

**CONTRIBUTION DE L'OCCGE/ORSTOM AUX RECHERCHES SUR
LES INSECTICIDES DANS LE CADRE DU PROGRAMME DE
LUTTE CONTRE L'ONCHOCERCOSE**

Par P. GUILLET ¹

N° 8 526 /84/Doc.Tech.OCCGE

Lorsque le programme OCP a été mis en place en 1973, deux formulations de larvicides étaient alors disponibles : l'Abate^R 200 CE et le chlorphoxim 200 CE. Tous deux appartiennent à la famille des composés organophosphorés et au même groupe de phosphorothioates. Ils présentent une efficacité remarquable et, avec un dosage de 0,05 mg/l pendant 10 mn, peuvent détruire, en saison des pluies, 100 % des larves de simulies sur plus de 50 kilomètres. L'Abate présente une toxicité modérée vis-à-vis de la faune non cible des cours d'eau traités. En revanche, la toxicité du chlorphoxim est relativement élevée et ne permet pas son emploi généralisé. Un programme comme OCP ne peut reposer sur l'emploi d'un seul larvicide du fait des risques de développement d'une résistance chez les populations traitées et des implications financières liées à une situation de monopole. Il est donc apparu indispensable de sélectionner d'autres larvicides utilisables à grande échelle. C'est dans ce contexte que, depuis 1973, l'IRTO a développé un programme de recherche sur les insecticides utilisables dans le cadre de la lutte contre l'onchocercose. Ces recherches peuvent être regroupées en quatre thèmes :

- mise au point de méthodes permettant de sélectionner les formulations larvicides ;
- criblage et mise au point des formulations ;
- étude des phénomènes de résistance aux insecticides ;
- développement et utilisation opérationnelle d'un agent de lutte biologique, le *Bacillus thuringiensis* H14.

1.- MISE AU POINT DE METHODES PERMETTANT DE SELECTIONNER LES LARVICIDES ANTI-SIMULIDIENS.

Pour sélectionner l'Abate, il a fallu tester en rivières entre 1967 et 1976 près de 60 formulations larvicides différentes. Ce type de test présente certaines insuffisances dont l'impossibilité de travailler dans des conditions reproductibles (et donc de comparer directement les résultats d'un essai à l'autre), la difficulté de mise en oeuvre et le nombre limité de formulations qu'il est ainsi possible de tester. Afin de pouvoir intensifier le criblage de nouvelles formulations, il importait de mettre au point des méthodes qui permettent de pratiquer ce type d'évaluations à échelle réduite dans des conditions standardisées. Deux méthodes ont été mises au point et utilisées par l'IRTO.

¹- IRTO/OCCGE (Institut de Recherches sur la Trypanosomiase et l'Onchocercose)
B.P 1500 BOUAKE - Côte d'Ivoire

- *Les cages flottantes* : plusieurs dispositifs ont été utilisés et ont fait l'objet de publications par des chercheurs travaillant en zones tempérées. L'écueil principal de la plupart d'entre eux réside dans le fait qu'il n'existe pas de corrélation systématique entre l'efficacité d'un larvicide dans le système à échelle réduite et en rivière. Ceci est particulièrement net avec les formulations en concentrés pour émulsion.

Il a donc été tenté à l'IRTO non pas de simuler les conditions naturelles mais plutôt de travailler dans les conditions naturelles en isolant plusieurs fractions d'un gîte préimaginal (rapides) à l'aide de gouttières flottantes. Des buses placées à l'entrée de la gouttière permettent d'introduire l'insecticide. Les larves du complexe *S. damnosum* sur leurs supports naturels sont placées à l'extrémité postérieure de la gouttière. Un filet permet de recueillir les larves ayant dérivé sous l'effet du traitement. Avant son introduction dans la gouttière, l'insecticide est mélangé à 200 litres d'eau de la rivière. Nous avons testé cette méthode à l'aide de 13 formulations différentes déjà testées en rivière et avons constaté qu'elles donnaient des résultats très fiables (GUILLET, 1977; GUILLET, 1978 & ESCAFFRE, 1979).

Cette méthode a été mise au point spécialement pour l'évaluation de formulations telles que l'Abate (concentrées pour émulsion) qui représentaient jusqu'en 1979 la majeure partie des formulations expérimentales fournies par l'industrie. Ultérieurement, de nouveaux types de formulations, dites particulières, ont été produites et un nouveau dispositif plus approprié a été conçu pour leur évaluation.

- *Les mini-gouttières* : ce dispositif (petites gouttières disposées par groupes de 8 à côté de la rivière et alimentées par gravité) place les larves de simuliés dans des conditions moins naturelles que le dispositif précédent. S'il ne convient pas à l'évolution telles que l'Abate, il donne en revanche, avec toutes les formulations particulières (poudres mouillables concentrées de suspension, microcapsules), des résultats parfaitement fiables. Il est possible d'utiliser jusqu'à 48 gouttières en parallèle et donc de tester un nombre important de formulations. Nous avons pu ainsi en 1983 tester plus de 200 formulations différentes en vue d'améliorer la qualité des produits utilisés par le Programme OCP.

2.- CRIBLAGE ET MISE AU POINT DES FORMULATIONS

Lors des premières expérimentations, l'Abate servait de formulation de référence. Il a été alors démontré que son activité remarquable tenait à son adsorption très rapide sur les particules naturelles dont se nourrissent les larves de simuliés. Ceci explique aussi probablement le fait que l'Abate ait une toxicité modérée vis-à-vis des invertébrés aquatiques non cibles. Il n'a pas été possible de savoir si ce phénomène d'adsorption déjà connu pour la matière active, le téméphos, était conditionné également par la formulation et dans quelle mesure. Il s'est alors avéré impossible de prévoir l'efficacité des concentrés pour émulsion et de définir des normes et directives à donner à l'industrie.

Pour tester le plus de formulations possible et augmenter les chances d'en sélectionner des performantes, il a été décidé de recourir aux techniques de la microencapsulation. La matière active pure est enrobée dans une capsule d'une taille de 1 à 2 μ . Deux types de capsules ont été mises au point, les unes à parois digestibles qui relarguent l'insecticide dans l'intestin des larves de simulies, les autres à parois non digestibles qui relarguent progressivement l'insecticide dès sa dispersion dans l'eau. De nombreuses formulations de ces deux types ont été testées en faisant varier les paramètres tels que la nature et l'épaisseur des parois, leur digestibilité ou leur taux de relargage. Des formulations performantes ont été mises au point avec deux insecticides organophosphorés. Cependant la microencapsulation fait appel à des techniques nouvelles que les firmes contrôlent encore mal et de ce fait, elles n'ont jamais pu reproduire les formulations expérimentales à l'échelon industriel. Les recherches sur les formulations microencapsulées a cessé en 1980 lorsque sont apparus les phénomènes de résistance croisée aux composés organophosphorés.

3.- LA RESISTANCE AUX INSECTICIDES

L'IRTO a mis au point en 1976 une méthode permettant de déterminer la sensibilité des larves du complexe *S. damnosum* aux insecticides (MOUCHET *et al.*, 1976). Ultérieurement, cette méthode a été développée et approuvée par le Comité d'Experts sur la résistance aux insecticides de l'OMS. De nombreux tests ont été réalisés avec trois insecticides (temephos, chlorphoxim, DDT) sur les trois principaux groupes d'espèces du complexe *Simulium damnosum* en Côte d'Ivoire et dans d'autres pays d'Afrique de l'Ouest (GREBAUT & GUILLET, 1977). Tous ces tests ont permis de recueillir des données de base sur la sensibilité des larves avant le début des opérations de traitements. Ces données ont servi ultérieurement de base de comparaison pour la mise en évidence des phénomènes de résistance.

En 1976 et 1977, une résistance au DDT a été mise en évidence dans trois zones différentes (MOUCHET *et al.*, 1976 *loc. cit.*, GUILLET *et al.*, 1977). Ce phénomène géographiquement limité, est dû à l'emploi du DDT pour les traitements du coton (drainage par les eaux de pluies vers les rivières). Bien que cette résistance n'ait pas d'incidence opérationnelle immédiate, elle indique que des larves d'espèces sava-nicoles du complexe *S. damnosum* peuvent développer une résistance aux insecticides.

C'est en 1980 qu'a été mis en évidence le développement d'une forte résistance à l'Abate chez deux espèces forestières du complexe *S. damnosum* (GUILLET *et al.*, 1980 a et b). L'extension rapide de cette résistance à tous les bassins hydrographiques de Côte d'Ivoire a été suivie. Ultérieurement a été mise en évidence l'existence d'une résistance croisée aux trois insecticides potentiels de remplacement les plus prometteurs (chlorpyrifos - méthyl, pirimiphos - méthyl). Des essais avec des synergisants conventionnels n'ont pas permis d'inhiber les mécanismes de résistance et donc d'envisager l'emploi d'Abate synergisé dans les zones de résistance.

Ces phénomènes de résistance aux insecticides sont extrêmement préoccupants. Ils sont à l'origine de l'échec de plusieurs opérations de lutte antivectorielle dont la lutte antipaludique. Bien que limitée aux espèces forestières de Côte d'Ivoire, cette résistance avec les risques d'extension aux espèces sava-nicoles, compromettait sérieusement les chances de succès du Programme OCP.

Les quelques larvicides potentiels de remplacement de l'Abate testés à l'IRTO appartiennent au groupe des insecticides organophosphorés (chlorphoxim, chlopyriphos-méthyl, périmiphos-méthyl, azémetiphos). Du fait des phénomènes de résistances croisées, leur emploi est désormais impossible ou dans le cas où la résistance n'existe pas d'emblée comme pour le chlorphoxim par exemple, se heurterait au développement probablement rapide d'une résistance (KURTAK *et al.*, 1982).

Grâce à une coopération étroite entre le programme OCP, la division biologie des vecteurs et lutte antivectorielle de l'OMS et l'IRTO, les recherches de larvicides alternatifs ont été considérablement intensifiées. En tenant compte des résistances croisées aux organophosphorés, des perspectives limitées de sélectionner un larvicide utilisable dans d'autres familles d'insecticides (organochlorés, carbamates, pyrethrinoides), l'IRTO a concentré ses efforts sur la mise au point d'un agent de lutte biologique, le *Bacillus thuringiensis* H14.

4.- DEVELOPPEMENT ET UTILISATION OPERATIONNELLE D'UN AGENT DE LUTTE BIOLOGIQUE. LE *B. THURINGIENSIS* H14.

Le *Bacillus thuringiensis* H14 est une bactérie sporogène hautement toxique pour les larves de moustiques et de simuliæ. Elle a été isolée en 1977 en Israël et décrite en 1978. Dès 1979, un laboratoire français en a produit une poudre primaire que l'IRTO a testé au laboratoire et sur le terrain (UNDEEN et BERL, 1979; GUILLET et DE BARJAC, 1979, GUILLET et ESCAFFRE, 1979). Ainsi a été démontré la remarquable toxicité de cette bactérie vis-à-vis des larves du complexe *S. damnosum*. Une étude de stockage à Bouaké a permis de démontrer que la toxine produite par la bactérie résiste aux conditions de stockage les plus difficiles (GUILLET *et al.*, 1979; GUILLET *et al.*, 1982). Parallèlement à ces travaux, il a été démontré que le *B. thuringiensis* était remarquablement sélectif et n'engendrait pas de phénomène de résistance chez les moustiques même en présence d'une très forte pression de sélection maintenue pendant plus de 30 générations.

Très efficace, stable, sélectif et n'engendrant pas de phénomène de résistance, cet insecticide biologique représentait dès lors la solution idéale pour le traitement des populations du complexe *S. damnosum* résistantes aux insecticides (GUILLET *et al.*, 1981; GUILLET *et al.*, 1982). Toutefois son utilisation opérationnelle ne pouvait être envisagée qu'après avoir mis au point une formulation convenable.

Dans un premier temps a été recherché le type de formulation le plus adapté à l'utilisation opérationnelle. Pour ce faire ont été étudiées les relations existantes entre le comportement trophique des larves de simuliæ, la qualité de l'eau dans laquelle elles se nourrissent et la taille des particules constituant les formulations de *B. thuringiensis* H14.

Après avoir orienté l'industrie sur le type de formulation le mieux adapté, un programme de criblage a été mis en route qui a permis de sélectionner rapidement le Teknar^R (Sandoz), un concentré de suspension, qui a été immédiatement utilisé à grande échelle par le Programme OCP (GUILLET *et al.*, 1982; LACEY *et al.*, 1982). A cette occasion, il a été prouvé à partir d'un contrôle systématique portant sur l'activité du Teknar vis-à-vis des larves de simuliæ et d'*Aedes aegypti* qu'il était désormais possible de produire en masse un agent de lutte biologique destiné à la lutte antivectorielle (GUILLET *et al.*, 1983; GUILLET, 1983).

Parallèlement une étude a porté sur la relation entre la toxicité de diverses souches de cette bactérie vis-à-vis des larves de moustiques et de simulies afin de sélectionner les plus actives. L'IRTO collabore sur ce sujet à un programme OMS de criblage des isolats de *B. thuringiensis* H14. En collaboration étroite avec une firme, une étude systématique a été entreprise sur les facteurs qui depuis la fermentation du bacille jusqu'à sa formulation conditionnent son efficacité vis-à-vis des larves du complexe *S. damnosum*. Cette étude a déjà permis de mettre au point une formulation plus performante que le Teknar et qui a été testée avec succès par le Programme OCP. De nouvelles formulations expérimentales encore beaucoup plus actives sont en cours d'étude. Leur production industrielle à un coût raisonnable permettra d'employer le *B. thuringiensis* H14 dans des conditions comparables à celles des larvicides chimiques conventionnels.

Après deux années de recherches intensives menées par l'OMS et les Centres Collaborateurs pour sélectionner un larvicide alternatif de l'Abate, le *B. thuringiensis* H14 reste le seul candidat valable même si, sous leur forme actuelle, les formulations commerciales doivent encore être améliorées.

Son utilisation opérationnelle nécessite un suivi au niveau de la sensibilité des larves traitées. La toxine bactérienne n'agissant qu'après ingestion, la méthode classique utilisée pour les larvicides chimiques ne convenait pas. L'IRTO a mis au point une nouvelle méthode permettant de déterminer la sensibilité des larves du complexe *S. damnosum* au *B. thuringiensis* H14. Cette méthode est actuellement utilisée par le Programme OCP.

L'IRTO a également testé des agents de lutte biologique connus pour leur toxicité vis-à-vis des larves de moustiques tels que *Bacillus sphaericus* (bactérie sporogène), *Tolypocladium cylindrosporum* et *Metarhizium anisopliae* (champignons entomopathogènes). Aucun de ces agents ne s'est avéré toxique vis-à-vis des larves de simulies.

CONCLUSION

Les insecticides restent actuellement l'arme essentielle de la lutte contre l'onchocercose. Jusqu'en 1981, l'utilisation de l'Abate a donné entière satisfaction. L'apparition de la résistance a sensiblement modifié cette situation. Apparue dans la zone forestière, elle n'a qu'un impact modéré sur l'ensemble puisqu'elle intéresse des espèces associées à une onchocercose peu grave. Le développement toujours possible d'une résistance chez les espèces sylvicoles du complexe *S. damnosum* associées aux foyers les plus graves de la maladie risquerait d'hypothéquer l'acquis de dix années de traitements d'une efficacité remarquable. La mise au point de larvicides alternatifs de l'Abate est donc devenue une activité prioritaire à laquelle l'IRTO est largement associé. Dans l'état actuel des recherches sur les insecticides de remplacement, l'utilisation d'un agent de lutte biologique constitue encore la seule alternative possible.

Les recherches conduites par l'IRTO dans le domaine des insecticides : criblage des formulations, étude des phénomènes de résistance, mise au point du *B. thuringiensis* H14 ont une application directe et immédiate dans le Programme OCP. Dans la situation actuelle, elles contribuent à la continuation de ce Programme et à son extension vers l'ouest et le sud.

BIBLIOGRAPHIE

- 1.- GREBAUT 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. multigr. OMS/IRO, n° 9/Oncho/Rap/77, 48 pp.
- 2.- GUILLET P., 1977 - Mise au point d'une nouvelle méthode permettant d'évaluer l'efficacité des larvicides anti-simulidiens.
Communication présentée à la 17ème Conférence technique de l'OCCGE.
- 3.- GUILLET P., 1978 - Search for new formulations suitable for use against the larvae of onchocerciasis vectors in West Africa.
Doc. miméographié OMS/OCP/SWG/78.19
- 4.- GUILLET P., 1982 - *Bacillus thuringiensis* H14 a bio-control agent for onchocerciasis control in West Africa.
IIIrd International Colloquium of the Society of Invertebrate Pathology, Brighton, 6-10 septembre 1982
- 5.- GUILLET P., MOUCHET J., et GREBAUT S., 1977 - La résistance au DDT chez *Simulium damnosum* s.l. (Diptera : Simuliidae) en Afrique de l'Ouest.
Doc. miméographié OMS/WHO/VBC/77.678.
- 6.- GUILLET P., 1983 - La lutte contre l'onchocercose humaine et les perspectives d'intégration de la lutte biologique
Entomophaga, sous presse.
- 7.- GUILLET P., et BARJAC H. de, 1979 - Toxicité de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* pour les larves de simulies vectrices de l'onchocercose. C.R. Acad. Sc. Paris, 289, D., 549-552
- 8.- GUILLET P., et ESCAFFRE H., 1979 - Evaluation de *Bacillus thuringiensis* de BARJAC pour la lutte contre les larves de *Simulium damnosum* s.l.
I. Résultats des premiers essais réalisés sur le terrain.
Doc. miméographié OMS/WHO/VBC/79.730, 7 p.
- 9.- GUILLET P., et ESCAFFRE H., 1979 - La recherche de nouvelles formulations d'insecticides utilisables contre les larves des vecteurs de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest.
Congrès sur la lutte contre les insectes en milieu tropical, Marseille. 13-16 mars 1979 : 1169-1178
- 10 - GUILLET P., DEMPAN J. et COZ J., 1979 - Evaluation de *Bacillus Thuringiensis israelensis* de Barjac pour la lutte contre les larves de *Simulium damnosum* s.l. - III. Données préliminaires sur la sédimentation de l'endotoxine dans l'eau et sur sa stabilité en zone tropicale.
Doc. miméographié OMS/WHO/VBC/80.756
- 11 - GUILLET P., ESCAFFRE H., OUEDRAOGO M. et QUILLEVERE D., 1980 a - Note préliminaire sur une résistance au téméphos dans le complexe *Simulium damnosum* (*S. sanctipauli* et *S. soubrense*) en Côte d'Ivoire (zone du Programme de lutte contre l'onchocercose dans la région du bassin de la Volta).
Doc. miméographié OMS/WHO/VBC/80.784.

- 12.- GUILLET P., ESCAFFRE H., OUEDRAOGO M. et QUILLEVERE D., 1980 b - Mise en évidence d'une résistance au téméphos dans le complexe *S. damnosum* (*S. sanctipauli* et *S. soubrense*) 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. XVIII (3) : 291-299
- 13.- GUILLET P., ESCAFFRE H. et PRUD'HOM J.M., 1981 - Les perspectives d'utilisation du *Bacillus thuringiensis* H14 dans le cadre de la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest.
Rapport final 21ème Conf. Techn. OCCGE.
- 14.- GUILLET P., ESCAFFRE H. et PRUD'HOM J.M., 1982 a - L'utilisation d'une formulation à base de *Bacillus thuringiensis* H14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. I. Efficacité et modalités d'application.
Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd et Parasitol., vol. XX (3), 175-180
- 15.- GUILLET P., ESCAFFRE H. et PRUD'HOM J.M., 1982 b - L'utilisation d'une formulation à base de *Bacillus thuringiensis* H14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. II. Stabilité dans les conditions de stockage en milieu tropical.
Cah. ORSTOM., sér. Ent. méd. et Parasitol., XX (3), 181-185
- 16.- GUILLET P., HOUGARD J.M., DUVAL J., DOANNIO J. et ESCAFFRE H., 1983 - Le contrôle de la qualité des lots de Teknar^(R) (*Bacillus thuringiensis* H14) fournis par OCP en 1982 par la Firme Sandoz.
Doc. multigr. OCCGE, n° 15/IRTO/Rap/83
- 17.- KURTAK D., OUEDRAOGO M., OCRAN M., BARRO T. et GUILLET P., 1982 - Preliminary note on the appearance in Ivory Coast of resistance to Chlorphoxim in *Simulium soubrense/sanctipauli* larve already resistant to temephos (Abate^R).
Doc. miméographié OMS/WHO/VBC.82.850
- 18.- LACEY L.A., ESCAFFRE H., PHILIPPON B., SEKETELI A. et GUILLET P., 1982 - Large river treatment with *Bacillus thuringiensis* H14 for the control of *Simulium damnosum* s.l. in the onchocerciasis control programme.
Tropmed. Parasit., 33, 97-101
- 19.- MOUCHET J. et al., 1977 - Méthodologie pour tester la sensibilité aux insecticides des larves de *Simulium damnosum*
Cah. ORSTOM, sér. Ent. Méd. et Parasitol., 15 (1), 55-56
- 20.- UNDEEN A.H. et BERL D., 1979 - Laboratory studies on the effectiveness of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* *Simulium damnosum* (Diptera : Simuliidae) larvae.
Mosq. News., 39, (4), 742-745

ORGANISATION DE COORDINATION ET DE COOPERATION
POUR LA LUTTE CONTRE LES GRANDES ENDEMIES

O . C . C . G . E

BP. N° 153 BOBO DIOULASSO (Burkina Faso)

Tél : 99 - 11 - 79 - 99 - 11 - 91

L' O . C . C . G . E
ET
L' ONCHOCERCOSE