15	0,8	221	5	0
30	0,8	196	5	1
60	0,8	221	28	11
90	0,8	196	90	45
120	0,8	217	176	81
180	0,8	200	198	99

Caractéristiques calculées de la ligne de régression :

TL.50 : 91,7 (intervalle de confiance 88,2 - 95,1)

TL.95 : 153,8

penste : 7,32

hétérogénéité : 1

Tableau n°3

Sensibilité au fenthion de femelles gorgées et gravides d'Anopheles gambiae "A" capturées en Août 1969 dans le village de Pala, Haute-Volta (durée de contact variable avec des papiers imprégnés à 0,25% de fenthion, lecture de la mortalité faite 24 heures après la fin du contact).

Durée du contact en minutes	Concentration %	Nombre de femelles testées	mortes	Mortalité corrigée %
60	0	121	7	0
300	0	120	4	0
35	0,25	290	11	0
60	0,25	247	19	4
100	0,25	246	117	46
180	0,25	224	205	91
300	0,25	296	296	100

Caractéristiques calculées de la ligne de régression :

TL.50 : 106,3 (intervalle de confiance 101,3-111,4)

TL.95 : 141,9

penste : 5,73

hétérogénéité : 1

Tableau n°4

Sensibilité au Baygon de femelles gorgées et gravides d'Anopheles gambiae "A" capturées dans le village de Pala, Haute-Volta, en Août 1969 (durée de contact variable avec des papiers imprégnés à 0,025% de Baygon, lecture de la mortalité faite 24 heures après la fin du contact).

Durée du contact en minutes	Concentration %	Nombre de femelles testées	mortes	Mortalité corrigée %
190	0	247	6	0
40	0,025	301	27	7
60	0,025	286	79	26
90	0,025	366	280	76
130	0,025	323	294	91
190	0,025	314	309	98

Caractéristiques calculées de la ligne de régression :

TL.50 : 73,3 (intervalle de confiance 62,8 - 82,9)

TL.95 : 141,9

penste : 5,73

hétérogénéité : 4,3

Tableau n°5

Sensibilité au fénitrothion de femelles gorgées et gravides d'Anopheles gambiae "A" capturées dans le village de Pala, Haute-Volta, en Septembre 1969 (durée de contact variable avec des papiers imprégnés à 0,4% de fénitrothion, lecture de la mortalité faite 24 heures après la fin du contact).

Durée du contact en minutes	Concentration %	Nombre de femelles testées	Nombre de femelles mortes	Mortalité corrigée %
60	0	99	5	0
120	0	99	3	
15	0,4	197	10	1
25	0,4	226	31	10
40	0,4	194	90	44
60	0,4	222	167	74
90	0,4	198	175	88
120	0,4	198	196	99

Caractéristiques calculées de la ligne de régression :

TL. 50 : 44,6 (intervalle de confiance 41,8 - 47,3)

TL. 95 : 101,6

pende : 4,60

hétérogénéité : 1

Tableau n°6

Sensibilité au fénitrothion de femelles gravides de Culex pipiens fatigans capturées dans la ville de Bobo-Dioulasso, Haute-Volta, et testées 24 heures après leur capture, en Janvier 1970 (durée du contact variable avec des papiers imprégnés à 0,4% de fénitrothion, lecture de la mortalité faite 24 heures après la fin du contact).

Durée du contact en minutes	Concentration %	Nombre de femelles testées	femelles mortes	Mortalité corrigée %
60	0	50	2	0
240	0	51	2	
40	0,4	100	2	0
60	0,4	101	22	19
90	0,4	100	49	47
120	0,4	100	66	65
180	0,4	102	100	98
240	0,4	101	101	100

Caractéristiques calculées de la ligne de régression :

TL.50 : 92,8 (intervalle de confiance 76,8 - 107,2)

TL.95 : 177,5

penste : 5,84

hétérogénéité : 2,7