

Évaluation de la sensibilité des larves du complexe *Simulium damnosum* à la toxine de *Bacillus thuringiensis* H 14 ⁽¹⁾

2. Sensibilité relative
de quelques groupes d'espèces
et possibilités d'utilisation
de doses diagnostiques

Pierre GUILLET ⁽²⁾⁽³⁾, Jean-Marc HOUGARD ⁽²⁾,
Julien DOANNIO ⁽⁴⁾, Henri ESCAFFRE ⁽⁵⁾, Jacques DUVAL ⁽⁵⁾

Résumé

La sensibilité à la toxine de *Bacillus thuringiensis* H 14 de quatre populations larvaires du complexe *Simulium damnosum* a été testée. L'écart observé entre les populations ne dépasse pas trois fois au niveau de la CL 50 ; il atteint quatre fois pour les valeurs extrêmes au sein d'une même population. L'emploi d'une dose diagnostique a été préconisé. La valeur de cette dose a été fixée à 20 fois la valeur moyenne des CL 50 obtenues sur l'ensemble des populations, soit 0,5 mg/l pendant 3 heures.

Mots-clés : *B. thuringiensis* H 14 — Complexe *Simulium damnosum* — Larves — Test de sensibilité — Dose diagnostique — Côte d'Ivoire.

Summary

A METHOD FOR TESTING SUSCEPTIBILITY OF THE *SIMULIUM DAMNOSUM* COMPLEX LARVAE TO THE *BACILLUS THURINGIENSIS* H 14 TOXIN. 2. RESULTS AND DIAGNOSTIC DOSAGES. The susceptibility of four larval populations belonging to the *Simulium damnosum* complex was tested, both in savannah and forest areas. The differences observed between mean LC 50 values of different populations did not exceed three times and four times between extreme LC 50's within populations.

These results were compared with those obtained with temephos in 3 hours susceptibility tests and turned out to be comparable except the mean slope of regression lines which was two times lower with *Bacillus thuringiensis* H 14 than with temephos. The use of diagnostic doses was recommended. It was fixed at 0.5 mg/l during 3 hours that is to say 20 times the mean value of the overall LC 50's.

Key words : *B. thuringiensis* H 14 — *Simulium damnosum* complex — Larvae — Susceptibility test — Diagnostic dose — Ivory Coast.

(1) Ce travail a bénéficié, dans le cadre des accords conclus entre l'ORSTOM et l'OCCGE, d'une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé.

(2) Entomologiste médical ORSTOM, Institut Pierre Richet, B.P. 1500, Bouaké, Côte d'Ivoire.

(3) Présente adresse : OMS/OCP, B.P. 2279, Bamako, Mali.

(4) Technicien OCCGE, Institut Pierre Richet.

(5) Technicien ORSTOM, même adresse.

1. Introduction

Une méthodologie a été proposée pour tester la sensibilité des larves de simules à la δ -endotoxine de *Bacillus thuringiensis* H 14 (Guillet *et al.*, 1985). Elle a été conçue pour être utilisée sur le terrain avec des larves des simules vectrices de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest appartenant au complexe *Simulium damnosum* Theobald. En tenant compte de la nature complexe des polypeptides qui constituent la toxine de *B. thuringiensis* H 14 et de leur mode d'action, les chances de voir se développer une résistance devraient être plus limitées que dans le cas des insecticides conventionnels tels que les organophosphorés. Toutefois, ce risque ne peut pas être négligé. En effet, *B. thuringiensis* H 14 a été utilisé à grande échelle depuis 1982 dans le cadre du vaste Programme de Lutte contre l'Onchocercose dans la Région du Bassin de la Volta pour détruire les populations larvaires des espèces du complexe *S. damnosum* résistantes aux insecticides organophosphorés.

Cette méthodologie a été standardisée pour que les résultats obtenus soient reproductibles. Par la suite, une enquête a été réalisée pour mesurer la sensibilité à la toxine de quelques populations de *S. damnosum* s.l. Les données obtenues avant l'emploi systématique du produit servent à définir la sensibilité de base de populations composées de différentes espèces du complexe *S. damnosum*, et ultérieurement, à déterminer leur éventuelle diminution de sensibilité.

L'exécution de tests de sensibilité dans les zones traitées est souvent impossible car le nombre de larves disponibles est généralement insuffisant. L'interruption momentanée des traitements, qui permettrait aux populations larvaires de se reconstituer, doit être évitée dans toute la mesure du possible car elle risque d'engendrer une reprise de la transmission dans les zones normalement protégées. Dans ce cas, on se limite à tester les populations vis-à-vis d'une seule dose diagnostique qui permet de déterminer si une fraction appréciable de la population n'a plus une sensibilité normale.

Des doses diagnostiques (ou doses discriminatives) ont été proposées pour détecter la résistance aux insecticides organophosphorés chez les larves d'*Aedes aegypti* (Mouchet *et al.*, 1972 ; Coosemans *et al.*, 1978). Ces doses sont d'environ dix fois la valeur de la CL 50 moyenne avec les pentes des lignes de régression dose-mortalité (rapports CL 95/CL 50) allant de 1,7 à 2. Ces doses ont été établies à partir des valeurs obtenues sur 170 à 200 souches.

Des doses diagnostiques pour le téméphos ont également été proposées dans le cas des larves du

complexe *S. damnosum* (Mouchet *et al.*, 1976). Les données disponibles étaient alors beaucoup plus limitées, mais compte tenu de l'expérience acquise avec les larves d'*A. aegypti*, ces auteurs ont également fixé la dose diagnostique à dix fois la valeur de la CL 50 moyenne. Les travaux exécutés ultérieurement, lors de l'apparition de populations résistantes, ont confirmé la validité de ces doses discriminatives (Guillet *et al.*, 1980).

Les données obtenues avec la toxine de *B. thuringiensis* H 14 sur quatre populations de différentes espèces du complexe *S. damnosum* ont été comparées à celles obtenues avec le téméphos (Abate^R) (Grébaut et Guillet, 1977). Cette comparaison a été établie pour voir s'il était possible de recommander, comme pour le téméphos, l'emploi de doses diagnostiques dans le suivi de la sensibilité des larves du complexe *S. damnosum* à la toxine de *B. thuringiensis* H 14.

2. Matériel et méthodes

Les tests ont été réalisés conformément à la méthodologie proposée dans la première partie de ce travail (Guillet *et al.*, 1985). La préparation bactérienne utilisée a été l'IPS 80, un standard international intérimaire du *B. thuringiensis* H 14 (de Barjac et Larget, 1981).

Les tests ont été réalisés dans quatre localités d'Afrique de l'Ouest sur différentes espèces du complexe *S. damnosum* décrites par Vajime et Dunbar (1975).

- Manantali (Mali) sur le Baffing, en zone de savane soudanienne avec des larves de *S. dieguerense* et *S. squamosum*,
- N'Golodougou (Côte d'Ivoire) sur la Bagbé, en zone de savane guinéenne, sur une population larvaire composée en majorité de *S. soubrense* et *S. damnosum* s.s.,
- Chutes Gauthier (Côte d'Ivoire) sur le Bandama, en zone de forêt dégradée, avec des larves de *S. soubrense* et *S. sanctipauli*,
- Akakro (Côte d'Ivoire) sur le M'Pedo, en zone de forêt dense, avec des larves de *S. yahense*.

Aux chutes Gauthier, 17 tests successifs ont été réalisés (un test comporte cinq concentrations et deux répétitions), répartis en quatre séries d'expérimentations. Ailleurs, trois à cinq tests ont été réalisés. Pour chaque série d'essais, les résultats ont été regroupés par concentration afin de pouvoir calculer les valeurs caractéristiques moyennes à l'aide d'un

programme d'analyse probit (Finney, 1971). L'intervalle de confiance est donné au seuil de 95 %.

Les résultats de l'ensemble des tests (29 au total) ont été regroupés et comparés aux résultats obtenus par la méthode Mouchet (Mouchet *et al.*, 1976) avec le téméphos dans plusieurs localités de savane de l'Afrique de l'Ouest (20 au total) (Grébaut et Guillet, *op. cit.*). Un coefficient de variation des valeurs caractéristiques a été calculé : Coeff. variation = $100 \times \text{Écart-type} / \text{Moyenne}$.

3. Résultats

On a observé d'une localité à l'autre des différences significatives de sensibilité. Toutefois, les écarts observés n'ont pas excédé trois fois (tabl. I). L'écart entre les valeurs extrêmes des CL 50 prises dans leur ensemble a été de 4,2 fois (0,014 à 0,059 mg/l) de même que pour les CL 95 (0,14 à 0,59 mg/l) (tabl. I). La population larvaire aux chutes Gauthier était légèrement plus sensible à la toxine de *B. thuringiensis* H 14 que les trois autres populations testées. Toutefois, si l'on tient compte de la variabilité des résultats des différents tests pour chaque population, la différence entre les populations est minime et à peine significative au seuil de 5 %.

Les résultats ont présenté de nombreuses similitudes avec ceux obtenus pour le téméphos : mêmes CL 50 moyennes, coefficients de variation voisins (légèrement plus forts pour le téméphos) et des écarts entre les CL 50 et CL 95 maximales et minimales identiques. La seule différence a résidé dans la pente des lignes de régression dose/mortalité qui est presque deux fois plus faible dans le cas de *B. thuringiensis* H 14 (tabl. II).

4. Discussion et conclusion

Les populations larvaires de *S. soubrense* et *S. sanctipauli* en zone de forêt sont 1,5 à 2 fois plus sensibles à la toxine de *B. thuringiensis* H 14 que les autres populations testées.

On a pu noter un degré de similitude élevé entre les résultats obtenus sur les larves du complexe *S. damnosum* par deux méthodes différentes avec un insecticide chimique d'une part et un insecticide biologique d'autre part. Cette similitude n'est toutefois pas surprenante, dans la mesure où il s'agit dans les deux cas d'insecticides, même s'ils n'ont pas la même origine. La concordance observée dans les valeurs des CL 50 est une coïncidence. Ce parallèle

permet de recommander pour *B. thuringiensis* H 14 comme pour le téméphos l'emploi de doses diagnostiques. Pour le téméphos, leur utilisation a donné entière satisfaction et a permis de détecter rapidement la résistance lorsque celle-ci est apparue (Guillet *et al.*, 1980). Pour la toxine de *B. thuringiensis* H 14, du fait que la pente des lignes de régression est plus faible (deux fois), cette dose doit être fixée à 20 fois la valeur de la CL 50 moyenne. Dans le cas de l'IPS 80, elle serait de 0,6 mg/l mais peut être ramenée à 0,5 mg/l, ce qui représente encore deux fois la valeur de la CL 95 moyenne. Si plus de 5 % des larves survivent à 0,5 mg/l, des tests complets doivent être pratiqués.

L'interprétation des tests de sensibilité à la toxine de *B. thuringiensis* H 14 doit être conduite avec prudence. En effet, contrairement au téméphos qui dans le cas des tests de sensibilité agit par contact, la toxine n'agit que par ingestion. Ceci suppose que toutes les larves au moment du test aient un comportement trophique normal et ce n'est pas toujours facile à obtenir. Ainsi la CL 100 est-elle relativement variable, et l'interprétation des tests devra se faire surtout sur les CL 50 et CL 95, ainsi que sur la pente des lignes de régression. L'emploi d'une dose diagnostique de 20 fois environ la CL 50 laisse une marge de sécurité acceptable.

Dans le cas du téméphos, un coefficient de résistance (R/S) de deux fois au niveau de la CL 50 et cinq fois pour la CL 95 a été observé très rapidement après l'apparition de survivants aux doses diagnostiques et a entraîné un échec complet des traitements opérationnels (Guillet *et al.*, 1980). Pour la plupart des traitements insecticides, c'est en présence d'un coefficient de résistance nettement plus élevé qu'on constate un tel phénomène. Dans les traitements anti-simulidiens, la concentration est ajustée de façon très précise pour éviter les surdosages onéreux et dangereux pour l'environnement. Concernant *B. thuringiensis* H 14, l'efficacité limitée des formulations actuellement disponibles conduit à utiliser ce produit à la limite de la CL 100, sans aucune marge de sécurité. Un sous-dosage accidentel ou une légère baisse de sensibilité se traduiraient immédiatement par un échec partiel des traitements. Cette particularité propre aux traitements anti-simulidiens souligne la nécessité de surveiller constamment et très précisément la sensibilité des populations régulièrement traitées, notamment avec *B. thuringiensis* H 14, et de ne pas conclure à la résistance sans avoir réalisé plusieurs tests complets.

En tenant compte de l'expérience acquise dans la détection et le suivi de la résistance aux insecti-

TABLEAU I

Résultats des tests de sensibilité à la toxine de *Bacillus thuringiensis* H 14 de différentes populations larvaires du complexe *Simulium damnosum* (larves de stades 6 et 7, contact 3 h, température 25° C, IPS 80)

Localité	Date	Espèces dominantes	Valeurs moyennes (mg/l)		Valeurs extrêmes (mg/l)	
			CL 50 x 10 ⁻²	CL 95 x 10 ⁻²	CL 50 x 10 ⁻²	CL 95 x 10 ⁻²
Manantali (Mali)	01/83	<i>S. dieguerense</i> <i>S. squamosum</i> (savane)	4,9 (4,4 - 5,4)	25	4,1 - 5,0 (min. max.)	19 - 34
N'Golodougou (Côte d'Ivoire)	04/83	<i>S. soubrense</i> <i>S. damnosum</i> s.s. (savane)	5,8 (5,1 - 6,5)	31	5,6 - 5,9	25 - 39
Akakro (Côte d'Ivoire)	11/82	<i>S. yahense</i> (forêt)	4,7 (4,1 - 5,2)	34	3,6 - 5,9	31 - 39
Chutes Gauthier (Côte d'Ivoire)	08/82	<i>S. soubrense</i> <i>S. sanctipauli</i> (forêt)	3,6 (3,1 - 4,1)	21	3,2 - 4,5	17 - 36
	12/82		2,0 (1,8 - 2,3)	17	1,4 - 2,7	14 - 21
	02/83		2,8 (2,5 - 3,2)	24	2,7 - 3,1	19 - 39
	03/83		3,9 (3,3 - 4,6)	36	3,1 - 5,1	26 - 59

TABLEAU II

Comparaison des résultats des tests de sensibilité à la toxine de *Bacillus thuringiensis* H 14 et au téméphos. *B. thuringiensis* H 14 : 29 données, larves de stades 6 et 7, contact 3 h, température 25° C ; Téméphos : 20 données, larves de stades 4 et 5, contact 3 h, température 20 à 25° C (méthode Mouchet)

	téméphos				<i>B. thuringiensis</i> H14			
	Moy.	Maxi.	Mini.	Ecart	Moy.	Maxi.	Mini.	Ecart
CL 50 (mg/l)	0,031	0,072	0,017	4,2	0,031	0,059	0,014	4,2
Coeff. variation	13,4%				11,6%			
CL 95 (mg/l)	0,13	0,23	0,068	3,4	0,25	0,59	0,17	3,5
Coeff. variation	19,2%				13,5%			
CL 95/CL 50	4,2				8,1			
Dose diagnostique proposée (mg/l)	0,25				0,5			

cides organophosphorés, et du fait que les résultats des tests de sensibilité à la toxine de *B. thuringiensis* H 14 ne sont pas plus variables que ceux obtenus avec le téméphas, il devrait être possible de mettre

rapidement en évidence une baisse de sensibilité à la toxine chez les larves du complexe *S. damnosum* si celle-ci survenait.

Manuscrit accepté par le Comité de Rédaction le 8 novembre 1985.

BIBLIOGRAPHIE

- BARJAC (H. de) et LARGET (I.), 1981. — Properties of the interim standard IPS 78 and proposal of a new reference preparation . IPS 80 for the establishment of an international standard. Doc. mimeo. OMS, TDR/BCV/IC.81.1/WP.5 (non publié).
- COOSEMANS (M.), MOUCHET (J.), DÉJARDIN (J.), BARATHE (J.) et SANNIER (C.), 1978. — Doses diagnostiques de la résistance d'*Aedes aegypti* aux insecticides organophosphorés. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 58 : 219-230.
- FINNEY (D. J.), 1971. — Probit analysis. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 333 p.
- GRÉBAUT (S.) et GUILLET (P.), 1977. — Sensibilité à l'Abate, au Chlorphoxim et au DDT des populations larvaires du complexe *S. damnosum* dans la phase III du Programme de Lutte contre l'Onchocercose dans la région du Bassin de la Volta. Doc. ronéo. IRO/OCCGE, n° 9/Oncho/Rapp/77, 24 p.
- GUILLET (P.), ESCAFFRE (H.), OUÉDRAOGO (M.) et QUILLÉVÉRÉ (D.), 1980. — Mise en évidence d'une résistance au téméphas dans le complexe *Simulium damnosum* (*S. soubrense* et *S. sanctipauli*) en Côte d'Ivoire (zone du Programme de lutte contre l'onchocercose dans la région du bassin de la Volta). *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 18, 3 : 291-299.
- GUILLET (P.), HOUGARD (J.-M.), DOANNIO (J.), ESCAFFRE (H.) et DUVAL (J.), 1985. — Evaluation de la sensibilité des larves du complexe *Simulium damnosum* à la toxine de *Bacillus thuringiensis* H 14. 1. Méthodologie. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 23, 4 : 241-250.
- MOUCHET (J.), DÉJARDIN (J.), BARATHE (J.), SANNIER (C.) et 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. et Parasitol.*, 10, 1 : 77-83.
- MOUCHET (J.), QUÉLENNEC (G.), BERL (D.), SÉCHAN (Y.) et GRÉBAUT (S.), 1976. — Méthodologie pour tester la sensibilité aux insecticides des larves de *Simulium damnosum* s.l. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 15, 1 : 55-66.
- VAJIME (C. G.) et DUNBAR (R. W.), 1975. — Chromosomal identification of eight species of the subgenus *Edwardsellum* near and including *Simulium (Edwardsellum) damnosum* Theobald (Diptera : Simuliidae). *Tropenmed. Parasit.*, 26, 1 : 111-138.