

**T H E S E**

**présentée**

**A L'UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD  
CENTRE D'ORSAY**

**pour obtenir**

**LE TITRE DE DOCTEUR DE TROISIEME CYCLE  
Spécialité : Entomologie médicale**

**par**

**Mercedes QUIROGA**

**ACTION D'UN ANALOGUE DU D.D.T. (O.M.S. 1476) ET  
D'UNE BACTÉRIE (*BACILLUS SPHAERICUS*) SUR DIFFÉRENTES SOUCHES  
DE *CULICIDAE* (*DIPTERA*)**

**Soutenu le 16 janvier 1976 devant la Commission d'Examen :**

**MM. J. BERGERARD**

**Président**

**F. RAMADE**

**Examineurs**

**J. MOUCHET**

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

**PARIS**

**1976**

ACTION D'UN ANALOGUE DU DDT (OMS 1476  
ET D'UNE BACTERIE (Bacillus sphaericus)  
SUR DIFFERENTES SOUCHES DE CULICIDAE (Diptera)

par M. QUIROGA

- P L A N -

AVANT-PROPOS

1. INTRODUCTION

2. SPECTRE DE SENSIBILITE AU DDT ET A L'OMS 1476

2.1. MATERIEL ET METHODES

2.1.1. Les souches

2.1.2. Insecticides utilisés

2.1.3. Les élevages

2.1.4. Techniques de tests

A) Pour les larves

B) Pour les adultes

2.1.5. Interprétation des tests

2.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS STATISTIQUES

2.2.1. Résultats des tests

2.2.1.1. - Larves

2.2.1.2. - Adultes

A) Tests larvaires

B) Tests imaginaires

2.3. RESISTANCE DU DDT ET DE L'OMS 1476 CHEZ AEDES AEGYPTI

2.3.1. Mécanisme de la résistance au DDT

2.3.2. Interprétation biochimique de la résistance à l'OMS 1476

2.3.3. Conclusion

### 3. ACTION DES INSECTICIDES BIOLOGIQUES ALTERNATIFS

#### 3.1. PRODUITS ENVISAGEABLES

#### 3.2. ESSAIS EXPERIMENTAUX SUR BACILLUS SPHAERICUS

##### 3.2.1. Travaux antérieurs sur B. sphaericus

##### 3.2.2. Matériel et méthodes de l'expérimentation

A) Pour Aedes aegypti et Aedes albopictus

B) Pour Aedes polynesiensis

C) Pour Culex pipiens fatigans

##### 3.2.3. Résultats

##### 3.2.4. Conclusion

### 4. CONCLUSION GENERALE

### BIBLIOGRAPHIE

A V A N T - P R O P O S

Nous avons pu réaliser ce travail grâce à l'appui, l'assistance et la gentillesse de nombreuses personnes que nous tenons à remercier ici particulièrement :

- Monsieur le Directeur Général de l'O.R.S.T.O.M. qui nous a accueilli dans les S.S.C. de Bondy et nous a permis d'effectuer ce travail.
- Monsieur le Professeur BERGERARD, qui a bien voulu accepter la Direction Scientifique de notre travail et dont l'enseignement nous a beaucoup aidés.
- Monsieur J. MOUCHET, qui a su nous faire profiter énergiquement de sa riche expérience professionnelle et qui nous a grandement aidés au cours de la rédaction de ce travail.
- Monsieur le Professeur F. RAMADE qui nous a fait l'honneur de faire partie de notre Jury.
- Messieurs les Professeurs Y.D. BRIGGS et S. SINGER qui ont eu l'amabilité de nous fournir les préparations bactériennes que nous avons testées.
- Mesdames C. SANNIER et J. BARATHE qui ont mené à bien tous les élevages de moustiques et m'ont beaucoup aidé dans la réalisation des tests et la frappe de ce travail.
- Monsieur MOUREAUX, Mlle BOCQUEL, ainsi que Madame SUAVIN qui ont eu la gentillesse de déterminer le titre des quelques suspensions bactériennes que nous avons utilisées.
- Monsieur DEJARDIN qui a effectué tous les calculs statistiques présentés dans ce travail.
- Les Bibliothécaires de l'O.R.S.T.O.M. et particulièrement Mlle E. PELEGRIN pour leur aide dans les recherches bibliographiques.
- Les Dactylographe et le personnel du service d'édition qui nous ont permis de produire notre travail dans des délais très courts.
- Enfin tous mes collègues de l'équipe d'entomologie médicale avec qui j'ai eu le plaisir de travailler.

## 1. INTRODUCTION

L'utilisation massive à l'échelle mondiale d'insecticides organiques de synthèse, depuis 1945, constitue un phénomène écologique, économique et social de première importance qui s'est déroulée de façon essentiellement empirique. Les progrès de l'industrie chimique ont permis des productions massives et abaissé les prix de revient en particulier du DDT. Des dizaines de milliers de tonnes de composés, très agressifs, ont été déversés sans que les conséquences de leur emploi sur les écosystèmes aient même été envisagées. C'est seulement lorsque des effets néfastes ont été constatés que les recherches pour les expliquer ont été entreprises. Les critiques formulées à l'encontre des insecticides, certes parfaitement justifiées, ont été exposées dans un contexte passionnel qui rend difficile une appréciation objective. Quoiqu'il en soit, l'usage des insecticides reste absolument indispensable actuellement pour assurer les récoltes et maintenir la santé publique, les méthodes de lutte biologique, génétique ou écologique n'étant utilisables que dans un nombre très limité de situations. Cet état de fait, qu'il nous convienne ou non, ne se modifiera que lentement et les pesticides seront indispensables au monde dans les années à venir. Or, de très nombreuses souches d'insectes, ravageurs ou vecteurs, manifestent une résistance à un ou plusieurs groupes d'insecticides (MOUCHET et QUIROGA, 1975). Les chimistes essayent de produire des insecticides nouveaux, bon marché, non polluants et ne présentant pas de résistances croisées avec les composés existant. C'est ainsi que nous avons eu à étudier un analogue biodégradable du DDT : l'OMS 1476, envisagé comme produit de remplacement du DDT dont l'emploi a été limité voire interdit dans plusieurs pays au cours des dernières années.

Le DDT possède une stabilité moléculaire considérable. De ce fait, il persiste dans l'ensemble des écosystèmes et contamine toutes les chaînes trophiques. Actuellement le quart de tout le DDT déversé à ce jour dans la nature est entreposé dans l'hydrosphère. De plus cet insecticide se concentre électivement chez certaines espèces animales. Les oligochètes et en particulier les lombrics, peuvent l'accumuler dans leurs tissus à des concentrations de plusieurs dizaines de fois supérieures à celles qu'il atteint dans l'humus dont ils se nourrissent (DAWEY, 1963 in RAMADE 1974). La pollution de la chaîne alimentaire jusqu'au niveau de l'homme a provoqué de sérieuses inquiétudes bien qu'aucun symptôme grave d'intoxication aiguë ou chronique n'ait pu être mis en évidence. Pour assurer la protection de l'environnement et de l'homme, de nombreux pays ont soumis l'usage du DDT à des législations particulières dont

l'analyse a été faite par l'OMS. Outre son effet polluant, le DDT présente un grave inconvénient : beaucoup de souches d'insectes y sont devenues résistantes. Les recherches de ces dernières années sont orientées vers la production d'un insecticide présentant les avantages du DDT, action polyvalente en milieu aquatique, aérien et terrestre, rémanence élevée, coût très bas etc... sans en avoir les inconvénients : effet polluant et accumulation, ainsi que de très nombreuses résistances.

L'apparition du phénomène de résistance chez diverses espèces d'Arthropodes d'intérêt médical, pose un problème mondial, et en premier lieu pour la lutte contre le paludisme. C'est peut-être la maladie qui cause la plus haute morbidité dans le genre humain. Environ 400 millions des individus vivent en zone d'endémicité et au moins 100 millions de cas annuels sont à déplorer. En Afrique, seule, un million de personnes en très grande majorité des enfants, en mourraient chaque année BRUCE-CHWATT (1971). Mc CAULL (1969) rapporte, qu'après une campagne de pulvérisation de DDT et de Dieldrine pendant 4 années pour l'éradication d'Anopheles gambiae dans la zone de Thiès au Sénégal, le taux d'incidence du parasite chez les enfants de moins de 14 ans est tombé de 22% à 1%. Un an plus tard, il est remonté à 16%, suite à l'apparition de la résistance du vecteur.

A Costa Rica, en Amérique Centrale, en 1973, l'apparition de multirésistances chez Anopheles albimanus a compromis le succès de la lutte antipaludique dans les zones en phase de consolidation.

En Inde également la résistance d'Anopheles culicifacies et d'Anopheles stephensi a eu les mêmes effets dans de vastes régions peuplées de plus de 100 millions d'habitants (Relevé épidem. hebd. O.M.S. 1975).

La résistance des vecteurs pose également de sérieux problèmes pour la lutte contre la plupart des maladies transmises par les insectes. Le vecteur urbain de la fièvre jaune, Aedes aegypti, est devenu résistant aux insecticides chlorés dans une grande partie de son aire de répartition cosmopolitique. Les vagues épidémiques de cette maladie qui sévit en Amérique et en Afrique tropicale peuvent certes être évitées par la vaccination très efficace. Mais beaucoup de pays n'ont pas les moyens d'exécuter des campagnes nationales de vaccination. D'autre part, ce même moustique transmet de nombreuses autres viroses en particulier la Dengue hémorragique, contre laquelle n'existe aucun vaccin. La prévention de cette maladie passe donc par la destruction du vecteur. Or, précisément là où cette affection est la plus répandue en Asie du Sud-Est et dans le Pacifique, Aedes aegypti est résistant aux insecticides chlorés et

l'emploi de composés organophosphorés, beaucoup plus onéreux, n'est pas toujours à la portée des budgets locaux. Le virus Chikungunya en Afrique et en Asie, le virus de l'encéphalite vénézuélienne entre autres en Amérique du Sud sont également transmis par cette espèce.

Les vecteurs de la filariose de Bancroft, *Anopheles* ou Culex fatigans sont le plus souvent résistants au DDT et l'emploi d'insecticides de remplacement se heurte aux mêmes difficultés précédemment exposés.

Les puces, vecteurs de peste et les poux de corps qui transmettent les typhus, présentent également des résistances. Un tableau (1) annexe des espèces résistantes, suit ce chapitre.

La résistance aux produits organochlorés a suivi l'emploi massif de ces composés non seulement en santé, mais aussi en agriculture. Les pluies qui lessivent les récoltes entraînent les insecticides vers les collections d'eaux où se développent les larves des vecteurs. Ceux-ci sont alors soumis à de fortes pressions sélectives même si le produit n'est pas utilisé à des fins spécifiques contre eux (OMS 1975). Ce phénomène s'étend aux produits organophosphorés et aux carbamates très largement employés en agriculture. Le cas le plus frappant est celui d'Anopheles albimanus; en El Salvador il s'est révélé résistant à un carbamate le Propoxur (Baygon®) avant que celui-ci ait été utilisé en santé publique. Par contre une large gamme de carbamates et d'Organophosphorés avait été utilisée pour lutter contre les ravageurs du coton dans la même région.

L'arsenal de l'hygiéniste pour lutter contre les vecteurs se réduit donc continuellement. Pour pallier à cette situation deux solutions sont envisagées : mettre au point de nouveaux composés (QUIROGA et al. 1975) et promouvoir des méthodes alternatives de lutte. Le présent travail s'insère dans ces deux options et ses objectifs sont :

a) tester un nouveau composé, analogue biodégradable du DDT, l'OMS 1476\*, pour évaluer son action en particulier sur les souches résistantes du DDT.

b) évaluer l'activité d'un agent bactériologique Bacillus sphaericus susceptible d'être utilisé dans la lutte biologique contre les moustiques.

Les travaux ont été exécutés dans le laboratoire d'Entomologie médicale des Services Scientifiques Centraux de l'ORSTOM à Bondy; nous avons utilisé les souches d'Aedes qui y sont maintenues en permanence.

---

\* Nous remercions l'OMS qui a fourni les échantillons de ce produit et subventionné notre travail.

TABLEAU N° 1 - Répartition de la résistance des autres Arthropodes nuisibles

E S P E C E	DDT	DIELDRINE/HCH	ORGANOPHOSPHORE	E S P E C E	DDT	DIELDRINE/HCH	ORGANOPHOSPHORE
<u>Musca domestica</u>	Partout dans son aire de répartition où elle a été traitée.			<u>Leptoconops kerteszi</u>	U.S.A. (Ca.)		
<u>Stomoxys calcitrans</u>	Suède, Norvège, Allemagne, Italie			<u>Culicoides furens</u>		U.S.A. (Fl.), Panama	
<u>Phaenicia cuprina</u>		Australie	Australie	<u>Hippelates collusor</u>		U.S.A. (Ca)	
<u>Phaenicia sericata</u>		Nlle-Zélande, Afrique du sud		<u>Leptocera hirtula</u>	Malaisie	Malaisie	
<u>Chrysomya putoria</u>		Congo, Madagascar, Zanzibar	Congo	<u>Pediculus corporis</u>	Corée, Japon, Egypte, Méditerranée orientale, Iran, Turquie, Ethiopie, Afrique occid., Pérou, Chili, France, Yougoslavie, Libye, Afghanistan, Inde, Mexique, Ouganda, Soudan, Roumanie, Hongrie	France, Japon, Afrique occid., Afrique du sud, Iran, Inde, Corée, Soudan, Tanganyika	Afrique centrale, Hongrie
<u>Protophormia terrae-novae</u>	Russie d'Europe						
<u>Haematobia irritans</u>		U.S.A. (Tex.)	U.S.A. (Louis.)				
<u>Fania canicularis</u>	Espagne, Japon, Angleterre, U.S.A. (Ca.)	U.S.A. (Ca.)		<u>Pediculus capitis</u>	Angleterre, Danemark, Hongrie, Afrique du sud, U.S.A., Congo, Israël, Corée, Grèce, Japon, Italie, Iran, Guyane, Trinité, Turquie, Hongrie, Pologne, Rhodésie, Bornéo, Inde, Indonésie, Colombie, Inde, Afrique du sud, Egypte, Angleterre, Bornéo, Inde, Vietnam, Thaïlande, Egypte		
<u>F. femoralis</u>	U.S.A. (Ca.)	U.S.A. (Ca.)					
<u>Simulium aokii</u>	Japon						
<u>Simulium ornatum</u>	Japon						
<u>Simulium venustum</u>	Canada						
<u>Chironomus zealandicus</u>		Nlle Zélande		<u>Cimex lectularis</u>	U.S.A., Congo, Israël, Corée, Grèce, Japon, Italie, Iran, Guyane, Trinité, Turquie, Hongrie, Pologne, Rhodésie, Bornéo, Inde, Indonésie, Colombie, Inde, Afrique du sud, Egypte, Angleterre, Bornéo, Inde, Vietnam, Thaïlande, Egypte		
<u>Glyptotendipes paripes</u>		U.S.A. (FL.)	U.S.A. (FL.)				
<u>Chaoborus astictopus</u>	U.S.A. (Ca.)						
<u>Psychoda alternata</u>	U.S.A. (Ill.)	Angleterre					
<u>Cimex hemipterus</u>	Taiwan, Chine, Inde, Somalie, Kenya, Malaisie, Thaïlande, Madagascar	Inde, Tanzanie, Kenya, Haute-Volta, Dahomey, Zanzibar, Malaisie, Madagascar		<u>Xenopsylla cheopis</u>	Inde, Vietnam, Thaïlande, Egypte	Inde, Thaïlande	
<u>Rhodnius prolixus</u>		Vénézuéla					
<u>Triatoma maculata</u>		Vénézuéla		<u>Xenopsylla astia</u>	Inde	Inde	
<u>Pulex irritans</u>	Pérou, Equateur, Grèce, Turquie, Brésil, Palestine, Egypte	Tanzanie, Turquie, Egypte		<u>Bronchilus microplus</u>	Australie, Brésil	Australie, Brésil, Inde, Guadeloupe	Australie
<u>Amblyomma americanum</u>		U.S.A. (Okla.), Madagascar		<u>Dermacentor variabilis</u>	U.S.A. (Mass.)	U.S.A. (Mass.)	

TABLEAU N° 1 - Répartition de la résistance chez les Anophèles

ESPECE	DDT	DIELDRINE	ESPECE	DDT	DIELDRINE
<u>An. sacharovi</u>	Grèce, Yougoslavie, Albanie, Turquie, Liban, Syrie, Iran	Grèce	<u>An. quadrimaculatus</u>	U.S.A. (Maryland et Géorgie), Mexique	U.S.A. (Mississippi, Géorgie), Mexique
<u>An. maculipennis</u>	Grèce, Italie, Iran, Roumanie, Albanie	Roumanie	<u>An. albimanus</u>	El Salvador, Nicaragua, Guatemala, Honduras, Mexique, Cuba	El Salvador, Guatemala, Nicaragua, Honduras, Jamaïque, Equateur, Cuba, Mexique, Honduras, britannique, Rép. Dominicaine, Haïti, Colombie.
<u>An. maculipennis messene</u>	Roumanie, Bulgarie	Roumanie, Bulgarie			
<u>An. labranquiae</u>	Italie, Maroc	Maroc, Algérie			
<u>An. labranquiae nitroparvus</u>	Italie, Roumanie	Roumanie, Bulgarie			
<u>An. clavineri</u>	Italie ?		<u>An. pseudopunctipennis</u>		Mexique, Nicaragua, Pérou, Vénézuéla, Equateur
<u>An. superpictus</u>	Grèce, Turquie, Inde septentrionale, Pakistan occidental, Nepal, Java	Grèce, Java, Ceylan, Inde septentrionale, Pakistan occidental	<u>An. aquasalis</u>	Brésil	Trinité, Vénézuéla, Brésil
<u>An. sergenti</u>		Jordanie	<u>An. albitarsis</u>	Colombie	Colombie, Vénézuéla
<u>An. pharoensis</u>	Egypte, Somalie	Egypte, Soudan, Israël	<u>An. punctimacula</u>	Colombie	
<u>An. pulcherrimus</u>	Arabie Saoudite	Arabie Saoudite	<u>An. nunez-tovari</u>	Vénézuéla	
<u>An. coustani tenebrosus</u>	Ile Maurice, Somalie	Egypte, Arabie Saoudite	<u>An. crucians</u>	U.S.A. (Caroline du Sud)	Rép. Dominicaine
<u>An. funestus</u>	Somalie	Nigeria, Ghana, Kenya, Haute Volta, Dahomey, Mali	<u>An. splendidus</u>		Inde septentrionale
<u>An. nambiae</u>	Haute-Volta, Sénégal, Nigeria, Côte d'Ivoire, Cameroun	Nigeria, Libéria, Kenya, Côte d'Ivoire, Dahomey, Haute-volta, Cameroun, Sierra Leone, Togo, Ghana, Mali, Congo (Brazza), Soudan, Mauritanie, Madagascar	<u>An. subpictus</u>	Inde septentrionale, Pakistan occidental, Nepal, Java	Java, Ceylan, Inde septentrionale, Pakistan occidental
			<u>An. philippinensis</u>		Sabah
			<u>An. annularis</u>	Inde	Java
			<u>An. sundaicus</u>	Java, Sumatra	Java, Sumatra, Sabah
			<u>An. aconitus</u>	Java	Java, Inde
<u>An. nili</u>		Ghana	<u>An. vagus</u>	Vietnam, Inde	Java, Philippines
<u>An. rufipes</u>		Mali	<u>An. barbirostris</u>		Java
			<u>An. minimus flavirostris</u>		Philippines, Java, Ilo Madura
<u>An. stephensi</u>	Arabie Saoudite, Irak, Iran, Inde méridionale, Pakistan, Afghanistan	Iran, Irak	<u>An. filinigan</u>		Philippines
			<u>An. sinensis</u>	Ryu-Kyu	
<u>An. culicifacies</u>	Inde occidentale et méridionale, Pakistan occidental, Nepal	Inde occidentale, Nepal	<u>An. neomaculipalpis</u>		Trinité, Colombie
			<u>An. triannulatus</u>		Vénézuéla
			<u>An. strodei</u>	Brésil	Vénézuéla
			<u>An. ronnali</u>		Vénézuéla
<u>An. fluviatilis</u>	Inde occidentale	Arabie Saoudite	<u>An. grabhamii</u>	Cuba	
<u>An. rondani</u>	Brésil		<u>An. galvoni</u>	Brésil	
			<u>An. vestipennis</u>	Guatemala	

TABLEAU N° 1 - Répartition de la résistance chez les Culicidés

ESPECE	DOT	DIELDRINE/HCH	ORGANOPHOSPHORE	ESPECE	DOT	DIELDRINE/HCH	ORGANOPHOSPHORE
<u>Aedes annvoti</u>	Toute la zone américaine La plupart des pays d'Asie Tous les pays d'Afrique prospéc- tés Dans le Pacifique, Tahiti, Morea, Gambier, Nlle Calédonie, Nioué	Vénézuéla, Guyane, Jamaï- que, Porto-Rico Iles Vierges, Vietnam, Malaysia, Thaï- lande, Barbuda, Sta Lucie, Gua- deloupe, Domi- nique, St Vin- cent, Grenada, Curaçao, Domi- nicaine, El Salvador, Pana- ma, Surinam, Colombie, Ma- laysia, Congo U.S.A. (Fa), Nlle Calédonie	Vénézuéla, Guyane, Jamaï- que, Porto-Rico Iles Vierges, Vietnam, Malaysia, Thaï- lande, Barbuda, Sta Lucie, Gua- deloupe, Domi- nique, St Vin- cent, Grenada, Curaçao, Domi- nicaine, El Salvador, Pana- ma, Surinam, Colombie, Ma- laysia, Congo U.S.A. (Fa), Nlle Calédonie	<u>Aedes albopictus</u>	Inde, Japon Thaïlande, Malaysia, Indo- nésie, Vietnam, Philippines, Cambodge	Inde, Japon, Thaïlande, Malaysia, Indo- nésie, Vietnam Philippines	Vietnam, Malaysia, Mada- gascar
				<u>Aedes polynesiensis</u>	Tahiti		
				<u>Aedes vittatus</u>	Inde		
				<u>Aedes fijiensis</u>	Fidji		
				<u>Aedes pseudoscutella- ris</u>	Fidji		
				<u>Aedes nigromaculis</u>	U.S.A. (Ca.)	U.S.A. (Ca.)	U.S.A. (Ca.)
				<u>Aedes toroi</u>			Corée du Sud
				<u>Aedes malanion</u>	U.S.A. (Ca.)		U.S.A. (Ca.)
				<u>Aedes sierrensis</u>	U.S.A. (Ca.)		U.S.A. (Ca.)
<u>Aedes triseriatus</u>	U.S.A. (Virg.)			<u>Aedes taeniorhynchus</u>	U.S.A. Grand Cayman	U.S.A. Grand Cayman	U.S.A.
<u>Aedes atroaenous</u>	U.S.A. (Okla.)			<u>Aedes sollicitans</u>	U.S.A.	U.S.A.	U.S.A.
<u>Aedes cantator</u>	Canada	Canada		<u>Aedes detritus</u>	France		
<u>Aedes vexans</u>	Canada			<u>Aedes caspius</u>	Soudan		
<u>Aedes cantans</u>	R.F.A., Tchecos- lovaquie			<u>Psorophora discolor</u>		U.S.A.	
<u>Culiseta inornata</u>	U.S.A. (Ca.)	U.S.A. (Ca.)	U.S.A. (Ca.)	<u>Psorophora confinis</u>	U.S.A.	U.S.A.	
<u>Armiceres obturbans</u>	Sri Lanka	Sri Lanka	Sri Lanka	<u>Armiceres subalbatus</u>	Japon, Malaysia	Japon	Japon, Malaysia
<u>C. pipiens molestus</u>	Italie, Grèce, Israël, Maroc, France, Japon	Italie, Maroc, Israël, Japon, France	Israël	<u>C. tritaeniorhynchus</u>	Japon, Taiwan, Corée du Sud, Nigeria, Dahomey	Japon, Taiwan, Corée du Sud, Nigeria	Ile Ruy-Kyu, Corée du sud
<u>C. pipiens pipiens</u>	Turquie, Iran, Georgie, Ukraine, Azerbaïdjan, Albanie, Bulga- rie, Egypte, Russie, France, U.S.A.	France, Iran, Egypte, Maroc, Tunisie, U.S.A., Azerbaïdjan, Tchécoslovaquie	Egypte	<u>C. annulus</u>	Taiwan	Taiwan	Taiwan
				<u>C. fuscoccephalus</u>	Taiwan	Taiwan	Taiwan
				<u>C. tarsalis</u>	U.S.A. (Ca)	U.S.A. (Ca)	U.S.A. (Ca)
				<u>C. nebulosus</u>		Dahomey	
				<u>C. nocticillines</u>		Dahomey	
<u>C. pipiens pallens</u>	Japon, Corée, Chine	Japon, Corée, Chine	Japon, Corée	<u>C. salinarius</u>	U.S.A.	U.S.A.	
<u>C. pipiens fatigans</u>	Partout dans son aire de répar- tition		Cameroon, Sierra-Leone, Madagascar, Guinée, Japon, U.S.A., Taiwan, Vietnam	<u>C. coronator</u>	Panama		
				<u>C. restuans</u>	U.S.A.	U.S.A.	
				<u>C. erithrothorax</u>	U.S.A.		
				<u>C. nigripalpus</u>	U.S.A.		
<u>C. peus</u>	U.S.A.	U.S.A.	U.S.A. (Ca)				

## 2. SPECTRE DE SENSIBILITE AU DDT ET A L'OMS 1476

### 2.1. MATERIEL ET METHODES

#### 2.1.1. Les souches

Au cours de notre étude nous avons effectué des tests sur larves et adultes de 13 souches d'Aedes provenant toutes de gîtes domestiques ou péri-domestiques et ayant été plus ou moins exposés à des traitements d'insecticides.

Sur les 13 souches, onze appartiennent à l'espèce Aedes aegypti parmi lesquelles 6 proviennent d'Afrique, 2 des Antilles et 3 des Archipels de la Polynésie; une appartient à l'espèce Aedes polynesiensis et provient aussi de Polynésie, la dernière est Aedes albopictus de Madagascar.

Les localités d'origine et leurs coordonnées géographiques figurent dans le tableau 2 et figure 1.

#### 2.1.2. Insecticides utilisés

Nous avons testé deux composés organochlorés : le DDT et l'OMS 1476 fournis par l'Organisation mondiale de la Santé.

Le DDT, chlorophénothane au Zeidane (OMS 16) a été synthétisé en 1874 par Zeidler, mais ses propriétés insecticides n'ont été mises en évidence qu'en 1939 par P. MULLER dans les laboratoires de la Société Geigy. C'est en 1943 que l'armée américaine l'utilisa pour la première fois.

La chimie du DDT a été intensivement étudiée par HALLER et al. (1945) et FOREST et al. (1946) in METCALF (1955). Le DDT ou le trichloro 1,1,1 bis (p. chlorophényl) 2,2 éthane, se compose de plusieurs isomères, le pp' étant le plus actif et pratiquement le seul utilisé. Il se présente comme une poudre blanche dont le point de fusion est de 109°C. Il est insoluble dans l'eau mais soluble dans les divers solvants organiques (kérosène, acétone, chloroforme etc...) et modérément soluble dans les huiles de pétrole. La DL50 per os est de 113-300 mg/kg chez le rat. Insecticide de contact très actif, il agit aussi par ingestion, QUELENNEC (1974).

L'OMS 1476 (2 [p-éthoxyphényl] 2 [p-tolyl] 1-n-trichloéthane) substance à tester comparativement au DDT, est encore en phase d'étude. Il n'a ni code de fabrication, ni dénomination commerciale; les deux formules sont :

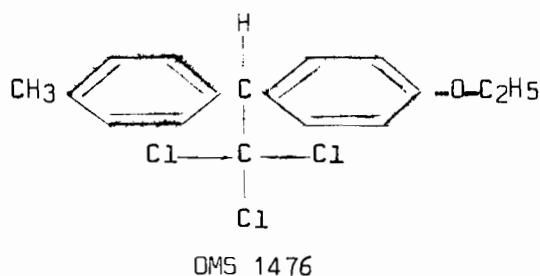
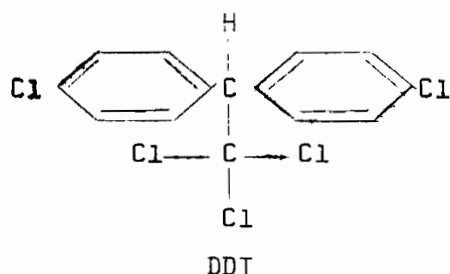
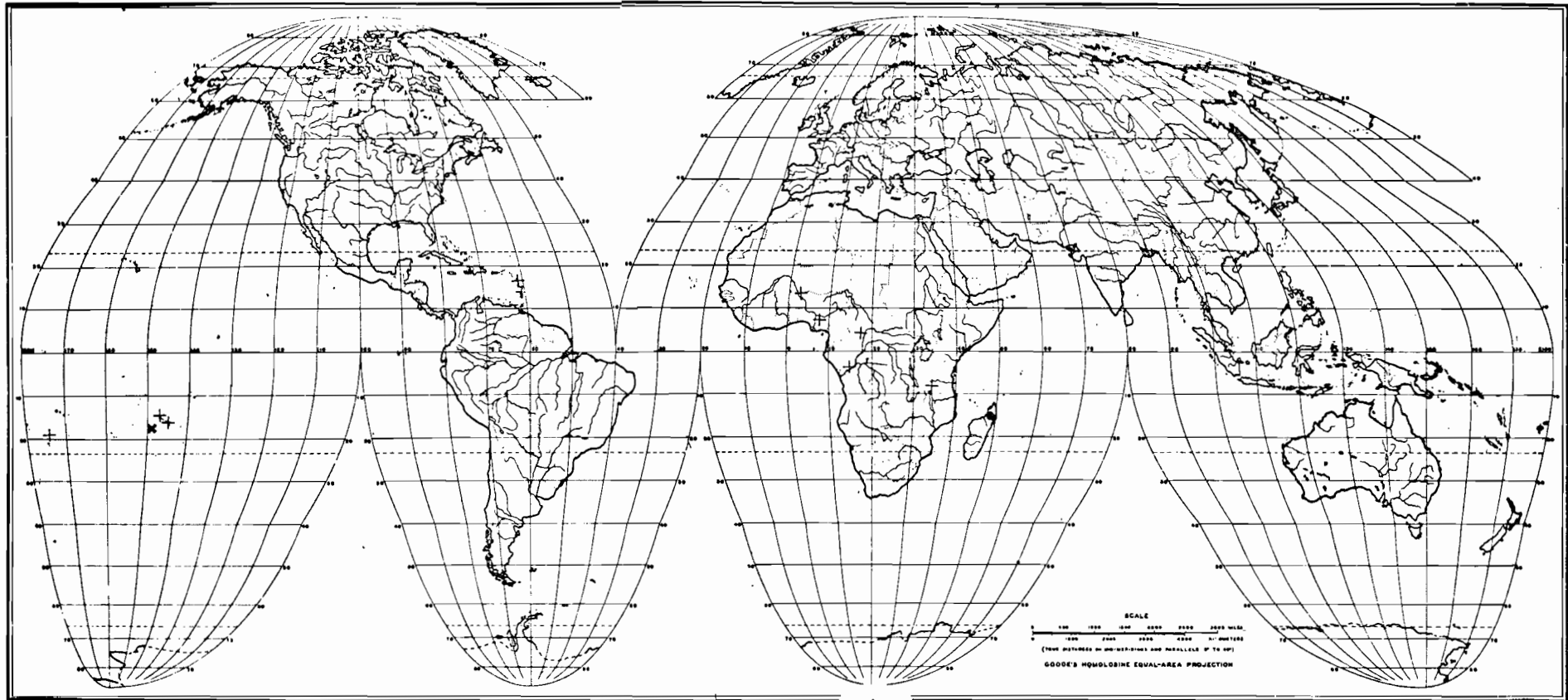


Fig. N° 1 - PROVENANCE DES SOUCHES

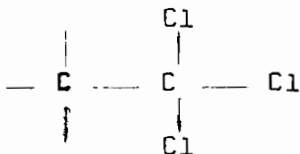


- + *Aedes aegypti*
- *Aedes albopictus*
- \* *Aedes polynesiensis*

TABLEAU N° 2 - Coordonnées géographiques des souches

Tonga (PACIFIQUE)	13° 26' S	172° 43' W
Enugu (NIGERIA)	6° 50' N	7° 50' E
Nandolo (R.C.A.)	4° 40' N	15° 48' W
Kari (HAUTE-VOLTA)	12° 13' N	3° 40' W
Moyoim (TANZANIE)	8° 43' S	34° 19' E
Brazzaville (CONGO)	4° 16' S	15° 17' E
Morea (POLYNESIE)	17° 32' S	149° 52' W
Bora Bora (POLYNESIE)	16° 30' S	151° 45' W
Brazzaville (Poto-Poto) (CONGO)	4° 16' S	15° 17' E
Sainte-Anne (MARTINIQUE)	16° 13' N	51° 23' W
Gosiers (GUADELOUPE)	16° 12' N	61° 30' W
Tahiti (POLYNESIE)	17° 41' S	149° 35' W
Tsiamalaho (MADAGASCAR)	15° 05' S	48° 20' E

On constate la présence dans les deux composés du groupement trichloroethane



### 2.1.3. Les élevages

Les souches de moustiques élevés à Bondy proviennent toutes d'œufs récoltés sur le terrain et envoyés au laboratoire sur papier filtre à sec.

L'éclosion et l'élevage des larves se font dans l'eau du robinet. La nourriture donnée aux larves est composée de biscuit de **chien** moulu et tamisé.

Les pupes, une fois triées, sont placées dans des cages d'éclosion en voile de nylon (35cm x 35cm x 50cm). Dans les cages on place un petit béccher contenant de l'eau glucosée pour l'alimentation glucidique des adultes, notamment des mâles. Les femelles sont gorgées sur cobaye au bout de 48h et ensuite tous les 8 jours.

L'ensemble de ces opérations se fait en insectarium : température 25°C, humidité relative 80%, photopériode 12/12. Dans ces conditions, la durée du cycle des Aedes (✓) → imago) varie de 8 à 10 jours selon la souche.

### 2.1.4. Techniques des tests

Les méthodes employées sont celles préconisées par l'OMS, RAPPORT TECHN. n° 443 (1970).

Le nécessaire comprend :

- A) pour les larves
  - a) solutions alcooliques (éthanol) de DDT et d'OMS 1476. Les concentrations utilisées sont de 0,0008 p.p.m. en suivant une progression géométrique de raison 5. On utilise pour les témoins l'éthanol pur.
  - b) 3 pipettes de 1 ml : une pour chacun des insecticides et une pour l'éthanol.
  - c) 2 compte-gouttes pour le transfert des larves.
  - d) bécchers de 500 ml. Un pour chaque concentration.
  - e) papier gaussien-logarithmique pour interprétation graphique des résultats.

Pour exécuter les épreuves, on choisit des larves au début du quatrième stade en éliminant toutes celles présentant des anomalies. On les groupe par lots de 20 à 25 dans de petits tubes contenant 20 ml d'eau.

Dans chacun des béciers de 500 ml on verse 230 ml d'eau permutée dans laquelle on ajoute 1 ml de la solution insecticide en expérimentation; on agite ensuite pendant 30 secondes avec la pipette, en commençant par les concentrations les plus faibles. Les lots de larves sont placés dans les béciers 15 à 20 minutes après cette opération.

On utilise deux ou quatre lots par concentration et un témoin pour chaque série.

Le pourcentage de mortalité est calculé pour chaque concentration en additionnant le nombre de larves mortes et moribondes 24h après le début du test.

On compte comme mortes, les larves qui ne bougent pas quand on les touche avec une aiguille au niveau du siphon respiratoire ou de la région cervicale. On considère comme moribondes les larves incapables d'atteindre la surface (dans un laps de temps raisonnable) ou qui n'ont pas manifesté la réaction de plongée caractéristique quand on agite l'eau. On ne tient pas compte des nymphes dans le calcul de mortalité. On annule, d'une part, les tests dans lesquels 10% ou plus de larves du lot témoin se sont nymphosées, d'autre part, ceux dans lesquels la mortalité du lot témoin atteint ou dépasse 20%. Pratiquement, dans de bonnes conditions, les tests sont presque tous valables.

#### B) pour les adultes

On utilise également la méthode préconisée par l'OMS qui permet de mesurer le degré de sensibilité des adultes à une concentration d'un insecticide donné.

Le nécessaire comprend :

- a) des papiers imprégnés de DDT et d'OMS 1476 dans de l'huile minérale (Risella oil de SHELL). On utilise respectivement les concentrations suivantes : 0,25%, 0,50%, 1%, 2%, et 4%. Papiers imprégnés d'huile seulement pour le témoin.
- b) des tubes en matière plastique, de 125 mm de longueur x 44 mm de diamètre. Les tubes marqués d'un point rouge contiennent les papiers imprégnés d'insecticide pour l'exposition des moustiques et ceux marqués d'un point vert servent à les isoler pendant leur tri et après l'exposition. Chaque tube est fileté à une des extrémités et fermé avec un grillage fin à l'autre. On marque sur chaque tube la concentration à utiliser.

- c) des manchons filetés aux deux extrémités, traversés perpendiculaire-  
à leur axe par une plaque coulissante percée d'un orifice de 20 mm  
de diamètre.
- d) des tubes d'aspiration.

Les adultes obtenus au laboratoire sont gorgés sur cobaye 24h avant les tests pour lesquels on utilise que des lots homogènes de femelles de même âge.

Dans chaque tube de mise en observation (point vert), fermé par le manchon, on a transféré 25 femelles à l'aide de l'aspirateur. Il importe d'aspirer doucement afin de ne pas traumatiser les moustiques, ce qui pourrait fausser les résultats. Dans le cas de souches difficiles à élever, on utilise un lot de 20 femelles pour chaque concentration. Le tube contenant le papier imprégné d'insecticide (point rouge) est vissé au manchon supportant déjà le tube d'observation. Pour introduire les moustiques dans le tube d'exposition, on fait coulisser la plaque de manière à dégager entièrement l'ouverture entre les deux tubes et on souffle doucement pour les faire passer de l'un à l'autre, puis on referme le tube en repoussant la plaque. On expose les moustiques au contact de l'insecticide pendant une heure (le tube étant en position verticale) puis, on les refait passer dans le tube d'observation. On place sur chaque tube d'observation un coton imprégné d'une solution de glucose pour la nourriture des spécimens.

La lecture de la mortalité est faite 24h après le début de l'expérience. Sont comptés comme morts les moustiques incapables de voler ou de marcher.

Tous les tests ont été faits simultanément avec le DDT et l'OMS 1476 en utilisant toujours 2 lots pour toutes les concentrations fournies par l'Organisation Mondiale de la Santé.

#### 2.1.5. Interprétation des tests

L'analyse des résultats des épreuves de sensibilité a pour but de déceler l'apparition d'une résistance et d'évaluer l'ampleur des variations chez les souches sensibles.

L'activité d'un composé se définit par les concentrations létales 50 et 95 (CL50 et CL95), c'est-à-dire les concentrations qui tuent respectivement 50 et 95% des individus en expérience.

En effet, selon SWAROOP (1968), la théorie statistique montre qu'on peut estimer ces concentrations avec plus de précision que celles qui tuent une faible ou une forte proportion des individus. Il est théoriquement impossible de déterminer la CL100 car plus le nombre d'individus soumis aux épreuves est élevé, plus il y a de chances qu'il y ait au moins un survivant. La concentration provoquant une mortalité totale augmente donc en même temps que l'effectif de l'échantillon. De ce fait la donnée à retenir est la CL95.

Du fait de sa facilité de colonisation en laboratoire, le genre Aedes est un de ceux sur lequel on a exécuté le plus de tests de sensibilité, au moins sur les larves, et pour lequel on possède le plus d'informations. MOUCHET (1967) et MOUCHET et col. (1972) ont fait une revue complète du problème de la résistance chez les Aedes.

A partir des données obtenues, nous traçons la ligne de régression à vue sur papier gaussien-logarithmique, afin de pouvoir déterminer graphiquement la CL50 et, éventuellement, la CL95.

L'influence des facteurs pouvant faire varier la mesure de la sensibilité a été étudiée par HAMON et MOUCHET (1961) et MOUCHET (1967). Les facteurs de variations plus importants, en ce qui concerne Aedes aegypti, sont divers.

La température à laquelle est exécuté le test. BRANSBY-WILLIAMS (1959) a constaté que la CL50 des adultes d'une même souche variait de 0,38% à 0,81% lorsqu'elle passait, pendant la période d'observation, de 24°C à 18°C. Egalement, ZUBAIRI et CUTKOWPS (1964) in BROWN et PAL (1973), observent qu'à la concentration de 0,02 p.p.m. de DDT chez les larves d'Aedes aegypti, la mortalité à 20°C est plus forte qu'à 10°C et à 30°C, tandis qu'aux concentrations de 0,004 et 0,001 p.p.m., la mortalité diminue lorsque la température passe de 10°C à 30°C. Néanmoins, le prélèvement de DDT par les larves est supérieur à la température la plus élevée pour l'une et l'autre concentration.

Chez les larves, la sensibilité diminue très fortement d'un stade à l'autre, les plus âgées étant les moins sensibles et, au cours du 4ème stade, elle diminue au fur et à mesure que la nymphose approche, PARKER (1957).

L'emploi de très jeunes larves est déconseillé car leur observation est rendue malaisée du fait de leur petite taille, MOUCHET (1967).

Le sexe des adultes a aussi son influence. Dans le cas d'Aedes aegypti, des épreuves de DDT portant sur 3 souches de laboratoire ont révélé une CL50 de 0,6% pour les mâles et de 1% pour les femelles non gorgées, BROWN et ABEDI (1962).

La nourriture et l'état de répletion modifient la réponse aux insecticides. Après un repas de sang, la CL50 pour le DDT chez les femelles adultes est doublée, HADAWAY et BARLOW (1956).

Pour les larves de moustiques, la nourriture semble également influencer leur sensibilité. DOBY et al. (1956) ont observé que celles nourries de féculents étaient moins sensibles que celles nourries avec de la levure.

Nos tests de sensibilité ont toujours été exécutés dans des conditions constantes de chaleur et d'humidité avec des insectes d'âge défini pour éliminer ces facteurs de variabilité. Malgré cela, on trouve une variation, sur les larves, de 1 à 6 sur la CL50, à un même insecticide, dans la même espèce, suivant les souches, sans qu'il y ait résistance. Toutefois, l'ampleur de ces variations s'atténue au niveau de la CL95. Cette variabilité intraspécifique de la sensibilité a été étudiée, en particulier, en ce qui concerne les organophosphorés chez Aedes aegypti, MOUCHET et al. (1975). Il apparaît, qu'évaluées sur un nombre suffisant de souches, les CL50 ont une répartition gaussienne. La variabilité de la sensibilité à l'intérieur d'une espèce apparaît donc comme un phénomène normal analysé également chez Culex fatigans.

Les variations de la sensibilité intraspécifique au DDT ont été moins bien étudiées, car l'abondance des souches de sensibilité intermédiaire rend difficile l'établissement de ségrégation nette. Elles semblent cependant du même ordre de grandeur que pour les produits organophosphorés.

Pour déceler la résistance, nous prenons comme référence le déplacement de la ligne de régression vers la droite, ce qui traduit une augmentation de la CL50 et son inflexion en plateau de la ligne pour les concentrations élevées. Dans ce cas il y a à la fois une augmentation de la CL95 et du rapport CL95/CL50. Ce rapport généralement compris entre 2 et 3 peut atteindre et dépasser 5 dans les cas de résistance. Le plateau est parfois si marqué qu'il devient impossible de déterminer la CL95 et partant le rapport CL95/CL50, HOSKINS (1960).





TABLEAU N° 5 - Sensibilité comparée au DDT et à l'OMS 1476 de larves de 4ème stade de différentes souches d'Aedes aegypti.

CONCENTRATION (p.p.m.)	POTO-POTO BRAZZAVILLE (Congo)		STE ANNE (Martinique)		GOSIER (Guadeloupe)	
	% mortalité		% mortalité		% mortalité	
	DDT	OMS 1476	DDT	OMS 1476	DDT	OMS 1476
0,0008	-	-	-	-	-	-
0,002	0	0	0	0	0	0
0,004	0	0	0	0	0	0
0,01	1	0	0	0	0	0
0,02	10	10	1	1	0	0
0,05	47	37	6	14	0	2
0,1	89	84	37	32	0	4
0,5	100	100	73	40	4	8
2,5	100	100	95	57	34	28
Témoins	0	0	0	0	0	0

TABLEAU N° 6 - Sensibilité comparée au DDT et à l'OMS 1476 de larves de 4ème stade d'Aedes polynesiensis et d'Aedes albopictus.

CONCENTRATION (p.p.m.)	<u>Aedes polynesiensis</u>		<u>Aedes albopictus</u>	
	TAHITI (Polynésie)		TSIAMALAO (Madagascar)	
	% mortalité		% mortalité	
	DDT	OMS 1476	DDT	OMS 1476
0,0008	-	-	-	-
0,002	0	0	40	0
0,004	0	0	54	8
0,01	0	0	78	10
0,02	4	6	98	43
0,05	30	50	100	66
0,1	50	84	100	89
0,5	100	100	100	100
Témoins	0	0	0	0

TABLEAU N° 7 - Sensibilité comparée au DDT et à l'OMS 1476 des adultes de différentes souches d'Aedes aegypti.

CONCENTRATION %	TONGA (Pacifique)		ENUGU (Nigéria)		NANDOBO (R.C.A.)		KARI (Haute-Volta)	
	% mortalité		% mortalité		% mortalité		% mortalité	
	DDT	OMS 1476	DDT	OMS 1476	DDT	OMS 1476	DDT	OMS 1476
0,25	0	0	4	2	40	12	0	0
0,5	10	0	10	6	48	36	2	0
1	35	0	14	18	68	52	4	2
2	60	42	62	72	92	78	40	22
4	95	87	98	94	98	96	66	93
Témoins	0	0	0	0	0	2	0	0



TABLEAU N° 9 - Sensibilité comparée au DDT et à l'OMS 1476 des adultes de différentes souches d'Aedes aegypti.

CONCENTRATION %	POTO-POTO PRAZZAVILLE (Congo)		GOSIER (Guadeloupe)	
	% mortalité		% mortalité	
	DDT	OMS 1476	DDT	OMS 1476
0,25	0	0	0	0
0,5	12	14	0	0
1	24	32	0	0
2	38	56	0	2
4	72	98	5	10
Témoins	2	0	0	0

TABLEAU N° 10 - Sensibilité comparée au DDT et à l'OMS 1476 des adultes d'Aedes polynesiensis et Aedes albopictus.

CONCENTRATION %	<u>Aedes polynesiensis</u> TAHITI (Polynésie)		<u>Aedes albopictus</u> TSIAMALAHO (Madagascar)	
	% mortalité		% mortalité	
	DDT	OMS 1476	DDT	OMS 1476
0,25	2	0	17	17
0,5	4	2	42	22
1	8	8	53	44
2	24	16	68	71
4	62	54	82	91
Témoins	0	0	0	0

Tableau 11 Sensibilité comparée au DDT et à l'OMS 1476 de souches d'*Aedes aegypti* et d'autres espèces de *Stegomyia*

Origine et caractéristiques de la souche	Larves				Adultes			
	D.D.T.		OMS 1476		D.D.T.		OMS 1476	
	CL 50	CL 95	CL 50	CL 95	CL 50	CL 95	CL 50	CL 95
<i>Aedes aegypti</i>	CL 50	CL 95	CL 50	CL 95	CL 50	CL 95	CL 50	CL 95
Tonga (Pacifique) D.D.T. S	0,0011	0,017	0,0027	0,019	1,52	4	2,21	> 4
Enugu (Nigéria) D.D.T. S	0,0034	0,041	0,021	0,053	1,7	3,4	1,5	3,4
Nandolo (R.C.A.) D.D.T. S	0,003	0,009	0,021	0,048	0,55	2,8	0,87	3,65
Kari (Haute-Volta) D.D.T. S	0,0037	0,078	0,020	0,050	2,8	> 4	2,45	> 4
Moyoim (Tanzanie) D.D.T. S	0,001	0,0026	0,013	0,03	1,1	3,25	1,47	> 4
Brazzaville (Congo) D.D.T. Tol	0,024	0,09	0,019	0,06	1,2	> 4	1,41	> 4
Morea (Polynésie) D.D.T. Tol	0,058	0,28	0,03	0,058	3,19	> 4	3,21	> 4
Bora Bora (Polynésie) D.D.T. Tol	0,067	0,18	0,023	0,15	3,2	> 4	2,70	> 4
Brazzaville (Poto-Poto) (Congo) D.D.T. Tol	0,052	0,17	0,058	0,18	2,46	> 4	1,6	3,28
Sainte-Anne (Martinique) D.D.T. R	0,18	2,5	1,1	> 2,5				
Gosiers (Guadeloupe) D.D.T. R	> 2,5		> 2,5		> 4		> 4	
<i>Aedes polynesiensis</i> Tahiti (Polynésie) D.D.T. Tol	0,1	0,25	0,05	0,18	3,21	> 4	3,80	> 4
<i>Aedes albopictus</i> Tsiamalaho (Madagascar) D.D.T. S	0,0033	0,019	0,023	0,16	0,8	> 4	1,14	> 4

En dessous de la CL50, c'est-à-dire pour les concentrations faibles, il n'y a qu'une faible différence entre les souches sensibles et résistantes, SWAROOP (1968).

On peut considérer qu'il y a résistance lorsque la CL50 augmente de 10 à 15 fois par rapport à sa valeur pour les larves et de 3 à 5 fois pour les adultes, ou lorsque la CL95 est 5 fois supérieure à la CL50.

L'OMS (1970) a considéré que les souches étaient résistantes lorsque la CL50 des larves dépasse, dans le cas d'Aedes aegypti pour le DDT 0,1 p.p.m.

Pour notre travail, nous nous sommes basés sur les critères, au niveau des limites de la CL100, donnés par MOUCHET et al. (1970) dans ses essais sur les souches d'Afrique de l'Ouest.

- sensible : CL100 est inférieure ou égale à 0,05 p.p.m.
- intermédiaire : CL100 est comprise entre 0,05 et 0,5 p.p.m.
- résistante : CL100 est égale ou supérieure à 0,5 p.p.m.

## 2.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS STATISTIQUE

### 2.2.1. Résultats des tests

Les pourcentages de mortalité des larves et des adultes obtenus dans chaque test sont reportés dans les tableaux n°3 à 40. Les résultats globaux sont représentés dans le tableau n° 11 (valeurs des CL50 et CL95) ainsi que dans les graphiques n° 1 à 7 (lignes de régression, dose/mortalité). Nous examinerons successivement les résultats obtenus sur les larves et sur les adultes.

#### 2.2.1.1. - Larves

Souche Tonga (Pacifique) : la CL50 pour le DDT est 0,0011 p.p.m. et la CL95 0,017 p.p.m.; pour l'OMS 1476, ces valeurs sont de 0,027 p.p.m. et 0,019 p.p.m.; la CL50 est donc supérieure à celle du DDT mais la CL95 est presque équivalente. La souche est sensible aux deux composants.

Souche Enugu (Nigéria) : la CL50 pour le DDT est de 0,0034 p.p.m. et la CL95 0,041 p.p.m. En comparant cette réponse à celle de l'OMS 1476, on observe que la CL50 est de 0,021 p.p.m., soit 6 fois supérieure à celle du DDT; par contre, la CL95 de 0,053 p.p.m. est sensiblement identique à celle du DDT. Cependant, ces variations de sensibilité au niveau de la CL50 ne sauraient être considérées comme des réponses fondamentalement différentes, comme nous en avons discuté plus haut, et la souche doit être considérée comme sensible aux deux composants.

Souche Nandobo (R.C.A.) : la CL50 pour le DDT est de 0,003 p.p.m. et la CL95 0,009 p.p.m. Avec l'OMS 1476, ces valeurs sont de 0,021 p.p.m. et de 0,048 p.p.m. soit respectivement 7 à 5 fois supérieures. L'action du DDT sur cette souche est nettement plus accusée que celle de l'OMS 1476, mais on peut considérer qu'elle est sensible aux deux composants.

Souche Kari (Haute-Volta) : la CL50 pour le DDT est de 0,086 p.p.m. et la CL95 0,026 p.p.m. Pour l'OMS 1476, la CL50 est de 0,020 p.p.m., soit 2 fois 1/2 supérieure à la précédente, et la CL95 de 0,05 p.p.m. double de celle du DDT. Cette souche est sensible aux deux composants.

Souche Moyo'in (Tanzanie) : la CL50 pour le DDT est de 0,001 p.p.m. et la CL95 0,0026 p.p.m. Pour l'OMS 1476, ces valeurs sont 0,013 p.p.m. et 0,03 p.p.m. soit 10 fois supérieures. La souche est cependant sensible aux deux composants.

Souche Brazzaville (Congo) : pour le DDT, la CL50 est de 0,024 p.p.m. et la CL95 de 0,09 p.p.m. Pour l'OMS 1476, ces valeurs sont 0,019 p.p.m. et 0,06 p.p.m. La souche peut être considérée comme présentant une tolérance au DDT phénomène généralement interprété comme un début de résistance. Dans ce cas, on constate que, à l'inverse de ce qui se produit dans les souches précédentes, les CL50 et CL95 des deux produits sont très voisines. C'est une souche tolérante aux deux composants.

Souche Brazzaville, Poto-Poto (Congo) : cette souche, elle aussi tolérante aux deux composés, répond au DDT par une CL50 de 0,052 p.p.m. et une CL95 de 0,17 p.p.m., et à l'OMS 1476 par une CL50 de 0,058 p.p.m. et une CL95 de 0,18 p.p.m. Les lignes de régression se superposent à peu près totalement.

Souche Bora-Bora (Polynésie) : la CL50 pour le DDT est de 0,067 p.p.m. et la CL95 0,18 p.p.m. Pour l'OMS 1476, la CL50 est de 0,023 p.p.m. et la CL95 0,15 p.p.m. La tolérance aux deux composés s'est développée parallèlement.

Souche Sainte-Anne (Martinique) : la CL50 pour le DDT est de 0,18 p.p.m. soit 5 fois inférieure à celle de l'OMS 1476 qui est de 1,1 p.p.m. La valeur de la CL95 pour le DDT est de 2,5 p.p.m. et celle de l'OMS 1476 est supérieure à 2,5 p.p.m. Souche résistante aux deux composants.

Souche Gosier (Guadeloupe) : la réponse aux deux composés montre une très forte résistance stabilisée, la CL50 pour le DDT comme pour l'OMS 1476 étant supérieure à 2,5 p.p.m.

Aedes polynesiensis

Souche Tahiti (Polynésie) : la CL50 pour le DDT qui est de 0,1 p.p.m. est le double de celle de l'OMS 1476, soit 0,05 p.p.m. La CL95 pour le DDT et l'OMS 1476 respectivement de 0,25 p.p.m. et 0,18 p.p.m. ne présente pas une grande différence. La souche est tolérante aux deux composants.

Aedes albopictus

Souche Tsiamalaho (Madagascar) : sensible pour le DDT, elle a une CL50 de 0,0033 p.p.m. et une CL95 de 0,019 p.p.m. Pour l'OMS 1476, ces valeurs étant de 0,023 p.p.m. et 0,16 p.p.m., varient dans la même proportion, soit 10 fois moins. Souche tolérante à l'OMS 1476.

2.2.1.2. - Adultes

Aedes aegypti - souches sensibles aux deux composants

Souche Tonge (Pacifique) : la CL50 et la CL95 pour le DDT sont respectivement de 1,52% et 4%. La CL50 pour l'OMS 1476 est de 2,25%, soit 1,5 fois supérieure et la CL95 est supérieure à 4%.

Souche Enuqu (Nigéria) : pour le DDT, les CL50 et CL95 sont respectivement de 1,7% et 3,4%. Pour l'OMS 1476, les valeurs sont voisines des précédentes, soit 1,5% pour la CL50 et 3,4% pour la CL95.

Souche Nandobo (R.C.A.) : pour cette souche également, la sensibilité à l'OMS 1476 est similaire à celle du DDT. DDT : (CL50 = 0,55%, CL95 = 2,8%); OMS 1476 (CL50 = 0,87%, CL95 = 3,65%).

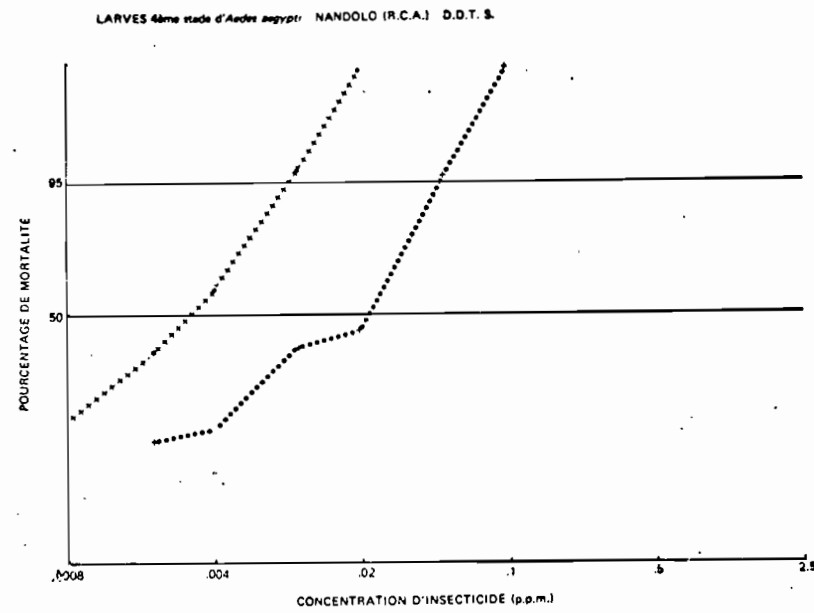
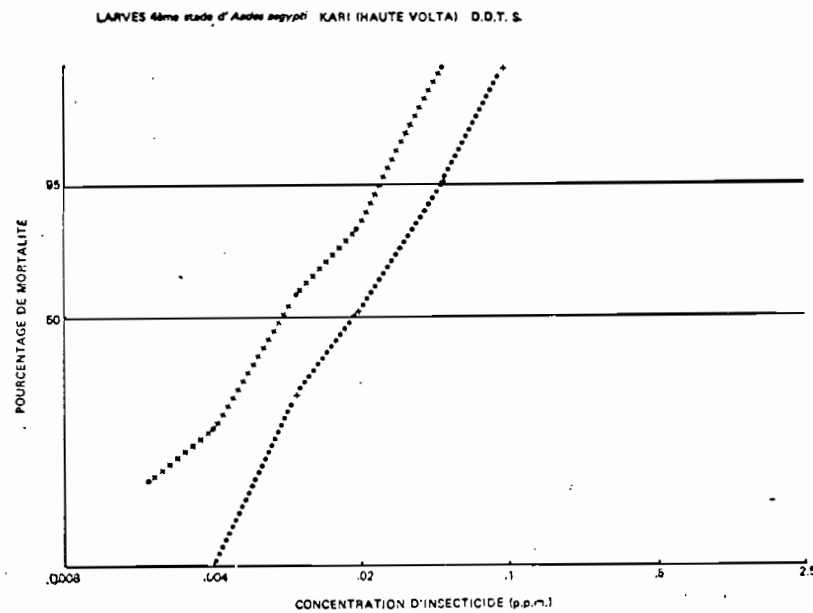
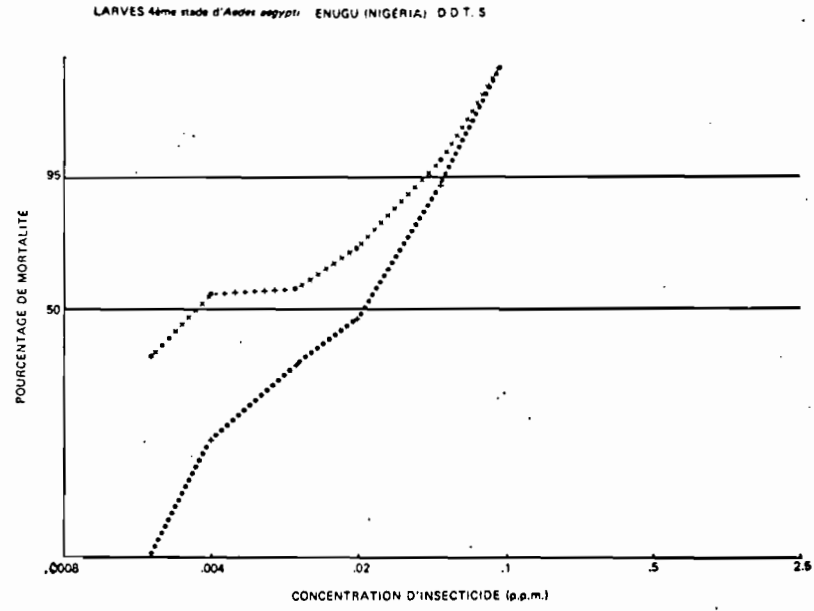
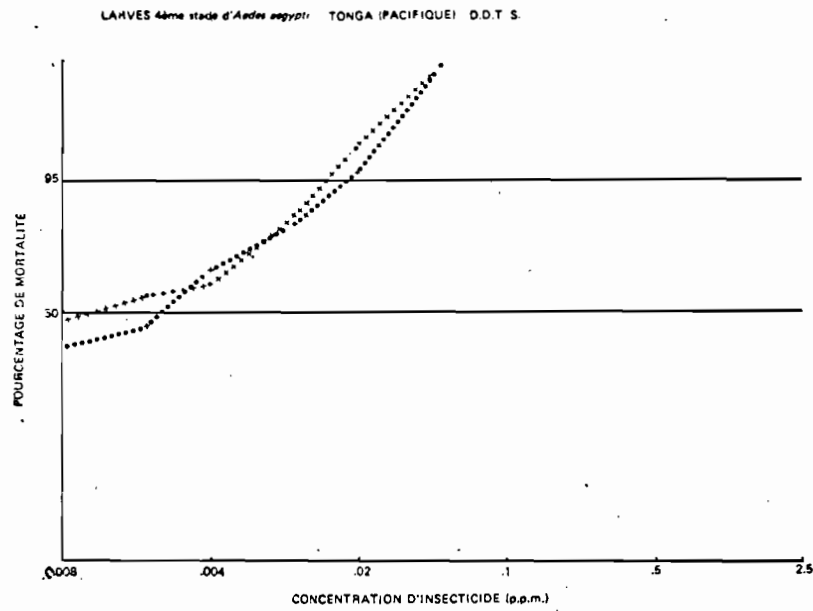
Souche Kari (Haute-Volta) : ici aussi, la sensibilité à l'OMS 1476 est de même grandeur que celle au DDT (DDT : CL50 = 2,8%, CL95 = > 4%; OMS 1476 : CL50 = 2,45%, CL95 > 4%).

Souche Moyo'in (Tanzanie) : la sensibilité de cette souche à l'OMS 1476 au niveau de la CL50 est voisine de celle du DDT (CL50 DDT = 1,1%, CL50 OMS 1476 = 1,47%); en revanche, au niveau de la CL95, l'OMS 1476 paraît être moins actif avec une CL95 supérieure à 4% contre 3,25% pour le DDT.

Aedes aegypti - Souches tolérantes aux deux composés

Souche Brazzaville (Congo) : pour cette souche, les valeurs des CL50 et CL95 du DDT et de l'OMS 1476 respectivement (1,2% et > 4%, ainsi que 1,41% et > 4%) sont superposables et nettement supérieures à celles rencontrées dans les souches précédentes.

Graphique 1 - Lignes de regression de la sensibilité au D.D.T. et à l'O.M.S. 1476 de larves de quatrième stade de diverses souches sensibles d'*Aedes aegypti*.

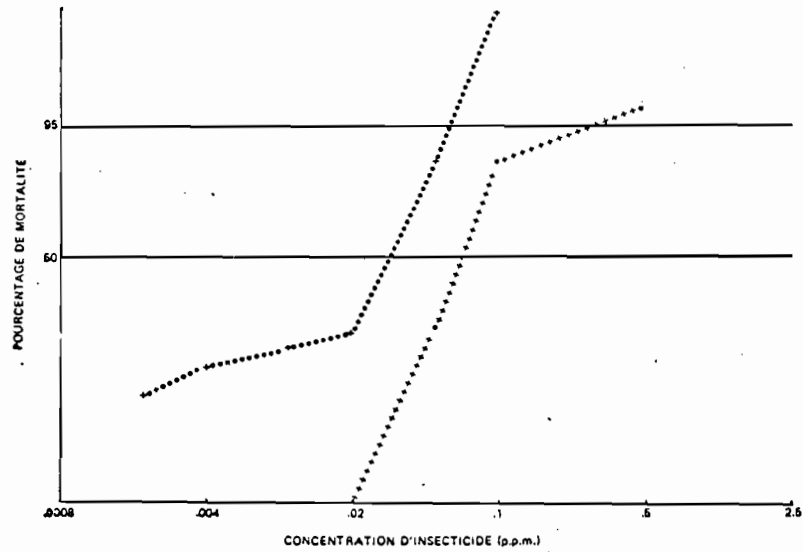


++++ D.D.T.

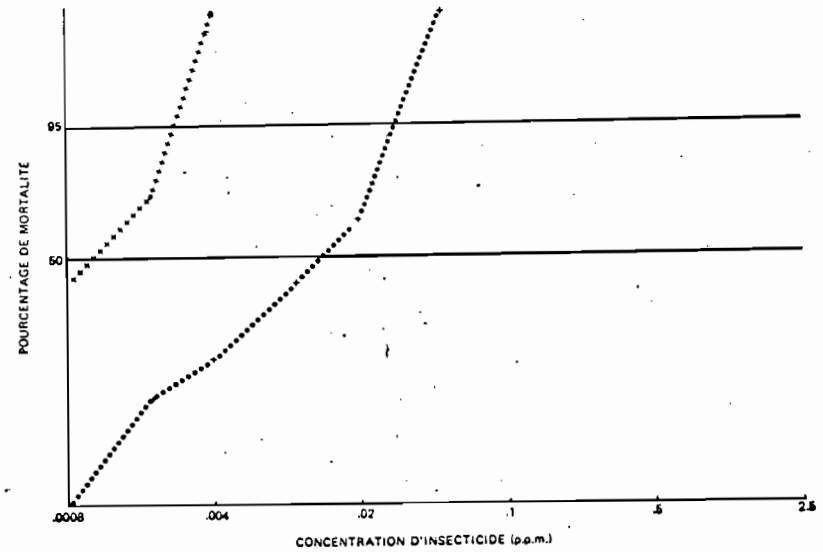
•••• O.M.S. 1476

Graphique 2 - Lignes de regression de la sensibilité au D.D.T. et à l'O.M.S. 1476 des larves de quatrième stade de diverses souches sensibles et tolérantes d'*Aedes aegypti*.

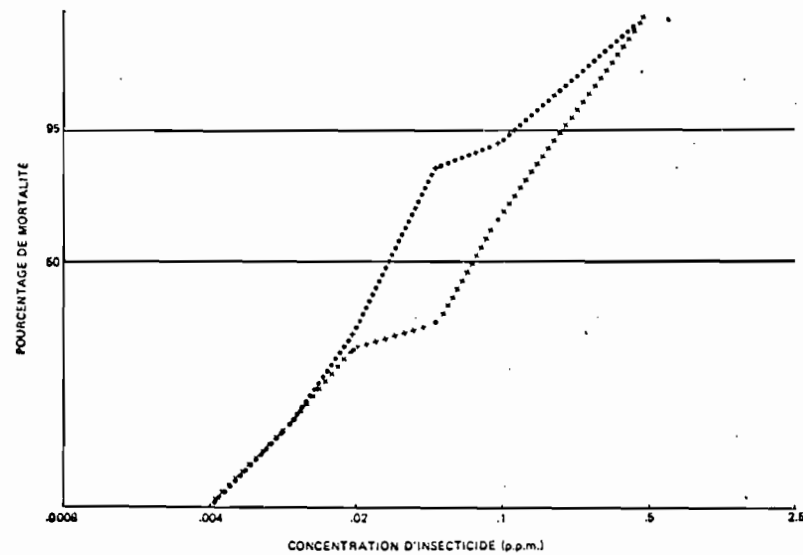
LARVES 4ème stade d'*Aedes aegypti* MOREA (POLYNESIE) D.D.T. TOL.



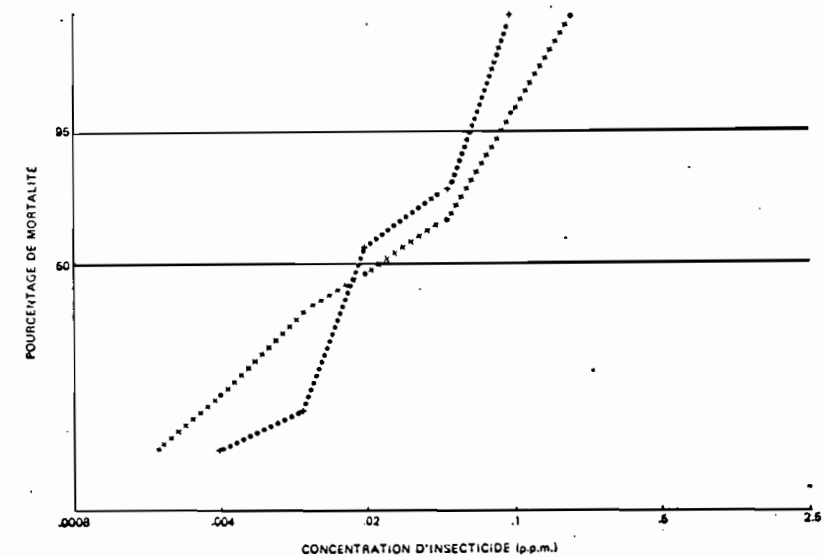
LARVES 4ème stade d'*Aedes aegypti* MOYOIM (TANZANIE) D.D.T. S.



LARVES 4ème stade d'*Aedes aegypti* BORA-BORA (POLYNESIE) D.D.T. TOL.

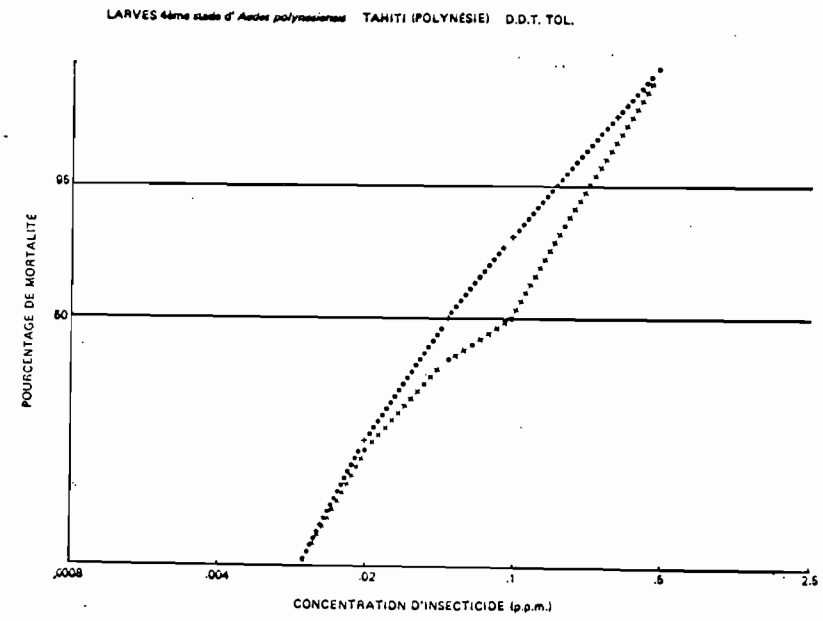
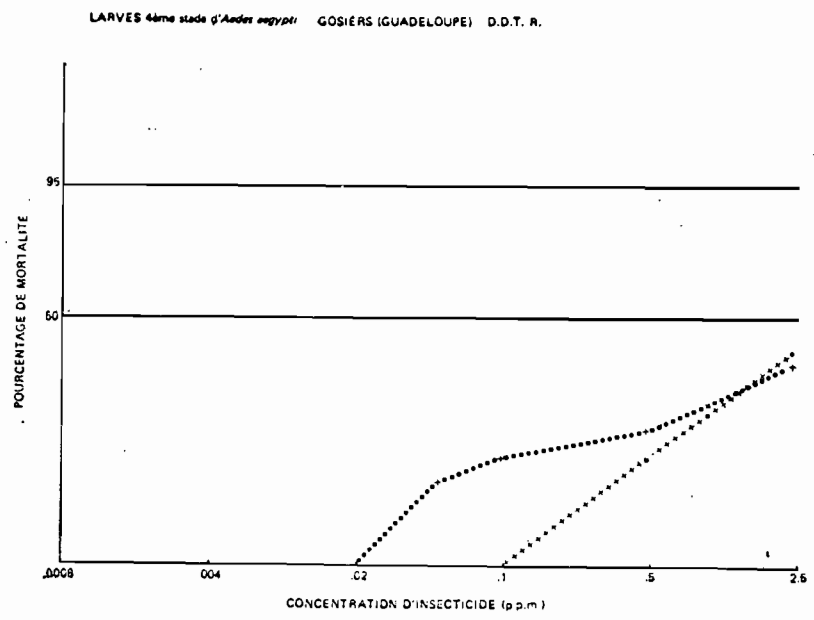
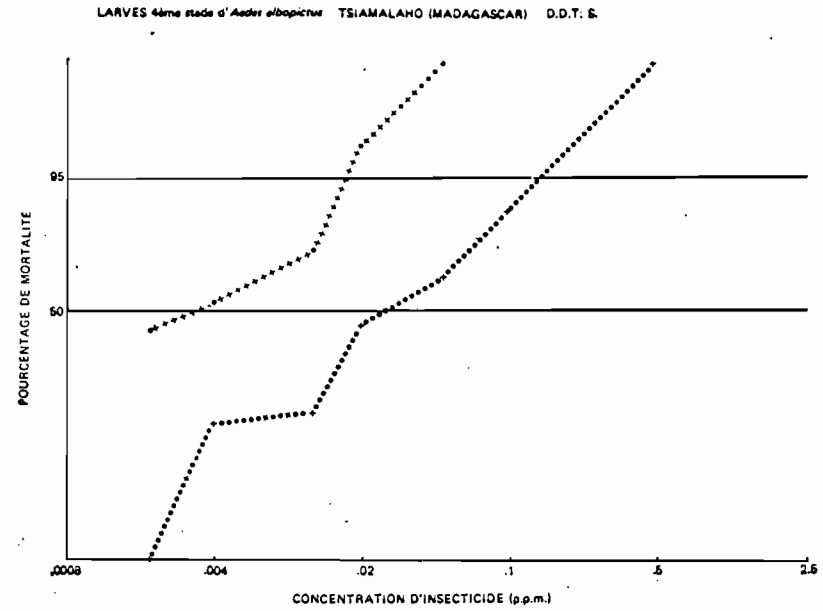
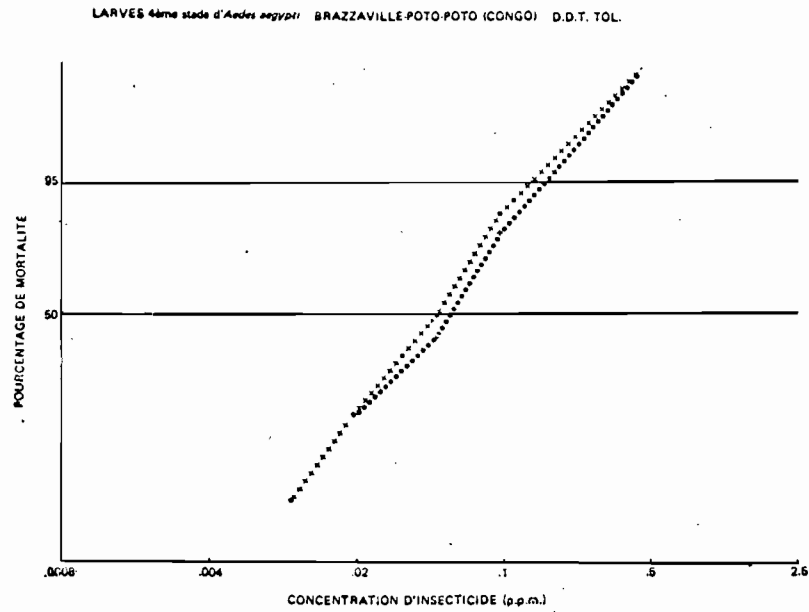


LARVES 4ème stade d'*Aedes aegypti* BRAZZAVILLE (CONGO) D.D.T. TOL.



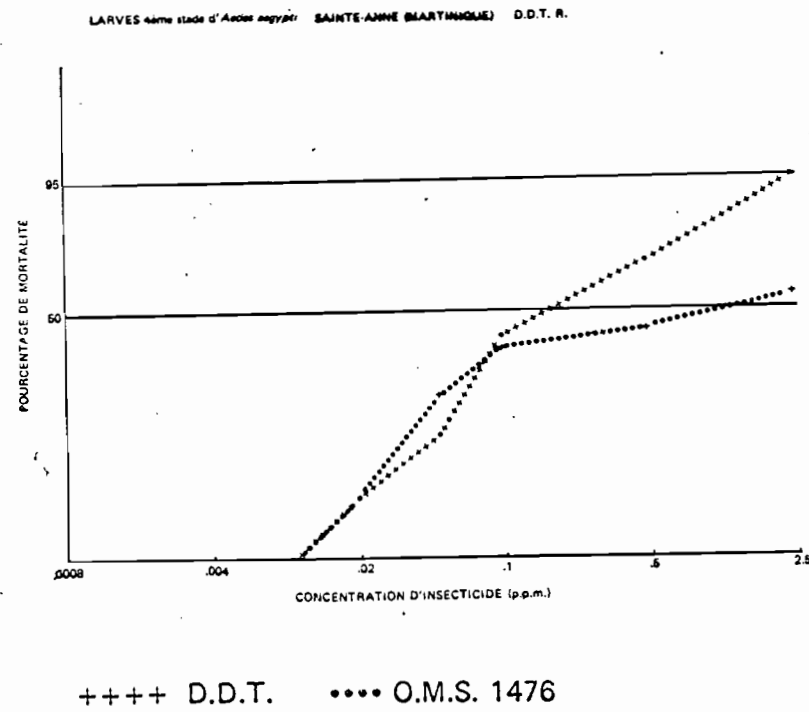
++++ D.D.T.    •••• O.M.S. 1476

Graphique 3 - Lignes de regression de la sensibilité au D.D.T. et à l'O.M.S. 1476 des larves de quatrième stade de diverses souches sensibles, tolérantes et résistantes d'*Aedes aegypti*.

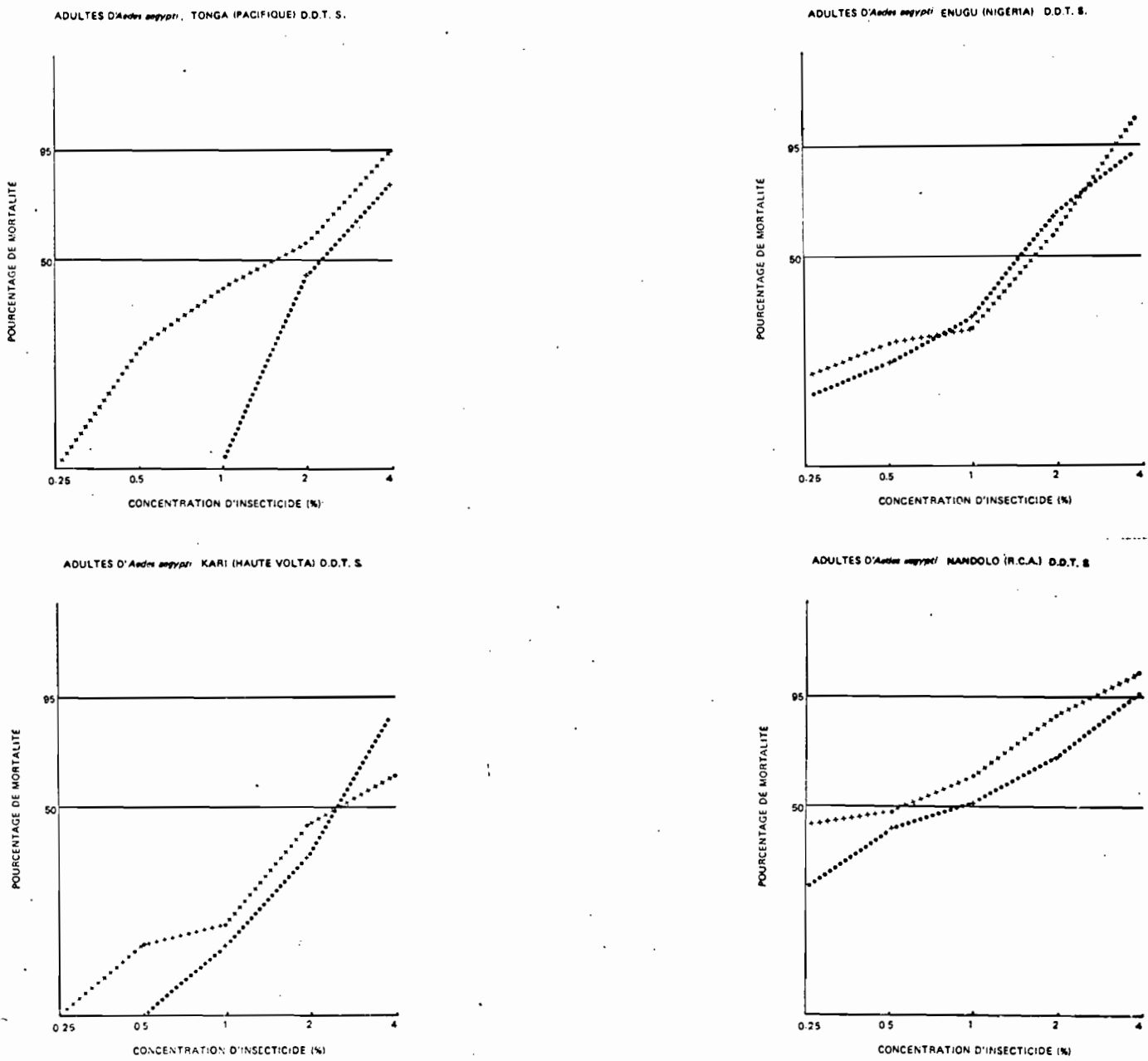


++++ D.D.T.    .... O.M.S. 1476

Graphique 4 - Lignes de regression de la sensibilité au D.D.T. et à l'O.M.S. 1476 des larves de quatrième stade d'une souche d'*Aedes aegypti* résistante.

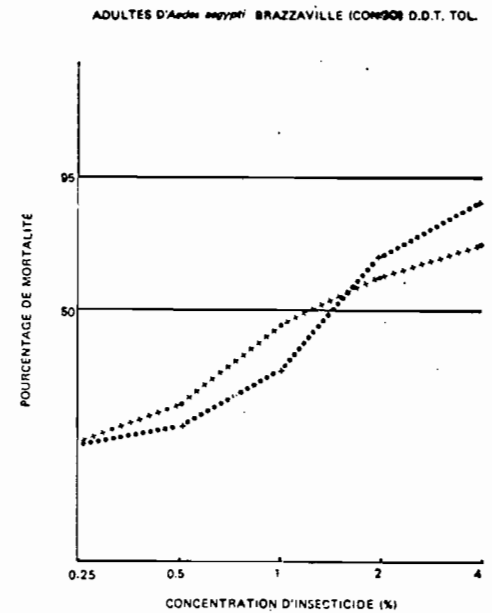
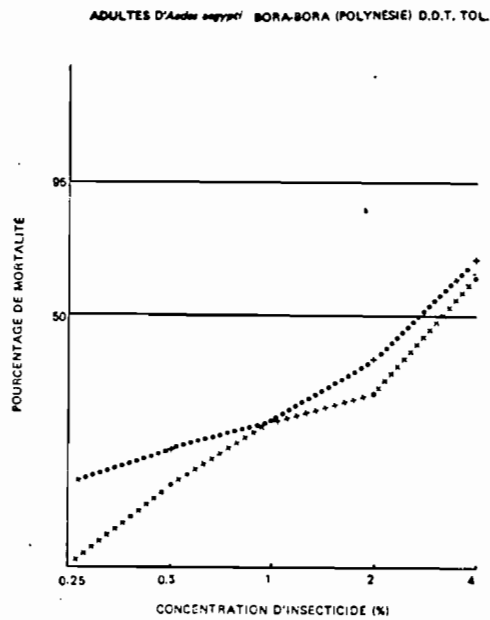
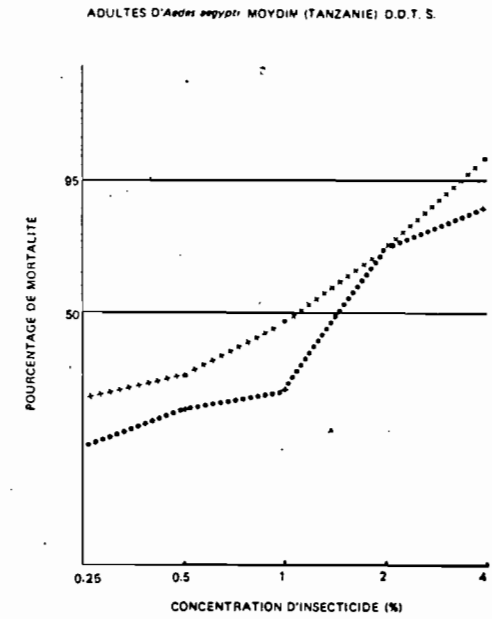
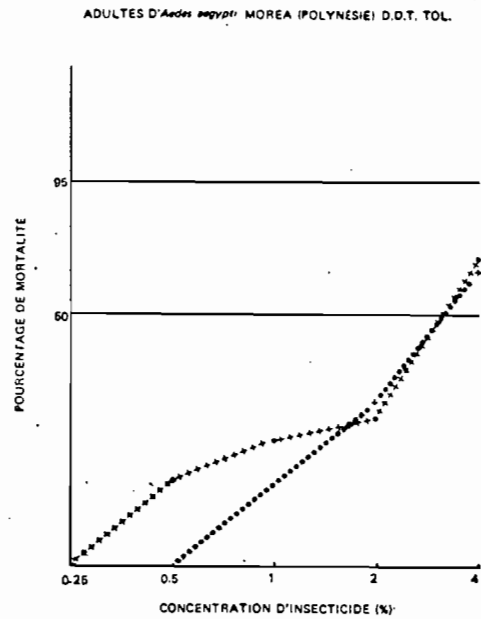


Graphique 5 - Lignes de regression de la sensibilité au D.D.T. et à l'O.M.S. 1476 des adultes de diverses souches sensibles d'*Aedes aegypti*.



++++ D.D.T.    ..... O.M.S. 1476

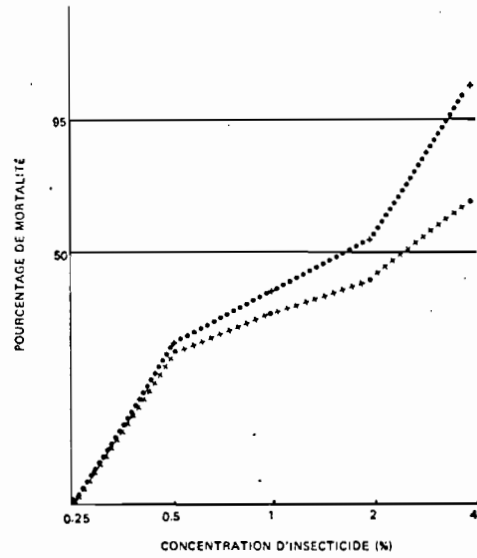
Graphique 6 - Lignes de regression de la sensibilité au D.D.T. et à l'O.M.S. 1476 des adultes de diverses souches sensibles et tolérantes d'*Aedes aegypti*.



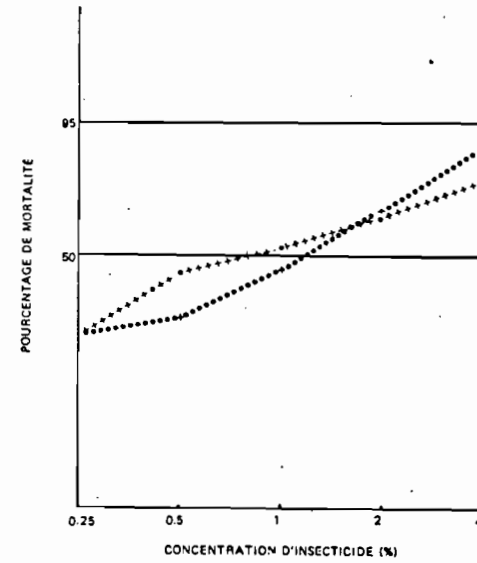
++++ D.D.T.    .... O.M.S. 1476

Graphique 7 - Lignes de regression de la sensibilité au D.D.T. et à l'O.M.S. 1476 des adultes de diverses souches sensibles, tolérantes et résistantes d'*Aedes aegypti*.

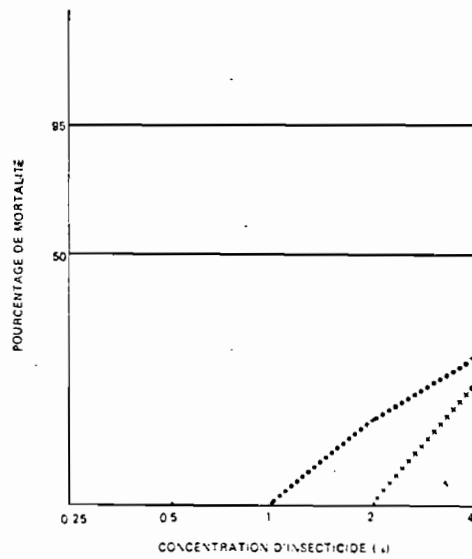
ADULTES D'*Aedes aegypti* BRAZZAVILLE POTO-POTO (CONGO) D.O.T. TOL.



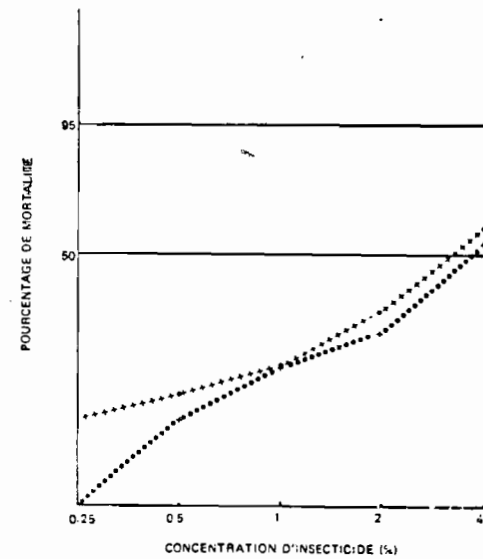
ADULTES D'*Aedes albopictus* TSIMALAHO (MADAGASCAR) D.O.T. S.



ADULTES D'*Aedes aegypti* GOSIERS (GUADELOUPE) D.O.T. R.



ADULTES D'*Aedes polynesiensis* TAHITI (POLYNÉSIE) D.O.T. TOL.



++++ D.D.T.    ..... O.M.S. 1476

Souche Brazzaville, Poto-Poto (Congo) : pour cette souche également, l'OMS 1476 est plus actif (CL50 = 1,6%, CL95 = 3,28% contre une CL50 de 2,46 et une CL95 > 4%) pour le DDT.

Souche Moorea (Polynésie) : les sensibilités aux deux composés sont équivalentes (DDT : CL50 = 3,19%, CL95 > 4%; OMS 1476 : CL50 = 3,21%, CL95 > 4%).

Souche Bora-Bora (Polynésie) : l'OMS 1476 est plus actif que le DDT au niveau de la CL50 (respectivement 2,70% et 3,2%). Les CL95 de ces deux produits, toutes deux supérieures à 4% ne sont pas comparables.

#### Souche résistante

Souche Gosier (Guadeloupe) : très résistante aux deux composés, on n'a pas pu déterminer et comparer les CL50 supérieures à la plus forte concentration utilisée (4%)

#### Aedes polynesiensis

Souche Tahiti (Polynésie) : tolérante aux deux composés. Toutefois, le DDT avec une CL50 de 3,21% est plus actif que l'OMS 1476 (CL50 = 3,8%). Les CL95 de ces deux produits sont supérieures à 4%.

#### Aedes albopictus

Souche Tsiamalaho (Madagascar) : au niveau de la CL50, le DDT est 1,5 fois plus actif que l'OMS 1476 (respectivement 0,8% et 1,14%). Les CL95 sont supérieures à 4% et non comparables.

### 2.2.2. Interprétation des résultats

L'analyse détaillée que nous venons de faire, nous montre la concordance entre la sensibilité, la tolérance ou la résistance entre les deux composés au niveau des larves et des adultes.

#### 2.2.2.1. Comparaison des niveaux de souches sensibles aux stades larvaire et imaginal

Nous avons remarqué sur les graphiques que chez les souches sensibles, la ligne de régression pour le DDT est généralement placée à gauche,

c'est-à-dire que le DDT est fondamentalement plus actif que l'OMS 1476. Par contre, chez les souches tolérantes, les positions réciproques s'inversent, c'est-à-dire que la pression sélective provoquée par le DDT ou ses analogues a sélectionné une résistance plus marquée pour le DDT que pour l'OMS 1476 qui n'a encore jamais été employé.

On a quelquefois observé, dans le cas de résistance, chez des moustiques adultes, que ce phénomène n'a pas eu la même réponse chez les larves qui semblaient sensibles. Ce fut notamment le cas de Culex fatigans, un peu partout en Afrique avec le DDT, HAMON et MOUCHET (1967) et à Madagascar avec le Fenitrothion, CHAUVET et al. (1971). En Corée du Sud, les adultes de Culex tritaeniorhynchus manifestaient une résistance au Fenitrothion qui n'apparaissait pas chez les larves, MOUCHET et al. (1975).

L'absence de corrélation entre la résistance chez les larves et les adultes, a toujours été expliqué aisément. Le plus souvent, le phénomène n'a été que transitoire et assez rapidement la résistance s'est manifestée, ultérieurement dans les stades préimaginaux. En fait il semble bien que, dans la plupart des cas, les manifestations de la résistance apparaissent plus rapidement chez les adultes que chez les larves.

Dans le cas d'Aedes aegypti et des espèces voisines, le développement de la résistance chez les adultes et les larves semble concomittant.

Nous avons analysé les rapports entre la sensibilité au DDT et à l'OMS 1476 des larves et des adultes d'Aedes aegypti. Il y a une très bonne corrélation au niveau de la CL50 entre les variations de la sensibilité aux deux stades. En effet, dans le cas du DDT, le coefficient de corrélation est de :

$$r = 0,800$$

significatif à 1% et dans le cas de l'OMS 1476

$$r = 0,592$$

significatif à 5%

Ces coefficients ne peuvent pas être établis au niveau de la CL95 qui est plusieurs fois incalculable chez les adultes.

#### 2.2.2.2. Etude comparative du développement de la résistance vis-à-vis des 2 composés

La comparaison des résultats du tableau 2 montre clairement que les spectres de sensibilité au DDT et à l'OMS 1476 ont une très grande similitude dans la réponse des différentes souches aux 2 composés.

Les coefficients de corrélation entre les CL50 et la CL95 du DDT et de l'OMS 1476, chez les larves, sont respectivement de :

$$r = 0,956$$

et

$$r = 0,770$$

Ces deux valeurs sont significatives au seuil de 1%.

Le coefficient de corrélation entre les CL50 des adultes  $r = 0,931$ , est également significatif à 1%. Cette relation ne peut pas être établie chez les adultes au niveau de la CL95, car celle-ci n'est généralement pas précisée mais seulement exprimée comme supérieure à une certaine valeur; il y a néanmoins une très nette concordance des résultats avec les deux insecticides et le degré de résistance, de tolérance ou de sensibilité qui est le même chez les larves que chez les adultes.

DAVIDSON (OMS, document de travail non publié, 1975) a observé sur une souche résistante au DDT, une CL50 des larves de 0,88 p.p.m. pour le DDT et 0,4 p.p.m. pour l'OMS 1476. Chez les adultes les CL50 étaient respectivement supérieures à 4% et 2,8%. Il y avait donc corrélation entre la résistance au DDT et à l'OMS 1476 ce qui confirme nos propres résultats.

### 2.3. RESISTANCE DU DDT à l'OMS 1476 CHEZ Aedes aegypti

#### 2.3.1. Mécanisme de la résistance au DDT

La résistance aux insecticides est un phénomène universel qui donne aux organismes vivants la possibilité de s'adapter et de résister à l'agression toxique. L'Organisation Mondiale de la Santé (1964) l'a définie comme "l'aptitude d'une population d'insectes à tolérer des doses d'un insecticide donné qui exercent une action létale sur la majorité des individus d'une population normale de même espèce". Ce n'est pas un phénomène récent et limité

aux composés organiques de synthèse. En effet, MELANDER signalait déjà en 1914 la résistance du pou de San-José aux traitements polysulfurés dans l'état de New-York. Dans les années suivantes, l'acide cyanhydrique se révéla inefficace progressivement contre certaines espèces de cochenilles de l'oranger (in BROWN, 1955). Un peu plus tard, ce sont les traitements arsenicaux contre le Carpocapse qui sont voués à l'échec. Cependant, ces résistances ne constituaient que des curiosités biologiques sans grand intérêt économique ou sanitaire. En revanche, la résistance est devenu un problème crucial depuis qu'elle s'est étendue au DDT et aux autres insecticides de synthèse. En moins de deux décades bon nombre d'espèces d'intérêt médical ou agricole ont été touchées par ce phénomène. BUSVINE (1957), ainsi que QUATERMAN et SCHOFF (1957), dans leur bilan de 1946 à 1955 font état de 37 espèces résistantes. En 1965, HAMON et al. font une revue concernant les espèces d'intérêt médical et 27 espèces sont résistantes au DDT. D'après BUSVINE (1970), le nombre d'espèces intéressées a considérablement augmenté et atteint 228 en totalisant les espèces d'intérêt médical aussi bien que celles d'importance agricole. Ce chiffre englobe les cas ponctuels et isolés aussi bien que les résistances généralisées de haute importance. Dans notre tableau n° 1 nous avons noté que 116 espèces de vecteurs de maladies peuvent être considérées comme résistantes et 91 au DDT en particulier. La résistance a pour caractéristique d'être héréditaire. On peut donc obtenir des souches dont la descendance est et reste résistante à un degré plus ou moins élevé.

L'interprétation de la résistance acquise, qui est généralement acceptée, est d'inspiration darwinienne. Il semble bien établi que les insecticides n'ont pas de propriétés mutagènes. Mais dans les populations naturelles d'insectes, de nombreuses mutations spontanées apparaissent continuellement.

L'application d'insecticides crée une pression de sélection qui va éliminer progressivement les individus sensibles, et les mutants résistants prendront peu à peu la place laissée libre.

La chute de la résistance, qui apparaît plus ou moins vite dans certaines souches après l'arrêt des traitements insecticides, peut s'expliquer dans l'hypothèse darwinienne en admettant la présence simultanée d'hétérozygotes et d'homozygotes sensibles et résistants.

L'avantage des mutants résistants disparaît, ou même, ils peuvent se trouver en position d'infériorité dans la compétition intraspécifique lorsque la pression sélective de l'insecticide ne s'exerce plus; en conséquence les insectes résistants sont peu à peu éliminés. La pression sélective à l'égard d'une population de moustiques peut être provoquée par l'utilisation d'insecticides en agriculture; le produit entraîné par les pluies se concentre dans des collections d'eau où se développent leurs larves. Il se peut qu'une de leurs souches se trouve donc résistante à un composé, même lorsqu'il n'a pas été employé spécifiquement pour leur destruction. Tel est le cas d'Anophèles albimanus à El Salvador et au Nicaragua. Celui-ci avait développé une résistance aux organophosphorés et aux carbamates qui n'avaient jamais été utilisés pour la lutte antipaludique mais avaient été répandus largement sur les cultures de coton pour en exterminer ces ravageurs (GEORGHIOU, 1973). Un phénomène identique avait d'ailleurs déjà été observé avec la Dieldrine en 1959 et le DDT, (MARTINEZ PALACIOS, 1969 in BROWN et PAL, 1973).

Le léger accroissement de la CL50 qui s'observe chez les souches soumises pour la première fois à l'action d'un insecticide, peut être totalement indépendant des gènes spécifiques de la résistance. Cette tolérance accrue aux insecticides due à la vigueur exceptionnelle de la souche, est désignée sous le terme de tolérance constitutionnelle ou tolérance de vigueur. HOSKINS et GORDON (1956) considèrent que cette tolérance résulte de facteurs, tels qu'un poids plus élevé ou un meilleur état physiologique et qu'elle peut devenir un caractère propre à la souche à la suite de pressions sélectives exercées par des conditions écologiques plus rigoureuses dans les régions traitées. Les insectes présentant une tolérance de vigueur survivraient essentiellement en raison de mécanismes physiologiques secondaires mieux développés (épaisseur de la chitine, excrétion plus rapide etc.) susceptibles de renforcer l'activité normale de détoxification.

A côté de la résistance physiologique, bien définie, certains auteurs ont classé sur le nom de résistance de comportement, un certain nombre d'aspects du comportement des insectes en présence des traitements insecticides. Le Comité d'Experts de Paludisme de l'OMS (rapp. techn. n° 123, 1957) donne la définition suivante : "résistance due au changement de comportement désigne l'apparition chez l'insecte d'une aptitude à éviter une dose d'insecticide qui serait létale pour lui".

On distingue trois types de changement de comportement chez les insectes, à la suite de l'emploi d'insecticides (HAMON 1963). Il peut s'agir de changements temporaires qui disparaissent au cours des années suivant l'abandon du produit : l'insecte irrité par l'insecticide, s'envole plus ou moins rapidement des surfaces traitées et les tendances exophages et zoophiles semblent augmenter chez les survivants, COLUZZI (1958).

Dans le deuxième type, on constate une augmentation de l'irritabilité naturelle aux insecticides, les insectes évitant de plus en plus rapidement les surfaces traitées; seule, une fraction réduite de la population est tuée par l'insecticide. Ce phénomène reste d'ailleurs à prouver : chez A. gambiae et A. funestus au nord Cameroun, l'irritabilité n'était pas différente chez les souches provenant de régions non traitées et de zones traitées au DDT depuis 7 ans (MOUCHET et al., 1961).

Dans un troisième type enfin, l'emploi massif de certains insecticides semble entraîner une modification de comportement durable qui persiste après l'arrêt des campagnes insecticides et se manifeste dans les habitations non traitées. En fait, très souvent, on a pu prouver que l'on se trouvait en présence d'espèces jumelles dont l'une était anthropophile et l'autre zoexophile. La première était détruite, seule la seconde persistait. Au Swaziland, notamment après plusieurs années de traitement au DDT, Anopheles gambiae était, dit-on, devenu exophile et zoophile, n'entrant plus dans les maisons. En fait, on put montrer qu'il existait à l'origine un mélange d'A. gambiae B relativement anthropophile et d'A. gambiae C strictement zoophile. La première forme ayant disparu, seule la seconde peu vulnérable au DDT de par son comportement persistait. D'ailleurs, après plusieurs années d'arrêt de traitement, un retour à la situation initiale s'observe. A Madagascar, de même, CHAUVET et al. (1973) ont observé des variations dans la composition des populations d'A. gambiae au niveau d'un village à la suite de traitements insecticides. Avant le traitement, l'espèce A était présente et probablement anthropophile, l'espèce B anthropozoophile. Après traitement, il y eut diminution très nette de l'espèce A et sélection des individus essentiellement zoophiles et exophiles de l'espèce B. L'arrêt des traitements entraîna une reconstitution lente de la population initiale. Dans tous les cas mentionnés, il est difficile de parler vraiment de résistance dans ces cas de comportement, mais ce fut souvent une excuse aux échecs des campagnes antipaludiques; en fait, la plupart de ces phénomènes de comportement apparaissent dès les premiers traitements et ne

s'amplifient pas au cours des traitements successifs, ce qui se produirait en cas de résistance. Nous souhaiterions que le terme de résistance soit réservé à la résistance physiologique : celle qui donne la faculté de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet létal sur la majorité des individus.

Cette faculté héréditaire est commandée par un système génétique correspondant à un équipement enzymatique spécifique d'un produit donné qui peut, de même, déterminer la résistance croisée à tous les membres d'un groupe chimique d'insecticides donné (à tous les organophosphorés par exemple, au DDT et à ses analogues etc...)

La première explication biochimique de la résistance a été fournie par STENBURG et KEARNS (1950). Ces auteurs ont découvert que chez les mouches résistantes, le DDT se transformait en DDE métabolite qui n'est plus toxique pour l'insecte, par deshydrochlorination en présence de deshydrochlorinase. D'après les expériences de FAY (1956) sur adultes d'Aedes aegypti et de ABEDI et al. (1963) sur les larves, on a pensé que le mécanisme de résistance au DDT chez ce Culicidae consistait en une détoxification rapide du DDT en DDE. Le métabolite DDE est présent dans toutes les souches sensibles, mais dans celles qui sont résistantes, le taux est plus important.

BROWN et PERRY (1956) démontrent que des larves d'une souche résistante de Trinidad, produisaient un taux de DDE très élevé, contrairement à une souche sensible. Des études faites par PERRY (1966) sur des souches américaines et par HOOPER (1968) sur des souches australiennes, toutes deux sensibles au DDT, ont démontré que ces souches produisaient du DDE comme métabolite unique et que un cinquième de la CL50 étaient métabolisés par cette voie. Le seul métabolite décélé lors de ces observations était le DDE, à l'exception d'une trace de dicofol chez la souche très résistante de Trinidad (ABEDI et al., 1963). Dans la même étude, il a été démontré que les souches résistantes au DDT présentent une résistance croisée à l'o-chloro-DDT et que le métabolite décélé est l'o-chloro-DDE. Les souches résistantes produisent davantage de DDE et d'o-chloro-DDE que les souches sensibles. Cette production "in vivo" peut être réduite par l'adjonction de chlorfénethol agissant comme un synergisant. Cependant, PILLAI et al. (1963) trouvent que les souches sensibles réalisent une faible déchlorhydratation du 2-deutéro-DDT et produisent, à partir de cet insecticide, deux fois moins de DDE que les souches résistantes. La DDT-déhydrochlorhydrase n'a pas été démontrée "in vitro" chez l'Aedes aegypti

en utilisant les méthodes suivies avec succès dans le cas de la mouche domestique (BROWN, 1956), sauf en préparant les homogénats en présence de glutathion et d'azote, (KIMURA et BROWN, 1964). Ces derniers auteurs ont trouvé aussi sur des souches des Antilles que le taux d'enzyme était à peu près proportionnel à la résistance au DDT et que l'on pouvait l'inhiber en utilisant le WARF anti-résistant (N-di-n-butyl-p-chlorobenzensulfonamide) et le chlorfénethol.

L'excrétion d'une grande partie de la membrane péritrophique et de son contenu en DDT, a été un phénomène observé sur des larves résistantes des Antilles, mais qui n'a pas été remarqué chez les souches sensibles de la même origine, ni chez une souche de Penang résistante au DDT après sélection (ABEDI et BROWN, 1961). Une exception à toutes ces expériences est le cas décrit par McDONALD (1974) dans lequel il ne décèle pas la présence du DDE chez une souche très résistante d'Aedes aegypti.

Du point de vue génétique, la résistance au DDT est sous la dépendance d'un gène majeur unique [BANG et al. (1971); BROWN et PAL (1973)]

En croisant une souche de Trinidad d'Aedes aegypti résistante au DDT avec une souche sensible d'Afrique occidentale, COKER (1958), on a pu constater que les hybrides offraient une résistance intermédiaire. En croisant les hybrides entre eux, ou en effectuant des croisements en retour avec l'un ou l'autre des types parentaux, on a également noté que les chiffres mortalité-dose de la F2 et des produits des croisements en retour, étaient en accord avec les chiffres théoriques correspondant aux proportions 1 : 2 : 1 et 1 : 1, ce qui indiquait donc la présence d'un gène unique. Il a aussi retrouvé un gène analogue dans une souche provenant d'Haïti, mais il a constaté que le gène présent dans une souche originaire de Malaisie était différent, car la F2 du croisement inter-souches accusait une variance beaucoup plus élevée que la F1. QUTUBUDDIN (1958), en opérant avec la même souche de Trinidad, a réussi à faire une sélection pour la résistance au DDT et en soumettant des larves à des doses discriminatoires de 0,5 p.p.m. et 10 p.p.m., il a constaté que les proportions pour la F2 et les produits du croisement en retour, étaient respectivement voisines de 1 : 2 : 1 et 1 : 1, confirmant ainsi que la résistance était due essentiellement à l'action d'un gène unique tel qu'il avait été démontré par COKER.

Chez Aedes aegypti, l'existence de souches marquées comportant des mutants visibles, a permis de localiser les gènes de résistance dans les groupes de linkage et par la suite sur les chromosomes. TSUKAMATO (1964) a pu

mettre en évidence que l'influence relative de chacun des chromosomes sur un type de résistance, peut être déterminée au moyen de l'analyse factorielle. Des recherches de plus en plus poussées, effectuées sur plusieurs souches résistantes, ont permis de mettre en évidence l'influence des gènes auxiliaires dans l'expression de chaque type de résistance et, en particulier, de la résistance au DDT.

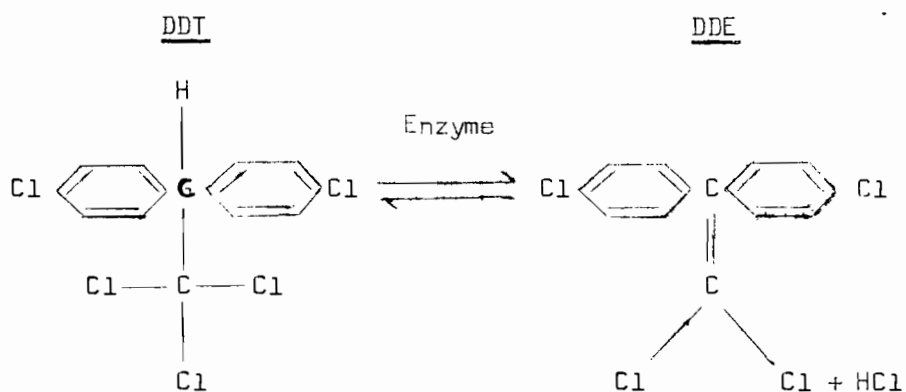
WOOD (1965), en étudiant les modalités génétiques de la résistance au DDT d'une souche de la Trinité, décéla lors d'un croisement à paire unique, l'existence d'un facteur lié au sexe, affectant la résistance.

WOOD (1967 et 1970), révèle une différence dans la localisation des gènes de résistance au DDT. Chez les larves, ils sont localisés dans le linkage du groupe II, mais chez les adultes ils sont contrôlés par un gène du groupe III. Cependant, MARGHAM et al. (1975) ont trouvé que chez les adultes de la souche Bangkok-HR résistante, il y a deux groupes de linkage qui commandent le phénomène et qui sont placés sur le groupe II et III.

D'après BUSVINE (1971), l'augmentation de gènes importants pour plusieurs mécanismes de résistance différents, expliquerait le phénomène d'une résistance croisée peu développée ou tolérance de vigueur.

### 2.3.2. Interprétation biochimique de la résistance à l'OMS 1476

L'analogie des formules entre le DDT et l'OMS 1476 au niveau du groupe trichloroéthane supporte l'hypothèse d'un processus biochimique identique dans les résistances aux deux composés; ainsi s'expliqueraient que les spectres de sensibilité aux deux insecticides soient superposables. La déhydrochlorination observée dans la résistance au DDT se déroule suivant le schéma ci-dessous :





### 3. ACTION DES INSECTICIDES BIOLOGIQUES ALTERNATIFS

#### 3.1. PRODUITS ENVISAGEABLES

Les limitations législatives ou opérationnelles des insecticides ont stimulé les recherches pour la mise au point de techniques alternatives d'ordre écologique, génétique ou biologique. D'ailleurs, dans le domaine agricole, la lutte biologique seule ou intégrée à d'autres pratiques, a obtenu nombre de succès. En santé publique les résultats ont été plus modestes et seules les introductions de poissons larvivores ou de Toxorhynchites, moustiques à larves prédatrices de culicidés ont été réalisées avec des succès difficiles à évaluer au plan épidémiologique.

Pourtant, l'O.M.S., Rapp. Techn. n° 561 (1975), consciente des problèmes actuels de la lutte contre les vecteurs et soucieuse de son avenir n'a pas manqué d'encourager la lutte intégrée. Pour qu'elle devienne une réalité il est indispensable d'avoir réellement des techniques génétiques ou biologiques efficaces à adjoindre ou à substituer à la lutte chimique. Or, jusqu'ici la plupart sont encore du domaine expérimental quand ce n'est pas spéculatif. Il est donc nécessaire de développer les recherches dans toutes les directions et de les orienter vers une application rapide. A cet égard, les agents pathogènes des insectes constituent un volet intéressant. Ils se trouvent dans des groupes taxonomiques très divers : virus iridescents de maniement difficile, bactéries, champignons, protozoaires et nématodes.

Plusieurs espèces de bactéries provoquant des septicémies léthales chez les larves de moustiques ont été isolées par CHAPMAN et al. (1967, 1969), MILLER et al. (1970) et MUSPRATT (1965).

ROGOFF et al. (1969) travaillant sur des souches de Bacillus thurengiensis ont constaté que trois d'entre elles étaient actives contre Musca domestica et Culex p. fatigans. KELLEN et al. (1965) ont de même établi l'activité de Bacillus sphaericus, bactérie voisine de la précédente sur plusieurs espèces de Culex, Culiseta, Aedes et Anophèles. Des essais de portée limitée sur le terrain et des expériences au laboratoire sont en cours. SINGER (1966). C'est précisément sur cet agent pathogène qu'ont porté nos travaux en utilisant les Stegomyia comme cibles. Actuellement, B. sphaericus est considéré comme un des agents les plus prometteurs pour la lutte biologique. Bacillus bicrystalliferous a été isolé des larves de Culex tarsalis et Aedes aegypti en Californie ; il s'est révélé expérimentalement actif sur Aedes nigromaculis, REEVES et al. (1970, 1971). Au laboratoire, JENKINS (1964) a dénombré que 47 espèces de champignons étaient pathogènes pour les moustiques. Beauveria bassiana a une action effective sur les larves d'Anophèles et Culex, mais est inoffensif pour les adultes, CLARK et al. (1968). SANDERS (1972) a observé que dans

les trous d'arbres de Californie, 96% des larves d'Aedes sierrensis étaient infectées par Beauveria tenella. Des essais au laboratoire confirment l'éventualité de son utilisation pour la lutte contre d'autres espèces d'Aedes, Culex et Culiseta. Dans la nature Metarrhizium anisopilae infeste plus de 200 espèces d'insectes. Il a été démontré que ses spores et toxines A et B sont pathogènes pour les larves de Culex, Aedes et Anophèles, ROBERT (1967, 1970). Au laboratoire HUSAN et VAGO (1973) ont isolé Fusarium oxysporum à partir d'Aedes detritus et obtinrent 30% de mortalité sur les larves de cette espèce et de Culex pipiens pipiens. Plusieurs espèces de Coelomomyces ont été signalées sur Aedes, Aedomyia, Anophèles, Culex, Culiseta, Psorophora et Uranotaenia par CHAPMAN et WOODARD (1966), FILLAI (1969), ROMNEY et al (1971). Leur maintenance au laboratoire a été possible dans le cas de Coelomomyces punctatus sur Anophèles quadrimaculatus, COUCH (1967) et de Coelomomyces indicus sur Anophèles gambiae, pendant un temps considérable, MADELIN (1968).

Dans la nature, 22 espèces différentes de moustiques appartenant aux genres Aedes, Anophèles, Culiseta, Orthopodomyia, Psorophora et Uranotaenia ont été trouvées infestées de nématodes, PETERSEN et al. (1969, 1971), CHAPMAN et al. (1967<sup>a</sup>, 1970). Ces parasites se classent dans les genres: Reesimermis, Perutilimermis et Diximermis récemment redécrits par NICKLE (1972); Leurs cultures au laboratoire faites par PETERSEN et al. (1967, 1968, 1970) ont permis définir, dans quelques cas, leurs préférences éthologiques: pour Reesimermis nielsenii, Culex pipiens fatigans; pour Perutilimermis culicis, Aedes sollicitans et pour Diximermis peterseni, Anopheles quadrimaculatus. De plus, les études sur R. nielsenii ont permis d'établir la sensibilité au parasite de son hôte et les facteurs écologiques de l'infestation. Des infestations très élevées ont été observées sur des adultes d'Aedes vexans au Canada, TRPIS et al. (1968) et d'Aedes sollicitans, PETERSEN et al. (1969<sup>a</sup>).

Les expériences de terrain menées en Louisiane par PETERSEN et al. (1972) ont donné une première idée de l'efficacité de ces nématodes dans la lutte anticulicidienne; 65% des larves d'anophèles, spécialement Anopheles crucians, collectées entre un à trois jours après le traitement étaient parasitées. Par contre, à Taiwan, des essais au laboratoire et sur le terrain, ont permis de montrer que certaines espèces: Culex annulus, Culex fuscocephalus, et Culex tritaeniorhynchus summorosus, étaient plus ou moins réfractaires à Reesimermis nielsenii, MITCHELL et al. (1972).

Les protozoaires ont aussi leur place dans l'avenir de la lutte biologique; 33 espèces sont mentionnées comme parasite d'insectes par JENKINS (1952). Différentes microsporodies ont été signalées par CHRISTOPHERS

(1952) chez les larves et adultes de moustiques. En fait, leur présence chez les moustiques est connue depuis très longtemps, KUDO (1924, 1925). Diverses révisions ont été faites jusqu'ici, notamment par KUDO (1960) et CHAPMAN et al. (1970).

Les genres Nosema, Pleistophora stempellia et Thelohama ont été isolées chez les larves de moustiques par KELLEN et al. (1966). La transmission transovarienne de Pleistophora caecorum chez Culex inornata et de Stempellia magna chez Culex restuans, a été observée au laboratoire par CHAPMAN et al. (1967<sup>b</sup>) et WILLS et al. (1965).

Dans l'île de Nauru, REYNOLDS (1972) a tenté l'introduction de Pleistophora culicis pour lutter contre Culex pipiens fatigans : les parasites ont persisté pendant deux ans puis ont spontanément disparu sans que leur impact sur les populations locales de moustiques ait été apprécié. Au laboratoire, des virus isolés sur des moustiques ont montré une certaine efficacité contre les Aedes, WEISER (1965).

Un virus iridescent (M.I.V.) a été isolé d'Aedes taeniorhynchus par CLARK et al. (1965) et CHAPMAN et al. (1966). La transmission expérimentale de ce virus au même Aedes a été réalisée par LINLEY et al. (1968). L'infection primaire du M.I.V. se fait au niveau du corps gras, du disque imaginal et de l'épithélium tracheal, HALL et ANTHONY (1971) ; la destruction totale du corps gras entraîne la mort des spécimens avant la nymphe, généralement au 4ème stade larvaire, WOODARD et CHAPMAN (1960).

En Tunisie, VAGO et al. (1969) ont collecté des Aedes detritus infectés par virus iridescent. CHAPMAN et al. (1966<sup>a</sup>, 1969) ont signalé le même type d'infection chez Aedes fulvus pallens, Aedes dorsales, Aedes vexans, Psorophora ferox, Psorophora horrida et Psorophora confinnis. ANDERSON (1970) l'a isolé de larves d'Aedes stimulans. L'infection au laboratoire de 13 espèces d'Aedes, Culex, Psorophora, Culiseta et Anophèles avec le virus iridescent Chilo (C.I.V.) issu de Chilo suppressalis (Lepidoptère) a été obtenue par FUKUDA (1971). Deux types de polyhedroses ont été rapportés chez les moustiques. Une est causée par un virus polyhédrique, caractérisé par des corps à inclusion tétragonale ; elle est signalée par KELLEN et al. (1963, 1966<sup>a</sup>) chez Culex tarsalis et se cantonne au cytoplasme. L'autre est due à un virus nucléaire isolé sur Anopheles subpictus, DASGUPTA et RAY (1957). Les caeca gastriques et le mesenteron d' Aedes sollicitans sont infestés par le virus polyhédrique nucléaire (M.V.P.), tandis que chez Culex salinarius ils le sont par le virus cytoplasmique, CLARK et CHAPMAN (1969), CLARK et al. (1969<sup>a</sup>).

En conclusion, il faut remarquer que dans la majorité des cas, il n'y a pas encore de preuves suffisantes pour permettre d'utiliser de façon

opérationnelle les agents pathogènes dans la lutte contre les vecteurs. D'autre part, l'introduction dans un milieu naturel d'un organisme extérieur, peut provoquer des désordres écologiques aussi importants que les insecticides et souvent irréversibles, O.M.S. Rapp. techn. n° 561 (1975). Aussi, l'O.M.S. entreprend t-elle de codifier les expériences préalables à l'utilisation des agents pathogènes, tant pour évaluer leur efficacité vis-à-vis des vecteurs, que pour s'assurer de leur innocuité pour les organismes non cible, dont l'homme, et pour le milieu naturel d'une façon plus générale. Le travail que nous avons exécuté s'insère dans ces expériences préliminaires.

### 3.2. BACILLUS SPHAERICUS DANS LA LUTTE CONTRE LES LARVES DE MOUSTIQUES

#### 3.2.1. Travaux antérieurs sur B. sphaericus

Nos essais ont débuté en novembre 1974, après le passage du Pr J.D. BRIGGS de l'Ohio State University, en mission O.M.S, qui désirait tester sur nos souches de moustiques l'action de B. sphaericus. Les tests préliminaires ayant montré tout l'intérêt de ce type de recherches, il fut décidé de les poursuivre avec ce chercheur et avec le Pr Samuel SINGER de la Western Illinois University, qui nous ont approvisionnés en cultures microbiennes stabilisées.

Le B. sphaericus expérimenté est voisin de B. thuringiensis employé dans la lutte biologique en agriculture. Il a été isolé de larves de moustiques collectées en Inde, Philippines et Indonésie et cultivées pendant plusieurs mois.

En 1965, KELLEN et al. avaient décrit l'infection de B. sphaericus sur larves de Culiseta incidens en Californie et décelé une très haute activité insecticide sur 10 autres espèces de moustiques. Plus tard, SINGER (1973) a isolé une souche, la SS II-1, qui est approximativement 10.000 fois plus active pour les larves de Culex pipiens fatigans. L'examen histopathologique préliminaire des larves infectées avec la souche SS II-1 provenant de New-Delhi, DAVIDSON et al. (1975) a montré que les cellules d'inclusion de la bactérie, après la mort de la larve, sont normalement réduites à la membrane péritrophique de l'appareil digestif. Mais celles observées dans le proctodeum se trouvent dans le lumen, cette partie de l'intestin se montrant particulièrement gonflée. Les cellules de l'appareil digestif sont rarement envahies par le Bacillus avant la mort de la larve. KELLEN et al. (1965) ont décrit une histopathologie similaire mais, ils ont remarqué une invasion de l'hémocoèle quand la larve est moribonde.

SINGER (1973) a noté que l'activité insecticide était plus grande quand la culture avait été faite en milieu liquide synthétique et utilisée 24h après. L'efficacité paraissait plutôt être en rapport avec l'infec-

tion elle même qu'avec une toxine. Mais il est possible que quelques toxines particulières aient été impliquées.

Pour détecter la période du cycle de la bactérie où elle devient infectante, des échantillons de culture ont été prélevés pendant le cycle végétatif et pendant la sporulation. Cette expérience a permis d'observer qu'elle se situait à la fin de la croissance et de la division végétative des cellules et au début du cycle de sporulation. Le maximum d'activité insecticide de B. sphaericus était atteint au milieu du processus de sporulation puis elle diminuait de 1/3 à 1/10 de sa valeur. Elle était plus grande quand la multiplication des cellules était synchrone ; dans la majorité des cas, celle-ci se fait par sporulation. Les préparations qui contenaient seulement les spores ou les cellules végétatives étaient beaucoup moins actives. La pathogénicité était détruite par la chaleur et en général par tout agent agissant sur l'intégrité de la cellule. Le traitement au chloroforme tuait les formes végétatives et celles en sporulation, mais ne lésait pas les spores.

La multiplication du B. sphaericus chez la larve ne paraît pas nécessaire au phénomène de pathogénèse. Les préparations pures de spores de la souche SS II-1 obtenues par sélection clonale possèdent une très haute activité, GOLDER et al. (1974).

Les dosages léthaux moyens ( $DL_{50}$ ) ont été établis dans un premier essai avec des cultures contenant entre  $10^7$  et  $10^8$  cellules par ml en milieu liquide, KELLEN et al. (1965). Puis SINGER (1973) a utilisé une culture de SS II-1 contenant  $10^4$  cellules par ml sur Culex p. var. quinque-fasciatus. Puis, GOLDERS et al. (1974) ont observé pour Culex tarsalis une  $DL_{50}$  de 700 cellules/ml d'une culture de sélection clonale faite en N2X agar ("nutrilite agar").

### 3.2.2. Matériel et méthodes de l'expérimentation

Le matériel est constitué de :

- a) Larves de 2ème stade d'Aedes aegypti, Aedes polynesiensis, Aedes albopictus et Culex pipiens fatigans
- b)-Béchers en plastique de 225 ml chacun  
-pipettes de 5 cc et 1 cc.
- c) Eau permutée
- d) Suspensions de B. sphaericus

1/ souche isolée de larves de moustiques de New-Delhi, Inde

SS II-1	(23-10-74)	(D. BRIGGS)
SS II-1	(1-3-75)	(S. SINGER)
SS II-1	(20-3-75)	" "
SS II-1	(8-4-75)	" "

2/ souche isolée de larves de moustiques des Philippines

104-9-24 B	( 1-3-75)	(S. SINGER)
104-9-24 B	(20-3-75)	" "
104-9-75 B	( 8-4-75)	" "

3/ souche isolée de larves de moustiques d'Indonésie

1593-4	( 1-3-75)
1593-4	(20-3-75)
1593-4	( 8-4-75)

Une mesure de densité de germes dans deux milieux de culture a été exécutée au laboratoire de Microbiologie des S.S.C.

- la 104-9-24 B (8-4-75) considérée comme "active" contenait  $2,7 \times 10^8$  germes/gramme de solution ( $1g \neq 1cm^3$ )
- la SS II-1 (8-4-75) considérée comme "peu active" contenait  $3,8 \times 10^8$  germes/gramme de solution ( $1g \neq 1cm^3$ )

Le protocole des essais avait été élaboré en collaboration avec John D. BRIGGS.

Pour chaque expérience, on a placé des lots de 10 larves dans des béchers contenant 45ml d'eau permutée et 5ml de la culture diluée. Les dilutions utilisées ont varié en fonction de la sensibilité des espèces.

A) - Pour Aedes aegypti et Aedes albopictus

Quatre séries A-B-C-D- de 7 béchers (contenant 45ml d'eau permutée) numérotés de 1 à 7 sont disposés sur la paillasse. Pour chaque série, on ajoute dans le n° 1, 5ml de la suspension "mère". Après avoir bien agité, on prend 5ml du contenu du n° 1 et on les verse dans le n° 2. On procède de même jusqu'au bécher n° 6 pour toutes les séries ; on obtient une série de dilution en progression géométrique dégressive de raison 10.

~~LE BÉCHER N° 7~~  
La dilution la plus élevée est prise comme témoin.

Dans les essais avec Aedes aegypti et Aedes albopictus, les deux séries de béchers contenant les plus hautes concentrations sont éliminées. Les larves sont placées dans des solutions allant de la concentration  $10^{-3}$  à  $10^{-6}$ .

B) - Pour Aedes polynesiensis

On teste avec des concentrations allant de  $10^{-2}$  à  $10^{-6}$ .

C) - Pour Culex pipiens fatigans

Pour cette espèce plus sensible, on a utilisé des concentrations allant de  $10^{-4}$  à  $10^{-8}$ .

Le contrôle de mortalité est fait toutes les 24h pendant 168h, jusqu'au moment où se déclenche la nymphose. Dans nos premiers essais, nous avons observé la mortalité pendant 96h seulement, puis nous avons décidé de poursuivre jusqu'à la nymphose pour nous assurer qu'il n'y avait pas de trouble du développement. De même, nous avons pu constater que les adultes

obtenus à partir de nymphes survivantes, 4 n'étaient pas altérés.

La température pendant toutes les expériences est comprise entre 24°C et 25°C.

### 3.2.3. Résultats

A partir des mortalités observées (tableaux 12 à 24), nous avons tracé la ligne de régression à vue sur papier gauss-logarithmique, afin de pouvoir déterminer la  $DL_{50}$ . Les résultats sont reportés sur les graphiques 8 à 10. En fait, pour une concentration donnée, ce que nous avons déterminé est le temps léthal 50 ( $TL_{50}$ ), temps au bout duquel on observe une mortalité de 50% avec une concentration donnée qui est également précisée dans les tableaux de résultats. Lorsque nous citons les résultats d'autres auteurs, cette notion n'est pas toujours très claire, mais on peut dégager les mêmes paramètres.

Essais avec la souche SS II-1-102-A-2 (23-10-74) :

Nous avons testé des larves de Culex pipiens fatigans, Aedes albopictus, Aedes polynesiensis et Aedes aegypti. Les valeurs respectives du temps léthal 50 avec les dilutions données sont reportées dans le tableau 26. Les dilutions plus élevées n'ont pas permis d'obtenir 50% de mortalité. La souche avait été utilisée deux mois après sa préparation.

Essais avec les souches :

SS II-1	(1-3-75), (20-3-75), (8-4-75)	
104-9-24B	(1-3-75), (20-3-75), (8-4-75)	sur larves d' <u>Aedes aegypti</u>
1593-4	(1-3-75), (20-3-75), (8-4-75)	

Les  $TL_{50}$  obtenues sont présentées dans le tableau 27. Les souches ont été utilisées un mois après leur préparation.

Etant donné que dans beaucoup d'expérience, il n'a pas été possible d'obtenir 50% de mortalité avec la plupart des dilutions, nous avons également utilisé le  $TL_{10}$ , temps au bout duquel il y avait 10% de mortalité qui permet pratiquement une comparaison entre toutes les souches de pathogènes et de moustiques (tableau 28).

La vitesse d'action ainsi mesurée par la  $TL_{10}$  montre la diversité de réactions des différentes espèces de moustiques. Cette vitesse est remarquable pour la souche 1409-9-24 B (8-4-75) qui trouve sa  $TL_{10}$  à des dilutions de  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  avant 24h. Pour la souche 1593-4 (1-3-75),  $TL_{10}$  est située dans la même période mais avec une dilution de  $10^{-3}$ . D'autre part, le fait que les souches aient été stockées pendant un certain temps, peut aussi avoir de l'importance et faire varier les résultats en fonction de l'âge des Bacillus. On pourrait de cette façon expliquer les variations trouvées entre les résultats obtenus sur les mêmes souches par SINGER et BRIGGS d'une part, et nous d'autre part.

TABLEAU N° 12 - Pourcentage de mortalité de larves de Culex fatigans en présence de Bacillus sphaericus (souche SS II-1-102-A2 (20.10.74)).

TEMPS (HEURES)	DILUTION					TEMOIN
	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	
24	0	7,5	0	0	0	0
48	30	20	12,5	10	0	0
72	40	27,5	15	22,5	0	0
96	60	27,5	17,5	25	7,5	0

TABLEAU N° 13 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes polynesiensis en présence de Bacillus sphaericus (souche SS II-1-102-A2 (20.10.74)).

TEMPS (HEURES)	DILUTION					TEMOIN
	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	
24	7,5	0	0	0	2,5	0
48	20	7,5	0	0	2,5	2,5
72	70	22,5	15	0	7,5	2,5
96	92,5	35	15	7,5	10	2,5

TABLEAU N° 14 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes aegypti en présence de Bacillus sphaericus (souche SS-II-1- (20.3.75)

TEMPS (HEURES)	DILUTION					TEMOIN
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>		
24	2,5	0	2,5	7,5	0	
48	30	25	10	15	0	
72	40	25	17,5	15	0	
96	42,5	30	22,5	22	2,5	
120	42,5	30	22,5	27,5	2,5	
144	42,5	30	22,5	27,5	2,5	
196	42,5	30	22,5	27,5	2,5	

TABLEAU N° 15 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes aegypti en présence de Bacillus sphaericus (souche SS-II-1 (1.3.75)

TEMPS (HEURES)	DILUTION					TEMOIN
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>		
24	2,5	2,5	2,5	5	2,5	
48	17,5	7,5	7,5	12,5	2,5	
72	45	15	10	12,5	2,5	
96	55	17,5	12,5	17,5	5	
120	55	17,5	12,5	17,5	5	
144	55	17,5	12,5	17,5	5	
196	55	17,5	12,5	17,5	5	

TABLEAU N° 16 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes aegypti  
en présence de Bacillus sphaericus (souche SS-II-1  
(8.4.75)

TEMPS (HEURES)	DILUTION				
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	TEMOIN
24	5	2,5	5	0	0
48	10	7,5	10	2,5	2,5
72	17,5	7,5	10	7,5	2,5
96	17,5	15	15	7,5	2,5
120	17,5	15	15	7,5	2,5
144	20	15	17,5	10	2,5
196	20	15	20	10	2,5

TABLEAU N° 17 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes aegypti  
en présence de Bacillus sphaericus (souche SS-II-1-102  
(23.10.74)

TEMPS (HEURES)	DILUTION				
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	TEMOIN
24	0	0	0	0	0
48	7,5	0	0	0	0
72	12,5	7,5	10	0	0
96	17,5	10	12,5	0	0

TABLEAU N° 18 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes aegypti  
en présence de Bacillus sphaericus (souche 1404-9-24 B  
(20.3.75)

TEMPS (HEURES)	DILUTION				TEMOIN
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
24	7,5	7,5	10	2,5	0
48	50	25	15	5	0
72	70	35	22	22	0
96	80	37,5	27,5	27,5	0
120	80	40	27,5	27,5	0
140	80	40	27,5	27,5	0
168	80	40	35	27,5	0

TABLEAU N° 19 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes aegypti  
en présence de Bacillus sphaericus (souche 1404-9-24 B  
(1.3.75)

TEMPS (HEURES)	DILUTION				TEMOIN
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
24	0	2,5	5	2,5	0
48	20	7,5	7,5	7,5	0
72	32	12,5	10	15	0
96	35	22,5	15	17,5	0
120	35	22,5	15	17,5	0
144	35	22,5	15	17,5	0
196	35	22,5	15	17,5	0

TABLEAU N° 20 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes albopictus  
 en présence de Bacillus sphaericus (souche SS-II-1-102-A-2  
 (23.10.74)

TEMPS (HEURES)	DILUTION				TEMOIN
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
24	15	0	0	0	0
48	55	2,5	0	0	0
72	70	12,5	0	0	0
96	92,5	17,5	0	0	0

TABLEAU N° 21 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes aegypti  
 en présence de Bacillus sphaericus (souche 1404-9-24 B  
 (8.4.75)

TEMPS (HEURES)	DILUTION				TEMOIN
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
24	12,5	2,5	15	12,5	0
48	65	25	15	12,5	0
72	85	37,5	20	25	0
96	85	40	20	30	0
120	87,5	40	22,5	30	0
144	87,5	40	22,5	30	0
168	89,9	40	22,5	30	0

TABLEAU N° 22 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes aegypti en présence de Bacillus sphaericus (souche 1593-4- (1.3.75)

TEMPS (HEURES)	DILUTION				TEMOIN
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
24	15	10	0	0	0
48	20	22	10	7,5	0
72	32	30	22	17,5	0
96	37	35	22	20	0
120	37	35	22	20	0
144	37	35	22	20	0
168	37	35	22	20	0

TABLEAU N° 23 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes aegypti en présence de Bacillus sphaericus (souche 1593-4 (20.3.75)

TEMPS (HEURES)	DILUTION				TEMOIN
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
24	5	2,5	0	2,5	2,5
48	22	10	2,5	5	2,5
72	27,5	15	2,5	5	2,5
96	30	20	2,5	7,5	2,5
120	32,5	20	2,5	7,5	2,5
140	32,5	20	2,5	7,5	2,5
168	32,5	20	7,5	7,5	2,5

TABLEAU N° 24 - Pourcentage de mortalité de larves d'Aedes aegypti  
en présence de Bacillus sphaericus (souche 1593-4  
(8.4.75)

TEMPS (HEURES)	DILUTION				TEMOIN
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
24	5	7,5	5	10	0
48	42,5	7,5	5	12,5	0
72	45	10	7,5	12,5	0
96	65	12,5	10	12,5	0
120	67,5	12,5	12,5	12,5	2,5
144	67,5	12,5	12,5	12,5	2,5
168	70	12,5	12,5	12,5	2,5

TABLEAU N° 26 - Réponse (TL50) et mesure de l'activité de la souche  
SS II-1-102-A2 (23.10.74) sur différentes espèces de  
Culicidae

ESPECE	DILUTION	TL50 (heures)
<u>Culex pipiens fatigans</u>	$10^{-4}$	72 - 96
<u>Aedes albopictus</u>	$10^{-3}$	24 - 48
<u>Aedes polynesiensis</u>	$10^{-2}$	48 - 72
<u>Aedes aegypti</u>	mortalité inférieure à 50% à toutes dilutions	-

TABLEAU N° 27 - Réponse (TL50) et mesure de l'activité des souches sur Aedes aegypti.

	SS II-1 (1.3.75)	1404-9-24B (1.3.75)	1593-4 (1.3.75)
DILUTION	$10^{-3}$		
TL50 Temps (heures)	72 - 96	Mortalité inférieure à 50% pendant toute la durée de l'expérience	Mortalité inférieure à 50%
	SS II-1 (20.3.75)	1404-9-24B (20.3.75)	1593-4 (20.3.75)
DILUTION		$10^{-3}$	
TL50 Temps (heures)	Mortalité inférieure à 50%	48 h	Mortalité inférieure à 50%
	SS II-1 (8.4.75)	1404-9-24B (8.4.75)	1593-4 (8.4.75)
DILUTION		$10^{-3}$	$10^{-3}$
TL50 (Temps (heures))	Mortalité inférieure à 50%	24 - 48	72 - 96

TABLEAU N° 27 - Mesure de la vitesse d'action par le TL10 sur différentes espèces de Culicidae en fonction des diverses dilutions

Bacillus sphaericus : SS II-1-102-A2 (23.10.74)

Espèce	Temps					
	0	24	48	72	96	120
<u>Culex pipiens fatigans</u>		$10^{-4}$ , $10^{-5}$ $10^{-6}$ , $10^{-7}$				
<u>Aedes albopictus</u>		$10^{-3}$	$10^{-4}$			
<u>Aedes polynesiensis</u>		$10^{-2}$	$10^{-3}$ , $10^{-4}$ $10^{-6}$			
<u>Aedes aegypti</u>		$10^{-3}$	$10^{-4}$ , $10^{-5}$			

Mesure de la vitesse d'action par le TL10 sur Aedes aegypti en fonction des diverses dilutions

Bacillus sphaericus

	Temps					
	0	24	48	72	96	120
SS II-1-(1-3-75)		$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$ , $10^{-6}$		
SS II-1-(20-3-75)		$10^{-6}$ , $10^{-3}$ , $10^{-4}$ $10^{-5}$				
SS II-1 (8-4-75)		$10^{-3}$		$10^{-4}$ , $10^{-5}$		$10^{-6}$
1404-9-24B (1-3-75)		$10^{-3}$	$10^{-4}$ , $10^{-6}$	$10^{-5}$		
1404-9-24B (20-3-75)		$10^{-5}$ , $10^{-3}$ , $10^{-4}$	$10^{-6}$			
1404-9-24B (8-4-75)	$10^{-5}$ , $10^{-6}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$			
1593-4 (1-3-75)	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$		
1593-4 (20-3-75)		$10^{-3}$	$10^{-4}$			
1593-4 (8-4-75)		$10^{-6}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$		

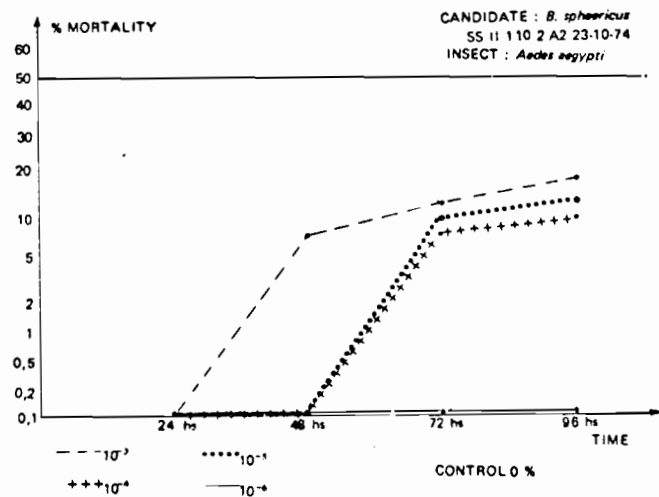
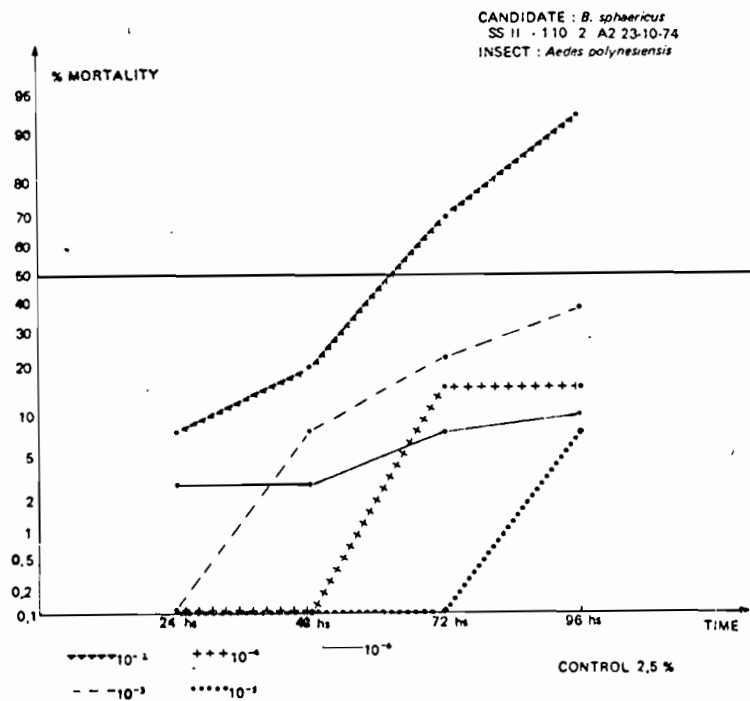
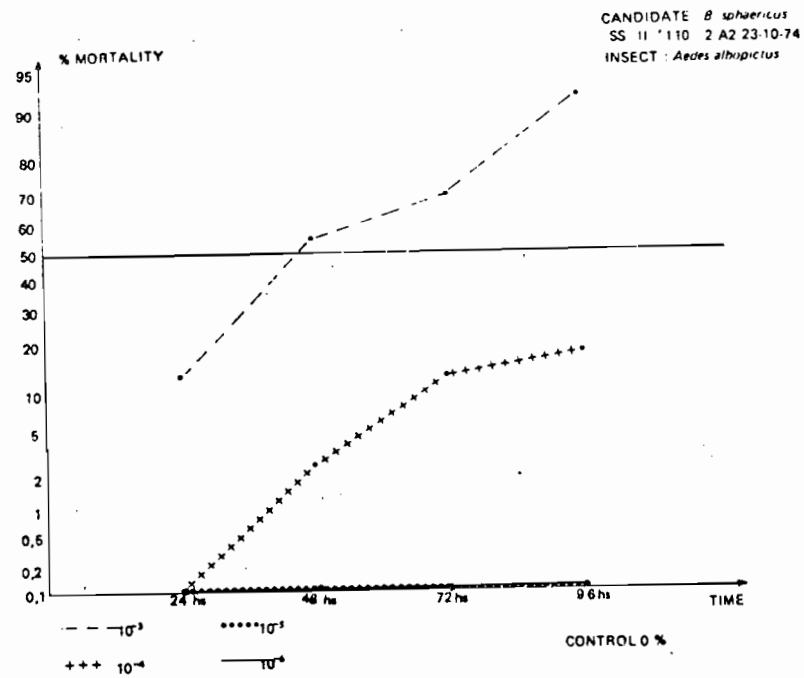
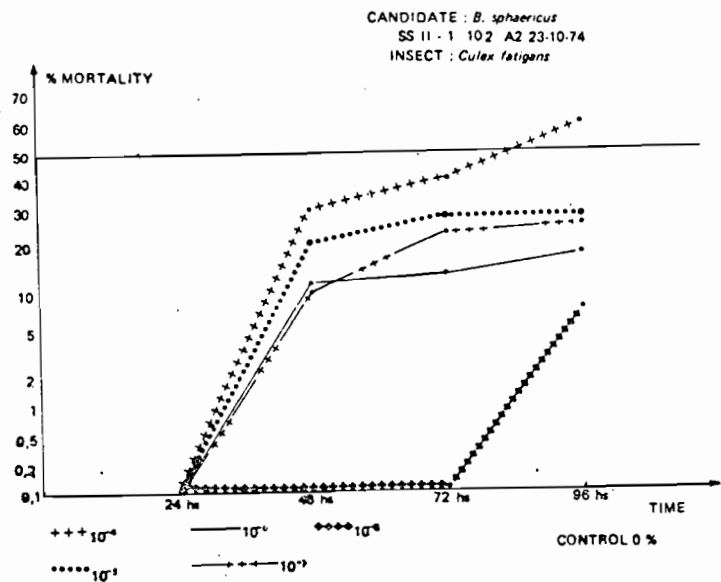
TABLEAU N° 28 - Tableau sur la sensibilité comparée au Bacillus sphaericus de souches

a) d'Aedes aegypti

	Travaux de SINGER	Essais à l'O.R.S.T.O.M. (Bondy)
1409-9-24B (1.3.75)	50% mort. à $10^{-6}$ en 48 heures	20% mort. à $10^{-6}$ (1.3.75) en 72 heures
1409-9-24B (20.3.75)		50% mort. à $10^{-3}$ (20.3.75) en 48 heures
1593-4 (1.3.75)		35% mort. à $10^{-3}$ (1.3.75) en 96 heures
1409-9-24B (8.4.75)	50% mort. à $10^{-8}$ en 48 heures	50% mort. à $10^{-3}$ en 24 - 48 heures
1593-4 (8.4.75)	50% mort. à $10^{-8}$ en 48 heures	50% mort. à $10^{-3}$ en 72 - 96 heures
SS II-1 (8.4.75)	50% mort. à $10^{-6}$ en 48 heures	10% mort. à $10^{-6}$ en 144 heures

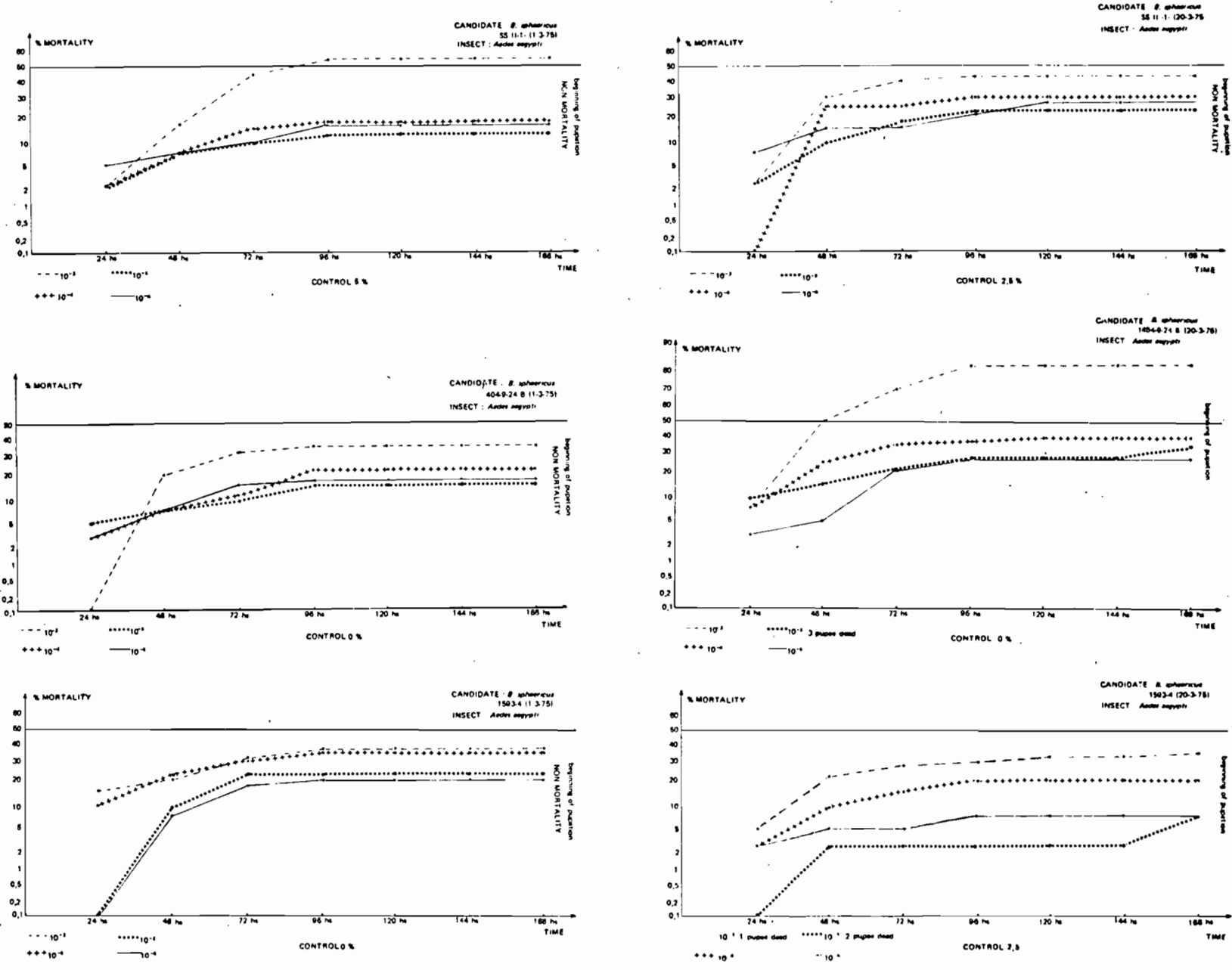
b) et de Culex pipiens fatigans

	Travaux de SINGER et BRIGGS	Essais à l'O.R.S.T.O.M. (Bondy)
SS II-1-102-A2 (23.10.74)	50% mort. à $10^{-8}$ en 48 heures	50% mort. à $10^{-4}$ en 72 - 96 heures

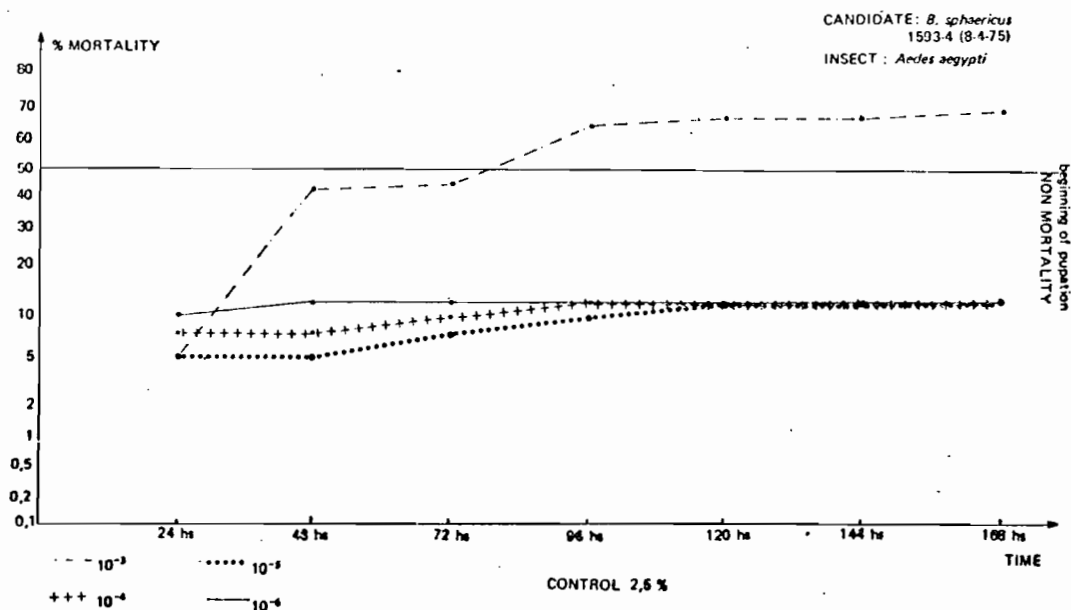
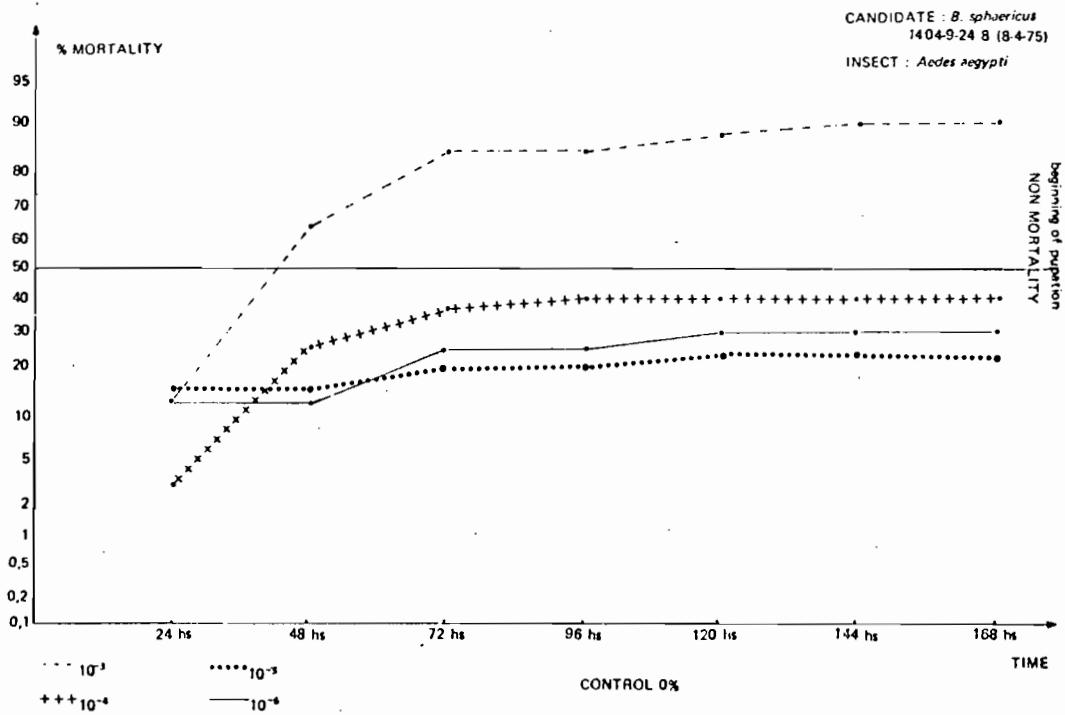
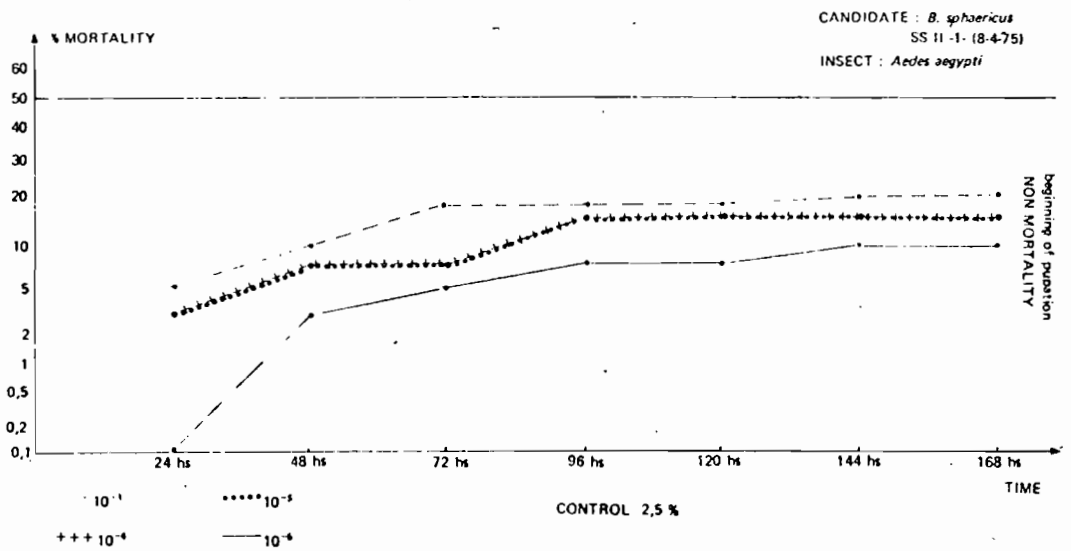


Graphique 8 - Lignes de regression de la sensibilité des larves de *Culex p. fatigans*, *Aedes albopictus*, *Aedes polynesiensis* et *Aedes aegypti* à la souche SSII-1-102-A2 (20.10.74) de *Bacillus sphaericus*.

Graphique 9 - Lignes de regression de la sensibilité des larves d'*Aedes aegypti* aux souches SSII-1 ; 1404-9-24B et 1593-4 (1.3.75 et 20.3.75) de *Bacillus sphaericus*.



Graphique 10 - Lignes de regression de la sensibilité des larves d'*Aedes aegypti* aux souches SSII-1, 1404-9-21B et 1593-4 (8-4-75) de *Bacillus sphaericus*.



La mortalité débute généralement au bout de 24h et augmente jusqu'à 72 à 96h ; ensuite, on ne constate plus de mortalité significative même au moment de la nymphose.

Etant donné que dans nos tests, la suspension contenant moins de germes par ml a provoqué une mortalité plus forte que celle qui a davantage de germes, il devient difficile de relier son activité au nombre de germes par ml. Par ailleurs, on a observé assez fréquemment que des dilutions élevées à  $10^{-5}$  ou  $10^{-6}$  ont provoqué une  $TL_{10}$  plus rapidement que des suspensions plus concentrées à  $10^{-3}$ . Cette observation va dans le même sens que la précédente et pose de sérieux problèmes que nous n'avons malheureusement eu ni le temps ni la possibilité de résoudre sur le mode d'action de Bacillus sphaericus.

Ces résultats confrontés à ceux de SINGER et BRIGGS (1974, 1975) -communication personnelle-, montrent certaines différences.

Ces auteurs ont obtenu avec les souches 1409-9-24 B (1-3-75) et 1593-4 (1-3-75), (20-3-75) 50% de mortalité à une dilution de  $10^{-8}$  avec Culex p. fatigans et de  $10^{-6}$  avec Aedes aegypti. Nos essais donnent des résultats différents au moins pour l'Aedes aegypti ; avec la dilution  $10^{-6}$ , nous n'avons jamais obtenu que 20% de mortalité au bout de 72h.

De nouvelles cultures de ces souches du 8-4-75 et une autre SS II-1 (8-4-75) ont aussi donné des résultats particulièrement intéressants sur l'Aedes aegypti, SINGER (1975) -communication personnelle-. Au bout de 48h, une dilution de  $10^{-6}$  de SS II-1 provoque 50% de mortalité ; des dilutions  $10^{-8}$  de 1593-4 et 1409-9-24 B donnent les mêmes résultats. Nous n'avons obtenu pour ces deux cultures 50% de mortalité qu'en utilisant des dilutions de  $10^{-3}$  au bout respectivement de 36 et 72h.

Avec la souche SS II-1-102 A2 du 23-10-74, Culex pipiens fatigans, nous n'obtenons 50% de mortalité qu'avec une solution 10.000 fois moins diluée que celle mentionnée par SINGER et BRIGGS -communication personnelle- ( $10^{-4}$  au lieu de  $10^{-8}$ ), tableau 29.

#### 3.2.4. Conclusion

Après comparaison de nos résultats avec ceux donnés par d'autres auteurs, on peut conclure que le Bacillus sphaericus se montre plus actif pour les larves de Culex que pour celles d'Aedes et que son activité varie suivant les espèces testées. Dans le cas présent, cette étude nous fait réfléchir sur les variations présentées par les diverses souches testées aussi bien par nous que par les autres auteurs. Il semble certain que le temps de stockage réduit l'activité et il est indispensable de stabiliser les cultures microbiennes de Bacillus sphaericus.

L'activité de la culture n'étant pas proportionnelle au nombre d'éléments qui s'y trouvent, il est permis de se poser quelques problèmes sur le mode d'action de cette bactérie. L'hypothèse d'une action des toxines rejetées par plusieurs auteurs devrait être réexaminée.

En fait, au cours de ces expériences, les résultats nous ont semblé par moment anarchiques. Avant d'aller plus loin vers l'utilisation sur le terrain, il semble nécessaire de définir une unité biologique d'action qui permette de déterminer exactement le degré d'activité des solutions "mères" comme cela existe pour beaucoup de composés biologiques dans le domaine pharmaceutique. La détermination de cette unité, du ressort du bactériologiste, semble difficile à établir sans une connaissance approfondie du processus de pathogénicité de la bactérie.

Dans un second temps, il conviendra d'examiner l'action du pathogène vis à vis des organismes non cibles.

La stabilisation des cultures est indispensable pour pouvoir disperser le produit. Car en fait l'organisme ne se reproduisant pas spontanément, il est nécessaire de l'épandre en traitement successif et il fonctionne comme un "insecticide biologique". Ceci a l'avantage de minimiser les risques pour l'environnement comparativement aux organismes qui s'automultiplient.

Les difficultés auxquelles se heurtent les expérimentateurs pour rendre opérationnel Bacillus sphaericus sont assez représentatives des problèmes que posera l'usage d'un agent pathogène en lutte biologique ou intégré. Aussi, le schéma de développement proposé par l'O.M.S. et copié sur celui des insecticides chimiques paraît-il tout à fait justifié.

#### 4 - CONCLUSION GENERALE

A l'heure où les hygiénistes connaissent de plus en plus de problèmes, soit du fait de la résistance des vecteurs soit du fait de la pollution de l'environnement, il a été particulièrement intéressant de tester deux des alternatives, l'une chimique, l'autre biologique, proposées pour leurs solutions.

Le composé chimique OMS 1476, analogue au DDT, présentait l'avantage d'être biodégradable et donc échappait au bannissement dont le DDT est l'objet. Malheureusement il s'avère présenter une résistance croisée avec le DDT et de ce fait devient inadéquat pour combattre les vecteurs DDT-résistants. Or nous voyons qu'actuellement la plupart des grands vecteurs présentent, dans une partie plus ou moins grande de leur aire de distribution une résistance au DDT. A peine venu en expérimentation il s'avère donc que l'OMS 1476 n'aura qu'un emploi restreint en Santé publique.

Le composé biologique *Bacillus sphaericus* bien qu'à l'essai depuis près de 8 ans présente encore de nombreuses inconnues dans son mode d'action, très irrégulier, en fonction des espèces de moustiques et aussi des souches bactériennes. Bien qu'il soit assez décevant de n'avoir pas obtenu de mortalité totale des moustiques en expérience, il faut espérer que des améliorations pourront être apportées au produit, à ses formulations, à sa stabilisation. Il serait assez surprenant qu'il devint réellement opérationnel avant plusieurs années. Ces délais très longs que requiert la mise au point des techniques biologiques sont justement alarmants à un moment où le développement des résistances diminue l'arsenal des responsables de la lutte contre les vecteurs.

Nous devons intensifier et coordonner nos efforts au plan international pour ne pas nous trouver placés dans un proche avenir dans des situations sans issue.

B I B L I O G R A P H I E

---

- ABEDI (Z.H.) et BROWN (A.W.A.) - 1961 - Peritrophic membrane as vehicle for D.D.T. and D.D.E excretion in *Aedes aegypti* larvae. *Ann. ent. Soc. amer.*, 54, 539-542.
- ABEDI (Z.H.), DUFFY (J.R.) et BROWN (A.W.A.) - 1963 - Dehydrochlorination and D.D.T. resistance in *Aedes aegypti*. *J. Econ. Ent.*, 56, (3), 511-517.
- ANDERSON (Y.R.) - 1970 - An iridescent virus infecting the mosquito *Aedes stimulans* J. *Inverteb. Pathol.*, 15, 219-224.
- ANONYME - 1970 - Résistance aux insecticides et lutte antivectorielle. Dix-septième rapport du comité OMS d'experts des insecticides. *O.M.S. série Rapp. Tech. n° 443*, 306 p.
- BANG (Y.H.), JATANASEN (S.) et TONN (R.J.) - 1971 - Development and reversion of D.D.T. resistance in an *Aedes aegypti* population in Bangkok, Thailand *Bull. Org. mond. Santé*, 45, (3), 404-410.
- 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.) - 1955 - *Insect control by chemicals* John Wiley and sons, Inc. New York, 817 p.
- BROWN (A.W.A.) et ABEDI (Z.H.) - 1962 - Genetics of D.D.T.- resistance in several strains of *Aedes aegypti* *Canad. J. Genet. Cytol.*, 4, 319-322.
- BROWN (A.W.A.) et PERRY (A.S.) - 1956 - Dehydrochlorination of D.D.T. by resistant houseflies and mosquitoes *Nature*, 178, (4.529), 368-369.
- BROWN (A.W.R.) et PAL (R.) - 1973 - La résistance aux insecticides chez les arthropodes *Ser. monographies de l'O.M.S., n° 38*, Genève.
- BRUCE-CHWATT (L.J.) - 1971 - Insecticides and the control of vector borne diseases. *Bull. Org. mond. Santé*, 44, 419-424.
- BUSVINE (J.R.) - 1957 - Insecticide-Resistant strains of insects of public health importance. *Trans. of Royal soc. trop. Med.*, 51, (1), 11-36.
- BUSVINE (J.R.) - 1970 - La résistance aux insecticides en 1970. *Span*, 13, (3), 146-149.

- EUSVINE (J.R.) - 1971 - The biochemical and genetic bases of insecticide resistance. *Pans*, 17 (2), 135-146.
- CHAPMAN (H.C.) et WOODARD (D.B.) - 1966 - Coelomomyces Infections In Louisiana mosquitoes. *Mosquito news*, 26, 121-123.
- CHAPMAN (H.C.) CLARK (T.B.), WOODARD (D.B.) et KELLEN (W.R.) - 1966 a - Additional host of the mosquito iridescent virus. *J. Invert. Pathol.*, 8, 545-546.
- CHAPMAN (H.C.), WOODARD (D.B.) et PETERSEN (J.J.) - 1967 - Pathogens and parasites of Louisiana Culicidae and Chaoboridae. *Proc. N.J. Mosq. Exterm. Assoc.*, 54, 54-60.
- CHAPMAN (H.C.), WOODARD (D.B.) et PETERSEN (J.J.) - 1967 a - Nematode parasites of Culicidae and Chaoboridae in Louisiana. *Mosquito news*, 27, 490-492.
- CHAPMAN (H.C.) et KELLEN (W.R.) - 1967 b - *Plistophora caecorum* sp. n. a microsporidian of *Culiseta inornata* from Louisiana. *J. Invert. Pathol.*, 9, pp.500-502.
- CHAPMAN (H.C.) CLARK (T.B.), PETERSEN (J.J.) et WOODARD (D.B.) - 1969 - A two year survey of pathogens and parasites of Culicidae, Chaoboridae and Ceratopogonidae in Louisiana. *Proc. N.J. Mosq. Exterm. Assoc.* 56.203-212.
- CHAPMAN (H.C.), CLARK (T.B.) et PETERSEN (J.J.) - 1970 - Protozoans, nematodes and viruses of anophelines *Misc. Publ. Entom. Soc. am.*, 7, pp 134-139.
- CHAUVET (G.), RAVAONJANAHARY (C.) et BRUNHES (Y.) - 1971 - Sensibilité et résistance à divers insecticides organophosphorés chez *C. pipiens fatigans* Wied en milieu urbain à Madagascar. *C.R. Séances Soc. Biol., Tananarive*, 165, (2), 444-448.
- CHRISTOPHERS (S.R.) - 1952 - The recorded parasites of mosquitoes. *Riv. di Parassit.*, 13, 21-28.
- CLARK (T.B.), KELLEN (W.R.) et LUM (P.T.M.) - 1965 - A mosquito iridescent virus (M.I.V.) from *Aedes taeniorhynchus* W. *J. Invert. Pathol.*, 7, 519-521.
- CLARK (T.B.), KELLEN (W.R.), FUKUDA (T.) et LINDEGREN (J.E.) - 1968 - Field and laboratory studies on the pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* to three genera of mosquitoes. *J. Invert. Pathol.*, 11, 1-7.

- CLARK (T.B.) and CHAPMAN (H.C.) - 1969 - A polyhedrosis in *Culex scabinarius* of Louisiana *J. Invert. Pathol.*, 13, 312.
- CLARK (T.B.), CHAPMAN (H.C.) and FUKUDA (T.) - 1969 a - Nuclear polyhedrosis and cytoplasmic polyhedrosis virus infections in Louisiana mosquitoes.  
*J. Invert. Pathol.*, 14, 284-286.
- COLUZZI (M.) - 1958 - Dati sperimentali sulla irritabilità di diverse specie di anofeli a contatto con pareti trattate con D.D.T.-  
*Riv. Malariol.*, 37, 199-228.
- COKER (W.Z.) - 1958 - The inheritance of D.D.T. resistance in *Aedes aegypti*. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 52, 443-455.
- COUCH (J.N.) - 1967 - Sporogonial germination of *Coelomomyces punctatus* and the conditions favoring the infection of *Anopheles quadrimaculatus* under laboratory conditions  
*Proc. Joint U.S. Japan Seminar Microb. Control Insects Pests, Fukuoka*, 93-115.
- DASGUPTA (B.) et RAY (N.H.) - 1957 - The intranuclear inclusions in the midgut of the larva of *Anopheles subpictus*  
*Parasitology*, 47, 194-195.
- DAVIDSON (E.W.), SINGER (S.) et BRIGGS (S.D.) - 1975 - Pathogenesis of *Bacillus sphaericus* strain SS-11-1 infections in *Culex pipiens quinquefasciatus* (*C. pipiens fatigans*) larvae  
*J. Invert Pathol.*, 25, (2), 179-188.
- DOBY (J.M.), DEBLOCK (S.) et GAEREMYNCK (L.) - 1956 - Régime alimentaire et sensibilité des larves d'*Aedes aegypti* au D.D.T. Influence du taux des lipides dans l'organisme. *Bull. Soc. Path. exot.*, 49, 56-64.
- FUKUDA (T.) - 1971 - Per os transmission of Chilo Iridescent virus to mosquitoes.  
*J. Invert. Pathol.*, 18, 152-153.
- GEORGHIOU (G.P.) - 1973 - Abstracts of invited Papers, ninth international Congress. of tropical Medicine and Malaria. Athens, vol.1, 258.
- GOLDBERG (L.J.), FORD (I.) and SINGER (S.) - 1974 - *Bacillus sphaericus* var. *fusiformis* as a potential pathogen against *Culex tarsalis* and *Culex pipiens* *Proc. 42nd Ann. Conf. of the C.M.C.A. and the 30th Ann. meeting of the A.M.C.A.*

- HADAWAY (A.B.) et BARLOW (F.)-1956- Effects of age, sex and feeding on the susceptibility of mosquitoes to Insecticides. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 50, 438-443.
- HALL (D.W.) and ANTHONY (D.W.) - 1970 - Pathology of a mosquito iridescent virus (M.T.V.) Infecting *Aedes taeniorhynchus*  
*J. Invert. Pathol.*, 18, 61-69.
- HAMON (J.) et 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.) - 1963 - L'importance des changements de comportement chez les Insectes. *Bull. Org. mond. Santé*, 29, 115-120.
- HAMON (J.), PAL (R.), COZ (J.) et MOUCHET (J.) - 1965 - Practical Implications of Insecticide resistance  
*Doc. roneot. O.M.S. V.C/Ent. sem. W.P.*, 2.65 MOSCOU.
- HAMON (J.) et MOUCHET (J.) - 1967 - La résistance aux Insecticides chez *Culex pipiens fatigans*. *Bull. Org. mond. Santé*, 37, 277-286.
- HOOPER (G.H.S.) - 1968 - Gas-liquid chromatography analysis of D.D.T. metabolism in *Aedes aegypti*  
*J. Econ. Ent.*, 61, (3), 858-859.
- HOSKINS (W.M.) -1960 - Use of the dosage mortality curve in quantitative estimation of insecticide resistance  
*Misc. Publ. Ent. Soc. Am.*, 2, 85.
- HOSKINS (W.M.) and GORDON (H.T.) - 1956 - Arthropod resistance to chemicals. *Ann. Rev. Entomol.* 1, 89-122.
- HUSAN (S.) et VAGO (C.) - 1973 - The pathogenicity of *Fusarium oxysporum* to mosquito larvae.  
*J. Invert. Pathol.*, 19, 268-271.
- JENKINS (D.W.) - 1964 - Pathogens, parasites and predators of medically important arthropods.  
*Bull. Org. mond. Santé*, 30, 150 pp. (suppl.)
- KEIDING (J.) - 1975 - The selection process : development of resistance and cross-resistance. General considerations.  
*W.H.O./VBC/EC/75.6.*
- KELLEN (W.R.) and CLARK (T.B.)- 1963 - A possible polyhedrosis in *Culex tarsalis* Coq. (Diptera : Culicidae)  
*J. Invert. Pathol.*, 5, 98-103.

- KELLEN (W.R.), CLARK (T.B.), LINDEGREN (B.X.), ROGOFF (M.N.) and SINGER (S.) - 1965 - *Bacillus sphaericus* Neide, as a pathogen of mosquitoes.  
*J. Invert. Pathol.*, 7, 442-448.
- KELLEN (W.R.), CHAPMAN (H.C.), CLARK (T.B.) and LINDEGREN (J.E.)-1966 - Transovarian transmission of some *Thelemania* (Nosematidae, Microsporidia) in mosquitoes of California and Louisiana  
*J. Invert. Pathol.*, 8, 355-359.
- KELLEN (W.R.), CLARK (T.B.), LINDEGREN (J.E.) and SANDERS (R.B.) - 1966 a - A cytoplasmic-polyhedrosis virus of *Culex tarsalis* (Dipt. Culicidae)  
*J. Invert. Pathol.*, 8, 390-394.
- KIMURA (T.) and EROWN (A.W.A.) - 1964 - D.D.T. - dehydrochlorinase in *Aedes aegypti*.*J. Econ. Ent.*, 57, (5) 710-716.
- KUDO (R.) - 1924 - A biologic and taxonomic study of the microsporidia  
*Ill. Biol. Monogr.*, 9, 1-268.
- KUDO (R.) - 1925 - Studies on microsporidia parasitic in mosquitoes V Further observations upon *Stempellia (Thelemania) magna* Kudo, parasitic in *Culex pipiens* and *Culex territans*.  
*Biol. Bull.*, 48, 112-127.
- KUDO (R.) - 1960 - Protozoan parasites in certain insects of medical importance  
*Conf. Biol. Contr. Insects med. Importance*. Washington D.C., 49-66.
- LINDLEY (J.R.) and NIELSON (H.T.) - 1968 - Transmission of a mosquito iridescent virus in *Aedes taeniorhynchus*. I. Laboratory experiments.  
*J. Invert Pathol.*, 12, 7-16.
- Mc CAULL (J.) - 1969 - Conférence sur les aspects écologiques du développement international.  
*Nature et Ressources, Unesco*, 5, (2), 4-13 Juin.

- Mc. DONALD (A.E.) - 1974 - D.D.E. production and D.D.T. résistance in the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*.  
*Heredity. Edinburgh.*, 33, (3), 445.
- MADELIN (M.F.) - 1968 - Studies on the infection by *Coelomomyces indicus* of *Anopheles gambiae*.  
*J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* 84, 115-124.
- MARGHAM (J.P.) and WOOD (R.J.) - 1975 - A genetical study of D.D.T. resistance in the mosquito *Aedes aegypti*.  
*Heredity*, 34, (1), 53-59.
- METCALF (R.) - 1955 - Organic Insecticides - Their chemistry and mode of action .  
*Interscience publishers. Inc. New-York.*, 392 p.
- MILLER (F.M.), BARRET (W.L.)Jr., SCANLON (J.E.) and BARNETT (R.E.) - 1970 - Some pathogenes observed in *Culex quinquefasciatus*, SAY In the Houston, Texas area.  
*Proc. Tex. Mosq. Contr. Assoc.*, 2-4
- MITCHELL (C.J.), CHEN (P.S.), CHAPMAN (H.C.) - 1972 - Exploratory trials utilizing a mermithid nematode as a control agent for *Culex* mosquitoes in Taiwan (China).  
*W.H.O./V.B.C.* 72. 410, 1-12.
- MOUCHET (J.) - 1967 - La résistance aux insecticides chez *Aedes aegypti* et les espèces voisines.  
*Bull. Org. mond. Santé*, 36, 569-577.
- MOUCHET (J.) et CAVALIE (P.H.) - 1961 - L'irritabilité vis à vis du D.D.T. d'*Anopheles gambiae* et d'*An. funestus* dans le Nord-Cameroun.  
*Riv. Malariol.*, 40, (4-6), 191-217.
- MOUCHET (J.), PICHON (G.), GAYRAL (P.) et HAMON (J.) - 1970 - Sensibilité et résistance aux insecticides d'*Aedes aegypti* en Afrique de l'Ouest.  
*W.H.O./V.B.C.* 70. 221., Doc. roneot.
- MOUCHET (J.) et al., - 1972 - La résistance aux insecticides des *Aedes* dans les régions d'Asie du Sud-Est et du Pacifique.  
*Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. Paras.*, X, (4), 301-308.
- MOUCHET (J.) et QUIROGA (M.) - 1975 - Résistance aux insecticides chez les Culicidés.  
*Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. Parasit.*, (sous presse).
- MOUCHET (J.) , QUIROGA (M.), DEJARDIN (J.) , SANNIER (C.) et BARATHE (J.) - 1975 - Résistance aux insecticides chez les culicidés.  
BVC/EC/7532 . Expert committee on resistance of vectors and reservoirs to pesticides. Geneve 16-23 septembre.

- MUSPRATT (J.) - 1965 - Parasitology of larvae mosquitoes, especially *Culex fatigans*.  
*W. H. O. / V. B. C.* 1-65.
- NICKLE (W.R.) - 1972 - A contribution to our knowledge of the Mermithidae.  
*Nematol.*, 4, 113-146.
- O'BRIEN (R.D.) - 1967 - Insecticides . Action and metabolism.  
*Acad. Press. N.Y.*, 332 p.
- O.M.S. - 1957 - Comité d'experts du paludisme. Sixième rapport.  
*Sér. Rapp. techn.*, 123.
- O.M.S. - 1975 - Six monthly information on the World malaria situation January-December 1973.  
*Relevé epidem. hebd. 50ème année*, 6, 53-72.
- O.M.S. - 1975 - Ecologie des vecteurs et lutte antivectorielle en Santé publique .  
*Ser. Rapp. techn.* 561, 38 p.
- PERRY (A.S.) - 1966 - Biochemistry of insecticide resistance in mosquitoes.  
*Mosq. News.*, 26, (3), 301-309.
- PETERSON (J.J.), CHAPMAN (H.C.) and WOODARD (D.B.) - 1967 - Preliminary observations on the incidence and biology of a mermithid nematode of *Aedes sollicitans* (Walker) in Louisiana.  
*Mosq. News.*, 27, 494-498.
- PETERSEN (J.J.) , CHAPMAN (H.C.) and WOODARD (D.B.) - 1968 - The bio-nomics of a mermithid nematode of larvae mosquitoes in Southwestern Louisiana.  
*Mosq. News.*, 28 , 346-352.
- PETERSEN (J.J.) and WILLIS (O.R.) - 1969 - Observations of a Mermithid nematode parasitic in *Orthopodomyia signifera* (Coquillett).  
*Mosq. News.*, 29, 429-493.
- PETERSEN (J.J.) and WILLIS (O.R.) - 1969 a - Incidence of *Agamomermis culicis* in *Aedes sollicitans* in Louisiana in 1967.  
*Mosq. News.*, 29, 87-92.
- PETERSEN (J.J.) and CHAPMAN (H.C.) - 1970 - Parasitism of *Anopheles* Mosquitoes by a *Gastromermis* sp. in Southwestern Louisiana.  
*Mosq. News.*, 30, 420-424.
- PETERSEN (J.J.) and WILLIS (O.R.) - 1971 - A two-year survey to determine the incidence of a mermithid nematode in mosquitoes in Louisiana.  
*Mosq. News.* , 31 , 558-566.

- PETERSEN (J.J.) and WILLIS (O.R.) - 1972 - Results of preliminary field applications of *Reesimermis nielseni* to control mosquito larvae. *Mosq. News.*, 32, 312-316.
- PILLAI (M.K.K.), HENNESSY (D.J.) and BROWN (A.W.A.) - 1963 - Deuterated analogues as remedial insecticides against D.D.T.-resistant-*Aedes aegypti*. *Mosq. News.*, 23, 118-125.
- PILLAI (J.S.) - 1969 - A *Coelomomyces* infection of *Aedes australis* in New Zealand. *J. Invert. Pathol.*, 14, 93-95.
- QUATERMAN (K.D.) and SHOOF (H.F.) - 1968 - The status of insecticide resistance in arthropods of public health importance in 1956. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 7, 74-83.
- QUELENEC (G.) - 1974 - *Pratique de la lutte contre les arthropodes d'intérêt médical.* ORSTOM ed., Paris, 185 p.
- QUIROGA (M.), SANNIER (C.), BARATHE (J.), DEJARDIN (J.) et MOUCHET (J.) - 1975 - Action d'un analogue du D.D.T. (OMS 1476) sur des souches de moustiques sensibles et résistantes au D.D.T. *Cah. ORSTOM sér. Ent. méd. Parasit.* (sous presse).
- QUTUBUDDIN (M.) - 1958 - The inheritance of D.D.T. resistance in a highly resistant strain of *Aedes aegypti* (L.) *Bull. Org. mond. Santé*, 19, 1109-112.
- RAMADE (F.) - 1974 - *Eléments d'écologie appliquée (action de l'homme sur la biosphère).* Ediscience, Mac Graw-Hill, Paris, 522 p.
- REEVES (E.L.) and GARCIA (C.) - 1970 - Pathogenicity of bicrystalliferous *Bacillus* isolate for *Aedes aegypti* and other Aedine mosquito larvae. *Proc. Int. Colloq. Insect. Pathol.*, 4th, 272-278.
- REEVES (E.L.) and GARCIA (C.) - 1971 - Susceptibility of *Aedes* mosquito larvae to certain crystalliferous *Bacillus* pathogens. *Proc. Calif. Mosq. Contr. Assoc.*, 39, 118-120.
- REYNOLDS (D.G.) - 1972 - Experimental introduction of a microsporidian into a wild population of *Culex pipiens fatigans* Wied. *Bull. Org. mond. Santé*, 46, 807-812.
- ROBERTS (D.W.) - 1967 - Some effects of *Metarrhizium anisopliae* and its toxins on mosquito larvae. *Inst. Pathol. Microb. Contr.*, Amsterdam, 243-246.

- ROBERTS (D.W.) - 1970 - *Coelomomyces*, *Entomophora*, *Beauveria* and *Metarrhizium* as parasites of mosquitoes.  
*Misc. Publ. Entom. Soc. Am.*, 7, 140-154.
- ROGOFF (M.H.), IGNOFFO (C.M.), SINGER (S.), GARD (I.) and PRIETO (A.P.) - 1969 - Insecticidal Activity of 31 strains of *Bacillus* against five insect species.  
*J. Invert. Pathol.*, 14, 122-129.
- ROMNEY (S.V.), BOREHAM (M.M.) and NIELSEN (L.T.) - 1971 - Intergeneric transmission of *Coelomomyces* infection in the laboratory.  
*Proc. Utah Mosq. Abat. Assoc.*, 24, 18-19.
- SANDERS (R.D.) - 1972 - Microbial mortality factors in *Aedes sierrensis* populations.  
*Proc. Calif. Mosq. Contr. Assoc.*, 40, 66-68.
- SINGER (S.), GOODMAN (N.S.) et ROGOFF (M.F.) - 1966 - Defined media for the study of bacilli pathogenic to insects.  
*Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 139, 16-23.
- SINGER (S.) - 1973 - Insecticide activity of recent bacterial isolates and their toxins against mosquito larvae.  
*Nature*, 244, 110-111.
- STERNBURG (J.G.), KEARNS (C.W.) and MOOREFIELD (H.) - 1954 - D.D.T. dehydrochlorinase, an enzyme found in D.D.T. resistant flies.  
*J. Agric. Food. Chem.*, 2, 1125.
- SWAROOP (S.) - 1968 - Méthodes statistiques utilisables dans les campagnes d'éradication du paludisme.  
*Séries de monographies de l'O.M.S.*, n° 51, Genève.
- TRPIS (M.), HAUFE (W.O.) and SHEMANCHUK (J.A.) - 1968 - Mermithid parasites of the mosquito *Aedes vexans* Meigen in British Columbia.  
*Can. J. Zool.*, 46, 1076-1079.
- TSUKAMOTO (M.) - 1964 - Methods for the linkage-group determination of insecticide-resistance factors in the house fly.  
*Botyu - Kagaku*, 29, 29, 51-59.
- VAGO (C.), RIOUX (J.A.), DUTHOLT (J.L.) and DEDET (J.P.) - 1969 - Infection spontanée à virus irisant dans une population d'*Aedes detritus* (Hae., 1833) des environs de Tunis.  
*Ann. Parasit. Hum. Comp.*, 44, 667-676.
- WEISER (J.) - 1965 - A new virus infection in mosquito larvae.  
*Bull. Org. mond. Santé*, 33, 586-588.
- WILLS (W.) and BEAUDOIN (R.) - 1965 - Microsporidia in Pennsylvania mosquitoes.  
*J. Invert. Pathol.*, 7, 10-14.

- WOOD (R.J.) - 1965 - A Genetical study on DDT - Resistance in the Trinidad strain of *Aedes aegypti*.  
*Bull. Org. Mond. Santé*, 32, 563-574.
- WOOD (R.J.) - 1967 - A comparative genetical study on DDT-resistance in adults and larvae of the mosquito *Aedes aegypti*.  
*Genet. Res.*, 10, 219-228.
- WOOD (R.J.) - 1970 - The influence of the  $\gamma$  locus on DDT - resistance in the mosquito. *Aedes aegypti*.  
*Genet. Res.*, 16, 37-47.
- WOODARD (D.B.) and CHAPMANN (H.C.) - 1968 - Laboratory studies with the mosquito iridescent virus (M.I.V.).  
*J. Invert. Pathol.*, 11, 296-301.