

Ent. Méd.

SENSIBILITÉ AU MALATHION ET AU FENTHION

(BAYTEX)

D' "A. GAMBIAE", "A. FUNESTUS", "A. RUFIPES",
"AE. AEGYPTI", "C.P. FATIGANS", "M. UNIFORMIS"
ET "M. AFRICANA"

ETUDE DE LA STABILITE DES PAPIERS IMPREGNES
DE SOLUTIONS. HUILEUSES DE CES INSECTICIDES

par

J. HAMON
Directeur de Recherches
O. R. S. T. O. M.

S. SALES
Technicienne à l'O. R. S. T. O. M.

I. - INTRODUCTION

Nous avons étudié en 1962, à la requête de la Division de l'Assainissement de l'Organisation Mondiale de la Santé et avec l'aide matérielle et financière de cette organisation, la stabilité des papiers imprégnés de solutions de malathion ou de fenthion dans l'huile d'olive. A l'aide de ces papiers imprégnés, nous avons ensuite déterminé la sensibilité au malathion et au fenthion des principales espèces de moustiques de l'Afrique Occidentale.

La découverte relativement récente des insecticides à action rémanente a permis l'organisation, dans le monde entier, de grandes campagnes de lutte contre les insectes vecteurs de maladies. Malheureusement, beaucoup de ces vecteurs sont devenus résistants aux insecticides usuels, D.D.T., H.C.H. et dieldrine (O.M.S. 1961 - HAMON et MOUCHET, 1961 b). Dans de vastes régions, l'apparition de populations anophéliennes résistant simultanément aux différents insecticides chlorés handicape considérablement les campagnes d'éradication du paludisme (SCHOOF et col., 1961 - HAMON et GARRETT-JONES, 1962). Des difficultés similaires sont rencontrées dans de nombreux pays du monde, dans la lutte contre la filariose de Bancroft et contre la peste, du fait de la résistance de *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, *Xenopsylla astia* Rotschild et *X. cheopis* Rotschild au D.D.T. et à la dieldrine.

Ces cas de résistance imposent soit l'abandon des campagnes en cours, soit le remplacement des insecticides chlorés par des produits organophosphorés ou des carbamates. Il faut continuer à évaluer périodiquement la sensibilité des vecteurs aux nouveaux insecticides employés pour déceler à temps l'éventuelle apparition de populations résistantes. Les trousseaux distribués jusqu'à présent par l'O.M.S., pour déterminer la sensibilité des vecteurs aux insecticides, concernent presque exclusivement les insecticides chlorés (O.M.S., 1960 a). Il est donc nécessaire de compléter ces trousseaux pour permettre l'exécution

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

MEDECINE TROPICALE - Vol. 23, Septembre-Octobre, 1963 - N° 5

Collection de Référence

107 JANV 1968

2013ex1

de tests avec de nouveaux insecticides, en premier lieu les organophosphorés dont l'usage est devenu extrêmement fréquent.

L'introduction dans les trousseaux O.M.S. des insecticides organophosphorés pose différents problèmes, dont celui du solvant et celui de la stabilité des solutions et des papiers imprégnés, les caractéristiques physicochimiques des insecticides organophosphorés étant très différentes de celles des insecticides chlorés (O.M.S., 1960 b).

Les papiers standards de l'O.M.S. pour la détermination de la sensibilité au D.D.T. ou à la dieldrine (employés pour les moustiques, les puces, les punaises, les phlébotomes, les glossines, les stomoxes et les triatomes), sont imprégnés de D.D.T. ou de dieldrine dans l'huile Risella Shell qui est un médiocre solvant pour la majorité des insecticides organophosphorés (BUSVINE, 1962). Or, il est souhaitable d'employer un solvant qui puisse servir pour toute la gamme des organophosphorés, notamment pour établir les spectres de résistance.

Les essais de laboratoire effectués au cours des six dernières années avec des insecticides organophosphorés ont fait appel successivement à des solvants volatils (HADAWAY et BARLOW, 1957 a, pétrole - RAMAKRISHNAN et col., 1960, dichloroéthylène - SCHOOF et col., 1961, xylène - BURNETT, 1961, décahydro-naphtalène); à l'huile Risella (LEBRUN et CÉRÉ, 1959 - GRYSO, 1960 - YASUMOMI, 1962); à des poudres mouillables et des émulsions (OMARDEEN, 1959 - CHAUVET et COZ, 1960 - GRUCHET, 1961); à l'huile d'olive (ZULUETA, 1959 - NGUY et BUSVINE, 1960 - MOHAN RAO et col., 1960 - ELLIOTT, 1961 - MOHAN RAO, 1962); et enfin au dioctylphtalate (BUSVINE et LIEN, 1961) et au butylstearate (BUSVINE, comm. pers.).

Différents essais, organisés par l'O.M.S., ont montré que les meilleurs résultats étaient obtenus avec le dioctylphtalate ainsi qu'avec l'huile d'olive stabilisée par l'addition d'un antioxydant, l'ionol. Le dioctylphtalate, étant un plastifiant, pose de délicats problèmes d'emballage, ce qui a amené à choisir finalement comme solvant le mélange d'huile d'olive-ionol. Les solutions d'insecticides organophosphorés dans l'huile d'olive-ionol sont additionnées peu avant leur emploi d'un solvant volatil, le trichloroéthylène, pour faciliter l'imprégnation des papiers, selon la technique originale de BUSVINE et NASH (1953).

Les différents chercheurs ayant récemment effectué des tests de sensibilité aux insecticides organophosphorés, ont préparé les papiers imprégnés au moment de leur emploi. Ce procédé n'est pas recommandable pour une généralisation des tests, car de minimes différences dans la quantité de solution par unité de surface du papier, ou dans l'épaisseur et le pouvoir absorbant du papier, entraînent des modifications importantes dans les concentrations léthales caractéristiques. L'imprégnation industrielle des papiers permet leur excellente standardisation, mais occasionne des délais considérables entre la période d'imprégnation et celle d'utilisation.

Les insecticides organophosphorés sont moins stables chimiquement et plus volatils que le D.D.T. et la dieldrine, et il convenait donc de vérifier combien de temps on pouvait conserver les papiers imprégnés avant d'observer une altération sensible de leur efficacité biologique. Il était également nécessaire de déterminer expérimentalement l'ordre de grandeur des concentrations requises pour l'exécution d'enquêtes sur le terrain. Ce sont ces deux points que nous avons étudiés en employant des papiers imprégnés au malathion et au fenthion, et différentes espèces de moustiques tropicaux.

II. - MÉTHODES

A) Étude de la stabilité des papiers imprégnés

Pendant le premier semestre 1962, nous avons reçu tous les deux mois de l'O.M.S. des papiers imprégnés de malathion et de fenthion par le laboratoire Atesmo, selon les mêmes normes que celles employées pour la confection des papiers au D.D.T. ou à la dieldrine. Nous recevions, en même temps, des papiers vierges destinés à l'imprégnation sur place et, en flacons scellés, les solutions insecticides ayant servi à la fabrication des papiers imprégnés industriellement. Pour limiter au maximum les causes de variation, l'imprégnation sur place a été faite en pièce climatisée à 20° C. Les papiers imprégnés industriellement étaient séparés les uns des autres et de la boîte les contenant par des feuilles de cellophane, afin de limiter les transferts possibles d'insecticides d'un papier à un autre ou à l'emballage de matière plastique. Entre les séries d'essais, les boîtes étaient maintenues scellées avec du ruban adhésif et étaient conservées à la température du laboratoire, soit entre 25 et 30°. Nous avons comparé chaque mois les papiers imprégnés industriellement avec ceux imprégnés sur place quelques heures avant le test.

Lors de chaque série d'essais, les papiers imprégnés étaient séparés du tube en matière plastique constituant la chambre d'exposition de la trousse O.M.S. par une feuille de cellophane, pour éviter ou limiter la contamination du tube par l'insecticide. Chaque papier imprégné n'était utilisé qu'une seule fois pour déceler les variations éventuelles d'un papier à l'autre dans le même lot. La seule exception a concerné le premier lot de papiers fourni par le laboratoire Atesmo qui, lors de chaque série de tests, a été utilisé le jour de sa sortie de l'emballage étanche puis chacun des trois jours suivants, chaque feuille n'étant utilisée qu'une seule fois au cours de la même journée. Pendant les trois jours, ces papiers imprégnés étaient conservés dans les tubes d'exposition, ces derniers étant obturés à leurs deux extrémités et placés dans une boîte en carton. Chacune des séries mensuelles de tests comportait l'étude de quatre papiers imprégnés pour chaque concentration et chaque âge.

Les femelles d'*Aedes aegypti* L. employées pour déterminer la durée d'activité des papiers imprégnés, provenaient de la souche locale « Kongolikan » colonisée dans le Laboratoire d'Entomologie du Centre Muraz depuis plus de quatre ans. Lors des essais, les femelles étaient à jeun (avec un tampon d'eau saccharosée à leur disposition) et âgées d'environ deux jours. L'exposition aux insecticides et la mise en observation après exposition étaient faites dans des pièces climatisées maintenant des conditions aussi constantes que possible pendant toute la durée de l'expérimentation. La température d'exposition à l'insecticide a varié de 22 à 24° et celle de mise en observation était comprise entre 25 et 26°. La méthode de test employée était celle standardisée par l'O.M.S. (O.M.S. 1960). Chaque tube d'exposition contenait en principe 25 femelles.

Bien que nous ayons uniformisé au maximum les conditions d'élevage des larves d'*Ae. aegypti* de la souche Kongolikan, ainsi que l'âge et la condition physiologique des femelles testées, les papiers imprégnés localement nous ont donné des concentrations léthales de 50 p. 100 (CL50), sensiblement différentes les unes des autres d'une série d'essais à une autre. Nous avons en outre constaté, lors de la seconde série de tests, que la sensibilité des femelles d'*Ae. aegypti* variait entre les premiers et les derniers jours. Pour pallier cette difficulté nous avons, lors des séries suivantes, échelonné les essais de chaque lot de papier imprégné sur toute la durée de la série de tests. Pour mesurer

au cours des mois l'efficacité des papiers imprégnés industriellement en fonction de leur âge, nous avons déterminé un indice d'efficacité égal à :

$$100 \times \frac{\text{CL 50 obtenue avec les papiers frais}}{\text{CL 50 obtenue avec les papiers industriels}}$$

Les CL 50 étaient estimées graphiquement sur papier gaussien-logarithmique.

Les papiers et solutions reçus du laboratoire Atesmo ont été fabriqués en janvier 1962 pour le premier lot, en mars pour le second et en mai pour le troisième. Du fait des délais d'expédition de Suisse en Haute-Volta, ces papiers et solutions ont été étudiés au cours de la première semaine des mois d'avril, mai, juin, juillet et août 1962. Une dernière série d'essais a été pratiquée en février 1963, d'une part à l'aide des papiers imprégnés industriellement en janvier 1963 fournis par l'O.M.S., d'autre part avec des papiers imprégnés localement grâce aux solutions fournies par l'O.M.S. en janvier et mai.

B) Détermination de l'échelle de concentrations nécessaires pour les tests sur femelles de moustiques

Lors de la détermination des concentrations nécessaires pour l'exécution d'épreuves de sensibilité sur le terrain, nous avons principalement utilisé les papiers imprégnés sur place, à l'aide des solutions les plus récemment reçues du laboratoire Atesmo. Les *Anopheles*, *Aedes* et *Culex*, sauf ceux de Dori et de Bamako, ont été testés en pièces climatisées, avec des papiers imprégnés quelques heures avant leur emploi. Les *Anopheles* de Dori ont été testés à Dori, à l'aide de papiers imprégnés trois semaines auparavant et conservés depuis en boîtes scellées, la température d'exposition étant comprise entre 29° et 31° et celle de mise en observation variant de 25 à 31°. Les *Culex* de Bamako et les *Mansonia* ont été testés en pièces climatisées, avec des papiers imprégnés un mois auparavant, fournis par l'O.M.S.

Les espèces et populations de moustiques étudiées ont été les suivantes :

a) *Ae. aegypti*, souche Kongolikan (Cercle de Houndé, Haute-Volta), colonisée depuis plus de quatre ans. Les femelles ont été testées à jeun, âgées d'environ deux jours, gorgées et à jeun, âgées de plus de 10 jours.

b) *Ae. aegypti*, souche Cotonou (Dahomey), colonisée depuis environ un an, due à l'amabilité de C. ATCHEDJI. Les femelles ont été testées à jeun, âgées d'environ deux jours.

c) *Ae. aegypti*, souche Savannah (Georgie, Etats-Unis), colonisée depuis de nombreuses années, due à l'amabilité de R.W. FAY. Les femelles ont été étudiées à jeun, âgées d'environ deux jours.

d) *Anopheles gambiae* Giles, de Koumbia (Cercle de Houndé, Haute-Volta). Les femelles testées, gorgées et gravides, provenaient de captures dans les habitations du village.

e) *A. gambiae*, souche Gaoulou (Cercle de Sassandra, Côte-d'Ivoire). Première génération obtenue au laboratoire. Les femelles ont été étudiées fraîchement gorgées, âgées de deux à trois jours.

f) *A. gambiae*, de Dori (Haute-Volta). Les femelles testées, gorgées et gravides, provenaient de captures dans les maisons de la ville.

g) *A. funestus* Giles, de Koumbia. Les femelles étudiées, gorgées et gravides, provenaient de captures dans les habitations du village.

h) *A. rufipes* Gough, de Dori. Les femelles testées, gorgées et gravides, provenaient de captures dans les maisons de la ville.

i) *Culex pipiens* ssp. *fatigans* Wiedemann, souche Bobo Dioulasso (Haute-Volta), première génération élevée au laboratoire. Les femelles étudiées étaient à différents états physiologiques.

j) *C.p. fatigans*, souche Bamako (Mali); première génération élevée au laboratoire. Les femelles ont été testées jeunes, à jeun.

k) et l) *Mansoni uniformis* Theobald et *M. africana* Theobald, de Badala et Sossogona (Cercle de Bobo Dioulasso, Haute-Volta). Les femelles étudiées provenaient de captures sous moustiquaires pièges avec appâts humains et animaux, et maintenues sur eau saccharosée jusqu'au moment du test.

III. - RÉSULTATS

A) Stabilité des papiers imprégnés

Les essais ont comporté l'emploi de plus de 26.000 femelles d'*Ae. aegypti*. Les résultats sont résumés dans les tableaux 1 à 3 ainsi que dans les figures 1 et 2.

L'efficacité relative des papiers imprégnés de malathion diminue assez lentement avec le temps et, compte tenu des variations accidentelles inhérentes à toute méthode de contrôle biologique, semble relativement constante pendant les quatre premiers mois suivant leur fabrication. Elle décroît ensuite de façon très sensible (tableau 1). Nous avons représenté sur papier gaussien-logarithmique, figure 1, les lignes de régression mortalité/concentration correspondant aux tests effectués en avril et août 1962 avec les papiers imprégnés industriellement en janvier 1962. On y voit que la pente des lignes de régression ne varie guère avec l'âge du papier. Si l'on emploie les papiers imprégnés de malathion plusieurs jours de suite après leur sortie de l'emballage étanche, leur efficacité diminue légèrement chaque jour, la CL 50 augmentant d'environ 10 p. 100 en trois jours (tableau 3). Les solutions de malathion dans un mélange d'huile d'olive, d'ionol et de trichlo-éthylène semblent rester stables au moins un an, pour autant que les flacons les contenant restent hermétiquement bouchés.

TABLEAU 1

Efficacité relative de papiers imprégnés de solutions huileuses de malathion en fonction de leur « âge », l'indice 100 correspondant à un papier imprégné quelques heures avant son emploi.

| Date d'imprégnation du papier | Age du papier, en mois | | | | | | | |
|----------------------------------|------------------------|----|----|----|----|----|-------|-------|
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 9+ | 13+ |
| Janvier | — | 74 | 91 | 66 | 69 | 43 | — | 24-30 |
| Mars | 87 | 82 | 81 | 56 | — | — | — | — |
| Mai | 114 | 86 | — | — | — | — | 27-34 | — |
| Efficacité relative moyenne.. | 100 | 81 | 86 | 61 | 69 | 43 | 30 | 27 |

+ Etalonnage fait avec des papiers récemment imprégnés, fournis par l'O.M.S. et avec des papiers imprégnés localement le jour du test à l'aide de solutions O.M.S. datant de 13 et 9 mois.

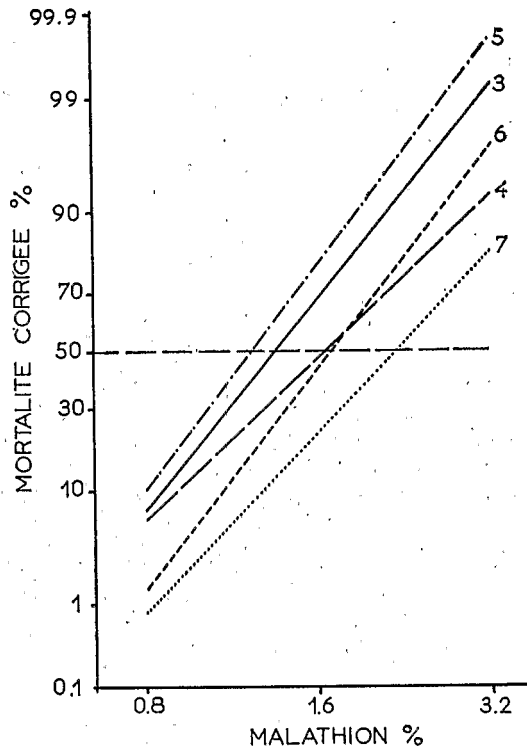


Figure 1. — Lignes de régression mortalité/concentration correspondant à cinq séries de tests de sensibilité d'*Ae. aegypti* au malathion. Les chiffres de 3 à 7 accolés à chaque ligne de régression indiquent l'âge en mois des papiers imprégnés utilisés. Chacun des points ayant servi à tracer ces lignes de régression correspond à l'exposition au malathion de 400 femelles jeunes, à jeun.

L'efficacité relative des papiers imprégnés de fenthion diminue lentement avec le temps pendant les quatre premiers mois suivant leur fabrication, puis de plus en plus rapidement ensuite, et devient très faible dès le septième mois (tableau 2). La pente des lignes de régression (figure 2) semble varier assez sensiblement avec l'âge du papier, mais ce n'est peut-être pas exact; la pente est en effet si forte que la plupart des lignes de régression correspondant au fenthion ont dû être tracées avec deux points seulement, les concentrations immédiatement supérieure et inférieure à celles correspondant à ces deux points entraînant respectivement 100 p. 100 et 0 p. 100 de mortalité; dans de telles circonstances, la pente de la ligne de régression ne peut pas être déterminée de façon rigoureuse. Si l'on emploie les papiers imprégnés de fenthion plusieurs jours après leur sortie de l'emballage étanche, leur efficacité diminue légèrement chaque jour, la CL 50 augmentant d'environ 10 p. 100 en trois jours (tableau 3). Les solutions de fenthion dans un mélange d'huile d'olive, d'ionol et de trichloro-éthylène, semblent s'altérer avec le temps malgré leur conservation en flacons étanches et avaient perdu environ 50 p. 100 de leur efficacité après 13 mois de conservation à la température du laboratoire.

TABLEAU 2

Efficacité relative de papiers imprégnés de solutions huileuses de fenthion en fonction de leur « âge », l'indice 100 correspondant à un papier imprégné quelques heures avant son emploi.

| Date d'imprégnation du papier | Age du papier, en mois | | | | | | | |
|-------------------------------|------------------------|----|-----|----|----|----|----|-----|
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 9+ | 13+ |
| Janvier | — | 81 | 104 | 76 | 38 | 11 | — | <3 |
| Mars | 112 | 86 | 89 | 65 | — | — | — | — |
| Mai | 104 | 90 | — | — | — | — | <3 | — |
| Efficacité relative moyenne.. | 108 | 86 | 97 | 71 | 38 | 11 | <3 | <3 |

+ Etalonnage fait avec des papiers récemment imprégnés, fournis par l'O.M.S.

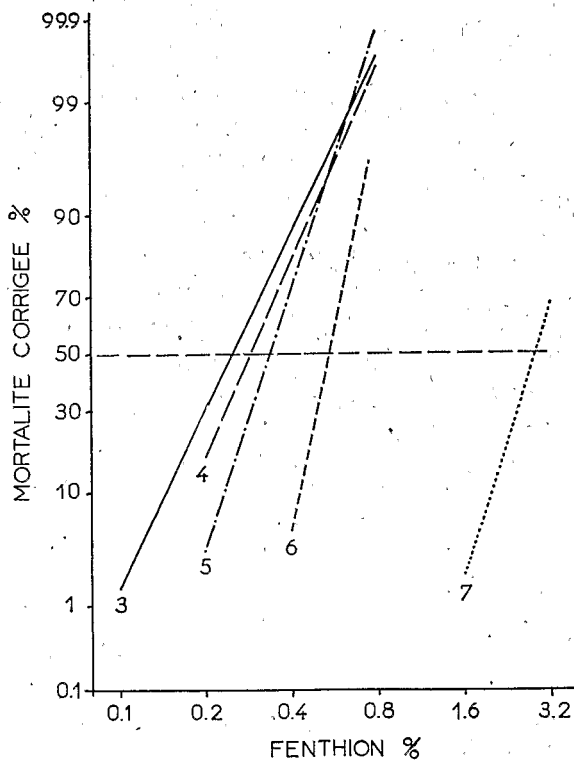


Fig. 2. — Lignes de régression mortalité/concentration correspondant à cinq séries de tests de sensibilité d'*Ae. aegypti* au fenthion. Les chiffres de 3 à 7 accolés à chaque ligne de régression indiquent l'âge en mois des papiers imprégnés utilisés. Chacun des points ayant servi à tracer ces lignes de régression est basé sur l'exposition au fenthion de 400 femelles jeunes, à jeun.

TABLEAU 3

Efficacité relative de papiers imprégnés de solutions huileuses de malathion et de fenthion employés au moment de leur sortie de l'emballage, puis chacun des trois jours suivants, l'indice 100 correspondant à l'efficacité du papier au moment de la sortie de l'emballage.

| Insecticide | Temps en jours après la sortie de l'emballage | | | |
|-----------------|---|----|----|----|
| | 0 | 1 | 2 | 3 |
| Malathion | 100 | 96 | 90 | 91 |
| Fenthion | 100 | 98 | 94 | 89 |

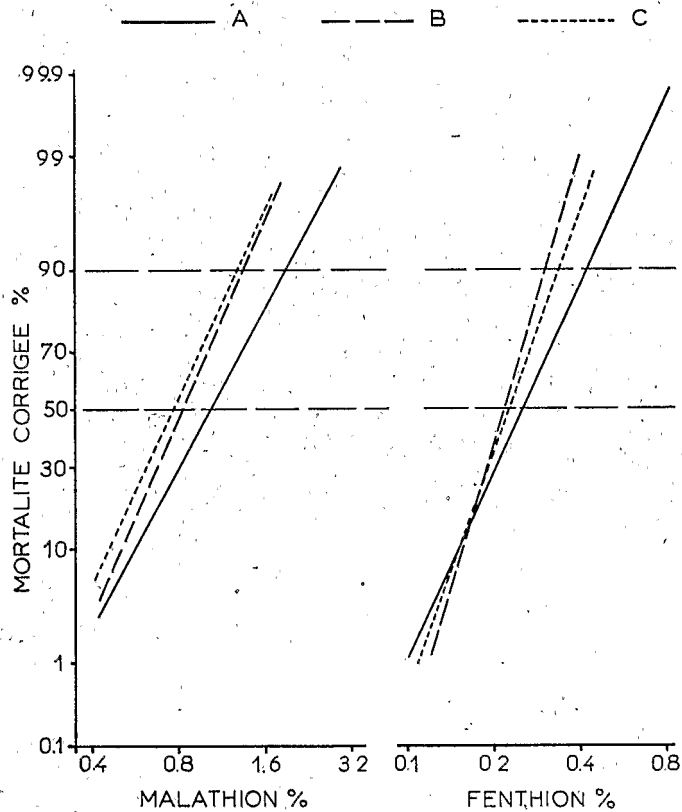


Fig. 3. — Sensibilité comparée au fenthion et au malathion de femelles d'*Ae. aegypti* dans différentes conditions :

- A) âgées de deux jours environ, à jeun.
- B) âgées de plus de dix jours, à jeun.
- C) âgées de plus de dix jours, fraîchement gorgées.

Le nombre moyen des femelles exposées à l'insecticide sur lequel est basé chacun des points ayant servi à tracer les lignes de régression mortalité/concentration est de 1,200 pour les lignes A, 195 pour les lignes B et 165 pour les lignes C.

Les mortalités occasionnées par l'exposition des femelles à différentes feuilles de papiers d'un même lot imprégnés à la même concentration de fenthion ou de malathion sont dans l'ensemble remarquablement constantes, excepté dans le cas des papiers au fenthion âgés pour lesquels on a enregistré une fois 0 p. 100 de mortalité avec une feuille, et 100 p. 100 avec une autre provenant de la même boîte.

B) Contamination des tubes d'exposition

Nous avons étudié la contamination des tubes d'exposition en y introduisant, pendant deux heures, des femelles d'*Ae. aegypti* de la souche Kongolikan, après avoir enlevé les papiers imprégnés d'insecticide et les feuilles de cellophane qui étaient restées trois jours à l'intérieur des tubes. La mortalité, 24 heures après la fin du contact, allait de 0 p. 100 pour un tube ayant contenu un papier à 1,6 p. 100 de malathion à 92 p. 100 pour un tube ayant contenu un papier à 6,4 p. 100 de fenthion. Pour une efficacité biologique égale, la contamination était plus importante avec le fenthion qu'avec le malathion.

Une seconde série d'expériences a été effectuée dans les mêmes conditions, avec des contacts d'une heure dans des tubes nus, ou revêtus d'une feuille de cellophane ou de papier témoin contaminé. Elle a montré que les tubes d'exposition contaminés par des papiers imprégnés à des concentrations de malathion ou de fenthion ne dépassant pas le CL 100 courantes peuvent être employés sans risques s'ils sont revêtus d'une feuille de cellophane propre ou d'une feuille de papier témoin, ou des deux.

C) Concentrations léthales observées en employant les papiers imprégnés de malathion et de fenthion

Les résultats de nos tests sont résumés dans les tableaux 4 et 5, ainsi que dans la figure 3.

Pour chacun des insecticides étudiés, les CL 50 déterminées graphiquement et les CL 100 observées ou probables sont très proches les unes des autres pour les différentes espèces et populations étudiées au laboratoire. Elles sont par contre beaucoup plus faibles pour les populations testées hors du laboratoire, à des températures d'exposition et de mise en observation très élevées.

Pour le malathion, les CL 100 observées ou estimées, et les CL 50 varient respectivement de 3,2 à 6,4 p. 100 et de 0,56 à 1,9 p. 100 (tableau 4). *A. gambiae*, *Ae. aegypti* et *C.p. fatigans* ont à peu près la même sensibilité, *A. funestus* et *A. rufigipes* étant nettement plus sensibles.

Pour le fenthion, les CL 100 observées ou estimées, et les CL 50 varient respectivement de 0,2 à 1,6 p. 100, et de moins de 0,2 à 0,55 p. 100 (tableau 5). *A. gambiae* est l'espèce la moins sensible, suivi par *M. uniformis* et *M. africana*, puis par certaines populations d'*Ae. aegypti* et de *C.p. fatigans*; d'autres populations d'*Ae. aegypti* et de *C.p. fatigans* viennent ensuite, ainsi qu'*A. funestus* et enfin *A. rufigipes* semble être l'espèce la plus sensible.

Chez *Aedes aegypti*, la sensibilité au malathion et au fenthion n'est pas affectée de façon importante par l'âge ni par l'état de réplétion (figure 3, tableaux 4 et 5).

TABLEAU 4

Sensibilité au malathion des femelles de cinq espèces de moustiques
(une heure d'exposition, 24 heures de mise en observation)

| Espèce et état physiologique | Souche | Mortalité corrigée p. 100 après exposition à la concentration de | | | | | Nombre total testé | CL 50 graphique (en malathion p. 100) |
|--|---------------------|--|------------|------------|------------|------------|--------------------|---------------------------------------|
| | | 0,4 p. 100 | 0,8 p. 100 | 1,6 p. 100 | 3,2 p. 100 | 6,4 p. 100 | | |
| <i>Ae. aegypti</i> jeune, à jeun âgé, à jeun âgé, gorgé.... | Kongolikan | 3,4 | 20,9 | 83,6 | 98,3 | — | 5004 | 1,04 p. 100 |
| | | 4 | 36 | 97 | — | — | 723 | 0,84 p. 100 |
| | | 7 | 49 | 96 | 100 | — | 669 | 0,78 p. 100 |
| <i>Ae. aegypti</i> jeune, à jeun | Cotonou | 1 | 16 | 74 | — | — | 410 | 1,19 p. 100 |
| <i>Ae. aegypti</i> jeune, à jeun | Savannah | 3 | 30 | 93 | — | — | 395 | 0,91 p. 100 |
| <i>A. gambiae</i> gorgé et gravide | Koumbia | 0 | 15 | 83 | 95 | 100 | 598 | 1,15 p. 100 |
| <i>A. gambiae</i> gorgé | Gaoulou | 2 | 18 | 87 | 100 | — | 460 | 1,10 p. 100 |
| <i>A. gambiae</i> gorgé et gravide | Dori | 18 | 94 | 99 | — | — | 281 | 0,56 p. 100 |
| <i>A. funestus</i> gorgé et gravide | Koumbia | 7 | 49 | 93 | 100 | — | 799 | 0,81 p. 100 |
| <i>A. rufiges</i> gorgé et gravide | Dori | 85 | 100 | — | — | — | 81 | — |
| <i>C.p. fatigans</i> à jeun, gorgé et gravide | Bobo-Dioulasso | 8 | 14 | 78 | 100 | — | 527 | 1,06 p. 100 |

TABLEAU 5

Sensibilité au fenthion des femelles de sept espèces de moustiques
(une heure d'exposition, 24 heures de mise en observation)

| Espèce et état physiologique | Souche | Mortalité corrigée p. 100 après exposition à la concentration de | | | | | Nombre total testé | CL 50 graphique en fenthion p. 100) |
|--|---------------------|--|------------|------------|------------|------------|--------------------|-------------------------------------|
| | | 0,1 p. 100 | 0,2 p. 100 | 0,4 p. 100 | 0,8 p. 100 | 1,6 p. 100 | | |
| <i>Ae. aegypti</i> jeune, à jeun âgé, à jeun âgé, gorgé.... | Kongolikan | 1,2 | 23,6 | 87,3 | 99,8 | — | 5054 | 0,26 p. 100 |
| | | 0 | 38 | 99,5 | — | — | 725 | 0,22 p. 100 |
| | | 1 | 27 | 98 | 100 | — | 669 | 0,23 p. 100 |
| <i>Ae. aegypti</i> jeune, à jeun | Cotonou | 1 | 3 | 53 | — | — | 408 | 0,38 p. 100 |
| <i>Ae. aegypti</i> jeune, à jeun | Savannah | 2 | 15 | 88 | — | — | 397 | 0,26 p. 100 |
| <i>A. gambiae</i> gorgé et gravide | Koumbia | 0 | 8 | 27 | 85 | 100 | 630 | 0,50 p. 100 |
| <i>A. gambiae</i> gorgé | Gaoulou | — | 3 | 21 | 82 | 100 | 435 | 0,55 p. 100 |
| <i>A. gambiae</i> gorgé et gravide | Dori | 0 | 37 | 96 | 100 | — | 292 | 0,22 p. 100 |
| <i>A. funestus</i> gorgé et gravide | Koumbia | 2 | 17 | 91 | 99,3 | — | 674 | 0,26 p. 100 |
| <i>C.p. fatigans</i> à jeun, gorgé et gravide | Bobo-Dioulasso | 0 | 8 | 59 | 94 | 100 | 663 | 0,37 p. 100 |
| <i>A. rufigipes</i> gorgé et gravide | Dori | — | 100 | — | — | — | 50 | — |
| <i>C.p. fatigans</i> à jeun | Bamako | — | 45 | 93 | 100 | 100 | 273 | 0,21 p. 100 |
| <i>M. africana</i> à jeun et gorgé | Badala-Sossogona .. | — | 0 | 31 | 95 | — | 257 | 0,47 p. 100 |
| <i>M. uniformis</i> à jeun et gorgé | Badala-Sossogona .. | 2 | 5 | 34 | 79 | 100 | 838 | 0,51 p. 100 |

IV. - DISCUSSION ET CONCLUSIONS

A) **Durée d'efficacité et conditions d'emploi des papiers imprégnés de fenthion ou de malathion**

Les papiers imprégnés de malathion ou de fenthion en solution dans un mélange d'huile d'olive—ionol sont d'un emploi moins aisé que les papiers imprégnés de D.D.T. ou de dieldrine en solution dans l'huile Risella. En climat tropical, leur efficacité diminue avec leur âge et ils s'altèrent dans les jours qui suivent leur sortie de l'emballage étanche. Ils contaminent incontestablement les tubes d'exposition de la trousse O.M.S., même s'ils sont isolés de ces tubes par une feuille de cellophane. Il faut donc éviter de laisser les papiers imprégnés séjourner inutilement dans les tubes d'exposition, tant pour limiter la contamination des tubes que pour prolonger la durée d'utilisation des papiers. Les feuilles de cellophane doivent être changées après chaque emploi des tubes d'exposition. On peut probablement prolonger la durée d'efficacité des papiers imprégnés en les conservant à basse température.

Ces observations n'empêchent pas d'envisager l'emploi de papiers imprégnés de façon standardisée avec du malathion ou du fenthion, ou tout autre insecticide organophosphoré ayant des caractéristiques physicochimiques similaires. Mais ces papiers devront être employés avec plus de précautions que ceux au D.D.T. ou à la dieldrine et ne pourront probablement être fournis que sur demande spéciale, leur fabrication devant être entreprise dans les semaines précédant leur emploi.

B) **Concentrations nécessaires pour les tests sur moustiques adultes**

En dehors de nos observations, un certain nombre de CL 50 et de CL 100 sont indiquées dans quelques publications scientifiques récentes. Malheureusement, la plupart des auteurs ont employé des applications topiques (HADAWAY et BARLOV, 1957 a et 1962) ou des papiers imprégnés à l'aide de solvants volatils (RAMAKRISHNAN et col., 1960 - SCHOOF et col., 1961), ce qui empêche de comparer leurs résultats avec les nôtres, la nature du solvant ou le mode d'imprégnation influant considérablement sur les résultats des tests de sensibilité (HAMON et MOUCHET, 1961 a - BUSVINE, 1962 - MOHAN RAO, 1962). Seuls, ZULUETA (1959), MOHAN RAO et col. (1960) et MOHAN RAO (1962) ont employé les papiers imprégnés d'organophosphorés en solution dans l'huile d'olive pour étudier la sensibilité des anophèles par la méthode de BUSVINE et NASH.

ZULUETA, opérant sur *A. sacharovi* Favre, avec des papiers imprégnés de malathion, a obtenu en Turquie et en Grèce des CL 50 inférieures à 0,05 p. 100 et des CL 100 comprises entre 0,125 et 0,25 p. 100. MOHAN RAO et ses collaborateurs; travaillant en Grèce sur *A. sacharovi* et sur *A. superpictus* Grassi, ont observé pour le malathion des CL 50 comprises entre 0,41 et 0,72 p. 100 avec des CL 100 de 2 p. 100, et pour le fenthion des CL 50 de 0,14 à 0,21 p. 100 avec des CL 100 de 0,5 p. 100. Il est frappant de voir que la CL 50 observée chez *A. sacharovi* en Grèce par ZULUETA est seize fois plus faible que celle observée dans le même pays et pour la même espèce par MOHAN RAO et collaborateurs. Cette différence n'est certainement pas due à l'interférence de populations anophéliennes résistantes au D.D.T. et à la dieldrine, car MOHAN RAO (1962) précise bien que la résistance aux insecticides chlorés n'influence pas, chez les anophèles, la sensibilité aux insecticides organophosphorés; le même auteur précise que des variations

sensibles de la température d'exposition au malathion n'influencent que faiblement la CL 50, ainsi que l'avaient déjà indiqué HADAWAY et BARLOW (1957 b), la mortalité croissant avec la température. Ces discordances entre les résultats de ZULUETA et ceux de MOHAN RAO et collaborateurs sont donc probablement dues à la méthode d'imprégnation ou à la nature du papier imprégné.

MOHAN RAO (1962) a travaillé sur *A. gambiae*, *A. sundanicus* Rodenwaldt, *A. stephensi* Liston et *A. labranchiae* ssp. *atroparvus* Van Thiel, en employant exclusivement le malathion, et en opérant généralement sur des nombres assez faibles de femelles de chaque souche. Les CL 50 observées vont de 0,47 à 1,10 p. 100, et les CL 100 de 1 à 2 p. 100, les chiffres extrêmes correspondant tous à différentes populations d'*A. gambiae*. Ces valeurs ne sont que légèrement inférieures à celles que nous avons observées lors de nos essais, la différence la plus sensible étant au niveau de la CL 100, ce qui peut s'expliquer par le petit nombre de femelles soumis aux tests ainsi que par de minimes variations dans la technique des essais. Cela souligne encore une fois la nécessité de disposer de papiers imprégnés rigoureusement standardisés afin de rendre les résultats des tests comparables entre eux et de permettre la détection et la mesure de la résistance aux insecticides organophosphorés.

Si l'on utilise des papiers imprégnés selon les mêmes modalités que ceux fournis par l'O.M.S. pour le D.D.T. et la dieldrine, mais en employant le mélange d'huile d'olive—ionol comme solvant, les concentrations nécessaires sont de 0,2 à 12,8 p. 100 pour le malathion et de 0,05 à 3,2 p. 100 pour le fenthion, la concentration la plus basse et la plus élevée ne devant être que rarement utilisées. Pour le travail courant de populations résistantes, qui vise avant tout à déterminer la CL 100, une progression géométrique de raison 2 des concentrations est satisfaisante. Pour des études détaillées des populations résistantes et sensibles une progression géométrique des concentrations de raison $\sqrt{2}$ est nécessaire, du fait de la forte pente des lignes de régression mortalité/concentration. Les concentrations les plus élevées requises sont assez éloignées de la saturation dans l'huile d'olive, qui correspond à environ 14 p. 100 de fenthion et à 42 p. 100 de malathion (en poids pour poids), ce qui laisse une marge de sécurité importante pour la détermination de l'ordre de grandeur de la résistance des moustiques adultes aux insecticides organophosphorés.

RESUME

Les auteurs présentent une étude sur la conservation des papiers imprégnés d'insecticides organophosphorés, destinés à l'exécution des tests de sensibilité aux insecticides pour les moustiques, les puces, les glossines, les phlébotomes, les punaises des lits et les triatomés. Le solvant employé est un mélange d'huile d'olive et d'ionol.

Moyennant certaines précautions, ces papiers imprégnés peuvent être employés pendant les quatre mois qui suivent leur fabrication sans diminution importante de leur efficacité.

Les écarts dus à l'âge du papier sont, au bout de quatre mois, très inférieurs à ceux entraînés par des variations de la technique d'imprégnation. Il est donc de la plus haute importance de pouvoir disposer de papiers imprégnés de façon standardisée, si l'on veut pouvoir comparer les résultats obtenus dans différents pays et laboratoires.

Les auteurs déterminent quelles sont les concentrations nécessaires pour l'étude de la sensibilité au fenthion et au malathion des moustiques adultes. Les concentrations léthales 100 p. 100 les plus élevées observées sont de 1,6 p. 100 de fenthion et de 6,4 p. 100 de malathion et sont suffisamment éloignées de la saturation de ces insecticides dans l'huile d'olive pour permettre la détection de populations résistantes aux insecticides organophosphorés.

SUMMARY

The authors describe a study on the preservation of organo-phosphorus insecticides impregnated papers. These papers are designed to be incorporated in W.H.O. tests kits insecticide resistance investigations on adult mosquitoes, fleas, tsetse flies, sandflies, bedbugs and cone-nosed bugs. The solvent used is a mixture of olive oil and ionol.

With a minimum of care these impregnated papers can be used in the four months following their impregnation without important decrease of their efficacy.

Variations of toxicity of the impregnated papers, according to the age of the paper inside four months, are far smaller than the variations related to differences in the impregnation technique. The authors emphasise that impregnated papers issued by a central agency must be available and used if results of tests carried out in various countries and laboratories of the world are to be compared.

The authors indicate characteristic lethal concentrations of malathion and fenthion for various adult mosquito populations and species. Complete mortality occurs after exposition to papers impregnated with 1,6 p. 100 fenthion or with 6,4 p. 100 malathion. These concentrations are far lower than the highest available concentrations of fenthion and malathion in olive oil, allowing an easy detection of O.P. resistant populations.

REMERCIEMENTS

Tous nos remerciements vont à l'Organisation Mondiale de la Santé qui nous a aidés dans l'exécution de cette étude, et plus particulièrement à M. J.W. WRIGHT, Chef de la Section du Contrôle des vecteurs de la Division de l'Assainissement.

*Section Entomologie médicale et vétérinaire
de l'Office de la Recherche Scientifique et Techni-
que Outre-Mer, Paris.*

*Laboratoire d'Entomologie du Centre MURAZ,
Organisation de Coopération et de Coopération
pour la lutte contre les Grandes Endémies, Bobo-
Dioulasso.*

BIBLIOGRAPHIE

- BURNETT (G.F.), 1961. — The susceptibility of tsetse flies to topical applications of insecticides. II. Young adult of *Glossina morsitans* Westw. and organophosphorus compounds, pyrethrins and Sevin. — *Bull. ent. Res.*, 52, 763-772.
- BUSVINE (J.R.), 1962. — A laboratory technique for measuring the susceptibility for houseflies and blowflies to insecticides. — *Lab. Pract.* 11, 464-468.
- BUSVINE (J.R.) and LIEN (J.), 1961. — Methods for measuring insecticide susceptibility levels in bedbugs, cone-nosed bugs, fleas and lice. — *Bull. Org. mond. Santé*, 24, 509-517.
- BUSVINE (J.R.) and NASH (R.), 1953. — The potency and persistence of some new synthetic insecticides. — *Bull. ent. Res.* 44, 371-376.
- CHAUVET (G.) et COZ (J.), 1960. — Essais de détermination de la sensibilité de *Chrysomyia putoria* Wied. et de *Musca domestica* L. à divers insecticides. — Publ. Inst. Rech. Scient. Madagascar, Tananarive, 34 p.
- ELLIOTT (R.), 1961. — Effets de mélanges de D.D.T. et de malathion sur l'activité et la mortalité des moustiques. — WHO/Mal/313, Genève.
- GRAYSON (J.M.), 1960. — Laboratory selection of normal and chlordane-resistant german cockroaches for resistance to malathion and diazinon. — *J. econ. Ent.*, 53, 200-203.
- GRUCHET (H.), 1961. — Sensibilité de *Cimex hemipterus* Fabr. 1803, au D.D.T., à la dieldrine et aux mélanges D.D.T.+diazinon et dieldrine+diazinon dans la région de Miandrivazo, Madagascar. — *Bull. Soc. Path. exot.*, 54, 1358-1365.
- HADAWAY (A.B.) et BARLOW (F.), 1957 a. — The toxicity of three organic phosphorus insecticides to house-flies and mosquitoes. — *Bull. Org. mond. Santé* 16, 870-873.
- HADAWAY (A.B.) and BARLOW (F.), 1957 b. — The influence of temperature and humidity on the action of insecticides. I. During the post-treatment period. — *Ann. Trop. Med. Parasit.* 51, 187-193.
- HADAWAY (A.B.) and BARLOW (F.), 1962. — The toxicity of some organophosphorus compounds to adult mosquitos. — WHO/Insecticides/137, Genève.

- HAMON (J.) et GARRETT-JONES, 1962. — La résistance aux insecticides chez des vecteurs majeurs du paludisme et son importance opérationnelle. — *Bull. Org. mond. Santé*, 28, sous presse.
- HAMON (J.) et MOUCHET (J.), 1961 a. — La mesure de la sensibilité des insectes aux insecticides : principes et facteurs de variation. — *Bull. Soc. ent. France* 66, 172-188.
- HAMON (J.) et MOUCHET (J.), 1961 b. — La résistance aux insecticides chez les insectes d'importance médicale. Méthodes d'étude et situation en Afrique au Sud du Sahara. — *Méd. Trop.* 21, 565-596.
- LEBRUN (A.) et CERF (J.), 1959. — Deuxième note sur l'utilisation en pulvérisation domiciliaire d'un insecticide organophosphoré rémanent (Baytex). — *Afr./Symp. Pest.* 17, Brazzaville.
- MOHAN RAO (A.), 1962. — Observations on the susceptibility to organophosphorus insecticides of six anopheles species. — *Ann. trop. Med. Parasit.* 56, 92-100.
- MOHAN RAO (A.), PRESS (J.), CAPRARI (P.) et REGAMEY (J.), 1960. — Evaluation de l'efficacité de trois insecticides organophosphorés dans les programmes d'éradication du paludisme. — WHO/Mal/274, 16-26, Genève.
- NGUY (V.D.) and BUSVINE (J.R.), 1960. — Studies of the genetics of resistance to parathion and malathion in the house fly. — *Bull. Org. mond. Santé*, 22, 531-542.
- OMARDEN (T.A.), 1959. — Annual Report of the Malaria Division, 1959. — Publ. Hlth. Dept., Trinidad and Tobago.
- O.M.S. 1960 a. — Insecticide resistance and vector control. Tenth Report of the Expert Committee of Insecticides. — *Org. mond. Santé, Sér. Rapp. techn.*, 191, Genève.
- O.M.S. 1960 b. — Résumé des caractéristiques chimiques et physiques essentielles des trois insecticides organophosphorés : malathion, diazinon et Baytex. — WHO/Mal/274, 27-28, Genève.
- O.M.S. 1961. — Seventh summary of cases of insecticide resistance in anopheline mosquitos. WHO/Mal/325, Genève.
- RAMAKRISHNAN (S.P.), SHARMA (M.I.D.) and KALRA (R.L.), 1960. — Laboratory and field studies on the effectiveness of organophosphorus insecticides in the control of *C. fatigans*. — *Ind. J. Mal.*, 14, 545-566.
- SCHOOF (H.F.), MATHIS (W.) and AUSTIN (J.R.), 1961. — Field tests on the residual effectiveness of deposits of malathion and Bayer 29493 against resistant *Anopheles albimanus* in El Salvador. — *Bull. Org. mond. Santé*, 24, 475-487.
- YASUTOMI (K.), 1962. — Insecticide resistance developed in several species of the mosquitoes of Japan. — *Jap. J. med. Sci. and Biol.*, 15, 29-35.
- ZULUETA (J. de), 1959. — Insecticide resistance in *Anopheles sacharovi*. — *Bull. Org. mond. Santé*, 20, 797-822.