

O. C. C. G. E.

Institut de Recherches  
sur la Trypanosomiase  
et l' Onchocercose

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

Institut Français de Recherche  
Scientifique pour le  
Développement en Coopération

J. MOUCHET

EVALUATION EN MILIEU NATUREL DE L'ACTIVITE LARVICIDE D'UNE  
FORMULATION DE Bacillus thuringiensis H-14 (Teknar<sup>(R)</sup>) SUR  
Aedes aegypti DANS UN FOYER DE FIEVRE JAUNE EN COTE D'IVOIRE\*

par

J.M. HOUGARD<sup>\*\*</sup>, J. DUVAL<sup>\*\*\*</sup> et H. ESCAFFRE<sup>\*\*\*</sup>

N° 30/IRTO/RAP/84

---

\* Ce travail a bénéficié d'une subvention du PNUD/Banque Mondiale/OMS,  
Programme Spécial pour la Recherche et la Formation concernant les  
Maladies Tropicales.

\*\* Entomologiste médical de l'ORSTOM.

\*\*\* Technicien d'Entomologie médicale de l'ORSTOM.

OCCGE/IRTO, BP. 1500 Bouaké - Côte d'Ivoire.

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 28680

Cpte : B

RESUME.

Dans un foyer de fièvre jaune en Côte d'Ivoire, le traitement des eaux de boissons stockées à l'intérieur des habitations (gîtes larvaires à Aedes aegypti), par une suspension concentrée de Bacillus thuringiensis H-14 a donné les résultats suivants : si la mortalité est totale à 1 et 5 mg/l, la rémanence est par contre inférieure à une semaine et la population larvaire d'Aedes aegypti retrouve son niveau initial entre 2 et 4 semaines selon la concentration utilisée.

Mots-clés: Aedes aegypti - Bacillus thuringiensis H-14 - eaux de boissons - Evaluation sur le terrain - Afrique Occidentale.

SUMMARY :

In a yellow fever focus, in Ivory Coast, treatment of drinking water indoor containers (Aedes aegypti breeding sites) by a suspension concentrate of Bacillus thuringiensis H-14 has given the following results : all the larvae are dead after treatment at 1 and 5 mg/l. The first positive containers were detected less than one week after and all larvicidal activity had disappeared after 2 and 4 weeks, according to the concentration used.

Key-words: Aedes aegypti - Bacillus thuringiensis H-14 - drinking water - field test - West Africa.

## 1. INTRODUCTION.

En l'absence de toute campagne de masse systématique, la vaccination anti-amaril, en Côte d'Ivoire se pratique de façon ponctuelle, quand se déclare une épidémie de fièvre jaune. C'est ainsi qu'en mai 1982, les autorités sanitaires de Côte d'Ivoire décidaient, à la suite des conclusions d'une enquête épidémiologique, la vaccination immédiate de la région nord-est de M'Bahiakro. La transmission interhumaine de cette épidémie a été intégralement assurée par le seul Aedes aegypti domestique dont les larves se développent principalement dans les réservoirs d'eau de boisson situés à l'intérieur des habitations, les gîtes péri-domestiques et para-domestiques étant ici pratiquement inexistantes (Cordelier et Bouchité, 1982). Pour éviter la transmission dans ce type de foyer, la lutte antivectorielle la mieux adaptée semble passer par une lutte antilarvaire des gîtes domestiques intérieurs.

Parmi les nouveaux composés récemment employés dans la lutte larvicide contre les moustiques, le sérotype H-14 de Bacillus thuringiensis offre des perspectives intéressantes d'utilisation :

- Il présente une totale innocuité pour les mammifères (De Barjac et al., 1980; Rishikesh et al., 1983).
- Il présente peu de perspectives de résistance (Georghiou, 1983).
- Il est thermostable et très toxique pour les larves d'Aedes aegypti.

Il nous a donc paru intéressant d'évaluer sur le terrain son activité afin de savoir si cet insecticide biologique était capable de concurrencer le téméphos (Abate<sup>R</sup>), utilisé habituellement dans ce genre de lutte.

## 2. CARACTERISTIQUES DE LA ZONE D'ETUDE.

Cette zone est située dans la région nord-est de M'Bahiakro, sur l'épaule est du "V" Baoulé, dans une zone de transition entre la forêt dégradée et la mosaïque forêt/savane.

Notre expérimentation s'est déroulée dans deux villages voisins, Dézidou-gou et Totodougou, ayant respectivement 420 et 1000 habitants (données approximatives). Ces deux villages appartiennent à un petit groupe ethnique, les N'Gains, et furent touchés tous deux par l'épisode amaril, de mai 1982. Les enquêtes effectuées à cette époque par Cordelier et Bouchité (1982) ont permis de préciser, en ce qui concerne notre étude, les points suivants :

.../...

- la transmission inter-humaine de la maladie, assurée par le seul Aedes aegypti, est liée au comportement des villageois en matière de stockage de l'eau de boisson : contrairement aux villages Baoulé environnants, les "canaris (photo N° 1 en annexe) utilisés à l'intérieur des maisons ne sont ni vidés, ni nettoyés car beaucoup trop lourds à manipuler. Ils constituent par conséquent de bons gîtes à Aedes aegypti\*;

- Cette épidémie était heureusement limitée par deux facteurs : les gîtes péri-domestiques (récipients divers abandonnés) et para-domestiques (gîtes naturels en situation rurale) sont pratiquement inexistantes, et l'importance numérique du peuplement N'Gain est faible (10.000 personnes environ).

Ces quelques données expliquent par conséquent le choix de la zone d'étude:

- d'un point de vue épidémiologique, nous nous plaçons dans le cas le plus favorable pour espérer, par le seul traitement larvicide, réduire ou supprimer la transmission interhumaine de la maladie (foyer bien délimité, gîtes limités en nombre et bien localisés);

- d'un point de vue lutte antivectorielle, les "canaris" représentent un matériel de choix pour l'expérimentation (évaluation larvaire et traitement faciles à réaliser).

Notons toutefois qu'il ne s'agit pas ici d'évaluer l'impact d'un traitement larvicide mais de tester, dans les conditions naturelles et avec un nombre restreint de gîtes, l'efficacité d'une formulation insecticide. Par conséquent, le choix de cette zone d'étude d'un point de vue épidémiologique ne se justifie que dans l'éventualité d'un traitement ultérieur, avec la formulation la mieux adaptée, de toute la zone sous menace amarilè.

### 3. MATERIEL ET METHODE.

#### 3.1. Choix de l'insecticide et de la formulation utilisée.

Nous avons choisi une suspension concentrée de Bacillus thuringiensis H-14 (Teknar<sup>(R)</sup>) pour les raisons suivantes :

- cete formulation est utilisée opérationnellement dans le Programme OMS/OCP de Lutte contre l'Onchocercose : elle est donc disponible à tous moments et en grandes quantités dans l'éventualité d'un traitement de tous les villages concernés;

---

\* Il faut noter également la présence à l'extérieur des habitations de rares fûts servant à collecter l'eau de pluie. Ces récipients constituent occasionnellement des gîtes à Aedes aegypti (photo N° 2 en annexe).

- elle ne perd pas de son activité après plus de 16 mois de stockage en plein soleil en Afrique de l'Ouest (Guillet et al., 1982);

- à 1 et 3 mg/l de Teknar (doses généralement utilisées pour le traitement des eaux de boissons), la suspension n'a ni couleur, ni odeur et ne présente aucun goût, 7 jours après la dilution (Donat., comm.pers.).

### 3.2. Prospection, choix et échantillonnage des gîtes.

Parmi les deux villages étudiés, nous avons retenu Dezidougou comme village témoin (non traité) et Totodougou comme village traité. Pour chacun d'entre eux, nous avons prospecté une vingtaine d'habitations et avons retenu une trentaine de canaris environ.

Les maisons doivent être habitées et le propriétaire informé de notre passage pour éviter d'une part que les canaris soient vidés, d'autre part que les maisons ne soient fermées lors de nos contrôles hebdomadaires.

Notons également que ce travail s'est réalisé après contact avec les autorités villageoises qui ont sensibilisés les habitants à cette évaluation insecticide.

Chaque maison et canari sont soigneusement numérotés pour éviter toutes confusions lors des contrôles de la mortalité larvaire.

L'échantillonnage des gîtes s'effectue à l'aide d'une torche électrique par lecture directe de la densité larvaire. Cette mesure est relative, il ne s'agit pas de compter tous les stades préimaginaux présent dans les canaris.

Seuls les stades III-IV et (ou) les nymphes sont pris en compte. La réapparition de ces stades après traitement laisse supposer des émergences dans les jours qui suivent : le Bacillus thuringiensis H-14 agit quelques heures seulement après l'ingestion de la toxine bactérienne.

Nous avons effectué au cours de cette prospection quelques prélèvements de larves d'Aedes et autres Culicidae pour identification au laboratoire.

### 3.3. Traitement des gîtes préimaginaux, contrôle de la mortalité.

Nous avons traité tout d'abord les canaris à 1 mg/l puis à 5 mg/l. 1 mg/l représente plus de 5 fois la CL 100 obtenue au laboratoire avec la même formulation sur Aedes aegypti souche "Bora-bora" (méthode du triple essai).

.../...

La capacité maximale de ces canaris pouvant atteindre près de 100 litres, nous avons effectué nos dilutions en fonction de ce volume, même si le récipient était presque vide. Ces concentrations de 1 et 5 mg/l représentent donc en fait les doses minimales obtenues temporairement peu après le remplissage des canaris.

L'évaluation du traitement s'effectue également au moyen d'une torche électrique. Le gîte est considéré positif dès réapparition de larves III-IV et (ou) de nymphes. Ce contrôle a lieu une fois par semaine.

#### 4. RESULTATS ET DISCUSSION.

##### 4.1. Identification des Culicidae présents dans les canaris.

Outre Aedes aegypti, nous avons mis en évidence dans 3 canaris des larves de Culex (Culex) decens. Ces moustiques n'étaient présents que temporairement et proviennent de pontes ou larves prélevées lors de l'approvisionnement en eau.

Remarquons également la présence dans quelques canaris de cyclops provenant des mares avoisinantes. Une jeune personne de Totodougou était d'ailleurs atteinte de dracunculose.

##### 4.2. Résultats du traitement des gîtes larvaires par le Teknar<sup>(R)</sup>.

###### 4.2.1. Village témoin (Dézidougou).

Nous avons suivi pendant 8 semaines consécutives l'évolution de la population préimaginale d'Aedes aegypti dans une trentaine de canaris\* répartis dans 17 habitations. Nous avons établi pour chaque semaine le pourcentage de gîtes positifs (tableau I ci-dessous).

| Nombre de semaines  | 0       | 1      | 2       | 3       | 4       | 5       | 6       | 7       | 8       |
|---|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Pourcentage de gîtes positifs en larves III-IV et nymphes | 48,4%   | 26,5%  | 48,5%   | 48,5%   | 60,6%   | 42,4%   | 42,9%   | 39,4%   | 35,3%   |
|   | (15/31) | (9/34) | (16/33) | (16/33) | (20/33) | (14/33) | (15/35) | (13/33) | (12/34) |

Tableau I : Evolution du pourcentage de gîtes positifs durant 8 semaines consécutives dans le village témoin de Dézidougou. Entre parenthèses : nombre de gîtes positifs sur le nombre total de gîtes prospectés.

\* Malgré les précautions prises (§ 3.2.), certains canaris étaient vidés ou des maisons fermées après notre passage, ce qui explique la variation du nombre total de canaris.

Le pourcentage des canaris positifs varie de 26 à 50% pendant ces deux mois d'observation. Ces résultats concordent avec ceux trouvés en 1982 dans ces villages par Cordelier et Bouchité (comm. pers.).

#### 4.2.1. Village traité (Totodougou).

Nous avons suivi après traitement à 1 mg/l de 34 canaris l'évolution de la population préimaginale d'Aedes aegypti jusqu'à réapparition d'un niveau équivalent à celui du village témoin. Passé ce délai, nous avons recommencé l'opération à 5 mg/l avec une trentaine des canaris utilisés précédemment (tableau II ci-dessous).

| Nombre de semaines (avant après traitement)               | Traitement à 1 mg/l |                |                 |                  |                 | Traitement à 5 mg/l |                |                 |                 |                 |
|---|---------------------|----------------|-----------------|------------------|-----------------|---------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|   | 0                   | 1              | 2               | 3                | 4               | 0                   | 1              | 2               | 3               | 4               |
| Pourcentage de gîtes positifs en larves III-IV et nymphes | 38,2%<br>(13/34)    | 9,1%<br>(3/33) | 12,2%<br>(6/33) | 46,7%<br>(14/30) | 29,6%<br>(8/27) | 29,3%<br>(8/27)     | 3,3%<br>(1/30) | 22,2%<br>(6/27) | 16,1%<br>(5/31) | 33,3%<br>(9/27) |

**Tableau II** : Evolution du pourcentage de gîtes positifs en fonction du nombre de semaines après traitement à 1 puis à 5 mg/l de Teknar<sup>(R)</sup> dans le village de Totodougou. Entre parenthèse : nombre de gîtes positifs sur le nombre total de gîtes prospectés.

A 1 mg/l de Teknar, la population préimaginale redevient équivalente à celle du témoin entre la 2ème et 3ème semaines après le traitement.

A 5 mg/l, elle redevient équivalente entre la 3ème et 4ème semaines.

Notons que pour les deux concentrations, la mortalité après 24 heures est totale pour tous les canaris prospectés mais est inférieure à une semaine.

Le graphique I situé en annexe consigne tous ces résultats (pourcentage de canaris positifs en larves III-IV et nymphes en fonction du temps).

#### 4.3. Discussion.

Des tests de terrain simulés en eau claire avec une suspension concentrée de Sandoz 402 I ont montré qu'il n'y avait pas d'émergence d'Aedes aegypti pendant 7 à 10 jours après un traitement à 0.06 ml/m<sup>2</sup> (Sudomo et al., 1981).

Klein et al., (1981) observent sur des larves d'Aedes polynesiensis une efficacité totale pendant seulement 3 à 4 jours dans des fûts de 200 litres d'eau à 0.55 mg/l de Teknar<sup>(R)</sup>.

Silapanuntakul et al., (1983) montrent que l'effet lethal de Bacillus thuringiensis contre Aedes aegypti décroît de la CL 90 à la CL 50 en 15 semaines environ (tests de terrain simulés en eau claire).

Une étude réalisée par Rampal et al. (1983) en Malaisie montre qu'une poudre primaire de Bacillus thuringiensis a une bonne efficacité contre les larves de Culicinae à 0.6 mg/l, mais que l'effet résiduel, pratiquement nul, oblige à répéter les traitements toutes les semaines (test de terrain à petite échelle).

Les résultats de ces différents auteurs concordent avec ceux obtenus dans la présente étude :

- l'efficacité totale est effectivement très limitée (inférieure à une semaine, voir graphique I en annexe).

- la réapparition de la population préimaginale à son niveau initial varie, suivant la concentration, entre 3 et 5 semaines. Cet effet se prolonge de quelques jours si l'on considère la réapparition des adultes d'Aedes aegypti.

La grande stabilité de l'endotoxine de Bacillus thuringiensis laisse supposer que cette faible rémanence est due essentiellement à un problème de formulation. En colonisant artificiellement des canaris par des larves d'Aedes aegypti souche "Bora-bora", nous avons obtenu en 1983 (non publié) un effet résiduel beaucoup plus important. Cette différence entre les tests simulés et les résultats obtenus sur le terrain nous amène à émettre les hypothèses suivantes :

- Contrairement au test simulé, l'eau des canaris traités sur le terrain est prélevée régulièrement entraînant ainsi une perte de la matière active qui n'a pas encore sédimenté.

- L'eau prélevée par les villageois est plus chargée en matière organique que l'eau du robinet. Il en résulte l'apparition au fond du récipient d'une mince couche de substrat. Cette fine couche de matière organique peut "masquer" l'activité de la toxine (Sinègre et al. (1981)).

- La raison essentielle semble résider dans le comportement des villageois en matière de stockage de l'eau : bien que ceux-ci n'aient pas l'habitude de vider ni nettoyer leurs canaris il se peut que malgré nos recommandations certains d'entre eux aient préféré enlever l'eau traitée.



Parmi les insecticides chimiques, Cordelier et Bouchité ont traité en mai 1982 les 3 villages où ont été signalés les cas suspects de fièvre jaune (Totodougou, Dézidougou et Ouassadougou). Ils ont utilisé du téméphos (Abate<sup>(R)</sup>) en granulés à la concentration de 1 mg/l. Le but de ce traitement n'était pas d'évaluer la rémanence de cet insecticide mais de faire face à l'urgence de la situation. Ils ont néanmoins constaté un minimum d'efficacité de 12 jours, correspondant à l'intervalle de temps entre les deux traitements.

Hervy et Kambou (1978) ont employé, dans un village du Burkina-Faso, de l'Abate en concentré émulsionnable à la concentration de 1 mg/l. Ce traitement a éliminé totalement la production d'adultes d'Aedes aegypti pendant 4 à 6 semaines.

##### 5. CONCLUSION.

La faible rémanence de la suspension concentrée de Bacillus thuringiensis H-14 (Teknar<sup>(R)</sup>) ne permet pas d'envisager une utilisation opérationnelle de cette formulation pour la lutte contre Aedes aegypti dans les eaux de boisson.

Le même phénomène a déjà été constaté notamment par Sudomo et al. (1981) et Hougard et al. (1983) pour les eaux polluées.

Cependant, les qualités de cet insecticide biologique (innocuité pour les mammifères, stabilité de la toxine, toxicité pour Aedes aegypti et faibles perspectives de résistance) nous incitent à penser que dans ce cas particulier des eaux de boissons, cette faible rémanence est essentiellement due à un problème de formulation. Il serait donc intéressant de mettre au point une formulation à relargage progressif de la matière active (slow-release) et qui réunirait les conditions suivantes :

- diffusion de l'insecticide pendant au moins un mois (ce qui est généralement le cas pour la plupart des "slow-release");

- matière inerte pour éviter l'apparition, dans l'eau de boisson, de proliférations microbiennes : des essais réalisés par notre équipe avec des granulés imprégnés de Bacillus thuringiensis H-14 ont mis en évidence, après quelques jours seulement dans les canaris, la formation d'un halo blanchâtre de "moisissures";

- densité nettement supérieure à 1 pour éviter que le substrat ne flotte à la surface;

- "slow-release" sous forme d'une pilule unique par canari, permettant ainsi rapidement le traitement de tous les gîtes d'un village.

.../...

Nous espérons tester le plus rapidement possible ce type de formulations (des contacts avec les firmes ont déjà été pris en ce sens) afin de savoir s'ils pourront efficacement concurrencer le téméphos, utilisé habituellement dans ce genre de lutte.

REMERCIEMENTS.

Plusieurs personnes de la sous-Préfecture de M'Bahiakro nous ont été d'un grand secours pour la mise en route et l'accomplissement de notre travail. Nous remercions notamment :

- Monsieur le Sous-Préfet de M'Bahiakro pour son accueil et les facilités qu'il nous a accordées.

- Messieurs le Directeur, Médecin-Chef et Infirmier major de l'hôpital de M'Bahiakro pour les renseignements qu'ils nous ont fournis.

- Messieurs les Chefs et responsables des villages de Totodougou et Dézidougou qui nous ont permis d'entretenir d'excellentes relations avec tous les villageois.

- Monsieur Anzoumana Ouattara, originaire de Totodougou pour ses grandes connaissances sur le pays N'Gain dont il a su nous faire profiter.

Nous remercions également nos collègues de l'ORSTOM :

- Messieurs R. Cordelier et B. Bouchité pour leur aide et tous les renseignements qu'ils nous ont fournis concernant notre zone d'étude.

- Messieurs D. Quillévéré et P. Guillet pour leurs conseils lors de notre travail et de la rédaction de ce manuscrit.

- Monsieur J. Mouchet avec qui nous avons fait la première mission dans cette zone et qui a été à l'origine de ce travail.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- Cordelier (R.) et Bouchité (B.), 1982 - Rapport sur l'épidémie de fièvre jaune de la sous-Préfecture de M'Bahiakro. Doc ronéo. ORSTOM/Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.
- De Barjac (H.), Larget (I.), Bénichou (L.), Cosmiao (V.), Viviani (G.), Ripouteau (H.) et Papion (S.), 1980 - Tests d'innocuité sur mammifères avec du sérotype H-14 de Bacillus thuringiensis. Mimeo. Doc. WHO/VBC/80.761, Geneva, 23 p.
- Georghiou (G.), 1983 - Unpublished WHO Document.
- Guillet (P.), Escaffre (H.) et Prud'hom (J.M.), 1982 - L'utilisation d'une formulation de Bacillus thuringiensis H-14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. II. Stabilité dans les conditions de stockage en milieu tropical. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., vol. XX, N° 3 : 181-185.
- Hervy (J.P.) et Kambou (F.), 1978 - Village scale evaluation of Abate for larval control of Aedes aegypti in Upper Volta. Mimeo. Doc. WHO/VBC/78.694, Geneva, 9 p.
- HOUGARD (J.M.), Darriet (F.) et Bakayoko (S.), 1983 - Evaluation en milieu naturel de l'activité larvicide de Bacillus thuringiensis sérotype H-14 sur Culex quinquefasciatus Say, 1823 et Anopheles gambiae Giles, 1902 s.l. (Diptera: Culicidae) en Afrique de l'Ouest. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., vol XXI, N° 2 : 111-117.
- Klein (J.M.), Duval (J.), Rivière (F.) et Faarua (M.), 1981 - Evaluation de Bacillus thuringiensis sérotype H-14 de Barjac pour la lutte antilarvaire contre les moustiques de la Polynésie Française. Rap. ronéo.
- Rampal (L.), Thevasagayam (E.S.), Kolta (S.) and Cheong Weng Hooi, 1983 - A small scale field trial with Bacillus thuringiensis against culicine mosquitoes, Kelang, Malaysia. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., vol. 14, N° 1 : 101-105.
- Rishikesh (N.), Burges (H.D.) and Vandekar (M.), 1983 - Operational use of Bacillus thuringiensis serotype H-14 and environmental safety. Mimeo. Doc. WHO/VBC/83.871, Geneva, 9 p.

Silapanuntakul (S.), Pantuwatna (S.), Bhumiratana (A.) and Charoensiri (K.), 1983-  
The comparative persistence of toxicity of Bacillus sphaericus 1593 and  
Bacillus thuringiensis serotype H-14 against mosquito larvae in diffe-  
rent kinds of environments. J. Invertebr. Pathol., 42 : 000-000.

Sinègre (G.), Gaven (B.) et Jullien (J.L.), 1981 - Contribution à la normalisation  
des épreuves de laboratoire concernant des formulations expérimentales  
et commerciales du sérotype H-14 de Bacillus thuringiensis. III. Influen-  
ce séparée ou conjointe de la densité larvaire, du volume ou profondeur  
de l'eau et de la présence de terre sur l'efficacité et l'action larvici-  
de d'une poudre primaire. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., vol.  
XIX, N° 3 : 157-163.

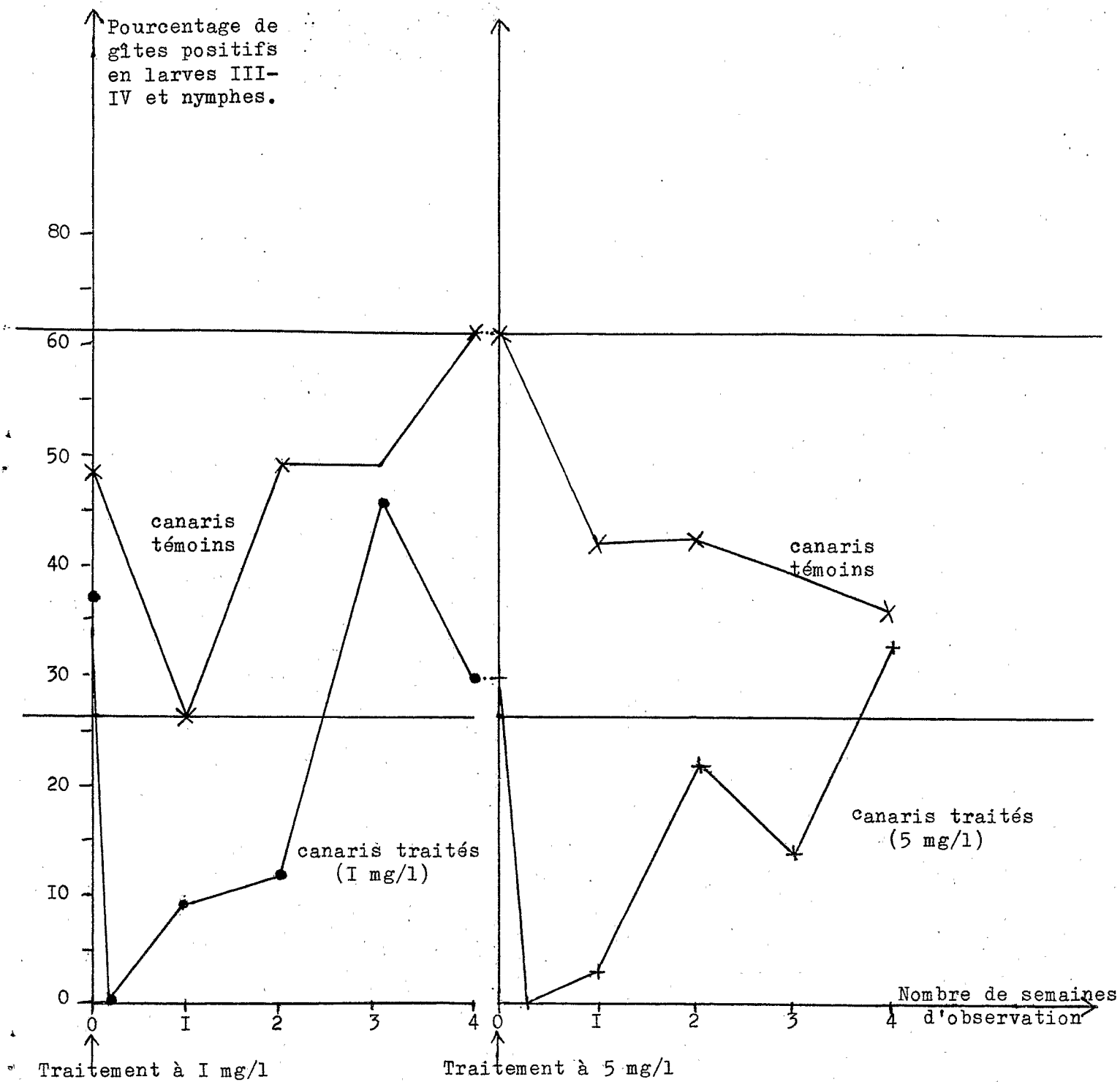
Sudomo (M.), Aminah (S.), Mathis (H.) et Bang (Y.H.), 1981 - Small-scale field  
trials of Bacillus thuringiensis H-14 against different mosquito vector  
species in Indonesia. Mimeo. Doc. WHO/VBC/81.836, Geneva, 10 p.



Photographie N°1: Gîtes domestiques intérieurs ("canaris")  
à Aedes aegypti dans un village N'Gain



Photographie N°2: Gîtes domestiques extérieurs (fûts) à  
Aedes aegypti dans un village N'Gain.



Graphique I: Evolution comparée en fonction du temps du pourcentage de gîtes positifs en larves stades III-IV et nymphes d'*Aedes aegypti* entre des canaris traités à 1 puis 5 mg/l et des canaris non traités (témoins). Les deux traits horizontaux représentent les variations maximales du pourcentage de gîtes positifs enregistrées pendant les 8 semaines d'observation.