

DOSES DIAGNOSTIQUES DE LA RESISTANCE D'*Aedes aegypti* AUX INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

par

M. COOSEMANS¹ 2, J. MOUCHET², J. DEJARDIN², J. BARATHE² & C. SANNIER²

¹Département de Protozoologie, Institut de Médecine Tropicale,
Nationaalestraat 155, B-2000 Antwerpen, Belgique.

²Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre-Mer,
70-74, route d'Aulnay, F-93140 Bondy, France.

Résumé — L'étude de la sensibilité à six insecticides organophosphorés (malathion, fénitrothion, fenthion, téméphos, chlorpyrifos et méthylchlorpyrifos) sur plus de 200 souches d'*Aedes aegypti* provenant de tous les continents a permis d'apprécier la variabilité des paramètres caractéristiques du phénomène : CL₅₀ (concentration d'insecticide létale pour 50 pour cent des individus en expérience) et CL₉₅.

Par le calcul des probabilités, il a été possible de déterminer à la quasi-certitude de 95 % des valeurs de cette CL₉₅ au-delà desquelles la souche a moins d'une chance sur mille et d'une chance sur cent mille de posséder une sensibilité normale.

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

Les doses diagnostiques proposées pour chaque insecticide sont : malathion : 1,00 ppm et 2,00 ppm; fénitrothion : 0,06 — 0,10; fenthion : 0,05 — 0,10; téméphos : 0,02 — 0,03; chlorpyrifos : 0,01 — 0,015; méthylchlorpyrifos : 0,10 — 0,30.

KEYWORDS : *Aedes aegypti*; Insecticides, Organophosphate; Insecticide Resistance; Diagnostic Dosages.

Introduction et méthodologie

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

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

limitée et en l'absence de pression sélective la souche recouvre une sensibilité normale.

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

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

En fait, il apparaît que la CL_{50} n'est pas un bon paramètre pour établir un diagnostic de résistance. En effet, le phénomène, à ses débuts au moins, intéresse seulement une partie de la population qui peut résister à des doses élevées d'insecticides, alors que la majorité de la population est peu affectée. D'où il résulte une faible modification de la CL_{50} mais un accroissement de la CL_{95} . Ce dernier paramètre paraît donc plus sensible que la CL_{50} .

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

(1) CL_{50} = Concentration létale 50, c'est-à-dire concentration qui provoque la mort de 50 % des individus en conditions expérimentales. La CL_{95} provoque la mort de 95 % des individus.

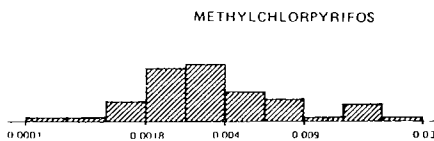
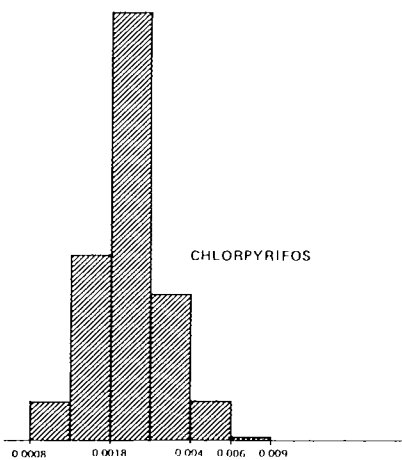
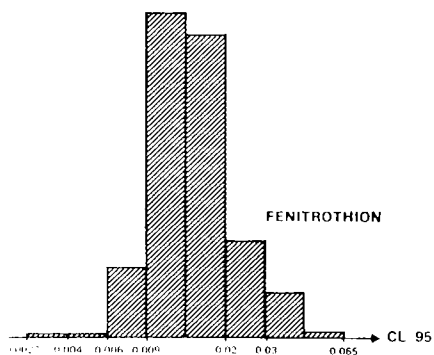
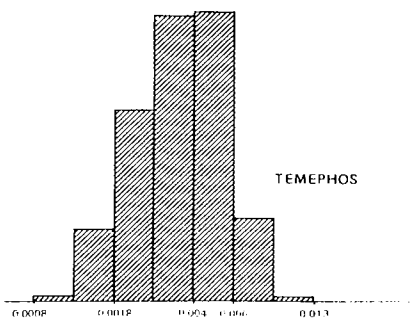
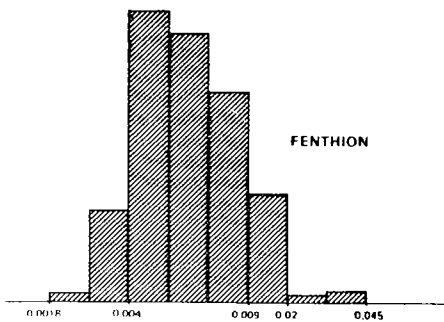
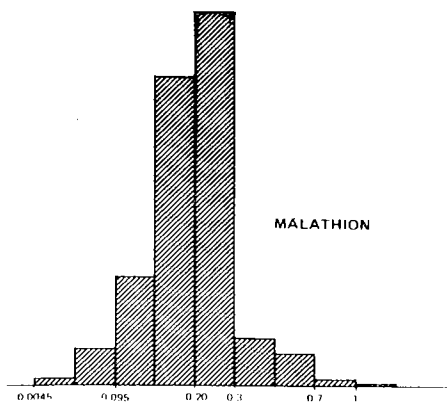


Figure 1.
Histogramme de la distribution des CL₉₅.

TABLEAU 1

Répartition des CL₉₅ au chlorpyrifos (= Dursban) de 214 souches d'*Aedes aegypti*

Interprétation statistique des résultats

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

Limites observées : 0,0008 à 0,0089.

Moyenne retransformée corrigée : 0,0023.

Ecart-type** : 0,1568.

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

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

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

* Les CL₉₅, dans tous les tableaux, sont exprimées en ppm (parties par millions).

** Les écarts-types donnés dans les tableaux de 1 à 7 sont ceux des log CL₉₅ (logarithmes décimaux).

Variations de la CL₉₅ et établissement des limites de tolérance pour les différents insecticides

Les CL₉₅ de chaque insecticide, obtenues en testant de 50 à 250 souches d'*Aedes aegypti* ont été groupées en classes dont l'intervalle croît en progression géométrique. D'après les résultats tabulés dans les tableaux 1 à 6 et dont les histogrammes sont représentés à la figure 1, il apparaît

TABLEAU 2

Répartition des CL₉₅ au téméphos (= Abate) de 230 souches d'*Aedes aegypti*

Interprétation statistique des résultats

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

Limites observées : 0,0008 à 0,0129.

Moyenne retransformée corrigée : 0,0037.

Ecart-type : 0,1903.

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

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

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

que les CL₉₅ pour chaque insecticides se répartissent suivant une loi log-normale. A partir de ces données, nous avons calculé la moyenne et les deux limites de tolérance à $P = 10^{-3}$ et $P = 10^{-5}$ des six populations des log CL₉₅; les résultats sont regroupés au tableau 7.

Au sens statistique, une limite de tolérance est une limite qui laisse au-dessus d'elle une certaine proportion P de la population avec une quasi-certitude donnée, $\gamma = 95$ p. cent dans notre cas. Par exemple, la valeur 0,008 lue à la ligne 1 de la colonne 6 du tableau 7 est la valeur de la CL₉₅ au chlorpyrifos qui ne laisse au-dessous d'elle qu'un pour mille ($P = 10^{-3}$) de souches sensibles, affirmation faite à la quasi-certitude 0,95.

TABLEAU 3

Répartition des CL₉₅ au fenthion de 250 souches d'*Aedes aegypti*

Interprétation statistique des résultats

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

Limites observées : 0,0018 à 0,0449.

Moyenne retransformée corrigée : 0,0081.

Ecart-type : 0,2150.

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

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

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

Ceci peut se traduire par : il existe, au plus, 1 chance sur 1.000 de trouver une souche d'*Aedes aegypti* sensible au chlorpyrifos dont la CL₉₅ soit supérieure à 0,008 ppm, affirmation faite, non pas avec la certitude absolue ($\gamma = 1$), mais avec la quasi-certitude de 0,95. De même, on aurait une chance sur 100.000 ($P = 10^{-5}$) de trouver une souche sensible au chlorpyrifos dont la CL₉₅ soit supérieure à la valeur 0,012 ppm lue toujours à la ligne 1 du même tableau mais à la colonne 7.

TABLEAU 4

Répartition des CL₉₅ au fénitrothion de 213 souches d'*Aedes aegypti*

Interprétation statistique des résultats

Limites de classe	Effectif de la classe	Effectifs cumulés	Fréquences cumulées %
0,0027-0,0039	1	1	0,5
0,0040-0,0059	1	2	0,9
0,0060-0,0089	18	20	9,4
0,0090-0,0129	83	103	48,4
0,0013-0,0190	78	181	85,0
0,0200-0,0290	25	206	96,7
0,0300-0,0449	6	212	99,5
0,0450-0,0649	1	213	100,0

Limites observées : 0,0027 à 0,0649.

Moyenne retransformée corrigée : 0,0147.

Ecart-type : 0,1694.

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

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

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

Interprétation des résultats — Proposition de doses diagnostiques

Nous pouvons considérer que les souches dont les CL₉₅ se situent au-delà de la limite de tolérance $P = 10^{-5}$ sont résistantes au produit considéré. Lorsque cette CL₉₅ se situe entre les limites $P = 10^{-3}$ et $P = 10^{-5}$, la souche doit être considérée comme ne présentant plus une sensibilité normale et, de ce fait, fortement suspecte de résistance. Le tableau 8 fournit d'ailleurs une classification des souches suivant leur CL₉₅.

L'établissement des doses diagnostiques a pour but de simplifier le travail des techniciens sur le terrain en leur permettant de détecter une

TABLEAU 5

Répartition des CL₉₅ au méthylchlorpyrifos (= Methyl-Dursban) de 52 souches d'*Aedes aegypti*

Interprétation statistique des résultats

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

Limites observées : 0,0001 à 0,029.

Moyenne retransformée corrigée : 0,0048.

Ecart-type : 0,3550.

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

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

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

résistance ou d'en avoir une forte présomption en exécutant seulement 1 ou 2 tests : la mise au point de ces techniques simplifiées avait été fortement souhaitée par le Comité OMS d'experts de la Résistance aux Pesticides des vecteurs et réservoirs de maladies (1976).

Si l'on ne doit exécuter qu'un seul test, il conviendrait d'utiliser une concentration très voisine de la limite de tolérance $P = 10^{-3}$. S'il y avait plus de 5 p. cent de larves survivantes à cette concentration, il conviendrait

TABLEAU 6

Répartition des CL₅₀ au malathion de 234 souches d'*Aedes aegypti*

Interprétation statistique des résultats

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

Limites observées : 0,045 à 1,49.

Moyenne retransformée corrigée : 0,2196.

Ecart-type : 0,1881.

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

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

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

de faire une étude plus complète de la souche et notamment de la tester à des concentrations plus élevées.

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

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

TABLEAU 7
 Limites observées des CL_{95} et limites de tolérance pour les six composés organophosphores étudiés

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

TABLEAU 8
Classification des souches d'*Aedes aegypti* suivant leur CL₉₅

Doses diagnostiques

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

Diagnostic dosages for resistance to organophosphorus compounds in *Aedes aegypti*.

Summary — The study of the susceptibility of six organophosphorus compounds (malathion, fenitrothion, fenthion, temephos, chlorpyrifos and methylchlorpyrifos) on more than 200 *Aedes aegypti* strains originating from all continents has allowed to appreciate the variability of the characteristic parameters of the phenomenon : CL_{50} (lethal insecticide concentration for 50 % of the experienced individuals) and CL_{95} .

By the probability calculation, it has been possible to determine with a certitude of 95 % the values of this CL_{95} above which the strain has less than one chance out of thousand and one chance out of one hundred thousand to have a normal susceptibility.

Two values are proposed as diagnostic dosages for the susceptibility of the *Aedes aegypti* larvae to the studied insecticides. More than 5 % survival at the lowest concentration would indicate that the strain has no more a normal susceptibility and should be more deeply investigated. More than 5 % survivals at the highest concentration would indicate a resistant strain.

The diagnostic dosages proposed for each insecticide are : malathion : 1,00 ppm and 2,00 ppm; fenitrothion : 0,06 — 0,10; fenthion : 0,05 — 0,10; temephos : 0,02 — 0,03; chlorpyrifos : 0,01 — 0,015; methylchlorpyrifos : 0,10 — 0,30.

Diagnostische dosissen der resistentie van *Aedes aegypti* aan organofosfor insecticiden.

Samenvatting — De studie van de gevoeligheid aan zes organofosfor insecticiden (malathion, fenitrothion, fenthion, temephos, chlorpyrifos en methylchlorpyrifos) op meer dan 200 *Aedes aegypti* stammen uit alle werelddelen heeft het mogelijk gemaakt de variabiliteit te bepalen van de karakteristische parameters van het verschijnsel CL_{50} (letale insecticide concentratie voor 50 % der individuen van de proefneming) en CL_{95} .

Door de probabiliteitsberekening is het mogelijk geweest met een quasi-zekerheid van 95 % de waarden van deze CL_{95} te bepalen; boven deze waarden heeft de stam minder dan één kans op duizend en één kans op honderdduizend een normale gevoeligheid te bezitten.

Twee waarden worden voorgesteld als diagnostische dosissen van de resistentie der *Aedes aegypti* larven aan de bestudeerde insecticiden. Meer dan 5 % overlevenden aan de laagste concentratie zou betekenen dat de stam geen normale gevoeligheid heeft en grondiger moet bestudeerd worden. Meer dan 5 % overlevenden aan de hoogste concentratie zou op een resistentie wijzen.

De diagnostische dosissen voor elk insecticide zijn : malathion : 1,00 ppm en 2,00 ppm; fenitrothion : 0,06 — 0,10; fenthion : 0,05 — 0,10; temephos : 0,02 — 0,03; chlorpyrifos : 0,01 — 0,015; methylchlorpyrifos : 0,10 — 0,30.

Reçu pour publication le 12 septembre 1978.

REFERENCES

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