

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER

SERVICES SCIENTIFIQUES CENTRAUX - BONDY

5 novembre 1979

EVALUATION DE *BACILLUS THURINGIENSIS* SEROTYPE 14 de BARJAC  
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.

par

P. GUILLET \*, J. DEMPANH \*\* et J. COZ \*\*\*

1 - INTRODUCTION -

Le *Bacillus thuringiensis* sérotype 14 a été testé sur le terrain contre les larves de *Simulium damnosum* s.l. sous forme de poudre primaire R 153.78 (GUILLET et ESCAFFRE, 1979 a) et de formulations plus élaborées (GUILLET et ESCAFFRE, 1979 b). Ces essais ont permis de constater que les formulations étaient d'autant moins efficaces qu'elles produisaient des particules de petite dimension. Une formulation se présentant sous forme de spores et cristaux libres n'a pratiquement aucune efficacité. Il nous a paru intéressant de voir si ce phénomène était dû à une sédimentation accélérée de la matière active dans les formulations à petites particules ou à une ingestion insuffisante de matière active lorsque la taille des

\* Entomologiste médical de l'O.R.S.T.O.M. - Institut de Recherches sur l'Onchocercose de l'O.C.C.G.E., Bouaké, Côte d'Ivoire.

\*\* Pharmacien stagiaire de la Côte d'Ivoire - O.R.S.T.O.M. - S.S.C. - Bondy

\*\*\* Pharmacien. Docteur ès Sciences, Chef du Laboratoire de Recherches en Entomologie médicale - Services Scientifiques Centraux - Bondy - France - O.R.S.T.O.M.

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° B 9943 Fed. Prod.

14 FEV. 1980

particules diminue. Par ailleurs, nous avons constaté lors de ces essais une perte d'efficacité notable d'un échantillon de poudre primaire après trois semaines de stockage sur le terrain. Nous avons contrôlé au laboratoire l'activité biologique de cet échantillon et entrepris une étude de la stabilité du *Bacillus thuringiensis* sérotype 14 stocké sous abri en zone tropicale pendant une période d'un an.

## 2 - MATERIEL ET METHODES -

Cette étude a été réalisée avec des larves d'*Aedes aegypti*. Tous les tests ont été effectués conformément à la méthode O.M.S pour la détermination de la sensibilité des larves de moustiques aux insecticides (OMS 1963) dans de l'eau permutée à pH 4,8.

### 2.1. Sédimentation des formulations -

Dans un premier temps nous avons déterminé les limites de la CL<sub>100</sub> de quatre formulations : poudre primaire, poudre mouillable à 50%, concentré aqueux à 10% et concentré émulsifiable à 5%. Toutes les concentrations sont exprimées en % ou en mg/l de poudre primaire considérée comme de la matière active pure. Ultérieurement, nous avons introduit dans des éprouvettes 1 litre de suspension aqueuse à 40 mg/l de chacune des trois premières formulations. Des prélèvements à la pipette ont été effectués en surface, au milieu et aux trois quarts de la profondeur à des intervalles de temps définis. Chacun des prélèvements a été dilué et testé à la limite supérieure de la CL<sub>100</sub> sur quatre lots de 25 larves L4 d'*Aedes aegypti* souche Réao (Tuamotus)

### 2.2. Stabilité de la toxine en zone tropicale -

Des échantillons de poudre primaire ont été stockés sous abri à Bouaké (Côte d'Ivoire) les uns ouverts, les autres fermés. Par ailleurs, un sachet ouvert de cette poudre a été stocké trois semaines sur le terrain et de ce fait exposé à des températures souvent élevées. L'activité biologique de ces échantillons a été testée au laboratoire sur des larves d'*A. aegypti* souche Meya (Congo) en comparaison avec un lot témoin de poudre primaire conservé au laboratoire d'Entomologie médicale de l'O.R.S.T.O.M. à Bondy.

### 3 - RESULTATS -

#### 3.1. Sédimentation des formulations -

La poudre mouillable et le concentré émulsifiable ont une efficacité double de celle du concentré aqueux (Tableau 1). L'efficacité de la poudre primaire est intermédiaire. Celle-ci titrait dans les conditions de l'expérience 2.100 UI B.t 14/mg par rapport au standard IPS 78 fixé à 1.000 UI B.t 14 /mg.

La sédimentation de la poudre primaire et de la poudre mouillable semble s'opérer de façon identique (Tableau 2). Elle est régulière et déjà perceptible après 30 minutes. Après quatre heures, 50 à 75% de la matière active ont sédimenté. Au bout de 24 heures, la quasi totalité se trouve au fond de l'éprouvette. En revanche, aucune sédimentation n'est décelable pour le concentré aqueux après 24 heures. A 48 heures, la sédimentation en termes de perte de toxicité, est du même ordre de grandeur que celle de la poudre primaire après 30 minutes.

Si l'on remet en fin d'expérience les particules en suspension par agitation de l'éprouvette on obtient des résultats identiques à ceux obtenus au temps zéro (Tableau 2). La matière active sédimente donc plus ou moins vite mais ne subit, sur une période de 48 heures, aucune altération de son activité biologique.

#### 3.2. Stabilité de la toxine en zone tropicale -

La poudre conservée fermée a une toxicité analogue à celle du témoin après trois mois de stockage. En revanche la toxicité de la poudre conservée ouverte, sur le terrain ou sous abri diminue légèrement. Toutefois, si on la déshydrate une heure à 85°C sa toxicité redevient identique à celle du témoin (Tableaux 3 et 4).

### 4 - DISCUSSION DES RESULTATS -

Les observations concernant les effets de la sédimentation des particules de B.t 14 sur la mortalité des larves de moustiques concordent sensiblement avec celles effectuées par SINEGRE (1979)

dans le midi de la France. Lors de la série d'essais réalisés précédemment (GUILLET et ESCAFFRE, loc. cit.) nous avons pu constater que l'efficacité des formulations de *B. t* 14 contre les larves de simulies était directement proportionnelle à la taille des particules. Il nous est maintenant possible d'affirmer que ces différences, dans les conditions expérimentales de tests sur les larves de simulies ne sont pas dues à une sédimentation des petites particules mais à une ingestion insuffisante lorsque leur taille diminue. A concentration égale, les larves de simulies ingèrent donc avec les agrégats de poudre primaire (diamètre moyen 29  $\mu$ ) une quantité de matière active beaucoup plus importante qu'à partir des cristaux isolés du concentré aqueux dont la taille moyenne est de l'ordre du micron. Il est probable que la poudre primaire et la poudre mouillable n'aient dans les conditions opérationnelles de traitement, qu'une portée efficace limitée du fait de la sédimentation des grosses particules ou de leur désagrégation en particules beaucoup plus fines.

L'activité biologique du *B.t* 14 ne subit aucune altération après trois mois de stockage en zone tropicale. La perte apparente de toxicité que nous avons observée avec la poudre primaire (GUILLET et ESCAFFRE, loc. cit.) était due à un excès d'humidité qui faussait la pesée. Cette humidité tient au fait que la poudre, relativement hygroscopique, était stockée ouverte dans une atmosphère à saturation d'humidité. Une différence de dosage minime peut entraîner, avec le *B.t* 14, un écart important dans la mortalité. Cependant, on constate sur la poudre stockée ouverte pendant plusieurs mois un développement important de mycélium cryptogamique. Il s'accompagne d'une certaine perte d'efficacité non réversible après deshydratation en étuve.

## 5 - CONCLUSION -

Bien que les premiers résultats obtenus demandent à être confirmés, il semble que la toxine du *B.t* 14 possède une bonne stabilité dans les conditions de stockage en zone tropicale. Cette stabilité se rapprocherait donc de celles des autres sérotypes de *Bacillus thuringiensis* couramment utilisés en agriculture.

L'efficacité des formulations de B.t 14 contre les larves de *Simulium damnosum* s.l. dépend essentiellement de la taille des particules. Les grosses particules jouent, en termes de masse ingérée, un rôle beaucoup plus important que les petites particules. Les résultats obtenus permettent d'orienter les recherches dans la mise au point de nouvelles formulations anti-simulidiennes. Ces recherches concernent essentiellement la distribution de taille des particules, leur résistance à la désagrégation et leur densité. Les améliorations portées dans le sens d'une moindre sédimentation permettront, en outre, d'améliorer les performances du B. t 14 contre les larves de moustiques.

Il est important de souligner que ce type de recherches ne concerne pas uniquement le B. t 14 mais pourrait s'appliquer à la plupart des insecticides présentés en formulations particulaires d'un type analogue.

#### 6 - REMERCIEMENTS -

Tous nos remerciements vont à ceux de nos collègues qui nous ont encouragé dans ce travail et ont contribué à le rendre possible. Nous souhaiterions nommer à ce titre, en particulier, Mademoiselle H. De BARJAC, Institut Pasteur de Paris, Messieurs Ph. d'OULTREMONT et L. CHARMOILLE, du Laboratoire Roger Bellon qui nous ont fourni les échantillons de B. t 14 utilisés, et la Division de la Biologie et du Contrôle des Vecteurs de l'Organisation Mondiale de la Santé qui a discuté les résultats et conclusions et nous a communiqué une partie importante de la documentation utilisée pour préparer cette étude.

7 - BIBLIOGRAPHIE -

- GUILLET (P.) & ESCAFFRE (H.), 1979a - Evaluation de *Bacillus thuringiensis israelensis* de Barjac pour la lutte contre les larves de *Simulium damnosum* s.l.  
I - Résultats des premiers essais réalisés sur le terrain. Document miméographié OMS, WHO/VBC/79.730, 7 pages.
- GUILLET (P.) & ESCAFFRE (H.), 1979b - Evaluation de *Bacillus thuringiensis israelensis* de Barjac pour la lutte contre les larves de *Simulium damnosum* s.l.  
II - Efficacité comparée de trois formulations expérimentales. Document miméographié OMS, WHO/VBC/79.735, 7 pages.
- OMS - 1963 - Insecticide Resistance and Vector Control. Thirteenth Report of the WHO expert committee on insecticides. Org. Mond. Santé, sér. Rapp. techn., 265, 51-61.
- SINEGRE (G.), GRAVEN (B.) & JULLIEN (J.L.), 1979 - Evaluation de l'activité larvicide de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sur les Culicidés. Performances comparées des formulations commerciales. Impact du produit sur la faune non cible. Document miméographié, E.I.D. n°40, Montpellier, 23 pages.

TABLEAU 1 - Sensibilité d'*Aedes aegypti* souche REAO (Tuamotus) à quatre formulations de *Bacillus thuringiensis* sérotype 14 -

Formulations Concentrations en mg/l	Poudre primaire R - 153.78 *		Poudre mouillable 50%		concentré aqueux 10%		concentré émulsionnable 5%	
	n **	% m ****	n	% m	n	% m	n	% m
0.50	100	100	100	100	100	98	100	100
0.25	100	93	100	100	100	84	100	100
0.125	100	60	100	79	99	28.2	99	85.8
0.0625	99	7.7	100	29	100	3	100	31
0	100	0	100	0	100	0	100	1

\* Dans les conditions de l'expérience, cette poudre titrait 2.100 UI *B.t* 14/mg

\*\* n = nombre de larves par concentration.

\*\*\*\* % m = % de mortalité brute

TABLEAU 2 - Sédimentation de trois formulations de *Bacillus thuringiensis* sérotype 14  
 exprimée en % de mortalité sur des larves d'*Aedes aegypti* souche REAO (Tuamotus)

Formulations	Poudre primaire : 0.2 mg/l				Poudre mouillable : 0.2 mg/l				Concentré aqueux : 0.4 mg/l			
	1*	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Temps zéro	100	100	97	-	98	98	86	-	100	100	99	-
30 minutes	94	95	92	-	-	-	-	-	99	100	99	-
60 minutes	89	87	92	-	71	80	72.7	-	100	100	99	-
2 heures	55	67	94	-	-	-	-	-	99	99	100	-
4 heures	33.3	47.4	52	-	24	31.3	33	-	99	96	99	-
24 heures	7	7	10	100	7	14	8	97	99	99	97	-
48 heures	-	-	-	-	-	-	-	-	82.8	92	95	100

\* 1 : en surface ; 2 : à la moitié de la profondeur ; 3 : aux 3/4 de la profondeur ;

4 : après agitation du contenu de l'éprouvette



Tableau 3 - Activité biologique (mortalité %) de la poudre primaire R 153-78 de *Bacillus thuringiensis* sérotype 14 stockée sous abri à Bouaké (Côte d'Ivoire)

Concentrations en mg/l	0	0,025	0,05	0,1	0,2
Témoin conservé à Bondy	0 (100)	68 (75)	79 (100)	95 (100)	98,7 (75)
trois semaines fermé	0 (100)	72 (175)	85,7(175)	98,2(175)	97 (100)
trois semaines ouvert	0 (100)	28,8(170)	53,1(175)	87,6(275)	99 (100)
six semaines fermé	0 (100)	21,8(142)	31,5(171)	74,1(174)	98,9 (99)
six semaines ouvert	0 (75)	0 (100)	5,8(172)	32,9(170)	72,5(175)
six semaines ouvert déshydraté 1 heure à 85°C	0 (75)	-	20 (50)	78 (50)	96 (75)
trois mois fermé	100 (100)	-	57 (100)	90,9(99)	100 (100)
trois mois ouvert	0 (98)	-	7 (100)	32 (100)	81 (99)
trois mois ouvert déshydraté 1 heure à 85°C	0 (99)	-	14,1(99)	39,4 (99)	81,8 (99)

(entre parenthèses, le nombre de larves testées)

TABLEAU 4 : Activité biologique de la poudre primaire R 153-78 de *Bacillus thuringiensis* sérotype 14 stockée ouverte trois semaines sur le terrain

concentrations en mg/l	Témoin conservé à Bondy		trois semaines ouvert sur le terrain	
	n *	% m ***	n	% m
0.20	-	-	223	98
0.10	74	94.6	221	78.3
0.05	73	47.9	218	32.1
0.025	48	20.8	74	4
0	-	-	100	0

\* n : nombre de larves par concentration

\*\*\* % m : % de mortalité brute