



DOSES DIAGNOSTIQUES DE LA RESISTANCE D'Aedes Aegypti  
AUX INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

par  
M. Coosemans, J. Mouchet, J. Dejardin, J. Barathe et C. Sannier  
Centre Muraz, B.P. 153, Bobo Dioulasso, Haute-Volta

INTRODUCTION ET METHODOLOGIE

La résistance d'Aedes aegypti aux insecticides organophosphorés a fait l'objet de révisions d'ensemble de Mouchet et al. (1969, 1971 et 1976) ainsi que de Brown et Pal (1971). Il est difficile de déterminer si les baisses de sensibilité observées sur le terrain signent une résistance génétiquement déterminée ou ne sont que les manifestations extrêmes d'une tolérance de vigueur. On peut en effet obtenir au laboratoire un abaissement de la sensibilité en soumettant une population à la pression sélective d'un composé organophosphoré; cette sélection diminue également la sensibilité de la souche vis-à-vis des autres composés du même groupe (Ziv et al., 1969). Cependant, le phénomène reste d'une ampleur limitée et en l'absence de pression sélective la souche recouvre une sensibilité normale.

Il est donc pratiquement impossible de déterminer directement d'après les données du terrain et du laboratoire les paramètres qui permettraient de caractériser une souche d'Aedes aegypti résistante aux insecticides organophosphorés. Il serait pourtant indispensable de les connaître car il est extrêmement probable que de telles résistances apparaîtront (ou ont même peut-être apparu) avec la généralisation de l'emploi de ces composés en agriculture aussi bien qu'en santé publique.

Aussi, en 1972, Mouchet et al. ont-ils essayé de déterminer par un calcul de probabilité les CL<sub>50</sub><sup>1</sup> qui caractériseraient les souches résistantes à l'un des six composés étudiés : chlorpyrifos (= Dursban®), téméphos (Abate®), fenthion, fénitrothion, bromophos et malathion. Pour chaque composé, ils ont analysé les résultats des tests larvaires exécutés suivant la méthode préconisée par l'OMS sur plus de 170 souches provenant de tous les continents; ils ont constaté que les CL<sub>50</sub> d'un insecticide donné se répartissaient suivant une distribution log-normale d'assez grande dispersion : il est donc possible de trouver certaines concentrations assez élevées sans qu'il y ait pour autant résistance. C'est ainsi par exemple que la CL<sub>50</sub> de téméphos varie de 0,0007 ppm à 0,0045 ppm suivant les souches (soit de 1 à 6, 7) avec une moyenne de 0,0023. A partir de la moyenne des CL<sub>50</sub> et de l'écart-type ont été déterminées la valeur de la CL<sub>50</sub> au-delà de laquelle il y a moins d'une chance sur 100 pour que la souche soit normale et la valeur de la CL<sub>50</sub> au-delà de laquelle il y a moins d'une chance sur 100 000 pour que la souche soit normale. Les auteurs avaient admis que les souches qui avaient moins d'une chance sur 100 d'être normales pouvaient être considérées comme tolérantes ou intermédiaires alors que celles ayant moins d'une chance sur 100 000 d'être normales devaient être classées comme résistantes. Ils pensaient que ces CL<sub>50</sub> limites pouvaient être considérées comme des doses diagnostiques.

En fait, il apparaît que la CL<sub>50</sub> n'est pas un bon paramètre pour établir un diagnostic de résistance. En effet, le phénomène, à ses débuts au moins, intéresse seulement une partie de la population qui peut résister à des doses élevées d'insecticides, alors que la majorité de

<sup>1</sup> CL<sub>50</sub> = Concentration létale 50, c'est-à-dire concentration qui provoque la mort de 50 % des individus en conditions expérimentales. La CL<sub>95</sub> provoque la mort de 95 % des individus.

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.

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. O.P.S. I.U.M. revues documentaire

N° : 28694

Cpte : B

la population est peu affectée. D'où il résulte une faible modification de la CL<sub>50</sub> mais un accroissement considérable de la CL<sub>95</sub>. Ce dernier paramètre paraît donc plus sensible que la CL<sub>50</sub>.

TABLEAU 1. REPARTITION DES CL<sub>95</sub>\* AU CHLORPYRIFOS (= DURSBAN)  
DE 214 SOUCHES D'AEDES AEGYPTI

Interprétation statistique des résultats

Limites de classe*	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées %
0,0008-0,00119	10	10	4,67
0,0012-0,00179	47	57	26,64
0,0018-0,00269	109	166	77,57
0,0027-0,00390	37	203	94,86
0,0040-0,00590	10	213	99,53
0,0060-0,00890	1	214	100,00

Limites observées : 0,0008 à 0,0089.

Moyenne retransformée corrigée : 0,0023.

Ecart-type\*\* : 0,1568.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).

$P = 10^{-3}$  (souches intermédiaires) en ppm : 0,008.

$P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,012.

\* Les CL<sub>95</sub>, dans tous les tableaux, sont exprimées en ppm (parties par millions).

\*\* Les écarts-types donnés dans les tableaux de 1 à 7 sont ceux des log CL<sub>95</sub> (logarithmes décimaux).

TABLEAU 2. REPARTITION DES  $CL_{95}$  AU TEMEPHOS (= ABATE)  
DE 230 SOUCHES D'AEDES AEGYPTI

Interprétation statistique des résultats

Limites de classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées %
0,0008-0,00119	1	1	0,4
0,0012-0,00179	18	19	8,2
0,0018-0,00269	48	67	29,1
0,0027-0,00390	72	139	60,4
0,0040-0,00590	73	212	92,2
0,0060-0,00890	17	229	99,6
0,0090-0,01290	1	230	100,0

Limites observées : 0,0008 à 0,0129.

Moyenne retransformée corrigée : 0,0037.

Ecart-type : 0,1903.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).

$P = 10^{-3}$  (souches intermédiaires) en ppm : 0,016.

$P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,028.

TABEAU 3. REPARTITION DES CL<sub>95</sub> AU FENTHION  
DE 250 SOUCHES D'AEDES AEGYPTI

Interprétation statistique des résultats

Limites de classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées %
0,0018-0,00269	2	2	0,8
0,0027-0,00390	23	25	10,0
0,0040-0,00590	74	99	39,6
0,0060-0,00890	68	167	66,8
0,0090-0,01290	53	220	88,0
0,0013-0,01900	27	247	98,8
0,0200-0,02900	1	248	99,2
0,0300-0,04490	2	250	100,0

Limites observées : 0,0018 à 0,0449.

Moyenne retransformée corrigée : 0,0081.

Ecart-type : 0,2150.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).

$P = 10^{-3}$  (souches tolérantes ou intermédiaires) en ppm : 0,045.

$P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,08.

TABLEAU 4. REPARTITION DES CL<sub>95</sub> AU FENITROTHION  
DE 213 SOUCHES D'AEDÈS AEGYPTI

Interprétation statistique des résultats

Limites de classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées %
0,0027-0,0039	1	1	0,5
0,0040-0,0059	1	2	0,9
0,0060-0,0089	18	20	9,4
0,0090-0,0129	83	103	48,4
0,013-0,0190	78	181	85,0
0,0200-0,0290	25	206	96,7
0,0300-0,0449	6	212	99,5
0,0450-0,0649	1	213	100,0

Limites observées : 0,0027 à 0,0649.

Moyenne rétransformée corrigée : 0,0147.

Ecart-type : 0,1694.

Limites de tolérance rétransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).

$P = 10^{-3}$  (souches intermédiaires) en ppm : 0,055.

$P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,09.

TABLEAU 5. REPARTITION DES  $CL_{95}$  AU METHYLCHLORPYRIFOS (= METHYL-DURSBAN)  
DE 52 SOUCHES D'AEDES AEGYPTI

Interprétation statistique des résultats

Limites de classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées %
0,0001-0,00079	1	1	1,9
0,0008-0,00119	1	2	3,8
0,0012-0,00179	5	7	13,5
0,0018-0,00269	13	20	38,5
0,0027-0,00390	14	34	65,4
0,0040-0,00590	7	41	78,8
0,0060-0,00890	5	46	88,5
0,0090-0,01290	1	47	90,4
0,0130-0,01900	4	51	98,1
0,0200-0,02900	1	52	100,0

Limites observées : 0,0001 à 0,029.

Moyenne retransformée corrigée : 0,0048.

Ecart-type : 0,3550.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).

$P = 10^{-3}$  (souches intermédiaires) en ppm : 0,1.

$P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 0,3.

TABLEAU 6. REPARTITION DES CL<sub>95</sub> AU MALATHION  
DE 234 SOUCHES D'Aedes Aegypti

Interprétation statistique des résultats

Limites de classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées %
0,045-0,0649	2	2	0,9
0,065-0,0949	9	11	4,7
0,095-0,0149	27	38	16,2
0,150-0,1900	78	116	49,6
0,200-0,2900	95	211	90,2
0,300-0,4490	12	223	95,3
0,450-0,6900	8	231	98,7
0,700-0,9900	2	233	99,6
1,000-1,4900	1	234	100,0

Limites observées : 0,045 à 1,49.

Moyenne retransformée corrigée : 0,2196.

Ecart-type : 0,1881.

Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ ).

$P = 10^{-3}$  (souches intermédiaires) en ppm : 0,95.

$P = 10^{-5}$  (souches résistantes) en ppm : 1,6.

Dans le présent travail, nous avons étudié sur plus de 200 souches non résistantes d'Aedes aegypti les variations des CL<sub>95</sub> des cinq insecticides chlorpyrifos, téméphos, fenthion, fénitrothion et malathion. Par un calcul de probabilités, nous avons déterminé les valeurs de ces CL<sub>95</sub> au-delà desquelles les souches devront être considérées comme suspectes ou résistantes; les variations de la CL<sub>95</sub> d'un sixième insecticide, le méthylchlorpyrifos, n'ont été étudiées que sur 50 souches.

VARIATIONS DE LA CL<sub>95</sub> ET ETABLISSEMENT DES LIMITES DE TOLERANCE POUR LES DIFFERENTS INSECTICIDES

Les CL<sub>95</sub> de chaque insecticide, obtenues en testant de 50 à 250 souches d'Aedes aegypti, ont été groupées en classes dont l'intervalle croît en progression géométrique. D'après les résultats tabulés dans les tableaux 1 à 6 et dont les histogrammes sont représentés à la figure 1, il apparaît que les CL<sub>95</sub> pour chaque insecticide se répartissent suivant une loi-log normale. A partir de ces données, nous avons calculé la moyenne et les deux limites de tolérance à  $P = 10^{-3}$  et  $P = 10^{-5}$  des six populations des log CL<sub>95</sub>; les résultats sont regroupés au tableau 7.

TABLEAU 7. LIMITES OBSERVEES DES CL<sub>95</sub> ET LIMITES DE TOLERANCE POUR LES SIX COMPOSES ORGANOPHOSPHORES ETUDIES

Produit	Effectif	Limites des CL <sub>95</sub> observées	Moyenne retransformée corrigée des CL <sub>95</sub>	Ecart-type	Limites de tolérance retransformées corrigées ( $\gamma = 0,95$ )	
					P = 10 <sup>-3</sup> (souches intermédiaires) (exprimé en CL <sub>95</sub> )	P = 10 <sup>-5</sup> (souches résistantes) (exprimé en CL <sub>95</sub> )
Chlorpyrifos	214	0,0008 à 0,0089	0,0023	0,1568	0,008	0,012
Téméphos	230	0,0008 à 0,0129	0,0037	0,1903	0,016	0,028
Fenthion	250	0,0018 à 0,0449	0,0081	0,2150	0,045	0,080
Fénitrothion	213	0,0027 à 0,0649	0,0147	0,1694	0,055	0,090
Méthyl-chlorpyrifos	52	0,0001 à 0,0290	0,0048	0,3550	0,1	0,3
Malathion	234	0,045 à 1,490	0,2196	0,1881	0,95	1,6



TABLEAU 8. CLASSIFICATION DES SOUCHES D'Aedes Aegypti SUIVANT LEUR CL<sub>95</sub>

Doses diagnostiques

Insecticides	CL <sub>95</sub> caractéristiques des souches sensibles (exprimées en ppm)	CL <sub>95</sub> caractéristiques des souches intermédiaires (exprimées en ppm)	Doses diagnostiques proposées en ppm	CL <sub>95</sub> caractéristiques des souches résistantes (exprimées en ppm)	Doses diagnostiques proposées en ppm
Chlorpyrifos	CL <sub>95</sub> < 0,008	0,008 < CL <sub>95</sub> < 0,012	0,010	CL <sub>95</sub> > 0,012	0,015
Téméphos	CL <sub>95</sub> < 0,016	0,016 < CL <sub>95</sub> < 0,028	0,020	CL <sub>95</sub> > 0,028	0,030
Fenthion	CL <sub>95</sub> < 0,045	0,045 < CL <sub>95</sub> < 0,080	0,050	CL <sub>95</sub> > 0,080	0,100
Fénitrothion	CL <sub>95</sub> < 0,055	0,055 < CL <sub>95</sub> < 0,090	0,060	CL <sub>95</sub> > 0,090	0,100
Méthyl-chlorpyrifos	CL <sub>95</sub> < 0,100	0,1 < CL <sub>95</sub> < 0,300	0,100	CL <sub>95</sub> > 0,300	0,300
Malathion	CL <sub>95</sub> < 0,950	0,95 < CL <sub>95</sub> < 1,600	1,000	CL <sub>95</sub> > 1,600	2,000

Au sens statistique, une limite de tolérance est une limite qui laisse au-dessus d'elle une certaine proportion P de la population avec une quasi-certitude donnée,  $\gamma = 95\%$  dans notre cas. Par exemple, la valeur 0,008 lue à la ligne 1 de la colonne 6 du tableau 7 est la valeur de la  $CL_{95}$  au chlorpyrifos qui ne laisse au-dessous d'elle qu'un pour mille ( $P = 10^{-3}$ ) de souches sensibles, affirmation faite à la quasi-certitude 0,95. Ceci peut se traduire par : il existe, au plus, 1 chance sur 1000 de trouver une souche d'Aedes aegypti sensible au chlorpyrifos dont la  $CL_{95}$  soit supérieure à 0,008 ppm, affirmation faite, non pas avec la certitude absolue ( $\gamma = 1$ ), mais avec la quasi-certitude de 0,95. De même, on aurait une chance sur 100 000 ( $P = 10^{-5}$ ) de trouver une souche sensible au chlorpyrifos dont la  $CL_{95}$  soit supérieure à la valeur 0,012 ppm lue toujours à la ligne 1 du même tableau mais à la colonne 7.

#### INTERPRETATION DES RESULTATS - PROPOSITION DE DOSES DIAGNOSTIQUES

Nous pouvons considérer que les souches dont les  $CL_{95}$  se situent au-delà de la limite de tolérance  $P = 10^{-5}$  sont résistantes au produit considéré. Lorsque cette  $CL_{95}$  se situe entre les limites  $P = 10^{-3}$  et  $P = 10^{-5}$ , la souche doit être considérée comme ne présentant plus une sensibilité normale et, de ce fait, fortement suspecte de résistance. Le tableau 8 fournit d'ailleurs une classification des souches suivant leur  $CL_{95}$ .

L'établissement des doses diagnostiques a pour but de simplifier le travail des techniciens sur le terrain en leur permettant de détecter une résistance ou d'en avoir une forte présomption en exécutant seulement 1 ou 2 tests : la mise au point de ces techniques simplifiées avait été fortement souhaitée par le Comité OMS d'experts de la Résistance aux Pesticides des vecteurs et réservoirs de maladies (1976).

Si l'on ne doit exécuter qu'un seul test, il conviendrait d'utiliser une concentration très voisine de la limite de tolérance  $P = 10^{-3}$ . S'il y avait plus de 5 % de larves survivantes à cette concentration, il conviendrait de faire une étude plus complète de la souche et notamment de la tester à des concentrations plus élevées.

L'exécution d'un deuxième test à une concentration plus élevée proche de la limite de tolérance  $P = 10^{-5}$  permettrait d'emblée de mieux situer le statut de la souche. La présence de plus de 5 % de larves survivantes signerait une quasi-certitude de résistance.

Les doses diagnostiques proposées pour chaque insecticide figurent au tableau 8. Elles sont un peu supérieures aux limites de tolérance, ayant été arrondies à la dizaine supérieure pour faciliter la confection des solutions.

#### CONCLUSIONS

La nécessité d'intervention rapide pour juguler certaines épidémies virales, de dengue notamment, exige une bonne connaissance de la sensibilité d'Aedes aegypti au produit dont l'utilisation est envisagée. Actuellement, ce type d'information n'est disponible que dans un nombre très limité de situations. L'utilisation de doses diagnostiques, en simplifiant l'exécution des tests, devrait permettre d'exercer une surveillance beaucoup plus sévère de la résistance de ce moustique aux insecticides, notamment aux composés organophosphorés qui sont les plus utilisés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anonyme (1976) Résistance aux pesticides des vecteurs et réservoirs de maladies. 22ème Rapp. Comité OMS d'experts des Insecticides, Sér. Rapp. techn. N° 585, OMS, Genève, 1976
- Brown, A. W. A. & Pal, R. (1971) La résistance aux insecticides chez les arthropodes, Sér. Monogr. OMS, N° 38, Genève
- Mouchet, J., Barathe, J. & Sannier, C. (1969) Sensibilité d'Aedes aegypti aux insecticides organophosphorés. Doc. ronéot. OMS, WHO/VBC/69.137
- Mouchet, J., Pichon, G., Gayral, P. & Hamon, J. (1971) Sensibilité et résistance aux insecticides d'Aedes aegypti en Afrique de l'Ouest et méthodes de contrôle de ce vecteur, Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. Parasitol., 45, 394-404
- Mouchet, J., Dejardin, J., Barathe, J., Sannier, C. & Sales, S. (1972) Doses discriminatives pour la résistance d'Aedes aegypti aux insecticides organophosphorés et étude de quelques éléments susceptibles de modifier les résultats des tests, Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. Parasitol., 10 (1), 77-83
- Mouchet, J. & Quiroga, M. (1976) La résistance aux insecticides chez les Culicidés, Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. Parasitol., 14 (2), 111-123
- Ziv, M., Brown, N. J. & Brown, A. W. A. (1969) Résistance potentialities of Aedes aegypti and Culex fatigans to organophosphorus and other insecticides. Doc. ronéot. OMS, WHO/VBC/69.148

RESUME

DOSES DIAGNOSTIQUES DE LA RESISTANCE D'AEDES AEGYPTI AUX INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

L'étude de la sensibilité à six insecticides organophosphorés (malathion, fénitrothion, fenthion, téméphos, chlorpyrifos et méthylchlorpyrifos) sur plus de 200 souches d'Aedes aegypti provenant de tous les continents a permis d'apprécier la variabilité des paramètres caractéristiques du phénomène :  $CL_{50}$  (concentration d'insecticide létale pour 50 pour cent des individus en expérience) et  $CL_{95}$ .

Par le calcul des probabilités, il a été possible de déterminer à la quasi-certitude de 95 % des valeurs de cette  $CL_{95}$  au-delà desquelles la souche a moins d'une chance sur mille et d'une chance sur cent mille de posséder une sensibilité normale.

Les auteurs proposent deux valeurs comme doses diagnostiques de la résistance des larves d'Aedes aegypti aux insecticides étudiés. Plus de 5 % de survivants à la concentration la plus basse indiquerait que la souche n'a plus une sensibilité normale et doit faire l'objet d'études plus approfondies. Plus de 5 % de survivants à la concentration la plus élevée indiquerait une résistance.

Les valeurs diagnostiques proposées pour chaque insecticide sont :

Malathion	1,00 ppm et 2,00 ppm
Fénitrothion	0,06 ppm et 0,10 ppm
Fenthion	0,05 ppm et 0,10 ppm
Téméphos	0,02 ppm et 0,03 ppm
Chlorpyrifos	0,01 ppm et 0,015 ppm
Méthylchlorpyrifos	0,10 ppm et 0,30 ppm

## ABSTRACT

DIAGNOSTIC DOSAGES FOR RESISTANCE TO ORGANOPHOSPHORUS  
COMPOUNDS IN Aedes aegypti LARVAE

Susceptibility to six organophosphorus compounds (Malathion, Fenitrothion, Fenthion, Temephos, Chlorpyrifos and Methylchlorpyrifos) has been studied in more than 200 Aedes aegypti strains from throughout the tropics. When the LC<sub>95</sub> values (concentrations lethal for 95% of the tested larvae) were plotted together, they showed a log-normal distribution which permitted the calculation of LC<sub>95</sub> values beyond which a strain would have a probability less than 0.001 or 0.00001 of being susceptible.

For the diagnosis of O.P. resistance in Aedes aegypti larvae the authors propose the use of two dosages. Survival of less than 5% of larvae exposed to the lower concentration would indicate that the strain has a normal susceptibility but survival of more than 5% at the higher concentration would indicate a resistant strain.

Diagnostic dosages proposed for each insecticide are as follows:

Malathion	1.00 ppm and 2.00 ppm
Fenitrothion	0.06 ppm and 0.10 ppm
Fenthion	0.05 ppm and 0.10 ppm
Temephos	0.02 ppm and 0.03 ppm
Chlorpyrifos	0.01 ppm and 0.015 ppm
Methylchlorpyrifos	0.10 ppm and 0.30 ppm

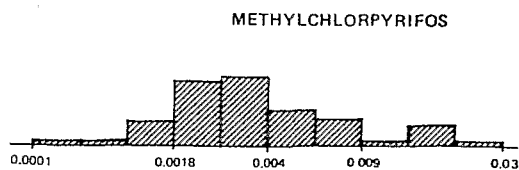
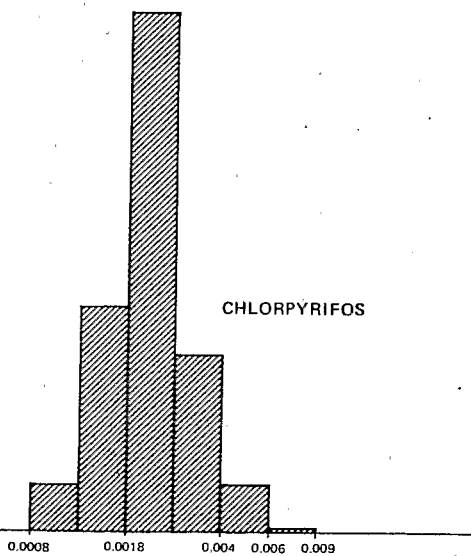
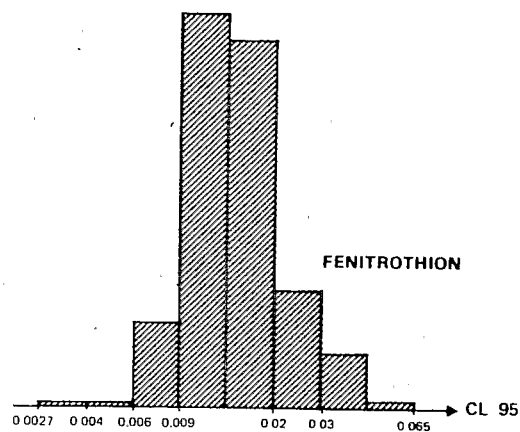
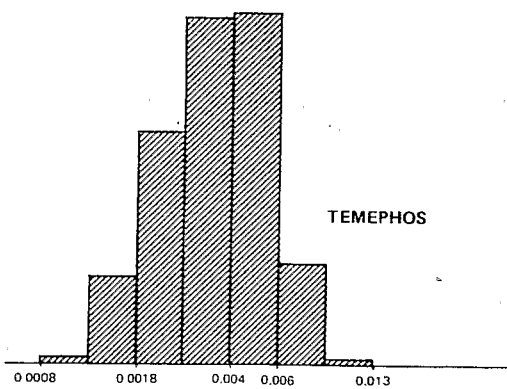
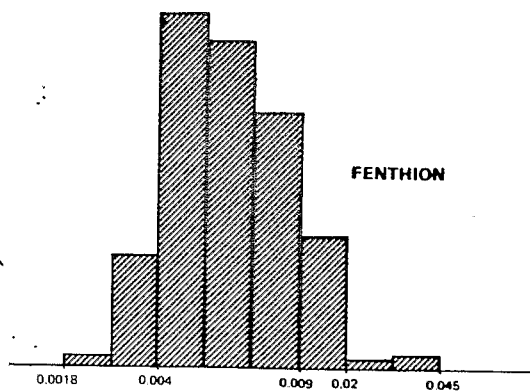
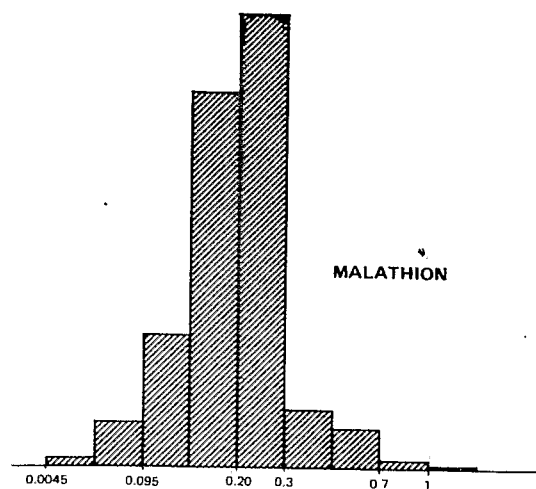


Fig. 1 Histogrammes de la distribution des CL 95

\* \* \*