

**Étude des facteurs
conditionnant l'efficacité
des préparations à base
de *Bacillus thuringiensis* H 14
vis-à-vis des larves
du complexe *Simulium damnosum*
(Diptera, Simuliidae) ⁽¹⁾**

2. Influence du temps de contact
et de la quantité de particules naturelles
en suspension dans l'eau

Pierre GUILLET ⁽²⁾ ⁽³⁾, Henri ESCAFFRE ⁽⁴⁾,
Jean-Michel PRUD'HOM ⁽⁴⁾, Siaka BAKAYOKO ⁽⁵⁾

Résumé

Les formulations de B. thuringiensis H 14 constituées de grosses particules ont une efficacité vis-à-vis des larves du complexe S. damnosum qui diminue considérablement lorsque la turbidité de l'eau des rivières dans lesquelles elles sont employées augmente. Il en est de même lorsque le temps de contact avec les larves est bref. Au contraire, l'efficacité des suspensions à très fines particules n'est pas affectée et de ce fait, ce type de formulation est beaucoup mieux adapté à l'utilisation opérationnelle contre les larves des vecteurs de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest.

Mots-clés : *Bacillus thuringiensis* H 14 — Larves de simulies — Formulation — Quantité de particules — Côte d'Ivoire.

Summary

FACTORS INFLUENCING THE EFFICACY OF *BACILLUS THURINGIENSIS* H 14 AGAINST *SIMULIUM DAMNOSUM* COMPLEX LARVAE. 2. EXPOSURE TIME AND RIVER WATER SUSPENDED PARTICLE CONTENT. *The efficacy of B. thuringiensis H 14 formulations against S. damnosum complex larvae depends, among different factors, of their mean particle size (either they are individualized spores and crystals or big aggregates), the river water turbidity and the length of exposure time.*

(1) Ce travail a bénéficié, dans le cadre des accords conclus entre l'ORSTOM et l'OCCGE, d'une subvention du Programme spécial PNUD/Banque Mondiale/OMS, de recherches et de formation concernant les maladies tropicales.

(2) Entomologiste médical ORSTOM, Institut Pierre Richet, B.P. 1500, Bouaké, Côte d'Ivoire.

(3) Présente adresse : OMS/OCP, B.P. 2279, Bamako, Mali.

(4) Technicien entomologiste ORSTOM, Institut Pierre Richet.

(5) Technicien OCCGE, même adresse.

The efficacy of formulations with big particles sharply decreases when the river water turbidity increases. Under natural conditions, the efficacy of Vectobac 6 108 II-ES (a suspension with 50 μm particles) decreases about 175 times when turbidity increases from 25 to 45 Formaldehyde Turbidity Units (FTU). Under the same conditions, the efficacy of Teknar, a suspension of individualized spores and crystals, is not significantly affected.

The decreased efficacy under field conditions is not likely to be due to feeding inhibition, but rather to a competition between *B. thuringiensis* H 14 and natural particles when their content in the river water increases.

The efficacy of formulations with big particles increases with length of exposure time up to 54 mn. In the same conditions, the efficacy of Teknar remains fairly constant.

Consequently, the formulations with big particles, among which under certain conditions are presently the most effective formulations, do not fit to the requirements for use in operational control of the larvae of the onchocerciasis vectors. Following this study, industrial companies have been systematically oriented towards the development of self-dispersible suspensions of individualized spores and crystals that may be applied without any previous dilution in the rivers.

Key words : *Bacillus thuringiensis* H 14 — Blackfly larvae — Formulation — Particle content — Ivory Coast.

Introduction

Dans la première partie de ce travail, il a été démontré que les formulations de *Bacillus thuringiensis* H 14 étaient d'autant plus efficaces vis-à-vis des larves du complexe *Simulium damnosum* Theobald qu'elles sont constituées de particules (agrégats de spores et cristaux d'endotoxine) d'une taille moyenne élevée (Guillet *et al.*, 1985). On observe une corrélation étroite entre le niveau d'efficacité des formulations et la quantité de particules ingérées au cours du traitement. Cette quantité dépend, outre la taille moyenne des particules, de leur nature et de leur consistance. La relation taille des particules/efficacité a également été observée chez *S. vittatum* Zetterstedt avec les mêmes formulations (Molloy *et al.*, 1981, 1984).

La deuxième partie de ce travail a été réalisée pour rechercher si l'efficacité des formulations pouvait également varier en fonction d'autres facteurs tels que la turbidité de l'eau dans laquelle elles sont employées ou le temps de contact des larves avec la formulation.

La turbidité des cours d'eau en zone tropicale est une donnée très fluctuante. Une montée rapide des eaux (orage) ou l'installation de débits élevés (saison des pluies) s'accompagne la plupart du temps d'une augmentation très forte de la turbidité et de la quantité de particules naturelles en suspension. Les larves de simulies se nourrissent de ces particules, et lorsque leur abondance relative augmente, il pourrait y avoir compétition, au niveau de la capture et de l'ingestion, entre les particules naturelles et celles de *B. thuringiensis* H 14. L'abondance des particules en suspension est par ailleurs un facteur qui conditionne le développement des populations préimaginales du

complexe *S. damnosum* (Le Berre, 1966), ainsi que celui d'autres espèces (Grenier, 1948).

Les traitements larviques opérationnels, dans le cadre de la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest, sont réalisés par voie aérienne. La formulation est épanchée immédiatement en amont des rapides où se développent les larves. Le temps de passage de la vague de formulation est très court immédiatement en aval du point de traitement et augmente au fur et à mesure qu'on s'en éloigne, tandis que la concentration instantanée diminue. Il était donc intéressant de rechercher dans quelle mesure l'efficacité des formulations pouvait varier en fonction du temps de contact.

L'étude de l'influence des différents facteurs pouvant conditionner l'efficacité des formulations de *B. thuringiensis* H 14 a été entreprise en vue de définir le type de formulation le mieux adapté aux contraintes de la lutte contre les vecteurs de l'onchocercose, aux particularités du comportement trophique des larves du complexe *S. damnosum* ainsi qu'à la qualité des eaux dans lesquelles elles se développent.

Matériel et méthodes

Les essais ont été réalisés avec 3 formulations différentes :

- le Vectobac[®] 6108 II-ES (Abbott), lot 8278-223 titrant 1 500 U.I. *A. aegypti*/mg, suspension huileuse qui s'émulsionne en donnant des agrégats sphériques d'une taille moyenne de 50 μ environ ;
- le Vectobac ABG 6108, poudre mouillable titrant 1 000 U.I. *A. aegypti*/mg, avec une taille moyenne des particules de 25 μ environ ;

— le Teknar^R 402 WDC (Sandoz), suspension aqueuse de très fines particules titrant 600 U.I. *A. aegypti*/mg.

Les tests ont été réalisés dans le dispositif des minigouttières alimentées avec de l'eau de rivière (Guillet *et al.*, en préparation). Le contact des larves avec l'insecticide est généralement de 10 mn, suivi d'une période d'observation de 24 h à la fin de laquelle on note la mortalité. Quatre à cinq concentrations sont testées avec quatre répétitions. Les CL 50 sont déterminées par tracé sur papier log-probit lorsqu'à l'évidence les différences observées sont très significatives, ou dans le cas contraire, calculées sur ordinateur avec un programme d'analyse-probit (Finney, 1971). Tous les résultats présentés dans cette étude ont été obtenus avec des larves âgées de stades 6 et 7 à plaques thoraciques bien développées.

La turbidité de l'eau a été mesurée extemporanément avec une mallette d'analyse des eaux (Hach^R) et exprimée en unités de titre formaldéhyde (FTU). Les matières totales en suspension, exprimées en mg/l, ont été mesurées à partir d'échantillons prélevés au cours des tests et envoyés au laboratoire d'analyse des eaux de l'ORSTOM (Abidjan). Au cours d'une série d'essais, la quantité de matières en suspension a été artificiellement augmentée par apport de sédiments naturels, de la boue prélevée dans la rivière et tamisée à 120 μ . La suspension de boue, plus ou moins diluée, a été introduite dans les gouttières 15 mn avant, et pendant l'application des formulations de *B. thuringiensis* H 14.

Parallèlement, on a réalisé une série d'essais où les larves ont été exposées aux mêmes dilutions de sédiments mais sans insecticide. Cette expérimentation avait pour but de vérifier si les sédiments seuls n'étaient pas susceptibles de modifier le rythme de nutrition et de transit intestinal s'ils étaient présents en trop grande quantité. A cet effet les larves dans les gouttières ont été exposées pendant 30 s à une suspension de poudre fluorescente rouge, puis pendant 10 mn à la suspension de sédiments et immédiatement fixées dans une solution de formol à 10 %. La progression du bol alimentaire a été mesurée au laboratoire avec une chambre claire permettant de déterminer le coefficient de remplissage du tube digestif. Seules les larves de dernier stade larvaire ont été utilisées. Dans ces essais, on a comparé les résultats obtenus dans l'eau de la rivière (12 mg/l de matières en suspension) et en présence de trois dilutions de la suspension de sédiments (respectivement 46, 84 et 130 mg/l). Les essais ont été répétés quatre fois.

L'influence de la durée du traitement a été déterminée en comparant, pour une même quantité de produit appliqué, l'efficacité du traitement lorsque celui-ci dure respectivement : 1, 3, 9, 27 ou 54 mn. A un temps de contact court correspond une concentration instantanée élevée et inversement.

Résultats

Dans les conditions naturelles, l'efficacité de la formulation Vectobac II-ES à grosses particules dépend étroitement de la turbidité de l'eau dans laquelle elle est utilisée. Lorsque la turbidité croît de 25 à 45 FTU, la CL 50 augmente de 175 fois (fig. 1). Pour un même dosage (0,4 mg/l/10 mn), la mortalité varie de 5 à 98,9 % en fonction de la turbidité. En revanche, l'efficacité du Teknar constitué de très fines particules, n'est pas affectée par les variations de turbidité (fig. 2).

Des résultats relativement similaires ont été obtenus lorsque la turbidité de l'eau a été artificiellement augmentée : l'efficacité du Vectobac II-ES décroît proportionnellement à l'augmentation de la quantité de matières en suspension (fig. 3). L'efficacité du Teknar reste inchangée jusqu'à un taux de 84 mg/l de matières en suspension. Au-delà, on note une légère diminution. Le rythme de nutrition des larves reste constant quelle que soit la quantité de matières en suspension depuis 12 mg/l (conditions naturelles) jusqu'à 130 mg/l.

L'efficacité du Vectobac (poudre mouillable ou suspension II-ES) varie avec la durée de contact. Lorsque celle-ci augmente de 1 à 54 mn, la mortalité augmente proportionnellement de 56,6 à 96,2 % (fig. 4 et 5). L'efficacité du Teknar reste pratiquement constante quelle que soit la durée du contact.

Discussion — Conclusion

L'efficacité des formulations de *B. thuringiensis* H 14 vis-à-vis des larves du complexe *S. damnosum* est conditionnée par un certain nombre de facteurs parmi lesquels les modalités de nutrition des larves. Pour discuter les résultats obtenus dans les deux parties de ce travail, il importe de différencier nettement, comme cela a été fait, les formulations à grosses particules constituées d'agrégats de spores et cristaux d'une taille moyenne supérieure à 20 μ d'une part, et les suspensions de spores et cristaux séparés (0,5 à 5 μ) d'autre part.

Les grosses particules sont interceptées dans les mailles des soies prémandibulaires constituant les

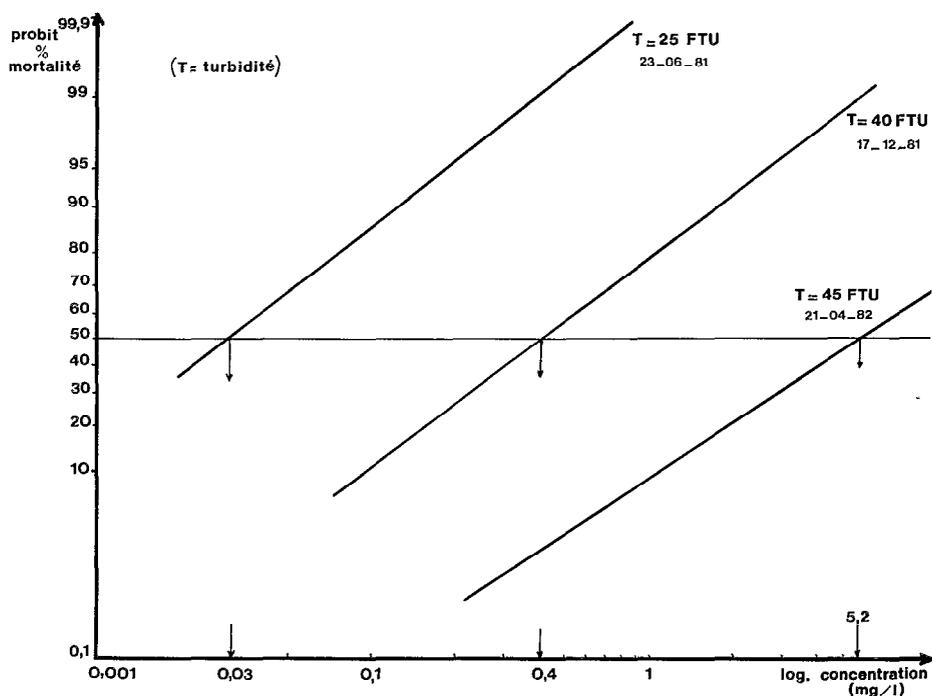


FIG. 1. — Efficacité du Vectobac 6108 II-ES comparée sur quatre essais en fonction de la turbidité de l'eau (tests en minigouttières, larves de stade 6 et 7)

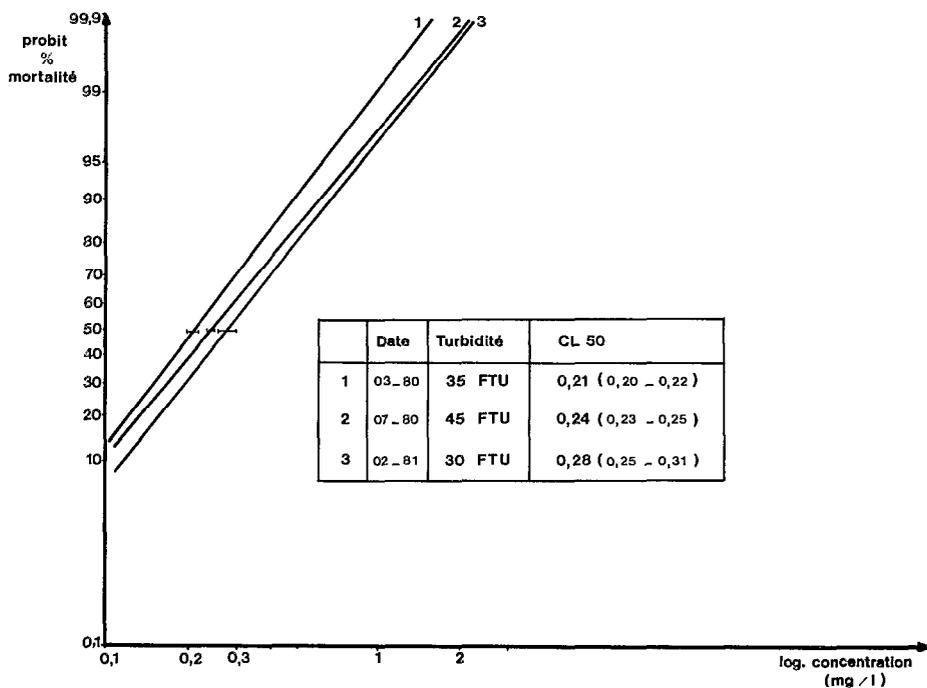


FIG. 2. — Efficacité du Teknar comparée sur trois essais différents en fonction de la turbidité de l'eau (tests en minigouttières, larves de stade 6 et 7)

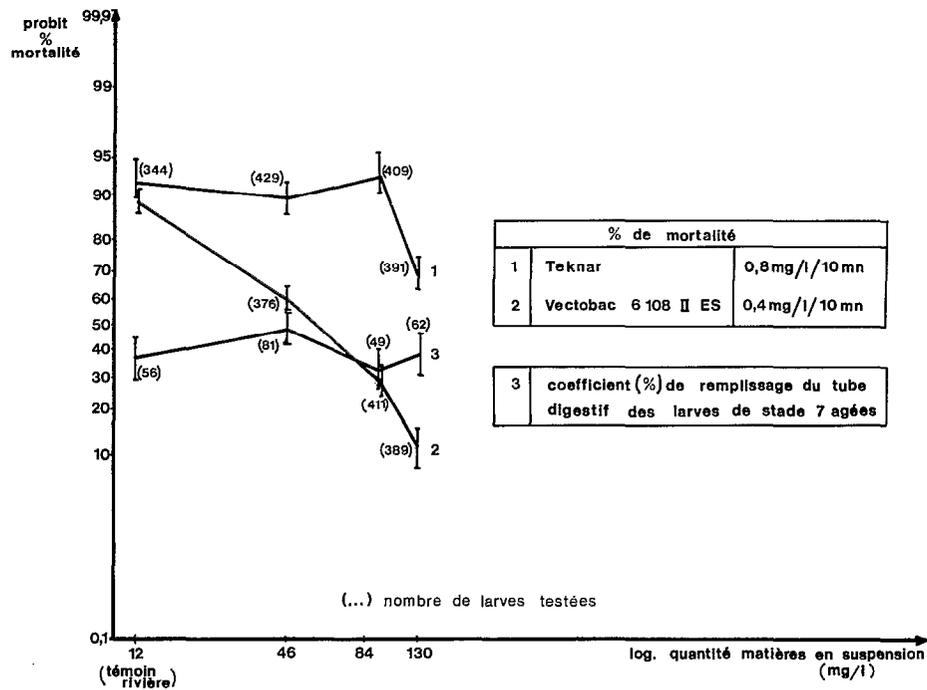


FIG. 3. — Variations de l'efficacité de deux formulations et du coefficient de remplissage du tube digestif (en %) en fonction de la quantité totale de particules en suspension dans l'eau (tests en minigouttières, larves de stade 7)

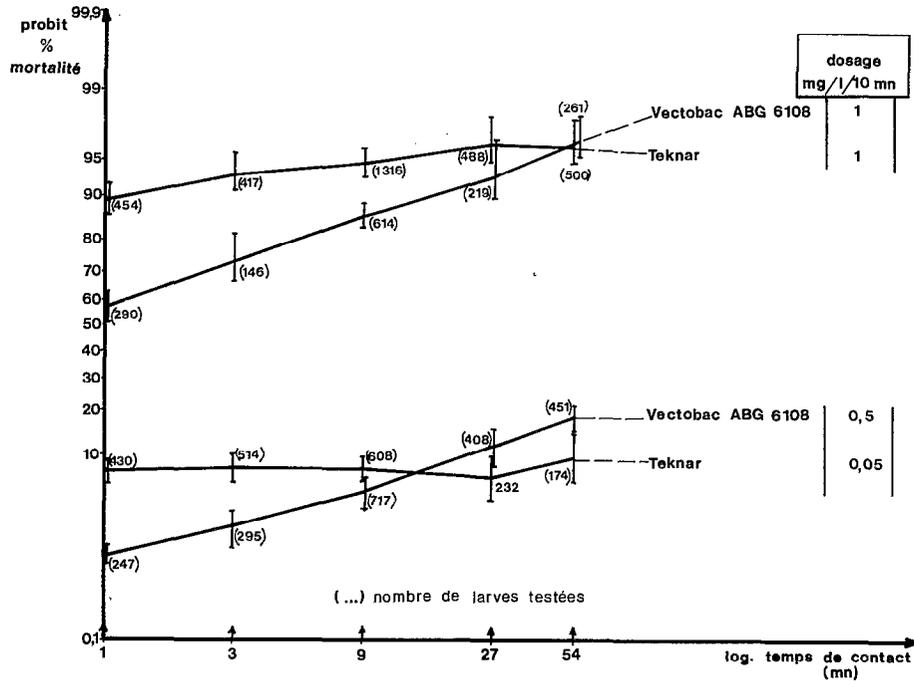


FIG. 4. — Influence du temps de contact sur l'efficacité de deux formulations (produit temps de contact × concentration constant)

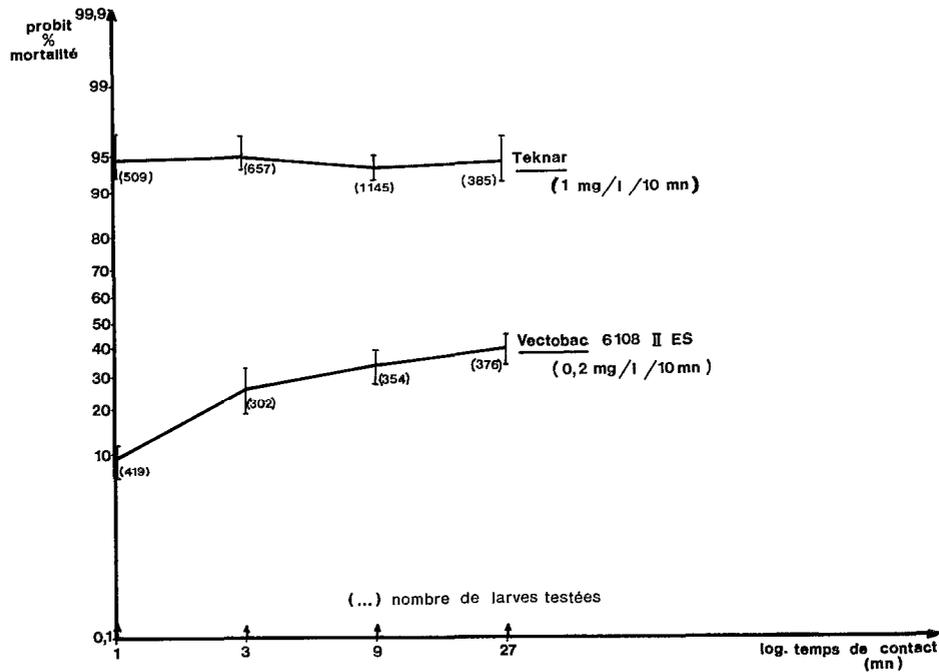


FIG. 5. — Influence du temps de contact sur l'efficacité de deux formulations (produit temps de contact \times concentration constant)

éventails céphaliques. Régulièrement, la larve replie ses éventails et ingère les particules retenues. Les particules ingérées sont d'autant plus grandes qu'elles sont friables ou compressibles (Elsen, 1979). Les larves peuvent également ingérer de très fines particules colloïdales ($0,1 \mu$ et moins, Wotton, 1976). Ces particules, qui ne peuvent pas être interceptées mécaniquement du fait de leur taille, sont retenues par adhérence sur une substance muqueuse qui recouvre toute la partie des soies filtrantes ou de leurs microtriches exposées au courant (Ross et Craig, 1980). Il s'agit là, contrairement à la capture des grosses particules, d'un phénomène de filtration passive, les larves ingérant les fines particules lorsque à chaque repli des éventails céphaliques, elles brossent et ingèrent le mucus.

Le transit intestinal des larves du complexe *S. damnosum* s'opère par bourrage et dépend donc de la quantité de particules ingérée par les larves (Élouard et Elsen, 1977). On a pu constater qu'il était pratiquement indépendant de la quantité de particules en suspension dans l'eau. De ce fait, lorsque celle-ci augmente, le rendement du processus de filtration (nombre de particules passées/nombre de particules ingérées) diminue. Ce phénomène a été bien étudié chez des espèces de simules néarctiques (Kurtak,

1978). Dans ces conditions, il y a compétition au niveau de l'ingestion, entre les particules naturelles et les particules de *B. thuringiensis* H 14 dont le nombre reste constant.

Cette compétition explique pourquoi l'efficacité du Vectobac, et d'une manière plus générale, des formulations à grosses particules, diminue lorsque la turbidité de l'eau augmente. C'est ainsi que l'efficacité de la poudre primaire R-153.78 (Bellon Biochem) à $0,2 \text{ mg/l/10 mn}$ était de 100 % en saison sèche contre 35,7 % seulement en saison des pluies (turbidité 40 FTU).

Les formulations à très fines particules ont une efficacité relativement constante du fait de leur adhérence sur le mucus des soies céphaliques. Ce mucus recouvre une surface équivalente à la surface frontale des éventails céphaliques et peut retenir rapidement une quantité de cristaux suffisante pour intoxiquer les larves. Dans ce cas, la compétition avec les particules naturelles ne semble pas jouer.

Ces essais ont permis de montrer que les formulations à grosses particules telles que les poudres mouillables ou le Vectobac II-ES, qui dans certaines conditions ont une efficacité remarquable, ne sont pas adaptées à l'utilisation opérationnelle dans la lutte contre l'onchocercose. Leur efficacité en saison

des pluies diminue considérablement alors que c'est à cette époque que les débits des rivières et donc les quantités de formulation à appliquer sont les plus élevés. De plus, dans la pratique des traitements, surtout au cours de la saison sèche où chaque gîte doit être traité individuellement, le temps d'exposition des larves est relativement bref, ce qui minimise leur efficacité. Ce phénomène a également été constaté avec le Vectobac en Amérique du Nord (Frommer *et al.*, 1981).

A la suite de ce travail et des essais en rivière du Teknar (Guillet *et al.*, 1982 ; Lacey *et al.*, 1982)

les compagnies produisant les formulations de *B. thuringiensis* H 14 pour la lutte contre les vecteurs de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest ont été systématiquement orientées vers la mise au point de suspensions auto-dispersibles prêtes à l'emploi et composées, comme le Teknar, de très fines particules. Les problèmes rencontrés dans l'amélioration des performances de ces formulations, tant en ce qui concerne leur efficacité que leurs caractéristiques physiques, feront l'objet d'une autre publication.

Manuscrit accepté par le Comité de Rédaction le 8 novembre 1985.

BIBLIOGRAPHIE

- ÉLOUARD (J.-M.) et ELSÉN (P.), 1977. — Variations de l'absorption des particules alimentaires et de la vitesse de transit digestif en fonction de certains paramètres du milieu chez les larves de *Simulium damnosum*. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 15, 1 : 29-39.
- ELSÉN (P.), 1979. — La nature et la taille des particules ingérées par les larves du complexe *Simulium damnosum* dans les rivières de Côte d'Ivoire. *Rev. Zool. Afr.*, 93 : 476-484.
- FINNEY (D. J.), 1971. — Probit analysis. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 333 p.
- FROMMER (R. L.), HEMBREE (S. C.), NELSON (J. H.), REMINGTON (M.) et GIBBS (P. H.), 1981. — The evaluation of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in reducing *Simulium vittatum* (Diptera : Simuliidae) larvae in their natural habitat with no extensive aquatic vegetative growth. *Mosq. News*, 41 : 339-347.
- GRENIER (P.), 1948. — Contribution à l'étude biologique des simuliés de France. *Physiol. Comp. Oecol.*, 1, 3 : 165-330.
- GUILLET (P.), ESCAFFRE (H.) et PRUD'HOM (J.-M.), 1982. — L'utilisation d'une formulation à base de *Bacillus thuringiensis* H 14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. I — Efficacité et modalités d'application. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 20, 3 : 175-180.
- GUILLET (P.), ESCAFFRE (H.), PRUD'HOM (J.-M.) et BAKAYOKO (S.), 1985. — Étude des facteurs conditionnant l'efficacité des préparations à base de *Bacillus thuringiensis* H 14 vis-à-vis des larves du complexe *Simulium damnosum* (Diptera : Simuliidae). 1. Influence de la nature et de la taille des particules. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 23, 4 : 257-264.
- KURTAK (D. C.), 1978. — Efficiency of filter feeding of black fly larvae (Diptera : Simuliidae). *Can. J. Zool.*, 56, 7 : 1608-1623.
- LACEY (L. A.), ESCAFFRE (H.), PHILIPPON (B.), SÉKÉTELI (A.) et GUILLET (P.), 1982. — Large river treatment with *Bacillus thuringiensis* H 14 for the control of *Simulium damnosum* s.l. in the onchocerciasis control programme. *Tropenmed. Parasit.*, 33 : 97-101.
- LE BERRE (R.), 1966. — Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Theobald, 1903. *Mém. ORSTOM*, n° 17, Paris, 204 p.
- MOLLOY (D.), GAUGLER (R.) et JAMNBACK (H.), 1981. — Factors influencing efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* as a biological control agent of black fly larvae. *J. Econ. Ent.*, 74 : 61-64.
- MOLLOY (D.), WRAIGHT (S. P.), KAPLAN (B.), GERARDI (J.) et PETERSON (P.), 1984. — Laboratory evaluation of commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against mosquito and black fly larvae. *J. Agric. Entomol.*, 1, 2 : 161-168.
- ROSS (D. H.) et CRAIG (D. A.), 1980. — Mechanisms of fine particle capture by larval blackflies (Diptera : Simuliidae). *Can. J. Zool.*, 58, 6 : 1186-1192.
- WOTTON (R. S.), 1976. — Evidence that blackfly larvae can feed on particles of colloidal size. *Nature*, 261 : 697.