

# L'utilisation d'une formulation à base de *Bacillus thuringiensis* H14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest

## II — Stabilité dans les conditions de stockage en milieu tropical <sup>(1)</sup>

Pierre GUILLET <sup>(2)</sup>

Henri ESCAFFRE <sup>(3)</sup>

Jean-Michel PRUD'HOM <sup>(3)</sup>

### Résumé

La formulation Teknar<sup>®</sup> (Sandoz) à base de *Bacillus thuringiensis* H14 présente une stabilité remarquable dans les conditions de stockage en milieu tropical. Après 16 mois de stockage à Bouaké (Côte d'Ivoire) sous abri comme en plein soleil, cette formulation conserve toute son efficacité vis-à-vis des larves du complexe *S. damnosum*. Les dilutions d'eau qu'il est nécessaire de réaliser pour son utilisation sont également stables pendant plus de 6 mois.

**Mots-clés :** Complexe *S. damnosum* — Onchocercose — *Bacillus thuringiensis* H14 — Stabilité stockage.

### Summary

THE USE OF A *Bacillus thuringiensis* H14 FORMULATION FOR ONCHOCERCIASIS CONTROL IN WEST AFRICA. II — STORAGE STABILITY

The Teknar<sup>®</sup> formulation, a water based dispersible concentrate of *Bacillus thuringiensis* H14 (Sandoz) stored during 16 months right in the sun in a tropical country (at Bouaké, Ivory Coast) remains fully effective against *S. damnosum* complex larvae. The mean maximum temperature in the sun during this storage was 32,3° C with a maximum of 35,6° C. No difference was observed between batches stored in the sun and in an air-conditioned room. The formulation has to be diluted with 20 % of water before its use and this dilution is also quite stable more than 6 months. Storage stability does not represent in any way a factor limiting the operational use of *B. thuringiensis* H14 in onchocerciasis control programmes.

**Key words :** *S. damnosum* complex — Onchocerciasis — *Bacillus thuringiensis* H14 — Storage stability.

La formulation Teknar<sup>®</sup> (Sandoz) à base de *Bacillus thuringiensis* H14 présente une efficacité vis-à-vis des larves du complexe *S. damnosum* ainsi que des caractéristiques physiques qui per-

mettent d'envisager favorablement son utilisation opérationnelle dans le cadre de la lutte contre l'onchocercose (Guillet *et al.*, 1982). Cette utilisation pose toutefois de sérieux problèmes logistiques

(1) Cette recherche a reçu le support financier du Programme Spécial P.N.U.D.-Banque Mondiale-O.M.S. de Recherches et de Formation concernant les Maladies Tropicales, dans le cadre des accords passés entre l'O.R.S.T.O.M., et l'O.C.C.G.E.

(2) Entomologiste médical O.R.S.T.O.M., I.R.T.O., BP. 1500, Bouaké, Côte d'Ivoire.

(3) Technicien d'entomologie médicale de l'O.R.S.T.O.M., I.R.T.O., BP. 1500, Bouaké, Côte d'Ivoire.

dans la mesure où les quantités à appliquer demeurent élevées (1,6 mg/l/10 mn soit 960 cc par m<sup>3</sup>/s de débit) et où il est nécessaire de diluer préalablement la formulation avec de l'eau avant de l'utiliser. Du fait de l'apparition d'une résistance au téméphos (Guillet *et al.* 1980a) et plus récemment d'une résistance croisée à un autre composé organophosphoré, le chlorphoxim (Kurtak *et al.*, 1982), le Teknar demeure le seul alternatif valable pour le traitement des zones où se manifeste la résistance.

La  $\delta$ -endotoxine du *B. thuringiensis* H14 possède une stabilité remarquable. La poudre primaire R 153-78 conservée sous récipient hermétique en zone tropicale (Bouaké, Côte d'Ivoire) (Guillet *et al.*, 1980b) ou en suspension aqueuse au laboratoire (Sinègre, 1980) conserve pendant plus de six mois toute sa toxicité. Contrairement à la poudre primaire, les formulations telles que le Teknar contiennent un certain nombre d'ingrédients (inhibiteurs de fermentation, agents tensioactifs...) susceptibles d'affecter la stabilité de la toxine. De plus l'utilisation opérationnelle du Teknar suppose un stockage prolongé des fûts en plein soleil sur les aires de ravitaillement (durée minimum de un an). En outre, la dilution de la formulation juste avant utilisation s'avère être difficilement réalisable et devrait être faite par avance.

Une étude a été entreprise sur la stabilité de la formulation Teknar dans diverses conditions de stockage en milieu tropical ainsi que sur la stabilité des dilutions prêtes à l'emploi.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1.1. La formulation

Le Teknar est une suspension concentrée de spores et cristaux de *B. thuringiensis* H14. Son titre biologique est d'environ 600 unités internationales *Aedes aegypti* par milligramme. Sa viscosité est élevée (2 000 CP à 18°C) et l'on n'observe avec le temps aucune sédimentation des matières solides dans les fûts. Les tests ont été réalisés avec un lot de 2 000 l parvenu en Côte d'Ivoire au mois de septembre 1980.

### 1.2. Les conditions de stockage

Trois fûts de plastique blanc d'origine ont été stockés à Bouaké respectivement en plein soleil, sous abri dans un magasin et dans un local climatisé

pendant les heures chaudes (bureau). Les prélèvements ont été effectués après 4, 6, 10 et 16 mois, en milieu de fût après agitation. En plein soleil, tout au long de la période de stockage, la moyenne des températures maxima a été de 32,3°C variant de 29,5 à 35,6°C. Sous abri, la température moyenne a été de 25,6°C (moyenne des maxima : 30,9°C et des minima : 21,4°C). En local climatisé, la température moyenne est de l'ordre de 24°C et les variations sont relativement faibles ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ). Des lots de formulation dilués avec 20 % d'eau du robinet ont également été stockés en récipients de verre sous abri et testés au bout de 1, 2, 4, 20, 45 et 180 jours.

### 1.3. Le contrôle de l'efficacité des lots

Les lots correspondant à différentes durées de stockage ont été testés à l'aide d'un dispositif de minigouttières.

La méthodologie a été décrite précédemment (Guillet *et al.*, 1982). Les dilutions préalables ont été testées comparativement à une dilution préparée extemporanément à partir du lot conservé en local climatisé. Deux tests complets ont été réalisés avec ce lot après 10 et 16 mois de stockage afin de pouvoir comparer les valeurs caractéristiques à celles d'un lot n'ayant subi aucun stockage prolongé. Les tests ont été réalisés à Akakro sur le Goué, petite rivière de forêt peuplée par *S. squamosum* et à Touba sur la FéréDougouba, grande rivière de savane peuplée par *S. soubrense* résistant au téméphos.

## 2. RÉSULTATS

A la concentration de 0,3 mg/l/10 mn, on peut observer une différence significative d'efficacité entre les lots : après 4 et 10 mois de stockage, le lot conservé en local climatisé présente une efficacité supérieure aux autres tandis que l'on observe exactement l'inverse après 16 mois de stockage. En revanche, la mortalité des larves exposées à une concentration de 1,6 mg/l/10 mn, proche de la CL 100, ne permet de déceler aucune différence significative d'efficacité quelles que soient la durée et les conditions du stockage (tabl. I). Les tests complets réalisés après 10 et 16 mois de stockage confirment ces résultats dans la mesure où l'on n'observe entre les lots testés aucune différence significative au niveau des CL 50 et CL 95 (tabl. II). Après 16 mois de stockage, les droites de régression

TABLEAU I

Efficacité du Teknar en fonction de la durée et des conditions de stockage (tests en gouttières, 4 répliques par lot)

Nombre de mois de stockage	Conditions de stockage	Lieu	Concentration testée (mg/l/10 mn)	Mortalité observée et (nombre de larves testées tous stades)
4	Bureau	Akakro	0,3	83,7 ± 3,4 (535)
	Magasin	Akakro	0,3	64,3 ± 5,2 (513)
	Soleil	Akakro	0,3	65,6 ± 4,6 (610)
6	Bureau	Akakro	1,6	95,2 ± 2,3 (353)
	Magasin	Akakro	1,6	95,4 ± 1,9 (462)
	Soleil	Akakro	1,6	96,6 ± 1,8 (413)
10	Bureau	Touba	0,3	30,6 ± 8,7 (350)
	Magasin	Touba	0,3	24,5 ± 8,7 (383)
	Soleil	Touba	0,3	20,9 ± 9,1 (368)
16	Bureau	Akakro	0,3	39,9 ± 5,3 (807)
			1,6	97,9 ± 1 (711)
	Magasin	Akakro	0,3	48,8 ± 5,3 (696)
			1,6	94,4 ± 1,8 (628)
	Soleil	Akakro	0,3	52,1 ± 5,3 (635)
			1,6	98,5 ± 0,9 (670)

obtenues à partir des lots conservés en local climatisé et au soleil présentent une linéarité et un parallélisme (test du  $\chi^2$ ) qui permettent de calculer la puissance relative du premier lot par rapport au second. Celle-ci est de 1.1 ce qui traduit un niveau d'efficacité parfaitement semblable pour les deux lots.

Les dilutions de Teknar obtenues en rajoutant 20 % d'eau à la formulation s'avèrent être extrêmement stables et l'on n'enregistre aucune perte d'efficacité après 6 mois de stockage (tabl. III).

### 3. DISCUSSION — CONCLUSION

La formulation Teknar de *Bacillus thuringiensis* H14 présente une stabilité remarquable et après 16 mois de stockage en plein soleil, on n'enregistre aucune perte d'efficacité vis-à-vis des larves du complexe *S. damnosum*. Les variations observées à la concentration de 0,3 mg/l/10 mn sont probablement dues aux conditions de milieu (turbidité de l'eau) et aux espèces du complexe *S. damnosum* concernées. A une concentration voisine de la

TABLEAU II

Efficacité du Teknar en fonction de la durée et des conditions de stockage, exprimée en fonction des valeurs caractéristiques (calculées à partir de tests complets : 4 concentrations et 3 répliques par concentration)

Conditions de stockage	Lieu des tests	Valeurs caractéristiques		
		CL 50*	CL 95*	Pente
Aucun stockage	Touba	0,24 (0,23 - 0,25)	1,0 (0,91 - 1,1)	2,7
10 mois magasin	Touba	0,38 (0,27 - 0,52)	1,23 (0,81 - 3,4)	3,2
16 mois magasin	Akakro	0,35 (0,28 - 0,43)	1,0 (0,75 - 1,8)	3,5
16 mois soleil	Akakro	0,29 (0,20 - 0,42)	0,85 (0,5 - 3,3)	3,5

\* entre parenthèses : l'intervalle de confiance au seuil de 95 %.

TABLEAU III

Conservation du Teknar dilué avec 20 % d'eau, stockage sous abri.  
Tests en minigouttières à la concentration de 1,6 mg/l/10 minutes

Lieu des tests	A k a k r o				T o u b a			A k a k r o	
	0	1	2	4	0	20	45	0	180
Durée de stockage en jours	0	1	2	4	0	20	45	0	180
Mortalité observée et (nombre de larves testées, tous stades)	95,2 ± 2,3 (353)	95 ± 1,7 (661)	92,2 ± 2,5 (464)	98,6 ± 0,6 (1243)	99,1 (347)	100 (307)	99,5 (411)	96,7 ± 1,2 (889)	95,3 ± 1,7 (674)

CL 100, ces variations disparaissent totalement. Le lot faisant l'objet de cette étude présente une efficacité en gouttières légèrement inférieure à celle d'autres lots de Teknar précédemment testés. Il a été stocké sous abri dès son arrivée en Côte d'Ivoire.

La formulation diluée dans l'eau s'avère également très stable et l'efficacité vis-à-vis des larves de simulies demeure inchangée. Des tests biologiques sur *A. aegypti* n'ont pas été réalisés simultanément dans la mesure où le critère essentiel était l'efficacité vis-à-vis des larves du complexe *S. damnosum*. En tout état de cause, il est peu probable que le titre biologique de la formulation ait été altéré au cours du stockage.

Il est à noter que la température enregistrée au cours de la présente étude n'a jamais été excessive. Il serait souhaitable de contrôler également la stabilité de la formulation stockée dans des zones à climat plus chaud et contrasté, notamment en zone de savane soudanienne à la limite nord de répartition de *S. damnosum s.l.*

Le Teknar présente dans les conditions de stockage sur le terrain en milieu tropical une stabilité comparable, si ce n'est meilleure, à celle des larvicides conventionnels tels que l'Abate<sup>®</sup> (CE). La stabilité des dilutions préparées sur place

permettrait d'envisager l'acheminement vers les points d'utilisation de formulations plus concentrées à diluer sur place. Cela diminuerait sensiblement le coût du transport intercontinental et faciliterait l'acheminement vers les aires de stockage en brousse. Ceci ne serait réalisable bien entendu qu'avec des formulations à base d'eau telles que le Teknar ou le bactimos<sup>®</sup> liquide (Solvay), sous réserve que cette concentration plus élevée n'altère pas leur stabilité au stockage.

Si la stabilité du Teknar et celle probable d'autres formulations à base de *B. thuringiensis* H14 constitue un facteur favorable pour son utilisation dans le cadre d'un programme de lutte contre l'onchocercose, il n'en demeure pas moins indispensable d'améliorer les performances des formulations existantes.

#### REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier les responsables du Programme OMS de Lutte contre l'Onchocercose dans la Région du Bassin de la Volta qui ont mis à notre disposition tous les moyens matériels à la réalisation de cette étude.

*Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M.  
le 14 juin 1982.*

#### BIBLIOGRAPHIE

- GUILLET (P.), ESCAFFRE (H.), OUÉDRAOGO (M.) et QUILLÉVÉRE (D.), 1980a. — Mise en évidence d'une résistance au téméphos dans le complexe *S. damnosum* (*S. sanctipauli* et *S. soubrense*) en Côte d'Ivoire (Zone du Programme de Lutte contre l'Onchocercose dans la Région du Bassin de la Volta). *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XVIII, n° 3 : 291-299.
- GUILLET (P.), DEMPAN (J.) et COZ (J.), 1980b. — Évaluation de *Bacillus thuringiensis* H14 pour la lutte contre les larves de *Simulium damnosum s.l.* III. Données préliminaires sur la sédimentation de l'endotoxine dans l'eau et sur sa stabilité en zone tropicale. *Doc. miméogr. OMS, WHO/VBC/80.756*, 9 pp.
- GUILLET (P.), ESCAFFRE (H.) et PRUD'HOM (J.-M.), 1982. — Évaluation du tekna<sup>®</sup> (Sandoz) (402 W.D.C.) contre les larves du complexe *S. damnosum*. I. Efficacité en gouttières et évaluation en rivière. *Doc. ronéo. OCCGE*, n° 1/IRTO/Rap/82.
- KURTAK (D.), OUÉDRAOGO (M.), OCRAN (M.), BARRO TELE et GUILLET (P.), 1982. — Preliminary note on the appearance in Ivory Coast of resistance to chlorphoxim in *Simulium soubrense/sanctipauli* larvae already resistant to temephos (Abate<sup>®</sup>). *Doc. miméogr. OMS*, (à paraître).
- SINÈGRE (G.), 1980. — Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoire concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H14 de *Bacillus thuringiensis*. I. Stabilité des suspensions d'épreuve et détection des éventuels contaminants chimiques toxiques pour les larves de moustiques. *Doc. miméogr. OMS, WHO/VBC/80.769*.