

IMPACT ENVIRONNEMENTAL DES ENDECTOCIDES SUR LA PEDOFAUNE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Benoît, Michel BARBUT

Né, le 12 octobre 1971 à CASTRES (Tarn)

Directeur de thèse : **M. le Docteur Hubert BRUGERE**

JURY

PRESIDENT :

M. Jean-Louis FONVIEILLE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

M. Hubert BRUGERE

M. Philippe JACQUIET

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Mme Viviane BURGAT-SACAZE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Partie 1/3

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

| | | |
|-----------------------------|------|-------------------------|
| Directeur par intérim | : M. | G. BONNES |
| Directeurs honoraires..... | : M. | R. FLORIO |
| | M. | R. LAUTIE |
| | M. | J. FERNEY |
| | M. | G. VAN HAVERBEKE |
| Professeurs honoraires..... | : M. | A. BRIZARD |
| | M. | L. FALIU |
| | M. | C. LABIE |
| | M. | C. PAVAU |
| | M. | F. LESCURE |
| | M. | A. RICO |
| | M. | A. CAZIEUX |
| | Mme | V. BURGAT |
| | M. | D. GRIESS |

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **CHANTAL Jean**, *Pathologie infectieuse*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **GUELFY Jean-François**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **ECKHOUTTE Michel**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEUR ASSOCIE

- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*
- M. **TAMZALI Youssef**, *Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAITRES DE CONFERENCES 1^{ère} CLASSE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mme **BOUCAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **BRET-BENNIS Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MESSUD-PETIT Frédérique**, *Pathologie infectieuse*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. **VALARCHER Jean-François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES 2^e CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
Mlle **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du Bétail*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Productions animales*
Mlle **HAY Magali**, *Zootéchnie*
M. **MARENDA Marc**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*

MAITRES DE CONFERENCES 2^e CLASSE

- M. **GRANDJEAN Christophe**, *Gestion de la santé en élevage des ruminants*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle**, *Alimentation*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*

A notre président de thèse,

Monsieur le professeur FONVIELLE

Professeur des Universités
Praticien hospitalier
Zoologie – Parasitologie,

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

Hommage respectueux.

A notre jury de thèse,

Monsieur le docteur Hubert BRUGERE

Maître de conférences à l' Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale

qui à eu l'amabilité d'accepter notre travail et qui, par ses conseils, nous à permis de le mener à bien.

Monsieur le docteur Philippe JACQUIET

Maître de conférences à l' Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Parasitologie et maladies parasitaires

qui nous a fait l'amitié de prendre en considération ce travail.

Madame le Professeur BURGAT-SACAZE

De l' Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pharmacie – Toxicologie

qui à eu la gentillesse de suivre de près notre travail jusqu'à son terme ainsi que de prendre part à notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|------|
| Introduction | p 8 |
| Première partie : Danger des résidus d'endectocides pour les invertébrés de la pédofaune | p 10 |
| I- Problématique | p 11 |
| II- Les effets létaux | p 15 |
| A- Sur les diptères coprophages | p 15 |
| 1- Cas des diptères adultes | p 16 |
| 2- Cas des larves de diptère | p 20 |
| B- Sur les coléoptères coprophages | p 26 |
| 1- Cas des bousiers adultes | p 26 |
| 2- Cas des larves de bousier | p 30 |
| C- Sur les nématodes du sol et les vers de terre | p 35 |
| D- Des effets variables selon la galénique et la molécule employée | p 37 |
| 1- Variations en fonction de la galénique utilisée | p 37 |
| 2- Variations en fonction de la molécule utilisée | p 38 |
| III- Les effets sub-létaux | p 40 |
| A- Les effets sur le comportement alimentaire | p 40 |
| B- Les effets sur l'osmorégulation | p 41 |
| C- Les effets sur la reproduction | p 42 |
| 1- La maturité sexuelle | p 42 |
| 2- La production d'ovocytes ou d'œufs | p 43 |
| 3- L'éclosion des œufs | p 46 |
| D- Les effets sur la métamorphose | p 47 |
| E- Les malformations morphologiques | p 49 |

| | |
|---|----------|
| Deuxième partie : Exposition aux résidus d'endectocides en conditions naturelles | p 52 |
| I- Excrétion fécale des endectocides chez les bovins | p 53 |
| A- Données générales | p 53 |
| B- Volume excrété | p 53 |
| C- Variations | p 53 |
| 1- Variations selon la voie d'administration et la formulation employée | p 53 |
| 2- Variations selon la molécule utilisée | p 56 |
| II- Devenir des résidus dans l'environnement | p 58 |
| A- Dégradation naturelle des molécules et devenir dans le sol | p 58 |
| B- Devenir dans les bouses | p 59 |
| 1- Importance des facteurs abiotiques | p 59 |
| 2- Importance des facteurs biotiques | p 61 |
| III- Quantité de bovins traités dans l'environnement | p 62 |
| A- Cas de la conduite en bâtiment | p 63 |
| B- Cas de la conduite en pâturage | p 64 |
| IV- Notion d'attirance/répulsivité facteur essentiel d'exposition | p 65 |
| Troisième partie : Les effets constatés dans la nature ; le risque écologique des endectocides | p 71 |
| I- Effet des résidus sur la colonisation des bouses | p 72 |
| A- Colonisation par les diptères | p 73 |
| B- Colonisation par les coléoptères | p 75 |
| C- Colonisation par les nématodes du sol et vers de terre | p 77 |

| | |
|--|------|
| D- Conséquences possibles | p 78 |
| 1- Raréfaction voir disparition de certaines espèces | p 78 |
| 2- Fragilisation des espèces consommatrices | p 78 |
| 3- Prolifération d'espèces parfois nuisible | p 79 |
| II- Effet des résidus sur la dégradation des bouses | p 80 |
| A- Un effet variable selon le climat | p 80 |
| B- Conséquences possibles | p 83 |
| 1- Diminution de la surface pâturée | p 83 |
| 2- Baisse de la croissance végétale | p 84 |
| 3- Augmentation du parasitisme | p 84 |
| III- Un risque écologique variable en fonction de la formulation et de la molécule utilisée | p 85 |
| A- Influence de la formulation | p 85 |
| B- Influence de la molécule | p 86 |
| Quatrième partie : Toxicité des résidus d'endectocides ; Conséquences et recommandations | p 87 |
| Une prise de conscience tardive en Europe | p 88 |
| Le cas particulier des zones sensibles | p 89 |
| Recommandations dans l'usage des endectocides | p 90 |
| Conclusion | p 93 |
| Glossaire | p 95 |
| Bibliographie | p 96 |

INTRODUCTION

Sortie sur le marché depuis le début des années 1980, la dernière née des familles d'antiparasitaires utilisée en santé animale, les macrolides endectocides, représentent aujourd'hui une large part du marché des traitements en élevage. Soupçonnés depuis la mise sur le marché de l'ivermectine, les effets nocifs des résidus de traitement contenus dans les déjections du bétail sur les invertébrés du sol, ont fait l'objet de nombreuses études et d'autant de polémiques....

Vingt ans d'utilisation commerciale à grande échelle nous a paru, au départ de notre travail de recherche, une période suffisante pour distinguer, au travers des études publiées sur le sujet, le faux du vrai ou plutôt le non significatif du préoccupant. Mais peut être n'est ce pas encore suffisant ? ...

Le but de notre étude est donc, à partir de données bibliographiques, d'étudier les effets des résidus d'endectocides sur les principaux invertébrés de la pédofaune (diptères, coléoptères, vers de terre et nématodes du sol) ainsi que leurs conséquences possibles, en se limitant, le plus souvent possible, à l'étude du traitement des bovins.

La présentation du travail débute volontairement par la reprise d'un plan classique d'évaluation des risques en écotoxicologie ; identification du danger (nature des effets adverses, relations doses/effets), appréciation de l'exposition (estimation des quantités de produit pouvant être présent dans l'environnement) et enfin évaluation du risque réel (résultant des deux précédents). Il se termine par une discussion présentant les conséquences potentielles d'une telle toxicité avant de proposer des solutions pour minimiser les risques dans l'usage courant des endectocides.

PREMIERE PARTIE :

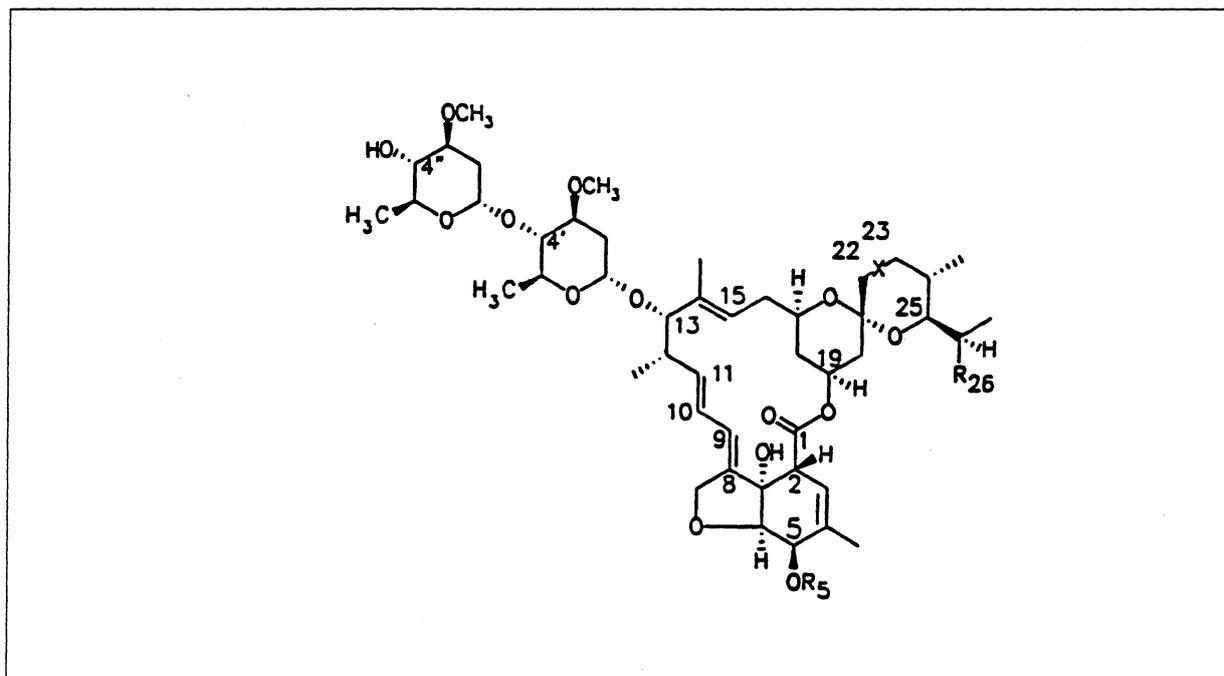
**Danger des résidus d'endectocides
pour les invertébrés de la pédofaune**

Dans cette première partie, après avoir exposé la problématique, nous étudierons, le plus indépendamment possible des facteurs de variation du milieu, c'est à dire à partir de données établies essentiellement *in vitro*, les différents types d'effets des macrolides sur les invertébrés de la pédofaune. Nous séparerons d'abord les effets létaux des effets sub-létaux avant d'en étudier les caractéristiques au sein des principaux ordres d'invertébrés responsables de la dégradation des déjections du bétail.

I- Problématique

Les macrolides endectocides sont des antiparasitaires dont la première représentante, l'ivermectine, a été introduite sur le marché en 1981 pour la production bovine. Les lactones macrocycliques (macrolides) sont des extraits directs ou des dérivés de semi-synthèse obtenus, au départ, d'une fermentation de champignons ascomycètes du genre *Streptomyces*. Caractérisés par un cycle constitué de 16 atomes de carbone et de lactones, les macrolides endectocides se répartissent en deux catégories ; les avermectines (Ivermectine, Abamectine, Doramectine...) caractérisées par la présence d'un disaccharide substitué en C13 et les milbémycines (Milbémycine, Némadectine, Moxidectine...) qui n'en possède pas (figure 1).

Figure 1 : Structure de base des macrolides endectocides.



De nombreuses formulations contenant des macrolides ont été développées depuis 1981 pour contrôler, au travers d'une action systémique, un large spectre de nématodes et d'arthropodes parasites chez les bovins, équins, ovins, porcins mais aussi les caprins, chameaux, cerfs, chiens et même chez

l'homme (FORBES, 1993). L'abamectine est même utilisée, en épandage, comme pesticide dans les cultures comme le coton ou la production de fruits et légumes (WISLOCKI et col., 1989).

Leur très large spectre d'action est essentiellement dû à leur mode d'action. En interrompant les neurotransmissions dépendantes de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), neurotransmetteur essentiel chez les invertébrés, les macrolides paralysent les parasites et les empêchent d'assurer leurs fonctions vitales (nutrition, respiration...) ainsi que leur fixation sur l'hôte (CAMPBELL, 1985, 1984 - CAMPBELL et col., 1983 - JACKSON, 1989 - GUNN et SADD, 1994). Néanmoins, les macrolides ne présentent que peu de danger pour les mammifères notamment du fait que chez eux, contrairement aux invertébrés, les synapses à neurotransmetteur GABA se situent uniquement dans le système nerveux central, protégé de l'action de la molécule par l'efficacité de la barrière hémato-méningée (GUNN et SADD, 1994).

Ce très large spectre d'action (action autant sur les parasites externes que les parasites internes), associé à la sécurité d'emploi, est à la base du succès fulgurant des macrolides. Dix ans après la mise sur le marché de l'ivermectine, le laboratoire producteur de la molécule estimait à 15% de la population mondiale de bovins et d'équins traités annuellement à l'ivermectine (FORBES, 1993). Désormais, près de dix ans après, la variété de l'offre et la baisse des prix sont les principaux facteurs qui assurent une utilisation des macrolides toujours plus large mais qui couvrent encore de grandes disparités selon les régions du globe.

Une autre caractéristique des macrolides est qu'après administration de ces produits au bétail, par quelque voie que se soit, une grande proportion de la molécule administrée est excrétée sous forme inchangée, et donc encore active, dans les fèces de ces animaux. Que le traitement se fasse par voie injectable, transcutanée ou *per os*, les courbes d'excrétion fécale en résidus ne diffèrent que relativement peu. Seules les caractéristiques du pic d'excrétion maximale (période, amplitude, durée) et la durée totale de l'excrétion varient notablement.

Ces résidus, contenus dans les selles, peuvent avoir un effet nocif sur un certain nombre d'espèces d'invertébrés (insectes mais aussi annélides et nématodes) parmi les plus importantes au sein de la pédofaune coprophage (GUNN et SAAD, 1994) qui n'étaient pas initialement visées. En effet, les fèces déposés par le bétail, et particulièrement ceux des bovins, représentent un microhabitat, un lieu de ponte et parfois une source de nourriture pour une large variété d'espèces d'invertébrés, en majorité des insectes (STRONG, 1993). Par exemple, en Angleterre, il existe quelques 266 espèces d'insectes qui vivent au contact des bouses de bovins (SKIDMORE, 1991). Ces insectes, essentiellement des diptères et des coléoptères, auxquels il faut rajouter les vers de terre et les nématodes du sol, jouent un rôle majeur dans la dégradation initiale des déjections déposées par le bétail (dilacération, aération et enfouissement des bouses). En effet, leur action se manifeste essentiellement par l'établissement d'un système de galeries qui aèrent et fragilisent à la fois l'ensemble de la matière fécale. Ces galeries permettent à la bouse de se transformer en une annexe épigée du sol, facilitant sa

colonisation secondaire par des éléments de la mésofaune édaphique (Acariens, Collemboles, Myriapodes...) qui amènent avec eux, accrochés à la surface de leurs téguments, des bactéries et des spores de champignons telluriques qui vont se multiplier dans leur nouvel habitat. Pour leur part, les coléoptères coprophages ensemencent, par les déjections, l'intérieur des bouses avec les micro-organismes contenus dans leur tube digestif (voir figures 2 et 3 page suivante).

Ce système complexe d'interactions facilite considérablement la minéralisation ultérieure des bouses et leur disparition de la surface des pâturages (STEVENSON, 1987 - LUMARET, 1993). Outre la source de biodiversité que représente le maintien de cette pédofaune coprophage, son rôle majeur dans le nécessaire recyclage de la matière organique fait d'elle une organisation essentielle à conserver.

Le fort potentiel insecticide des macrolides, leur présence sous forme active dans les déjections du bétail, et l'utilisation des déjections animales par de nombreux invertébrés jouant un rôle essentiel dans le fonctionnement de l'écosystème prairial sont des faits indiscutables. La véritable question est donc de savoir si les résidus de macrolides excrétés par le bétail traité exercent réellement une action significative sur la pédofaune coprophage dans des conditions naturelles d'utilisation.

La découverte du fait que les avermectines soient naturellement éliminées dans les fèces et ceci sous forme de matière active, a très tôt, été proposé pour contrôler les populations d'insectes nuisibles au bétail (MEYER et col., 1980, 1981 - MILLER et col., 1981, 1986). Ces insectes, facteurs de gêne pour le bétail et l'éleveur ou véritables vecteurs de maladie, se trouvent être essentiellement des diptères interagissant avec les déjections du bétail.

Ainsi, de nombreuses publications datant du début des années 1980 démontrent que les avermectines excrétées rendent les bouses hostiles vis à vis de nombreux diptères nuisibles. Cette action par l'intermédiaire des bouses étant considérée comme un argument au lancement de la molécule.

Néanmoins, les avermectines étant déjà connues pour leur très large spectre d'action, il fut logique de penser que ces effets nocifs sur de nombreux invertébrés aient pu avoir des conséquences involontaires sur de nombreux animaux éléments de la pédofaune ; insectes coprophiles, diptères mais aussi coléoptères, ainsi que sur d'autres acteurs majeurs de la dégradation des bouses que sont les nématodes du sol et les vers de terre.

Figure 2 : Par induction directe ou indirecte, le grand herbivore, en pâturage extensif, est responsable de la présence de plusieurs milliers d'espèces animales et végétales (D'après Lecomte T., 1998).

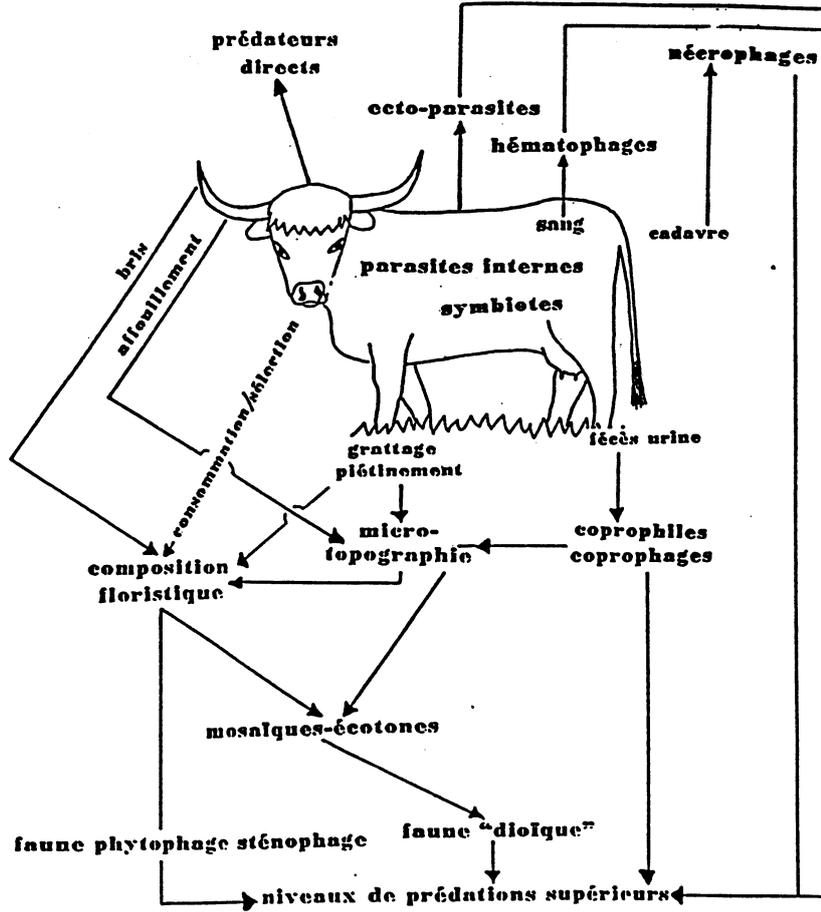
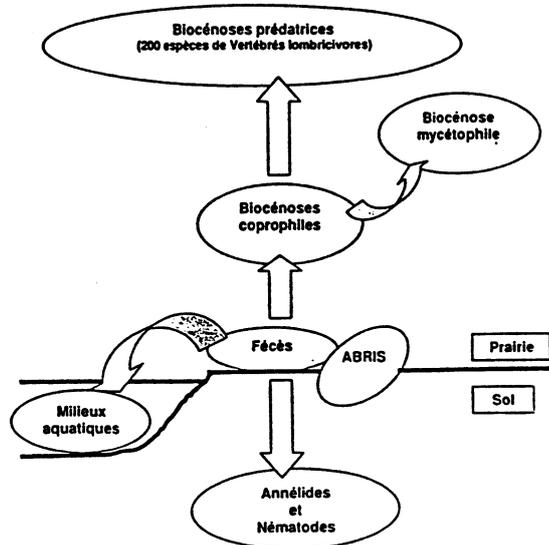


Figure 3 : Schématisation de l'insertion des biocénoses coprophiles dans l'écosystème prairial (D'après Lecomte T, 1998).



II- Les effets létaux

Bien qu'ils ne soient pas toujours faciles à définir avec précision, les effets létaux sont présents dans tous les ordres testés (STRONG, 1993 - STRONG et BROWN, 1987).

En effet, il n'existe pas de définition satisfaisante des effets létaux chez bon nombre d'invertébrés et notamment chez les insectes. Dans la majorité des études concernant l'action des avermectines sur les insectes adultes, la mort est souvent synonyme de paralysie ou d'immobilité. Or dans la succession des effets observés, AGEE (1985) décrit que les insectes montrent d'abord une perte progressive de la coordination motrice, suivie d'un état de torpeur avec perte complète de l'activité motrice, alors même que les battements cardiaques sont toujours observés, notamment chez *Heliothis zea*, pendant encore plusieurs jours.

De même, dans la majorité des études concernant les effets létaux au stade larvaire des résidus de macrolides contenus dans les bouses, la mortalité est mesurée en tant qu'échec à atteindre la forme adulte (inverse de l'émergence chez les insectes coprophages), ce qui peut être le résultat de la mort de la larve à l'un de ses stades ou de l'inhibition de sa métamorphose.

Néanmoins, dans tous les cas, les effets létaux sont fonction de la molécule, de la dose et de la durée d'exposition, et enfin de l'invertébré concerné selon son stade de développement (Adulte, Larves).

Pour simplifier la présentation des différents résultats d'études menées en laboratoire, nous choisirons de nous intéresser à l'effet léthal des macrolides chez les insectes diptères avant les insectes coléoptères et enfin chez les nématodes et vers de terre.

A- Sur les diptères coprophages

Ils ont été les premiers à être étudiés, du fait qu'un certain nombre d'entre eux peuvent être considérés comme nuisibles dans le milieu de l'élevage, tant par les effets de leur présence en nombre sur le bétail que par leur rôle de vecteur dans un certain nombre de pathologie parasitaire, bactérienne ou virale.

Dans la limite de notre sujet, nous nous cantonnerons à l'étude des diptères chez lesquels les déjections du bétail sont un espace sinon obligatoire voire fréquent dans lequel les insectes effectuent une ou plusieurs fonctions vitales pour l'espèce (nutrition, reproduction ..), que ce soit au stade adulte ou aux stades larvaires.

Pour la clarté de notre travail, nous étudierons d'abord l'effet sur les diptères adultes avant de nous intéresser à la mortalité des stades larvaires.

1- Cas des diptères adultes

Les diptères susceptibles d'être tués, au stade adulte, par les résidus de macrolides présents dans les bouses, sont essentiellement des diptères chez qui les adultes ont un régime alimentaire exclusivement constitué de déjections animales, fait relativement rare dans le milieu naturel.

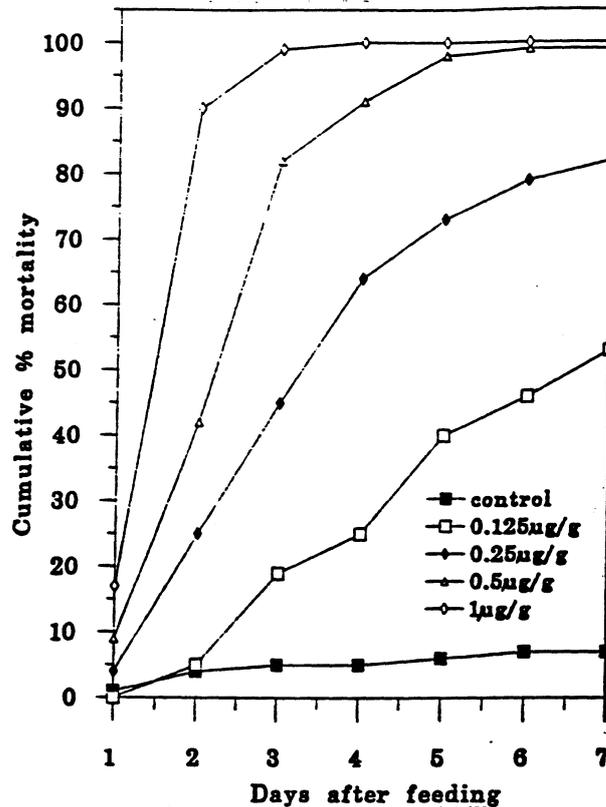
Cependant un certain nombre d'auteurs ont imposé, au travers de protocoles *in vitro*, ce type de régime alimentaire pour calculer les doses létales sur les diptères adultes.

Ainsi, dans une étude quelque peu théorique, ROUSH et WRIGHT (1986) ont exposé plusieurs lignées de mouches *Musca domestica* à différentes concentrations d'abamectine, sous forme non mélangée à des matières fécales, dans des pots de 450 ml. La dose létale 50 (DL50), dose entraînant la mort de 50 % de la population étudiée, pour les 6 souches plus ou moins résistantes à de nombreux insecticides organiques, s'échelonne de 3.9 à 10.7 µg par pot. La mortalité se produisant sur 24 heures après une longue période d'apparition progressive d'une paralysie totale.

Dans une expérimentation plus proche des conditions réelles d'exposition, GOVER et STRONG (1995), étudient la mortalité à 7 jours de jeunes adultes *Neomyia cornicina* nourris pendant 24 heures exclusivement avec des bouses contenant une quantité connue d'ivermectine allant de 0 à 1 µg par gramme de bouse fraîche. Les courbes de pourcentage de mortalité cumulative établies pour 5 concentrations différentes d'ivermectine dans les bouses sont reprises dans la figure 4.

Les taux de mortalité des adultes établis à 7 jours sont de 46,6% pour une concentration de 0,125 µg/g de bouse fraîche, 86,6% pour une concentration de 0,5 µg/g et de 100% pour les concentrations supérieures. Les auteurs établissent la Dose Létale 50 (DL50) et la Dose Létale 95 (DL95), pour des diptères adultes *Neomyia cornicina* exposés pendant 24 heures, respectivement à 0,139 µg/g et 0,393 µg/g (bouse fraîche).

Figure 4 : Pourcentage de mortalité cumulée sur des femelles et des mâles *Neomyia cornicina* âgées de 5 jours et nourries de bouses contenant différentes concentrations en ivermectine pendant 24 heures au jour 0. Les valeurs sont ramenées à un total de 100 *N. cornicina* par lot (50 mâles et 50 femelles) (d'après Gover et Strong, 1995).



Parallèlement à cela, à partir des mêmes données expérimentales mais publiées dans une autre étude (GOVER et STRONG, 1996), les auteurs soumettent en plus des individus de la même population de diptère à des bouses issues de bovins traités par bolus (*Ivomec* bolus -laboratoire Merial-distribuant 1,72 g d'ivermectine pendant au moins 135 jours) dans les mêmes conditions expérimentales. Les insectes nourris exclusivement sur des bouses issues de bovins traités par bolus, collectées 3 semaines après le traitement, montrent une mortalité à 7 jours de 93,3%. Comparant cette valeur aux données précédemment obtenues à partir de bouses précisément dosées, les auteurs concluent donc, par extension mathématique, qu'une bouse de bovin traité par bolus 3 semaines auparavant induit une mortalité d'adulte *Neomyia cornicina* équivalente à une bouse « fictive » contenant 0,66 µg d'ivermectine par gramme de matière fraîche.

On connaît, chez un certain nombre d'espèce de diptères, la nécessité pour les femelles adultes d'effectuer un important repas protéique pour pouvoir assurer la fonction de reproduction. C'est le cas des femelles de *Lucilia cuprina*, qui sont plutôt associées aux troupeaux de moutons et qui trouvent dans leurs excréments une source de protéines, certes pas de grande richesse, mais de grande facilité d'accès, indispensable pour atteindre leur maturité sexuelle. Ce diptère adulte, qui se nourrit beaucoup des déjections des ovins, est considéré comme nuisible pour cette espèce (nombreux dommages causés dans la laine par les larves). C'est pour ces deux raisons que c'est chez cette espèce que les effets létaux des résidus d'ivermectine contenus dans les excréments du bétail ont été les mieux étudiés.

MAHON et WARDHAUGH constatent, dès 1991, les effets létaux sur les adultes *Lucilia cuprina* des résidus d'ivermectine et signalent un effet dose et un effet sexe, les femelles étant probablement plus susceptibles que les mâles du fait de leur nécessaire repas protéique.

Avec la même problématique, COOK expérimente, la même année (1991) l'effet léthal d'un crottin de mouton émis 18 heures après traitement (Ivermectine, *per os*, 0,2mg/kg) disponible à volonté en parallèle d'une source d'eau et de glucose. Deux lots témoins diffèrent par leur source d'apport protéique ; soit une tranche de foie, soit des excréments de moutons non traités. Les adultes *Lucilia cuprina* des différents lots sont soumis à ce régime pendant tout le temps de l'expérimentation (14 jours).

Les adultes meurent en nombre considérable lorsqu'ils sont nourris au crottin contenant de l'ivermectine et, dans ce cas, les femelles meurent plus que les mâles. Alors que dans le cas des lots témoins, ce sont les mâles qui sont les plus fragiles. Quoi qu'il en soit, la mortalité des adultes en contact avec des résidus d'ivermectine est significativement plus importante que celle des lots témoins, particulièrement après 6 jours d'exposition aux résidus (tableau 1).

Tableau 1 : pourcentage de mortalité chez *Lucilia cuprina* adultes nourris pendant 10 jours sur crottins issus de moutons traités ou non traités (pourcentage de mortalité quotidien calculé sur le nombre d'individus encore vivants au jour précédent) (d'après Cook, 1991).

| Jours suivant le premier repas | Lot non traité | | Lot traité | |
|--------------------------------|----------------|----------|---------------|---------------|
| | Mâles | Femelles | Mâles | Femelles |
| 4 | 2.0 % | 0.0 % | 1.1 % | 0.0 % |
| 5 | 0.0 % | 1.2 % | 2.7 % | 2.7 % |
| 6 | 1.3 % | 0.0 % | 1.4 % | 6.8 % |
| 7 | 1.3 % | 0.0 % | 7.0 % | 23.5 % |
| 8 | 1.3 % | 1.3 % | 7.6 % | 13.5 % |
| 9 | 5.4 % | 0.0 % | 15.2 % | 36.7 % |
| 10 | 5.8 % | 0.0 % | 15.4 % | 26.3 % |

On constate principalement la plus grande sensibilité des femelles aux résidus d'endectocide et la toxicité croissante dès le 6 ème jour d'exposition.

COOK ,en 1993, étudie les effets de résidus d'ivermectine contenus dans les crottins de moutons traités (*per os*, 0,2mg/ kg) sur des adultes *Lucilia cuprina* des deux sexes et nourris tous les jours de crottins frais collectés entre J2 et J8 après traitement. Le taux de mortalité est calculé à intervalles réguliers au terme des 6 jours d'exposition. La mortalité des adultes exposés aux résidus d'ivermectine est, pour les deux sexes, toujours nettement supérieure a celle des lots témoins. La mortalité des femelles débute dès 3 jours d'exposition aux résidus et reste élevée (6 % par jour en moyenne) durant les 14 jours de l'étude alors que seules quelques femelles du lot témoin sont mortes le 14 ème jour. Les mâles sont aussi nettement plus atteints lorsqu'ils sont soumis aux résidus (taux de mortalité atteignant 25 % au 8 ème jour d'exposition) mais de manière plus tardive (entre 7 et 12 jours après le premier repas).

Ces constatations sont en partie contredites par les résultats de l'étude de MAHON et col. (1993), qui analysent, pour des adultes *Lucilia cuprina* nourris pendant 14 jours aux crottins de moutons, d'une part, les effets de doses dégressives en résidus d'ivermectine (protocole proche de celui de COOK, 1993) et d'autre part les effets de doses fixes (crottins J1 ou J4 par exemple, distribués pendant 14 jours). Alors que les auteurs constatent la toxicité aiguë uniquement des crottins émis le lendemain du traitement, ils constatent aussi l'absence de mortalité significative pour les adultes nourris

par des crottins supposés renfermer des doses dégressives d'ivermectine (dosages non effectués).

Il semble donc que les résidus d'endectocides ne peuvent présenter une toxicité aiguë que sur les diptères adultes strictement inféodés aux matières fécales et ceci principalement au moment du pic d'excrétion de la molécule par l'animal traité. Les effets létaux des résidus d'endectocides vis à vis des diptères adultes, même s'ils peuvent s'avérer important, semblent donc relativement ciblés. Néanmoins, la mise en évidence d'une possible toxicité létale cumulative pourrait élargir sensiblement la plateforme des espèces sensibles.

2- Cas des larves de diptère

Les larves de diptère issues d'œufs pondus dans les matières fécales de bovins traités aux endectocides sont, dès leur éclosion et pendant tout leur développement jusqu'à l'émergence sous forme adulte, directement au contact des résidus de ces molécules excrétés dans les bouses. Le fait que les femelles diptères pondent exclusivement sur des bouses fraîches et que les larves, certes mobiles, fréquentent uniquement l'excrétat sur lequel elles ont été pondues, fait des larves de diptères coprophages des individus particulièrement sensibles aux effets létaux des résidus d'endectocides.

L'effet léthal des avermectines sur les larves de diptères s'apprécie tout d'abord de manière standardisée en calculant la DL50 de différentes espèces de diptère, et ceci à différents stades larvaires.

En voulant s'affranchir de toutes considérations de milieu, HUGUES et LEVOT (1990) estiment la DL50 de différentes avermectines vis à vis de plusieurs souches, plus ou moins résistantes aux insecticides, du diptère calliphoridae, *Lucilia cuprina*.

Le protocole expérimental utilisé, fréquent pour estimer l'efficacité *in vitro* des insecticides, est fondé sur l'exposition directe des larves de diptères aux avermectines (application d'une solution concentrée au niveau de la capsule céphalique). Les auteurs concluent à une très grande sensibilité des larves de calliphoridae vis à vis des avermectines et annoncent des valeurs de DL50 comprises entre 0,0026 et 0,0067 mg par litre de solution, selon la molécule et la souche testée.

En se rapprochant un peu plus des conditions « naturelles » d'exposition des larves de diptère aux résidus d'ivermectines, SCHMIDT et KUNZ (1980), testent l'effet larvicide de différents insecticides sur des larves de *Stomoxys calcitrans* et *Haematobia irritans*. Ici, l'insecticide est mélangé, à concentration connue, avec un milieu reconstitué complet, proche du bousat naturel et apte, par lui-même, à faire éclore 70 % ou plus des œufs de diptère. Les œufs sont déposés en surface du milieu reconstitué final, dosé à des concentrations croissantes d'ivermectine et maintenus en conditions idéales jusqu'à l'émergence des adultes. La DL50, calculée en tenant compte de l'émergence du lot témoin, est de 0,048 ppm (ou 0,048 µg/g) pour les larves de *Stomoxys calcitrans* et de 0,003 ppm pour les larves de *Haematobia*

irritans (la DL90 aussi calculée par les auteurs est respectivement de 0,186 ppm et de 0,06 ppm).

Plus précisément, STRONG et JAMES (1992, 1993) étudient les effets létaux de concentrations d'ivermectine contenu dans des bouses, identiques à celles retrouvées chez les bovins traités de façon standard par injection d'ivermectine (SOMMER et col., 1991). En effet, selon les données établies par SOMMER et col. (1991), les bouses utilisées pour cette expérience sont issues de bovins non traités auxquelles sont rajoutées des quantités connues d'ivermectine pour tester des concentrations représentatives d'ivermectine allant de 0,25 ppm à 0,00048 ppm de bouse fraîche.

Les œufs de *Scatophaga stercoraria* sont déposés sur les différents milieux dosés en ivermectine et maintenus dans des conditions idéales jusqu'à l'émergence des adultes. Cependant, dans cette étude, les auteurs, de manière plus rigoureuse, ont observé étroitement les larves de diptère et observé la mortalité larvaire au bout de 24 et 48 heures pour calculer les doses létales correspondantes. Ainsi la DL50 calculée après 24 heures d'exposition est de 0,051 ppm d'ivermectine dans la bouse fraîche, et la DL50 pour 48 heures d'exposition des larves à l'ivermectine est de 0,036 ppm.

Par ailleurs, dans cette même étude, les auteurs ont voulu distinguer l'effet des résidus d'ivermectine sur la mortalité d'une part et sur la non émergence d'autre part. Les auteurs ont donc déterminé deux concentrations en résidus affectant de manières différentes la métamorphose des larves en adulte, la dose à laquelle 50 % des métamorphoses en pupes sont inhibées (D50 pupes) et la dose à laquelle 50 % des larves ne finissent pas la métamorphose en adulte (D50 adulte). La D50 adulte correspondant à la concentration en ivermectine à laquelle on n'observe qu'un taux d'émergence de 50 %. Les valeurs calculées sont de 0,015 ppm pour la D50 pupes et de 0,001 ppm pour la D50 adulte. Ces précisions ont surtout pour avantage de montrer que l'appréciation de la mortalité larvaire par la non-émergence d'adulte est toujours inexacte et que les concentrations qui bloquent l'émergence d'adultes peuvent être 30 à 50 fois moins élevées que les doses réellement létales pour les larves de diptères. Les conséquences, en terme de pérennité des espèces dans le milieu naturel, sont néanmoins parfaitement identiques.

Le tableau 2 reprend les différentes DL50 établies pour les larves de diptères.

On constate une grande diversité dans les valeurs établies selon le protocole expérimental choisi. Dès lors, la simple communication d'une seule valeur de DL50 semble dénuée d'intérêt par rapport à l'établissement d'un ordre de grandeur.

Tableau 2 : valeurs des DL50 larves de diptères établies par différents auteurs.

| Espèce testée | Molécule utilisée | Mode d'exposition | Durée étude | Critère Appréciation létalité | Doses Létales | Référence | Commentaire |
|--|-----------------------------------|--|--------------------------------|-------------------------------|--|--|---|
| <i>Lucilia cuprina</i> pop. sauvage | Ivermectine | Jeunes larves | ? | ? | DL50=0,0025 mg/L | Hughes P.B. et Levot G.W., 1990 | Protocole expérimental peu précis Unité peu comparable |
| | DL90=0,0091 mg/L | | | | | | |
| <i>Stomoxys calcitrans</i> | Abamactine | CEufs déposés sur milieu complexe (mat. fécale, bagasse, farines, eau...) | Jusqu'à émergence adulte | Non émergence adulte | DL50=0,0031 mg/L | Schmidt C.D. et Kunz S.E., 1980 | Mortalité larvaire diffère de non émergence d'adulte Absence de donnée sur taux d'humidité du milieu |
| | EMA 4deoxy 4epi abamectine | | | | DL90=0,015 mg/L | | |
| <i>Haematobia irritans</i> | MK933 (mélange avermectine) | CEufs déposés sur bouses | Jusqu'à larves 24H | ? | DL50=0,0028 mg/L | Strong L. et James S., 1992 | Milieu à 10% de matière sèche Ex : 0,0036 ppm Mat Fraîche = 0,36 ppm Mat. Sèche |
| | | | | | DL90=0,0078 mg/L | | |
| <i>Scatophaga stercoraria</i> | Ivermectine | CEufs déposés sur bouses | Jusqu'à larves 48H | ? | DL50=0,048 ppm Matière fraîche | Strong L. et James S., 1992 | Milieu à 10% de matière sèche Ex : 0,0036 ppm Mat Fraîche = 0,36 ppm Mat. Sèche |
| | | | Jusqu'à mue nymphale | Prévention nymphé | DL90=0,186 ppm | | |
| | | | Jusqu'à émergence adulte | Non émergence adulte | DL50=0,003 ppm DL90=0,006 ppm | | |
| | | | | | DL50=0,045 ppm Matière fraîche DL50=0,0036 ppm DL50=0,015 ppm DL50=0,001 ppm | | |

Les valeurs de DL50 restant très variables selon le protocole expérimental, de nombreux auteurs ont préféré quantifier l'effet létal des résidus d'endectocides en établissant la durée après traitement durant laquelle les bouses produites restent toxiques. Les larves de diptères sont donc soumises à des bouses issues de bovins traités, collectées à des dates précises après le traitement, pour déterminer pendant combien de jours les animaux traités produisent des bouses au sein desquelles l'émergence, notamment, des diptères adultes est impossible.

Considérant les effets d'une dose classiquement recommandée d'ivermectine (0,2 mg/kg) injectée à des bovins, la plupart des études concluent à l'inhibition totale de l'émergence des diptères dans les bouses émises pendant deux semaines environs (SOMMER et col., 1992 - MADSEN et col., 1990 - RIDSDILL-SMITH, 1988 - CLARKE et RIDSDILL-SMITH, 1990 - WARDHAUGH et RODRIGUEZ-MENENDEZ, 1988 - WARDHAUGH et col., 1996 - WARDHAUGH et MAHON, 1998,1991 - LUMARET et col., 1993 - KADIRI et col., 1999). Pour la majorité des auteurs, les effets létaux sont encore significatifs dans des bouses émises près d'un mois après l'injection (MADSEN et col., 1990 - RIDSDILL-SMITH, 1988 - CLARKE et RIDSDILL-SMITH, 1990 - WARDHAUGH et RODRIGUEZ-MENENDEZ, 1988 - WARDHAUGH et col., 1996 - WARDHAUGH et MAHON, 1991 - SCHMIDT, 1983 - MILLER et col., 1981).

Le tableau récapitulatif numéro 3 reprend les durées d'émission de bouses « toxiques » dans les différentes études abordées.

| Traitement effectué | Espèce testée | Mode d'exposition | Critère d'appréciation de la mortalité | Durée d'émission de bouses « stériles » (100% de mortalité) | Autres durées importantes | Référence | Remarque |
|----------------------------------|--|--|---|---|---|------------------------------|--|
| Ivermectine 0,2 mg/kg SC | <i>Musca domestica</i> | Jeunes larves sur bouse fraîche | Non émergence d'adultes à 3-4 sem. | ? | Durée 50% de mortalité larvaire D50=14,1 et 20,6 j. | Madsen M. et col., 1990 | <i>Musca autumnalis</i> plus sensible que <i>Musca domestica</i> |
| | <i>Musca autumnalis</i> | | | | | | |
| | <i>Musca domestica</i> | Jeunes larves sur bouse exposée au pâturage 7 et 62 jours en été | Non émergence d'adultes à 3-4 sem. | ? | D50(bouse 7j) =13,6 et 19,6 jours D50(bouse 62j) =15 jours | Madsen M. et col., 1990 | Peu de perte de toxicité au champs |
| Ivermectine 0,2 mg/kg SC | <i>Haematobia irritans</i> <i>Neomyia cornicina</i> | Jeunes larves sur bouse fraîche | Non émergence d'adultes à 2 sem. | 14 jours minimum | Effet non significatif à 28 jours | Sommer C. et col., 1992 | |
| | <i>Musca autumnalis</i> | idem | idem | | 92% de mortalité à 14 jours | Sommer C. et col., 1992 | <i>Musca autumnalis</i> moins sensible |
| Ivermectine 0,2mg/kg SC | <i>Musca vétustissima</i> | Jeunes larves sur bouse fraîche | Non pupation et Non émergence d'adultes | 14 jours | Effet non significatif à 35 jours | Wardhaugh K.G. et col., 1996 | |
| Moxidectine 0.2mg/kg SC | | | | Jamais | Effet non significatif à 2 jours | Wardhaugh K.G. et col., 1996 | Moxidectine moins toxique que Ivermectine |
| Ivermectine 0,2 mg/kg SC | <i>Neomyia cornicina</i> | Œufs déposés dans bouse fraîche | Non survie à la mue nymphale | 10 jours minimum | | Lumaret J.P. et col., 1993 | Pas de données à plus de 10 jours |
| Ivermectine 0,2 mg/kg SC | <i>Neomyia cornicina</i> | Œufs déposés dans bouse fraîche | Non émergence d'adultes | 20 jours | Effet non significatif à 34 jours | Kadiri N. et col., 1999 | |
| Moxidectine 0,2 mg/kg SC | | | | Jamais | Effet non significatif à 16 jours | Kadiri N. et col., 1999 | Moxidectine moins toxique |
| MK 933 0,2 mg/kg IM | <i>Haematobia irritans</i> | Œufs déposés dans milieu complexe | Non émergence d'adultes | 28 jours minimum | Effet non significatif à 42 jours | Schmidt C.D., 1983 | Différence de sensibilité |
| | <i>Stomoxys calcitrans</i> | | | Jamais | Effet non significatif à 7 jours | | |
| MK 933 0,2 mg/kg injection | <i>Haematobia irritans</i> | Œufs déposés dans bouse fraîche | Non émergence d'adultes | 4 semaines | Mortalité 25% à 6 sem. 0% à 7 sem. | Miller J.A. et col., 1981 | Différence de sensibilité |
| | <i>Stomoxys calcitrans</i> | | | Jamais | 30% à 6 sem. 0% à 7 sem. | | |

| | | | | | | | |
|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|----------|---|--|--|
| Ivermectine 0,2 mg/kg IM | <i>Neomyia cornicina</i> | Œufs déposés dans bouse fraîche | Non émergence d'adultes | 16 jours | 97% de mortalité à 32 jours | Wardhaugh K.G. et Rodriguez- Menendez H., 1988 | |
| Ivermectine SC | <i>Musca vétustissima</i> | Jeunes larves sur bouse fraîche | Non survie à la mue nymphale | 8 jours | 93% de mortalité à 16 jours Effet non significatif à 32 jours | Wardhaugh K.G. et Mahon R.J., 1998 | |
| Ivermectine Per os | | | | 4 jours | Effet non significatif à 32 jours | Wardhaugh K.G. et Mahon R.J., 1998 | Pic d'excrétion plus bref |
| Abamectine SC | | | | 16 jours | Effet non significatif à 32 jours | Wardhaugh K.G. et Mahon R.J., 1998 | Toxicité similaire avec Ivermectine |
| Abamectine 0,2 mg/kg SC | <i>Musca vétustissima</i> | Œufs déposés dans bouse fraîche | Non émergence d'adultes | 2 sem. | 71% de mortalité à 4 sem. 2% à 8 sem. | Clarke G.M. et Ridsdill- Smith T.J., 1990 | |

Tableau 3 : tableau récapitulatif des durées d'émission de bouses « toxiques ».

A partir de données établies en laboratoire dans des conditions « réelles » de traitement des bovins, on constate que, dans la majorité des études, les bouses émises plus de 15 jours après le traitement aux endectocides, sont encore stériles à tout développement de diptère.

Un élément marquant de la sensibilité des larves de diptères aux résidus d'endectocide est la différence d'effet constatée entre différentes espèces.

En effet, un certain nombre d'études ont testé en parallèle des larves de plusieurs espèces de diptères (SOMMER et col., 1992 - MADSEN et col., 1990 - MILLER et col., 1981 - SCHMIDT et KUNZ, 1980).

Alors que SCHMIDT et KUNZ, constatent la plus grande sensibilité de *Stomoxys calcitrans* par rapport à *Haematobia irritans* (DL50 distantes d'un facteur 15, DL90 distantes d'un facteur 30), MILLER et col. (1981) annoncent plutôt une sensibilité inversée dans le fumier.

MADSEN et col. (1990) constatent, quant à eux, une grande différence de sensibilité entre les larves de *Musca domestica* et de *Musca autumnalis*. Ainsi la moitié des larves de stade 1 de *Musca domestica* introduites sont mortes dans l'intervalle 14-20 jours alors que le même taux de mortalité pour des larves identiques de *Musca autumnalis* n'est atteint qu'au bout de 45 jours.

Ces résultats semblent ici confirmés par MILLER et col. (1981) qui concluent que la sensibilité aux résidus d'ivermectine peut se classer de façon croissante comme suit : *Stomoxys calcitrans* / *Musca domestica* / *Musca autumnalis* / *Haematobia irritans*.

SOMMER et col. (1992) confirment cet ordre croissant de sensibilité en concluant, pour sa part : *Musca autumnalis* / *Haematobia irritans* / *Orthellia cornicina*.

En conclusion, ces résultats démontrent une extrême sensibilité des larves de diptères coprophages à de faibles concentrations en résidus d'endectocides. Malgré des disparités d'espèces ou de groupes non encore entièrement expliquées, les conséquences létales rencontrées à des dosages parfaitement compatibles avec l'excrétion «naturelle» font des larves de diptères coprophages des populations particulièrement à risques.

B- Sur les coléoptères coprophages

Comme chez les diptères, il existe beaucoup de coléoptères qui utilisent les déjections du bétail. Certains adultes se nourrissent même directement du liquide issu des bouses. Cependant, la majorité des bousiers produisent des boules de matières fécales transportées pour nourrir leurs petits tandis que d'autres pondent au sein même de la bouse et les larves se développent directement à partir de cette ressource.

Un certain nombre d'études ont révélé que les bousiers testés étaient sensibles à l'empoisonnement aux résidus d'ivermectines, au stade adulte comme aux stades larvaires. Mais, comme chez les diptères, les coléoptères adultes sont beaucoup moins sensibles que les larves.

1- Cas des bousiers adultes

L'effet léthal des résidus d'ivermectines sur les bousiers adultes a fait l'objet de quelques études quantitatives dont essentiellement celle de WARDHAUGH et RODRIGUEZ-MENENDEZ (1988) dans laquelle on constate rapidement que la teneur en résidus des déjections mais aussi l'âge du coléoptère adulte ont une grande importance.

Dans cette étude, les auteurs se concentrent sur les effets des résidus d'une injection intra-musculaire d'ivermectine, à la dose recommandée de 0,2 mg/kg de poids vif, sur trois espèces de bousier jouant un large rôle dans la dégradation des bouses dans le sud de l'Espagne ; *Copris hispanus*, *Bubas bubalus* et *Onitis belial*.

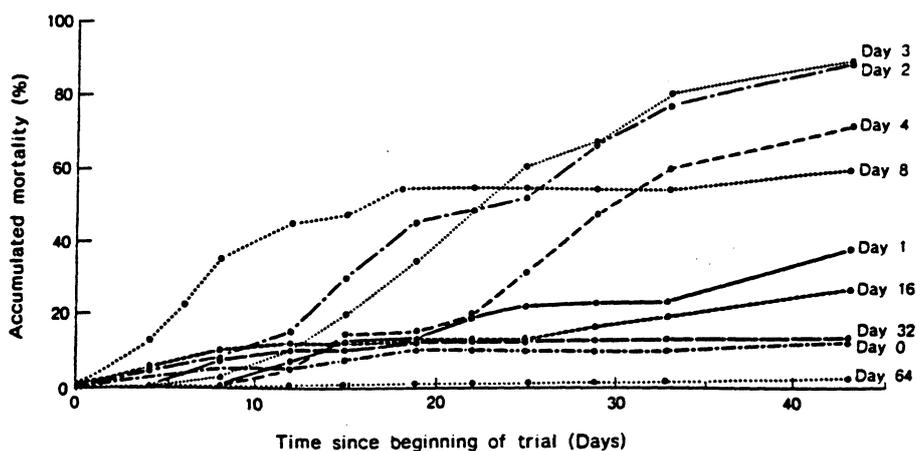
Les bouses sont collectées à J0, J1, J2, J3, J4, J8, J16 et J32 après traitement et conservées de façon adéquate.

Les bouses émises le même jour (ex : J3) sont ensuite distribuées, *ad libitum*, pendant 5 semaines aux bousiers de différentes espèces et de différents stades de maturité pour étudier les facteurs létaux et sublétaux.

Le taux de mortalité des coléoptères adultes est, avant tout, fonction de la teneur en ivermectine des bouses. Ainsi les très jeunes adultes de *Copris hispanus* (juste sortis de la mue imaginale) présentent 90% de mortalité sur des bouses J2 et J3 (correspondant au pic d'excrétion de la molécule) pour 27,5% de mortalité sur des bouses prélevées à J16 (moindre excrétion de la

molécule). Après J16, le taux de mortalité ne présente plus de différence significative avec le lot témoin (J0) (voir figure 5).

Figure 5 : pourcentage de mortalité cumulée chez de jeunes adultes *Copris hispanus* nourris à partir de bouses issues de bovins traités à la dose de 0,2 mg/kg (d'après Wardhaugh et Rodriguez-Menendez, 1988).



On constate la forte toxicité des déjections émises entre J2 et J8 après le traitement.

La seconde constatation importante concerne les effets de l'âge et donc du stade de maturité des coléoptères adultes. Ainsi, comme on l'a vu précédemment, les très jeunes adultes de *Copris hispanus*, soumis à des bouses J3 pendant 5 semaines, présentent un taux de mortalité de 90% alors que des adultes sexuellement matures de cette même espèce, soumis au même régime, semblent totalement insensibles aux effets mortels de la molécule.

Cette sensibilité importante des très jeunes adultes a été confirmée par HOULDING et col. (1991) concernant une autre espèce de bousier, *Onthophagus binodis*. En effet, les très jeunes adultes, se nourrissant sur des bouses de bovins traités à l'abamectine collectées entre J3 et J5 (pic d'excrétion de la molécule) pendant un minimum de deux semaines, présentaient une mortalité significativement plus élevée que le lot témoin (taux de mortalité augmenté de 20%). Les résultats de cette étude,

concernant des femelles plus âgées de la même espèce, montrent une sensibilité proportionnellement moins importante que chez les jeunes. L'insensibilité des adultes matures de cette même espèce aux résidus d'ivermectines ayant été précédemment démontré par l'étude de RIDSDILL-SMITH (1988) (tableau 4).

Tableau 4 : taux de mortalité de bousiers femelles *Onthophagus binodis* soumis à trois régimes différents (d'après Ridsdill-Smith, 1988).

| | Groupe témoin Absence d'abamectine | Groupe 1 2 semaines d'abamectine | Groupe 2 8 semaines d'abamectine | |
|--|--|--|--|----------------------------------|
| Taux de mortalité jeunes femelles | 50% | 70% | 71% | X ² =9.955 P< 0.01 |
| Taux de mortalité femelles plus âgées | 60% | 80% | 88% | X ² =11.404 P<0.01 |

On constate la sensibilité des jeunes femelles soumises à minimum 2 semaines d'aliment contenant des résidus.

A l'inverse des très jeunes adultes, les coléoptères sexuellement matures restent, en grande majorité, insensibles aux effets létaux des résidus d'ivermectines trouvés dans les excréments (WARDHAUGH et RODRIGUEZ-MENENDEZ, 1988 - RISDILL-SMITH, 1988 - RONCALLI, 1989 - FINCHER, 1992 - LUMARET et col., 1993).

De telles différences majeures de sensibilité aux résidus d'ivermectines en fonction de l'âge reste encore à expliquer mais sont probablement à relier soit à un changement de la perméabilité de la cuticule de l'insecte, soit à un besoin alimentaire moindre des coléoptères, une fois la maturité sexuelle atteinte. La baisse du volume alimentaire qui fait suite à l'apparition du comportement de maturité sexuelle ayant déjà été décrit chez différents coléoptères. (WARDHAUGH et RODRIGUEZ-MENENDEZ, 1988)

Le dernier facteur influençant la mortalité des bousiers adultes semble être un facteur d'accumulation. D'après l'étude de WARDHAUGH et RODRIGUEZ-MENENDEZ (1988), il semblerait que l'effet léthal de l'ivermectine soit dû à une lente accumulation par l'intermédiaire de la fonction trophique. En effet, on constate que, dans les premières semaines de l'expérience et quelle que soit la dose d'ivermectine à laquelle sont soumis les coléoptères, l'activité alimentaire de ceux-ci est au plus fort alors que la

mortalité des adultes commence réellement à se faire ressentir au bout de 2 semaines.

On peut donc supposer que la mortalité des jeunes adultes est due à la cumulation des effets toxiques de l'ivermectine ingérée, plutôt qu'à une propriété répulsive ou antinutritionnelle de l'ivermectine qui mènerait à la mort par défaut d'absorption alimentaire.

L'étude de HOULDING et col. (1991) permet de mieux caractériser cette période d'accumulation du toxique en comparant les taux de mortalité entre deux lots d'*Onthophagus binodis* soumis à deux durées d'exposition au polluant différentes. Un lot est nourri sur bouse contenant des résidus pendant 2 semaines puis ensuite sur bouse vierge pendant 6 semaines alors que le second lot est nourri pendant 8 semaines avec de la bouse issue de bovins traités. Les taux de mortalité sont élevés mais il n'existe aucune différence significative entre les deux lots. En reproduisant les conditions naturelles, la dose létale est donc bien atteinte par accumulation, mais ceci sur une période suffisante de 2 semaines ; durée correspondant à la période de ponte de la femelle bousier.

Le tableau récapitulatif suivant (tableau 5) reprend les pourcentages de mortalité observés sur les coléoptères adultes dans les différentes études analysées.

| Traitement | Espèce | Stade | Durée d'exposition | Déjection distribuée | Pourcentage de mortalité | Référence | Remarque |
|--------------------------------------|----------------------------|--------------------|--------------------|---|--|---|---|
| Ivermectine 0,2 mg/kg IM | <i>Copris hispanus L.</i> | Jeune | 10 jours | Bouse J0 Bouse J16 Bouse J32 | 12,5% 27,5% (*) 12,5% | Wardhaugh K.G. et Rodriguez- Menendez H., 1988 | J2 à J16 Toxiques Effet cumulatif |
| | | | 43 jours | Bouse J2-J3 | 90% | | |
| | <i>Bubas bubalus</i> | Mature | 5 sem. | Bouse J0 Bouse J16 Bouse J32 Série J1-J8 | 0% 0% 9% (**) 0% | | Espèce et stade très peu sensible |
| | <i>Onitis bérial</i> | Jeune | 5 sem. | Bouse J0 Bouse J16 Bouse J32 Série J1-J8 | 0% 75% (*) 22,2% (*) 44 à 89% (*) | | Espèce et stade très sensible |
| Abamectine 0,2 mg/kg injection | <i>Onthophagus binodis</i> | Jeune (1 sem.) | 2 sem. 8 sem. | Bouses J3-J4-J5 | 70% 71% | Houlding B. et col.,1991 | Forte mortalité du témoin négatif mais augmentation de 20% (*) |
| | | Adulte (8 sem.) | 2 sem. 8 sem. | | 80% 88% | | |
| Abamectine 0,2 mg/kg injection | <i>Onthophagus binodis</i> | Adulte | 16 jours | Sem. 1 Sem. 2 Sem. 4 Sem. 8 Sem. 11 | 0% 4% 34% 12% 4% | Risdill- Smith T.J.,1988 | Témoin : traitement au lévamisol Pas de différence significative |

| | | | | | | | |
|--|---|------------------|---|-----------------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Ivermectine Abamectine 0,2 mg/kg SC | <i>Onthophagus gazella</i> | Adulte | ? | ? | Absence d'effet | Roncalli R.A., 1989 | Absence de données précises |
| Ivermectine 0,2 mg/kg SC | <i>Euoniticellus fulvus</i> | Adulte | ? | Bouses de J2 à J31 | Absence d'effet | Lumaret J.P. et col., 1993 | Absence de données précises |
| Ivermectine 0,2mg/kg SC | <i>Euoniticellus fulvus Onthophagus gazella</i> | Adulte mature | ? | Bouses de sem.1 à sem.10 | Absence d'effet | Fincher G.T., 1992 | Absence de données précises |

(*) différence significative avec les autres valeurs

(**) différence hautement significative avec les autres valeurs

Tableau 5 : tableau récapitulatif des pourcentages de mortalité observés sur les coléoptères adultes.

On peut donc conclure à une toxicité aiguë modérée des résidus d'endectocide sur les bousiers adultes, surtout après leur maturité sexuelle. Néanmoins, la mise en évidence d'une toxicité cumulative et fatale apparaît comme plus lourde de conséquences chez des insectes dont le régime alimentaire, au moins à la saison de ponte, est pour beaucoup d'entre eux très spécifique et se compose uniquement de matière fécale des grands herbivores.

2- Cas des larves de bousier

Un certain nombre d'études réalisées en laboratoire ont permis de caractériser les conséquences létales des résidus de macrolides contenus dans les bouses de bovins traités sur les larves de coléoptères.

Ainsi, dans l'étude de SOMMER et OVERGAARD NIELSEN (1992), des couples de bousiers rouleurs *Onthophagus gazella* aux stades adultes matures sont installés dans des bacs contenant un sol neutre sur les deux tiers de sa profondeur sur lequel on reconstitue une bouse à partir de déjections prélevées à dates fixes sur des bovins traités à l'ivermectine (0,2 mg/kg, SC). Les coléoptères vont réaliser des boules de matières fécales dans laquelle la femelle va pondre un œuf. Dans le contexte naturel, ces boulettes, une fois enfouies dans une galerie souterraine, permettront le développement entier de la larve jusqu'à l'âge adulte. Dans le contexte expérimental, les trois séries de mesures sont réalisées à partir de bouses prélevées 2 jours (J2), 7 jours (J7) et 17 jours (J17) après l'injection d'ivermectine et l'analyse des boulettes formées par les couples de bousier se fait au bout de 28 jours. En parallèle de l'analyse du devenir des larves, la concentration en ivermectine des matières fécales est calculée à deux moments de l'expérience ; à l'émission des bouses par les bovins (J2, J7, J17) et au bout de 28 jours dans les boulettes entourant les différents stades larvaires.

Concernant les effets larvicides, le nombre d'immatures ainsi que leurs différents stades sont donnés dans le tableau 6 suivant.

Tableau 6 : stades larvaires d'*Onthophagus gazella* développés en 28 jours au sein des boules de matière fécale issus des 4 lots comprenant chacun 4 mâles et 4 femelles bousiers adultes.

| | Lot bouses J2 | Lot bouses J7 | Lot bouses J17 | Contrôle (bouses J0) |
|--|---------------------------------|-----------------|-----------------|----------------------|
| Concentration en ivermectine dans les bouses fraîches | 3,8 ppm (matière sèche) | 1,6 ppm +/- 0,2 | 0,3 ppm +/- 0,0 | 0,0 |
| Concentration en ivermectine dans les boules de 28 jours | 0,5 ppm +/- 0,0 (matière sèche) | 0,2 ppm +/- 0,0 | 0,0 ppm +/- 0,0 | 0,0 |
| Nombre de boules avec : | | | | |
| Larves | 0 | 1 | 26 | 47 |
| Prépupes | 0 | 0 | 18 | 21 |
| Pupes | 0 | 0 | 128 | 40 |
| Absence de chambre | 4 | 1 | 0 | 0 |
| Chambre vide (mortalité précoce) | 174 | 92 | 5 | 2 |

On constate l'absence quasi totale de développement larvaire dans les bouses émises entre J2 et J7 après traitement. La mortalité des larves d'Onthophagus gazella, au sein de bouses émises à J17 après l'injection, ne varie que très peu du lot témoin.

L'injection standard d'ivermectine à des bovins aurait donc pour effet d'empêcher tout développement de larves de coléoptères dans les bouses émises pendant au moins une semaine alors qu'elle n'aurait quasiment plus d'effet mortel sur ces mêmes larves dans les bouses émises à J17.

Des résultats similaires ont été constatés par la plupart des auteurs. LUMARET et col. (1993) constatent 100 % de mortalité larvaire pour *Euoniticellus fulvus* dans des bouses émises à J1 et J10 après traitement standard des bovins. De même, WARDHAUGH et RODRIGUEZ-MENENDEZ (1988) ont constaté, dans des conditions expérimentales similaires, que les larves d'un autre bousier, *Copris hispanus*, présentaient un taux de

mortalité de 100% dans des bouses émises à J3 et J8. Ce taux descendant à 12% de mortalité, pour les bouses émises à J16.

Vis à vis de la durée d'action de l'injection d'ivermectine sur les larves de bousiers, certains auteurs ont constaté des effets larvicides sur des périodes plus prolongées. RONCALLI (1989) constate ainsi, après injection de façon standard d'abamectine à des bovins, un effet larvicide sur *Onthophagus gazella* pendant au moins 21 jours, les larves ne survivant normalement que dans des bouses émises à J28.

Chez une espèce du même genre, *Onthophagus binodis*, RIDSDILL-SMITH (1988), en utilisant là aussi l'abamectine (Avermectine B1), confirme la mortalité de la totalité des larves dans des bouses émises une semaine après l'injection. Néanmoins l'augmentation du taux de mortalité des larves est restée significative pendant au moins quatre semaines.

Outre une durée d'action variable sur la mortalité des larves de coléoptères, certaines études ont montré que les résidus d'ivermectine, n'affectent pas, de manière identique toutes les espèces de bousier. Ainsi certaines larves de bousier, soumises aux mêmes conditions expérimentales, seraient plus sensibles que d'autres aux effets létaux des résidus d'ivermectine.

Dans une étude visant à comparer les effets sur les insectes coprophages de l'injection, à deux doses bien différentes (0,2 mg/kg -dose recommandée- ou 0,02 mg/kg), d'ivermectine à des bovins, FINCHER (1992) confirme un certain nombre de points. Outre la plus grande sensibilité des larves de diptères (le taux de mortalité larvaire est sensiblement augmenté, même pour des injections à 0,02 mg/kg), l'auteur constate une différence d'effets entre les deux espèces de coléoptères testés (mortalité larvaire uniquement lors du dosage 0,2 mg/kg).

Alors que pour les larves du bousier *Euoniticellus intermedius* les effets létaux des résidus d'ivermectine ne sont présents que sur des bouses émises la première semaine après l'injection d'endectocide (100 % de mortalité sur les bouses émises une semaine après l'injection, (mortalité non significative sur bouses émises en deuxième semaine), les larves du second bousier testé, *Onthophagus gazella*, semblent beaucoup plus sensibles. En effet, pour cette espèce, le taux de mortalité larvaire est de 100 % dans les bouses collectées en fin de première semaine mais reste de 93,4 % en fin de deuxième semaine. Dans cette espèce, les effets létaux de l'ivermectine ne deviennent non significatifs que lors de la troisième semaine après l'injection.

Cette différence de sensibilité selon les espèces testées est aussi constatée par SOMMER et col. (1993b). Dans cette étude, les auteurs comparent les effets d'une injection d'ivermectine (0,2 mg/kg, SC) sur deux espèces de bousiers africains, *Onthophagus gazella* et *Diastellopalpus quinquegens*. Les bouses sont prélevées à J2, J7-8 et J16-17 après l'injection aux bovins et sont, selon un protocole classique pour estimer les effets sur les larves de coléoptères rouleurs, soumis à des couples de bousiers matures invités à se reproduire. L'effet sur les larves est estimé au bout de 28 jours.

Alors que pour les larves de *Onthophagus gazella*, le taux de mortalité est de 100 % à J2, 99 % à J7-8 et de 3 % à J16-17, les larves de *Diastellopalpus quinquegens* apparaissent beaucoup plus résistantes puisque les taux de mortalité pour cette espèce ne sont que de 72 % à J2, 10 % à J7-8 et 6 % à J16-17. Malgré leurs genres très proches, *Diastellopalpus* ayant parfois été décrit comme un sous-groupe de *Onthophagus*, les deux espèces testées présentent une grande différence de sensibilité aux résidus d'ivermectine.

Plus récemment, dans une étude visant à comparer les effets de deux générations d'endectocides sur la faune entomologique du pâturage, LUMARET et KADIRI (1998) et KADIRI et col. (1999) constatent la faible sensibilité des larves de bousier *Aphodius haemorrhoidalis*. Dans le cas de cette expérience des larves d'*Aphodius* (premier ou début du second stade) sont installées dans des bouses de bovins soit traités à l'ivermectine (0,2 mg/kg, SC), avermectine naturelle de première génération, soit traités à la moxidectine (0,2 mg/kg, SC), milbémécine synthétique de dernière génération. Que ce soit dans le lot traité à l'ivermectine ou dans celui traité à la moxidectine, le taux de mortalité larvaire d'*Aphodius haemorrhoidalis*, calculé au bout d'un mois de contact, ne diffère pas significativement de celui du lot témoin. De tels résultats peuvent être dus à la faible sensibilité de l'espèce de coléoptère choisie, mais peut-être aussi à la différence dans le protocole expérimental. Ici les larves de premier stade (issues d'un élevage « sain ») ne sont déposées au sein des bouses « toxiques » que tardivement par rapport aux cas où on expose les couples avant même l'accouplement aux résidus d'endectocides.

De telles différences de sensibilité des larves de bousiers aux résidus d'endectocides contenus dans les bouses, n'ont pas encore, à ce jour, trouvées d'explications satisfaisantes.

Le tableau 7 reprend les pourcentages de mortalité observés chez les larves de coléoptères dans les études précédentes.

En conclusion, chez les coléoptères comme chez les diptères, les stades larvaires sont beaucoup plus sensibles aux résidus d'endectocides que les adultes. Ceci probablement du fait de leur régime alimentaire et leur milieu de vie (perméabilité cuticulaire) plus largement contaminé. Même si les effets létaux restent majeurs, les larves de coléoptères semblent cependant plus résistantes que les larves de diptères. Maigre compensation pour cet ordre dont la grande fragilité provient de sa faible fertilité.

Tableau 7 : tableau récapitulatif des pourcentages de mortalité observés chez les larves de coléoptères.

| Traitement | Espèce | Exposition | Pourcentage de mortalité larvaire | Référence | Remarque |
|---------------------------------------|--|---|---|---|---|
| Ivermectine 0,2 mg/kg SC | <i>Onthophagus gazella</i> | Couples déposés sur bouses J2, J7 ou J17 pdt 28 jours | 100% avec J2 99% avec J7 non significatif avec J17 | Sommer C. et Overgaard-Nielsen B., 1992 | Effet cumulé de la non reproduction et mortalité larvaire |
| Ivermectine 0,2 mg/kg IM | <i>Copris hispanus</i> | Couples déposés sur bouses J3, J8 ou J16 | 100% avec J3 100% avec J8 non significatif avec J16 | Wardhaugh K.G. et Rodriguez-Menendez H., 1988 | Idem |
| Ivermectine 0,3 mg/kg SC | <i>Onthophagus gazella</i> | ? | 100% avec J14 non significatif avec J28 | Roncalli R.A., 1989 | Pas de données précises |
| Ivermectine 0,2 mg/kg SC | | | 100% avec J10 | | |
| Abamectine 0,2 mg/kg SC | | | 100% avec J21 non significatif avec J28 | | |
| Abamectine 0,2 mg/kg injection | <i>Onthophagus binodis</i> | Couples déposés sur bouses J7, J14, J28 ou J60 | 100% avec J7 non significatif avec J60 | Ridsdill-Smith T.J., 1988 | Groupe témoin traité au lévamisol |
| Ivermectine 0,2 mg/kg injection | <i>Euoniticellus intermedius</i> | Couples déposés sur bouses de sem.1 (J7) jusqu'à sem.10 (J70) | 100% avec sem.1 non significatif de sem.2 à sem.10 | Fincher G.T., 1992 | <i>Onthophagus</i> plus sensible que <i>Euoniticellus</i> |
| | <i>Onthophagus gazella</i> | | 100% avec sem.1 93% avec sem.2 non significatif ensuite | | |
| Ivermectine 0,2 mg/kg SC | <i>Onthophagus gazella</i> <i>Diastellopalpus quinquegens</i> | Couples déposés sur bouses J2, J8 ou J16 | 100% avec J2 99% avec J8 non significatif avec J16 72% avec J2 10% avec J8 non significatif avec J16 | Sommer C. et col., 1993 | <i>Onthophagus</i> plus sensible que <i>Diastellopalpus</i> |
| Moxidectine 0,2 mg/kg SC | <i>Aphodius haemorrhoidalis</i> | Jeunes larves déposées dans bouses de J1 à J38 | Faible mortalité (15-20%) | Lumaret J.P. et Kadiri N., 1998 | Protocole différent car ici larves déposées |
| Ivermectine 0,2 mg/kg SC | | | Aucun effet significatif quelle que soit l'expérience | | |
| Moxidectine Abamectine | <i>Onthophagus gazella</i> | Couples déposés sur bouses reconstituées, dosées | Mortalité significative qu'au dessus de 512 µg/kg avec moxidectine et dès 16 µg/kg avec abamectine | Doherty W.M. et col., 1994 | Moindre toxicité de la Moxidectine |
| Ivermectine 0,2 mg/kg injection | <i>Euoniticellus fulvus</i> | Jeunes larves déposées sur bouses de J1 et J10 pdt 29 jours | 100% avec J1 non significatif avec J10 | Lumaret J.P. et col., 1993 | |