

Évaluation à échelle réduite de l'activité biologique des formulations de composés régulateurs de croissance vis-à-vis des larves du complexe *Simulium damnosum* *

1. Amélioration de la méthodologie par utilisation de deux nouveaux dispositifs

Julien M.C. DOANNIO ⁽¹⁾, Jean-Marc HOUGARD ⁽²⁾,
Joël DOSSOU-YOVO ⁽¹⁾, Jacques DUVAL ⁽¹⁾,
Henri ESCAFFRE ⁽²⁾

Résumé

Ce travail a pour sujet la mise au point d'une méthodologie d'évaluation de l'activité biologique des formulations de composés régulateurs de croissance des insectes vis-à-vis des larves du complexe *Simulium damnosum*. Le mode d'action de ce nouveau type d'insecticide impose une mise en observation de longue durée des insectes après leur contact avec les produits. Les difficultés d'élevage de masse des simuliés au laboratoire rendent obligatoire l'exécution des essais à petite échelle sur le terrain. Une méthodologie tenant compte de la biologie et de l'écologie des larves et dont les dispositifs sont bien adaptés aux conditions de terrain a dû être mise au point. Dans le présent article, les auteurs donnent une description complète de la méthodologie, des différents dispositifs employés et de leurs modes de fonctionnement.

Mots-clés : Méthodologie - Évaluation - Activité biologique - Régulateurs de croissance des insectes - Complexe *Simulium damnosum*.

Summary

ASSESSMENT AT SMALL SCALE OF INSECT GROWTH REGULATORS' ACTIVITY AGAINST *SIMULIUM DAMNOSUM* COMPLEX LARVAE. 1. IMPROVEMENT OF METHODOLOGY BY USING NEW EQUIPMENT. *The search of larvicides for use against the Simulium damnosum (Diptera, Simuliidae) species complex, vectors of onchocerciasis in West Africa, has led to the evaluation of insect growth regulator type compounds (IGR's). Their testing demands : (1) a special protocol because of their peculiar modes of action and (2) specialized equipment because of larval requirement for swiftly-moving water.*

The authors have developed a four step protocol :

- (1) Colonization of artificial supports by larvae collected in the field with their natural supports.*
- (2) Exposure of larvae to different doses of the candidate insecticide for a given time.*

* Ce travail a bénéficié d'une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS/OCP), B.P. 549, Ouagadougou, Burkina Faso.

(1) OCGGE - Institut Pierre RICHET (IPR), B.P. 1500, Bouaké 01, Côte-d'Ivoire.

(2) ORSTOM - Centre Pasteur, B.P. 1274, Yaoundé, Cameroun.

(3) Transfer of the exposed larvae to a rearing apparatus where their development and emergence as adults can be observed.

(4) Evaluation of the efficacy of the product tested by the percentage of reduction of adult fly emergence.

First (Step 1), the authors constructed a new, original apparatus in which four spillways and inclined planes are arranged concentrically around a rectangular water reservoir fed with river water. When natural supports with larvae are placed in this device, the larvae migrate spontaneously to colonize artificial supports placed on the inclined planes. 50 supports can be colonized in three hours.

The exposure (Step 2) is done by moving the artificial substrates into a closed-circuit trough system as used for conventional insecticides.

For Step 3, the artificial substrates are moved again to a device similar to that used for Step 1, but equipped with emergence cages for the adult flies and drift nets to catch detached larvae and non-viable adults.

The analysis of the results (Step 4) consists of calculation of the percent reduction of adult emergence (i.e., number of viable adults collected divided by number of larvae exposed and corrected for control mortality by application of Abbott's formula as modified by Mulla) :

$$\text{Corrected percent reduction} = 100 - \frac{\text{No. larvae in control group}}{\text{No. larvae exposed}} \times \frac{\text{No. of viable adults emerging from exposed larvae}}{\text{No. of viable adults emerging from controls}} \times 100$$

The tests carried out with this new equipment gave about a 95 % pupation and adult emergence in control groups - a much better result than previously achieved.

Key words : Insect Growth Regulators - *Simulium damnosum* - Methodology for evaluation.

1. Introduction

Dans l'aire du Programme OMS de Lutte contre l'Onchocercose humaine en Afrique de l'Ouest (OCP) l'apparition de résistances chez les larves du complexe *Simulium damnosum* aux insecticides classiques impose l'utilisation alternée de plusieurs produits et, par conséquent, la disponibilité d'une gamme d'insecticides. Ainsi, outre les insecticides chimiques classiques (organochlorés, organophosphorés, pyréthrinoides, carbamates, etc.) et ceux d'origine biologique (suspensions de *Bacillus thuringiensis* H-14), les composés régulateurs de croissance des insectes, nouvelle famille d'insecticides récemment développée par l'industrie, sont apparus à priori utilisables dans la lutte contre les simulies vectrices de l'onchocercose humaine. Un programme de criblage de ces composés sur larves du complexe *Simulium damnosum* a alors été engagé. L'évaluation de leur activité biologique a d'emblée posé un problème d'ordre méthodologique. En effet, ces composés agissent lentement sur le développement et le devenir des insectes. Comme le biotope privilégié des larves de simulies (rapides des rivières) est un milieu non sta-

tique, l'évaluation de l'effet de ce type d'insecticide est plus difficile que celui des insecticides classiques à toxicité immédiate.

Aux États-Unis d'Amérique et au Canada des essais de laboratoire et de terrain réalisés avec certains composés, en l'occurrence le diflubenzuron (Dimilin®) et le méthoprène (Altosid®) sur des espèces néarctiques (*Simulium vittatum*, *Simulium venustum*, *Simulium vercundum* et *Simulium decorum*), ont donné des résultats très prometteurs (Lacey et Mulla, 1977, 1978a, 1978b et 1979 ; Mc Kague *et al.*, 1978 ; Thompson et Adams, 1979).

Les différentes méthodologies utilisées s'appliquent bien aux espèces néarctiques dont la biologie et l'écologie diffèrent de celles des espèces du complexe *S. damnosum*. Une méthodologie différente, simple, fiable et utilisable sur le terrain dans le contexte local devait être mise au point.

Trois méthodes différentes ont été essayées (Guillet, com. pers.). La troisième permettait une meilleure approche de l'activité biologique des composés régulateurs vis-à-vis des larves de simulies et a été utilisée pour l'évalua-

tion de plusieurs produits (Guillet *et al.*, 1984, Guillet, 1985 ; Hougard, com. pers.). Toutefois cette méthodologie présentait quelques insuffisances. Des améliorations lui ont été apportées avec la conception et la construction de deux nouveaux dispositifs. Ces améliorations se traduisent par une plus grande facilité d'exécution des tests, une plus grande fiabilité des résultats du fait de l'augmentation du nombre d'adultes éclos dans les lots témoins, une réduction importante des pertes de larves et un accroissement des capacités de criblage des formulations. Nous présentons dans cet article une description complète de la méthodologie, des dispositifs utilisés et leurs modes de fonctionnement.

2. Description de la méthodologie

L'impossibilité d'élever des simulies au laboratoire impose de réaliser tous les essais d'insecticides antismulidiens potentiels sur le terrain. Des méthodes d'évaluation de larvicides chimiques (dispositif des gouttières « troughs » et de larvicides à base de *B. thuringiensis* H-14 (dispositif des minigouttières) ont été mises au point et ont permis un criblage intensif de nombreuses formulations proposées par l'industrie et la sélection de formulations pour des essais en rivière à petite échelle puis, éventuellement, à grande échelle (Guillet, com. pers.). Ces

dispositifs adaptés aux conditions de terrain permettent l'exécution des tests dans des conditions normalisées et la comparaison des résultats obtenus.

La méthodologie adoptée pour l'évaluation des régulateurs de croissance répond aux mêmes exigences. Elle comprend quatre phases :

- La colonisation de supports artificiels par des larves de simulies prélevées dans un gîte avec leurs supports naturels.
- L'exposition des larves à différentes doses d'insecticide pendant un temps donné.
- La mise en observation des larves dans un dispositif approprié pour le suivi de leur devenir.
- L'évaluation de l'efficacité des produits testés, basée sur le pourcentage de réduction d'émergence des imagos (voir *inf.*).

2. 1. COLONISATION DES SUPPORTS ARTIFICIELS PAR LES LARVES

La colonisation des supports artificiels (plaquettes métalliques de 18 × 6,5 cm peintes en blanc laqué) de larves est réalisée à l'aide du dispositif « déversoir ». Cet appareil, spécialement conçu, permet en un temps assez court de coloniser les plaquettes par une dérive naturelle sans manipulation des larves, évitant ainsi une perturbation de leur comportement (Hougard, com. pers.) (voir fig. 1).

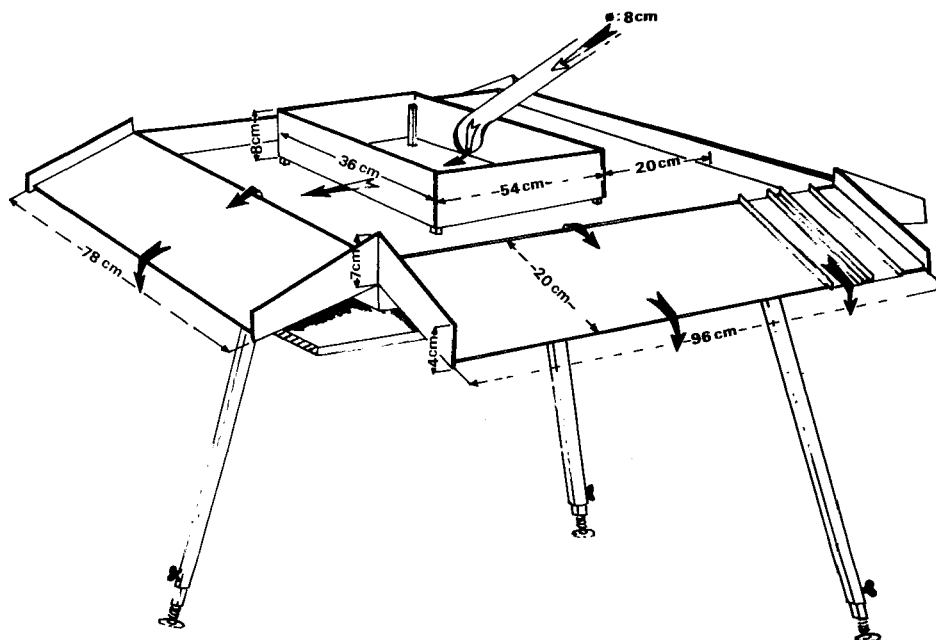


FIG. 1. — Dispositif du « déversoir » utilisé pour coloniser les supports artificiels de larves de simulies (Hougard *et al.*, 1986).
Device used for colonization of artificial supports by *Simulium* larvae collected in the field with their natural supports

Ce dispositif est entièrement construit en contre-plaqué marin et se compose de trois parties principales concentriques :

— Un collecteur central rectangulaire (54 cm × 36 cm × 8 cm), amovible et alimenté par gravité avec de l'eau de rivière à l'aide d'un tuyau d'aluminium ou en P.V.C. (diamètre de 8 cm).

— Un réservoir rectangulaire (96 cm × 78 cm × 6,5 cm) d'une capacité d'environ 50 litres dans lequel l'eau du collecteur central est redistribuée dans sa partie inférieure sans turbulence.

— Quatre plans inclinés à 15°, situés sur les quatre côtés du réservoir et sur lesquels on peut fixer une cinquantaine de plaquettes (supports artificiels).

Le dispositif est installé sur une table placée à l'horizontale. Une fois le réservoir plein, l'eau se déverse sur les plans inclinés, créant un courant suffisant pour les larves.

Des larves prélevées avec leurs supports naturels sont placées dans le réservoir d'eau où elles se retrouvent dans un milieu à faible turbulence défavorable à leur survie. Elles se décrochent et sont entraînées vers les plans inclinés où le courant est plus élevé, où elles se raccrochent sur les plaquettes métalliques.

Deux à trois heures suffisent pour obtenir des plaquettes entièrement couvertes de larves. Selon que l'on désire exposer différents groupes de stades larvaires à l'insecticide (larves âgées = stades larvaires 6 et 7, larves jeunes = stades larvaires 5, 4 et 3) on procède à un tri des larves sur les plaquettes en éliminant, à l'aide de pinces souples, les stades larvaires non désirés. Une fois cette dernière manipulation achevée, les plaquettes sont alors prêtes à être exposées à l'insecticide.

2. 2. EXPOSITION DES LARVES À L'INSECTICIDE

L'exposition des larves à l'insecticide est réalisée à l'aide du dispositif des gouttières (« troughs ») dérivé de celui utilisé par Jamback et Frempong-Boadu (1966). Ce dispositif, couramment utilisé pour l'évaluation des larvicides chimiques, s'adapte bien au traitement des larves avec les composés régulateurs de croissance (Guillet, *com. pers.*).

Entièrement construits en contreplaqué marin, les « troughs » (longueur : 42 cm, largeur : 22 cm, profondeur : 10 cm) ont un côté sur lequel est fixé un plan incliné (15°) ayant deux compartiments (longueur : 18,5 cm, largeur : 7,5 cm, profondeur : 3,5 cm).

Ces « troughs » sont disposés sur une table placée horizontalement. Chaque « trough » est relié à une pompe électrique, elle-même rattachée à un réservoir d'eau d'une capacité supérieure ou égale à 60 litres. Lorsque les pompes sont mises en marche, les « troughs » sont alimentés

en eau et leur trop-plein se déverse sur l'unique plan incliné à deux compartiments et retombe dans le réservoir placé juste en dessous de chaque « trough » à 50 cm. L'écoulement de l'eau dans les deux compartiments du plan incliné se fait à une vitesse (0,6 à 0,8 m/sec) favorable aux larves de simuliés.

Aux 60 litres d'eau du réservoir est ajoutée une quantité d'insecticide pure ou diluée pour obtenir la concentration souhaitée. Cinq ou dix minutes suffisent pour obtenir un mélange adéquat de l'insecticide à l'eau. Une fois le mélange effectué, les plaquettes colonisées de larves sont alors transférées dans les « troughs » deux à deux, ces derniers ne pouvant prendre que deux plaquettes. Les larves sont ainsi soumises au traitement insecticide pendant un temps donné (dix minutes, 20 minutes ou 60 minutes) (voir fig. 2).

2. 3. MISE EN OBSERVATION DES LARVES APRÈS EXPOSITION À L'INSECTICIDE

Après l'exposition des larves à l'insecticide, les plaquettes sont rapidement transférées dans le dispositif de mise en observation. Ce dispositif, conçu spécialement, permet le suivi du devenir des larves. Il dérive de celui utilisé pour la colonisation des supports artificiels décrit ci-dessus. Leurs dimensions et leurs principes de fonctionnement sont identiques. A la différence du dispositif du déversoir, les quatre plans inclinés sont compartimentés. Chaque compartiment forme une minigouttière (longueur : 38 cm, largeur : 8 cm, profondeur : 4,5 cm) ayant à son extrémité inférieure un filet en toile de nylon (BLU-TEX GG) à mailles fines (500 μ) ; le dispositif en comporte 42.

C'est dans ces minigouttières alimentées en eau que sont fixées les plaquettes avec les larves. Le filet permet de retenir toutes les larves qui décrochent des plaquettes. Il est à noter que l'eau de rivière alimentant les gouttières est filtrée à travers un voile de nylon^(R) (200 μ) fixé sur le collecteur central et aux bouts des quatre tuyaux d'alimentation, retenant ainsi les débris végétaux et inorganiques de grosse taille et d'éventuelles larves en dérive apportées par l'eau.

Une fois les plaquettes placées dans les gouttières, l'élimination des stades larvaires non désirés est effectuée à l'aide de pinces souples et le nombre de larves sur chaque plaquette est déterminé par comptage.

Des cages triangulaires en toile de nylon avec des charpentes métalliques (base : 39,5 cm, côtés : 40 et 33 cm, hauteur : 29 cm, largeur : 7 cm) permettent d'isoler chaque plaquette de larves et de récupérer les imagos qui émergent après la nymphose. Un trou pratiqué sur la cage permet la récolte des imagos à l'aide d'un tube d'aspiration (fig. 3).

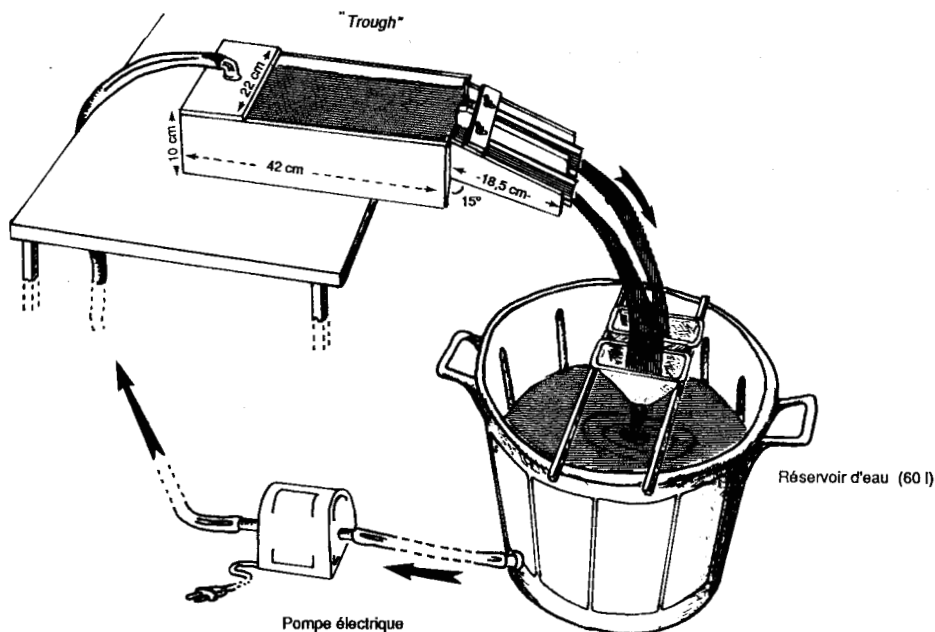


FIG. 2. — Dispositif des « troughs » en circuit fermé utilisé pour le traitement des larves de simules aux insecticides agissant par contact.
 Device of troughs (closed - circuit trough system) used for exposure of the larvae to different doses of the candidate insecticide for a given time

Auge = trough
 Réservoir d'eau = water can
 Pompe électrique = electric pump

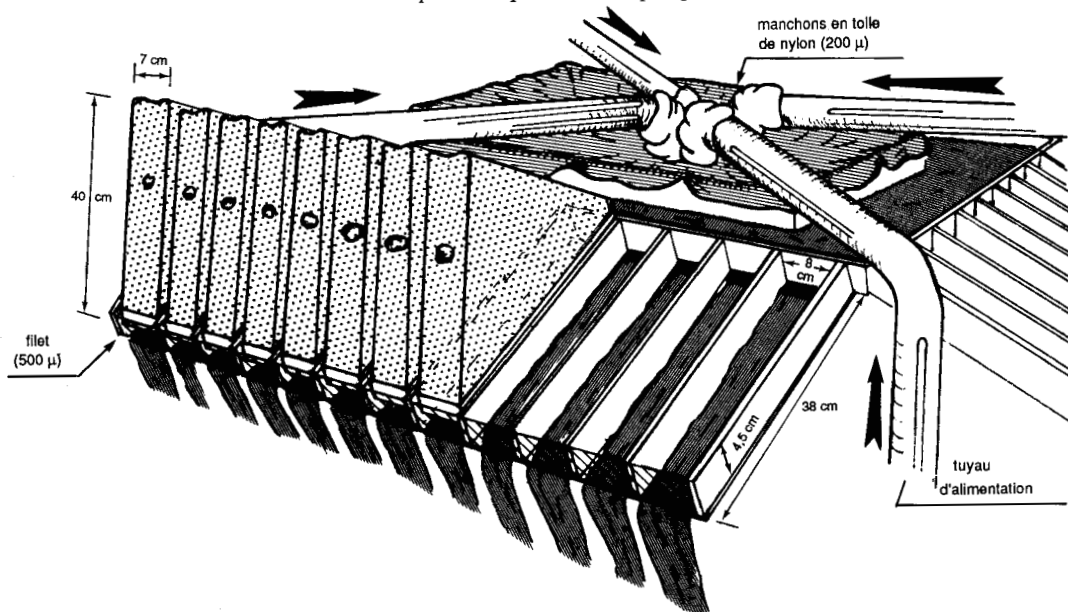


FIG. 3. — Dispositif de mise en observation des larves de simules après exposition à différentes doses de composés régulateurs de croissance.

A rearing apparatus where *Simulium* larvae development and emergence as adults can be observed

Filet en toile de nylon (R) (mailles = 500 μ) = net in linen mesh (500 μ)
 Manchons en toile de nylon (mailles = 200 μ) = sleeve in linen mesh (200 μ)
 Tuyau d'alimentation = water pipe

2. 4. EVALUATION DE L'EFFICACITÉ DES PRODUITS TESTÉS VIS-À-VIS DES LARVES DE SIMULIES

Elle est basée sur les pourcentages d'imagos viables (volant dans la cage) et exprimée en pourcentages de réduction des émergences calculés par rapport au nombre de larves mises en observation. Le suivi des larves est minutieusement effectué. Les larves mortes sont comptées.

Les imagos viables sont récoltés plusieurs fois par jour et conservés dans des piluliers contenant de l'alcool à 70°. Les adultes non viables récoltés dans le filet sont dénombrés et conservés dans un second pilulier. Un comptage des cocons vides normaux (avec exuvies nymphales) et des cocons vides anormaux (sans exuvies nymphales) est également effectué. Les cocons vides avec exuvies nymphales caractérisent les éclosions d'imagos viables ; leur prise en compte permet d'avoir une meilleure approche de l'efficacité des produits testés. Cependant, il est bon de noter que certains imagos, bien qu'ayant normalement éclos, peuvent présenter des malformations ou des déficiences physiologiques induites par l'insecticide. Dans certains cas, des adultes se noient à l'éclosion en raison de malformations alaires. Ces adultes sont classés parmi les individus non viables.

Les pourcentages de réduction des émergences calculés par rapport au nombre d'adultes viables récoltés sur le nombre de larves testées, et corrigés en appliquant la formule adaptée de Mulla (Mulla *et al.*, 1985), constituent le critère d'appréciation de l'efficacité d'une formulation de composés régulateurs de croissance :

$$\% \text{ R.E. brut} = 100 - \frac{\text{Nombre d'adultes viables récoltés} \times 100}{\text{Nombre de larves testées}}$$

$$\% \text{ R.E. corrigé} = 100 - \frac{\text{Nbre larves témoins} \times \text{viables traités} \times 100}{\text{Nbre larves traitées} \times \frac{\text{Nbre adultes viables témoins}}{\text{viables témoins}}}$$

3. Discussion - Conclusion

L'utilisation des deux nouveaux dispositifs que nous venons de décrire a permis une amélioration de la méthodologie d'évaluation de l'action des formulations de com-

posés régulateurs de croissance vis-à-vis des larves de similies. Cette amélioration s'est traduite par un accroissement significatif de la fiabilité des résultats.

Ces deux dispositifs présentent également un certain nombre d'avantages :

— Le déversoir permet en effet une colonisation rapide des supports artificiels par les larves sans manipulation, évitant ainsi les stress qui pourraient perturber le comportement physiologique des larves, contrairement à la technique assez fastidieuse qui consistait à agiter les supports naturels placés dans des minigouttières pour obtenir un décrochement des larves et une colonisation des plaquettes.

— Le nouveau dispositif de mise en observation des larves après leur exposition à l'insecticide présente l'avantage d'être compact et par conséquent moins encombrant, répondant du coup aux exigences de terrain. La dissociation de la cage d'émergence et du filet de dérive contrairement à l'ancien dispositif (Guillet *et al.*, 1984) rend plus aisée, d'une part, la manipulation et diminue d'autre part, le risque de perte de larves.

On note chez les lots témoins une nette amélioration des pourcentages de nymphose par rapport au nombre de larves de départ et également une augmentation des taux de récupération des imagos (95 %). Pour les premiers dispositifs, les pourcentages de nymphose dans les lots témoins variaient de 60 à 90 % avec des pourcentages d'éclosion de 100 % pour les nymphes. Toutefois, le pourcentage d'adultes récoltés viables était de 3 à 30 %.

L'amélioration de la méthodologie et le protocole adopté permettent désormais un criblage intensif des formulations de composés régulateurs de croissance tout en garantissant des résultats fiables.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements aux Docteurs P. Guillet et D. Kurtak du Programme OMS de Lutte contre l'Onchocercose humaine en Afrique de l'Ouest, pour l'aide qu'ils nous ont apportée au cours de la réalisation et de la rédaction de ce travail.

Nos remerciements vont également au Dr. L. Penchenier et à M. F. Ouedraogo qui ont réalisé l'illustration de ce travail.

Manuscrit accepté par le Comité de Rédaction le 1^{er} février 1988.

BIBLIOGRAPHIE

- GUILLET (P.), 1985. — La lutte contre les vecteurs de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest : étude de la résistance et recherche de nouveaux larvicides. Thèse Doct. État, Université Paris-Sud, ORSTOM, 444 p.
- GUILLET (P.), HOUGARD (J.M.), ESCAFFRE (H.) et DUVAL (J.), 1984. — Évaluation de l'activité des composés régulateurs de croissance sur des larves du complexe *Simulium damnosum*. I. Évaluation à échelle réduite : rapport préliminaire. Doc. OCCGE/IRTO, N° 19/IRTO/Rap/84 du 25 mai 1984.
- JAMBACK (H.) et FREMPONG-BOADU (J.), 1966. — Testing black fly larvicides in the laboratory and in streams. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 34 : 405-421.
- LACEY (L.A.) et MULLA (M.S.), 1977. — Larvicidal and ovicidal activity of Dimilin® against *Simulium vittatum*. *J. Econ. Ent.*, 70 : 370.
- LACEY (L.A.) et MULLA (M.S.), 1978a. — Factors affecting the activity of diflubenzuron against *Simulium* larvae (Diptera, Simuliidae). *Mosq. News*, 38 : 264.
- LACEY (L.A.) et MULLA (M.S.), 1978b. — Biological activity of diflubenzuron and three new IGRs against *Simulium vittatum* (Diptera : Simuliidae). *Mosq. News*, 38 : 377.
- LACEY (L.A.) et MULLA (M.S.), 1979. — Field evaluation of diflubenzuron against *Simulium* larvae. *Mosq. News*, 39 : 86.
- Mc KAGUE (A.B.), PRIDMORE et WOOD (P.M.), 1978. — Effects of Altosid® and Dimilin® on black flies (Diptera : Simuliidae). Laboratory and Field tests. *Canad. Ent.*, 110 : 103.
- MULLA (M.S.), DARWAZEH (H.A.), EDE (L.) et KENNEDY (B.), 1985. — Laboratory and field evaluation of the IGR phenoxy-carb against mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control assoc.*, 1, 4 : 442-448.
- THOMPSON (B.H.) et ADAMS (B.G.), 1979. — Laboratory and field trials using Altosid® insect growth regulator against black flies (Diptera : Simuliidae) of New Foundland, Canada. *J. Med. Entomol.*, 16 : 536.