

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE 2006

THESE : 2006 - TOU 3 - 4025

**Etude de l'activité d'une formulation
à 50‰ de deltaméthrine
sur *Stomoxys calcitrans* à la Réunion :
résistance et rémanence**

THESE

POUR LE DOCTORAT VETERINAIRE

Diplôme d'Etat

présentée et soutenue publiquement en 2006

devant l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

par

Nicolas EHRHARDT

Né, le 24 octobre 1980 à St Claude (Jura)

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Michel FRANC

JURY

PRESIDENT:

M. Jean-Paul SEGUELA Professeur à l'université Paul-Sabatier de Toulouse

ASSESEURS :

M. Michel FRANC Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. Philippe JACQUIET Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Remerciements

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

Monsieur le Professeur Jean-Paul SEGUELA

Professeur des universités

Praticien hospitalier

Parasitologie – Mycologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE :

Monsieur le professeur Michel FRANC

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie et maladies parasitaires

Qui a bien voulu présenter et juger ce travail.

Qu'il veuille bien accepter le témoignage de notre profonde reconnaissance.

Monsieur le Docteur Philippe JACQUIET

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologies et maladies parasitaires

Pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail et sa participation à notre jury.

Sincères remerciements.

A Thomas HÛE,

Chef de projet du programme POSEIDOM de lutte contre les hémoparasitoses au GRDSBR
(Groupement Régional de Défense Sanitaire du Bétail Réunionnais)

Pour sa disponibilité, son ingéniosité, son art de la critique.

A Monsieur le professeur Gérard DUVALLET

Président de la Société Française de Parasitologie

Pour l'appui scientifique de l'étude.

A Monsieur le professeur Michel FRANC

Pour ses conseils avisés.

A Monsieur MONTY, Monsieur ABEELUCK et leurs collaborateurs

Chercheurs à l'AREU (Agricultural Research and Extension Unit) à l'île Maurice

Pour leur gentillesse et le travail considérable qu'ils ont réalisé pour cette étude.

A Mr Thierry Baldet, Mr Jérémy Bouyer, Mr Doug Colwell

Pour avoir participé à l'élaboration des protocoles et à la discussion des résultats

A Monsieur MOUTOUCHETY

Directeur du GRDSBR

Pour m'avoir permis de réaliser ce travail avec une logistique parfaite.

Au laboratoire INTERVET

Pour sa participation au financement de l'étude.

A Tout le personnel du GRDSBR

Pour l'accueil chaleureux et l'aide inestimable.

A Kristina, Xavier et Klara, à Mèl et Béa

Pour avoir été le meilleur entourage que je pouvais attendre pendant cette période.

A ma famille

Pour m'avoir soutenu dans ma démarche professionnelle.

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| Introduction..... | 9 |
| 1. La deltaméthrine et les phénomènes de résistance | 10 |
| 1.1. Développement de la lutte chimique contre les insectes nuisibles..... | 10 |
| 1.2. Mécanisme d'action des pyréthrinoïdes..... | 12 |
| 1.3. Les phénomènes de résistance aux insecticides..... | 14 |
| 1.3.1. Définition..... | 14 |
| 1.3.2. Historique..... | 14 |
| 1.3.3. Types de résistance..... | 15 |
| 1.3.4. Nature de la résistance..... | 16 |
| 1.3.5. Epidémiologie des chimiorésistances..... | 17 |
| 1.3.5.1. Facteurs liés aux parasites..... | 18 |
| 1.3.5.2. Facteurs liés aux antiparasitaires..... | 19 |
| 1.3.5.3. Facteurs liés au mode d'élevage..... | 21 |
| 1.3.6. Gestion du phénomène de chimiorésistance..... | 21 |
| 1.3.6.1. Dépistage des parasites chimiorésistants..... | 21 |
| 1.3.6.2. Prévention de l'apparition et de l'extension des résistances..... | 23 |
| 2. Le problème des stomoxes à la Réunion..... | 26 |
| 2.1. Généralités sur les stomoxes..... | 26 |
| 2.1.1. Systématique, morphologie et répartition des stomoxes..... | 26 |
| 2.1.2. Biologie des stomoxes..... | 28 |
| 2.1.2.1. Alimentation..... | 28 |
| 2.1.2.2. Reproduction..... | 30 |
| 2.1.3. Importance des stomoxes..... | 31 |
| 2.1.3. Effets pathogènes directs..... | 31 |
| 2.1.3.2. Transmission d'agents pathogènes..... | 32 |
| 2.2. La lutte intégrée contre les stomoxes..... | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 3. Test biologique de dépistage de résistance à la deltaméthrine..... | 37 |
| 3.1. Matériel et méthode..... | 37 |
| 3.1.1. Préparation des papiers imprégnés (protocole Stone et Haydock FAO n°7)..... | 37 |
| 3.1.1.1. Préparation des dilutions de deltaméthrine..... | 37 |
| 3.1.1.2. Imprégnation des papiers..... | 37 |
| 3.1.2. Matériel biologique..... | 39 |
| 3.1.2.1. Captures sur le terrain et ponte..... | 39 |
| 3.1.2.2. Production des stomoxes adultes de 2 ^{ème} génération..... | 40 |
| 3.1.2.3. Isolats et souches de stomoxes testés..... | 41 |
| 3.1.3. Méthode..... | 43 |
| 3.2. Résultats..... | 44 |
| 3.3. Discussion..... | 46 |
| 3.3.1. Discussion : objectif..... | 46 |
| 3.3.2. Discussion : choix de la souche de référence..... | 47 |
| 3.3.3. Discussion : préparation du matériel biologique..... | 49 |
| 3.3.4. Discussion : papiers imprégnés..... | 50 |
| 3.3.5. Discussion : test de résistance..... | 51 |
| 3.4. Difficultés rencontrées..... | 53 |
| | |
| 4. Etude de la rémanence du Butox® 50‰ sur les bovins pour <i>Stomoxys</i> | |
| <i>calcitrans</i>..... | 56 |
| 4.1. Matériel et méthode..... | 56 |
| 4.1.1. Matériel..... | 57 |
| 4.1.2. Méthode..... | 58 |
| 4.2. Résultats..... | 60 |
| 4.3. Discussion..... | 62 |
| 4.3.1. Facteurs induisant des biais | 63 |
| 4.3.2. Evaluation générale de l'efficacité du BUTOX® 50‰..... | 66 |
| | |
| Conclusion..... | 68 |

Liste des figures

Figure 1, p 13

Représentation théorique moyenne des effets d'une application de deltaméthrine sur plusieurs espèces (monographie deltaméthrine ROUSSEL-UCLAF, 1982)

Figure 2, p 26

Dessin de *S.calcitrans*, vu de dessus (d'après COURTEZY F. GREGOR)

Figure 3, p 27

Abdomen de *S.calcitrans* (à gauche) et de *S.niger* (à droite) (d'après Zumpt, 1973)

Figure 4, p 27

Ecartement des yeux au sommet de la tête chez les femelles et les mâles de *S.niger* (d'après Barré, 1981)

Figure 5, p 28

Distinction des pupes de *S.niger* (à gauche) et de *S.calcitrans* (à droite) (d'après Barré, 1981)

Figure 6, p 30

Cycle de développement de *S.calcitrans*

Figure 7, p 38

Matériel nécessaire à l'imprégnation des papiers

Figure 8, p 39

Piège Vavoua

Figure 9, p 40

Cages d'élevage des stomoxes capturés (insectarium GDS)

Figure 10, p 40

Bacs de production des pupes (insectarium GDS)

Figure 11, p 42

Localisation des élevages échantillonnés

Figure 12, p 43

Organisation du plan de travail

Figure 13, p 44

Transferts et mise en contact des stomoxes avec les papiers imprégnés

Figure 14, p 45

Représentation du taux de paralysie en fonction du logarithme de la concentration pour les différentes populations testées

Figure 15, p 46

Comparaison de la sensibilité des stomoxes de première et de seconde génération de l'isolat H

Figure 16, p 56

Animaux utilisés pour les tests

Figure 17, p 56

Cage roubeau apposé sur une vache

Figure 18, p 58

Emplacement des cages sur l'animal testé

Figure 19, p 60

Rémanence du BUTOX® 50‰ dans l'élevage laitier

Figure 20, p 61

Rémanence du BUTOX® 50‰ dans l'élevage engraisseur

Liste des tableaux

Tableau 1, p 44

Résultats des tests de résistance

Liste des annexes

Annexe 1, p 74

Fiche de relevé des résultats des tests de résistance : souche insectarium GDS de la Réunion

Annexe 2, p 77

Fiche de relevé des résultats des tests de résistance : souche insectarium Maurice

Annexe 3, p 79

Fiche de relevé des résultats des tests de résistance : isolat Maurice

Annexe 4, p 81

Fiche de relevé des résultats des tests de résistance : isolat L

Annexe 5, p 83

Comparaison des différentes techniques de capture des stomoxes

Annexe 6, p 86

Bilan des taux de paralysie une heure après exposition à l'insecticide

Annexe 7, p 87

Fiche de relevé du suivi d'efficacité BUTOX® 50% dans l'élevage laitier (H)

Annexe 8, p 88

Fiche de relevé du suivi d'efficacité du BUTOX® 50% dans l'élevage engraisseur (T)

Introduction

L'élevage bovin réunionnais s'est professionnalisé au cours des dernières décennies avec pour objectif d'assurer l'approvisionnement de l'île en produits laitiers et en viande. S'ajoutant aux contraintes climatiques et environnementales limitant le développement de cette filière, le parasitisme, favorisé par le climat chaud et humide de l'île, constitue la principale cause de pertes économiques. Une conjonction de facteurs permet une pullulation des stomoxes pendant la saison chaude comme cela est également observé à l'île Maurice. En plus de leur rôle pathogène direct par spoliation sanguine et des pertes de productions liées au harcèlement des animaux, les stomoxes sont des vecteurs efficaces d'hémoparasitoses, principale cause de mortalité sur l'île, et potentiellement de nombreuses autres maladies graves. Leur impact économique n'est pas chiffré, mais est certainement majeur.

Le Groupement Régional de Défense Sanitaire du Bétail Réunionnais organise une lutte intégrée contre les stomoxes dans le cadre du programme POSEIDOM d'éradication des hémoparasitoses. La lutte chimique se base sur l'utilisation de façon quasi-exclusive de la deltaméthrine (BUTOX®) depuis 1994. L'ensemble des moyens mis en œuvre ne permet pas toujours de contrôler les pullulations de stomoxes et les éleveurs sont parfois amenés à traiter leurs animaux à un rythme hebdomadaire. Ces pratiques représentent non seulement un coût important pour l'éleveur mais elles sont surtout favorables au développement de populations chimiorésistantes. De plus, de nombreux éleveurs estiment que le produit n'a pas ou plus d'efficacité contre les stomoxes.

C'est dans ce contexte qu'a été réalisée l'étude présentée dans cette thèse. L'objectif premier était d'évaluer l'apparition de phénomènes de chimiorésistance à la deltaméthrine dans les populations de stomoxes, *Stomoxys calcitrans*, sur l'île grâce à un test biologique de dépistage. Cette étude a été complétée par une évaluation dans deux exploitations de l'efficacité au cours du temps d'un traitement par aspersion avec une solution à 25 ppm de deltaméthrine (BUTOX® 50%).

La première partie du rapport rappelle les principales connaissances sur les insecticides et les phénomènes de chimiorésistance à ces insecticides. Le contexte de la lutte contre les stomoxes sur l'île de la Réunion est ensuite resitué. Dans une deuxième partie, nous rapportons les résultats des essais conduits au cours des cinq mois passés à l'île de la Réunion.

Partie 1 : La deltaméthrine et les phénomènes de résistance

1.1. Développement de la lutte chimique contre les insectes nuisibles

Les arthropodes dévorent nos productions agricoles et sont les vecteurs de nombreuses endémies. L'homme a depuis toujours développé de nombreux moyens de lutte contre ces nuisibles, à commencer par la lutte environnementale, visant à supprimer leurs sites de reproduction. Il a également cherché à développer une lutte biologique par le biais de bactéries, parasites, ou prédateurs des arthropodes. On a cherché à perturber leur comportement grâce à des attractifs ou répulsifs, notamment les phéromones, largement étudiées par les scientifiques. Ces méthodes préfigurent peut-être les solutions futures dans la lutte contre les insectes, il reste cependant indéniable qu'à l'heure actuelle et dans la majorité des cas, la protection des cultures, des animaux et de l'homme ne peut être menée à bien que par l'emploi d'insecticides (J. Lhoste, 1982).

Le premier insecticide d'origine végétale, le pyrèthre, était déjà utilisé il y a 2000 ans par les chinois. La nicotine extraite du tabac a révélé ses propriétés insecticides au XVIIème siècle. Les composés d'origine minérale tels que les arsenicaux, les composés mercuriels, le soufre ont été les premiers utilisés à large échelle dans le domaine agricole. Jusqu'à la découverte en 1939 d'un composé de synthèse neurotoxique dont l'efficacité était sans précédent, le DDT.

Pour lutter contre les arthropodes nous disposons d'insecticides/acaricides qui sont neurotoxiques et d'inhibiteurs de développement.

- Les insecticides/acaricides sont répartis en 6 groupes chimiques :

Parmi les **organochlorés**, le DDT et le lindane ont été les plus utilisés. Ils agissent sur les canaux sodiques provoquant une hyperexcitation de l'insecte intoxiqué. Ces molécules ont

rendu de grands services à l'humanité. Du fait de leur persistance dans l'environnement, ils ont progressivement été interdits. A partir du premier janvier 2007, leur utilisation, leur fabrication et leur commercialisation sera interdite dans l'union européenne. Les chercheurs ont élaboré de nombreux autres composés de synthèse : les **organophosphorés**, puis les **méthylcarbamates**, également très rémanents et toxiques. Ces composés de structures très variées sont des analogues de l'acétylcholine qui bloquent spécifiquement l'activité des acétylcholinestérases et entraînent une paralysie tonique permanente aboutissant à la mort.

Cette panoplie d'insecticides se partageait le marché mondial jusqu'à l'arrivée d'une nouvelle famille d'insecticides, les pyréthrinoïdes.

Les **pyréthroïdes** de synthèse photostables ont été développés à partir des années 70 avec la perméthrine (1973) et la deltaméthrine (1974), molécules présentant une activité pour des concentrations infimes, notamment pour les stéréo-isomères les plus actifs. Ces composés sont neurotoxiques par action au niveau des canaux sodiques présynaptiques et provoquent une paralysie tonique de l'arthropode ciblé. Leur toxicité sur les mammifères et leur persistance dans le sol sont modérées comparées à celles des autres insecticides neurotoxiques. Ils sont en revanche très toxiques pour la faune aquatique et classé non toxique pour les abeilles. Leur action peut être très spécifique comme celle de la fluméthrine présentant une activité acaricide uniquement.

Les **lactones macrocycliques** ont ensuite été commercialisées, apparaissant comme la solution aux problèmes croissant des phénomènes de résistance, mais pendant un temps seulement. Elles agissent par stimulation de la sortie de GABA et ouverture des canaux à chlore, provoquant une paralysie flasque des insectes atteints. Ces composés se caractérisent par un large spectre d'activité en atteignant la plupart des nématodes et arthropodes parasites.

La famille des **phénylpyrazoles**, plus récente, est représentée par le fipronil. Il agit par blocage des canaux chlore, entraînant une paralysie tonique de l'insecte. Il est utilisé sur les carnivores domestiques contre les puces et les tiques en France mais aussi pour protéger les bovins contre les mouches des cornes (*Haematobia irritans*) en Amérique. Son utilisation phytosanitaire a récemment été interdite en France.

- Les **régulateurs de croissance** représentent un autre mode d'action et leur utilisation dans le domaine vétérinaire se limite à la lutte contre les puces et les mouches. Administré *per os* aux animaux ou appliqués sur les excréments, ils empêchent l'évolution des stades immatures.

Les analogues de l'hormone juvénile, qualifié d'IGR de première génération, empêchent la transformation des oeufs en larve L1 et des larves L3 en pupes.

Les inhibiteurs de synthèse de la cuticule, IGR de deuxième génération, agissent soit par inhibition de la chitine synthétase, soit sur les protéines précurseurs de la cuticule.

1.2. Mécanisme d'action des pyréthriinoïdes

Les pyréthriinoïdes sont des molécules lipophiles agissant par contact après avoir pénétré la cuticule des arthropodes. Ces composés se fixent sur des récepteurs proches des canaux sodiques et modifient ainsi leur perméabilité. En prolongeant l'ouverture de ces canaux, la phase de dépolarisation du potentiel d'action est augmentée. Lors d'atteinte de motoneurones périphériques, ce mécanisme se manifeste par une phase d'excitation intense de l'insecte associée à une incoordination motrice. L'effet Knock Down (KD) correspond à une paralysie de l'insecte et ne se produit que lors d'atteinte des ganglions nerveux centraux en premier. Cette paralysie n'est pas générale car les insectes paralysés conservent une activité respiratoire non négligeable. Après un certain délai, les insectes paralysés peuvent récupérer leurs fonctions motrices. La réversibilité de la paralysie va dépendre de la dose reçue par l'insecte, un effet léthal survenant au-delà d'une certaine dose d'insecticide. Pour les stomoxes qui entrent en contact avec des supports traités, la principale voie de pénétration de l'insecticide correspond aux tarse. Les pièces buccales des stomoxes sont également en contact avec la peau lors du repas sanguin.

Les actions de la deltaméthrine sur d'autres types cellulaires sont peu documentées, notamment vis-à-vis des cellules sécrétrices équipées de canaux Na silencieux, canaux activables uniquement chimiquement. L'effet paralytique n'étant pas responsable en lui-même de la mort de l'insecte, on peut penser que ces autres modes d'action peuvent avoir une implication dans l'effet léthal de la deltaméthrine notamment.

Le graphique présenté ci-dessous est une représentation moyenne des effets de la deltaméthrine établie sur la base d'observations menées sur trois espèces d'insectes. Elle permet de répondre à un certains nombre d'interrogations des utilisateurs de cet insecticide.

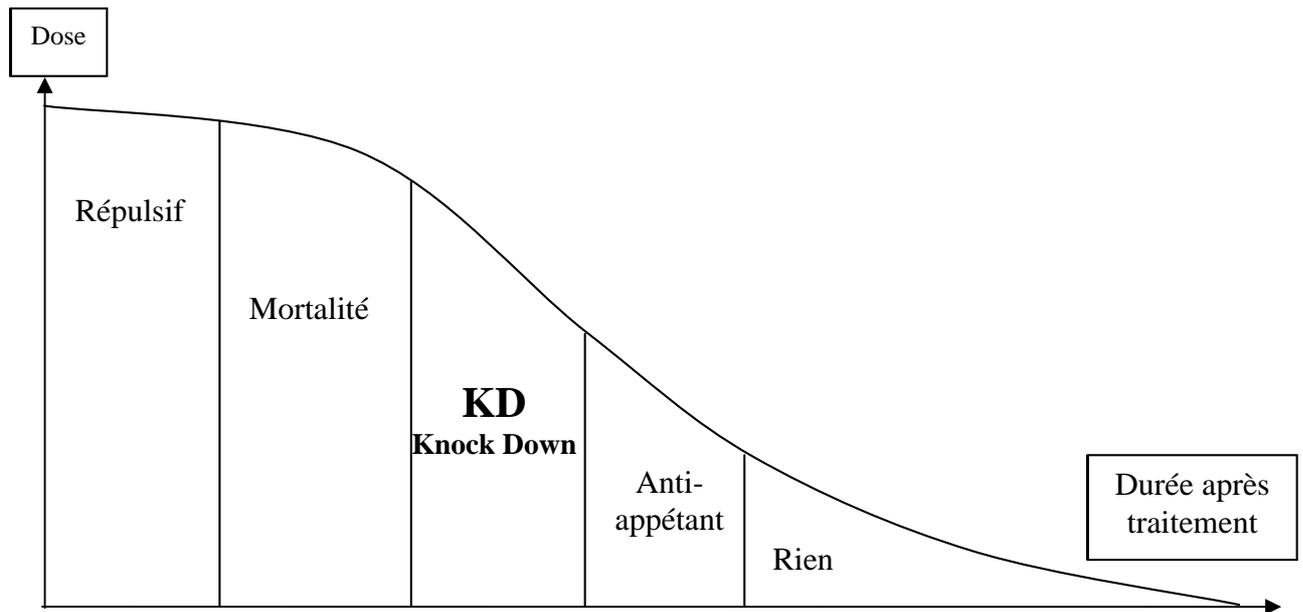


Figure 1 : Représentation théorique moyenne des effets d'une application de deltaméthrine sur plusieurs espèces (monographie deltaméthrine ROUSSEL-UCLAF, 1982)

Il apparaît pour autant aléatoire de vouloir extrapoler ces observations aux stomoxes. En effet, la deltaméthrine agit de façon variable en fonction de l'espèce cible, de sa voie de pénétration, des conditions d'exposition de l'insecte (température, alimentation), facteurs essentiels à prendre en considération dans les études d'efficacité. La variabilité des effets de la deltaméthrine observée d'une espèce à l'autre peut tenir à la voie de pénétration privilégiée de l'insecticide, notamment si l'on considère que l'ingestion de deltaméthrine provoque un effet létal pour des concentrations moindres que lors de la pénétration tarsale de l'insecticide. La composition lipidique et protéique des membranes nerveuses, très variable d'une espèce à l'autre, influence également l'activité de la deltaméthrine. La température est essentielle car elle influence la fluidité des membranes nerveuses, la perméabilité cuticulaire et l'activité des enzymes de biotransformation de l'insecticide. Enfin, la source alimentaire de l'insecte peut lui fournir en plus ou moins grande abondance les précurseurs des enzymes de biodégradation.

1.3. Les phénomènes de résistance aux insecticides

1.3.1. Définition

La résistance a été définie par un comité d'expert O.M.S. en 1957 comme « l'apparition dans une population de la faculté de tolérer des substances toxiques à des doses qui exerceraient un effet létal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce ». Cette définition, initialement énoncée à propos des arthropodes, s'applique à tous les agents pathogènes, des virus aux mammifères (WHO, 1992). Ce phénomène a été décrit chez plus de 500 espèces d'arthropodes, dont 3% d'intérêt vétérinaire.

Les individus génétiquement chimiorésistants à certains toxiques préexistent dans toute population avec une fréquence de l'ordre de 10^{-6} . La pression de sélection induite par les traitements antiparasitaires sur les générations successives de parasites va faire augmenter la proportion d'individus résistants dans la population. La résistance à l'échelle d'une population est un phénomène dynamique, avec une modification continue de la fréquence des gènes de résistance, soit vers une diminution, soit vers une augmentation (Georghiou, 1983). Dans certains cas, lors d'arrêt de la pression de sélection, on peut assister à une réversion de la résistance, c'est-à-dire un retour de la chimiosensibilité de la population.

Le phénomène d'accoutumance est une faculté acquise au cours de la vie de l'individu, contrairement à la résistance qui, elle, est innée et s'amplifie dans la population au fil des générations.

Avant de conclure à l'apparition de résistance, il faut s'assurer que la persistance des parasites n'est pas liée à une erreur thérapeutique (molécule inadaptée, sous-dosage pour l'espèce ciblée, rythme de traitement inadapté, présence de parasites en hypobiose) ou à une réinfestation des animaux. Si ce n'est pas le cas, un test de dépistage fiable pourra être mis en œuvre.

1.3.2. Historique

Les premiers cas cités entre 1913 et 1916 concernaient la résistance du carpocapse des pommes à l'arséniate de plomb, mais c'est avec l'usage intensif du DDT que les phénomènes de résistance ont pu entraver les campagnes de lutte. Dès 1946, des mouches domestiques,

Musca domestica, résistantes au DDT sont dépistées en Europe. Le phénomène est également observé chez les moustiques et bientôt des cas de résistance croisée à plusieurs insecticides sont observés chez ces deux espèces. C'est en 1965 que fut signalé pour la première fois un cas de résistance des mouches des étables aux pyréthrinés naturelles avec un facteur de résistance de 23 (Lhoste, 1982). Concernant les Muscidae (Georghiou, 1991), de très nombreux cas de résistances aux principaux insecticides ont été décrits chez *Musca domestica* à travers le monde et *Haematobia irritans* en particulier en Amérique, en Australie et au Mexique. La résistance est également décrite pour les mêmes insecticides chez *Stomoxys calcitrans* en Europe (Allemagne, Italie, Suède, Norvège) et aux Etats-Unis. Le phénomène est assez répandu chez les Simuliidae et les Calliphoridae, en particulier chez les mouches du genre *Lucilia*.

Le phénomène a pris une importance considérable dans les pays tropicaux : Afrique, Zone Pacifique, Amérique du Sud. Le climat est en effet favorable au développement des parasites tout au long de l'année et à la rapidité des cycles de développement parasitaires, les traitements étant ainsi plus fréquents.

Dans les pays tempérés avec un hiver froid, les phénomènes de résistance sont apparus plus tardivement, mais sont maintenant couramment décrits.

1.3.3. Types de résistance

La **résistance simple** est une résistance vis-à-vis d'une substance donnée. Cela correspond au premier stade de sélection d'individus chimiorésistants.

La **résistance de famille** s'applique à un groupe d'antiparasitaires ayant le même mode d'action. Exemple : résistance aux pyréthrinés, aux lactones macrocycliques. Il est ainsi recommandé de changer de famille d'insecticides lors de l'apparition de populations de mouches résistantes à un pyréthriné.

La **résistance croisée** résulte d'un mécanisme de résistance unique, sélectionné par l'application d'un seul antiparasitaire. Elle peut concerner des substances d'une même famille ou de familles différentes. Exemple : résistance du type KDr résultant d'une mutation du gène

para canal sodique, conférant une résistance au DDT et aux pyréthriinoïdes chez les populations d'*Anophèles gambiae* ss.

On parle de résistance croisée négative quand une population devenue résistante à un antiparasitaire présente une sensibilité accrue à un autre. Exemple : les souches d'*Haematobia irritans* résistantes aux pyréthriinoïdes présentent souvent une sensibilité accrue au diazinon, un organophosphoré (Cilek, 1993 ; Byford, 1988).

La **résistance multiple** désigne une résistance vis-à-vis de plusieurs groupes d'antiparasitaires ayant des modes d'action différents. Plusieurs mécanismes de résistance évoluent ainsi en réponse à la sélection résultant de l'application de différents insecticides.

1.3.4. Nature de la résistance

La résistance peut avoir pour origine tout mécanisme empêchant l'insecticide d'atteindre sa cible. Tous ces mécanismes biologiques résultent de mutations génétiques et de la sélection d'allèles de résistance sur différents loci.

La **résistance comportementale** permet au parasite de fuir le toxique. Cela est notamment décrit chez les insectes ailés, en particulier vis-à-vis des pyréthriinoïdes (Lockwood, 1985).

La **résistance morphologique** limite le taux de pénétration de l'insecticide. Ce mécanisme est important chez les mouches *Musca domestica* et est également décrit chez les tiques *Boophilus microplus* présentant un épaissement cuticulaire (Nolan, 1985).

La **résistance métabolique** consiste en une détoxification plus efficace de l'antiparasitaire. Elle résulte de la sur-expression des enzymes de détoxification, ou de la substitution d'acides aminés sur ces enzymes à l'origine d'une modification de leur affinité avec les insecticides. Ce mécanisme est primordial dans la résistance aux organophosphorés, DDT, organochlorés, carbamates et pyréthriinoïdes (Zerba, 1988).

Les enzymes impliquées appartiennent à trois groupes d'enzymes (Hemingway, 2000) :

- les hydrolases (estérases et phosphatases) dans le métabolisme des organophosphorés, carbamates et dans une moindre mesure dans celui des pyréthriinoïdes.
- les glutathion S-transférases pour la détoxification des organochlorés et organophosphorés.
- les monooxygénases cytochrome P450 dépendante dans la résistance aux pyréthriinoïdes, aux organophosphorés et dans une moindre mesure aux carbamates.

La résistance peut également consister en une **mutation de la cible**. Elle peut être liée à une modification du ou des sites d'action des antiparasitaires. C'est le cas de la résistance liée au gène KDr codant pour des canaux sodiques axoniques modifiés présentant moins d'affinité pour le DDT et les pyréthriinoïdes. La modification des canaux chlore de la synapse codée par le gène Rdl est impliquée dans la résistance au lindane et à la dieldrine. La résistance peut de la même façon résulter de modifications des canaux GABA ou des acétylcholinestérases.

La sélection de ces mutations se produit si la diminution ou perte d'affinité de la cible pour l'insecticide n'est pas associée à une perte de la fonction primaire de la cible. Les mutations peuvent néanmoins se traduire par une diminution de la capacité de survie ou de la prolificité des individus résistants, ce qui a des implications dans la persistance de la résistance sur le terrain.

La résistance résulte le plus souvent d'une combinaison de plusieurs de ces mécanismes. Les deux derniers mécanismes sont qualifiés de mécanismes majeurs de résistance, les deux premiers de mécanismes mineurs.

1.3.5. Epidémiologie des chimiorésistances

Les facteurs de sélection des individus résistants sont liés aux parasites, à l'antiparasitaire et au mode d'élevage, qui déterminent ou non la genèse d'une pression de sélection.

1.3.5.1. Facteurs liés aux parasites

Tous les parasites n'ont pas la même propension à développer une chimiorésistance.

- Renouvellement des générations

Lorsque les générations se succèdent rapidement, la sélection de sous-populations résistantes est plus aisée. Ce caractère est particulièrement évident chez les mouches domestiques, *Musca domestica*, les mouches nuisibles en élevage, *Haematobia irritans*, *Stomoxys spp.* et les poux dont le cycle est de trois à cinq semaines. Les phénomènes de résistance n'ont au contraire jamais été décrits chez *Hypoderma*, *Gasterophilus* ou *Oestrus*, espèces à cycles longs. Les climats chauds et humides, en intervenant sur la rapidité du cycle, seront favorables au développement de chimiorésistances.

- Prolificité des femelles parasites

Une espèce prolifique permettra une diffusion plus rapide des allèles de résistance par sa descendance. Les principales espèces de parasites résistants sont souvent les plus prolifiques de leur groupe. Cependant, certaines espèces très prolifiques comme *Amblyomma variegatum* n'ont jamais développé de résistances mises en évidence.

- Facteurs liés aux cycles évolutifs des parasites

Le nombre de stades évolutifs et la durée de la phase parasitaire doivent être pris en compte. Les tiques triphasiques comme *Amblyomma variegatum* alternent des phases parasitaires d'une semaine avec des phases libres et tous les stades ne sont pas exposés à l'insecticide, les premiers stades ne se nourrissant pas sur des animaux domestiques. Les parasites comme les poux sédentaires ou les tiques monophasiques telles que *Boophilus microplus* sont au contraire soumis à des contacts permanents avec les antiparasitaires, ce qui explique la plus grande propension de ces espèces à développer des résistances. Les mouches des cornes (*Haematobia irritans*) ont un contact bien plus long avec leur hôte que les stomoxes, présents sur l'hôte uniquement au moment de la prise des repas sanguins, c'est-à-dire au plus une demi heure par jour.

La survie des parasites chimiorésistants dans le milieu extérieur favorise leur reproduction et la transmission de leur pool génétique. Cependant, ces individus sont souvent plus fragiles et moins prolifiques que les individus chimiosensibles, ce qui tend à ralentir l'augmentation de leur proportion dans la population. On dit qu'ils ont une « fitness négative ». Cette propriété a été démontrée pour une souche d'*Haematobia irritans* résistante aux pyréthrinoïdes (Scott, 1997). Ceci peut permettre d'expliquer la diminution du niveau de résistance observée sur les populations de terrain en début de saison par une meilleure compétitivité des mouches chimiosensibles en l'absence de traitements. Des conditions climatiques rigoureuses vont ainsi favoriser la reproduction des individus chimiosensibles, de fitness positive. Un long temps d'attente avant la rencontre avec l'hôte permettra également de sélectionner les individus à fitness positive, cet élément pouvant être pris en compte dans la gestion des résistances chez les acariens par des mesures sanitaires et agronomiques.

1.3.5.2. Facteurs liés aux antiparasitaires

Tous les antiparasitaires vont opérer une sélection des individus résistants. Le développement des résistances est d'autant plus rapide que le contrôle de la population ciblée est efficace et donc la pression de sélection importante.

- Spectre d'activité

Un insecticide employé contre tous les stades parasites ou libres aura une efficacité de sélection très forte. Il est proscrit d'utiliser le même antiparasitaire sur l'animal et son environnement. L'application de pyréthrinoïdes sur un animal contre des parasites permanents sélectionnera tous les stades parasites.

Il faut également considérer la sélection d'individus résistants des espèces non ciblées par les traitements, mais exposées aux insecticides.

- Posologie

Le sous-dosage est un facteur de sélection des individus résistants. Les causes sont multiples : économique, mauvaise évaluation du poids, effet stripping, plaques auriculaires, traitements rémanents.

Le surdosage peut permettre le contrôle à court terme d'une population de mouches résistantes, mais il sera responsable d'une augmentation du niveau de résistance (Kunz, 1994).

- Rémanence d'activité et fréquence des traitements

La pression de sélection est d'autant plus forte qu'elle est prolongée dans le temps. La rémanence des antiparasitaires peut tenir à la molécule elle-même, cas des pyréthrianoïdes et des lactones macrocycliques, ou à sa forme galénique (formulations « pour on », « spot on », plaquettes auriculaires). La chute de concentration en fin d'activité, qualifiée « effet de queue » a été estimée responsable du développement de résistance (Miller, 1988).

La fréquence des traitements peut être à l'origine d'une pression insecticide permanente pour des traitements rémanents. Ces paramètres sont essentiels à prendre en compte dans la gestion des populations résistantes.

- Epoque des traitements

Il est recommandé de traiter les animaux lorsque les parasites sont nombreux et rencontrent des conditions climatiques favorables aux stades libres, ces derniers pouvant ensuite permettre de nouveaux brassages génétiques. Les traitements doivent au contraire être limités en hiver, quand les parasites sont les moins nombreux.

- Alternance de plusieurs groupes chimiques

L'alternance rapide d'anthelminthiques peut se traduire par la sélection de souches multirésistantes (Waller et al, 1995). Le problème ne serait pas équivalent pour les helminthes et les arthropodes, ces derniers ne semblant pas pouvoir développer simultanément de résistances à deux groupes d'insecticides (WHO, 1992 ; Georghiou *et al*, 1982). Dans le cas d'une étude en laboratoire sur une souche de *Musca domestica* (Kocisova, 1998), l'exposition alternative à deux insecticides n'empêche pas l'apparition des résistances, mais elle peut permettre de ralentir leur amplification.

1.3.5.3. Facteurs liés au mode d'élevage

L'intensification de l'élevage est favorable à la multiplication des parasites et donc à la fréquence des traitements. Les milieux clos tels que les poulaillers sont défavorables au brassage des populations, accélérant ainsi le développement de résistances.

1.3.6. Gestion du phénomène de chimiorésistance

La première étape consiste à s'assurer de la présence de la résistance.

Il faut ensuite procéder à un changement de famille d'antiparasitaires, en tenant compte des possibilités de résistances croisées.

1.3.6.1. Dépistage des parasites chimiorésistants

Insectes vivants :

- Tests sur le terrain

Ces tests n'aboutissent souvent qu'à une suspicion de résistance. Pour les arthropodes, ils sont basés sur le suivi du niveau d'infestation avant et après traitement, la résistance se traduisant par un maintien ou une augmentation de l'infestation.

- Tests biologiques *in vitro*

Ces tests nécessitent une standardisation parfaite. Ils sont reproductibles et quantifiables. Le principe est de mesurer la mortalité pour une gamme de concentration d'antiparasitaires. L'insecte est mis en contact avec la matière active soit directement (application topique), soit par l'intermédiaire d'un support. Après traitement des données (linéarisation des pourcentages de mortalité en coordonnées probit ou arcsin et des concentrations en coordonnées logarithmiques), il est possible de calculer les concentrations létales 50 et 90. Les valeurs obtenues pour la population testée sont divisées par les valeurs obtenues pour une population de référence et donnent les facteurs de résistance (FR₅₀ et FR₉₀). Pour des FR inférieurs à 3, la

souche testée est chimiosensible, entre 3 et 5 elle est « tolérante » ou « hétérogène », et résistante pour des valeurs supérieures à 5. Les FR dépassent souvent la centaine chez les arthropodes résistants et sont plutôt comprises entre 5 et 15 chez les helminthes.

$$\text{FR}_{50} = \frac{\text{DL}_{50} \text{ population testée}}{\text{DL}_{50} \text{ population référence}}$$

D'autres tests biologiques permettent d'estimer la mortalité des individus testés en fonction du temps après exposition à une dose discriminante d'insecticide. Ils fournissent un grand nombre de données et simplifient les expérimentations. Selon certains auteurs, ces tests sont plus sensibles que les tests évaluant la mortalité en fonction de la dose et présentent une meilleure corrélation avec des tests biochimiques (Brogdon, 1998).

Insectes morts :

- Méthodes biochimiques

Les méthodes biochimiques mesurent l'activité de différentes enzymes de détoxification impliquées dans les mécanismes de résistance. Il est ainsi possible de préciser les mécanismes mis en jeu par différentes espèces de parasites face à divers antiparasitaires.

- Méthodes moléculaires

La biologie moléculaire permet d'accéder au déterminisme génétique de la résistance par comparaison de loci chez des individus sensibles et résistants. C'est le cas par exemple du gène de résistance Kdr, impliqué dans la résistance aux pyréthrinoïdes. Ces méthodes peuvent identifier une mutation ponctuelle comme une amplification génique.

Ces méthodes imposent de connaître le mécanisme de résistance mis en jeu dans la population de parasites dépistée. Or, ces mécanismes sont souvent variables dans le temps et dans l'espace. Cependant, l'identification de certains allèles dans des populations de mouches

a pu être corrélée à un niveau de résistance, montrant la potentialité d'utiliser des tests PCR automatisés dans le dépistage de populations résistantes.

1.3.6.2. Prévention de l'apparition et de l'extension des résistances (Beugnet, 1998)

- Utilisation raisonnée des antiparasitaires.

Le dosage proposé par le fabricant contre l'espèce ciblée doit être respecté. A l'heure actuelle, les doses proposées sont tirées d'essais de détermination de concentrations efficaces. Les sur ou sous-dosages vont favoriser l'apparition de parasites chimiorésistants.

La fréquence des traitements doit être la plus faible possible et doit notamment être supérieure à la période prépatente des parasites ciblés afin de laisser une fenêtre permettant aux parasites chimiosensibles de se reproduire. Pour la même raison, les traitements sont à éviter quand les parasites sont rares dans le milieu extérieur car dans ces conditions, seuls les parasites chimiorésistants engendreront les générations suivantes.

Le choix de la substance doit tenir compte de l'existence de phénomène de résistance à son encontre. Les lactones macrocycliques peuvent remplacer les pyréthriinoïdes dans le cas de résistance à ces derniers. Il peut être utile d'employer des molécules synergisantes des pyréthriinoïdes comme le butoxyde de pipéronyle, un inhibiteur des oxydases à fonctions multiples, mais leur intérêt est controversé. La forme galénique est aussi importante, notamment pour les formulations rémanentes comme les bolus, les plaquettes auriculaires ou les pour-on, qui doivent être utilisées dans des conditions précises en raison de « l'effet de queue » et de l'absence de fenêtres permettant la multiplication des parasites chimiosensibles. Les dispositifs auriculaires à libération lente d'insecticide doivent être retirés en fin de saison.

Le protocole d'utilisation doit être déterminé à partir d'une connaissance précise de l'épidémiologie du parasitisme, spécifique à chaque situation. Des modèles mathématiques permettent de définir le rythme d'alternance de deux molécules pour optimiser leur durée de vie (Tabashnik, 1989). Le rythme va ainsi dépendre du temps de renouvellement des générations et des modalités d'élevage. Dans le cas de la lutte contre les mouches piqueuses, l'alternance entre pyréthriinoïdes et organophosphorés doit avoir un rythme bisannuel au moins pour espérer avoir une réversion partielle de résistance aux pyréthriinoïdes (Barros et al.

dans Byford, 1999). Si cette alternance est trop rapide, on pourrait au contraire voir apparaître des résistances multiples.

- Mesures de lutte intégrée (Bram, 1994)

« La lutte intégrée contre les parasites repose sur la mise en place de systèmes spécifiques faisant appel à de nombreuses technologies et intégrant aussi bien des molécules, des formulations et des méthodes d'application nouvelles, que la lutte biologique, mécanique, immunologique et génétique ainsi que les programmes de prophylaxie ». Le principe est d'associer des méthodes complémentaires pour maintenir un niveau d'infestation tolérable tout en préservant l'efficacité des antiparasitaires existants. Cette lutte prend en compte l'intérêt économique de l'éleveur et les conséquences environnementales des mesures mises en oeuvre. Elle s'appuie sur une connaissance approfondie de la biologie et l'écologie des parasites.

La lutte chimique peut faire appel à des composés toxiques comme à des substances ayant des effets répulsifs ou attractifs.

La lutte biologique fait appel à des prédateurs ou parasites et peut représenter une alternative efficace voire économique à la lutte chimique. En entomologie vétérinaire, elle s'applique surtout aux mouches se développant dans le fumier. Les hyménoptères parasitoïdes sont souvent utilisés dans la lutte contre les mouches domestiques et les stomoxes, alors que contre les mouches des cornes, la lutte s'appuie surtout sur des prédateurs et compétiteurs.

La lutte génétique a été développée pour la lutte contre *Cochliomyia hominivorax*, un agent myiasigène et contre certaines espèces de glossines. Elle consiste en des lâchers inondatifs de mâles stériles des espèces concernées, produits en insectarium et irradiés.

La lutte mécanique est essentielle, notamment par la gestion du fumier et du lisier qui abritent souvent les formes larvaires des parasites. Le piégeage des mouches permet également de réduire efficacement leur population dans les systèmes de production intensifs, mais il fait aussi ses preuves dans la lutte contre les glossines. La lutte contre les tiques

intègre quant à elle des mesures environnementales s'appliquant à la végétation et aux espèces hôtes sauvages.

La lutte immunologique permet par le biais d'animaux moins sensibles et moins réceptifs au parasitisme de diminuer les traitements et réduire la charge parasitaire. Il est nécessaire que cette sélection ne se fasse pas au dépend d'une sensibilisation à d'autres parasites ou agents pathogènes et qu'elle soit compatible avec la conservation de caractères intéressants économiquement. D'autre part, la connaissance des mécanismes immunitaires de défense contre les parasites permet l'élaboration de vaccins. Un vaccin contre *Boophilus microplus* est déjà commercialisé en Australie.

L'introduction d'animaux provenant d'élevages proches ou d'autres pays doit systématiquement être accompagnée de traitements antiparasitaires lors de la période de quarantaine. Ces traitements doivent permettre d'éviter l'extension à des territoires indemnes de parasites dépendant des mouvements d'animaux, ainsi que l'introduction d'allèles de résistance. Les traitements appliqués doivent donc prendre en compte l'existence de résistances dans la zone d'origine.

Partie II : Le problème des stomoxes

à la Réunion

2.1. Généralités sur les stomoxes

2.1.1 Systématique, morphologie et répartition des stomoxes

Les stomoxes sont des Arthropodes, insectes Diptères de la famille des *Muscidae*, et de la sous-famille des *Stomoxyinae*.

Les *Stomoxyinae* sont des mouches hématophages, très proches des mouches domestiques, *Musca domestica*, mais se distinguant par un appareil buccal piqueur, le probocis, dirigé vers l'avant dans l'axe du corps. Cette sous-famille est représentée par 10 genres dont 3 importants: *Haematobosca*, *Haematobia* et *Stomoxys*. Le genre *Stomoxys* comprend 18 espèces dont une seule est cosmopolite : *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus), 1758. *Stomoxys niger* a une répartition limitée au continent africain et aux îles Mascareignes, sa biologie et son écologie étant bien moins documentée que celle de *S. calcitrans*.

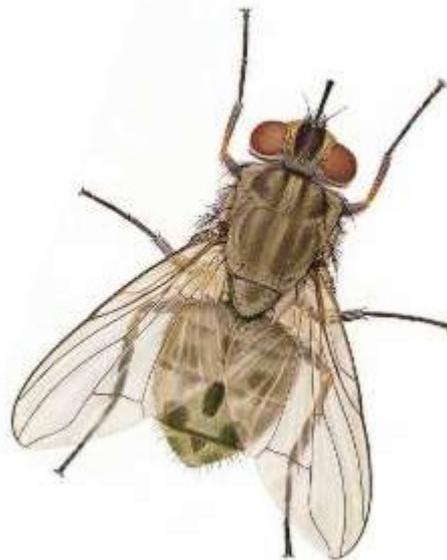


Figure 2 : Dessin de *S. calcitrans* vu de dessus (d'après COURTEZY F. GREGOR)

Deux espèces sont décrites à la Réunion (*Stomoxys calcitrans* et *Stomoxys niger*) et se répartissent de la zone côtière aux pâturages d'altitude à plus de 1200 mètres.

Les pullulations varient en fonction des zones concernées et des périodes de l'année. La zone intermédiaire (de 300 à 700 mètres), où se trouvent les champs de cannes à sucre, représente l'habitat électif des stomoxes, en particulier de *S. niger* qui trouve dans les feuilles de cannes en décomposition en début d'été, un site de ponte illimité (feuilles laissées sur le terrain après la coupe). La conjonction d'éléments météorologiques et biologiques favorables au développement des stomoxes expliquent sans doute l'importance remarquable de leurs pullulations sur l'île de la Réunion et l'île Maurice.

Critères morphologiques de distinction de *S. calcitrans* et *S. niger* :

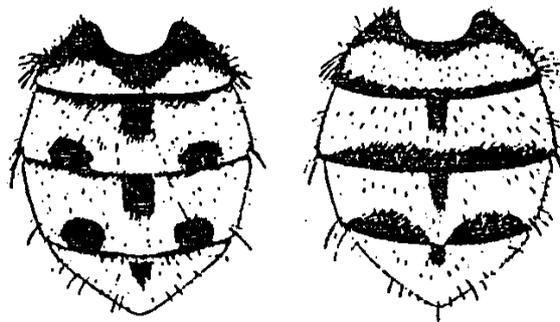


Figure 3 : abdomen de *S. calcitrans* (à gauche) et de *S. niger* (à droite) (d'après Zumpt, 1973)

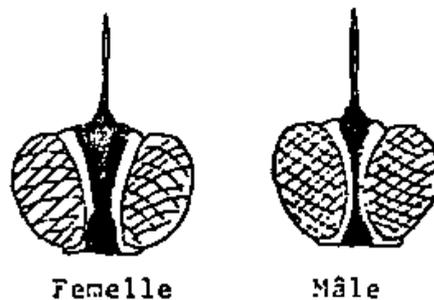


Figure 4 : écartement des yeux au sommet de la tête chez les femelles et les mâles de *S. niger* (d'après Barré, 1981)

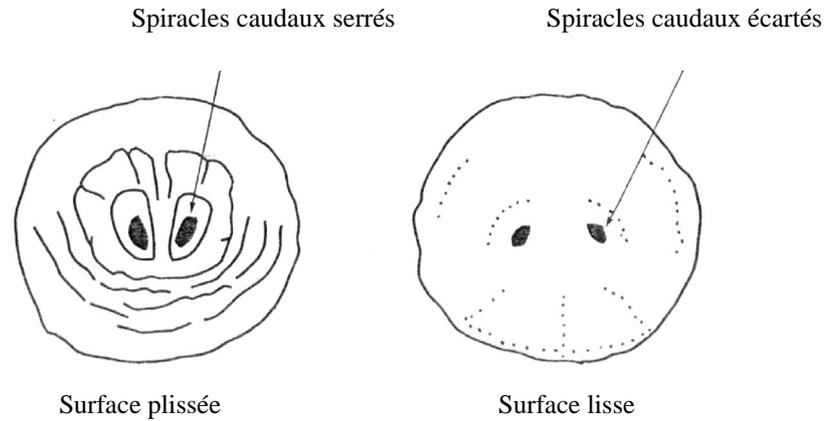


Figure 5 : Distinction des pupes de S. niger (à gauche) et de S. calcitrans (à droite) (d'après Barré, 1981)

La distinction du sexe peut se faire par observation de l'écartement des yeux ou en appliquant une légère pression sur l'abdomen faisant se dévagner l'ovipositeur chez les femelles.

2.1.2. Biologie des stomoxes

2.1.2.1. Alimentation

Les adultes sont des mouches hématophages pour les deux sexes, le sang étant nécessaire à la reproduction. Elles peuvent cependant se nourrir de nectar et de pollen (Foil et al, 1994), notamment lors de déplacements longs.

Les stomoxes choisissent leur hôte en fonction de la couleur et l'épaisseur du pelage, des mouvements et des odeurs. Le sens visuel et le thermotropisme sont excellents chez cette espèce et le sens olfactif est affiné par les chémorécepteurs de contact. Les hôtes préférentiels de *S. calcitrans* sont par ordre décroissant d'intérêt les ânes, les chevaux, les buffles, les bovins, les chameaux, les moutons et les chèvres et peuvent également se nourrir sur les hommes et les chiens (Zumt, 1973).

Sur les bovins, les stomoxes se nourrissent préférentiellement sur les parties basses du corps, notamment la partie inférieure des membres antérieurs. Cette préférence peut

s'expliquer par la présence de vaisseaux sanguins superficiels, un pelage court et une capacité de défense moindre pour cette zone. La répartition des zones d'attaques s'étend, avec le nombre de stomoxes, au fanon, à la partie supérieure des membres, aux flancs, puis au ventre et enfin au dos. Les réactions de l'hôte pour repousser les stomoxes sont des mouvements de queue, des trémulations des muscles peauciers, des mouvements de tête et des oreilles. Ils peuvent aussi courir, se frapper le flanc et les antérieurs avec les postérieurs, frapper le sol avec les antérieurs, se coucher et tenir leurs membres le long du corps.

La durée du repas sanguin dépend de nombreux facteurs, notamment de la température. Les *S. calcitrans* prennent généralement un seul repas sanguin par jour dont la durée a été estimée à 7 minutes à 30°C et 15 minutes à 21°C (Hafez *et al*, 1959b). Les *S. niger* peuvent prendre deux repas sanguins par jour d'une durée souvent inférieure à deux minutes (Kunz *et al*, 1976). La densité de *S. calcitrans* prenant un repas sanguin et le temps passé sur les membres du bétail sont positivement corrélés à la température (Lysyk, 1995). L'expérience montre également une absence d'activité de vol en dessous de 10,7°C et un maximum à 33,2°C. L'intervalle de température autorisant une activité de *S. calcitrans* est estimé entre 14°C et 34°C par Hafez. Ces expériences étant réalisées au Canada dans le premier cas et en Egypte dans le second, les souches étudiées montrent une adaptation aux contraintes climatiques. La proportion de stomoxes se gorgeant dépend d'autres facteurs. L'augmentation de l'intensité lumineuse et la diminution de l'humidité relative augmentent cette proportion pour des températures basses et la réduisent pour des températures élevées (Berry, 1985). Les suivis d'infestation au cours d'une journée mettent en évidence le plus souvent deux pics d'activité, un tôt le matin et un autre moins prononcé en fin d'après-midi (Hafez *et al*, 1959b, Kunz *et al*, 1976). Dans certaines conditions, notamment en saison fraîche, les *S. calcitrans* peuvent présenter un seul pic d'activité, en début d'après-midi.

Les stomoxes recherchant un repas de sang parcourent au moins cinq km (Hogsette, 1987 dans Foil *et al*, 1994), certains stomoxes marqués ont été recapturés jusqu'à 100 km de l'endroit du lâché. En dehors de ces périodes d'activité, les stomoxes se posent sur des supports clairs, ensoleillés, à proximité des animaux (Leclercq, 1971). Les sites de repos privilégiés à la Réunion sont des végétaux situés entre 5 et 30 mètres des animaux (Barré, 1981). Ces végétaux sont très souvent des bringelliers (*Solanum auriculatum*) ou des hautes herbes.

2.1.2.2. Reproduction

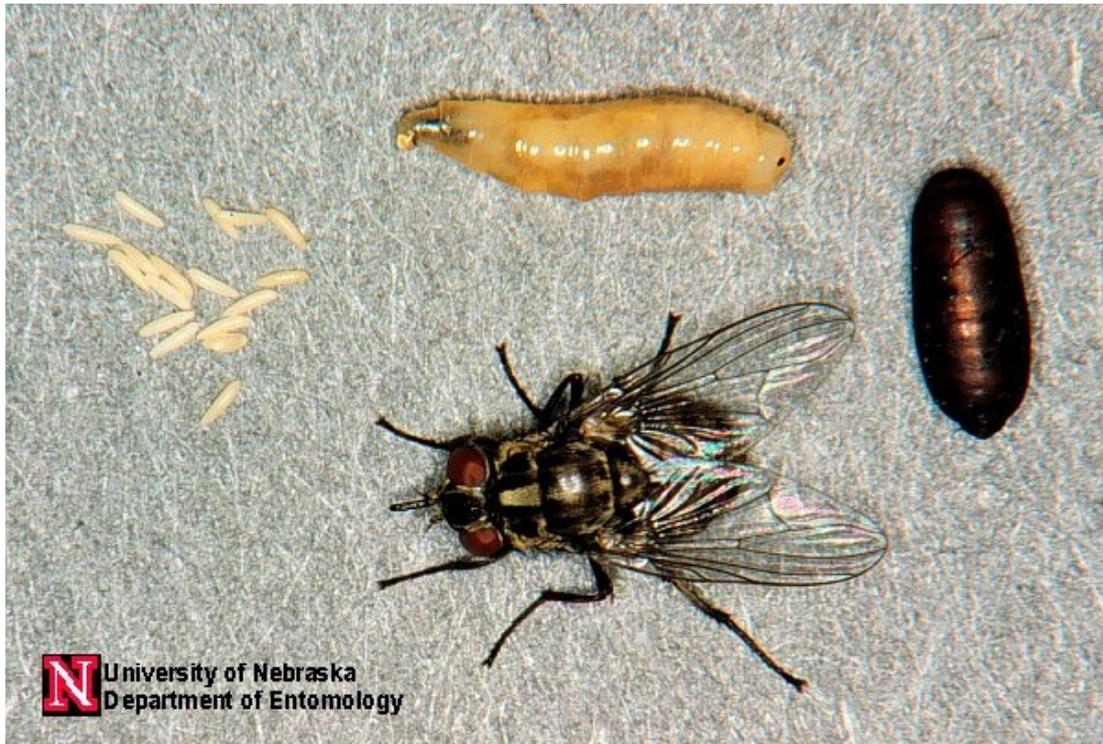


Figure 6 : cycle de développement de S. calcitrans

Le cycle de développement se déroule chez *S. calcitrans* en moins de 12 jours à 30°C et jusqu'à 60 jours à 15°C (Lysyk, 1998). A 25°C, l'éclosion a lieu dans les 24 heures après la ponte, la transformation des larves en pupes après 10-12 jours et l'émergence des pupes 6-8 jours après leur formation (Pospisil, 1961 dans Leclercq, 1971). Chez *S. niger*, le cycle de l'œuf à l'adulte dure 28-32 jours à 27°C (Monty, 1972 dans Foil, 1994).

Les femelles de *S. calcitrans* s'accouplent avec un seul mâle (Hafez *et al*, 1959a), de 4 à 5 jours après émergence. Les pontes débutent généralement 10 jours après émergence (Killough *et al*, 1965), mais sont observées dans l'insectarium du GDS de la Réunion à partir du sixième jour, cette durée dépendant de la température et de la disponibilité des repas de sang. Une femelle *S. calcitrans* peut pondre au cours de sa vie plus de 700 œufs répartis en petits paquets, à des températures de 25°C. Le lieu de ponte de *S. calcitrans* correspond à de la matière organique d'origine végétale en décomposition éventuellement mélangée à des déjections animales (fumier, végétaux coupés ou feuilles d'arbres en décomposition, refus de

fourrages du bétail...). La surface croûtée du lisier peut aussi constituer un milieu de développement pour les larves. Le milieu doit être poreux, friable et avoir un fort taux d'humidité. La température doit être comprise entre 15 et 30°C. *S. niger* pond sur des végétaux en décomposition, en particulier la canne, après sa coupe et encore longtemps après. Les larves ne sont en revanche jamais retrouvées dans le fumier. Les larves recherchent des températures de 15 à 30°C et des conditions d'humidité proches de la saturation. Avant la pupaison, les larves recherchent une humidité de 75 à 83% et une température de 15 à 25 °C. La survie des immatures est maximale à 20-22°C (Lysyk, 1998).

2.1.3. Importance des stomoxes

Les stomoxes sont à l'origine de pertes économiques parfois considérables dans les élevages. Les pertes annuelles estimées aux Etats-Unis pour la filière bovine s'élèvent à 400 millions de dollars (Kunz *et al*, 1991). Ces pertes résultent de l'action pathogène directe des stomoxes et de la transmission d'agents pathogènes.

2.1.3.1 Effets pathogènes directs

Les piqûres incessantes des stomoxes sont très douloureuses et occasionnent un stress dont découle une diminution des défenses immunitaires et de la production. La diminution de la quantité d'aliment ingéré et la dépense d'énergie pour repousser les stomoxes contribuent largement à ces pertes de production. L'effet est particulièrement lisible sur une exploitation laitière par la réduction de la quantité de lait produite et de sa teneur en graisse. Une diminution de 0,7% de production par stomoxe et par vache ainsi qu'une diminution de 0,65% du taux butyreux ont été estimées dans l'Illinois, en été, ces effets persistant des semaines voire des mois après la période de vol des stomoxes (Bruce, 1958). Ces pertes peuvent dans une certaine mesure être compensées par une ration plus énergétique. Des infestations en milieu contrôlé sur des génisses à l'engraissement ont montré une diminution de 20% du gain moyen quotidien des animaux infestés par environ 100 stomoxes par rapport au lot témoin (Campbell *et al*, 1977). Le seuil de rentabilité d'un traitement antiparasitaire sur des veaux à l'engraissement a été estimé à six *S. calcitrans* par animal (Campbell *et al*, 1987).

Lors des importantes pullulations de stomoxes notées à la Réunion, les animaux sont littéralement harcelés par ces insectes et ne peuvent plus s'alimenter correctement. La ponction sanguine est de façon banale d'un demi litre et parfois de l'ordre d'un litre par bovin et par jour (Barré, 1981). Les animaux perdent du poids et s'anémie progressivement. La persistance de la pression parasitaire peut être responsable de la mort de l'animal si celui-ci n'est plus en mesure de se protéger. Une mortalité particulièrement importante a été notée sur le bétail réunionnais suite au passage du cyclone Hyacinthe en 1981 en même temps qu'une pullulation particulière des stomoxes pendant cette période. Les causes de mortalités classiques n'expliquant qu'une partie des cas, le rôle des stomoxes dans cette hécatombe n'est certainement pas négligeable.

2.1.3.2. Transmission d'agents pathogènes

Les stomoxes sont d'excellents vecteurs mécaniques d'agents pathogènes pour plusieurs raisons. Les repas sont souvent interrompus, du fait de la douleur occasionnée par la piqûre et la réaction de l'hôte. Ces vecteurs sont particulièrement mobiles et peuvent facilement et rapidement rejoindre un autre hôte à proximité pour terminer leur repas de sang, ce qui sera favorable à la survie de l'agent pathogène dans les pièces buccales. La quantité de sang souillant les pièces buccales correspond au 1/ 200^{ème} de celle contenue sur les pièces buccales d'un tabanidé, soit 0,1 nL. Le mode de ponction des insectes solénophages comme les stomoxes est en outre moins efficace en terme de transmission que celui des telmophages comme les tabanidés.

Les hémoparasitoses, dont 67% sont dues à *Anaplasma marginale*, sont la principale cause de mortalité des bovins sur l'île de la Réunion. Les tiques sont les vecteurs habituels de cette rickettsie mais tout porte à croire que les stomoxes jouent un rôle prépondérant dans la prévalence de cette maladie. Les stomoxes sont capables de transmettre l'agent lors d'expérimentations (Potgieter *et al*, 1981 ; Ristic, 1968). De plus, dans les zones où les tiques ont été éradiquées, la maladie se maintient. Par ailleurs, l'incidence maximale des hémoparasitoses a lieu de février à avril, ce qui correspond à la période de pullulation des stomoxes. Il existe d'autres moyens efficaces de transmission de cet agent pathogène, notamment iatrogène comme la vaccination, la castration et l'écornage en série.

La leucose bovine enzootique est également particulièrement présente sur l'île, malgré des plans d'éradication menés scrupuleusement, comme dans les autres départements français. Cette maladie virale se transmet verticalement *in utero*, ainsi que par le colostrum et par le lait. La transmission horizontale semble cependant avoir plus d'importance. La voie d'inoculation intradermique est plus sensible que les voies intra-muqueuses et intra-péritonéale. La transmission iatrogène est considérée comme le mécanisme principal de transmission du virus. Les essais de transmission mécanique de la LBE par les stomoxes n'ont jamais permis de transmettre le virus. En revanche, la transmission a pu se faire avec 20 tabanidés (Foil *et al*, 1989). La spécificité réunionnaise de séroprévalence de la LBE (45% en 1998) maintient le doute sur la potentialité vectorielle des stomoxes vis-à-vis de ce virus.

La dermatose nodulaire contagieuse est une maladie virale pouvant se transmettre par l'intermédiaire de supports contaminés ou d'insectes piqueurs. L'épidémie survenue sur l'île de la Réunion en 1991, faisait suite à l'introduction de bovins du Swaziland, et a eu des répercussions économiques lourdes. Des études épidémiologiques ont amené à considérer les stomoxes comme agents responsables de l'extension de la maladie.

De nombreux autres agents peuvent être transmis mécaniquement par les stomoxes :

- Protozoaires : *Trypanosoma evansi* ; *T. vivax* ; *T. brucei* ; *Leishmania sp* ; *Besnoitia besnoiti*.
- Bactéries : *Bacillus anthracis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Dermatophilus congolensis*.
- Virus : Pestes porcines, virus de la stomatite vésiculeuse, fièvre de la vallée du rift, anémie infectieuse des équidés

Les stomoxes peuvent être les vecteurs biologiques de *Habronema microstoma*, parasite de la muqueuse stomacale des chevaux. Ils sont également des transporteurs phorétiques importants des œufs de la mouche *Dermatobia hominis*, agent de myiase cutanée chez de nombreux mammifères.

L'importance particulière des stomoxes à la Réunion, du fait de leur pathogénicité propre ou de leurs potentialités vectorielles, justifie amplement la mise en œuvre d'une lutte intégrée contre ces parasites, organisée à l'échelle de l'île.

2.2. La lutte intégrée contre les stomoxes

La lutte est organisée par le groupement Régional de Défense Sanitaire du Bétail de la Réunion (GRDSBR) dans le cadre du programme POSEIDOM d'éradication des hémoparasitoses. Un programme de suivi en ferme des hémoparasitoses et de leurs vecteurs, tiques et stomoxes, permet d'évaluer l'impact des différents moyens de lutte mis en oeuvre et d'améliorer le niveau de connaissance sur la biologie et la dynamique des populations de stomoxes dans le contexte local. Ces actions sont menées en partenariat avec l'EDE, le CIRAD-EMVT, les vétérinaires sanitaires et la DSV.

Les différentes actions de lutte sont en partie subventionnées par le GDS.

- La lutte chimique :

Elle s'appuie sur l'utilisation de spécialité à base de deltaméthrine (BUTOX®) contre les stades adultes et de cyromazine (NEPOREX®) contre les stades immatures.

La deltaméthrine, produite par Intervet sous la dénomination BUTOX®, a été proposée pour plusieurs raisons. Les formulations spot on et 50% du BUTOX® sont adaptées, efficaces, rémanentes et peu toxiques pour l'environnement. Leur prix notamment a motivé le choix de ces spécialités. L'objectif principal des traitements est de réduire la pression parasitaire sur les animaux. Les traitements permettent de protéger les animaux des piqûres de stomoxes et ainsi d'éviter leur excitation lors de la traite notamment, de favoriser la prise alimentaire, de limiter la spoliation sanguine et la transmission d'agents pathogènes.

Le GDS a recommandé son application au moment des pics d'infestation et avec une fréquence d'une fois par mois au plus afin de limiter l'apparition de phénomènes de résistance.

Les résultats récents du suivi en ferme des populations de stomoxes ne montrent pas avec évidence un impact majeur des traitements au BUTOX® sur la démographie des stomoxes dans une exploitation quand ces traitements ne sont pas associés à d'autres moyens de lutte. Dans les conditions d'utilisation préconisées, c'est-à-dire au moment des pics d'infestation, il est possible que l'action du BUTOX® soit modérée. Ce traitement intervient en effet trop tard pour limiter les pontes et donc le stock d'immatures qui seront à l'origine du pic d'infestation suivant, ce dernier se produisant généralement 3 semaines plus tard. En revanche, si le traitement est réalisé au début du premier pic de la saison chaude, quand l'infestation

commence seulement à prendre de l'ampleur, et si ce traitement est associé aux autres méthodes de lutte, on peut espérer avoir un bien meilleur contrôle du niveau d'infestation au cours de l'année. La question est de savoir si la pression insecticide induite ne sera pas favorable à une accélération de l'extension des chimiorésistances.

Le traitement des animaux est judicieux car il permet d'atteindre une grande proportion des stomoxes, tous devant se poser sur les animaux pour la prise du repas sanguin nécessaire à la reproduction. Cependant, une proportion nettement supérieure de stomoxes est posée sur des reposoirs végétaux à proximité des animaux. Il peut être judicieux d'entretenir des reposoirs pièges, placés stratégiquement et de les traiter avec un insecticide organophosphoré comme l'ALPHACRON® (Barré, 1981).

Le traitement des sites de développement larvaire avec des régulateurs de croissance (NEPOREX®) peut être très efficace si ces sites sont bien identifiés et regroupés. Il doit se faire en même temps que le traitement des animaux au BUTOX® en début de phase de pullulation des stomoxes.

- La lutte biologique

Des lâchers de parasitoïdes, *Spalangia cameroni*, sont réalisés régulièrement dans une cinquantaine d'élevage. L'efficacité des lâchers n'est plus évaluée, mais certains éleveurs y sont très favorables. A l'île Maurice, la lutte contre les stomoxes s'appuie exclusivement sur la lutte biologique depuis plus de vingt ans, cette méthode étant non seulement durable, mais également économique en comparaison de la lutte chimique. Cependant, la majorité des gens fait plus confiance aux traitements chimiques.

- La lutte mécanique

L'utilisation de pièges Vavoua et des fils à colle ont un grand succès car leur efficacité est visible. Cependant, la longévité est relativement courte et les pièges demandent un certain entretien.

Vis-à-vis des formes immatures, la gestion des effluents ou autres supports de pontes utilisés par les stomoxes est primordiale. Elle consiste à regrouper et retirer le fumier, éliminer les refus alimentaires des animaux, bâcher le fumier, empêcher la formation de croûte dans la fosse à lisier, nettoyer régulièrement l'intérieur de la stabulation.

De nombreux autres moyens de lutte sont parallèlement mis en œuvre, le GDS participant au développement de ces méthodes. Le dernier exemple correspond à un système de brumisation, à base d'essences de géranium, installé dans les stabulations ou les salles de traite pour repousser les stomoxes pendant l'alimentation ou la traite des animaux.

L'ensemble des moyens mis en œuvre dans la lutte contre les stomoxes permet dans certains élevages de limiter l'infestation à des niveaux acceptables. La lutte chimique reste la méthode privilégiée en raison de son impact psychologique. Les éleveurs n'ont souvent plus que ce recours pendant les phases de pullulations pour protéger leur bétail. L'utilisation d'insecticides n'est donc pas toujours « raisonnée » et les traitements sont souvent réalisés à un rythme de deux, voire quatre fois par mois. Un certain nombre de pratiques sont ainsi favorables au développement de résistance, d'autant plus que la deltaméthrine est utilisée depuis 11 ans de façon quasi-exclusive pour lutter contre les stomoxes sur l'île. Les témoignages réguliers d'éleveurs estimant que cet insecticide n'a pas ou plus d'efficacité contre les stomoxes ont amené le GDS à s'interroger sur l'apparition éventuelle de populations de stomoxes chimiorésistants. Il était également nécessaire d'évaluer la durée d'efficacité d'un traitement pour utiliser cet insecticide de façon raisonnée.

Partie 3 : Test biologique de dépistage de résistance à la deltaméthrine

Application tarsale d'une gamme de concentrations de deltaméthrine sur des souches et isolats de *S.calcitrans*

3.1. Matériel et méthode

3.1.1. Papiers imprégnés (protocole Stone et Haydock FAO n°7)

3.1.1.1. Préparation des dilutions de deltaméthrine

- préparation de 13 flacons en verre fumé avec des barreaux magnétiques :
1 avec 37,2 ml d'huile d'olive et 12 avec 25 ml
- préparation de la solution mère (**12,8 g/l**) : mettre 12,8 ml de BUTOX® 50‰ dans le flacon avec 37,2 ml d'huile
- préparation des autres solutions : agiter 10 minutes la solution du flacon 1, puis prélever 25 ml qui seront mis dans le flacon 2 contenant 25 ml d'huile. Répéter la même opération pour les dilutions suivantes.
- le flacon 13 contient de l'huile d'olive pure
- étiquetage et conservation des flacons à l'obscurité

3.1.1.2. Imprégnation des papiers

- découpage de disques de papier whatman n°1 qualitative (cat n°1001 110) de 2,5 cm de diamètre (25 par dilution) grâce à un compas sur lequel une lame de bistouri a été montée

En commençant par le témoin et en allant des concentrations les plus faibles vers les plus fortes :

- prélèvement de 0.5 mL de la dilution la plus faible de BUTOX® 50‰ avec une pipette notée B (pipette BIOHIT proline 200-1000µL) après agitation de la dilution pendant 10 minutes
- prélèvement de 1 mL de trichloréthylène avec une autre pipette
- mélange dans un tube eppendorf de 2 mL
- prélèvement de 60 µL du mélange (pipette BIOHIT mline 10-100µL) et imprégnation des papiers déposés sur une feuille d'aluminium
- séchage pendant au moins une heure des papiers disposés à l'aide d'une pince sur des tiges de trombone traversant le centre du disque
- conservation des papiers dans des feuilles d'aluminium au réfrigérateur pendant 15 jours au plus

Les gants sont changés après chaque manipulation de papiers imprégnés et des flacons contenant du BUTOX® 50‰. Le matériel est préparé à l'avance pour éviter la contamination du stock. On change de cônes à chaque opération. Le bécher contenant le trichloréthylène est partiellement fermé à l'aide d'une feuille d'aluminium entre les prélèvements. Un masque intégral est utilisé, à défaut de hotte aspirante.



Figure 7 : Matériel nécessaire à l'imprégnation des papiers

3.1.2. Matériel biologique

3.1.2.1 Captures sur le terrain et ponte



Figure 8 : Piège Vavoua

Les stomoxes sont capturés grâce à des pièges Vavoua. Ces pièges, initialement conçus pour la lutte contre les glossines, s'avèrent très sélectifs et efficaces pour capturer les stomoxes. Les pièges sont récoltés toutes les 24 ou 48 heures, en fonction de la présence de conditions météorologiques favorables ou non à la capture (ensoleillement, vent, pluie, température).

Les stomoxes sont transférés dans des cages cubiques de 30 cm de côté dont l'armature est constituée de bois et les parois de tulle. Les cages sont situées dans une salle éclairée naturellement et dont la température et l'hygrométrie relative sont de 28-29°C et 50% respectivement. Les stomoxes sont nourris matin et soir avec une éponge imprégnée de sang de bovin citraté (1%), récupéré à l'abattoir deux fois par semaine. Un milieu de ponte est disposé sous la cage, couvert par une pièce de tissu noir et humide. Les œufs pondus à travers la tulle sont récupérés par lessivage avec une pipette une fois par jour au moins.

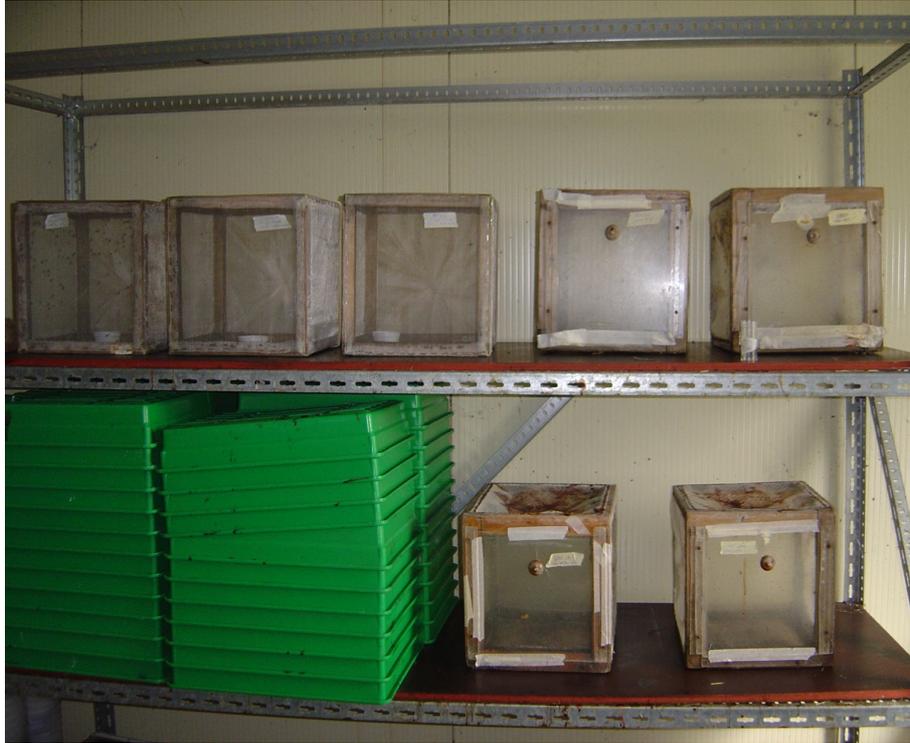


Figure 9 : cages d'élevage des stomoxes capturés (insectarium GDS)

3.1.2.2. Production des stomoxes adultes de 2^{ème} génération

Les œufs récupérés sont placés dans un bac contenant le milieu de développement.

Composition du milieu de culture :

- 1 kg de canne fourragère broyée
- 125 g de son de blé
- eau en quantité suffisante



Figures 10 : bacs de production des pupes (insectarium GDS)

La canne fourragère aère le milieu et assure la mobilité des larves. Le son de blé constitue la principale source nutritive des larves. Ce milieu doit être humidifié et nourri régulièrement pour assurer un développement normal des larves : 500 g de canne fourragère ainsi que 65 g de son de blé sont incorporés après 4 jours et l'humidité est vérifiée quotidiennement. Ces quantités sont adaptées à la quantité de larves présentes. Les bacs sont recouverts par un tissu pour éviter que d'autres mouches pondent et que des parasites ne s'introduisent.

Une fois que la majorité des larves sont empupées, les pupes sont séparées du milieu par flottaison puis récupérées grâce à un tamis et une grille. Elles sont ensuite triées par observation macroscopique puis grâce à une loupe binoculaire pour distinguer *S. niger* et *S. calcitrans*. Les premières pupes formées peuvent être prélevées avec précaution dans le milieu grâce à une pince et placées en incubateur (17,4°C) pour ralentir leur développement. On peut ainsi mieux synchroniser les émergences. Afin de maintenir une humidité adaptée et éviter la dessiccation ou le pourrissement des pupes, une éponge humide est disposée au fond des pots contenant un faible nombre de pupes et le couvercle est percé. La conservation des pupes n'excède cependant pas 10 jours en général.

Dès qu'une quantité suffisante de stomoxes d'une même espèce est produite, les pupes sont placées dans une cage d'élevage, dans les mêmes conditions que les stomoxes capturés. Les stomoxes sont nourris dès les premières émergences. Les émergences sont réparties sur 4 jours à l'issue desquels les récipients contenant les pupes sont retirés de la cage. Pour assurer la maturation de tous les stomoxes, ils sont élevés dans la cage pendant encore 2 jours.

Les stomoxes adultes, âgés de 2 à 6 jours, sont transférés de leur cage vers une cage roubeau, le matin du test. Le dernier repas de sang est donné la veille à 16 heures.

3.1.2.3. Isolats et souches de stomoxes testés

Le nombre d'élevages réunionnais à partir desquels des isolats de *Stomoxys calcitrans* ont pu être produits et faire l'objet d'un test de sensibilité est limité. Les contextes représentés à travers les trois élevages testés sont cependant très variés en ce qui concerne la fréquence des traitements, l'environnement et le type de production. L'éleveur laitier (H), dont l'exploitation est située à 900 mètres d'altitude, utilise le BUTOX® en priorité contre les tiques, environ trois fois par an, les traitements étant réalisés par le GDS depuis un an. La sensibilité de

Boophilus microplus à la deltaméthrine, évaluée l'année précédente dans cet élevage, était représentée par un facteur de résistance (FR) de 3,4. L'élevage laitier (P), situé à 180 mètres d'altitude, est entouré de champs de cannes à sucre. Les traitements sont réalisés par les techniciens du GDS depuis un an, et de façon relativement intensive. L'investissement par bovin est supérieur aux 8 autres élevages du suivi en ferme des populations de stomoxes réalisé par le GDS. L'élevage engraisseur (L), situé à 4 Km de l'élevage précédent, est également entouré de cannes. Les traitements y sont réalisés à un rythme hebdomadaire quand la pression d'infestation est très forte. L'influence des élevages avoisinants est dans chaque cas difficilement caractérisable.

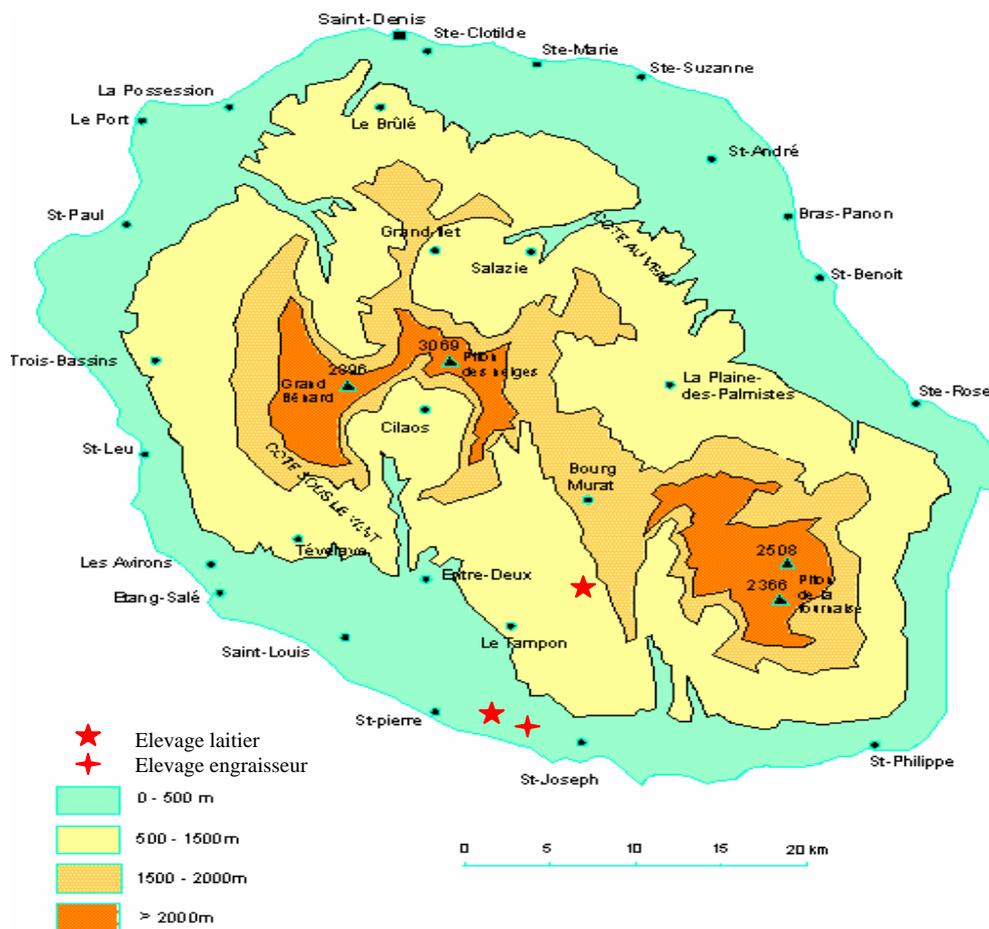


Figure 11 : Localisation des élevages échantillonnés

Un isolat de *Stomoxys calcitrans* mauriciens a été produit à partir de pupes récoltées sur le terrain dans un feedlots.

Des souches de *Stomoxys calcitrans* des insectariums du GDS de la Réunion et du centre de recherche l'île Maurice ont pu être testées grâce aux excédents de production de pupes destinées à la lutte biologique.

3.1.3. Méthode



Figure 12 : Organisation du plan de travail

L'application tarsale de la deltaméthrine est réalisée par mise en contact de deux stomoxes avec un disque de papier imprégné, disposé au fond d'une seringue de 50 mL. Trente stomoxes sont testés par dilution. Cinq seringues sont utilisées pour une dilution testée, donc chaque papier imprégné est utilisé pour 6 stomoxes. Les stomoxes sont capturés deux par deux dans la cage roubeau grâce à un tube à essai, puis transférés par jeux de lumière dans le corps de la seringue. Ils sont mis en contact avec le papier imprégné en poussant le piston de la seringue jusqu'à la graduation 3 ml. Les seringues sont posées verticalement afin de contrôler la précision de l'exposition. Les stomoxes sont maintenus ainsi pendant 5 minutes, puis transférés dans des pots à prélèvements stériles de 40 ml, lavés et maintenus ouverts une heure avant le test. Les stomoxes sont observés à 30 minutes, une heure et deux heures, les résultats étant relevés sur une feuille. Quinze pots sont utilisés pour une dilution. Un premier lot témoin est testé, les autres lots étant testés à des concentrations croissantes d'insecticide. Une demi-heure est nécessaire pour tester 30 stomoxes à une concentration donnée. La manipulation et l'observation des stomoxes ont lieu au cours de la même journée. Le matériel est lavé à l'eau chaude avec un détergent à la fin du test.

Les doses efficaces DE_{50} et DE_{90} sont calculées grâce au logiciel POLO-PC, l'efficacité étant définie par une immobilité, réversible ou non, de l'insecte, observée au cours des 2 heures suivant la mise en contact avec le support traité.



Figure 13 : Transferts et mise en contact des stomoxes avec les papiers imprégnés

3.2. Résultats

La descendance des stomoxes capturés dans les élevages réunionnais présente une sensibilité à l'effet paralytique assez homogène et proche de celle des stomoxes de l'insectarium du GDS. En calculant le facteur de résistance à partir des DE_{90} et en prenant pour référence l'isolat mauricien prélevé sur le terrain, les stomoxes réunionnais sont considérés chimiosensibles ($FR < 3$). En revanche, si on prend pour référence la DE_{90} des stomoxes de l'insectarium de Maurice, les stomoxes réunionnais sont chimiorésistants avec des FR pouvant être de 17,8.

| Souche | DE ₅₀ en mg/m ² | Intervalle de confiance $\alpha = 5\%$ | FR ₅₀ | | DE ₉₀ En mg/m ² | Intervalle de confiance $\alpha = 5\%$ | FR ₉₀ | |
|-------------------------------------|---|--|------------------|------------|---|--|------------------|------------|
| | | | Référence : | | | | Référence : | |
| | | | i.M. | I.M. | | | i.M. | I.M. |
| insectarium Maurice i.M. | 3,01 | 2,65 – 3,42 | 1 | | 4,48 | 3,87 – 5,70 | 1 | |
| Isolat Maurice I.M. | 12,22 | 10,31 – 14,50 | 4,1 | 1 | 26,32 | 21,18 – 36,10 | 5,9 | 1 |
| insectarium GDS | 18,01 | 15,81 – 20,37 | 6,0 | 1,5 | 36,46 | 31,17 – 45,34 | 8,1 | 1,4 |
| Isolat L | 19,39 | 16,46 – 22,81 | 6,4 | 1,6 | 43,51 | 35,61 – 57,16 | 9,7 | 1,7 |
| Isolat H | 23,06 | 19,76 – 26,89 | 7,6 | 1,9 | 40,86 | 33,81 – 55,65 | 9,1 | 1,6 |
| Isolat P | 32,14 | 26,52 – 38,70 | 10,7 | 2,6 | 80,00 | 63,35 – 110,00 | 17,8 | 3,0 |

Tableau 1 : Résultats des tests de résistance

La sensibilité des populations de stomoxes des 3 élevages réunionnais est très homogène. Il n'a pas été possible d'établir une relation entre l'intensité des traitements et le niveau de résistance au niveau d'un élevage.

Les fiches de relevé des résultats des tests sont présentées dans les annexes 1, 2, 3 et 4.

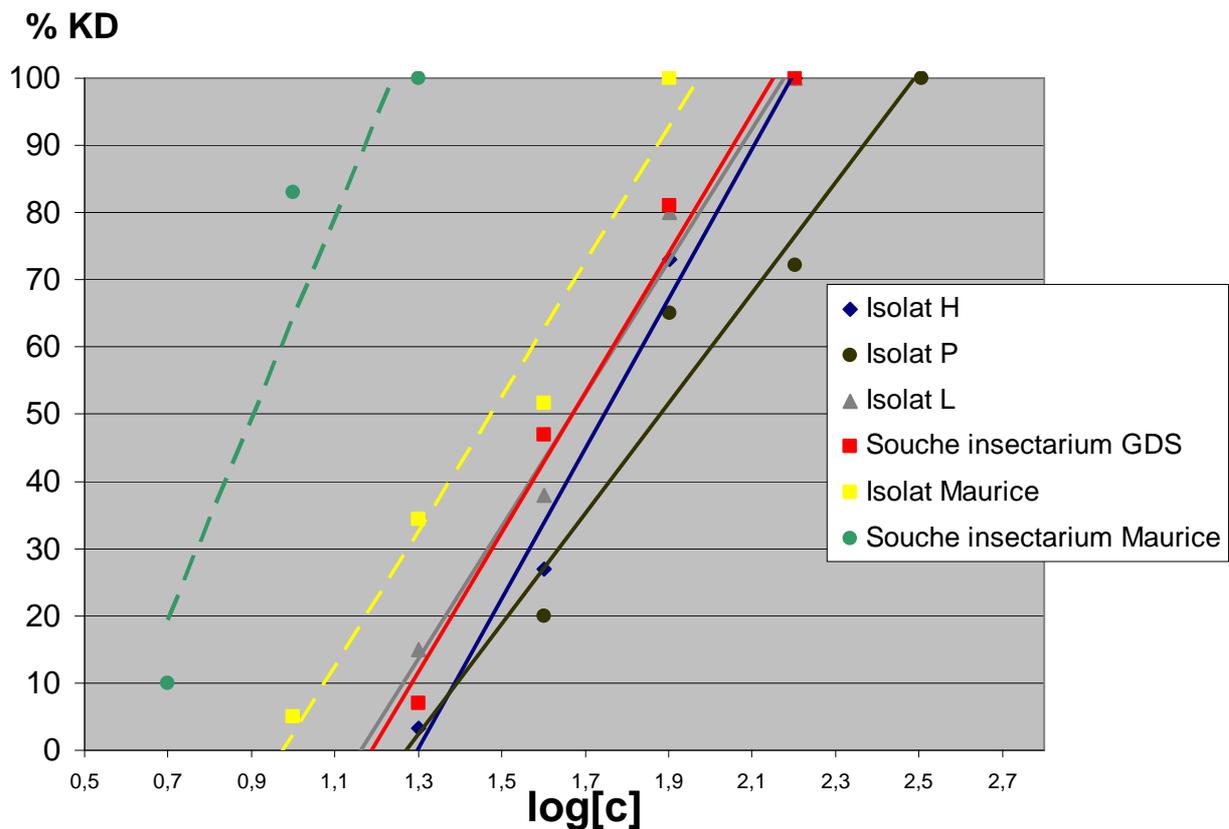


Figure 14 : Représentation du taux de paralysie en fonction du logarithme de la concentration pour les différentes populations testées

Un test a été réalisé sur les stomoxes de l'élevage H, directement après leur capture (H-G1). Leur sensibilité était équivalente à celle des stomoxes de deuxième génération (H-G2). L'essai a été reconduit avec des petits échantillons de stomoxes capturés dans deux des élevages ayant fait l'objet d'un test de résistance et n'a jamais mis en évidence de différence majeure de chimiosensibilité entre les stomoxes de première et de seconde génération.

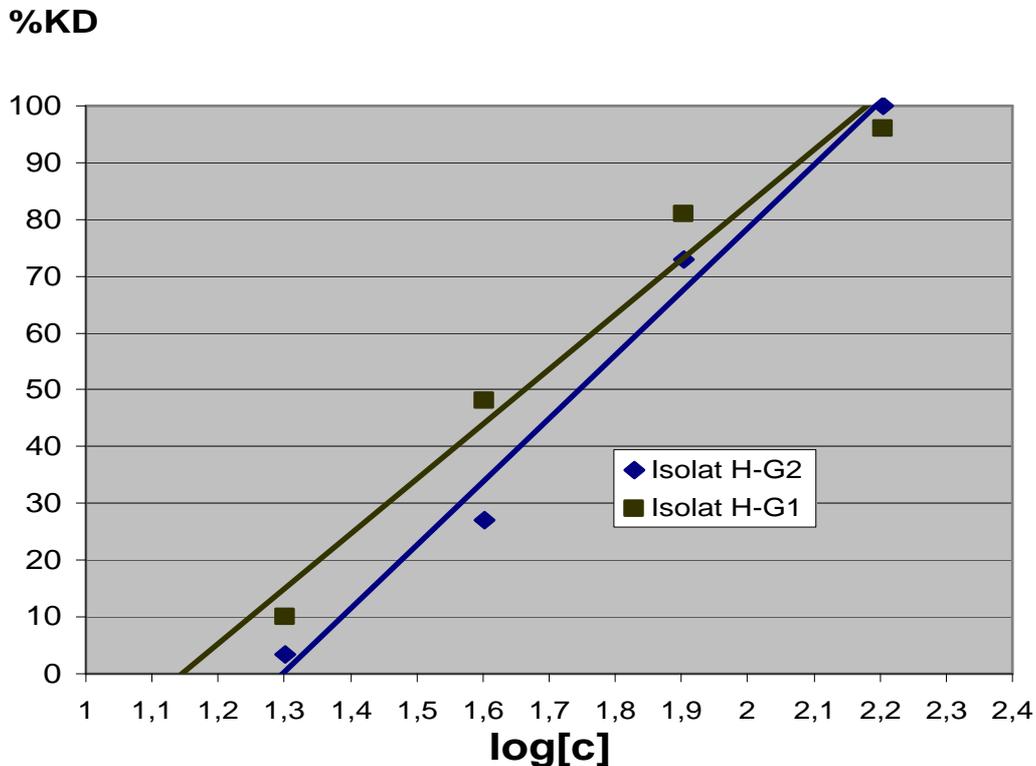


Figure 15 : Comparaison de la sensibilité des stomoxes de première et de seconde génération de l'isolat H

3.3. Discussion

3.3.1. Discussion : objectif

L'objectif initial de l'étude prévoyait la comparaison d'élevages dont les pratiques de traitements étaient soit intensives, soit épisodiques. Il s'est avéré difficile de caractériser l'exposition à la deltaméthrine des stomoxes sauvages capturés. Les pratiques de traitements des éleveurs sont de plus assez obscures. En outre, la probabilité d'échanges entre populations de stomoxes voisines est forte étant donné l'importante mobilité de cette espèce. Les stomoxes sont en effet capables de voler sur des distances d'au moins 3 Km pour rechercher leur repas de sang. D'autre part, une étude de la structuration génétique des différentes populations de l'île à l'aide de séquences microsatellites (Gilles, 2005) met en évidence un important brassage génétique. L'homogénéité de la sensibilité des différentes populations conforte l'hypothèse de ce brassage des populations. La sensibilité des stomoxes a donc été considérée à l'échelle de l'île.

La sensibilité des stomoxes lors des tests a été déterminée par rapport à l'efficacité

paralytique de la deltaméthrine. L'effet létal n'a pas pu être évalué par le protocole proposé, malgré l'intérêt de son étude pour juger de l'efficacité au sens large de la deltaméthrine. Une mortalité importante était en effet régulièrement observée sur les lots témoins 24 heures après le test.

Le choix de l'espèce considérée, *S. calcitrans* ou *S. niger*, a été déterminé en fonction de leur disponibilité relative sur le terrain, sachant que la récupération du matériel biologique était le principal facteur limitant. Les prélèvements étaient cependant axés en priorité dans les élevages où *S. calcitrans* était dominante, cette espèce étant produite au GDS.

3.3.2. Discussion : choix de la souche de référence

L'utilisation de tests non homologués ne permet pas de s'appuyer sur une valeur de référence pour établir les facteurs de résistance. Dans ce cas, la chimiosensibilité de la souche la plus sensible peut être utilisée comme référence. La souche de *S. calcitrans* produite à l'insectarium du GDS devait initialement remplir cette fonction car isolée depuis plusieurs années et a priori exposée à aucun insecticide. Cette souche est supposée théoriquement être l'une des plus sensibles de l'île. Sa sensibilité s'est avérée être très proche de celle des stomoxes sauvages, ne permettant pas ainsi de conclure sur l'existence de résistance dans les populations de terrain.

En effet, la souche de l'insectarium peut elle-même être résistante, ce pour plusieurs raisons. Des stomoxes prélevés sur le terrain sont régulièrement mélangés aux stomoxes de l'insectarium pour pallier l'effet de consanguinité mais peuvent par ce biais introduire des gènes de résistance. La dernière introduction a eu lieu en Janvier 2004, soit environ 23 générations plus tôt. Les stomoxes capturés représentaient un tiers de la population totale. Il est envisageable que comme pour d'autres espèces de diptères, les stomoxes résistants aient une prolificité et une capacité de survie inférieure à celle des stomoxes sensibles, la proportion des individus résistants pouvant ainsi diminuer au fil des générations. Le suivi de la DL_{50} pour une souche de *Musca domestica* multirésistante montre une disparition de la résistance à la perméthrine à partir de la 30^{ème} génération produite en insectarium (Kocisova, 2001). Il faut cependant considérer que les gènes de résistance s'installent parfois de façon définitive dans une population. D'autres facteurs pourraient expliquer dans une moindre mesure le développement de résistance à la deltaméthrine dans la souche de l'insectarium. Ces stomoxes ont en effet pu subir une pression de sélection liée à la perméthrine utilisée

contre les fourmis à proximité des cages, ou par le sang de bovins les alimentant, celui-ci pouvant contenir des traces de deltaméthrine.

Les stomoxes des élevages de cerfs dans le cirque de Mafate ne sont pas exposés aux insecticides. Leur important isolement géographique peut permettre de penser que ces stomoxes présentent une sensibilité supérieure à l'insecticide que les autres souches de l'île. Cependant, les brassages par les courants aériens et la mobilité propre des stomoxes ont fait douter de l'intérêt de mettre en œuvre une capture particulièrement difficile et incertaine. Les récents travaux de J. Gilles (2005) montrent une structuration génétique des stomoxes homogène sur toute l'île. Il est cependant impossible de dire si les allèles de résistance peuvent être introduits dans des populations aussi isolées que celles du cirque de Mafate.

Les résultats ne permettant pas de conclure, nous avons recherché une souche de référence plus objective. L'île Maurice, avec laquelle le GDS collabore dans la lutte contre les stomoxes, a interrompu depuis 1975 la lutte chimique, trop onéreuse, et l'a remplacée par une lutte biologique à large échelle. Les stomoxes de cette île représentent donc certainement une excellente référence en termes de sensibilité à la deltaméthrine du fait de leur isolement. Des tests de sensibilité ont pu être réalisés sur des stomoxes issus de pupes prélevées dans des feed-lots d'une part, et sur des stomoxes du laboratoire de production de parasitoïdes d'autre part (11^{ème} génération). Les stomoxes sauvages représentent une référence peut-être plus intéressante que celle des stomoxes de l'insectarium, les conditions d'élevage en insectarium étant relativement sélectives. Cependant, il n'a pas été possible de savoir si le DECIS®, spécialité phytosanitaire de la deltaméthrine, a pu être utilisée dans l'environnement de l'élevage dans lequel les pupes de *S. calcitrans* ont été prélevées. Il est également envisageable que la résistance observée pour ces stomoxes sauvages ait pour origine une résistance acquise lors de traitements au DDT ou aux pyréthrinoïdes réalisés avant la mise en place de la lutte biologique.

Les facteurs de résistance calculés pour les populations réunionnaises, compris entre 6 et 18, sont relativement modérés si on les compare aux valeurs habituellement observées pour des populations de diptères résistantes aux pyréthrinoïdes. Cette résistance doit cependant se traduire par une diminution nette de l'efficacité du BUTOX®. D'autres tests de résistance utilisant la même méthodologie vont être mis en œuvre par les chercheurs du centre de recherche entomologique de l'A.R.E.U. (Agricultural Research and Extension Unit) afin de préciser la sensibilité des stomoxes sur l'île Maurice.

3.3.3. Discussion : préparation du matériel biologique

Cette étape représentait le principal facteur limitant de l'étude en raison de la faible abondance de stomoxes au cours du stage. Malgré les nombreux conseils avisés et l'aide généreuse des techniciens du GDS, un travail considérable a été consacré pour identifier la méthode permettant de produire une quantité de stomoxes suffisante pour le test et pour la mettre en œuvre. La connaissance des élevages, des techniques de captures et de production des stomoxes sont autant d'atouts dont dispose le GDS pour entreprendre un tel projet. Deux mois de travail intensif ont néanmoins été nécessaires avant de disposer du matériel biologique permettant de mettre en œuvre le premier test de résistance.

L'utilisation pour les tests de mouches adultes capturées sur le terrain constitue un biais jugé trop important en raison de la variabilité de leurs statuts. De plus, une mortalité importante (30 à 100%) est observée dans les 24 heures après leur capture. Afin de mieux standardiser le statut des stomoxes, le test a été réalisé sur la deuxième génération des stomoxes capturés. L'âge n'a pu être homogénéisé que dans une fourchette de 4 jours correspondant au décalage des émergences. En testant des stomoxes âgés de 2 à 6 jours, ces derniers sont suffisamment développés et n'ont pas encore atteint leur maturité sexuelle. Les stomoxes reçoivent leur dernier repas de sang la veille du test afin d'homogénéiser leur niveau de gorgement. Les stomoxes gorgés sont en effet plus fragiles aux manipulations.

Le choix du stade à prélever s'est fait en fonction de sa disponibilité sur le terrain. Plusieurs méthodes ont été utilisées pour avoir le plus de chance de récolter le matériel biologique suffisant, soit environ 300 stomoxes adultes appartenant à la même espèce. Il n'a pas été possible de prélever directement les stades immatures (oeufs, larves ou pupes), notamment en raison du manque de spécificité des récoltes. Ces méthodes auraient cependant permis de produire des stomoxes plus représentatifs des populations sauvages en termes de sensibilité. La production d'œufs à partir de stomoxes adultes capturés en élevage a été choisie dans le contexte particulier du stage. Cette méthode n'a été utilisée qu'en dernier recours en raison de la lourdeur et la complexité de sa mise en œuvre. Elle est néanmoins très spécifique et opérationnelle. Les autres techniques employées dans un premier temps sont référencées en annexe 5.

La représentativité des stomoxes produits par rapport à la population du terrain est difficile à définir. En effet, si on envisage que les stomoxes chimiorésistants ont une capacité de survie et une prolificité limitées (« fitness négative »), il est possible qu'ils soient éliminés sous l'effet des conditions de laboratoire (espace restreint, température fixe, alimentation particulière) et que les pontes soient issues des femelles chimiosensibles. D'autre part, il est difficile d'évaluer le nombre de stomoxes à l'origine des pontes. La répétition des captures et l'utilisation des milieux de pontes récoltés dans les pièges ont permis dans une certaine mesure de compenser cet éventuel biais dans la représentation. Les essais visant à comparer la sensibilité des stomoxes de première et de seconde génération n'ont jamais montré de différence significative entre les deux. Ce résultat met par ailleurs en doute l'intérêt du travail de production de stomoxes standard pour évaluer la chimiosensibilité des stomoxes à la deltaméthrine dans les tests qui pourront être mis en œuvre à l'avenir.

Il pourra être intéressant de reconduire les tests pendant la saison de pullulation des stomoxes et en fin de saison afin de voir si la sélection de chimiorésistance peut se produire à l'échelle d'une année. La préparation du matériel biologique sera également beaucoup plus aisée.

3.3.4. Discussion : papiers imprégnés

- **Choix de la méthode**

Les dilutions ont été réalisées à partir de BUTOX® 50%, de trichloréthylène et d'huile d'olive en suivant le protocole Stone et Haydock FAO n°7. Cette méthode, initialement destinée aux tests de résistance sur tiques, permet de réaliser les dilutions à partir du BUTOX® et ainsi d'éviter les difficultés pour se procurer et acheminer la matière active pure. Les papiers imprégnés ont une conservation plus longue (15 jours) et le produit est mieux réparti que pour des papiers préparés avec de l'acétone. L'huile d'olive est utilisée pour préparer les dilutions de BUTOX®, l'huile de silicone étant plus appropriée pour les dilutions de pyréthriinoïdes, mais aussi plus difficile à se procurer. La seule modification apportée au protocole Stone et Haydock de préparation des papiers imprégnés porte sur le volume de mélange appliqué par unité de surface de papier.

- **Choix de la gamme de dilution**

La teneur en deltaméthrine par m² de surface cutanée d'un bovin de 500 kg traité avec la posologie recommandée est de 125 mg / 5,7 m², soit 2,2 µg / cm². Le volume de solution correspondant est de 4,1 µL, sachant que le volume nécessaire à l'imprégnation d'un cm² de papier est de 12,25 µL (60 µL / 4,9 cm²) et que la solution représente un tiers du mélange appliqué. La concentration de la dilution représentant la dose recommandée est donc de 2,2 / 4,1 soit 0,54 g / L. La gamme de dilution du protocole Stone et Haydock encadrant cette valeur, le procédé de préparation des dilutions a été strictement suivi. Les premiers essais ont conforté le choix de cette gamme de dilution.

3.3.5. Discussion : test de résistance

Le protocole d'application tarsale de la deltaméthrine au moyen de seringues a été proposé par le Pr. Duvallet d'après un test standardisé pour les moustiques par l'OMS. Les DE₅₀ et 90 d'une population sont ainsi calculées. Plusieurs tests homologués sont proposés par la FAO pour évaluer la sensibilité d'autres mouches hématophages, les mouches des cornes, *Haematobia irritans*, mais aucun ne semblait adapté aux stomoxes. La méthode utilisée permet de mettre en contact les stomoxes pendant 5 minutes avec un papier filtre imprégné d'insecticide et ainsi reproduire un temps de contact proche du temps nécessaire à la prise d'un repas de sang. Ce temps permet en outre de maîtriser la qualité du contact des stomoxes avec les papiers imprégnés et d'améliorer la faisabilité du test. La manipulation des stomoxes deux par deux permet de bien contrôler ce temps de contact et de suivre pour chaque stomoxe l'apparition des symptômes de paralysie. Cependant, la réalisation du test est très longue et ne permet pas son utilisation en routine. Il peut cependant être envisagé pour les essais futurs d'évaluer la sensibilité d'isolats pour une dose discriminante de deltaméthrine, ce qui permettra de réduire la taille de l'échantillon et de simplifier le test.

La proportionnalité du pourcentage de paralysie avec la dose appliquée prouve la précision de la méthode. Le contact est généralement de bonne qualité, mais il arrive que des stomoxes se posent sur les parois de la seringue ou sur le piston. Il faut donc contrôler la

qualité du contact tout au long des 5 minutes d'exposition et repositionner les stomoxes si nécessaire.

Il a été décidé de manipuler les stomoxes deux par deux pour que le test puisse se réaliser au cours d'une seule journée. Les essais n'ont pas montré une différence majeure entre les stomoxes manipulés deux par deux ou individuellement.

Les stomoxes des lots témoin meurent dans les mêmes délais que les stomoxes exposés à la deltaméthrine, c'est-à-dire dans les 18 heures en général. Les facteurs pouvant être mis en causes sont nombreux, notamment la taille des cages dans lesquels les stomoxes sont placés. Les stomoxes ont été transférés dans des cages de différents volumes et dans des salles à différentes températures. Le rôle éventuel des diluants (trichloréthylène et huile d'olive) et du papier Whatman a été infirmé en plaçant ces éléments dans une cage d'élevage. Les manipulations des stomoxes lors des tests ont été réalisées avec précaution afin de ne pas occasionner de mortalité. Il n'a cependant pas été possible de supprimer ni réduire cette mortalité de façon constante. L'observation s'est donc uniquement portée sur l'effet paralytique de la deltaméthrine.

La lecture précise des effets nerveux impose un transfert dans des cages transparentes. Les cages initialement prévues (30*30cm), utilisées précédemment pour l'élevage, ne permettent pas d'identifier précisément le nombre de stomoxes paralysés, ni d'observer les symptômes et notamment leur délai d'apparition. De plus, quelques stomoxes peuvent s'échapper pendant les transferts. Le taux de survie après 24 heures est meilleur qu'avec les autres méthodes, mais le taux de mortalité dans les lots témoin reste important. Le problème est le même lorsqu'on utilise des cages Roubaud pour recevoir les stomoxes après le test. L'observation est plus aisée, mais il est difficile d'identifier tous les stomoxes paralysés, certains d'entre eux restant agrippés au tissu. Le taux de mortalité est par ailleurs plus important que dans les grandes cages.

Les stomoxes ont par la suite été transférés deux par deux vers des pots à prélèvements de 40 ml après exposition à l'insecticide. Le couvercle a d'abord été modifié pour assurer le passage de l'air mais nous avons cessé d'utiliser ce dispositif car la lecture des effets s'est limitée à deux heures. Grâce à ce dispositif et à une feuille de relevés, il est possible de faire des observations individuelles des stomoxes à des temps précis après leur exposition (30 min -

1 heure – 2 heures), tout en continuant à tester des stomoxes pour d'autres concentrations. Le nombre d'observations a été limité à trois temps pour dix stomoxes testés afin de ne pas trop alourdir le test. La plupart des stomoxes sensibles présentent des symptômes non équivoques dès la première demi-heure, sauf pour les faibles dilutions. Pour affiner le test, le temps d'apparition de l'effet KD est relevé pour chacun des stomoxes et la moyenne de ces valeurs calculée pour chaque concentration d'insecticide.

Critères d'observation :

Après une courte phase de latence, les stomoxes présentent une incoordination motrice d'intensité variable, suivie plus ou moins rapidement selon la dose d'une phase de décubitus dorsal avec ou sans mouvements des pattes. Une stimulation des stomoxes entraîne souvent un retour d'activité des stomoxes et parfois un rétablissement en position normale pendant quelques minutes. Les stomoxes récupèrent peu à peu leurs fonctions motrices, ou pas. Dans la majorité des cas, la phase de paralysie apparaît entre 5 et 30 minutes après la mise en contact avec l'insecticide et elle dure de 2 à 4 heures.

Le seul critère objectif de paralysie que nous avons identifié correspond à la phase où le stomoxe ne peut plus se maintenir en position ventrale pendant un certain temps. Les stomoxes présentant ce symptôme sont qualifiés « sensibles ». L'incoordination motrice présente des degrés très variables parfois difficiles à distinguer de la motilité normale. Cette manifestation a été relevée dans la mesure du possible, mais pas prise en compte dans l'interprétation des résultats.

Ces observations nous ont incité à nous limiter à la lecture de l'effet KD sur deux heures. Ce temps est suffisant pour observer des symptômes sur tous les stomoxes dits sensibles. Il peut en revanche s'allonger chez les individus résistants.

3.4. Difficultés rencontrées

3.4.1. Piégeage des stomoxes

Le principal facteur limitant de l'étude a été la faible abondance des stomoxes au moment du stage. Deux mois de captures et d'élevage d'adultes et d'immatrices de stomoxes ont été

nécessaires avant de pouvoir réaliser le premier test. Des facteurs climatiques, biologiques et humains ont davantage compliqué les piégeages. De nombreux pièges ont été renversés par le vent, les tracteurs et les vaches. Ils étaient également régulièrement inactivés par des trous laissant s'échapper les stomoxes, des araignées ou d'autres prédateurs. Les stomoxes pouvaient également se noyer dans l'eau s'accumulant dans les récipients, malgré les trous ménagés au fond. Les captures ont pour toutes ces raisons représenté une part importante du travail.

3.4.2. Elevage des stomoxes capturés et production des stomoxes de deuxième génération

Les fourmis présentes dans l'insectarium ont consommé un grand nombre des stomoxes capturés et de leur descendance. L'insecticide utilisé jusque là contenait de la cyperméthrine et n'a donc pas été utilisé à proximité des cages à stomoxes. Des systèmes de pilotis ont donc été mis en place pour empêcher l'introduction des fourmis dans les cages.

Une importante perte était constatée au retour des WE par dessèchement des milieux de pontes. Les stomoxes capturés présentaient également une importante mortalité, variable d'un lot à l'autre, certains pouvant également s'échapper des cages.

Pour compenser la mortalité importante survenant après 24-48 heures parmi les stomoxes capturés, les pièges sont laissés en place dans les élevages. Les captures peuvent ainsi être répétées tous les 2 jours, et quand les conditions météorologiques semblent favorables.

Les pontes sont décalées dans le temps, ce qui complique l'étape de maturation des larves et la synchronisation des émergences. Le transfert en incubateur des premières pupes produites permet de ralentir le développement de celles-ci et ainsi mieux synchroniser les émergences. Cependant le travail de tri des premières pupes produites est trop long dans les bacs utilisés au GDS. Se pose également le problème de la dégradation du milieu pour les dernières larves formées, leur développement s'en trouvant altéré. La solution a consisté à cloisonner les bacs et déposer dans un compartiment les œufs produits sur un ou deux jours. Le travail de préparation et d'entretien du milieu de développement a été largement optimisé

par cette adaptation. Un système de pilotis a également été adapté pour protéger, les œufs, larves et pupes dans le milieu de culture, de l'introduction de fourmis (Figure 10).

Une perte variable était notée au stade de pupes. Des parasites naturels des stomoxes, nématodes et champignons, ont été observés lors de l'étape de tri à la loupe binoculaire. L'utilisation des milieux de développement placés dans les pièges a dû permettre l'introduction de ces parasites dans les milieux de culture. Les pertes avaient surtout lieu quand les pupes étaient peu nombreuses, celles-ci se desséchant alors rapidement. Des éponges légèrement imbibées d'eau étaient alors disposées au fond des pots dont le couvercle était percé de fins trous.

Une perte parfois importante était également observée sur les stomoxes émergents après quelques jours, ces derniers s'adaptant mal aux conditions de l'insectarium.

Toutes les étapes de production ont entraîné une perte bien supérieure aux 20% tolérés pour la production de l'insectarium du GDS. Cependant, l'adaptation de stomoxes sauvages aux conditions de laboratoire, entreprise par le GDS pour renouveler la souche de l'insectarium, est toujours délicate même en saison d'abondance des stomoxes.

L'étude de résistance en laboratoire ne permet pas de savoir si le BUTOX® utilisé à la concentration recommandée est toujours efficace sur le terrain contre les stomoxes. L'efficacité de deux traitements réalisés dans des élevages bovins a été suivi au cours du temps.

Partie 4 : Etude de la rémanence
du BUTOX® 50‰ sur les bovins pour
Stomoxys calcitrans

4.1. Matériel et méthode

La première exploitation (H) choisie est un élevage laitier de 30 Prim-Holstein situé à 900m d'altitude, à proximité du GDS. La seconde (T) correspond à un engraisseur dont les bœufs sont à l'abri de la pluie et du rayonnement solaire. Ces deux essais visent à évaluer la persistance de l'efficacité paralytique d'un traitement au BUTOX® 50‰ pour des bovins soit exposés à la pluie et au soleil, soit placés dans des conditions favorables à la rémanence de l'insecticide. La rémanence annoncée par le fabricant est de 8 à 10 semaines. Il était donc nécessaire de préciser cette valeur pour les stomoxes à la Réunion afin de pouvoir mieux utiliser cet insecticide.

4.1.1. Matériel

Dans l'élevage H, deux vaches en lactation sont choisies pour réaliser les tests: 4445 et 9595. D'autres individus sont testés au hasard en fin d'expérimentation pour confirmer l'absence d'effet du traitement. Un taureau limousin à l'écart du troupeau et non traité est utilisé comme témoin négatif.

Pour l'élevage T, un seul jeune bovin à l'engraissement a été testé.



Figure 16 : Animaux utilisés pour les tests

Les stomoxes utilisés sont des *S. calcitrans* de l'insectarium du GDS pour standardiser leur statut (âge, alimentation). Ils sont âgés de 48 à 72 heures au moment du test, âge auquel tous les stomoxes sont suffisamment développés et ont un comportement piqueur. Ils sont nourris par des éponges imbibées d'eau sucrée concentrée à 10%, changées quotidiennement et retirées la veille du test. Les stomoxes sont placés par groupe de 10 à 50, selon la quantité disponible, dans des cages Roubaud dont le tissu est changé à chaque test.

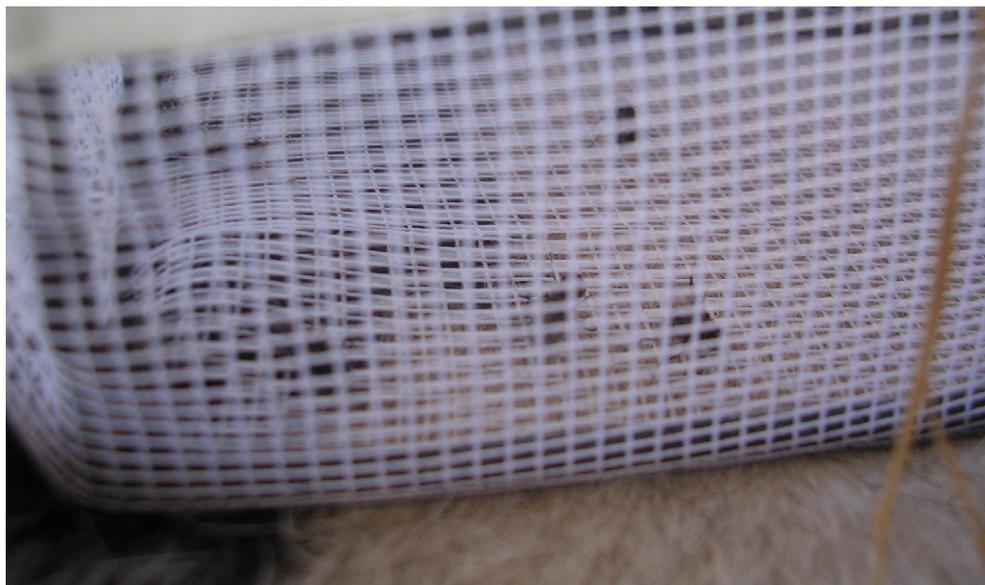


Figure 17 : Cage Roubaud apposée sur une vache

Il aurait été intéressant de connaître la rémanence du BUTOX® 50% pour les stomoxes d'une exploitation, mais cela n'aurait pas permis d'extrapoler le résultat à d'autres élevages.

De plus, la faible abondance des stomoxes sauvages n'a pas permis d'utiliser les populations locales, excepté de façon ponctuelle lors de l'essai dans l'exploitation T. La sensibilité des stomoxes standard est théoriquement comparable à celle des stomoxes de l'exploitation H, évaluée en laboratoire.

4.1.2. Méthode

- Expérimentation 1 : élevage laitier (H)

Le traitement est réalisé à J0 (20/06/05) grâce à une pompe à moteur sur l'ensemble du troupeau à l'exception d'un taureau limousin situé à l'écart du lot de vaches. Le fait de traiter l'ensemble des animaux doit permettre de limiter les pertes de produits par frottement ou léchage et mieux représenter les conditions réelles d'un traitement.

Les tests sont réalisés entre 9 et 10 heures, à l'ombre dans la stabulation, les vaches étant bloquées aux cornadis. Deux cages Roubaud sont posées sur chacune des vaches testées. Une est placée sur la patte avant au niveau du radius et en position latérale, l'autre sur le dos, entre le rachis et l'aile de l'ilium. Elles sont maintenues en place pendant une heure grâce à des bandes velcro. Une seule cage est posée sur le dos du taureau témoin.

Le nombre de stomoxes paralysés est relevé tous les quarts d'heure. Le taux de gorgement est évalué à l'issue de l'heure d'exposition par écrasement des stomoxes pour juger de l'effet anti-appétant du traitement (annexe 7). L'effet létal n'a pas pu être évalué en raison de l'importante mortalité (20 à 70%) observée après 24 heures lors des essais avant traitement. Ceci peut s'expliquer par des facteurs comme le transport ou les changements de température imposés lors du test. Les cages sont observées tout au long de l'exposition afin d'évaluer le comportement des stomoxes.

Les paramètres météorologiques sont relevés par l'éleveur afin d'évaluer l'exposition des vaches à la pluie et au soleil, facteurs déterminants de la rémanence du BUTOX® 50%. Ces paramètres ont été quantifiés sur une échelle de 0 à 4 pour faciliter leur interprétation. L'influence de ces facteurs n'étant pas équivalente d'un animal à l'autre, 2 animaux ont été soumis au test.

Le test a été réalisé tous les jours jusqu'à absence d'activité de l'insecticide sur les deux animaux. D'autres animaux ont été testés quand les cages apposées sur les deux animaux choisis ne présentaient plus de paralysie.



Figure 18: Emplacement des cages sur l'animal testé

o Expérimentation 2 : élevage engraisseur (T)

Le protocole a été modifié à cause de l'irrégularité des résultats de la première expérimentation. L'objectif est d'améliorer l'interprétation des résultats et de reconsidérer les paramètres évalués.

Le traitement est réalisé à J0 (13/07/05) sur 4 bœufs à l'attache avec un pulvérisateur à dos.

Les tests sont réalisés entre 13 et 15 heures, un jour sur deux, à l'ombre du bâtiment. Quatre cages sont apposées sur le dos du boeuf 5183, en une ou deux fois, et laissées en place pendant seulement un quart d'heure. Les stomoxes capturés dans l'exploitation sont transférés dans des cages Roubaud et placés soit en même temps, soit au même endroit que les cages contenant les stomoxes standard de l'insectarium.

Le taux de paralysie est relevé tous les quarts d'heure pendant une heure (annexe 8). Le taux de paralysie interprété dans les résultats correspond à la moyenne du taux relevé dans les quatre cages après une heure d'observation. La rémanence de l'insecticide au niveau des pattes n'a pas pu être évaluée. La qualité du contact des stomoxes avec le pelage du bœuf est évaluée par le nombre moyen de stomoxes posés sur la face inférieure de la cage.

Le taux de gorgement n'est plus évalué car pas interprétable dans la première expérimentation. Les cages témoins sont simplement déposées à proximité du bœuf testé, en prenant soin d'éviter la contamination par des supports contaminés avec du BUTOX®. Les stomoxes ne sont donc plus sacrifiés à l'issue du test, ce qui permet d'estimer la mortalité 24 heures après le test.

Le suivi des paramètres météorologiques n'a pas été réalisé dans cet essai. La température au moment du test est relevée car ce paramètre influence l'activité de la deltaméthrine et le comportement des stomoxes.

L'expérience est menée tous les deux jours jusqu'à ce que le taux de paralysie soit inférieur à 50% pendant 5 essais consécutifs.

4.2. Résultats

La rémanence du BUTOX® 50% est définie sur la base d'un effet paralytique pour au moins 50% des stomoxes, une heure après exposition .

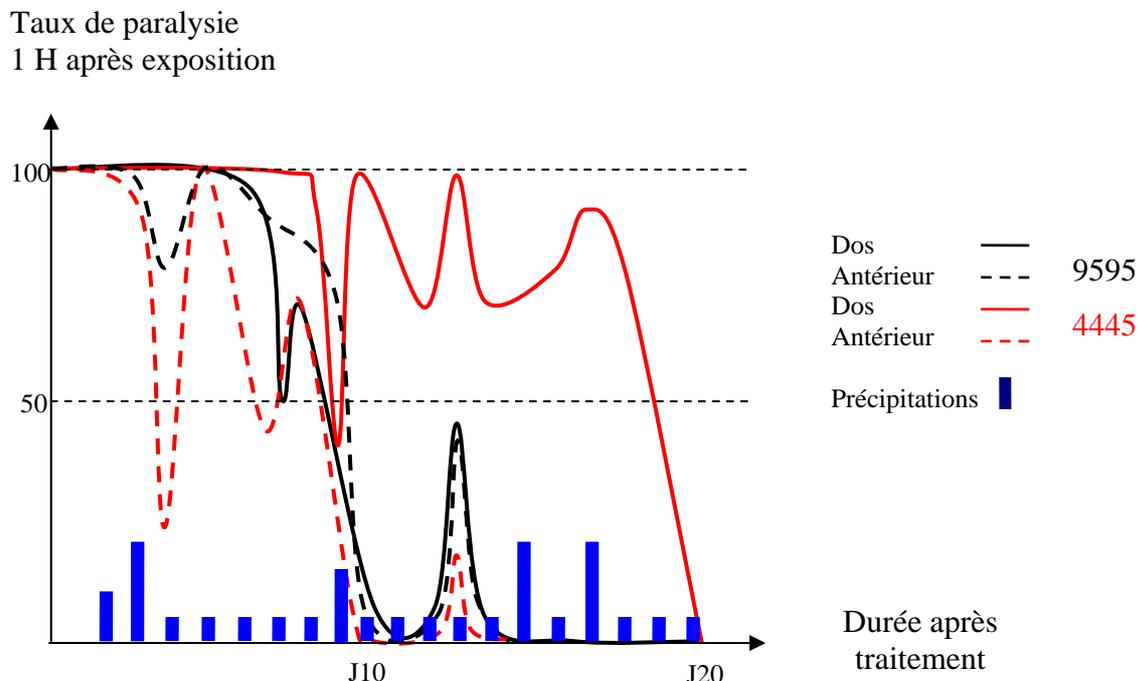


Figure 19 : Rémanence du BUTOX® 50% dans l'élevage laitier

La rémanence dans l'élevage laitier est d'au moins 9 jours pour une vache et 17 jours pour l'autre. L'estimation des paramètres météorologiques reste approximative, les animaux ayant souvent libre accès au parcours et n'étant pas observés en permanence par l'éleveur. Il est de plus difficile de savoir quelle intensité de pluie peut être à l'origine d'un lessivage du BUTOX® 50%.

La rémanence au niveau des pattes apparaît plus courte qu'au niveau du dos pour la vache 4445.

Les résultats sont très variables d'un animal à l'autre et également d'une zone testée à l'autre. Cette observation montre que la répartition de l'insecticide est très hétérogène, même dans le cas d'une application très soignée du BUTOX® 50%.

Cependant, les résultats sont assez imprécis et varient beaucoup d'un jour à l'autre. Des cages posées successivement au même endroit sur le même animal présentent parfois des différences importantes du taux de paralysie. Ce taux dépend non seulement de la zone d'apposition des cages, mais aussi d'autres paramètres, plus ou moins identifiables. Il a donc été jugé nécessaire dans la seconde expérience d'utiliser plusieurs cages pour définir l'efficacité du traitement pour une zone du corps d'un animal de façon plus représentative. Le temps de contact, dont nous avons pu constater la variation d'un test à l'autre, influence certainement beaucoup les résultats. Nous avons donc essayé d'estimer ce temps pour pouvoir mieux interpréter les éventuelles variations de résultats dans la seconde expérience.

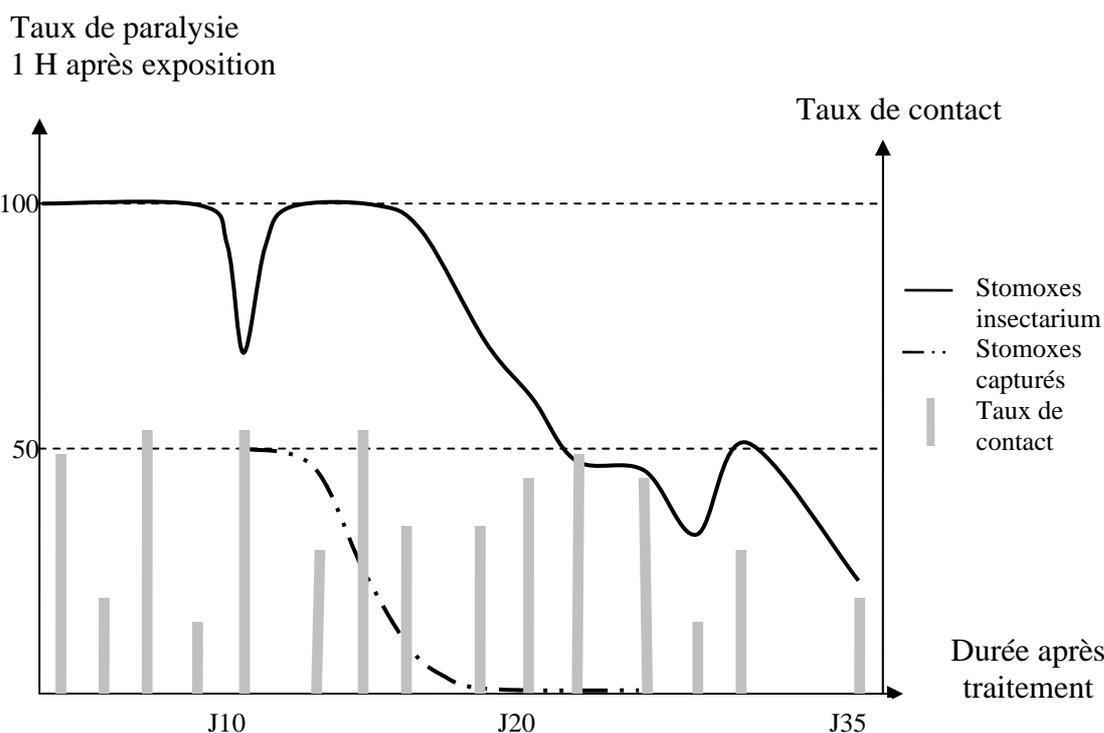


Figure 20 : Rémanence du BUTOX® 50% dans l'élevage engraisseur

Pour un bovin à l'abri de la pluie et du rayonnement solaire, la rémanence est d'au moins 21 jours. La persistance d'un effet résiduel est beaucoup plus longue puisque 35 jours après traitement, 23% des stomoxes exposés sont paralysés.

Il a été possible, lorsque les captures étaient suffisantes, de comparer la sensibilité des stomoxes de l'insectarium à celle des stomoxes de l'élevage engraisseur. La différence est nette entre les deux souches, les cages contenant les stomoxes étant posées sur le même animal en même temps. La rémanence évaluée pour la souche locale est d'au moins 9 jours et plus aucun effet n'est noté après 19 jours.

Les résultats sont visiblement plus réguliers, certainement grâce aux adaptations du test. Il est cependant difficile de dire si la rémanence est sur ou sous estimée par rapport au protocole utilisé en élevage laitier.

4.3. Discussion

Le choix des conditions d'exposition a été fait de façon à représenter au mieux le contact naturel des stomoxes avec les bovins :

- Les stomoxes sont à jeun depuis la veille au soir, ce qui favorise leur comportement alimentaire.
- Le dispositif permet aux stomoxes d'aller librement au contact du pelage et de se poser sur les parois de la cage non exposées, une fois gorgés.
- La maille des cages est suffisamment large pour assurer un bon contact avec le pelage des bovins et la prise d'un repas sanguin.
- Le temps d'apposition des cages doit permettre la prise d'un repas sanguin, qui habituellement dure de 2 à 5 minutes s'il n'est pas interrompu.

4.3.1. Facteurs induisant des biais :

➤ Le statut des stomoxes

Le substrat alimentaire conditionne notamment la taille des stomoxes, celle-ci étant liée à la sensibilité aux insecticides. Une alimentation sucrée interfère directement sur la recherche de sang, celle-ci étant nécessitée pour le développement des organes reproducteurs (Jones, 1992). Les stomoxes sont nourris avec de l'eau sucrée à 10% pour éviter l'éventuelle transmission d'agents pathogènes pouvant se trouver dans le sang récupéré à l'abattoir, et ainsi répondre à la demande des éleveurs participant à l'étude. Les stomoxes nourris au sucre semblent plus petits que ceux nourris au sang, mais les tests en laboratoire et sur le terrain ne montrent pas de différences majeures de sensibilité.

Il était difficile de parfaitement standardiser la production de stomoxes d'un test à l'autre, pour de nombreuses raisons. Certains lots de stomoxes de l'insectarium étaient visiblement plus chimiosensibles que d'autres.

➤ La nature du contact

Le contact des stomoxes avec le pelage des bovins n'est pas totalement équivalent au contact naturel. Il est strictement tarsal dans la cage alors que dans les conditions naturelles, les stomoxes s'enfouissent parfois entre les poils.

➤ Le temps de contact

Ce paramètre est essentiel car il conditionne la dose d'insecticide reçue par l'insecte.

Il est difficile de dire si le protocole utilisé entraîne une exposition supérieure ou inférieure à celle lors d'un contact normal des stomoxes avec leur hôte. La durée nécessaire à la prise d'un repas sanguin complet est généralement plus courte dans une cage car les stomoxes ne sont pas perturbés par les mouvements de défense de l'hôte et s'alimentent en

une fois. Cette durée est ainsi estimée dans ces conditions à environ 4 minutes (Harris et al, 1974), alors qu'à l'extérieur, elle peut être supérieure à 30 minutes pour des températures élevées (Lysyk, 1995). Cependant, les différents tests réalisés sur des animaux, traités ou non, montrent qu'un grand nombre de stomoxes ont besoin de plus de temps pour se gorger, bien qu'une majorité s'alimente dans les 10 premières minutes après apposition des cages. L'origine de ce comportement est difficile à établir. On peut l'expliquer par une mauvaise position des cages rendant la prise du repas sanguin plus longue. Nous avons également remarqué que des stomoxes peuvent rester en contact avec le pelage sans toujours chercher à s'alimenter, à la fois dans les cages et à l'extérieur. Dans certains cas, les stomoxes restaient groupés sur les faces non exposées de la cage pendant toute la durée du test. La cause pouvait être une absence de comportement alimentaire liée à une inhibition par le froid ou à une mise à jeun trop tardive par rapport au test.

Le contact imposé par les conditions d'expérimentation n'est donc pas toujours représentatif du contact normal. Cependant, il est également variable dans les conditions naturelles. Afin de pouvoir comparer les résultats d'un jour à l'autre, nous nous sommes attachés à standardiser les conditions du test et à le réaliser dans des conditions favorables à l'activité des stomoxes.

Le pic naturel d'activité alimentaire des stomoxes s'observe généralement le matin, entre 9 et 10 heures. Cela a motivé le choix de ce moment pour réaliser les tests au cours de la première expérimentation. Ce moment correspondait aussi à celui où les vaches étaient bloquées au cornadis dans l'élevage laitier. Les températures à ces heures sont cependant trop basses et ont pu limiter l'activité des stomoxes, d'autant que ceux utilisés viennent de l'insectarium où la température est de 28-29°C. Lors des tests dans l'élevage engraisseur, la réalisation du test ne dépendait pas de la disponibilité de l'éleveur. Le test a ainsi pu se faire en début d'après-midi, la température de l'air étant souvent plus favorable.

Les facteurs intervenant dans le comportement des stomoxes sont néanmoins trop nombreux, pas toujours connus et surtout pas maîtrisables sur le terrain (température, humidité, vent...). Aussi, le contact est souvent très variable entre deux tests, mais moins entre deux cages posées au même moment sur le même animal. Nous avons donc évalué indirectement le temps de contact moyen en observant en permanence le nombre de stomoxes posés sur la face inférieure de la cage. Il était nécessaire pour cela de limiter le temps

d'apposition à 15 minutes et de regrouper les cages sur un animal. Le contact résiduel avec le tissu contaminé pendant l'heure d'observation n'a pu être solutionné car il était impossible d'utiliser d'autres cages pour l'observation (transfert compliqué, risque de contamination irréversible).

La température au moment des tests a également été relevée pour établir une éventuelle corrélation avec l'activité de la deltaméthrine ou le temps de contact moyen. Cette interprétation semble a posteriori trop ambitieuse au vu des résultats et de la difficulté à standardiser le test.

Un comportement type a cependant pu être observé plusieurs fois : 95% des stomoxes cherchent à se nourrir pendant les 3 à 5 premières minutes, puis ont un contact intermittent (10-20% de stomoxes observés en permanence) pendant les 10 minutes suivantes. Il est cependant impossible de savoir si tous les stomoxes vont alternativement au contact du bovin, ou si ce sont toujours les mêmes qui, du fait d'une incoordination motrice ou d'une spécificité comportementale, restent exposés à l'insecticide.

➤ L'emplacement des cages

Bien que le traitement ait été réalisé de façon rigoureuse, il est certain que le produit n'est pas réparti de façon uniforme sur l'animal.

La question s'est posée de l'influence de la couleur du pelage sur le comportement des stomoxes car des différences étaient observées entre le taux de paralysie dans les cages posés sur des zones de couleurs différentes. Ces variations ont ensuite été attribuées à une répartition inégale de l'insecticide, même si les deux zones étaient proches l'une de l'autre. Il était difficile d'évaluer l'efficacité du BUTOX® 50‰ au niveau des pattes, zone de prédilection des stomoxes (la position verticale des cages diminue le temps de contact, l'animal n'est pas toujours coopératif).

4.3.2. Evaluation générale de l'efficacité du BUTOX® 50%

- **L'effet répulsif** est limité aux premiers jours après traitement d'après les éleveurs. Les animaux sont plus calmes bien que des stomoxes soient encore présents sur leur corps. Les tests réalisés n'ont pas permis de savoir si le BUTOX® 50% présentait cet effet car les paramètres n'étaient pas suffisamment standardisés pour permettre l'évaluation du comportement des stomoxes. Le temps moyen de contact évalué n'est cependant pas corrélé à la durée après traitement. **L'effet anti-gorgement** ou anti-appétant n'a également pas pu être considéré car le taux de gorgement des stomoxes sur les animaux témoins n'était jamais de 100%, et pouvait être nul. Sur les animaux traités, des stomoxes ont été observés gorgés au plus tôt à partir du septième jour, quand l'efficacité paralytique commençait à baisser. L'effet anti-appétant ne semble donc apparaître qu'à partir d'une certaine dose, supérieure à celle entraînant une paralysie de l'insecte, contrairement au modèle moyen proposé par ROUSSEL-UCLAF (Figure 1).

Par ailleurs, des stomoxes sauvages ont été observés en cours de gorgement ou simplement posés sur les bovins, dès le lendemain des traitements. Il n'était pas possible de percevoir une diminution du nombre de stomoxes posés sur les bovins en raison du faible niveau d'infestation pendant le stage. D'autre part, la conservation d'une certaine efficacité paralytique ne permet pas de préjuger de celle de l'effet répulsif. Ce dernier est peut-être moins sujet au développement de résistances car il induit a priori moins de sélection des individus résistants que l'effet létal.

- **L'effet KD** n'est que rarement observé par les éleveurs, la paralysie ne se produisant qu'un certain délai après exposition à l'insecticide (de 5 à 30 minutes en moyenne, selon la dose de deltaméthrine). Certains éleveurs ont pu constater que les stomoxes se rétablissaient après cette phase de paralysie. Le temps de paralysie lors des tests en laboratoire était estimé entre 2 et 5 heures le plus souvent, mais il peut être plus court, les stomoxes étant alors soumis à la prédation de façon moins certaine. On peut légitimement s'interroger sur la proportion des stomoxes paralysés qui vont mourir, notamment dans des zones d'altitude où la densité de fourmis au sol est faible.

- **L'effet léthal** du BUTOX® 50‰ n'a malheureusement pas pu être étudié car une mortalité importante était à chaque fois notée sur les lots témoins dans les 18-24 heures après le test.

Il existe une corrélation entre le taux de paralysie et le taux de mortalité, mais il n'a pas été possible de dire lequel de ces deux effets survenait à la dose la plus forte. Il semblerait que l'effet léthal apparaisse pour de très fortes concentrations, les stomoxes ne se rétablissant pas de leur paralysie.

Conclusion

Le BUTOX® 50‰ est utilisé depuis 11 ans de façon quasi-exclusive contre les stomoxes sur l'île de la Réunion. Le mécontentement des éleveurs et le contexte favorable à l'apparition de résistance ont motivé l'étude réalisée.

Un test biologique d'évaluation de la résistance a été élaboré sur la base de l'effet paralytique de cet insecticide.

Les résultats montrent une homogénéité importante de la chimiosensibilité des isolats échantillonnés dans des élevages aux pratiques de traitements variés. La faible variabilité de la sensibilité a été analysée comme le résultat du brassage important des populations de stomoxes. Afin de pouvoir conclure sur l'existence de résistance, nous avons évalué la sensibilité des stomoxes à Maurice, ceux-ci représentant une référence objective de sensibilité, les traitements insecticides contre les stomoxes étant interrompus depuis plus de 20 ans sur cette île. En rapportant la sensibilité des souches réunionnaises à celle d'une souche mauricienne prélevée dans un élevage bovin, les facteurs de résistance ne dépassent pas 3, valeur maximale pour considérer une souche chimiosensible. Cependant, une souche de *S.calcitrans* produite en insectarium à l'île Maurice présente une sensibilité nettement supérieure, et amènerait à calculer des facteurs de résistance allant jusqu'à 17,8 pour les souches réunionnaises. D'autres tests à Maurice devraient bientôt permettre de statuer sur la présence de résistance à la Réunion. Le test sera également reconduit à la Réunion pour multiplier les échantillons et évaluer le niveau de sensibilité pendant la saison où les stomoxes sont le plus soumis aux traitements.

Une étude de la rémanence a été menée dans un deuxième temps pour préciser l'efficacité d'un traitement au BUTOX® 50‰ sur des bovins au cours du temps. Les tests étaient basés sur l'analyse de l'effet paralytique pour une souche standard produite à l'insectarium du GDS.

Il apparaît que 50% des stomoxes sont paralysés pendant au moins 21 jours et encore 21% le sont après 35 jours pour les cages posées sur le dos d'un bœuf à l'engraissement, situé à l'abri de la pluie et du rayonnement solaire. Pour les stomoxes capturés sur l'exploitation, l'efficacité paralytique sur le même animal est de 25% 14 jours après le traitement, ce qui permet de traduire la diminution de sensibilité observée en laboratoire par une diminution nette de la rémanence du BUTOX® 50‰.

Dans l'autre expérimentation, les animaux sont exposés à la pluie et au soleil, facteurs limitant la rémanence du BUTOX® 50%. La rémanence est variable en fonction de l'individu et de la zone du corps testée. Sur le critère de 50% des stomoxes paralysés, la rémanence évaluée sur le dos des animaux va de 9 à 17 jours. Au niveau des pattes, la rémanence ne dépasse pas 9 jours.

L'efficacité du BUTOX® 50% n'a été évaluée que partiellement puisque les différents protocoles analysaient l'effet paralytique essentiellement. Cet effet est cependant le principal mode d'action de la deltaméthrine. La question est de savoir quelle proportion des stomoxes paralysés vont être éliminés par leurs prédateurs pendant le temps de paralysie.

Le travail réalisé au cours du stage a permis de mettre au point plusieurs protocoles d'évaluation de l'efficacité d'un traitement insecticide. Ces méthodes seront utilisées pour préciser les premiers résultats obtenus et pour comparer l'efficacité de différents insecticides ou de différentes formulations insecticides.

Bibliographie

Barré N. 1981 : Les stomoxes ou "mouches boeuf" à La Réunion. Pouvoir pathogène, écologie, moyen de lutte. *Maison Alfort (FRA) - GERDAT – IEMVT*, 90 p.

Beugnet F. 1998 : Epidémiologie et prophylaxie de la chimiorésistance chez des parasites d'importance vétérinaire : *Haemonchus contortus*, *Boophilus microplus*, *Dermanyssus gallinae*. *Thèse de Doctorat de l'Université Paris XII : Sciences de la Vie et de la Santé.*

Bruce W.N. and Decker G.C. 1958 : The relationship of stable fly to milk production in dairy cattle. *Journal of Economic Entomology*, 51 (3) : 269-275.

Bram R.A. 1994 : Integrated control of ectoparasites. *Revue scientifique et technique de l'Office International des Epizooties*, 13 (4) : 1357-1365.

Byford R.L., Craig M.E., DeRouen S.M., Kimball M.D., Morrison D.G., Wyatt W.E., Foil L.D. 1999 : Influence of permethrin, diazinon and ivermectin treatments on insecticide resistance in the horn fly (Diptera : Muscidae). *International Journal for Parasitology*, 29 (1): 125-135.

Brogdon W.G. and McAllister J.C., 1998 : Insecticide resistance and vector control. *Emerging Infectious Diseases*, 4 (4) : 605-613.

Campbell J.B., Berry I.L., Boxler D.J., Davis R.L., Clanton D.C. and Deutscher G.H. 1987 : Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) on weight gain and feed efficiency of feedlot cattle. *Journal of Economic Entomology*, 80 : 117-119.

Cilek J.E. and Knapp F.W. 1993 : Enhanced diazinon susceptibility in pyrethroid resistant horn flies (Diptera, Muscidae) – Potential for insecticide resistance management. *Journal of economic entomology*, 86 (5) : 1303-1307.

Foil L.D and Hogsette J.A. 1994 : Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Revue scientifique et technique de l'Office International des Epizooties* 13 (4) : 1125-1158.

Georghiou G.P., Lagunes A., Backer J.D., Miyamoto J., Kearney P.C., Matsunaka S., Hutson D.H., Murphy S.D. 1983 : Effect of insecticide rotations on evolution of resistance, in Proceedings of the 5th International Congress of Pesticide Chemistry : « Human Welfare and the Environment » at Kyoto, Japan, 29 August-4 September 1982, Ed. *Pergamon press* : 183-189.

Georghiou G.P. and Lagunes-Tejada A. 1991 : The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. Ed. *FAO, Rome*.

Gilles J. 2005 : Dynamique et génétique des populations d'insectes vecteurs. Les stomoxes, *Stomoxys calcitrans* et *Stomoxys niger niger* dans les élevages bovins réunionnais. *Thèse de Doctorat de l'Université de la Réunion : Biologie des Populations et Ecologie* : 135 p.

Hafez M. and Gamal-Eddin F.M. 1959a : Ecological studies on *Stomoxys calcitrans* L. and *sitiens* Rond. in Egypt, with suggestions on their control. *Bulletin de la Société d'Entomologie d'Egypte*, 43 : 245-254.

Hafez M. and Gamal-Eddin. F.M. 1959b : On the feeding habits of *Stomoxys calcitrans* L. and *sitens* Rond., with special reference to their biting cycle in nature. *Bulletin de la Société d'Entomologie d'Egypte*, 43 : 291-301.

Harris R.L., Miller J.A. and Frazar E.D. 1974 : Horn flies and stable flies : feeding activity. *Annals of the Entomological Society of America*, 67 : 891-894.

Hartl D.L. 1994 : Génétique des populations. Ed. *Médecine-Sciences Flammarion*, Paris : 305 p.

Hemingway J. and Hilary R. 2000 : Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annual Reviews of Entomology*, 45 : 371-391.

Hogsette J.A., Ruff J.P. and Jones C.J. 1987 : Stable fly biology and control in northwest Florida. *Journal of agricultural Entomology*, 4 : 1-11.

Killough R.A. and McKinstry 1965 : Mating and oviposition studies of the stable fly. *Journal of Economic Entomology*, 58 (3) : 489-491.

Kocisova A., Para L. 1998 : The influence of monofactorial and rotational selection pressure of insecticides on the development of resistance in the housefly (*Musca domestica* L.) in animal production. *Czech Journal of Animal Science*, 43 (12) : 557-564.

Kocisova A. 2001 : The stability of resistance in a field housefly population, *Musca domestica*, over 60 generations, following the interruption of insecticide selection pressure. *Czech Journal of Animal Science*, 46 (6) : 281-288.

Kunz S.E. and Monty J.C. 1976 : Biology and ecology of *Stomoxys nigra* Macquart and *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera, Muscidae) in Mauritius. *Bulletin of Entomological Research*, 66 : 745-755.

Kunz S.E. 1994 : Strategies and tactics for prevention and management of horn fly resistance. *Agri-practice*, 15 (5) : 24-28.

Kunz S.E. and Kemp D.H. 1994 : Insecticides and acaricides : resistance and environmental impact. *Revue scientifique et technique de l'Office International des Epizooties*, 13 (4) : 1249-1286.

Leclercq M. 1971 : Les mouches nuisibles aux animaux domestiques. *Les Presses Agronomiques de Gembloux*.

Lhoste J. (dir.) 1982 : Monographie deltaméthrine ROUSSEL-UCLAF.

Lockwood J.A., Byford R.L., Story R.N., Sparks Th.C., Quinsberry S.S. 1985 : Behavioral resistance to the pyrethroids in the horn fly, *Haematobia irritans* (Diptera Muscidae). *Environmental Entomology*, 14 : 873-880.

Lysyk T.J. 1995 : Temperature and population density effects on feeding activity of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) on cattle. *Journal of Medical Entomology* 32 (4) : 508-514.

Lysyk T.J. 1998 : Relationships between temperature and life-history parameters of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, 35 (2) : 107-119.

Monty J.C. 1972 : A review of the stable fly problem in Mauritius. *Rev. Agric. Suc. île Maurice*, 5 : 13-29.

Miller T.A. 1988 : Mechanisms of resistance to pyr thro ides insecticides. *Parasitology Today*, 4 : S8-S12.

Nolan J. 1985 : Mechanisms of resistance to chemicals in arthropod parasites of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 18 : 135-145.

Scott J.A., Plapp F.W., Bay D.E. 1997 : Pyrethroid resistance associated with decreased biotic fitness in horn flies (Diptera : Muscidae). *Southwestern entomologist*, 22 (4) : 405-410.

Tabashnik B.E. 1989 : Managing resistance with multiple pesticide tactics: theory, evidence and recommendations. *Journal of Economic Entomology*, 82 : 1263–1269.

WHO 1992 : Vector resistance to pesticides : Fifteenth report of the expert committee on vector biology and control. *Technical Reports Series* Ed. WHO. Geneve, 818 : 58p.

Zerba E. 1988 : Insecticidal activity of pyrethroids on insects of medical importance. *Parasitology Today*, 4 : S3-S7.

Zumpt F. 1973 : The Stomoxyine biting flies of the world. Taxonomy, biology, economic importance and control measures. Ed. G. Fischer. Stuttgart.

Annexe 1 : Fiche de relevé des résultats des tests de résistance : souche insectarium GDS de la Réunion

Date : 21/08/2005

Stomoxes : 2 à 6 jours, à jeun depuis 24 heures

Manipulateur : Nicolas EHRHARDT

Témoin

| S1 | To +1/2H | To +1H | To +2H | S2 | | | | S3 | | | |
|----|-------------|-----------|-----------|----|---|---|---|----|--|--|--|
| 1 | N | N | N | 11 | N | N | N | 21 | | | |
| 2 | N | N | N | 12 | N | N | N | 22 | | | |
| 3 | N | N | N | 13 | N | N | N | 23 | | | |
| 4 | N | N | N | 14 | N | N | N | 24 | | | |
| 5 | N | N | N | 15 | N | N | N | 25 | | | |
| 6 | N | N | N | 16 | N | N | N | 26 | | | |
| 7 | N | N | N | 17 | N | N | N | 27 | | | |
| 8 | N | N | N | 18 | N | N | N | 28 | | | |
| 9 | N | N | N | 19 | N | N | N | 29 | | | |
| 10 | N | N | N | 20 | N | N | N | 30 | | | |

Temps d'apparition du KD
paires de stomoxes concernées

| série 1 (S1) | 1-2 | 3-4 | 5-6 | 7-8 | 9-10 |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| série 2 (S2) | 10-11 | 12-13 | 14-15 | 16-17 | 18-19 |
| série 3 (S3) | 21-22 | 23-24 | 25-26 | 27-28 | 29-30 |

Résultats

| | |
|-------|---|
| %KD = | 0 |
| TKD = | |

Dilution 0,1

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | N | N | N | 11 | I | N | N | 21 | N | N | N |
| 2 | N | N | N | 12 | N | N | N | 22 | N | N | N |
| 3 | N | N | N | 13 | N | N | N | 23 | N | N | N |
| 4 | N | N | N | 14 | N | N | N | 24 | N | N | N |
| 5 | N | N | N | 15 | N | N | N | 25 | N | N | N |
| 6 | N | N | N | 16 | N | N | N | 26 | N | N | N |
| 7 | N | N | N | 17 | N | N | N | 27 | N | N | N |
| 8 | N | N | N | 18 | N | N | N | 28 | I | N | N |
| 9 | N | N | N | 19 | N | N | N | 29 | N | N | N |
| 10 | N | N | N | 20 | N | N | N | 30 | N | N | N |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats

| | |
|-------|---|
| %KD = | 0 |
| TKD = | |

Dilution 0,2

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | N | N | N | 11 | N | N | N | 21 | N | N | N |
| 2 | N | N | N | 12 | I | N | N | 22 | N | N | N |
| 3 | N | N | N | 13 | N | N | N | 23 | I | N | N |
| 4 | N | N | N | 14 | N | N | N | 24 | N | N | N |
| 5 | N | N | N | 15 | N | N | N | 25 | N | N | N |
| 6 | N | N | N | 16 | N | N | N | 26 | N | N | N |
| 7 | N | N | N | 17 | N | N | N | 27 | N | N | N |
| 8 | I | I | I | 18 | N | N | N | 28 | D | D | D |
| 9 | N | N | N | 19 | N | N | N | 29 | N | N | N |
| 10 | N | N | N | 20 | I | D | I | 30 | D | D | I |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|----|----|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | 40 |
| série 3 | | | | 30 | 30 |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 10 |
| TKD = | 35 min |

après 4 H : 2 KD

Dilution 0,4

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | I | I | I | 11 | I | I | I | 21 | D | D | D |
| 2 | N | N | N | 12 | D | D | I | 22 | D | I | I |
| 3 | N | N | N | 13 | D | D | D | 23 | I | I | I |
| 4 | N | N | N | 14 | D | D | I | 24 | I | I | I |
| 5 | D | D | I | 15 | D | D | D | 25 | I | I | I |
| 6 | D | D | D | 16 | I | I | I | 26 | I | I | I |
| 7 | D | D | D | 17 | D | D | I | 27 | D | D | D |
| 8 | D | D | D | 18 | I | I | I | 28 | D | D | D |
| 9 | I | I | I | 19 | D | D | D | 29 | I | I | I |
| 10 | | | | 20 | D | D | D | 30 | D | D | I |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| série 1 | | | 10 15 | 15 15 | |
| série 2 | 15 | 26 30 | 26 | 25 | 25 25 |
| série 3 | 25 22 | | | 25 22 | 27 |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 55 |
| TKD = | 20 min |

après 4 H : 4 KD

Dilution 0,8

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | D | D | D | 11 | I | I | I | 21 | D | D | I |
| 2 | D | D | D | 12 | I | I | I | 22 | I | D | I |
| 3 | D | D | D | 13 | D | D | D | 23 | D | D | D |
| 4 | D | D | I | 14 | D | D | D | 24 | D | D | D |
| 5 | I | I | I | 15 | D | D | I | 25 | D | D | I |
| 6 | D | D | D | 16 | D | D | D | 26 | D | D | D |
| 7 | D | D | I | 17 | D | D | I | 27 | D | D | I |
| 8 | D | D | D | 18 | I | D | I | 28 | I | I | I |
| 9 | I | I | I | 19 | D | D | D | 29 | D | D | I |
| 10 | | | | 20 | I | I | I | 30 | D | I | I |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| série 1 | 15 15 | 18 15 | 18 | 18 18 | |
| série 2 | | 12 15 | 20 30 | 25 35 | 25 |
| série 3 | 20 33 | 15 20 | 20 27 | 20 | 27 20 |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 79 |
| TKD = | 21 min |

après 4 H : 5 KD

Dilution 1,6

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|--|--|--|
| 1 | D | D | D | 11 | D | D | D | 21 | | | |
| 2 | D | D | D | 12 | D | D | D | 22 | | | |
| 3 | D | D | D | 13 | D | D | D | 23 | | | |
| 4 | D | D | D | 14 | D | D | D | 24 | | | |
| 5 | D | D | D | 15 | D | D | D | 25 | | | |
| 6 | D | D | D | 16 | D | D | D | 26 | | | |
| 7 | D | D | D | 17 | D | D | D | 27 | | | |
| 8 | D | D | D | 18 | D | D | D | 28 | | | |
| 9 | D | D | D | 19 | D | D | D | 29 | | | |
| 10 | D | D | D | 20 | D | D | D | 30 | | | |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 100 |
| TKD = | 10 min |

Dilution 3,2

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|--|--|--|
| 1 | D | D | D | 11 | D | D | D | 21 | | | |
| 2 | D | D | D | 12 | D | D | D | 22 | | | |
| 3 | D | D | D | 13 | D | D | D | 23 | | | |
| 4 | D | D | D | 14 | D | D | D | 24 | | | |
| 5 | D | D | D | 15 | D | D | D | 25 | | | |
| 6 | D | D | D | 16 | D | D | D | 26 | | | |
| 7 | D | D | D | 17 | D | D | D | 27 | | | |
| 8 | D | D | D | 18 | D | D | D | 28 | | | |
| 9 | D | D | D | 19 | D | D | D | 29 | | | |
| 10 | D | D | D | 20 | D | D | D | 30 | | | |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats

| | |
|-------|-------|
| %KD = | 100 |
| TKD = | 9 min |

Date : 22/08/05

Dilution 0,4

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | D | D | I | 11 | D | D | I | 21 | I | I | I |
| 2 | I | I | I | 12 | I | I | I | 22 | I | I | I |
| 3 | I | I | I | 13 | I | I | I | 23 | I | I | I |
| 4 | I | I | I | 14 | I | I | I | 24 | I | I | I |
| 5 | I | D | I | 15 | I | I | I | 25 | I | I | I |
| 6 | I | I | I | 16 | I | I | I | 26 | I | I | I |
| 7 | D | D | D | 17 | D | D | D | 27 | D | D | D |
| 8 | D | D | D | 18 | I | D | D | 28 | I | D | D |
| 9 | D | D | I | 19 | D | D | D | 29 | I | D | D |
| 10 | I | I | I | 20 | I | I | I | 30 | I | I | I |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|----|--|----|-------|----|
| série 1 | 30 | | 40 | 30 30 | 30 |
| série 2 | 22 | | | 50 30 | 30 |
| série 3 | | | | 30 50 | 35 |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 40 |
| TKD = | 34 min |

après 4 H : 2 KD

Dilution 0,8

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | D | D | D | 11 | I | D | D | 21 | D | D | I |
| 2 | D | D | D | 12 | D | D | D | 22 | D | D | D |
| 3 | D | D | D | 13 | I | I | I | 23 | I | I | I |
| 4 | D | D | D | 14 | D | D | D | 24 | D | D | I |
| 5 | D | D | D | 15 | D | D | D | 25 | D | D | D |
| 6 | I | I | I | 16 | D | D | D | 26 | D | D | D |
| 7 | D | D | D | 17 | D | D | D | 27 | D | D | D |
| 8 | I | I | I | 18 | D | D | I | 28 | I | D | I |
| 9 | D | D | D | 19 | D | D | D | 29 | D | D | D |
| 10 | I | I | I | 20 | I | D | I | 30 | D | D | I |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| série 1 | 17 22 | 20 30 | 17 | 30 | 30 |
| série 2 | 15 | 20 | 23 23 | 30 23 | 30 |
| série 3 | 20 23 | 26 | 26 26 | 22 | 20 26 |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 83 |
| TKD = | 23 min |

Bilan test insectarium GDS : N=258 stomoxes

| Dilution | 0,1 | 0,2 | 0,4 | 0,8 | 1,6 | 3,2 |
|--------------|-----|-----|----------|----------|-----|-----|
| %KD | 0 | 10 | 55 et 40 | 79 et 83 | 100 | 100 |
| TKD (en min) | | 35 | 20 et 34 | 21 et 23 | 10 | 9 |

Légende

D : stomoxe sur le dos pendant au moins 5 minutes

I : stomoxe incoordonné moteur (mouvements anarchiques des pattes et du probocis, dévagination de l'ovipositeur ...)

N : stomoxe normal

KD : stomoxe D à un des trois temps d'observation

TKD : temps moyen d'apparition du KD

Annexe 2 : Fiche de relevé des résultats des tests de résistance : souche insectarium Maurice

Date : 30/08/2005

Stomoxes : 2 à 4 jours, à jeun depuis 18 heures

Manipulateur : Nicolas EHRHARDT

Témoin

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|--|--|--|
| 1 | N | N | N | 11 | N | N | N | 21 | | | |
| 2 | N | N | N | 12 | N | N | N | 22 | | | |
| 3 | N | N | N | 13 | N | N | N | 23 | | | |
| 4 | N | N | N | 14 | N | N | N | 24 | | | |
| 5 | N | N | N | 15 | N | N | N | 25 | | | |
| 6 | N | N | N | 16 | N | N | N | 26 | | | |
| 7 | N | N | N | 17 | N | N | N | 27 | | | |
| 8 | N | N | N | 18 | N | N | N | 28 | | | |
| 9 | N | N | N | 19 | N | N | N | 29 | | | |
| 10 | N | N | N | 20 | N | N | N | 30 | | | |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats:

| | |
|-------|---|
| %KD = | 0 |
| TKD = | |

Dilution 0,05

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | I | I | I | 11 | I | I | I | 21 | I | I | I |
| 2 | I | I | I | 12 | I | I | I | 22 | I | I | I |
| 3 | D | D | I | 13 | I | I | I | 23 | I | I | I |
| 4 | I | I | I | 14 | I | I | I | 24 | I | I | I |
| 5 | I | I | I | 15 | I | I | I | 25 | D | D | D |
| 6 | I | I | I | 16 | I | I | I | 26 | I | I | I |
| 7 | I | I | I | 17 | I | D | D | 27 | I | I | I |
| 8 | I | I | I | 18 | I | I | I | 28 | I | I | I |
| 9 | I | I | I | 19 | I | I | I | 29 | I | I | I |
| 10 | I | I | I | 20 | I | I | I | 30 | I | I | I |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|----|----|----|--|
| série 1 | | 30 | | | |
| série 2 | | | | 50 | |
| série 3 | | | 28 | | |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 10% |
| TKD = | 36 min |

Dilution 0,1

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | D | D | D | 11 | I | D | D | 21 | D | D | D |
| 2 | D | D | D | 12 | I | I | I | 22 | I | D | D |
| 3 | D | D | D | 13 | D | D | D | 23 | I | D | D |
| 4 | D | D | D | 14 | I | D | D | 24 | I | D | D |
| 5 | D | D | D | 15 | D | D | D | 25 | D | D | N |
| 6 | I | I | I | 16 | D | D | D | 26 | I | I | I |
| 7 | D | D | D | 17 | D | D | D | 27 | I | D | D |
| 8 | I | D | D | 18 | I | I | I | 28 | I | D | D |
| 9 | I | D | I | 19 | I | D | D | 29 | I | D | D |
| 10 | I | I | I | 20 | I | D | D | 30 | I | D | D |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| série 1 | 16 20 | 23 25 | 26 | 25 35 | 35 |
| série 2 | 31 | 30 35 | 26 23 | 23 | 35 35 |
| série 3 | 20 35 | 40 35 | 30 | | |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 83% |
| TKD = | 29 min |

Après 18 H : 19 N

Dilution 0,2

| | | | | | | | | | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|--|--|--|
| | | | | S2 | | | | S3 | | | |
| 1 | D | D | D | 11 | D | D | D | 21 | | | |
| 2 | D | D | D | 12 | D | D | D | 22 | | | |
| 3 | D | D | D | 13 | D | D | D | 23 | | | |
| 4 | D | D | D | 14 | D | D | D | 24 | | | |
| 5 | D | D | D | 15 | | | | 25 | | | |
| 6 | D | D | D | 16 | | | | 26 | | | |
| 7 | D | D | D | 17 | | | | 27 | | | |
| 8 | D | D | D | 18 | | | | 28 | | | |
| 9 | D | D | D | 19 | | | | 29 | | | |
| 10 | D | D | D | 20 | | | | 30 | | | |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| série 1 | 12 15 | 15 15 | 12 17 | 15 17 | 12 15 |
| série 2 | 15 17 | 15 15 | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 100% |
| TKD = | 15 min |

Après 18 H : 0 N

Bilan test insectarium Maurice : N= 94 stomoxes

| | | | | |
|--------------|--------|--------|--------|-----|
| Dilution | 0,05 | 0,1 | 0,2 | 0,4 |
| %KD | 10 | 83 | 100 | |
| TKD (en min) | 36 min | 29 min | 15 min | |

Légende

D : stomoxe sur le dos pendant au moins 5 minutes

I : stomoxe incoordonné moteur (mouvements anarchiques des pattes et du probocis, dévagination de l'ovipositeur ...)

N : stomoxe normal

KD : stomoxe D à un des trois temps d'observation

TKD : temps moyen d'apparition du KD

Annexe 3 : Fiche de relevé des résultats des tests de résistance : isolat Maurice

Date : 28/08/2005

Stomoxes : 2 à 4 jours, à jeun depuis 24 heures

Manipulateur : Nicolas EHRHARDT

Témoin

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|--|--|--|
| 1 | N | N | N | 11 | N | N | N | 21 | | | |
| 2 | N | N | N | 12 | N | N | N | 22 | | | |
| 3 | N | N | N | 13 | N | N | N | 23 | | | |
| 4 | N | N | N | 14 | N | N | N | 24 | | | |
| 5 | N | N | N | 15 | N | N | N | 25 | | | |
| 6 | N | N | N | 16 | N | N | N | 26 | | | |
| 7 | N | N | N | 17 | N | N | N | 27 | | | |
| 8 | N | N | N | 18 | N | N | N | 28 | | | |
| 9 | N | N | N | 19 | N | N | N | 29 | | | |
| 10 | N | N | N | 20 | N | N | N | 30 | | | |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats:

| | |
|-------|---|
| %KD = | 0 |
| TKD = | |

Dilution 0,1

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|--|--|--|
| 1 | N | N | N | 11 | I | N | N | 21 | | | |
| 2 | N | N | N | 12 | N | N | N | 22 | | | |
| 3 | N | N | N | 13 | N | N | N | 23 | | | |
| 4 | N | N | N | 14 | N | N | N | 24 | | | |
| 5 | D | D | D | 15 | N | N | N | 25 | | | |
| 6 | N | N | N | 16 | N | N | N | 26 | | | |
| 7 | N | N | N | 17 | N | N | N | 27 | | | |
| 8 | N | N | N | 18 | N | N | N | 28 | | | |
| 9 | N | N | N | 19 | N | N | N | 29 | | | |
| 10 | N | N | N | 20 | N | N | N | 30 | | | |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|----|--|--|
| série 1 | | | 30 | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 5% |
| TKD = | 30 min |

Dilution 0,2

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | I | I | I | 11 | D | D | D | 21 | D | D | D |
| 2 | I | I | I | 12 | I | I | I | 22 | I | D | I |
| 3 | D | D | D | 13 | I | I | I | 23 | I | I | I |
| 4 | I | I | I | 14 | D | D | D | 24 | I | I | I |
| 5 | I | I | I | 15 | I | I | I | 25 | I | I | I |
| 6 | D | D | D | 16 | I | I | I | 26 | I | I | I |
| 7 | I | I | I | 17 | I | I | I | 27 | D | D | D |
| 8 | I | I | I | 18 | I | I | I | 28 | I | I | I |
| 9 | I | I | I | 19 | I | I | I | 29 | D | D | D |
| 10 | I | I | I | 20 | I | I | I | 30 | I | D | D |
| | | | | | | | | 31 | D | D | D |
| | | | | | | | | 32 | I | I | D |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | | |
|---------|-------|----|----|----|-------|-------|
| série 1 | | 30 | | 25 | | |
| série 2 | 30 | | 20 | | | |
| série 3 | 20 33 | | | 25 | 20 40 | 25 65 |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 34% |
| TKD = | 31 min |

Dilution 0,4

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | I | D | D | 11 | I | I | I | 21 | D | D | D |
| 2 | I | I | I | 12 | D | D | D | 22 | I | I | I |
| 3 | D | D | D | 13 | I | D | I | 23 | D | D | D |
| 4 | I | I | I | 14 | I | I | I | 24 | D | D | D |
| 5 | D | D | D | 15 | I | I | I | 25 | I | I | I |
| 6 | I | I | I | 16 | D | D | D | 26 | D | D | D |
| 7 | I | I | I | 17 | D | D | D | 27 | I | I | I |
| 8 | I | I | I | 18 | I | I | I | 28 | I | I | I |
| 9 | I | D | D | 19 | D | D | D | 29 | D | D | D |
| 10 | I | I | I | 20 | D | D | D | 30 | D | D | D |
| | | | | | | | | 31 | I | I | I |

Temps d'apparition du KD

| série 1 | 40 | 15 | 20 | | 40 |
|---------|----|-------|----|----|-------|
| série 2 | 23 | 35 | 30 | 30 | 25 30 |
| série 3 | 30 | 25 30 | 20 | | 20 25 |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 52% |
| TKD = | 26 min |

Après 4 H : 16 KD

Après 18 H : 8 N

Dilution 0,8

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|--|--|--|
| 1 | D | D | D | 11 | D | D | D | 21 | | | |
| 2 | I | D | D | 12 | D | D | D | 22 | | | |
| 3 | D | D | D | 13 | D | D | D | 23 | | | |
| 4 | D | D | D | 14 | D | D | D | 24 | | | |
| 5 | D | D | D | 15 | D | D | D | 25 | | | |
| 6 | D | D | D | 16 | D | D | D | 26 | | | |
| 7 | D | D | D | 17 | D | D | D | 27 | | | |
| 8 | D | D | D | 18 | D | D | D | 28 | | | |
| 9 | D | D | D | 19 | D | D | D | 29 | | | |
| 10 | D | D | D | 20 | D | D | D | 30 | | | |

Temps d'apparition du KD

| série 1 | 15 30 | 15 20 | 20 15 | 15 15 | 15 20 |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| série 2 | 12 25 | 15 20 | 7 10 | 10 15 | 10 15 |
| série 3 | | | | | |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 100% |
| TKD = | 16 min |

Après 4 H : 100% KD

Après 18 H : 3 N

Bilan test isolat Maurice : N= 121 stomoxes

| Dilution | 0,1 | 0,2 | 0,4 | 0,8 | 1,6 | 3,2 |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| %KD | 5 | 34 | 52 | 100 | | |
| TKD (en min) | 30 | 31 | 26 | 16 | | |

Légende

D : stomoxe sur le dos pendant au moins 5 minutes

I : stomoxe incoordonné moteur (mouvements anarchiques des pattes et du proboscis, dévagination de l'ovipositeur ...)

N : stomoxe normal

KD : stomoxe D à un des trois temps d'observation

TKD : temps moyen d'apparition du KD

Annexe 4 : Fiche de relevé des résultats des tests de résistance : isolat L

Date : 06/06/2005

Stomoxes : 2 à 6 jours, à jeun depuis 18 heures

Manipulateur : Nicolas EHRHARDT

Témoin

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|--|--|--|
| 1 | N | N | N | 11 | N | N | N | 21 | | | |
| 2 | N | N | N | 12 | N | N | N | 22 | | | |
| 3 | N | N | N | 13 | N | N | N | 23 | | | |
| 4 | N | N | N | 14 | N | N | N | 24 | | | |
| 5 | N | N | N | 15 | N | N | N | 25 | | | |
| 6 | N | N | N | 16 | N | N | N | 26 | | | |
| 7 | N | N | N | 17 | N | N | N | 27 | | | |
| 8 | N | N | N | 18 | N | N | N | 28 | | | |
| 9 | N | N | N | 19 | N | N | N | 29 | | | |
| 10 | N | N | N | 20 | N | N | N | 30 | | | |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats:

| | |
|-------|---|
| %KD = | 0 |
| TKD = | |

Dilution 0,2

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|---------|---|---|---|
| 1 | D | D | D | 11 | N | N | N | 21 | N | N | N |
| 2 | I | D | D | 12 | N | N | N | 22 | N | N | N |
| 3 | I | D | D | 13 | N | N | N | 23 | N | N | N |
| 4 | N | I | N | 14 | N | N | N | 24 | N | N | N |
| 5 | D | D | D | 15 | N | N | N | 25 | I | I | I |
| 6 | I | I | N | 16 | N | N | N | 26 | N | N | N |
| 7 | I | I | I | 17 | N | N | N | 27 | N | N | N |
| 8 | I | N | N | 18 | N | N | N | 28 | I | N | N |
| 9 | I | N | N | 19 | D | D | I | 29 | D | I | N |
| 10 | N | N | N | 20 | N | N | N | 30 | D | N | N |
| | | | | | | | | 31 à 34 | N | N | N |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats

| | |
|-------|-----|
| %KD = | 15% |
| TKD = | NEV |

Dilution 0,4

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | D | I | I | 11 | N | N | N | 21 | N | N | N |
| 2 | I | I | N | 12 | N | N | N | 22 | N | N | N |
| 3 | D | D | I | 13 | I | N | N | 23 | N | N | N |
| 4 | I | I | N | 14 | N | N | N | 24 | N | N | N |
| 5 | D | D | I | 15 | I | N | N | 25 | N | N | N |
| 6 | I | I | N | 16 | N | N | N | 26 | D | I | N |
| 7 | I | I | I | 17 | D | D | I | 27 | D | D | D |
| 8 | I | I | N | 18 | D | I | N | 28 | D | D | D |
| 9 | I | N | N | 19 | D | D | D | 29 | D | D | D |
| 10 | N | N | N | 20 | D | I | I | 30 | N | N | N |
| | | | | | | | | 31 | N | N | N |
| | | | | | | | | 32 | N | N | N |
| | | | | | | | | 33 | I | D | I |
| | | | | | | | | 34 | I | N | N |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 38% |
| TKD = | 20 min |

Dilution 0,8

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| 1 | I | I | I | 11 | D | D | D | 21 | D | D | I |
| 2 | I | I | I | 12 | D | D | I | 22 | D | D | I |
| 3 | D | D | D | 13 | D | D | D | 23 | D | D | I |
| 4 | D | D | D | 14 | D | D | D | 24 | D | D | I |
| 5 | D | D | I | 15 | D | D | D | 25 | I | I | I |
| 6 | I | I | I | 16 | I | D | D | 26 | D | D | D |
| 7 | I | D | I | 17 | D | D | D | 27 | D | D | I |
| 8 | I | I | I | 18 | D | D | I | 28 | D | D | I |
| 9 | I | I | I | 19 | D | D | D | 29 | D | D | I |
| 10 | D | D | D | 20 | D | D | I | 30 | D | D | D |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats

| | |
|-------|--------|
| %KD = | 80% |
| TKD = | 15 min |

Dilution 1,6

| S1 | | | | S2 | | | | S3 | | | |
|----|---|---|---|----|---|---|---|----|--|--|--|
| 1 | D | D | D | 11 | D | D | D | 21 | | | |
| 2 | D | D | D | 12 | D | D | D | 22 | | | |
| 3 | D | D | D | 13 | D | D | D | 23 | | | |
| 4 | D | D | D | 14 | D | D | D | 24 | | | |
| 5 | D | D | D | 15 | D | D | D | 25 | | | |
| 6 | D | D | D | 16 | D | D | D | 26 | | | |
| 7 | D | D | D | 17 | D | D | D | 27 | | | |
| 8 | D | D | D | 18 | D | D | D | 28 | | | |
| 9 | D | D | D | 19 | D | D | D | 29 | | | |
| 10 | D | D | D | 20 | D | D | D | 30 | | | |

Temps d'apparition du KD

| | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|
| série 1 | | | | | |
| série 2 | | | | | |
| série 3 | | | | | |

Résultats

| | |
|-------|-------|
| %KD = | 100% |
| TKD = | 7 min |

Bilan test isolat L: N= 138 stomoxes

| Dilution | 0,1 | 0,2 | 0,4 | 0,8 | 1,6 | 3,2 |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| %KD | 0 | 15 | 38 | 80 | 100 | nev |
| TKD (en min) | nev | nev | 20 | 15 | 7 | nev |

Légende

D : stomoxe sur le dos pendant au moins 5 minutes

I : stomoxe incoordonné moteur (mouvements anarchiques des pattes et du probocis, dévagination de l'ovipositeur ...)

N : stomoxe normal

KD : stomoxe D à un des trois temps d'observation

TKD : temps moyen d'apparition du KD

Annexe 5 : Comparaison des différentes techniques de capture des stomoxes

| Technique de prélèvement | Avantages | Inconvénients | Essais |
|---|--|--|---|
| <p><u>1</u> <u>Œufs récoltés sur les sites naturels de pontes</u></p> | <ul style="list-style-type: none"> - Rapidité si les sites sont accessibles - Synchronisation du cycle (émergences décalées de 3 jours) | <ul style="list-style-type: none"> - Faible rendement (fragilité des œufs au dessèchement et aux chocs) - Faible spécificité - Représentativité de la population de stomoxes de l'élevage | <ul style="list-style-type: none"> - Pour chacun des essais, une vingtaine de chapelets d'œufs ont été prélevés sur et dans les croûtes de fumier au bas des murs des stabulations. - Les essais n'ont permis de produire que peu de larves de stomoxes. Cet échec peut s'expliquer par une faible viabilité des œufs prélevés ou par les conditions de prélèvement et de maturation de ces œufs. - Des vers à queue (<i>Eristalix tenax</i>) se sont développés au dépend des larves de stomoxes pour les premiers prélèvements. |
| <p><u>2</u> <u>Œufs récoltés dans les pièges Vavoua avec milieu de ponte :</u></p> | <ul style="list-style-type: none"> - Spécificité (stomoxes quasi exclusivement) - Détermination possible de l'espèce de stomoxe ayant pondu - Synchronisation | <ul style="list-style-type: none"> - Faible rendement si peu de captures - Représentativité : nombre de stomoxes à l'origine des pontes indéterminé - Temps | <ul style="list-style-type: none"> - Premiers essais dans des élevages laitiers en altitude : 10 pièges Vavoua placés stratégiquement (aux 4 points cardinaux encadrant la stabulation, à proximité des bovins et des reposoirs à stomoxes : Bringelliers, canne à sucre, graminées), laissés en place 24h et dans des conditions favorables au piégeage (exposition au soleil). Résultats : 30 à 50 stomoxes piégés, dont 60% de <i>S. niger</i> et 70% de mâles. 0 à 70 pupes produites. Fragilité des adultes de deuxième génération et mort avant maturité sexuelle ; donc impossibilité de produire une troisième génération de stomoxes plus abondante. - Méthode intéressante en période d'abondance des stomoxes. - Méthode utilisée en complément de la technique 5 en raison de sa spécificité. Cependant, d'autres espèces d'insectes peuvent être capturées, notamment des mouches du genre <i>Chrysomia</i>. La distinction des stades nymphaux de <i>S. niger</i> et de <i>Chrysomia spp.</i> est difficile mais le cycle de ces derniers étant plus long, il est facile de les séparer. Les pièges récupérés après les avoir laissés 48 heures en place ont capturé plus de stomoxes qu'après 24 heures, mais cela n'a pas permis de produire plus de pupes à partir des milieux de ponte. |

| Technique de prélèvement | Avantages | Inconvénients | Essais |
|--|---|---|---|
| <p style="text-align: center;"><u>3</u> <u>Pupes récoltées dans le fumier</u></p> | <ul style="list-style-type: none"> - Spécificité : <i>S.niger</i> ne pond pas dans le fumier - Synchronisation | <ul style="list-style-type: none"> - Spécificité : distinction difficile des pupes de <i>S.niger</i> et <i>Chrysomia spp.</i>, à l'œil nu et au microscope binoculaire - Rendement faible | <ul style="list-style-type: none"> - Technique mise en œuvre dans deux élevages où les pupes étaient abondantes, mais rapidement abandonnée en raison de sa longueur - Technique utilisée par l'équipe scientifique de l'AREU à Maurice pour produire l'isolat de <i>S.calcitrans</i>. Une semaine de travail a été investie pour obtenir un millier de pupes, dont une majorité de <i>S.calcitrans</i>. Environ 50% des pupes ont émergé sur 5 jours et ont produit les stomoxes adultes utilisés pour les tests de sensibilité. |
| <p style="text-align: center;"><u>4</u> <u>Larves récoltées dans le fumier</u></p> | <ul style="list-style-type: none"> - Facilité : larves parfois regroupées en nid - Synchronisation: groupes de larves souvent d'âge homogène - Représentativité: larves issues de nombreux stomoxes mélangés | <ul style="list-style-type: none"> - Spécificité : distinction impossible avec les larves de <i>Musca domestica</i> ou de <i>Chrysomia spp.</i>, plus abondantes que celles de stomoxes - Fragilité des larves et difficulté d'adaptation au milieu de croissance utilisé à l'insectarium - Recherches parfois longues avant identification de larves regroupées | <ul style="list-style-type: none"> - Premiers essais réalisés dans les élevages engraisseurs à basse altitude : De très nombreuses larves d'âge homogène ont pu être récoltées et ont abouti à la formation de seulement quelques pupes <i>S.calcitrans</i>. Cette proportion doit correspondre à celle des stomoxes par rapport aux autres mouches présentes dans les exploitations à cette époque de l'année. Cette technique de prélèvement pourra ainsi être entreprise avec plus de réussite en période de pullulation des stomoxes. |

| Technique de prélèvement | Avantages | Inconvénients | Essais |
|--|--|--|--|
| <p style="text-align: center;"><u>5</u> <u>Œufs produits à partir de stomoxes adultes capturés en élevage</u></p> | <ul style="list-style-type: none"> - Spécificité du piégeage - Synchronisation (dans la mesure où les captures sont abondantes ou que le développement des premières pupes est ralenti par leur placement en incubateur) | <ul style="list-style-type: none"> - Temps et travail nécessaire - Test d'une deuxième génération de stomoxes dont la sensibilité peut être différente de celle des stomoxes d'élevage - Représentativité : nombre de stomoxes à l'origine des pontes indéterminé | <ul style="list-style-type: none"> - 24 élevages échantillonnés sur des transects entre St Pierre et St Benoît et entre St Pierre et St Joseph. Les élevages concernés ont surtout été choisis par rapport aux conseils des techniciens du GDS. Un premier échantillonnage était réalisé dans une base de donnée présentant les niveaux d'infestation, les achats en BUTOX® et autres caractéristiques de l'élevage. Les éleveurs étaient ensuite contactés pour évaluer la présence de stomoxes dans leur élevage (pièges, agitation des animaux). Un rendez-vous était fixé pour poser les pièges et interroger l'éleveur sur l'efficacité du BUTOX®. Les pièges étaient ensuite soit relevés, soit laissés en place quand les captures étaient intéressantes. Les emplacements les plus efficaces étaient dans les zones humides et éclairées, souvent proches des animaux (2 à 30 mètres) et des reposoirs naturels des stomoxes. Cependant, les pièges efficaces n'étaient pas les mêmes d'un jour à l'autre, ce qui impliquait de laisser au moins 4 pièges dans chaque élevage. - Les piégeages se sont ensuite recentrés sur un transect entre St Pierre et La Plaine des Cafres dans les élevages où les captures étaient les plus efficaces. Sept éleveurs étaient ainsi régulièrement suivis et les pièges relevés quand les conditions météorologiques étaient favorables à la capture des stomoxes (ensoleillement, absence de vent et de pluie). - La quantité de stomoxes nécessaire au test n'a pu être produite que pour 3 élevages. |

Annexe 6 : Bilan des taux de paralysie une heure après exposition à l'insecticide :
Elevage laitier (H)

| | | J2 | J3 | J4 | J5 | J7 | J8 | J9 |
|--------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | 22-juin | 23-juin | 24-juin | 25-juin | 27-juin | 28-juin | 29-juin |
| 4445 | pattes | 100 | 100 | 25 | 100 | 45 | 77 | 50 |
| | dos | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 40 |
| 9595 | pattes | 100 | 100 | 83 | 100 | 90 | 83 | 80 |
| | dos | 100 | 100 | 100 | 100 | 50 | 68 | 50 |
| Pluviométrie | | 2 | 4 | 1 | | | 1 | 3 |

| | | J10 | J12 | J13 | J14 | J16 | J17 | J20 |
|--------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | 30-juin | 02-juil | 03-juil | 04-juil | 06-juil | 07-juil | 10-juil |
| 4445 | pattes | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | dos | 100 | 70 | 100 | 71 | 75 | 92 | 0 |
| 9595 | pattes | 4 | 0 | 42 | 7 | 0 | 0 | 0 |
| | dos | 20 | 0 | 45 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Pluviométrie | | | | | 4 | | 4 | |

Elevage engraisseur (T)

| | J1 | J3 | J5 | J7 | J9 | J12 | J14 | J16 |
|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 14-jui | 16-jui | 18-jui | 20-jui | 22-jui | 25-jui | 27-jui | 29-jui |
| stomoxes insectarium | 100 | 100 | 100 | 100 | 68 | 100 | 100 | 100 |
| stomoxes élevage | | | | | 50 | 47 | 25 | 9 |
| Contact | 50% | 20% | 55% | 15% | 50% | 30% | 50% | 32% |
| température (°C) | 20 | 15 | 20 | 20 | 20 | 20 | 25 | 15 |
| Alimentation | sucre | sucre | sucre | sang | sucre | sucre | sucre | sucre |

| | J19 | J21 | J23 | J26 | J28 | J30 | J35 |
|----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 01-août | 03-août | 05-août | 08-août | 10-août | 12-août | 17-août |
| stomoxes insectarium | 71,5 | 61,25 | 46,5 | 45,5 | 30,75 | 51,25 | 23 |
| stomoxes élevage | 2 | 0 | 0 | 0 | | | |
| Contact | 35% | 45% | 45% | 40% | 12,50% | 25% | 15% |
| température (°C) | 20 | 18 | 25 | 27 | 28 | 18 | 18 |
| Alimentation | sucre | sang | sucre | sucre | sucre | sucre | sang |

Annexe 8 : Fiche de relevé du suivi d'efficacité du BUTOX® 50% dans l'élevage engraisseur (T)

Résultat du test de rémanence : 01/08

Stomoxes insectarium âgés de 3 jours, nourris au sucre et à jeun depuis 20 heures

Bovin 5183

| | | Nombre KD | <u>% KD</u> | | | <u>% KD</u> |
|--------------|------------------------|------------------|--------------------------|-------------|--|--------------------|
| 13H45 | T0: nombre de stomoxes | <u>25</u> | | 24 | | |
| | 15 min | 11 | <u>44</u> | 0 | | <u>0</u> |
| | 30 min | 21 | <u>84</u> | 3 | | <u>13</u> |
| | 45 min | 21 | <u>84</u> | 4 | | <u>17</u> |
| | 60 min | 22 | <u>88</u> | 7 | | <u>29</u> |
| | contact moyen | 7 soit 28% | | 6 soit 25% | | |
| 14H10 | T0: nombre de stomoxes | <u>33</u> | <i>30 S.c. et 3 S.n.</i> | 19 | | |
| | 15 min | 0 | <u>0</u> | 2 | | <u>11</u> |
| | 30 min | 0 | <u>0</u> | 15 | | <u>79</u> |
| | 45 min | 0 | <u>0</u> | 16 | | <u>84</u> |
| | 60 min | 1 | <u>3</u> | 18 | | <u>95</u> |
| | contact moyen | 7 soit 21% | | 5 soit 25% | | |
| 15H30 | T0: nombre de stomoxes | <u>51</u> | <i>42 S.c. et 9 S.n.</i> | 27 | | |
| | 15 min | 0 | <u>0</u> | 8 | | <u>30</u> |
| | 30 min | 0 | <u>0</u> | 14 | | <u>52</u> |
| | 45 min | 0 | <u>0</u> | 17 | | <u>63</u> |
| | 60 min | 0 | <u>0</u> | 20 | | <u>74</u> |
| | contact moyen | 25 soit 50% | | 16 soit 60% | | |

Témoin

Nombre de stomoxes : 45

0 KD

Météo
Rq

soleil

20°C

NOM : EHRHARDT

PRENOM : Nicolas

TITRE : ETUDE DE L'ACTIVITE D'UNE FORMULATION A 50% DE DELTAMETHRINE SUR *STOMOXYS CALCITRANS* A LA REUNION : RESISTANCE ET REMANENCE

RESUME :

Les pullulations de stomoxes représentent un véritable fléau pour le bétail réunionnais par les effets pathogènes directs et indirects de ces diptères hématophages. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité de la deltaméthrine après onze années d'utilisation quasi-exclusive de cet insecticide à la Réunion. Un test biologique de dépistage des résistances par application tarsale de deltaméthrine n'a pas mis en évidence de différences significatives de sensibilité des isolats de stomoxes réunionnais, mais un facteur de résistance de 17,8 a été calculé en prenant pour référence la sensibilité d'une souche mauricienne. Des traitements avec une solution à 25 ppm de deltaméthrine (BUTOX® 50%) sur des bovins ont présenté une efficacité paralytique pour au moins 50% des stomoxes pendant des durées allant de 9 à 21 jours. Ces essais mettent en évidence l'hétérogénéité de l'efficacité du traitement selon la zone du corps testée et selon l'exposition à la pluie et au soleil.

MOTS CLES:

deltaméthrine, *Stomoxys calcitrans*, résistance aux pesticides, rémanence, île de la Réunion

ENGLISH TITLE : STUDY OF A 50% DELTAMETHRIN FORMULATION ACTIVITY AGAINST *STOMOXYS CALCITRANS* IN REUNION ISLAND : RESISTANCE AND PERSISTENCE

ABSTRACT :

The pullulation of stable flies represent a real scourge for the cattle of Reunion Island because of the pathogenic effects, both direct and indirect of these hematophagous diptera. The purpose of this study was to assess the efficiency of deltamethrin after eleven years of almost exclusive use of this insecticide on the island. A dose-mortality bioassay by tarsal contact with deltamethrin-treated filter papers did not reveal significant differences in terms of susceptibility of stable flies on the island but a resistance factor of 17.8 was calculated by taking as a reference the susceptibility of a Mauritius strain. Treatments with a 25 ppm deltamethrin solution on cattle presented a paralysis efficiency for at least 50% of the stable flies for periods ranging from 9 to 21 days. These tests demonstrate the heterogeneous character of the efficiency of the treatment according to which part of the body is tested and also according to the exposure to rain and sun.

KEY WORDS :

deltaméthrin, *stomoxys calcitrans*, insecticide resistance, persistence, la Réunion Island

Ce document à été crée avec Win2pdf disponible à <http://www.win2pdf.com/fr>
La version non enregistrée de Win2pdf est uniquement pour évaluation ou à usage non commercial.