

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

(O. C. C. G. E.)

2
OFFICE DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE
OUTRE-MER

(O. R. S. T. O. M.)

Mission Entomologique de l'O.R.S.T.O.M. auprès de l'O.C.C.G.E. (N)

INSTITUT DE RECHERCHES SUR L'ONCHOCERCOSE
=====

INFESTATION DE LARVES DE *SIMULIUM DAMNOSUM* s.l. (Simuliidae)

PAR

ROMANOMERMIS CULICIVORAX (Mermithidae) PARASITE DE MOUSTIQUE (*)

par

B. MONDET, D. BERL & J.M. PRUD'HOM

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 241 ex 1

Cote : B

Date : 21 MARS 1981

N° 16/ONCHO/RAP./78

(*) Ce travail a bénéficié de l'assistance financière du C.R.D.I. (Centre de Recherches pour le Développement International, Ottawa, Canada) dans le cadre d'une convention de recherche passée entre cet organisme et l'O.C.C.G.E. (Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies, Bobo-Dioulasso, Haute-Volta).

INTRODUCTION

Une série d'expériences d'infestations de larves de simulies par un Mermithidae parasite de larves de moustiques nord-américains, *Romanomermis culicivora*, a été effectué en laboratoire puis dans un système d'élevage de larves de simulies récemment mis au point à l'Institut de Recherches sur l'Onchocercose de Bouaké (Berl et Prud'hom, 1978 *).

La capacité de ces parasites à pénétrer les larves de *S. damnosum* s.l. a déjà été démontrée (Hansen, 1976 **). Nous avons repris ces expériences en fournissant les données quantitatives fondamentales des tests : nombres de larves de simulies, nombres et dilution des Mermithidae pré-parasites. Dans les expériences réalisées grâce au système d'élevage, nous avons noté la vitesse du courant et le débit.

Romanomermis culicivora est utilisé dans ces tests d'infestation car il est le seul Mermithidae élevé en masse à l'heure actuelle. Cependant sa capacité d'infestation doit être prouvée dans des conditions adéquates d'élevage des larves de simulies avec des quantités de larves et de parasites connues, avant d'envisager son emploi comme agent potentiel de lutte biologique sur le terrain.

* Berl D. et J.M. Prud'hom, 1978. Un nouveau système d'élevage de masse de *Simulium damnosum* s.l. - N°15/Oncho/Rap/78. Doc. ronéotypé.

* Hansen E. et J. Hansen, 1976. Parasitism of *Simulium damnosum* by *Romanomermis culicivora*. IRCS Med. Sc., 4, 508.

Le matériel

1. Les simulies : elles ont été récoltées sous forme d'oeufs dans la région de Man (ouest de la Côte d'Ivoire).

Les oeufs ont été transportés jusqu'à Bouaké dans des sacs en matière plastique, au froid (4°C). Toutes les expériences ont eu lieu sur des larves de premier stade.

Une partie des larves nouvellement écloses ont été élevées au laboratoire dans un aquarium muni d'un aérateur. La détermination du dernier stade larvaire a montré qu'il s'agissait de l'espèce *Simulium yahense*.

2. Les Mermithidae : ils ont été fournis par le docteur J.J. Petersen (U.S.D.A./A.R.S., Lake Charles, Louisiana, U.S.A.) sous forme d'oeufs prêts à éclore, stockés dans du sable humide. Les préparasites sont utilisés entre 12 et 24 heures après la mise en eau du sable. Ils ont été testés sur de jeunes larves de moustiques (~~Culex pipiens molestus~~ *Uradiaeternia*): la pénétration était rapide et immédiate après le contact avec la larve de moustique; les Mermithidae, bien qu'ayant mis plus d'un mois pour venir de Louisiane, étaient donc restés en parfait état.

Les larves de simulies ont été manipulées à la pipette Pasteur, fixées à l'eau formolée à 4%, examinées au microscope (x400). Elles sont suffisamment claires pour que le parasite se voie parfaitement; il est d'ailleurs deux fois plus long que la larve de premier stade.

I. EXPERIENCES AU LABORATOIRE

- En eau calme

1. Dans une boîte de Pétri en verre de 15cm de diamètre, environ 200 larves de stade I ont été mises en présence de 600 à 650 préparasites, dans 16 cm³ d'eau, durant 6 heures.

Il y avait donc 12 simulies et 36 préparasites par millilitre d'eau.

Résultat : Sur 155 larves examinées, 13 étaient infestées, au bout des 6 heures, soit un pourcentage d'infestation de 8,5.

2. Expérience identique avec environ 400 larves de stade 1 et 480 préparasites, soit 25 simulies et 30 préparasites par millilitre d'eau.

Résultat : Sur 403 larves examinées, 17 étaient parasitées au bout de 6 heures, soit un pourcentage d'infestation de 4,2.

- En eau faiblement agitée

3. Les conditions sont identiques à celles de la première expérience, mais on place dans la boîte de Pétri un agitateur magnétique de 1 cm, tournant à vitesse réduite.

Résultat : Sur 170 larves examinées, 13 étaient infestées, soit un pourcentage d'infestation de 7,6.

Remarques : Dans les trois expériences nous avons remarqué qu'une certaine partie des larves était restée en surface en raison de la tension superficielle. Dans la seconde expérience seulement nous avons séparé deux lots de larves : l'un était composé de 328 larves récoltées fixées au fond de la boîte de Pétri, l'autre de 75 larves récoltées flottant à la surface de l'eau. Sur les 328 larves, une seule était parasitée; sur les 75 larves, 16 étaient parasitées dont 10 étaient visiblement moribondes avant l'expérimentation (début de décomposition des tissus internes).

Il faut donc penser que le pourcentage de larves parasitées est sur-estimé quand on ne tient pas compte des larves flottant à la surface de l'eau et des larves moribondes qui sont beaucoup plus facilement parasitées que les larves saines.

II. EXPERIMENTATION EN EAU COURANTE.

(pour la description du système d'élevage, voir Berl, loc. cit.)

Deux gouttières ont été utilisées simultanément, une "gouttière témoin", une "gouttière expérimentale". Elles mesurent trois mètres de longueur, 10 cm de largeur et le fond est recouvert d'une feuille de matière plastique servant de support aux larves de simuliés. Les larves de premier stade sont déposées à la pipette Pasteur, sur la bande plastique, et sont laissées quelques minutes avant le début de l'écoulement de l'eau. Une fois ces larves bien fixées, en ouvrant les vannes progressivement, on obtient le débit et la vitesse désirés.

La vitesse a été calculée en chronométrant le temps nécessaire à un flotteur pour parcourir les trois mètres de la gouttière (moyenne de trois essais). Le débit a été calculé en chronométrant le temps nécessaire au remplissage d'un récipient de 5 litres (moyenne de trois essais).

La vitesse était de 87 cm/sec et le débit de 0,53 litre/sec dans la gouttière témoin, de 75 cm/sec et de 0,39 litre/sec dans la gouttière expérimentale.

Les larves ont été déposées sur les deux derniers mètres des gouttières. A l'ouverture de celles-ci on place des systèmes de goutte-à-goutte servant à la nourriture des larves et à faire passer les Mermithidae en suspension dans l'eau. Ceux-ci sont ainsi parfaitement dilués, un mètre en aval, au niveau des premières larves.

L'essai d'infestation a eu lieu 45 minutes après la mise en place des larves qui ont été nourries pendant dix minutes après une demi-heure de fixation.

26.000 préparasites, dilués dans trois litres d'eau, ont été épanchés durant 11 minutes en gardant la suspension homogène par agitation continue. Le temps d'épandage est celui utilisé pour les essais d'insecticides chimiques.

Il s'est écoulé dans la gouttière expérimentale 256 litres d'eau durant 11 minutes. La concentration des préparasites était donc d'environ 100 par litre.

Les larves dérivant ont été récoltées grâce à deux filets (mailles de 105 µm) fixés à l'extrémité des deux gouttières, d'une part pendant les 11 minutes de l'épandage, d'autre part durant les 20 minutes suivantes. Les deux bandes de matières plastique ont été ensuite récoltées et les larves fixées immédiatement à l'eau formolée.

Résultats :

	Nombre de larves de stade 1			
	Gouttière témoin	%	Gouttière Expérimentale	%
Dérive 11 min.	183	22,5	97	21,1
Dérive 20 min.	386	47,5	152	33,0
Substrat	244	30,0	211	45,9
Total	813	100,0	460	100,0

Nous n'avons trouvé aucune larve infestée parmi les 460 larves de la gouttière expérimentale (et des 427 examinées dans la gouttière témoin).

Si l'on compare les quantités de larves ayant dérivé durant les 20 minutes suivant le passage des Mermithidae, on voit que le pourcentage est plus important dans la gouttière témoin que dans la gouttière expérimentale (47,5% contre 33,0%). Si l'on compare les quantités de larves ayant dérivé durant les 11 minutes de passage des Mermithidae on s'aperçoit que les pourcentages sont très peu différents (22,5% contre 21,1%). La vitesse de l'eau étant plus grande dans la gouttière témoin que dans la gouttière expérimentale (87 cm/sec contre 75 cm/sec) on peut admettre que le passage des Mermithidae semble avoir favorisé le décrochement des larves si l'on suppose que le nombre de larves dérivantes doit être supérieur dans la gouttière où le courant est le plus fort.

DISCUSSION

Si l'on ne peut tirer de conclusion définitive de ces quelques expériences pour l'avenir de l'utilisation de *Romanomermis culicivora* contre *Simulium damnosum* et les autres espèces vectrices de l'onchocercose l'on peut cependant faire quelques commentaires.

Les infestations en eau calme ou faiblement agitée montrent que *R. culicivora* infeste effectivement les larves de premier stade de *S. yahense*, mais dans des conditions tout-à-fait artificielles. Aux dosages utilisés, les résultats positifs sont numériquement très faibles (moins de 10% de larves parasitées après 6 heures de contact).

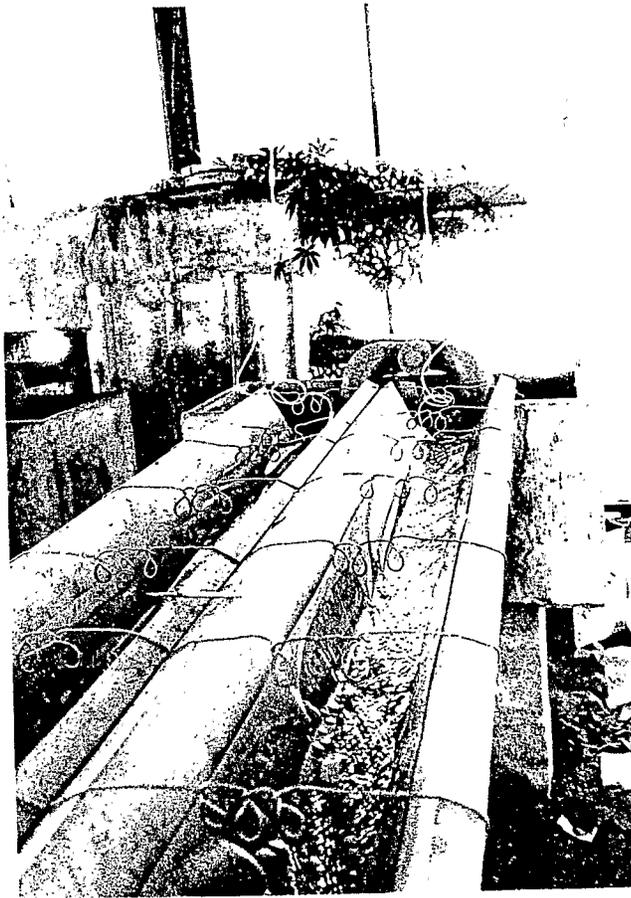
Les essais montrent que l'infestation est nulle, en eau courante, à la concentration utilisée (100 préparasites par litre de débit, débit de 23 litres par minute).

CONCLUSION

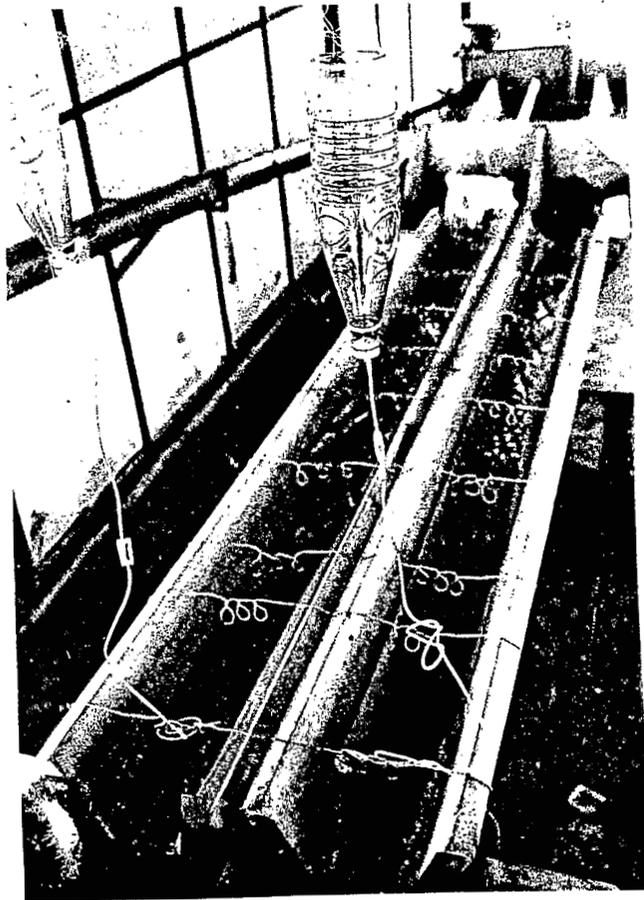
Au laboratoire, l'élevage des larves de simuliés se pratique dans des récipients à faible volume d'eau munis d'agitateurs magnétiques (ou tout autre système à circuit fermé). Ces systèmes ne sont cependant pas utilisables pour une approche d'essais sur le terrain. Si des parasites sont introduits dans le système clos, chacun d'entre eux verra ses chances de rencontre avec une larve de simulie artificiellement multipliées par un coefficient très difficilement calculable et fonction de la vitesse de rotation de l'agitateur.

Nous proposons donc, avant d'envisager l'utilisation de *Romanomermis culicivora* sur le terrain, la réalisation d'une série de tests dans le système d'élevage utilisé dans ces expériences. Bien que composé d'un circuit fermé, il possède une très grosse quantité d'eau en circulation (environ 5.000 litres) ce qui rend la dilution des parasites dans l'ensemble du système très importante. Comme sur le terrain, les préparasites ne passent qu'une fois au niveau des larves accrochées au substrat. La pompe remettant l'eau dans le circuit a un débit de 500 litres par minute.

Les tests seront à effectuer sur tous les stades larvaires de simuliés (populations naturelles dans des conditions de terrain) avec des concentrations de Mermithidae croissantes afin de déterminer les seuils permettant différents pourcentages d'infestation. Les résultats permettront alors, en fonction de la concentration en préparasites nécessaire par litre de débit, de savoir si l'utilisation de ces parasites peut être raisonnablement envisagée avec une certaine chance de succès sur le terrain.



1. Système d'élevage de larves de simules utilisé pour les essais d'infestation par *Romanomermis culicivora*. "Gouttière témoin" et "Gouttière expérimentale" avec feuille de matière plastique servant de support aux larves.



2. Détail du système de goutte-à-goutte utilisé soit pour l'alimentation des larves de simulies soit pour l'infestation par préparasites de *Romanomermis culicivora*.