

Brendy

ORGANISATION DE COORDINATION ET DE COOPERATION
POUR LA LUTTE CONTRE LES GRANDES ENDEMIES

CENTRE MURAZ
SECTION ENTOMOLOGIE
B.P. 153
BOBO DIULASSO
HAUTE VOLTA

MISSION O.R.S.T.O.M.
AUPRES DE L'O.C.C.G.E.
B.P. 171
BOBO DIULASSO
HAUTE VOLTA

N° 11 / ENT-CM-RAP.80
du 25 Avril 1980

N° 7.399 / 80-DOC.TECH.OCCGE

EVALUATION, EN LABORATOIRE,
DE L'EFFICACITE DE CINQ PREPARATIONS
DE BACILLUS THURINGIENSIS SEROTYPE H-14
CONTRE LES STADES LARVAIRES
D'Aedes Aegypti (1).

I. EVALUATION SUR DES LARVES AGEES D'A. Aegypti.

par

J.P. HERVY *
et S. SALES **

avec la collaboration technique de B. PALENFO ***

-
- * Entomologiste médical de l'ORSTOM
 - ** Technicienne en Entomologie médicale, ORSTOM
 - *** Auxiliaire de laboratoire, ORSTOM.

(1) : Ce rapport présente les résultats de recherches menées à la Section Entomologie du Centre Muraz dans le cadre d'accords conclus entre l'OCCGE et l'ORSTOM d'une part, l'OCCGE et l'OMS d'autre part.

De plus, cette étude a bénéficié d'une subvention de l'OMS, au titre de la participation au "Programme OMS pour l'Essai et l'Evaluation de nouveaux Insecticides (Contrat V2/181/31).

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° : 28934. cv 1
Cpte : B

RESUME

Cinq préparations (poudres mouillables) de Bacillus thuringiensis H-14 (= var. israelensis) ont été testées en laboratoire, sur les larves âgées d'A. aegypti. Les tests ont été réalisés d'une part dans des bols, d'autre part dans des assiettes. Le contact a été porté à 48 heures avec une lecture à 24 heures et une autre à 48 heures.

Les concentrations étaient les suivantes : 0,8 - 0,16 - 0,032 - 0,0064 - 0,00128 ppm. Les dosages significatifs sont 0,16 et 0,032 ppm.

La comparaison des courbes de régression, entre ces deux valeurs, fait apparaître :

- le peu d'influence de la nature du récipient,
- l'augmentation de la mortalité à 48 heures,
- un classement relatif des préparations de B. thuringiensis soumises à l'essai, selon leur efficacité.

Cette expérimentation sera reprise en utilisant de jeunes stades (I et II) d'A. aegypti.

SUMMARY

Five preparations (w.d.p.) of Bacillus thuringiensis H-14 (= var. israelensis) were tested, in laboratory, against old Aedes aegypti larvae. Assays were achieved in bowls and plates, with an exposure time of 48 hours. Mortality was read after 24 and 48 hours.

The concentrations used were : 0,8 - 0,16 - 0,032 - 0,0064 - 0,00128 ppm.

The significant dosages are 0,16 and 0,032 ppm. The comparison of the log probit-concentration lines, between these two values, shows that :

- the sort of container don't matter much,
- an increase of mortality occurs with a 48 hours exposition,
- a relative grading of the five preparations tested appears, according to their efficacy.

Such tests will be repeated with young A. aegypti larvae (stages I or II).

INTRODUCTION

Bacillus thuringiensis est une bactérie aérobie qui, lors de la formation des spores, produit un cristal protéique contenant une endotoxine. Dans un passé récent, l'endotoxine des différentes souches de B.thuringiensis n'était vraiment pathogène que pour les seuls lépidoptères. Avec le sérotype H-14, nouvelle appellation de l'ex-"variété israelensis", le pouvoir pathogène s'étend à d'autres insectes, dont les Culicidae.

Les préparations de B.thuringiensis H-14 actuellement disponibles sont à base de spores contenant les cristaux protéiques eux-mêmes abritant la delta-endotoxine. Ces produits, efficaces par ingestion, sont tout indiqués pour être utilisés comme larvicides anti-culicidiens.

Nous avons donc procédé, en laboratoire, à l'évaluation de l'efficacité de cinq préparations de B.thuringiensis H-14 contre les stades larvaires d'Aedes aegypti.

Cette expérimentation entre dans le cadre des travaux réalisés par la Section Entomologie du Centre Muraz, au titre de Laboratoire Collaborateur de l'OMS pour l'Essai et l'Evaluation de nouveaux Insecticides.

1. NATURE DES PREPARATIONS DE BACILLUS THURINGIENSIS UTILISEES

Cinq préparations de B.thuringiensis sérotype H-14 nous ont été communiquées par la division V.B.C. de l'OMS (Genève).

Elles sont identifiées par des lettres : A, B, C, D, E et se présentent sous la forme de poudres.

Destinées à une expérimentation "en aveugle", ces poudres ne portent aucune mention de leur origine, ni de leur concentration en matière active.

2. PROTOCOLE D'EXPERIMENTATION

L'évaluation des cinq préparations de B.thuringiensis H-14 comporte la réalisation de tests insecticides sur des larves d'A.aegypti. Plusieurs séries de tests permettent de modifier différents facteurs :

- l'âge des larves : - soit stades I et II jeune,
- soit stades III âgé et IV jeune,

- la nature du récipient où se déroule le contact insecticides-larves :
 - bols
 - ou assiettes,
- la durée du contact et donc le délai de lecture :
 - 24 heures,
 - 48 heures.

Chaque test est conduit à raison de quatre lots de 25 larves pour chaque concentration. Cinq concentrations sont utilisées auxquelles viennent s'ajouter des "témoins" sans insecticide.

3. TECHNIQUES ET MATERIEL UTILISES

Les tests sont réalisés en salle climatisée, à 26°. Nous avons utilisé de l'eau distillée dont il n'a pas été possible de déterminer les caractéristiques physico-chimiques.

3.1. Larves de moustiques utilisées

Nous avons évalué l'activité des différentes poudres de B.thuringiensis sur des larves d'A.aegypti provenant d'un élevage permanent dont les caractéristiques ont été décrites dans un précédent rapport (HERVY & COOSEMANS, 1978). Il s'agit de la souche BOBO-KARI.

Au cours de cette première partie de l'expérimentation, nous avons utilisé uniquement des larves de stade III âgé ou IV jeune ayant en moyenne 68 heures en début de test.

Les larves avaient été préalablement nourries à raison de 500 mg. de super-levure pour 1,5 litre d'eau contenant 300 larves.

3.2. Récipients utilisés

Classiquement, un test insecticide comporte la mise en contact de lots de 25 larves avec des solutions insecticides à diverses concentrations. La quantité d'eau est de 250 cc; quatre lots sont utilisés pour chaque expérimentation. Le récipient habituel est le bol. A la demande de l'OMS nous avons aussi utilisé des assiettes.

Bols et assiettes sont en verre pyrex, les premiers ont une contenance globale de 470 cc, les secondes de 840 cc. Pour un volume de solution de 250 cc la profondeur de l'eau est donc beaucoup plus faible dans les assiettes (15 mm) que dans les bols (35 mm).

Pour chaque insecticide les tests ont été conduits simultanément dans les bols et dans les assiettes.

3.3. Concentrations employées

D'assez nombreux tests préliminaires ont été nécessaires avant que les concentrations d'expérimentation soient déterminées.

Les concentrations retenues ont été les suivantes :
0,80 - 0,16 - 0,032 - 0,0064 - 0,00128 ppm
soit selon une progression géométrique d'ordre 0,2.

3.4. Temps de contact

Le temps de contact usuel, au cours de tests insecticides comportant des concentrations croissantes, est de 24 heures. Nous avons porté ce temps de contact à 48 heures.

3.5. Lecture de la mortalité

La lecture de la mortalité a été réalisée en deux temps : au bout de 24 heures puis à la fin des 48 heures de contact.

Ont été considérées comme mortes toutes les larves ne présentant aucun mouvement après aspiration et rejet par une pipette.

4. REMARQUES PORTANT SUR LES TECHNIQUES EMPLOYEES

4.1. Qualité des larves de moustiques

Il faut souligner la nécessité de réaliser les tests avec des larves d'A.aegypti présentant des caractéristiques homogènes d'âge, de grandeur et de vitalité.

Dans ce but, l'élevage doit être "standardisé" :

- éclosion synchronisée (au moyen d'acide ascorbique),
- nombre de larves et quantité d'eau constants par plateau,
- quantité constante de nourriture,
- température d'élevage stabilisée (30°).

4.2. Nature des récipients

La lecture de la mortalité est plus facile dans les assiettes que dans les bols, en raison d'une meilleure dispersion des larves.

4.3. Obtention des concentrations finales

Il y a deux façons d'obtenir les concentrations finales :

- réalisation de plusieurs "solutions-mères" :

200 - 40 - 8 - 1,6 et 0,32 ppm. dont la dilution au 1/250ème donne les solutions finales,

- réalisation d'une solution mère à 1000 ppm. dont les dilutions successives d'abord au 1/250ème (4 ppm.) puis au 1/5ème permet d'obtenir les solutions de tests, aux concentrations voulues.

Nous avons expérimenté ces deux méthodes avec B.thuringiensis H-14. La première, au cours de laquelle nous avons utilisé, dans un but de rationalisation, un agitateur magnétique à chaque dilution, s'est traduite par des résultats incohérents, améliorés ensuite par le passage à une agitation manuelle moins prolongée.

La seconde, avec agitation manuelle, s'est révélée la seule efficace.

4.4. Temps de contact

Avec un temps de contact de 48 heures, l'écart se creuse entre les concentrations. L'utilisation d'un tel temps de contact exigerait l'emploi de solutions de test supplémentaires, de concentrations intermédiaires à celles utilisées.

4.5. Lecture de la mortalité

Avec les conditions d'élevages d'A.aegypti précédemment décrites (3.1.), il faut noter qu'il n'apparaît pas de nymphes, ou très peu, après 48 heures de contact. Cela est dû en partie au fait que les larves ne sont plus nourries et que la température du milieu est plus basse.

Un phénomène intervient cependant qui peut parfois biaiser les résultats lors des lectures après 48 heures : la nécrophagie. En effet, pour les concentrations moyennes, les larves mortes sont parfois dévorées par les larves survivantes. Il importe donc de compter avec soin le nombre d'individus en début de test.

5. RESULTATS DE L'EVALUATION

Le tableau I présente les résultats des tests définitifs portant sur les larves âgées d'A.aegypti.

Ces tests ont été réalisés entre le 18 mars et/8 avril 1980, soit 6 mois environ après la réception des poudres de B.thuringiensis H-14.

La figure 1 permet, par superpositions de deux ensembles de graphiques, de comparer les portions de courbes de régression situées entre les concentrations 0,032 et 0,16 ppm, portions les plus représentatives car incluant, pour la plupart, la valeur : 50 % de mortalité.

Cette comparaison porte d'une part sur l'influence de la nature du récipient et d'autre part sur la durée du temps de contact.

6. DISCUSSION

Nous rappelons qu'il s'agit d'une expérimentation réalisée "en aveugle". Notre discussion des résultats se limitera donc à des appréciations relatives.

6.1. Influence du temps de contact

Prolonger le temps de contact de 24 à 48 heures conduit, pour chaque concentration, à une augmentation très sensible de la mortalité observée qui présente, à notre avis, plus d'inconvénients que d'avantages. En effet, pour un contact de 48 heures, avec les concentrations utilisées, le nombre de dosages donnant des résultats significatifs, et exploitables, diminue.

D'un point de vue pratique, le test de 48 heures immobilise le matériel de test pendant deux fois plus de temps et, pour peu que l'élevage d'A.aegypti ne soit pas parfaitement maîtrisé, peut conduire à des transformations massives de larves en nymphes ou, au contraire, à une augmentation artificielle de la mortalité.

6.2. Influence de la nature des récipients

La figure 1 indique que la nature du récipient n'influe pas sur les résultats, pour un même temps de contact. Le "classement" des différentes poudres testées est quelque peu modifié mais les limites inférieures et supérieures des mortalités enregistrées sont les mêmes.

6.3. Efficacité des différentes préparations de B.thuringiensis H-14.

La lecture des résultats présentés dans le tableau I et la confrontation des portions de ligne de régression située entre 0,032 et 0,16 ppm. (fig.1) conduisent à définir un certain classement des cinq préparations de B.thuringiensis H-14 proposées :

- la poudre D apparaît toujours nettement la plus médiocre,
- vient ensuite la poudre E, dont l'efficacité est supérieure,

- au sein du groupe A, B, C, il est difficile d'établir une hiérarchie : en ne tenant compte que de la lecture au bout de 24 heures les CL 50 sont respectivement les suivantes :

ASSIETTES : A = 0,063 ppm	BOLS : A = 0,056 ppm
C = 0,054 ppm	C = 0,046 ppm
B = 0,041 ppm	B = 0,041 ppm.

Ce qui nous donne le classement suivant, par ordre d'efficacité décroissante :

B - C - A - E - D -

CONCLUSION

L'évaluation des cinq poudres de B.thuringiensis que nous avons réalisée montre qu'il est sans intérêt de prolonger le temps de contact au-delà de 24 heures, que la nature du récipient utilisé lors des tests (bol ou assiette) importe peu, que les dilutions successives avec agitation manuelle modérée sont les mieux adaptées aux préparations de B.thuringiensis se présentant sous forme de poudres.

Lors de la deuxième partie de notre expérimentation, qui portera sur des jeunes larves d'A.aegypti, si nous utilisons encore deux types de récipients, nous nous limiterons, par contre, à un seul temps de contact : 24 heures.

BIBLIOGRAPHIE

HERVY (J.P.) & COOSEMANS (M.H.), 1978.- Fonctionnement de l'insectarium du Centre Muraz. Etude des facteurs conditionnant, en laboratoire, le développement larvaire d'Aedes aegypti L.
Rapp.multigr., OCCGE-Centre Muraz, Bobo-Dioulasso, n° 11/ENT.78, 21 p.

TABLEAU I.- Résultats des tests portant sur l'efficacité de concentrations décroissantes de cinq préparations de B.thuringiensis H-14 sur des larves âgées d'A.aegypti.

		<u>B.thuringiensis</u> H-14					Poudre A					Poudre B					Poudre C				
A S S I E T T E S	Concentration (en ppm)	Total	Morts 24 H	% M.24H	Morts 48 H	% M.48 H	Total	Morts 24 H	% M.24H	Morts 48 H	% M.48H	Total	Morts 24H	% M.24H	Morts 48 H	% M.48H					
		0,80	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	101	96	95	101	100				
	0,16	100	93	93	100	100	98	95	96,9	98	100	100	84	84	96	96					
	0,032	98	14	14,3	43	43,9	96	35	36,5	71	74	100	31	31	86	86					
	0,0064	100	1	1	6	6	100	3	3	0	0	99	1	1	9	9,1					
	0,00128	99	3	3	4	4	98	3	3,1	3	31	101	2	2	0	0					
	TEMOIN	100	0		0		100	0	0	0	0	100	0	0	0	0					
B O L S	0,80	100	100	100	100	100	99	99	100	99	100	100	98	98	100	100					
	0,16	99	96	97	99	100	100	95	95	99	99	99	95	96	99	100					
	0,032	99	16	16,2	65	65,7	96	35	36,5	88	91,7	100	31	31	75	75					
	0,0064	100	2	2	3	3	100	2	2	4	4	100	2	2	1	1					
	0,00128	99	0	0	6	6,1	100	2	2	3	3	100	0	0	0	0					
	TEMOIN	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0					

TABLEAU I (suite).

	<u>B.thuringiensis H-14</u>	Poudre D					Poudre E				
	Concentration (en ppm)	Total	Morts 24 H	% M.24H	Morts 48 H.	% M.48H	Total	Morts 24 H.	% M.24 H	Morts 48 H.	% M.48 H
A S S I E T T E S	0,80	100	90	90	100	100	100	91	91	96	96
	0,16	101	52	51,5	92	91,1	98	71	72,4	87	88,8
	0,032	100	10	10	34	34	96	27	28,1	42	43,8
	0,0064	101	0	0	0	0	100	5	5	13	13
	0,00128	100	0	0	0	0	100	1	1	5	5
	TEMOIN	100	0	0	2	2	100	0	0	0	0
	0,80	99	98	99	99	100	100	100	100	100	100
B O L S	0,16	98	61	62,2	93	94,9	102	88	86,3	96	94,1
	0,032	96	7	7,3	18	18,8	100	21	21	88	88
	0,0064	100	0	0	0	0	99	0	0	4	4
	0,00128	101	0	0	1	1	100	1	1	0	0
	TEMOIN	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0

Figure 1 - Aspects des lignes de régression, entre les dosages 0,032 et 0,16 p.p.m., pour les cinq préparations de *B. thuringiensis* H 14, en fonction des conditions d'expérimentation : utilisation de bols ou d'assiettes, contact de 24 ou de 48 heures. Le calque autorise des comparaisons par superposition.

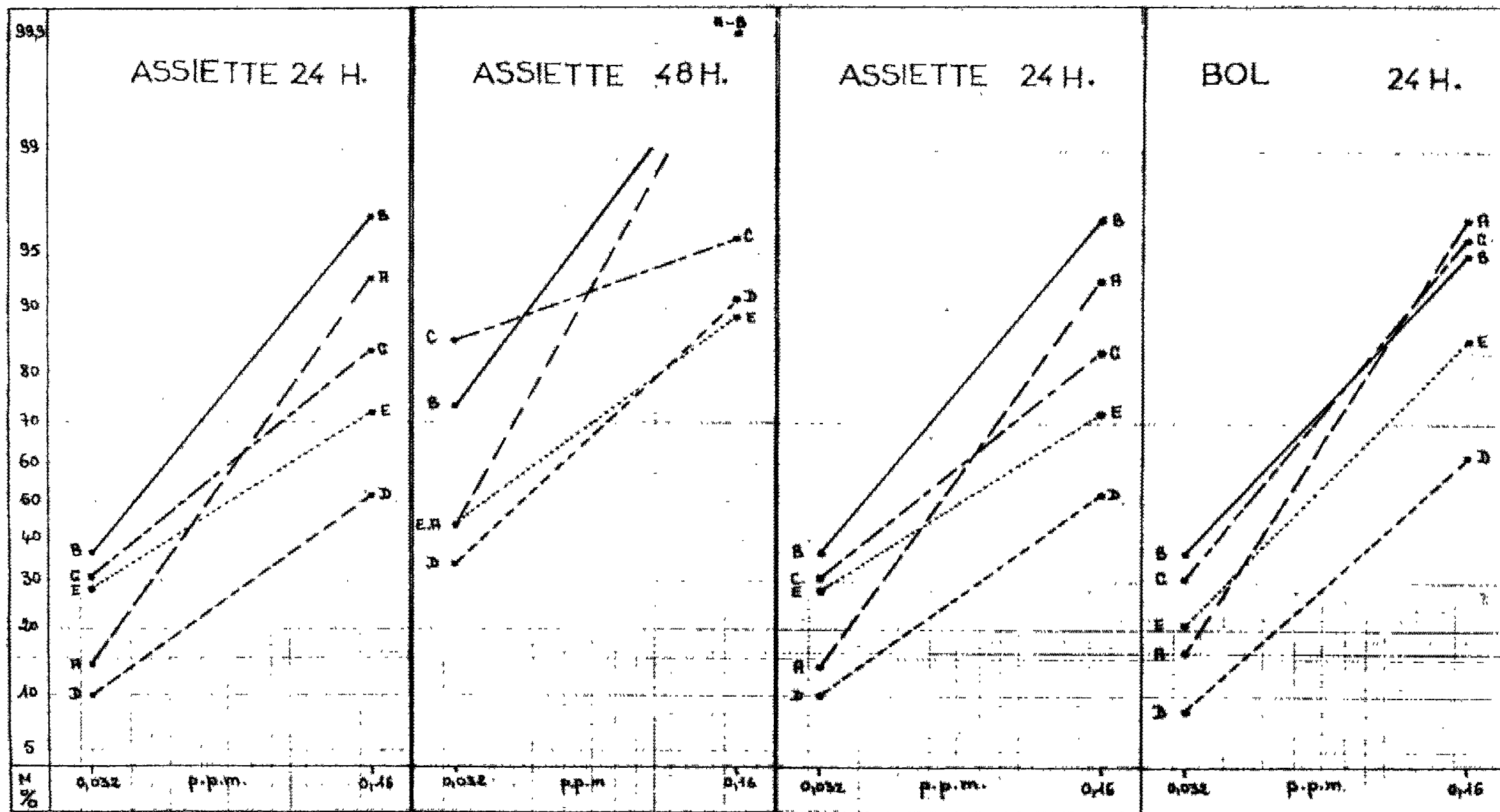


Figure 1 -

(suite)

