

ETUDE DE L'INFLUENCE D'UNE DOSE SUBLETALE
D'UN INSECTICIDE REGULATEUR DE CROISSANCE
SUR LA PHYSIOLOGIE DES VECTEURS DE L'ONCHOCERCOSE

par

L. LOCHOUARN¹, H. ESCAFFRE² & J.M. HOUGARD²

¹ORSTOM/Centre Muraz, BP 171, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

²ORSTOM/Centre Pasteur du Cameroun, BP 1274, Yaoundé, Cameroun

Résumé. — Dans les programmes de lutte antivectorielle de grande envergure, les traitements insecticides laissent parfois subsister des populations résiduelles de l'insecte cible, conséquences de sous-dosages accidentels. Afin de savoir si ces insectes survivants représentaient une fraction épidémiologiquement dangereuse de la population, les auteurs ont choisi d'évaluer dans les conditions naturelles l'impact d'une dose sublétales d'un insecticide régulateur de croissance sur la longévité et les capacités vectrices de *Simulium damnosum* s.l., vecteur de l'onchocercose.

Dans une zone de savane où l'onchocercose est hyperendémique, une rivière a été traitée à une dose sublétales qui, administrée aux stades larvaires, provoque 80% de réduction d'émergence des adultes. La mise en survie des simulies capturées à l'issue de tels traitements a montré que cet insecticide semblait affecter la longévité des adultes sans pour autant induire de modifications dans le cycle du parasite. Les auteurs ont observé également une proportion anormalement élevée de femelles parasitées probablement due à une anomalie dans le phénomène de facilitation du passage des microfilaries dans l'hémocèle. Les analyses histologiques n'ont pas mis cependant en évidence de différences entre les simulies traitées et non traitées bien qu'il semble que le processus de digestion du repas sanguin ait été légèrement altéré chez les simulies traitées.

KEYWORDS: Growth Regulating Insecticides; Sublethal Dose; *Simulium damnosum*; Onchocerciasis; Cameroon

1. Introduction

Le programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest, basé uniquement, de 1975 à 1988, sur l'utilisation de larvicides antismulidiens, représente l'opération de lutte antivectorielle la plus importante de ces dernières années. Dans un programme d'une telle ampleur, il est évident que des simulies sont parfois au contact de doses sublétales d'insecticides qui résultent, soit de sous-dosages dus à des conditions difficiles d'application, soit du ruissellement avec les eaux de pluies et les eaux d'irrigation des composés épandus en agriculture.

On ne peut donc faire abstraction des doses sublétales ni en ignorer les conséquences sur la transmission de l'onchocercose. En effet, les populations survivantes sont peut-être capables de transmettre le parasite et de donner une descendance qui pourrait être résistante aux insecticides. Pour tenter de répondre à ces interrogations, nous avons étudié ce phénomène dans une zone d'hyperendémicité onchocercienne en évaluant par des transmissions expérimentales l'influence de tels traitements sur la longévité et les capacités vectrices des adultes.

Parmi les insecticides efficaces contre les larves de simulies, nous avons choisi un composé régulateur de croissance des insectes. Cette famille a la

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 35.462 ex 1

Cote : B

21

P2 IX

PM 102

22 MAI 1992

particularité de présenter une toxicité retardée mais surtout d'inhiber la synthèse de la chitine, composante essentielle de la cuticule et de la membrane péritrophique qui joue un rôle très important dans la transmission de l'onchocercose.

2. Matériel et méthodes

2.1. Choix de la zone d'étude

Pour évaluer dans les conditions naturelles l'influence de sous-dosages sur la physiologie et les capacités vectrices des simulies, il est nécessaire d'isoler un site d'étude à l'abri de simulies dispersives en provenance de gîtes alentours. La vallée des ronniers, située dans une zone de savane du Nord-Cameroun, dans la région de Poli, présente a priori des conditions idéales d'expérimentation. Cette vallée, encaissée entre deux massifs montagneux qui semblent être un obstacle naturel à l'invasion de simulies, est parcourue par un petit cours d'eau temporaire d'une douzaine de kilomètres, le Lampté. Durant la première moitié de son cours, cette rivière présente de bonnes conditions d'expérimentation car elle renferme de nombreux gîtes préimaginaux à *S. damnosum* et *Simulium sirbanum* durant sa période d'écoulement (9) et son cours, très régulier, favorise la portée de l'insecticide.

Afin de s'assurer que la plupart des simulies capturées à l'intérieur de la zone d'étude provenait bien du bief amont de la rivière Lampté, il a fallu dans un premier temps renforcer l'isolement naturel du bief expérimental en traitant par un insecticide classique, le téméphos, le bief aval de la rivière Lampté. Cet isolement a été probablement d'autant plus efficace que trois des rivières les plus proches de ce site ont bénéficié d'un traitement antilarvaire dans le cadre d'une campagne pilote de lutte contre l'onchocercose pour la protection d'un camp de réfugiés tchadiens (3).

2.2. Traitements à dose sub létale

Parmi les nombreux régulateurs de croissance testés à échelle réduite sur les larves de simulies, le phénoxy carb est à l'heure actuelle l'un des plus prometteurs (6,2). C'est un mimétique d'hormone juvénile qui appartient à la famille des carbamates dont certains sont de puissants insecticides à toxicité immédiate. Il nous a été fourni sous forme de concentré émulsifiable à 12,5% de matière active. Son efficacité sur les larves de simulies, notamment à la dose provoquant 80% de réduction d'émergence, a été déterminée dans des dispositifs d'évaluation à échelle réduite identiques à ceux utilisés par Doannio *et al.* (1). C'est seulement après avoir déterminé cette concentration que l'on a pu contrôler l'efficacité en rivière et évaluer la portée de la formulation. Pour cela, des larves âgées de simulies ont été répertoriées à différentes distances du point d'épandage puis mises en survie, après le passage de la nappe insecticide, dans un dispositif de récupération des adultes.

Une fois en possession de ces données, le traitement hebdomadaire à la dose sub létale du phénoxy carb du bief amont de la rivière Lampté a pu

débuter tandis que se maintenait l'isolement du site par des traitements hebdomadaires au téméphos du reste de la zone d'étude. Ce n'est qu'après un mois de tels traitements, soit une période supérieure à la longévité des femelles de simulies (estimée en zone de savane de 25 à 30 jours (5)) que l'on a pu obtenir une population en principe entièrement constituée de simulies issues de larves traitées à la dose sub létale du phénoxy carb. Cette hypothèse a pu être contrôlée en suivant la dynamique de la population par des captures et des dissections de simulies en différents points de la zone d'étude.

2.3. Capture des simulies et transmissions expérimentales

Les simulies sont capturées sur des appâts humains placés en deux points du site d'étude. Les captures sont réalisées durant deux jours consécutifs par semaine, pendant toute la durée de l'expérimentation, et s'étalent de 6 heures à 18 heures pour couvrir toute la période d'activité journalière des femelles. Les simulies sont disséquées selon la technique de Lewis (4) afin de déterminer l'âge physiologique de la population (pourcentage de femelles pares) et le taux de parasitisme.

Afin d'évaluer l'impact des traitements sur la longévité et les capacités vectrices des insectes survivants, nous récoltons des femelles gorgées sur onchocerquiens, préalablement sélectionnés suivant leur microfilarodermie, soit en vue de fixations à différents temps après le repas sanguin (études histologiques), soit en vue de conserver en survie des femelles infectées. Durant l'expérimentation, des simulies récoltées selon le même protocole expérimental, sur les mêmes onchocerquiens, à proximité du site d'étude et en l'absence de tout traitement insecticide, font office de lots témoins.

Pour les études histologiques, des simulies sont fixées à froid dans du Carnoy à des temps précis après le repas (1, 10, 15, 30 minutes et 1, 2, 3, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 48 heures), incluses dans la paraffine, coupées puis colorées. Pour étudier leur longévité, d'autres sont conservées dans des tubes de survie individuels entreposés à l'abri de la chaleur et dans une pièce saturée d'humidité où les écarts journaliers de température n'excèdent pas 3 à 4°C. Pour suivre l'étude du développement du parasite, on prélève toutes les deux heures les femelles mortes qui sont immédiatement disséquées.

3. Résultats

3.1. Efficacité des traitements

Dans les dispositifs d'évaluation à échelle réduite, la dose sub létale provoquant environ 80% de réduction d'émergence des adultes est de 0,2 milligrammes par litre pendant 10 mn (mg/l/10 mn) pour les larves âgées (stades 6 et 7) et de 0,14 mg/l/10 mn pour les plus jeunes stades. Bien que les jeunes larves de simulies soient légèrement plus sensibles à cet insecticide, nous avons délibérément choisi 0,2 mg/l/10 mn comme dose opérationnelle afin d'être certain que l'ensemble de la population préimaginaire sera au moins affecté à 80% par les traitements.

L'efficacité de la formulation a pu être confirmée lors d'essais en rivière sur le bief amont du Lampté. A 0,2 mg/l/10 mn, la portée du phénoxy carb a été estimée à plus de 10 kilomètres pour un débit moyen de 3m³/sec. Ces performances ont permis de définir les modalités pratiques du traitement en ayant recours à un seul point d'épandage pour traiter l'ensemble des gîtes du bief visé.

Au début de l'expérimentation, le nombre moyen de simulies capturées est de 30 piqûres par homme et par jour (piq/h/jr). Trois semaines après le premier épandage au phénoxy carb, le taux de piqûres diminue progressivement pour atteindre son niveau le plus bas au bout d'un mois (2 piq/h/jr). Parallèlement on assiste à un vieillissement de la population simulidienne consécutif à une diminution progressive du nombre de femelles nullipares.

3.2. Influence des doses sublétales

Des biopsies cutanées exsangues, standardisées, faites au niveau des crêtes iliaques, ont permis de sélectionner des filariens présentant une charge parasitaire moyenne de 85,5 microfilaries d'*O. volvulus* par biopsie. Pour chaque sujet examiné on effectue deux biopsies avec une pince de Holth 2 millimètres (poids des biopsies: 2,84 ± 0,16 milligrammes). Les simulies capturées sur les onchocerquiens et issues des gîtes traités à la dose sublétale du phénoxy carb sont alors mises en survie afin d'étudier l'effet du traitement sur la longévité et les capacités vectrices des simulies.

3.2.1. Longévité des simulies

Le taux de survie des simulies récoltées, qu'elles soient issues ou non de larves traitées au phénoxy carb, chute rapidement les premiers jours de mise en observation pour n'atteindre guère plus de 30% le quatrième jour. Ce n'est qu'après ce laps de temps que la mortalité varie selon l'origine des captures. En l'absence de traitement, des simulies survivent encore au huitième jour d'observation tandis que toutes sont mortes au-delà du cinquième jour dans le lot traité (figure 1).

3.2.2. Capacités vectrices des simulies

Soixante-dix simulies «témoins» ont été mises en survie afin de suivre l'évolution des microfilaries en l'absence de traitement. L'observation de ce lot montre que les larves de stade I apparaissent dans le thorax dès le deuxième jour après l'ingestion des microfilaries. L'évolution dans le thorax se poursuit les jours suivants avec la mise en évidence de larves de stade II dès le troisième jour et de stade III dès le sixième jour. Les stades infestants peuvent être observés une semaine après la prise du repas de sang. Le récapitulatif de ces dissections montre que le pourcentage de femelles parasitées est de 16,9% dont 6,8% présentent des stades infestants (figure 2a).

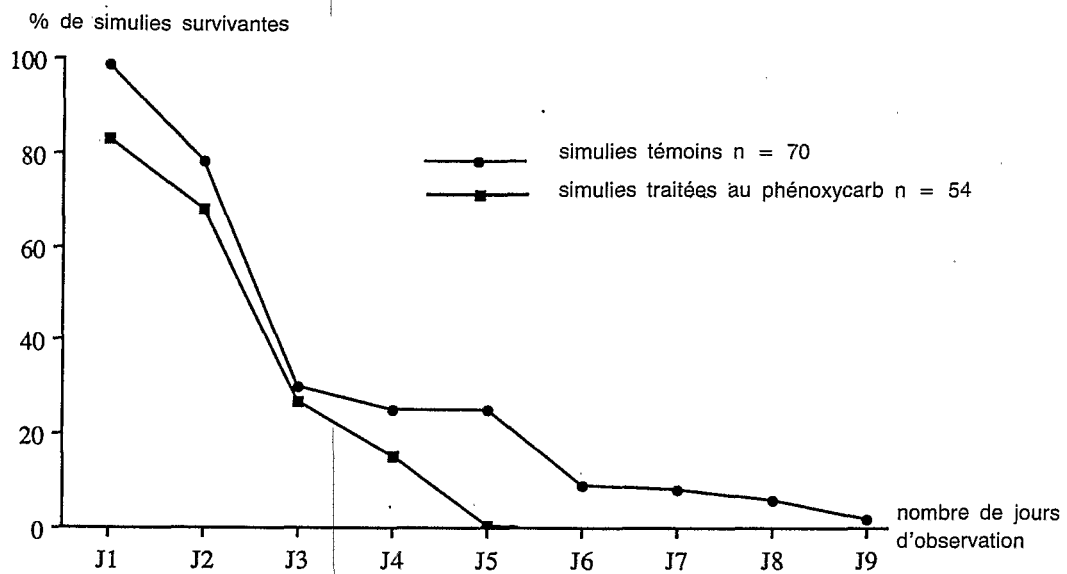


Figure 1.

Longévité comparée des simulies placées en conditions de survie et issues de larves traitées et non traitées au phénoxy carb.

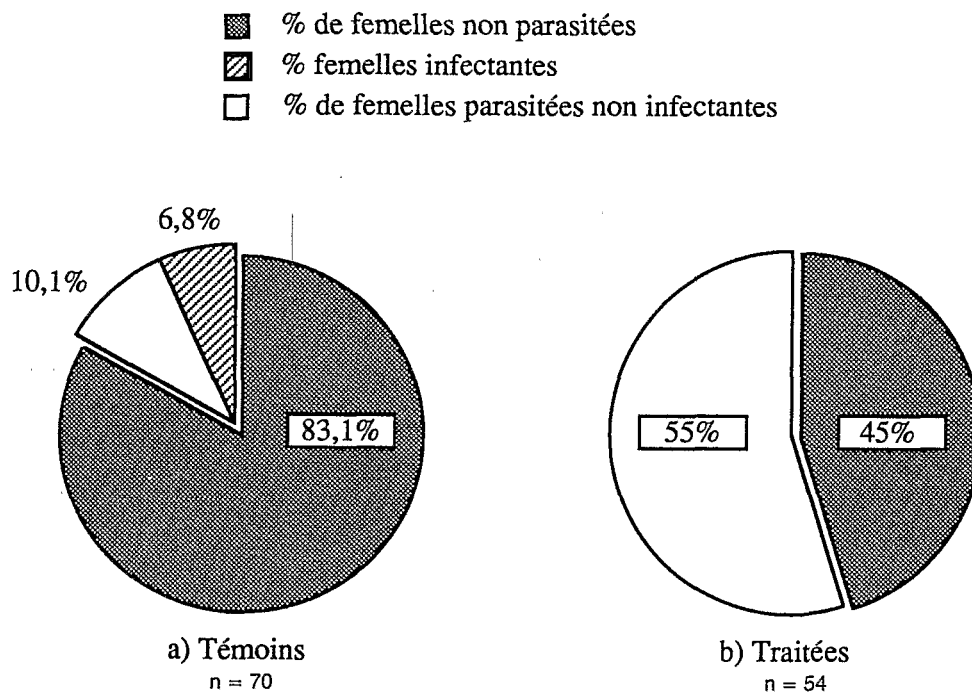


Figure 2.

Taux d'infestation de simulies capturées dans la vallée des rognons et issues de larves non traitées (a) et traitées (b) au phénoxy carb.

Sur les 54 simulies issues de larves traitées au phénoxy carb, l'évolution des microfilaries est identique, du moins pour les trois premiers stades larvaires, à celle observée chez les simulies provenant du lot témoin. Cependant, compte tenu de leur faible longévité, ces femelles sont mortes

avant l'apparition d'éventuels stades infestants. L'ensemble des dissections montrent que 55 % d'entre elles sont parasitées (figure 2b), résultat significativement différent de celui observé dans le lot témoin (Chi^2 hautement significatif).

3.2.3. Analyse histologique des simulies

Chez le lot témoin, l'épithélium digestif est mince et s'épaissit au cours de la digestion. Au début du repas, les hématies sont bien distinctes et on remarque une fine membrane qui entoure la masse sanguine 5 minutes après le repas. A 30 minutes, les hématies se concentrent en une masse centrale séparée de l'épithélium digestif par une substance péritrophique plus ou moins épaisse dans laquelle s'observent quelques lamelles péritrophiques, le plus souvent au contact des microfilaires. Par la suite, le nombre des lamelles augmente et la substance péritrophique devient une membrane très bien structurée. Après 6 heures, cette membrane se mélanise et commence à être digérée à 24 heures, tandis que la masse sanguine disparaît progressivement pour être complètement digérée 48 heures après le repas. Les microfilaires sont donc très rapidement emprisonnées dans la substance péritrophique.

Chez les simulies traitées, les coupes histologiques ont pratiquement le même aspect que celles des simulies témoins. La formation de la membrane péritrophique est semblable et les ovaires ont un développement identique. Il semble cependant que la digestion soit différente, puisqu'on observe chez les simulies traitées des plages sans éléments figurés du sang et irrégulièrement situées dans la masse de sang ingéré.

4. Discussion

Au bout d'un mois de traitement au phénoxy carb, la très forte réduction du taux de piqûres et l'augmentation du taux de parturité est la conséquence d'un ralentissement de la productivité des gîtes larvaires consécutif à l'application hebdomadaire d'une dose sub létale de cet insecticide.

Si l'on se réfère aux résultats obtenus dans le lot témoin, le traitement au phénoxy carb semble induire une diminution de la longévité dans les conditions de survie.

Dans le lot témoin, on observe, sept jours après le repas de sang, l'apparition de stades infestants d'*O. volvulus*, résultats en accord avec ceux observés en zone de savane par d'autres auteurs (7, 8). Si le cycle d'*O. volvulus* chez les simulies traitées semble être chronologiquement identique à celui observé dans le lot témoin, du moins durant les premières phases de développement, on ne peut tirer de conclusions sur leurs capacités vectrices si ce n'est une longévité insuffisante. On peut remarquer toutefois, par rapport au lot témoin et aux résultats obtenus par d'autres auteurs en zone de savane (9, 10), une proportion trois fois plus importante de femelles parasitées. Ceci semblerait indiquer des anomalies dans le passage de la membrane péritrophique par les microfilaires qui se manifestent par une diminution du puissant phénomène de limitation existant chez le couple S.

damnosum s.l./*O. volvulus*. Cette anomalie n'a cependant pas été mise en évidence lors de la lecture des coupes histologiques où nous n'enregistrons pas de différences entre les simulies traitées et non traitées au phénoxy carb sinon que le processus de digestion du repas sanguin semble légèrement altéré.

5. Conclusions

Il ressort clairement des traitements hebdomadaires au phénoxy carb que le site est bien à l'abri de simulies dispersives et que les conditions d'application ont permis d'obtenir une population résiduelle dans la proportion espérée. Parmi les effets les plus importants, il faut citer une diminution de la longévité des simulies avec pour conséquence importante l'absence de stades infestants bien qu'il y ait une proportion anormalement élevée de femelles parasitées. Les coupes histologiques n'ont donné aucune indication supplémentaire mais nous pensons que l'étude de la formation des membranes péritrophiques de sécrétion des larves de simulies mériterait d'être poursuivie car ces membranes renferment elles aussi de la chitine et sont, contrairement aux imagos, directement soumises au traitement. Nous pensons également que l'étude de l'influence d'un hormonomimétique sur la mue et les formes évolutives des larves d'*O. volvulus* mériterait d'être entreprise.

Ces conclusions sont à considérer toutefois avec prudence dans la mesure où nous avons rencontré de nombreuses difficultés d'expérimentation inhérentes à plusieurs facteurs. La biologie des simulies, avec pour conséquence l'impossibilité actuelle de réaliser un élevage de masse, ne nous laisse en effet d'autre alternative que celle de travailler dans les conditions naturelles. Le mode d'action de cet insecticide à toxicité retardée est d'autre part plus difficile à mettre en évidence que celui d'un composé à toxicité immédiate. Enfin, l'utilisation de doses sublétales rend difficile la détermination de la portée car les traitements n'agissent pas sur la totalité de la population-cible.

Malgré ces difficultés et dans l'éventualité d'une application de cette famille d'insecticides dans des programmes de lutte antivectorielle de grande envergure, les résultats encourageants obtenus au cours de cette étude nous incitent à persévérer dans ce type de recherches. D'ores et déjà, il semble que les populations survivantes à des doses sublétales d'insecticides, du moins de régulateurs de croissance, ne représentent pas un réel danger épidémiologique bien que le seul fait de capturer des simulies n'exclue pas l'hypothèse que cette fraction de la population puisse avoir une descendance qui pourrait être résistante à ces insecticides.

Remerciements. — Nous tenons à remercier, pour l'aide qu'ils nous ont apportée lors de cette étude, le personnel de Médecins Sans Frontière de Garoua, les autorités administratives et sanitaires de la région, le personnel du Laboratoire des Vers du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris.

Effect of a sublethal dose of an insect growth regulator on the physiology of onchocerciasis vectors.

Summary. — In most of the large scale vector control programs, the larviciding operations are not fully successful, resulting in a surviving vector population due to the use of sublethal doses. This problem leads the authors to study the effect of such doses upon the future of the residual population in order to know if it represents an epidemiologically dangerous population. One insect

growth regulator was selected to study this phenomenon using *Onchocerca volvulus* as the parasite and *Simulium damnosum* s.l. as the vector. The experiment was conducted under field conditions by treating a river of a savanna area in north Cameroon where onchocerciasis remains endemic. The sublethal doses yielding 20% in adult blackflies from treated larvae was determined and the effects on physiological and vectorial capacities were assessed. The authors also carried out observations on the peritrophic membrane formation and the passage of microfilariae into the hemocoel. The observation of flies fed on onchocercians after larval treatment showed that this insecticide had a light effect on female longevity but did not induce any modifications in the life cycle of the parasite. An unusual high proportion of infected females, observed by the authors, is probably due to an anomaly in the phenomenon of limitation. However, the histological analysis showed to the evidence that no apparent difference between treated and untreated blackflies was observed although the process of blood meal digestion seemed slightly altered in treated flies.

Invloed van een groeiregelend insecticide aan subletale dosis op de fysiologie van onchocerciasis vectoren.

Samenvatting. — Bij grootscheepse vectorenbestrijdingsprogramma's komt het voor dat de behandeling met insecticiden, door het gebruik van subletale dosissen, niet volledig succesrijk is, waardoor residuele vectorpopulaties blijven voortbestaan. Om uit te maken welke het effect is van deze subletale dosissen op de overlevende insecten en of deze van enig epidemiologisch belang zijn, hebben de auteurs een groeiregelend insecticide geselecteerd en dit fenomeen onderzocht met *Onchocerca volvulus* als parasiet en *Simulium damnosum* s.l. als vector. Het experiment werd uitgevoerd op het terrein door behandeling van een waterloop in de savannestreek van Noord-Kameroen waar onchocerciasis endemisch is.

De subletale dosis werd bepaald die, toegediend in het larvaire stadium, resulteerde in een 80% reductie van de volwassen insecten. Het insecticide bleek de overleving van deze volwassenen wel aan te tasten maar geen veranderingen in de levenscyclus teweeg te brengen. De auteurs stelden ook een ongewoon hoge proportie van geparasiteerde wijfjes vast, wellicht te wijten aan een afwijking in de doorgang van de microfilaria naar het hemoceel. Histologische analyse gaf echter geen aanwijzingen voor eventuele verschillen tussen de behandelde en de niet-behandelde vliegen, hoewel het verteringsproces van het bloedmaal licht aangetast bleek bij deze die waren behandeld.

Reçu pour publication le 30 août 1991.

REFERENCES

1. Doannio JMC, Hougard JM, Dossou-Yovo J, Duval J, Escaffre H: Evaluation à échelle réduite de l'activité biologique des formulations de composés régulateurs de croissance vis-à-vis des larves du complexe *Simulium damnosum*. I. Amélioration de la méthodologie par utilisation de deux nouveaux dispositifs. Cah. ORSTOM, sér. Ent. Méd. et Parasitol., 1987, numéro spécial, 17-23.
2. Hougard JM: Evaluation de l'efficacité de nouveaux larvicides pour la lutte contre les vecteurs d'endémies en Afrique de l'Ouest. Coll. Trav. et Doc. microédités, 1988, Ed. ORSTOM, 245 p.
3. Hougard JM, Lochouarn L, Escaffre H, Le Goff G, Prud'hom JM, Quillévére D: Lutte contre les vecteurs de l'onchocercose aux alentours d'un camp de réfugiés situé en zone de savane du Cameroun. Ann. Soc. belge Méd. trop., 1990, 70, 203-211.
4. Lewis DJ: Aspects of the structure, biology and study of *Simulium damnosum*. Ann. trop. Med. Parasit., 1957, 51: 340-358.
5. Le Berre R: Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). Mémoires ORSTOM, 1966, N° 17, 204 p.
6. Mulla MS, Husam A, Darwazeh HA, Les Ede, Kennedu B: Laboratory and field evaluation of IGR phenoxycarb against mosquitoes. Mosq. News, 1985, 1 (4), 442-448.
7. Philippon B: Etude de la transmission d'*Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) (Nematoda, Onchocercidae) par *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae) en Afrique tropicale. Trav. et doc. ORSTOM, 1977, 63, 308 p.
8. Quillévére D: Contribution à l'étude des caractéristiques taxonomiques, bioécologiques et vectrices des membres du complexe *Simulium damnosum* présents en Côte d'Ivoire. Trav. et Doc. ORSTOM, 1979, 109, 304 p.
9. Quillévére D, Hougard JM, Prud'hom JM: Etude de la transmission de l'onchocercose aux alentours, d'un camp de réfugiés situé en zone de savane du Cameroun. Ann. Soc. belge Méd. trop., 1990, 70, 93-202.
10. Renz A: Studies on the reinvasion by *Simulium damnosum* s.l. into the eastern areas of OCP and on the vectorial capacity of different species of the *S. damnosum* complex in Togo and Benin in 1982. WHO Consultants Report, 28 July to 31 October 1982, 1983, 62 p.