

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER

SERVICES SCIENTIFIQUES CENTRAUX - BONDY



Avr. 1982

STABILITE DE LA POUDRE STANDARD IPS 78 LYOPHILISEE
EN FONCTION DU TEMPS D'INCUBATION A 50°C

par

J.M. HOUGARD, J. COZ, C. SANNIER, J. BARATHE

I). INTRODUCTION

Pour quantifier l'efficacité d'une suspension de Bacillus thuringiensis sérotype H 14, le titrage biologique nécessite un étalon de référence. Celui-ci est exprimé arbitrairement en Unités Toxiques Internationales. Afin d'obtenir des résultats comparables, d'une précision acceptable, le standard doit non seulement être fiable, mais aussi stable sous certaines conditions physico-chimiques.

La souche Lyophilisée de Bacillus thuringiensis n° ONR 60 A, sérotype H 14, dénomée IPS 78 est actuellement admise comme standard de référence.

Nous nous proposons de tester, pour des temps d'incubation variables, sa stabilité à une température fixée arbitrairement à 50°C.

II). MATERIEL ET METHODES

Le protocole expérimental préconisé par l'O.M.S. (TDR, 1981) est le suivant:

- Vingt flacons sont conservés à 50°C et cinq flacons témoins à 2°.5°C. Chaque semaine, cinq des flacons chauffés sont transférés à 2°.5°C, ceci pendant 4 semaines.

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° : 1393 ex A
Cpte : 6

Date : 19 MAI 1982

- Trois de ces flacons sont utilisés pour des essais triples. Les deux flacons restant sont mis en réserve.
 - Si aucune baisse d'activité n'est notée à 4 semaines, les tests sont arrêtés. Dans la négative, on essaie après 3 semaines à 50°C, et ainsi de suite pour 2 semaines et une semaine.
- Un contrôle est effectué avec de l'IPS 78 maintenu à 2°.5°C.
- Le principe des tests insecticides est décrit dans le rapport n°29 (HOUGARD et COZ, 1982). Rappelons que:

- . L'insecte-test est Aedes aegypti souche "Bora-Bora".
- . Les Aedes sont traités au 5ème jour après leur éclosion.
- . L'eau servant à préparer les dilutions est de l'eau dionisée par bipermutation.
- . Pendant les 24 heures de contact, les larves ne sont pas nourries.
- . Nous procédons à trois séries d'essai, à raison de 100 larves par concentration et de 4 à 8 concentrations plus 1 lot témoin pour chaque série.

III). RESULTATS ET DISCUSSION (Voir "Listings" Analyse - Probit en annexe)

Le tableau ci après indique les DL 50 de chaque série d'essai, ainsi que leur moyenne, en fonction du temps d'incubation à 50°C.

	4 Semaines	3 Semaines	2 Semaines	1 Semaine
DL 50 1ère série (ppm)		0,424	0,256	0,228
DL 50 2ème série (ppm)	0,398	0,394	0,301	0,253
DL 50 3ème série (ppm)	0,454	0,403	0,376	0,196
DL50 Moyenne (ppm)	0,426	0,407	0,311	0,226

L'IPS 78 Lyophilisé non traité à 50°C donne les résultats suivants:

- 0,233 ppm (DL 50 calculée sur une série de 100 larves par concentration)
- 0,222 ppm (Série de 200 larves par concentration)
- 0,239 ppm (Série de 400 larves par concentration)

Soit une moyenne pondérée de:

$$(0,239 \times 4) + (0,222 \times 2) + 0,233 \quad / \quad 7 = 0,233 \text{ ppm}$$

(Représentation graphique de ces résultats en annexe).

Nous constatons une baisse de l'activité de l'IPS 78 (augmentation de la DL 50), en fonction du temps d'incubation à 50°C. Cette baisse d'activité, décelable à 2 semaines, se confirme par la suite, pour atteindre 47% à 4 semaines.

IV). CONCLUSION

La standardisation de l'IPS 78 Lyophilisé se heurte tout d'abord à un problème de fiabilité : ce produit est sujet à des variations d'activité, entre deux tests réalisés dans les mêmes conditions expérimentales, pouvant atteindre 20% (HOUGARD et COZ, 1982).

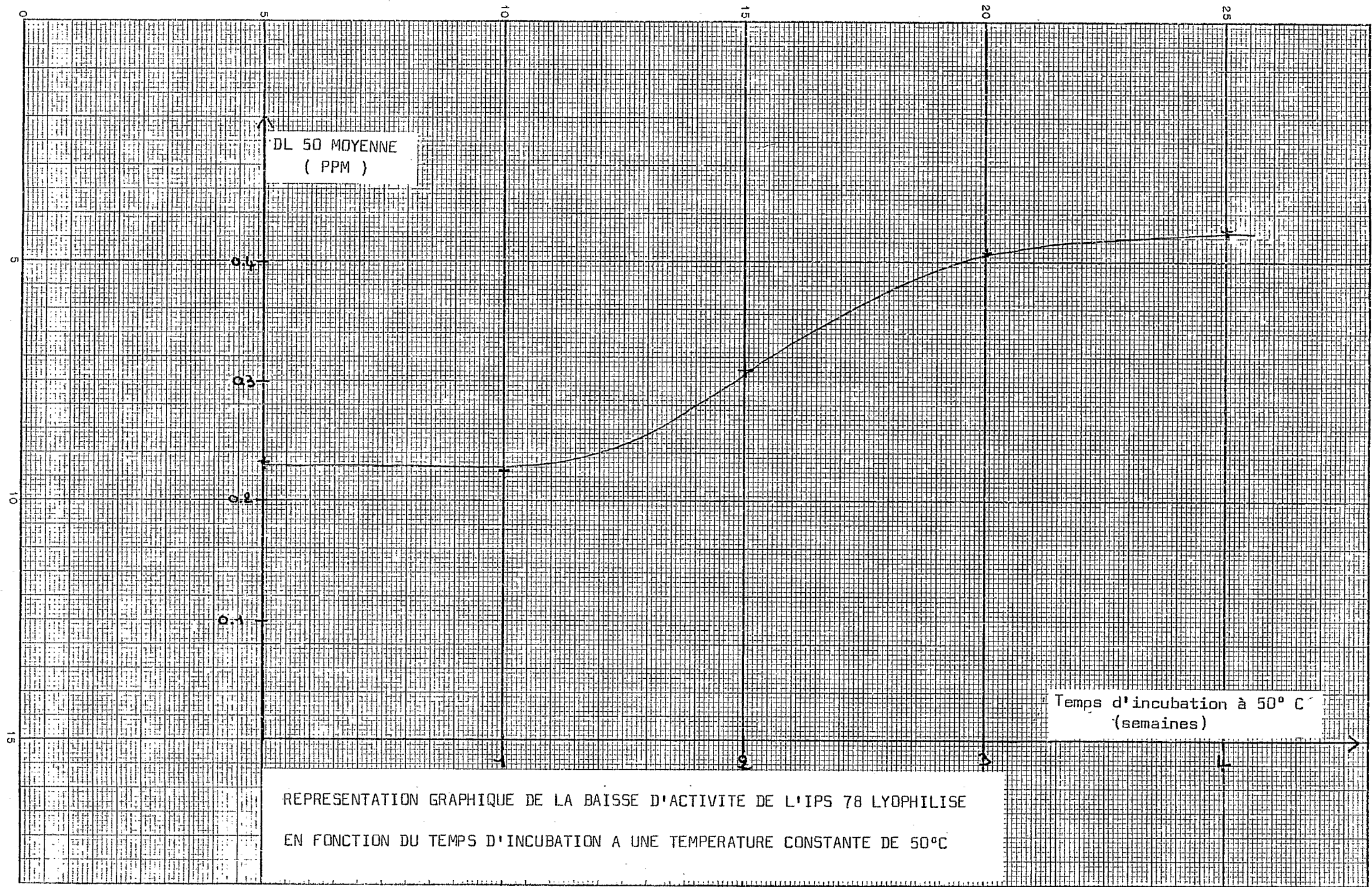
Il se heurte ainsi à un problème de stabilité puisque 2 semaines d'incubation à 50°C suffisent à abaisser son activité.

Toutefois, cette thermolabilité ne semble pas être un obstacle majeur à son utilisation dans les pays non tempérés puisque l'IPS 78 Lyophilisé, délivré en petits flacons hermétiques de 500 mg, peut ainsi se conserver aisément à l'abri de la chaleur.

- ANNEXE -

Graphe

"Listing" analyse probit I à XIV



DL 50 MOYENNE
(PPM)

Temps d'incubation à 50° C
(semaines)

REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LA BAISSSE D'ACTIVITE DE L'IPS 78 LYOPHILISE
EN FONCTION DU TEMPS D'INCUBATION A UNE TEMPERATURE CONSTANTE DE 50°C

essai

ref : IPS 78 4 Semaines 50 C
nb points 5

temoin

nb sujets 100 nb succes 6 p brut .060

a 5% pr 3 ddl

X2 = 7.310 t = 3.182

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.250	-.602	110	11	.100	.043
2	.300	-.523	100	28	.280	.234
3	.350	-.450	100	55	.550	.521
4	.450	-.347	100	69	.690	.670
5	.500	-.301	100	63	.630	.606

correction

1 .250 -.602 100 11 .110 .053

fin correction

X2 = 16.068 S

fact heter = 5.623

moy x = -.42377 y = 4.87031

b = 5.54454 (.72017 10.36092) s = 1.516145

1/b = .100350

m = -.40030 (-.52777 -.12718) s = .062945

DL 50 = .398 (.297 .746)

d9 = -.16924 (-.30564 1.55380) s = .292181

DL 90 = .677 (.495 35.793)

essai

ref : IPS 78 4 semaines
nb points 7

temoin

nb sujets 100 nb succes 3 p brut .030

a 5% pr 5 ddl

X2 = 11.100 t = 2.571

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.250	-.602	100	35	.350	.330
2	.300	-.523	100	19	.190	.165
3	.350	-.450	100	43	.430	.412
4	.400	-.398	100	53	.530	.515
5	45.000	1.653			0.000	.000
6	.500	-.301	100	63	.630	.619
7	.550	-.260	100	56	.560	.546

correction

5 .450 -.347 100 45 .450 .433

fin correction

X2 = 19.624 S

fact heter = 3.923

moy x = -.40471 y = 4.83857

b = 2.59866 (.28930 4.90801) s = .090232

1/b = .304814

m = -.34259 (-.44852 .22978) s = .131875

DL 50 = .454 (.356 1.697)

d9 = .15057 (-.12049 4.59283) s = .916637

DL 90 = 1.414 (.750 39161.106)

essai

ref : IPS 78 3 semaines
nb points 8

III

temoin

nb sujets 100 nb succes 2 p brut .020

a 5% pr 6 ddl
X2 = 12.000 t = 2.447

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.200	-.699	100	13	.130	.112
2	.250	-.602	100	26	.260	.245
3	.300	-.523	100	32	.320	.306
4	.350	-.456	100	42	.420	.408
5	.400	-.398	100	42	.420	.408
6	.450	-.347	100	49	.490	.480
7	.500	-.301	100	65	.650	.643
8	.550	-.260	100	68	.680	.673

correction

fin correction

X2 = 4.427 NS

moy x = -.42709 y = 4.80919

b = 3.49064 (2.17381 4.20747) s = .365728
1/b = .286480

m = -.37260 (-.40016 -.34024) s = .015285
DL 50 = 0.424 (.398 .457)

d9 = -.00546 (-.08141 .10762) s = .048221
DL 90 = .988 (.829 1.281)

essai

ref : IPS78 3 semaines
nb points 6

IV

temoin

nb sujets 100 nb succes 2 p brut .020

a 5% pr 4 ddl
X2 = 9.490 t = 2.776

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.200	-.699	100	16	.160	.143
2	.300	-.523	100	30	.300	.286
3	.400	-.398	100	53	.530	.520
4	.500	-.301	100	74	.740	.735
5	.600	-.222	100	73	.730	.724
6	.700	-.155	100	80	.800	.796

correction

fin correction

X2 = 4.854 NS

moy x = -.37136 y = 5.12318

b = 3.70827 (3.04423 4.37231) s = .338795
1/b = .269667

m = -.40458 (-.43687 -.37448) s = .015915
DL 50 = .394 (.366 .422)

d9 = -.05898 (-.11402 .01675) s = .033359
DL 90 = .873 (.709 1.039)

essai

V

ref : IPS 78 3 semaines
nb points 7

temoin

nb sujets 100 nb succes 2 p brut .020

a 5% pr 5 ddl

X2 = 11.100 t = 2.571

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.300	-.523	100	46	.460	.449
2	.350	-.456	100	35	.350	.337
3	.400	-.398	100	37	.370	.357
4	.450	-.347	99	56	.566	.551
5	.500	-.301	100	61	.610	.602
6	.550	-.260	100	78	.780	.776
7	.600	-.222	100	79	.790	.86

correction

fin correction

X2 = 21.868 S

fact heter = 4.374

moy x = -.3593/ y = 5.13515

b = 3.87009 (1.13510 6.60508) s = 1.063784
1/b = .258392

m = -.39429 (-.53871 -.31956) s = .042621
DL 50 = .403 (.289 .479)

d9 = -.06315 (-.19711 .66188) s = .167033
DL 90 = .863 (.635 4.591)

essai

ref : IPS/d 2 semaines
nb points /

VI

temoin

nb sujets 101 nb succes 1 p brut .010

a 5% pr 5 ddl
X2 = 11.100 t = 2.571

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.200	-.699	100	41	.410	.404
2	.300	-.523	100	55	.550	.545
3	.400	-.394	100	71	.710	.707
4	.500	-.301	100	79	.790	.788
5	.600	-.222	100	90	.900	.899
6	.700	-.155	100	93	.930	.929
7	.800	-.097	100	92	.920	.919

correction

fin correction

X2 = 3.080 NS

moy x = -.39251 y = 5.60298

b = 3.0318 (2.47414 3.58961) s = .284560
1/b = .329829

m = -.59139 (-.65104 -.54566) s = .026884
DL 50 = .256 (.223 .285)

d9 = -.16869 (-.21705 -.10465) s = .028674
DL 90 = .678 (.607 .786)

essai

ref : IPS78 2 semaines
nb points /

VII

temoin

nb sujets 100 nb succes 2 p brut .020

a 5% pr 5 ddl
X2 = 11.100 t = 2.571

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.150	-.824	100	17	.170	.153
2	.250	-.602	100	47	.470	.459
3	.350	-.456	100	45	.450	.439
4	.450	-.347	100	69	.690	.684
5	.550	-.260	100	89	.890	.888
6	.650	-.187	101	97	.960	.960
7	.750	-.125	100	92	.920	.918

correction

fin correction

X2 = 21.303 S
fact heter = 4.261

moy x = -.41904 y = 5.38429

b = 3.74206 (2.28089 5.20323) s = .568326
1/b = .267233

m = -.52174 (-.63959 -.44083) s = .038653
DL 50 = .301 (.229 .362)

d9 = -.17926 (-.27699 .00473) s = .054787
DL 90 = .662 (.528 1.011)

essai

ref : IPS 78 2 semaines
nb points 5

VIII

temoin

nb sujets 100 nb succes 2 p brut .020

a 5% pr 3 ddl

$\chi^2 = 7.010$ t = 3.182

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.100	-1.000	100	12	.120	.102
2	.200	-.699	100	20	.200	.184
3	.300	-.523	100	37	.370	.357
4	.400	-.398	100	52	.520	.510
5	.500	-.301	100	70	.700	.694

correction

fin correction

$\chi^2 = 5.160$ NS

moy x = -.50952 y = 4.77328

b = 2.69485 (2.06325 3.32646) s = .322248
1/b = .371078

m = -.42539 (-.47254 -.36846) s = .026551
DL 50 = .376 (.337 .428)

d9 = .05017 (-.06406 .22936) s = .074878
DL 90 = 1.122 (.003 1.696)

points doses p corr p att

1	.100	.102	.001
2	.200	.184	.230
3	.300	.357	.396
4	.400	.510	.529
5	.500	.694	.631

essai
 ref : IPS 78 une semaine
 nb points 8

IX

temoin
 nb sujets 100 nb succes 3 p brut .030

a 5% pr 6 ddl
 X2 = 12.600 t = 2.447

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.100	-1.000	100	7	.070	.041
2	.150	-.824	100	39	.390	.371
3	.200	-.699	100	43	.430	.412
4	.250	-.602	100	62	.620	.608
5	.300	-.525	100	64	.640	.629
6	.350	-.456	100	74	.740	.732
7	.400	-.398	100	72	.720	.711
8	.500	-.301	100	91	.930	.928

correction
 fin correction

X2 = 17.042 S
 fact heter = 2.840

moy x = -.50922 y = 5.18284

b = 3.42272 (2.32812 4.51733) s = .447326
 1/b = .292165

u = -.64264 (-.71386 -.58159) s = .027436
 DL 50 = .228 (.192 .262)

d9 = -.26821 (-.36287 -.18041) s = .053630
 DL 90 = .539 (.434 .694)

essai
 ref : IPS 78 une semaine
 nb points 4

X

temoin
 nb sujets 100 nb succes 2 p brut .020

a 5% pr 2 ddl
 X2 = 5.990 t = 4.50

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.150	-.824	100	33	.330	.316
2	.200	-.699	100	34	.340	.327
3	.300	-.523	100	56	.560	.551
4	.350	-.456	100	70	.700	.694

correction
 fin correction

X2 = 3.89/ NS

moy x = -.61854 y = 4.94208

b = 2.71450 (1.80596 3.62304) s = .463542
 1/b = .368392

u = -.59721 (-.64574 -.54329) s = .026134
 DL 50 = .253 (.226 .286)

d9 = -.12509 (-.25559 .12991) s = .098342
 DL 90 = .750 (.555 1.349)

nb points 5
 UNE SEMAINE IPS 78 XI
 temoin
 nb sujets 100 nb succes 2 p brut .020

a 5% pr 3 ddl
 X2 = 7.810 t = 3.182

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.100	-1.000	101	15	.149	.131
2	.200	-.699	100	50	.500	.490
3	.250	-.602	100	67	.670	.663
4	.300	-.523	100	77	.770	.765
5	.400	-.398	100	91	.910	.908

correction
 fin correction

X2 = .568 HS

moy x = -.63491 y = 5.29134

b = 4.03546 (3.30584 4.76508) a = .372256
 1/b = .247803

m = -.70711 (-.74437 -.67473) a = .017766
 DL 50 = .196 (.180 .211)

d9 = -.38953 (-.43722 -.32526) a = .028562
 DL 90 = .408 (.365 .473)

points	doses	p corr	p att
1	.100	.131	.119
2	.200	.490	.513
3	.250	.663	.664
4	.300	.765	.771
5	.400	.908	.894

essai
 ref : IPS 78 non traite XII
 nb points 7

temoin
 nb sujets 100 nb succes 1 p brut .010

a 5% pr 5 ddl
 X2 = 11.100 t = 2.571

doses en ppm

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.100	-1.000	99	19	.192	.184
2	.150	-.824	100	19	.190	.182
3	.200	-.699	100	42	.420	.414
4	.250	-.602	100	46	.460	.455
5	.300	-.523	100	62	.620	.616
6	.350	-.456	100	75	.750	.747
7	.400	-.398	100	87	.870	.869

correction

fin correction

X2 = 16.249 S
 fact heter = 3.250

moy x = -.62182 y = 5.03933

b = 3.42318 (2.06430 4.78205) a = .528540
 1/b = .292126

m = -.63331 (-.71222 -.55870) a = .029857
 DL 50 = .233 (.194 .276)

d9 = -.25893 (-.37841 -.00370) a = .072874
 DL 90 = .551 (.418 .992)

essai
 ref : IPS 78 8 lots 24 II NON TRAITÉ XIII
 nb points 4

temoin
 nb sujets 201 nb succes 8 p brut .040

a 5% pr 2 ddl
 X2 = 5.990 t = 4.303

doses en U I

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	.000	.000			0.000	.000
2	170.000	2.230	200	67	.335	.307
3	190.000	2.279	200	87	.435	.412
4	210.000	2.322	200	92	.460	.438

correction
 1 150.000 2.176 202 50 .248 .216
 fin correction

X2 = 1.032 NS

moy x = 2.25738 y = 4.60856

b = 4.42371 (2.63228 6.21514) s = .91994
 1/b = .226054

m = 2.34586 (2.31424 2.41220) s = .024931
DL 50 = 221.750 (206.176 258.140)

d9 = 2.63556 (2.52503 2.89447) s = .094246
 DL 90 = 432.060 (334.988 784.281)

essai
 ref : IPS 78 16 lots 24 h NON TRAITÉ XIV
 nb points 5

temoin
 nb sujets 400 nb succes 19 p brut .048

a 5% pr 3 ddl
 X2 = 7.810 t = 3.182

doses en Unite Internationale

points	doses	x(d)	nb sujets	nb succes	p brut	p corr
1	150.000	2.176	401	99	.247	.209
2	170.000	2.230	400	131	.328	.294
3	190.000	2.279	400	168	.420	.391
4	210.000	2.322	400	185	.463	.436
5	230.000	2.362	399	187	.469	.442

correction
 fin correction

X2 = 4.520 NS

moy x = 2.28048 y = 4.63977

b = 3.66060 (2.71093 4.61028) s = .484528
 1/b = .273179

m = 2.37888 (2.35363 2.41834) s = .016508
DL 50 = 239.267 (225.751 262.023)

d9 = 2.72898 (2.63540 2.88728) s = .064254
 DL 90 = 535.768 (431.919 771.399)