

# La lutte antilarvaire contre les culicides des fosses septiques l'action du "Dursban et du D.D.T." sur la flore microbienne

**J. ALLEGRINI**  
**M. SIMEON de BUOCHBERG**

Faculté de Pharmacie, 34 - Montpellier.

**J. COUSSERANS**  
**G. SINEGRE**

Entente Interdépartementale  
pour la Démoustication du Littoral Méditerranéen,  
avenue Paul-Rimbaud, 34 - Montpellier.

## RÉSUMÉ.

Les fosses septiques, moyens souvent utilisés, pour résoudre les problèmes posés par la pollution due aux excréta, constituent un milieu très favorable au développement d'un culicidé : *Culex pipiens molestus* (Forskål).

Pour lutter contre la nuisance qu'il provoque, il faut donc le détruire et nous nous sommes demandés si l'adjonction d'insecticides ne risquait pas de modifier les groupements fonctionnels bactériens responsables de la destruction de ces excréta.

Nous avons donc entrepris les deux expérimentations suivantes :

1° La mise en évidence « in situ » d'éventuelles conséquences sur la microflore des fosses, des traitements par le Dursban et le D.D.T. couramment utilisés en démoustication urbaine.

2° La recherche en laboratoire des doses toxiques de ces deux pesticides sur la même microflore.

De ces diverses expériences, nous pouvons conclure à l'innocuité des insecticides étudiés et tout particulièrement du Dursban. Comme nous le démontrons, il est pratiquement impossible de faire courir un risque aux groupements fonctionnels des fosses et l'adjonction des insecticides objet de l'étude, ne peut donc être considérée comme une cause de l'arrêt de leur action.

## ABSTRACT.

Septic tanks, frequently used to solve the problem of pollution, make up very favourable breeding sites for a mosquito, *Culex pipiens molestus* (Forskål). To reduce the discomfort it causes, it has to be exterminated and we were wondering if the addition of insecticides would not kill the bacteria responsible for the destruction of these excreta. Therefore we have undertaken two experiments :

1° to display « in situ » any possible effect on the microflora of septic tanks of applications of Dursban and D.D.T., insecticides we commonly use for urban mosquito control,

2° to study in the laboratory the toxic doses of these two insecticides for this microflora.

These experiments laid us to the conclusion that these insecticides, Dursban especially, are safe. The hazards for the microflora are almost nil and certainly are not responsible for the bad functioning of the septic insecticides tanks.

## INTRODUCTION.

Les fosses septiques permettent de résoudre les problèmes de la pollution par les excréta dans certains cas

d'habitation isolée et leur fonctionnement n'est possible que par la présence en leur sein d'une flore microbienne spécialisée, active et abondante.

En effet, de par la construction des fosses septiques (A. BUILDER, 1968) les excréta sont reçus dans un premier bac appelé « désagrégateur » à cause des modifications biologiques des matières qui s'y produisent. Cette action microbienne enzymatique agit en opérant sur les substances ternaires et quaternaires une suite de nombreux processus de destruction par fermentation ou putréfaction extrêmement complexes ; elle aboutit à la liquéfaction des matières, tandis que se produisent des dégagements gazeux. Ces productions gazeuses impliquent dans la construction des fosses septiques, la présence d'un conduit d'évacuation qui met en relation l'atmosphère de la fosse avec l'air libre : c'est par ce dernier que les moustiques ont accès à la fosse et peuvent s'en échapper.

Les culicidés vivant dans ces conditions ont une biologie très particulière. Les femelles peuvent effectuer leur première ponte dans ce gîte dépourvu de faune susceptible de leur fournir le repas sanguin généralement indispensable à la maturation des œufs. Il s'agit de *Culex pipiens molestus* (Forsk.). Les larves trouvent dans le milieu de la fosse des conditions très favorables pour continuer leur développement.

Seule, l'addition au sein de ces fosses infestées, d'un insecticide approprié, en quantité calculée, permet la destruction de ces insectes provoquant une nuisance fort ressentie par les personnes vivant dans leur voisinage.

Nous nous sommes donc demandés si les pesticides n'avaient pas d'action destructrice sur la flore microbienne utile des fosses septiques et par là ne risquaient pas d'amener des perturbations néfastes dans leur fonctionnement.

Nous avons entrepris alors deux expérimentations :

1° La mise en évidence « *in situ* » d'éventuelles conséquences sur la microflore des fosses, des traitements par le Dursban et le D.D.T. couramment utilisés en démoustication urbaine ;

2° La recherche en laboratoire des doses toxiques de ces deux pesticides sur la même microflore.

## I. — ACTION DES PESTICIDES « *IN SITU* ».

### 1.1. Protocole opératoire.

Celui-ci est réalisé en conservant intégralement les conditions d'actions normales du pesticide dans une fosse en état de fonctionnement.

#### 1.1.1. ETUDE DE LA MICROFLORE D'UN ÉCHANTILLON TÉMOIN DE LA FOSSE.

Elle est faite sur un échantillon prélevé dans une fosse qui n'a jamais été traitée.

Nous avons suivi les techniques de prélèvement utilisées pour les analyses d'eau (BUTIAUX, 1956). Le prélèvement est effectué à 10 cm de profondeur, à 1 m de distance de l'ouverture de l'arrivée des matières. L'échantillon est immédiatement transporté au laboratoire.

L'analyse comporte une numération totale et une évaluation des groupements fonctionnels responsables des principaux processus de dégradation. Parmi la grande variété des bactéries responsables de ces dégradations, nous avons séparé plusieurs groupes par leurs propriétés fonctionnelles ; car il ne nous a pas paru utile dans ce travail d'isoler et de caractériser les espèces (CHALVIGNAC, 1957 ; CHALVIGNAC, 1960).

#### 1.1.2. ADDITION DE L'INSECTICIDE AU SEIN DE LA FOSSE.

Les insecticides choisis sont le D.D.T. dont l'action sera testée sur une fosse n° 1 et le Dursban sur une fosse n° 2. Les insecticides sont utilisés aux doses de 0,5 ppm pour chacun d'entre eux.

Ces doses d'utilisation qui paraissent élevées pour un milieu fixe tiennent compte du renouvellement permanent des liquides dans la fosse.

#### 1.1.3. ETUDE DE LA MICROFLORE DE LA FOSSE APRÈS UNE SEMAINE D'ACTION DU PESTICIDE.

Cette analyse comporte comme pour l'échantillon témoin une numération totale et l'évaluation des groupements fonctionnels.

Nous allons donner dans les paragraphes qui suivent la technique utilisée et les résultats obtenus que nous discuterons.

## 1.2. Techniques microbiologiques.

Nous avons adopté le principe des techniques de J. Pochon et P. Tardieu (1962). Toutes les numérations sont effectuées en milieu liquide pour que les résultats soient comparables entre eux (CHALVIGNAC, 1956).

Les dilutions des échantillons sont réalisées en milieu dispersant selon les techniques de J. AUGIER et D. LAVERGNE, (1955) et J. AUGIER et D. LAVERGNE (1958).

Les formules des milieux de cultures retenus, tiennent compte de la prédominance de la microflore anaérobie (KAISER et LAURENT, 1964).

## DEMOUSTICATION DES FOSSES SEPTIQUES

### 1.2.1. NUMÉRATIONS TOTALES.

Les numérations totales sont effectuées en parallèle sur deux milieux de formules très différentes.

Tout d'abord, nous avons utilisé un milieu à base d'extrait de terre (KAISER et LAURENT, 1964) dont la formule est la suivante :

— Extrait de terre .....	500 ml
— Eau distillée .....	500 ml
— Peptone Difco .....	0,50 g
— Trypticase Mérieux .....	0,50 g
— Extrait de levure Difco .....	0,20 g

Nous avons pensé, ensuite, qu'étant donné l'origine humaine de la majorité des bactéries introduites dans la fosse, nous pourrions nous adresser pour ces numérations à un milieu commercialisé par Mérieux et favorable à l'étude des flores associées d'origine intestinale : le milieu « eugonbroth ». Ce milieu étant extrêmement riche, nous avons constaté, par des essais préalables, que nous obtenions un développement bactérien plus rapide et les numérations les plus fortes quand nous utilisons ce milieu dilué au tiers selon la formule :

— Trypticase .....	15 g
— Phytone .....	5 g
— Chlorure de Sodium .....	4 g
— Citrate de Sodium .....	1 g
— Cystine .....	0,2 g
— Sulfite de Sodium .....	0,2 g
— Glucose .....	5 g
— Eau distillée .....	3 000 ml

Comparé au milieu à l'extrait de terre, ce deuxième milieu présente l'avantage d'être plus favorable au développement des germes à étudier.

### 1.2.2. EVALUATION DES GROUPEMENTS FONCTIONNELS.

Nous avons testé les fonctions physiologiques responsables des processus de dégradation suivants : ammonification, protéolyse, amylolyse et minéralisation du soufre organique. Nous avons utilisé pour la fonction « minéralisation du soufre organique » le milieu classique de POCHON et TARDIEU et pour les fonctions « ammonification » et « amylolyse » les milieux de POCHON et TARDIEU modifiés par KAISER et LAURENT. Pour l'étude de la protéolyse, nous avons modifié le milieu de POCHON et TARDIEU en ajoutant par litre, 1 ml d'une solution d'oligoéléments et 10 g de bouillon au thioglycolate Mérieux déshydraté.

## 1.3. Résultats.

### 1.3.1. NUMÉRATION DE LA MICROFLORE.

Fosse n° 1 : Action du D.D.T.

	Une semaine avant traitement	Le jour du traitement	Une semaine après traitement
Numération totale ...	$2,5 \times 10^{10}$	$7 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$
Ammonification ...	$4,5 \times 10^8$	$15 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$
Amylolyse .	$9,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
Protéolyse .	$25 \times 10^4$	$9,5 \times 10^4$	$30 \times 10^4$
Minéralisation du S. organique ....	$11,5 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$

Fosse n° 2 : Action du Dursban

	Une semaine avant traitement	Le jour du traitement	Une semaine après traitement
Numération totale ...	$7,5 \times 10^8$	$2,5 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5$
Ammonification ...	$4,5 \times 10^5$	$9,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$
Amylolyse .	$9,5 \times 10^5$	$15 \times 10^4$	$2 \times 10^4$
Protéolyse .	$25 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^4$
Minéralisation du S. organique ....	$1,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$9,5 \times 10^3$

### 1.3.2. DÉGRADATION DU PESTICIDE APRÈS UNE SEMAINE.

Nous examinerons d'abord les méthodes de dosage et donnerons ensuite les résultats pour chacun des deux pesticides utilisés.

#### 1.3.2.1. Méthodes de dosage.

##### — Méthode biologique.

Une souche étalon de larves au IV<sup>e</sup> stade d'*Aedes aegypti* est testée par la méthode O.M.S. (1963). La dose létale entraînant 50 % de mortalité pour un insecticide donné est calculée. Il suffit, ensuite de déterminer le rapport de dilution nécessaire de l'échantillon à doser pour obtenir 50 % de mortalité ; on déduit la teneur en insecticide (G. SINEGRE, 1969).

— *Méthode chimique.*

— Les analyses ont été pratiquées au laboratoire de chimie appliquée à l'expertise de la Faculté de Pharmacie de Montpellier.

Les méthodes employées sont au nombre de deux :

— la chromatographie gazeuse et l'examen de l'activité anticholinestérasique de l'eau. Nous ne décrivons pas ces procédés présentés dans un article publié par M. le P<sup>r</sup> MESTRES et coll. dans « Les Annales des Falsifications et de l'Expertise chimique » en 1969 sous le titre « Méthodes et recherche des pesticides dans les eaux naturelles » (MESTRES et al., 1969).

1.3.2.2. *Résultats.*

*Fosse n° 1* : Résidu de D.D.T. après une semaine :

- Dosage biologique = 0,
- Dosage chimique = 0.

*Fosse n° 1* : Résidu de Dursban après une semaine :

- Dosage biologique = 0,1 ppm,
- Dosage chimique : 0,023 ppm,

après 15 jours :

- Dosage biologique = 0,01 ppm,
- Dosage chimique = 0,009 ppm.

1.4. *Discussion.*

Si l'on considère les résultats obtenus après traitement par le D.D.T. sur la fosse n° 1, on n'observe en fait que de très faibles variations de populations après l'addition du pesticide. De plus, ces modifications n'apparaissent pas dans le même sens selon les groupes. En effet, si la numération totale des germes, les fonctions ammonification, amylolyse et minéralisation du soufre organique sont très faiblement abaissées, par contre la fonction protéolytique présente un léger accroissement.

Or, avant d'entreprendre notre expérimentation, nous avons suivi la microflore de cette fosse pendant trois semaines, constatant des variations du même ordre au cours de son fonctionnement normal. Nous avons en particulier remarqué la diminution des chiffres totaux avec l'apparition du froid.

De ce fait, nous ne pensons pas, après l'étude de nos résultats que l'addition du D.D.T., dans les conditions normales d'utilisation entrave le bon fonctionnement de la fosse.

En ce qui concerne l'action du Dursban, nous remarquons aussi des diminutions plus sensibles pour les différentes populations bactériennes. Toutefois, comme dans le cas du D.D.T., elles ne nous paraissent pas significatives de son action, car nous les retrouvons dans l'étude préliminaire. Considérant par ailleurs que la rémanence est nulle en une semaine pour le D.D.T. et

en deux semaines pour le Dursban malgré les fortes doses employées, il ne nous a pas paru utile de poursuivre les numérations au-delà de ces délais.

2. — RECHERCHE DE LA DOSE TOXIQUE DU D.D.T. ET DU DURSBAN SUR L'ENSEMBLE DE LA FLORE MICROBIENNE DES FOSSES SEPTIQUES.

2.1. *Protocole opératoire.*

Le liquide de la fosse prélevé en erlenmeyers de 3 litres est homogénéisé par agitation manuelle et réparti dans sept flacons de 500 ml pour chacun des deux pesticides testés.

Un flacon sert de témoin, les autres sont additionnés de pesticides aux doses de 1, 50, 100, 500, 5 000 et 10 000 ppm.

Nous avons fait les numérations totales des germes après 48 heures, une semaine et deux semaines.

Le milieu utilisé est « l'eugonbroth » Mérieux dilué au tiers.

2.2. *RESULTATS.*

2.2.1. DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ DU D.D.T.

	Après 48 heures	Après une semaine	Après deux semaines
Témoin . . . .	$9,5 \times 10^7$	$9,5 \times 10^7$	$4,5 \times 10^7$
1 ppm .	$9,5 \times 10^7$	$9,5 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$
50 ppm .	$15 \times 10^7$	$9,5 \times 10^7$	
100 ppm .	$9,5 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$4,5 \times 10^5$
500 ppm .	$9,5 \times 10^7$	$2,5 \times 10^5$	
5 000 ppm .	$30 \times 10^2$	$9,5 \times 10^2$	
10 000 ppm .	70	45	1

2.2.2. DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ DU DURSBAN.

	Après 48 heures	Après une semaine	Après deux semaines
Témoin à $4,5 \times 10^5$	$9,5 \times 10^5$	$9,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^6$
1 ppm .	$2,5 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5$	$9,5 \times 10^4$
100 ppm .	$9,5 \times 10^6$	$9,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^4$
10 000 ppm .	$4,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$

### 2.3. Discussion.

Dans le cas du D.D.T. nos résultats montrent nettement une toxicité pour la dose de 5 000 ppm au bout de 48 heures d'action, 500 ppm au bout d'une semaine et 100 ppm au bout de deux semaines. La dose bactéricide totale se situe à 10 000 ppm.

Nous retrouvons de façon très évidente, le phénomène de l'augmentation du pouvoir bactéricide du D.D.T. avec l'effet « temps » que nous avons déjà signalé dans un travail précédent (ALLEGRI et Simeon DE BUOCHBERG, 1972).

Lors des opérations de démoustication des fosses septiques, cet effet « temps » s'arrête à une semaine. Comme nous l'avons montré, nous sommes 1 000 fois au-dessous du seuil de toxicité lorsque nous mettons dans les fosses des doses de 0,5 ppm.

Dans le cas du Dursban, les numérations faites au bout de 48 heures nous font penser que dans un premier temps, l'addition de pesticide a stimulé le développement de la microflore aux doses de 1 ppm et 10 ppm.

Après une semaine pour ces mêmes doses, les numérations donnent des chiffres semblables à ceux du témoin non traité. Ce n'est qu'après deux semaines que ces doses ont un très léger effet inhibiteur. L'effet temps est donc beaucoup plus manifeste quand il s'agit du Dursban que pour le D.D.T. Nous donnerons plus loin notre interprétation de ce phénomène.

Cependant, il faut souligner qu'à 10 000 ppm, contrairement à ce qui se passe avec le D.D.T., nous n'avons pas pour le Dursban un effet bactéricide total puisque seulement la moitié environ de la flore est touchée après 48 heures de contact. Après une et deux semaines nous avons un accroissement de l'effet nocif mais qui ne se modifie pas d'une semaine à l'autre et n'aboutit, en tout cas, pas à la destruction totale de la flore. Le Dursban semble donc avoir un effet beaucoup moins toxique que le D.D.T. (Rappelons que dans la pratique, la dose opérationnelle est de 0,1 ppm).

Ces résultats nous amènent toutefois à souligner que le problème de la dose toxique est donc dominé par le temps de rémanence du Dursban dans la fosse.

### CONCLUSION.

Mais cette expérimentation nous suggère, en dehors des résultats que nous présentons, deux hypothèses quant au mode d'action des deux insecticides étudiés.

#### 1° Le Dursban.

Il semble que le Dursban se fixe très bien sur la matière organique en suspension qui sédimentera ensuite

au fond des compartiments et sur les bactéries qui l'hydrolysent. Or, ces deux éléments constituent la base de l'alimentation des larves des culicidés et, de ce fait, deviennent le véhicule idéal de l'insecticide. Mais, en outre cette action nutritionnelle a pour conséquence, au niveau de la larve de moustique, une concentration active du pesticide.

Ainsi fixé sur la matière organique ou absorbé par les larves qui le concentrent, le Dursban persiste longtemps dans les eaux des fosses. Les facteurs que nous venons de décrire contribuent donc à la rémanence du produit en évitant le rejet de l'insecticide par le renouvellement de l'eau de la fosse.

Les traitements réels, effectués avec 0,1 ppm de Dursban seulement, confirment cette hypothèse. Il suffit d'une seule opération en mai pour négativer une fosse pendant tout l'été. Il faut toutefois mentionner que cet effet de longue durée est dû au fait que la rémanence de 15 jours du Dursban, constatée au cours de l'expérimentation, suffit à détruire la population larvaire issue de pontes autogènes. Si la fosse est étanche, elle ne s'infestera pas et ne « fonctionnera » donc plus. L'action de négativation du Dursban n'est donc pas due à une rémanence du pesticide au-delà de 15 jours car il n'a jamais été retrouvé en quantité « efficace » après ce délai. Il nous a semblé important de mentionner ce mode d'action particulier. Nous n'avons jamais constaté une telle action avec les insecticides chlorés réputés pourtant comme particulièrement rémanents.

#### 2° D.D.T.

Les pesticides de la série des organochlorés se fixent peu sur les matières organiques et, de plus ne sont pas absorbés par les bactéries. Ils semblent demeurer en suspension dans l'eau. En effet, lors du traitement des fosses positives à l'aide de 0,5 ppm de D.D.T. qui est la dose la plupart du temps utilisée, nous constatons qu'au bout d'une semaine on ne retrouve plus le produit dans les prélèvements d'eau, contrairement à ce qui se passe avec le Dursban. Tout se passe donc comme s'il était éliminé plus vite avec le renouvellement de l'eau et comme s'il subissait de ce fait un effet de « chasse ».

Il semble donc que la rémanence dans les fosses septiques du D.D.T., ester chloré très stable, soit paradoxalement moins importante que celle du Dursban, ester phosphoré pourtant biodégradable mais dont, nous l'avons démontré, il n'y a à craindre aucune toxicité pour la flore des fosses septiques. En effet, d'après nos calculs, il faudrait, pour obtenir une bactériostase, mettre environ 75 kg de granulé à 3 % de Dursban par m<sup>3</sup> d'eau au lieu de 15 g/m<sup>3</sup> que nous épandons normalement. L'erreur est donc impensable et nous pouvons conclure en soulignant l'innocuité des insecticides étudiés et tout particulièrement du Dursban dans cette activité particulière.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEGRINI (J.) et SIMEON DE BUOCHBERG (M.), 1972. — Etude de la toxicité de trois types de pesticides sur quelques bactéries actives dans l'épuration biologique des eaux usées. *Trav. Soc. Pharm.*, Montpellier, **32**, fasc. 1, 65-74.
- AUGIER (J.) et LAVERGNE (D.), 1958. — Numération de la microflore totale et micro-structure des sols, *Ann. Inst. Pasteur*, **94**, 766-774.
- BUILDER (A.), 1968. — Les fosses septiques, Ed. Dunod.
- BUTTIAUX (R.), 1956. — L'analyse bactériologique des eaux de consommation. Ed. Méd. Flammarion.
- CHALVIGNAC (M. A.), 1957. — Répartition et polyvalence des groupements physiologiques au sein de la microflore totale du sol. *Ann. Inst. Pasteur*, **92**, 705-709.
- CHALVIGNAC (M. A.), 1960. — Sur les difficultés rencontrées dans la caractérisation des souches bactériennes telluriques. *Ann. Inst. Pasteur*, **99**, 459-462.
- CHALVIGNAC (M. A.), 1956. — A propos de la numération de la flore tellurique. *Ann. Inst. Pasteur*, **91**, 602-605.
- HARRISON (A. P.) et HANSEN (P. A.), 1950. — Un lactobacillus mobile présent dans les fèces caecales du dindon. *J. bacterio. U.S.A.*, **59**, n° 3, 444-446.
- KAISER (P.) et LAURENT (M.), 1964. — Evaluation des groupements fonctionnels dans cinq sédiments humiques d'eau douce. *Ann. Inst. Pasteur*, **107**, 152-167.
- LAVERGNE (D.) et AUGIER (J.), 1955. — Numération de la microflore totale et micro-structure des sols. I. Analyse et Synthèse. *Ann. Inst. Pasteur*, **89**, 447-457.
- MESTRES (R.), LEONARDI (G.), CHEVALLIER (Ch.) et TOURTE (J.), 1969. — Résidus de Pesticides. XIX. Méthode de recherche des résidus de Pesticides dans les eaux naturelles. *Ann. Fals. Exp. chim.*, **684**, 75-85.
- ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ, 1963. — Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. Treizième rapport du Comité O.M.S. d'expert des insecticides Genève, O.M.S., *Serv. Rapp. Tech.* n° 265, 242 p.
- POCHON (J.) et TARDIEU (P.), 1962. — Techniques d'analyses en microbiologie du sol. Ed. de la Tourelle. St-Mandé.
- SINEGRE (G.), 1969. — Contribution à l'étude de la toxicité de quelques insecticides organo-phosphorés sur les larves de culicidés et la faune de leurs biotopes. Diplôme d'Etudes Supérieures. Faculté des Sciences. Montpellier, 129 p.