

UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

PARIS VI

DIPLÔME D'ÉTUDES APPROFONDIES D'ENTOMOLOGIE

ACTIVITÉ COMPARÉE DU *BACILLUS THURINGIENSIS*  
VAR. *ISRAELENIS* IPS 82 ET DE DOUZE AUTRES PRÉPARATIONS  
SUR LES LARVES Std<sub>4</sub> D'*Aedes Aegypti* SOUCHE BORA-BORA

par

Sandra TONETTI MAGNI

1982 - 1983

LABORATOIRE D'ENTOMOLOGIE  
MÉDICALE ET VÉTÉRINAIRE  
DE L'ORSTOM-BONDY

## AVANT PROPOS

Cette étude a été effectuée au Laboratoire d'Entomologie Médicale et Vétérinaire de l'O.R.S.T.O.M. (Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer) à Bondy.

C'est pour moi un très grand honneur de remercier ici tous ceux qui ont contribué au déroulement de ce travail.

J'adresse toute ma reconnaissance à Monsieur J. Coz, chef du laboratoire d'Entomologie Médicale et Vétérinaire de l'O.R.S.T.O.M., pour l'accueil chaleureux au sein de son laboratoire qu'il a bien voulu me faire et pour m'avoir fait bénéficier tout au long de ce stage de sa précieuse expérience.

Je formule ici également mes sincères remerciements à tout le corps enseignant du D.E.A. d'Entomologie de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, et plus particulièrement à Madame Raccaud, pour la formation qu'ils m'ont donnée au cours de la préparation de ce diplôme.

Je voudrais également exprimer ma gratitude à Messieurs Elouard et Challier pour leur aide et leurs conseils prodigués durant la rédaction de mon rapport.

Mes remerciements s'adressent également à Madame Fercak qui a dactylographié ce texte.

Enfin, je tiens à remercier tout le personnel du laboratoire d'Entomologie Médicale et Vétérinaire de l'O.R.S.T.O.M. Bondy qui, par leurs conseils, leurs encouragements et leur amitié m'ont permis de réaliser ce travail.

## SOMMAIRE

	page
INTRODUCTION	3
1. Historique	3
2. Motifs pour lesquels on recherche de nouveaux insecticides	4
I. MATÉRIEL	7
1. <i>Aedes aegypti</i>	7
2. <i>Bacillus thuringiensis</i>	10
a - Généralités et caractéristiques	10
b - Classification	11
c - Mode d'action	19
II. MÉTHODES	23
1. Origines des produits testés	23
2. Protocoles expérimentaux	24
III. RÉSULTATS ET DISCUSSION	26
1. Calcul de la DL <sub>50</sub>	26
2. Calcul du titre d'une préparation	26
3. Interprétation des résultats	27
a - Les tests avec l'IPS <sub>82</sub>	27
b - Les tests avec les 12 préparations du <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> à évaluer	33
c - Comparaison entre l'activité de l'IPS <sub>82</sub> et de 12 préparations du <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	41
IV. CONCLUSION	67
V. BIBLIOGRAPHIE	

## INTRODUCTION

### 1. Historique

Le *Bacillus thuringiensis* a été isolé, pour la première fois, par Ishiwata (1905) chez les larves mortes du Lépidoptère *Bombyx mori* ; sous le nom de *Bacillus sotto*.

Berliner (1911), a ré-isolé cette bactérie chez *Anagasta* (*Ephestia*) *kuhniella* et en 1915, lui a attribué le nom de *Bacillus thuringiensis*. Il a observé qu'il s'agissait d'une bactérie sporulée qui possédait une inclusion parasporal ou cristal, (corps rhomboïde résiduel - RESTKORPER), pathogène pour les chenilles d'*Anagasta kuhniella*.

Mattes (1927) a confirmé les observations de Berliner en ré-isolant la bactérie.

Hannay (1953) a étudié le rôle du cristal et son pouvoir pathogène ; puis, Angus (1954) a vérifié la liaison entre l'existence de l'inclusion et la toxicité du *Bacillus*.

En 1955, Hannay et Fitz-James ont étudié la nature protéique du cristal.

D'autres recherches importantes sur les propriétés de l'inclusion ont été faites par : Lecadet (1965 a, b) ; Lecadet et Martouret (1967) ; de Barjac (1968) ; Norris (1972) ; Somerville et Pockett (1975) ; de Barjac et Lecadet (1976) ; Krywienczyk et Angus (1960).

Il faut également citer les travaux de : Heimpel et Angus (1958) sur la différenciation des souches, de Barjac et Bonnefoi (1962-1963) sur les sérotypes et biotypes, de Barjac et al., (1974) sur les bactériophages, de Barjac et Dedonder (1965-1968) sur l'isolement d'autres toxines, Burgerjon et Dulmage (1977) sur le spectre d'action et la standardisation du *Bacillus*.

L'entomopathogénicité des souches du *B. thuringiensis*, alors groupées en 13 sérotypes, a attiré l'attention des chercheurs en raison de son application possible dans l'agriculture contre les chenilles de Lépidoptères. Cependant, les travaux qui ont démontré : son efficacité dans la protection des cultures et forêts (Grison et al., 1965 ; Martouret et Milaire, 1963 ; Hurpin, 1974) ; sa spécificité envers ou contre les insectes visés ; son innocuité envers les vertébrés (Martouret, 1967), ainsi que l'absence de résidus polluants permirent d'envisager d'utiliser ce Bacille comme un insecticide biologique.

De plus, l'isolement en Israël d'une bactérie sporulée à partir de larves mortes de Moustiques, (Goldberg et Margalit 1977), la caractérisation de cette bactérie comme appartenant à un 14<sup>e</sup> sérotype de *Bacillus thuringiensis* (de Barjac, 1978) ; son effet extrêmement toxique pour les larves de Moustiques et de Simulies (Goldberg et Margalit, 1977 ; de Barjac, 1978 b, c ; Undeen et Nagel, 1978 ; Guillet et de Barjac, 1979) ; sa spécificité très limitée aux Diptères Nematocères et son absence d'activité sur la faune non-cible (Dejoux, 1979) ; ont permis d'envisager une utilisation de ce *Bacillus* dans la lutte antivectorielle en santé publique alors qu'il n'était jusque là employé qu'en agriculture.

## 2. Motifs pour lesquels on recherche de nouveaux insecticides

Les sérieux problèmes de santé publique, engendrés par les insectes vecteurs de maladies tels les moustiques du genre *Aedes* sp. impliqué dans la transmission de la fièvre jaune, de la dengue, de la fièvre chikungunya... ; du genre *Anopheles* sp. impliqué dans la transmission du paludisme, de la filariose de Bancroft, de la fièvre O'nyong nyong ; du genre *Culex* sp. responsable de la transmission du virus West Nile et Sinabis, Rift Valley Fever... ; ont amené l'homme à développer des méthodes de lutte antivectorielle.

Au début, des méthodes physiques ont été employées mais elles ne se sont plus montrées efficaces ni suffisantes à partir d'un certain temps d'utilisation variable selon l'organisme en cause. Des recherches chimiques ont été entreprises. En 1939, grâce à la découverte du DDT par Muller, la lutte chimique contre les insectes a pu commencer. Cette découverte a été suivie par d'autres et l'homme a créé plusieurs familles d'insecticides (organochlorés, organophosphorés, carbamates...) qui ont remplacé les méthodes physiques.

Après quelques années, l'utilisation excessive et quelquefois à mauvais escient de ces insecticides a favorisé l'apparition, chez les insectes traités, d'individus génétiquement résistants. La lutte chimique n'atteignait alors plus ses objectifs.

Dès 1962, le Comité d'Experts des Insecticides de l'OMS, (Organisation Mondiale de la Santé), avait signalé des signes de résistance chez 81 espèces d'Arthropodes d'intérêt médical et vétérinaire. En 1968, il a été constaté que 102 espèces résistantes possédaient une résistance double ou triple aux insecticides chimiques employés à cette époque. Parmi les moustiques, 38 espèces d'*Anopheles* et 19 espèces *Culicinae* sont devenues résistantes aux insecticides organochlorés et organophosphorés employés dans plusieurs campagnes de lutte contre les principales maladies qu'ils transmettaient. (OMS - 17<sup>e</sup> rapport du Comité d'Experts des Insecticides, 1970).

Les difficultés rencontrées dans la lutte antivectorielle utilisant des méthodes physiques et chimiques ont donc provoqué de nouvelles recherches sur les méthodes de lutte. L'accent fût mis sur la lutte biologique employant des micro-organismes pathogènes, pour combattre des insectes nuisibles ou dangereux.

Actuellement, les progrès faits dans la lutte biologique permettent de la considérer comme l'une des meilleures méthodes de lutte contre tous les vecteurs et plus particulièrement contre les espèces résistantes aux insecticides chimiques connus. La lutte biologique présente également l'avantage d'être plus sélective, ce qui engendre une moindre destruction de l'écosystème vivant.

MATERIEL

## I. MATÉRIEL

Nous avons réalisé des essais biologiques afin de vérifier l'activité du *Bacillus thuringiensis* à partir d'une formulation standard IPS<sub>82</sub> (International Pasteur standard 82) et de 12 préparations du *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* cultivées dans des milieux différents. Les expérimentations ont été développées sur des larves du 4<sup>e</sup> stade d'*Aedes aegypti* souche Bora-Bora (originaire de la Polynésie), à l'insectarium du laboratoire d'Entomologie Médicale et Vétérinaire de l'ORSTOM (Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer) à Bondy.

1. *Aedes aegypti* (Linné) appartient au genre *Aedes* (près de 1000 espèces) et joue un rôle vectoriel très important dans la transmission de virus pathogènes, de protozoaires, et d'Helminthes.

Cette espèce est un des principaux vecteurs de la fièvre jaune, de la dengue, des filarioses lymphatiques, d'encéphalites et de fièvres hémorragiques.

Très répandue de par le monde, elle se rencontre dans les régions comprises entre 40° de latitude nord et 40° de latitude sud, en Asie, en Amérique, et en Afrique ; tant dans les milieux urbains et ruraux que dans les milieux sauvages. Commensale de l'homme, cette espèce a des larves colonisant des gîtes des plus variés. Elle peut se rencontrer dans des réservoirs naturels, tels les trous d'arbres, les trous de crabes, les marécages, les aisselles de feuilles engainantes remplies d'eau, ou dans des réservoirs artificiels tels les récipients abandonnés... Par son extrême adaptation, cette espèce a réussi à s'installer dans une grande quantité de gîtes à l'intérieur ou au voisinage des habitations, ce qui justifie son importance comme vecteur de maladies.

La sensibilité élevée des larves St<sub>4</sub> d'*Aedes aegypti* au *Bacillus thuringiensis* sérotype 14 (Goldberg et Margalit, 1977 ; de Barjac et Coz, 1979 ; Larget, 1980) ; et sa relative facilité d'élevage au labo-

ratoire, nous ont incité à retenir cette espèce comme insecte cible dans ce travail.

Les *Aedes aegypti* adultes ont été facilement élevés dans des cages à Moustiques (48,5cm x 35cm x 35cm) dans une salle climatisée à 25°C, avec une humidité relative de 70% et une photopériode de 12 heures de jour et 12 heures de nuit.

Les mâles ont été nourris avec une solution de glucose à 20% déposée dans des petits sucriers (Béchers). Un papier filtre permet l'absorption de la solution et facilite la prise de jus sucré par les Moustiques. Pour éviter toute contamination, les papiers filtres sont changés 2 fois par semaine. Les femelles ont été nourries sur cobayes. Ces animaux maintenus dans un manchon de nylon, sont déposés tous les jours sur les cages, à raison de 6 heures par jour.

Les pontes avaient lieu dans des petits cristallisoirs dans lesquels nous avons déposé un papier filtre qui facilitait le ramassage des oeufs. Pontes et papiers-filtres étaient ensuite séchés durant 3-4 jours, laps de temps nécessaire à la formation des embryons. Les pondoires étaient changés une fois par semaine.

Les oeufs mûrs séchés ont pu être conservés à l'insectarium, dans des petites enveloppes. Sous ce mode de stockage, ils offrent l'avantage de pouvoir être utilisés jusqu'à 6-8 mois après la ponte.

Dans la nature, l'éclosion a lieu après que les oeufs qui ont subi la dessiccation, aient été remis à l'eau.

Nos larves ont été obtenues à partir des oeufs mis à éclore dans des gobelets plastiques remplis d'eau à laquelle a été ajoutée de l'acide LH- ascorbique (approximativement 0,046 g). Cet acide a la propriété d'accélérer l'éclosion des larves, ce qui permet de préparer le jour même, les lots de larves nécessaires aux tests insecticides.

Les larves sont élevées dans une autre salle qui possédait également, une température de 25°C et une photopériode de 12 heures

de jour et 12 heures de nuit. Les larves n'étaient nourries qu'à partir du 2<sup>e</sup> jour, avec une farine de biscuits de souris provenant de l'U.A.R. à Villemoison-sur-Orge.

La composition moyenne de cette farine est la suivante : 12% d'eau, 24% de protides, 8% de lipides, 46% de glucides, 4% de cellulose, 6% de minéraux, valeur calorique : 3500 cal/kg. La farine est obtenue par broyage des biscuits pour souris. Elle est tamisée avant d'être donnée comme repas aux larves.

Pour obtenir les larves St<sub>4</sub>, nous les avons élevées jusqu'au 6<sup>e</sup> jour après l'éclosion, puis elles ont été ramassées pour être mises en contact avec les différentes préparations du *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*.

Les nymphes ont été prélevées avec une pipette et placées dans d'autres cristallisoirs et dans des cages séparées, le cristallisoir est couvert avec un petit cône de papier qui permet l'émergence des imagos et évite les pontes dans les cristallisoirs des nymphes.

Dans des conditions optimales au laboratoire la durée moyenne de chaque stade d'*Aedes aegypti* est la suivante : (Fig. 1).

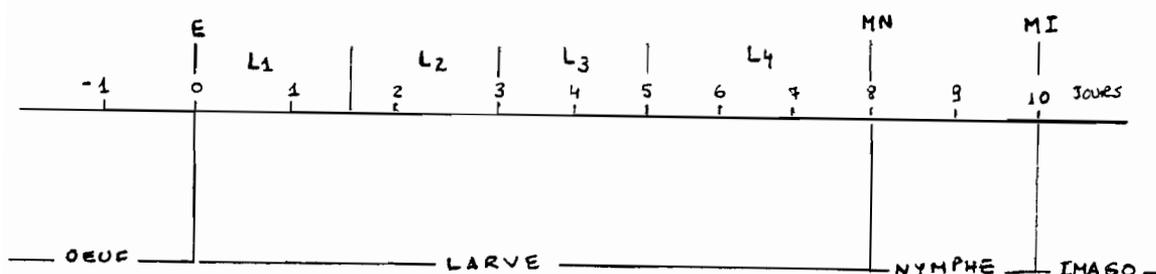


FIG. 1 -

E - eclosion des larves L<sub>1</sub>  
 MN - mue nymphale  
 MI - mue imaginale

## 2. Bacillus thuringiensis

### a - Généralités et caractéristiques

C'est une bactérie sporulée gram-positif, anaérobique ou aéro-bique facultative, mobile par ciliation du type péritriches. Elle forme des spores ovales subterminales non déformantes, et simultanément à la sporogénèse elle synthétise des cristaux intracellulaires glyco-protéiniques (Tyrell et al., 1979).

La toxicité du *Bacillus thuringiensis* est due à la présence d'inclusions cristallines (Panbangred et al., 1979) contenant une endotoxine toxique pour quelques larves de Lépidoptères et de quelques Diptères. Ces inclusions cristallines ou parasporales sont libérées en même temps que les spores après la lyse enzymatique.

Ce *Bacillus* est capable de synthétiser ribose, glucose, lévulose, glycérol, cellobiose, maltose, tréhalose, amidon.

Les cristaux protéiniques ont des formes variées selon l'organisme ; la plupart des variétés de *Bacillus thuringiensis* possèdent des cristaux losangiques ou cubiques, par contre, la variété *israelensis* présente des cristaux de formes et tailles irrégulières. L'espèce *thuringiensis* est un gros bacille (de diamètre supérieur à 0,9 $\mu$ ) gram positif, anaérobique facultatif, catalase positif. Cette espèce est cultivée en gélose nutritive à PH 6, en bouillon nutritif additionné de 7% de NaCl en milieu de Braun au KCN. Elle forme du gaz à partir des nitrates en anaérobiose et possède une nitrate-reductase de type A. Ce bacille donne une réaction positive au rouge de méthyle en milieu de Clark et Lubs (de Barjac et Bonnefoi, 1967).

Les caractères de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* qui permettent de les distinguer des autres souches d'après de Barjac (1978 c) sont :

- La production d'acétyl méthyl-carbinol et de lécithinase ;
- la fermentation du mannose ;

- La présence de voile et d'un pigment généralement mauve ;
- Un pouvoir amylolytique très faible sur gélose à l'amidon de riz ;
- L'absence d'attaque de l'esculine, de la chitine, du saccharose, du cellobiose et de la salicine ;
- L'absence d'uréase et de DNase ;
- L'absence d'exotoxine thermostable (d'après les tests sur *Anagasta kuhniella*.)

#### b - Classification

Les 25 dernières années sont marquées par une croissante évolution dans les études de classification de *Bacillus thuringiensis*. Ces études sont en général appuyées sur des caractères biochimiques qui permettent de comparer les souches de *Bacillus thuringiensis* déjà connus à celles qui seront découvertes. Dès 1958, les caractères du *Bacillus thuringiensis* avaient été étudiés par Heimpel et Angus. Ils ont décrit 7 souches de *Bacillus* "cristallifères" en les classant en 6 variétés selon une dizaine de caractères biochimiques et leur pouvoir entomopathogène : *Bacillus thuringiensis* var *thuringiensis* Berliner ; *Bacillus thuringiensis* var. *sotto* ; *Bacillus thuringiensis* var. *alesti* ; *Bacillus entomocidus* *entomocidus* ; *Bacillus entomocidus* var. *subtoxicus* et *Bacillus finistimus* .

Krieg (1961) a ajouté à cette classification quelques caractères et 2 souches (classification essayée par Toumanoff et Le Coroller, 1969) ; *Bacillus thuringiensis* var. *cuxoae* et *Bacillus thuringiensis* var. *dendrolimus* . Krieg a également associé la bactérie cristallifère *Bacillus galleriae* (de Svecova, 1959) à *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* .

En 1962, De Barjac et Bonnefoi ont décrit 24 souches de *Bacillus thuringiensis* avec la détermination de 40 caractères biochimiques et de

l'agglutination flagellaire. Dans cette classification les *Bacillus thuringiensis* sont classés en 6 groupes ou sérotypes (en utilisant les noms déjà employés par les auteurs précédents) et mis en synonymie *cuxoae* et *alestia*. Le sérotype 4 est dédoublé en les variétés *sotto* et *dendrolimus* ; le sérotype 6 est dédoublé en les variétés *subtoxicus* et *entomocidus*.

De plus, l'étude de 26 autres souches par ces derniers auteurs, en considérant 10 caractères biochimiques supplémentaires, a mis en évidence deux nouveaux sérotypes (ce qui fait au total 8 sérotypes) : *aizawai* (7<sup>e</sup> sérotype) et *morrisoni* (8<sup>e</sup> sérotype).

Le sérotype 4 est décomposé en un groupe de souches possédant les sous-facteurs antigéniques 4a et 4b : *sotto* et *dendrolimus* et un groupe possédant les facteurs 4a et 4c : *kenyae*.

En 1964, Norris, en travaillant sur 46 souches de *Bacillus thuringiensis* a confirmé les résultats de Barjac et Bonnefoi et a décrit un 9<sup>e</sup> sérotype appelé *tolworth*. Le 10<sup>e</sup> sérotype est décrit par Krieg et al., en 1968, sous le nom de *därmstadiensis*.

En 1967-1968, de Barjac et Bonnefoi ont établi une clé de détermination de *Bacillus thuringiensis* basée sur 161 souches étudiées sur une dizaine de caractères biochimiques ainsi que l'antigène H.

D'après cette clé, *Bacillus thuringiensis* comprendrait 12 variétés et 9 sérotypes (tableau 1).

Tableau 1 - Clé de classification de *Bacillus thuringiensis* d'après de Barjac et Bonnefoi (1967-1968).

Sérotypes	:	Biotypes	:	Variétés de <i>B. thuringiensis</i>
1	:	un	:	<i>thuringiensis</i>
2	:	un	:	<i>finistimus</i>
3	:	un	:	<i>alesti</i>
4	:	deux	:	<i>sotto et dendrolimus</i>
4a-4b	:	un	:	<i>kenyae</i>
4a-4c	:		:	
5	:	un	:	<i>galleriae</i>
6	:	deux	:	<i>subtoxicus et entomocidus</i>
7	:	un	:	<i>aizawai</i>
8	:	un	:	<i>morrisoni</i>
9	:	un	:	<i>tolworthi</i>

En 1967, Heimpel travaillant sur 32 souches, a proposé une autre clé taxinomique basée sur d'autres caractères biochimiques et pathogènes. Il a constitué 11 variétés de *B. thuringiensis* ; les variétés 1, 3, 4a et b, 5, 6, et 7 sont les mêmes que celles présentées par de Barjac et Bonnefoi (1968). Dans sa classification il a introduit 2 variétés basées sur l'absence de production de la toxine thermostable var. *amuscatoxicus* (dans le sérotype 1) et *pacificus* (introduit dans le sérotype 7).

Il a également changé le nom du sérotype 8 (de Barjac et Bonnefoi) en *anagastae*.

Krieg, en 1969, a décrit une nouvelle variété de *B. thuringiensis* var. *toumanoffi* qui a été retenue comme le sérotype 11. Le sérotype 12 correspond à la variété *thompsini* individualisée en 1970 par de Barjac et Thompson.

La classification proposée par Krieg, 1970, en s'appuyant sur 20 souches d'espèces différentes (5 *B. thuringiensis*, 14 *B. cercus*, 3 *B. mégaterium* et 1 *B. antracis*) remettait en cause la classification de ces *Bacillus*.

Les classifications de de Barjac et Bonnefoi sur les variétés de *B. thuringiensis* sont appuyées sur les caractères biochimiques et sur l'antigène H. Leurs expériences sur 262 souches de *B. thuringiensis* ont montré une relation entre les caractères antigéniques et les caractères biochimiques.

La clé proposée, en 1968, a été dédoublée en 2 sérotypes puis 3 nouveaux sérotypes ont été ajoutés (tableau 2).

Tableau 2

( Sérotypes	:	( Biotypes	:	( Variété de <i>B. thuringiensis</i>
(	:	(	:	(
(	:	(	:	(
( H3 3a	:	( deux	:	( <i>alesti</i>
( 3a-3b	:	(	:	( <i>kurstaki</i>
(	:	(	:	(
(	:	(	:	(
( H5 5a-5b	:	( deux	:	( <i>galleriae</i>
( 5a-5c	:	(	:	( <i>canadensis</i>
(	:	(	:	(
(	:	(	:	(
( H 10	:	( un	:	( <i>darmstadiensis</i>
(	:	(	:	(
(	:	(	:	(
( H 11	:	( un	:	( <i>toumanoffi</i>
(	:	(	:	(
(	:	(	:	(
( H 12	:	( un	:	( <i>thompsoni</i>
(	:	(	:	(
(	:	(	:	(
(	:	(	:	(

En 1973, la clé de détermination du *B. thuringiensis* était constituée par 12 sérotypes et 17 variétés (de Barjac et Bonnefoi) (tableau 3, clé modifiée).

Tableau 3

Ce schéma n'utilisait pas les caractères de production des toxines diverses parce qu'elles étaient mal connues. Pour améliorer la différenciation des souches de *B. thuringiensis*, de Barjac et Bonnefoi ont utilisé des critères de production de DNases, RNases, phosphatases, arginine, déshydrogénases, et aussi l'attaque du malonate de sodium et du mucate de sodium.

Sérotype	Nom vulgaire
	<i>B. thuringiensis</i> variété
1	<i>berliner</i>
2	<i>finistimus</i>
9	<i>tolworthi</i>
12	<i>thompsoni</i>
7	<i>aizawai</i>
4a - 4c	<i>kenyae</i>
5a - 5c	<i>canadensis</i>
3a - 3b	<i>kurstaki</i>
4a - 4b	<i>sotto</i>
4a - 4b	<i>dendrolimus</i>
3a	<i>alesti</i>
11	<i>toumanoffi</i>
5a - 5b	<i>galleriae</i>
10	<i>darmstadiensis</i>
8	<i>morrisoni</i>
6	<i>subtoxicus</i>
6	<i>entomocidus</i>

Jusqu'en 1978, les souches du *Bacillus thuringiensis* ont été classées d'après leurs caractères sérologiques et biochimiques en 13 sérotypes et 18 sous-espèces ou variétés (de Barjac et Bonnefoi, 1973 de Barjac et al., 1977).

Ces espèces sont caractérisées par un spectre d'action différent sur les insectes appartenant à l'ordre des Lépidoptères (Burgerjon et Biache, 1967).

La présence d'un nouvel antigène flagellaire - H 14 a permis de différencier le 14<sup>e</sup> sérotype de *B. thuringiensis* : *B. thuringiensis* var. *israelensis* (de Barjac, 1978).

L'utilisation de la technique d'agglutination flagellaire sur le *B. thuringiensis* (de Barjac et Bonnefoi, 1962) a permis d'individualiser, jusqu'à présent 15 sérotypes (tableau 4).

Tableau 4 - Différents sérotypes de *Bacillus thuringiensis*

Sérotipe H	:	Biotipe	:	Sous-espèce
1	:	I	:	<i>thuringiensis</i>
2	:	II	:	<i>finistimus</i>
3a	:	III <sub>1</sub>	:	<i>alesti</i>
3a - 3b	:	III <sub>2</sub>	:	<i>kurstaki</i>
4a - 4b	:	IV <sub>1</sub>	:	<i>sotto</i>
4a - 4b	:	IV <sub>1'</sub>	:	<i>dendrolimus</i>
4a - 4c	:	IV <sub>2'</sub>	:	<i>kenyae</i>
5a - 5b	:	V <sub>1</sub>	:	<i>galleriae</i>
5a - 5c	:	V <sub>2</sub>	:	<i>canadensis</i>
6	:	VI	:	<i>subtoxicus</i>
6	:	VI'	:	<i>entomocidus</i>
7	:	VII	:	<i>aizawai</i>
8a - 8b	:	VIII <sub>1</sub>	:	<i>morrisoni</i>
8a - 8c	:	VIII <sub>2</sub>	:	<i>ostrinial</i>
9	:	IX	:	<i>tolworthi</i>
10	:	X	:	<i>darmstadiensis</i>
11a - 11b	:	XI <sub>1</sub>	:	<i>toumanoffi</i>
11a - 11c	:	XI <sub>2</sub>	:	<i>kyushuensis</i>
12	:	XII	:	<i>thompsoni</i>
13	:	XIII	:	<i>pakistani</i>
14	:	XIV	:	<i>israelensis</i>
15	:	XV	:	<i>indiana</i>

c - Mode d'action du *Bacillus thuringiensis*

Le pouvoir pathogène du *B. thuringiensis*, pour les larves de Lépidoptères, a été déjà suggéré dès 1953-1954 dans les travaux de Hannay (1953) et Angus (1954) sur l'inclusion parasporale de ce Bacille.

Cette pathogénicité a été attribuée à la présence de toxines dans les cristaux ou inclusions parasporales, ces inclusions sont insolubles dans des dilutions acides ou les solvants organiques, mais sont solubles dans les dilutions alcalines (Angus, 1954).

Des recherches ont démontré que ces cristaux sont composés de protéines (Hannay et Fitz-James, 1955 ; Angus, 1956 ; Holmes, et Morno, 1965). Leurs compositions en amino-acides ont été étudiées par Lecadet (1965), Glatron *et al.*, (1969), Spencer (1968). Les amino-acides N-terminaux ont été étudiés par Glatron *et al.*, (1969) ; (in Faust R. *et al.*, 1974).

La synthèse de ces inclusions dépend des mécanismes de régulation et de différenciation des sporanges de la bactérie. Ces cristaux sont le résultat de l'agglomération de particules (Labaw, 1964 ; Holmes et Morno, 1965) in (Lecadet et Dedonder, 1971).

La toxine agit, chez les insectes, par ingestion. Dans les expérimentations où elle a été injectée dans l'hémocoèle de l'insecte elle n'a pas manifesté d'effets toxiques. D'après Angus (1954), le cristal était une protoxine qui aurait besoin de l'activation de l'intestin de l'insecte pour libérer la toxine. Ces suggestions ont été reprises par Lecadet et Martouret (1967), qui ont réalisé des études "in vitro" et ont observé que la digestion enzymatique qui libère la toxine, transforme la protoxine en toxine active (Lecadet et Martouret, 1967 in Rogoff et Yousten, 1969).

L'action primaire de la toxine semble se faire au niveau des membranes de l'épithélium intestinal. Quand les larves ingèrent les cristaux, la toxicité ne se manifesterait qu'au moment où ils arrivent

dans l'intestin moyen. Les cristaux y subissent une dissolution et commencent à libérer les toxines, ces dernières provoquent les symptômes toxémiques.

Malgré les recherches déjà réalisées, les toxines produites par le *B. thuringiensis* sont encore mal connues. Les études développées jusqu'à aujourd'hui sur les enzymes présentent des difficultés d'interprétation et restent quelques fois imprécises (de Barjac et Bonnefoi, 1973).

En 1959, Mc Connel et Richards ont décrit pour la première fois l'existence d'une toxine thermostable chez *B. thuringiensis*, l'exotoxine, appelée plus tard  $\beta$ -exotoxine par Heimpel (1967) ; toxique par ingestion pour les larves de *Galleria mellonella*.

Hall et Arakawa (1959) ont observé la toxicité, par ingestion, du *B. thuringiensis* chez *Musca domestica* ; et en 1960, Briggs a vérifié que le principe filtrable produit par le *Bacillus* inhibait le développement de *Musca domestica*.

La toxine thermostable est produite seulement par certaines souches de *B. thuringiensis* (de Barjac et Bonnefoi, 1962 et 1967 ; Burgejon et de Barjac, 1964).

D'après Heimpel (1967), la production de  $\gamma$ -endotoxine varie selon le sérotype de *B. thuringiensis* ; et aussi selon le milieu de culture de la bactérie (Dulmage, 1970 b). Cette production est faite par une hydrolyse enzymatique du cristal par les protéines du tube digestif de l'insecte en milieu alcalin (Lecadet, 1965).

L'effet de la  $\gamma$ -endotoxine sur *Bombyx mori* a été décrit par Fast et Donaghue (1971) et par Fast et Morrison (1972), comme une stimulation du glucose dans l'intestin moyen des larves à peu près 1 mn après l'ingestion du cristal toxique.

La stimulation maximale a lieu après 5 mn, et la prise de nourriture s'arrête après 10 mn. Il y a aussi une altération de la

perméabilité sélective de l'intestin des larves (10-15 mn après) et une augmentation des niveaux de  $K^+$  et d'autres ions dans l'hémolymphe (Fast et Angus, 1965 ; Louloudes et Heimpel, 1969 ; Fast et Morrison, 1972). (in Faust, 1974).

Environ 20 mn après l'ingestion de la toxine, on constate un gonflement des cellules columnales et 25 mn après une rupture de l'intestin avec libération des contenus cellulaires. (Angus, 1970 ; Sutter et Raun, 1967 ; Hoopingarner et Materu, 1964) ; (in Faust, 1974).

Approximativement 60-90 mn après l'ingestion, il peut arriver une paralysie flasque (*Bombyx mori*) et la mort survient quelques heures plus tard. Chez d'autres insectes, cette paralysie est remplacée par une apathie suivie de la mort 48-72 heures plus tard (Rogoff et Yousten, 1969 ; Norris, 1970).

Ce phénomène de paralysie est provoqué par la cessation du péristaltisme intestinal ; et l'arrêt du transit du bol alimentaire provoque un arrêt de la prise de nourriture.

Il convient de remarquer que la pathogénécité de *Bacillus thuringiensis* peut être affectée par plusieurs facteurs du milieu.

D'après Raun et al., (1966), les effets des facteurs écologiques sur *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* utilisé sur *Ostrinia nubilalis* et *Spodoptera frugiperda* sont : a) l'élimination de la pathogénécité sur ces deux espèces par irradiation aux ultraviolets, de la poudre des spores de *Bacillus* pendant 72 heures, b) une mortalité plus rapide des larves traitées avec les *B. thuringiensis* exposés à 32°C, et c) une plus grande pathogénécité de la suspension de spores du *Bacillus* quand celle-ci est stockée pendant 1-10 mois quand elle est utilisée extemporainement. L'effet d'une très forte irradiation d'ultraviolets et de rayons gamma sur l'activité de la  $\delta$ -endotoxine du *B. thuringiensis* (sérotipe V) a été étudié par Burges et al., (1974) sur *Pieris brassicae*. Les essais n'ont révélé aucune réduction d'activité insecticide du *Bacillus*.

Les études de Ignoffo et al., (1982) sur la sensibilité des formulations du *B. thuringiensis* var. *israelensis* aux températures élevées ont démontré que le Bacille subit une perte importante de son activité insecticide quand il est exposé à 50°C pendant 28 jours.

Ces études et d'autres démontrent que plusieurs facteurs agissent sur l'activité du *Bacillus thuringiensis* et qu'il est donc très important pour évaluer correctement sa pathogénicité, de bien connaître les conditions auxquelles celui-ci est exposé.

Chez les Diptères, l'isolement en 1977 d'un 14<sup>e</sup> sérotype de *B. thuringiensis* par Margalit et Goldberg, et nommé var. *israelensis* par de Barjac (1978), a montré que cette variété est toxique pour les larves de Moustiques. Les travaux de Undeen et Nagel (1978), et de Barjac et al., (1980) ont permis d'appliquer les propriétés pathogènes du *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* aux Simulies et aux Phlébotomes.

D'après Larget et de Barjac (1981), le sérotype 14 peut être considéré comme "réellement" pathogène pour les larves de Moustiques, si on le compare à d'autres sérotypes, car il provoque 100% de mortalité, en 24 heures, avec des dilutions de culture totale de  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$ .

La sélectivité de *B. thuringiensis* var. *israelensis* chez les Diptères a été démontrée par de Barjac (1978b). Le *Bacillus* s'est révélé inactif aux larves de *Anagasta kuhniella*, *Spodoptera littoralis*, *Pieris brassicae* et *Plutella maculipennis*; de Barjac et Larget (1981).

D'autres études sur l'action toxique des cristaux de *B. thuringiensis* var. *israelensis* sur les larves de Moustiques (de Barjac, 1978 b; de Barjac et Larget, 1979 b) ont démontré qu'elle provient de l'endotoxine des cristaux; cette endotoxine agit de la même façon sur les Lépidoptères. La différence de l'action toxique semble se situer au niveau des propriétés intrinsèques des cristaux (de Barjac, 1978 c).

Les cristaux du sérotype H 14 ont la même composition qualitative en acides aminés que les autres variétés de *B. thuringiensis* : ( $H_1$ ), *alesti* (souche Anduze - H 3 a) et *sotto* (H 4 a - 4 b).

La sporulation et la cristallogénèse du *B. thuringiensis* var. *israelensis* ressemble à celles des autres variétés de ce Bacille. Les particularités présentées par cette variété sont sa forme et sa taille irrégulières, ainsi que de multiples cristaux associés en une inclusion unique ou parfois en plusieurs inclusions séparées dans une même bactérie (Charles et de Barjac, 1982) ; alors que dans les autres variétés, l'inclusion est bipyramidale et régulière. Dans cette même étude, les auteurs ont remarqué la présence d'un manchon granuleux autour des inclusions parasporales au moment de leur libération ; ils ont suggéré qu'il s'agissait vraisemblablement de matériel ribosomique comme l'avaient déjà observé Ribier et Lecadet (1973), en étudiant le sérotype  $H_1$ .

Il est aussi important de mentionner que *B. thuringiensis* var. *israelensis* présente une sélectivité dans sa toxicité vis-à-vis des larves de Diptères. Cela a été démontré par Sinègre (1979) en étudiant *Chaoborus*, par contre, il n'est généralement pas toxique pour la faune aquatique non-cible (Weiser et Vankova, 1978) ; (Dejoux, 1979) ; (Sinègre et al., 1979) et (de Barjac et al., 1980 b).

L'absence d'action toxique du sérotype 14 chez les mammifères a été vérifiée par de Barjac et al., (1980).

## II. MÉTHODES

### a) Origines des produits testés

Dans les tests biologiques de notre étude, un total de 15.600 larves  $St_4$  d'*Aedes aegypti* (Bora-Bora) ont été mises au contact de *B. thuringiensis* var. *israelensis* sérotype  $IPS_{82}$  et de 12 préparations du même Bacille : R 2088 B - HD 655 ; R 2085 C - HD 648 ; R 2088 A - HD 654 ; R 2109 A - HD 789 ; R 2109 B - HD 190 ; R 2090 A - HD 658 :

R 2086 A - HD 649 ; R 2087 A - HD 653 ; R 2111 A - HD 793 ; R 2112 A - HD 794 ; R 2103 B - HD 919 ; et R 2110 B - HD 792.

L'IPS<sub>82</sub> pris comme produit standard de référence, correspond à un sérotype cultivé par l'Institut Pasteur ; il s'agit d'un produit lyophilisé en ampoules scellées. Les 12 autres préparations correspondent à des préparations américaines cultivées sur différents milieux et sont présentées sous forme de poudres séchées.

b) Protocoles expérimentaux

Nous pouvons diviser notre étude en trois parties :

- 1 - Test de l'activité de l'IPS<sub>82</sub> après 24 heures et 48 heures de contact avec les larves St<sub>4</sub> d'*Aedes aegypti* (Bora-Bora).
- 2 - Tests de l'activité des 12 autres préparations de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sur les larves St<sub>4</sub> d'*Aedes aegypti*, après 24 heures de contact.
- 3 - Détermination du titre des 12 préparations du *B. thuringiensis* var. *israelensis* à partir du titre du produit standard.

Dans le but de comparer l'activité de l'IPS<sub>82</sub> et celle des 12 autres préparations, nous avons réalisé trois séries de tests pour l'IPS<sub>82</sub> et une série de tests pour chaque préparation de *B. thuringiensis* var. *israelensis*. Nous avons aussi essayé de déterminer la DL<sub>50</sub> de chaque préparation en utilisant le modèle Gausso-logarithmique.

Dans toutes nos expérimentations, nous avons utilisé la méthode préconisée par l'O.M.S. (1960) (Organisation Mondiale de la Santé), pour tester les insecticides.

En ce qui concerne l'IPS<sub>82</sub>, nous avons préparé 6 dilutions du produit : 0,0039 mg/l ; 0,0052 mg/l ; 0,0078 mg/l ; 0,0104 mg/l ; 0,0156 mg/l ; et 0,0208 mg/l qui ont été testées en séries de 8 gobelets, chacune pendant 24 heures et 48 heures de contact avec les larves St<sub>4</sub> d'*Aedes aegypti*. 200 larves ont été utilisées pour chaque dilution à chaque test.

Les essais ont été réalisés en salles climatisées (voir I Matériel - 1 - *Aedes aegypti*).

La préparation des larves a été faite de la façon suivante : Nous avons rassemblé toutes les larves St<sub>4</sub>, qui étaient dans les cuvettes d'élevage, dans un plateau rempli d'eau du robinet. De cet ensemble de larves, il a été tiré au hasard, 25 spécimens, à l'aide d'un compte-gouttes. Les lots de 25 larves ont été mis dans de petits béciers. Ces derniers étaient choisis au hasard pour être mis en contact avec l'insecticide.

Les solutions d'épreuves ont été préparées à partir d'une solution mère qui contenait de l'eau déminéralisée et de la poudre de *B. thuringiensis* var. *israelensis*. A chaque préparation des dilutions, les fioles jaugées étaient fortement agitées pour homogénéiser le plus possible le mélange. Les 8 gobelets utilisés pour chaque concentration et marqués au crayon feutre étaient remplis avec 150 ml de solution d'épreuve. Une série de 8 gobelets témoins a été utilisée pour chaque test ; ces gobelets ne contenaient que de l'eau déminéralisée et des larves St<sub>4</sub>.

Comme *B. thuringiensis* ne se disperse pas de façon homogène dans l'eau, la solution était brassée à l'aide d'un agitateur (bâton en verre) pour obtenir la solution la plus homogène possible.

Le transfert des lots de larves des petits béciers à chaque gobelet a été effectué en retenant les larves sur un petit tamis pour les séparer de l'eau des béciers qui était recueillie dans une capsule. Le tamis était ensuite immergé dans le gobelet. Cette opération de transfert commençait toujours par le témoin et se poursuivait avec les concentrations de plus en plus fortes pour éviter la contamination du tamis. Les larves qui tombaient accidentellement en dehors du tamis pouvaient être récupérées dans la capsule.

Pour calculer le pourcentage de mortalité correspondant à chaque concentration, les larves mortes étaient dénombrées après 24 heures de contact avec les différentes solutions d'insecticide. Les larves

moribondes étaient considérées comme mortes et les larves disparues ont également été notées.

Après l'examen de chaque gobelet, chaque lot de larves était remplacé dans son propre gobelet afin de vérifier le pourcentage de mortalité des larves exposées après 48 heures de contact avec les solutions de *Bacillus*.

En ce qui concerne les tests réalisés avec les 12 préparations du *Bacillus* d'origine américaine, nous avons procédé de la même façon que pour l'IPS<sub>82</sub>, mais nous avons calculé le pourcentage de mortalité des larves St<sub>4</sub> seulement pour 24 heures de contact.

Pour chaque préparation, nous avons fait 5 dilutions : (0,001 mg/l ; 0,01 mg/l ; 0,05 mg/l ; 0,1 mg/l et 1 mg/l) qui ont été testées en séries de 4 gobelets de 25 larves St<sub>4</sub>/gobelet.

### III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

#### 1 - Calcul de la DL<sub>50</sub> et des droites de régression.

A partir des tests biologiques réalisés nous avons calculé la DL<sub>50</sub> en utilisant le modèle Gausso-logarithmique. (analyse par la méthode de Probits).

La DL<sub>50</sub> est la dose d'insecticide qui provoque 50% de mortalité dans un lot d'insectes ; elle a été calculée pour les contacts de 24 et 48 heures.

#### 2 - Calcul du titre d'une préparation.

C'est l'expression numérique du potentiel d'activité d'une formulation. L'unité utilisée pour le titre est l'unité internationale toxique par mg (ou Internationale Toxic Units, I.T.U., Burgejon, 1962).

A partir du titre de notre produit standard IPS<sub>82</sub>, fixé arbitrairement à 15 000 Vi/mg, nous avons déterminé les titres des 12

préparations en utilisant la formule établie par la Commission de standardisation des préparations à base de *Bacillus thuringiensis*, à Wageningen, en 1966 :

$$\frac{DL_{50} \quad IPS_{82}}{DL_{50} \text{ préparation}} \quad 15 \ 000 \text{ UI/mg}$$

### 3 - Interprétation des résultats.

#### 3 a - Les tests avec l'IPS<sub>82</sub>

Il nous paraît important de souligner que l'interprétation du pouvoir toxique du *B. thuringiensis* var. *israelensis* doit tenir compte du phénomène de cannibalisme manifesté entre les larves.

Les résultats des tests avec l'IPS<sub>82</sub> montrent qu'il y a disparition de larves après seulement 24 heures de contact avec l'insecticide et ce pour toutes les concentrations testées. Nous avons relié ces disparitions au cannibalisme puisque les larves n'étaient pas nourries (tableaux 5a,b, 6a,b, 7a,b).

L'analyse des résultats obtenus après 24 heures, révèle que dans les trois premières concentrations (0,0039 mg/l ; 0,0052 mg/l ; et 0,0078 mg/l) le nombre de larves disparues est plus grand que celui obtenu dans les autres concentrations ( tableaux 8 & 9 ).

Aux trois concentrations les plus faibles, les larves survivantes et affamées sont plus nombreuses qu'aux fortes concentrations. Elles mangent donc davantage de larves mortes ou affaiblies pour l'action du Bacille.

On observe aussi que dans les 4 premières concentrations, il y a eu une augmentation, en moyenne de 3,4 fois des larves disparues en 48 heures par rapport à 24 heures de contact avec l'insecticide (tableaux 9 et 10). Si on considère que la dispersion du *Bacillus* n'est pas homogène dans l'eau, on peut supposer qu'un temps plus long d'exposition

Tableau 5 a

Test 1 - Activité de l'IPS<sub>82</sub> sur les larves St<sub>4</sub> d'*Aedes aegypti*  
Obs. 24 heures.

(	:	:	:	:	:	:	)
(	Concentration:	M+D	T	M	T-D	D	)
(	mg/l	:	:	:	:	:	)
(	:	:	:	:	:	:	)
(	0,0039	: 61	: 200	: 46	: 185	: 15	)
(	0,0052	: 103	: 200	: 89	: 186	: 14	)
(	0,0078	: 164	: 200	: 151	: 187	: 13	)
(	0,0104	: 198	: 200	: 192	: 194	: 6	)
(	0,0156	: 199	: 200	: 197	: 198	: 2	)
(	0,0208	: 195	: 200	: 188	: 193	: 7	)
(	Témoin	: 1	: 200	: 0	: 199	: 1	)
(	:	:	:	:	:	:	)

M = morts

T-D = total - disparus

M+D = morts + disparus

D = Disparus

T = total

Tableau 5 b

Obs. 48 heures

(	:	:	:	:	:	:	)
(	Concentration:	M+D	T	M	T-D	D	)
(	mg/l	:	:	:	:	:	)
(	:	:	:	:	:	:	)
(	0,0039	: 76	: 200	: 46	: 170	: 30	)
(	0,0052	: 128	: 200	: 75	: 147	: 53	)
(	0,0078	: 196	: 200	: 149	: 153	: 47	)
(	0,0104	: 200	: 200	: 175	: 175	: 25	)
(	0,0156	: 200	: 200	: 176	: 176	: 24	)
(	0,0208	: 199	: 200	: 172	: 173	: 27	)
(	Témoin	: 9	: 200	: 2	: 199	: 1	)
(	:	:	:	:	:	:	)

Tableau 6 a

Test 2 - Activité de l'IPS<sub>82</sub> sur les larves St<sub>4</sub> d'*Aedes aegypti*  
Obs. 24 heures.

( Concentration :	M+D :	T :	M :	T-D :	D :
( mg/l :	:	:	:	:	:
( 0,0039 :	67 :	200 :	46 :	179 :	21 :
( 0,0052 :	104 :	200 :	78 :	174 :	26 :
( 0,0078 :	125 :	200 :	104 :	179 :	21 :
( 0,0104 :	187 :	200 :	181 :	194 :	6 :
( 0,0156 :	189 :	200 :	178 :	189 :	11 :
( 0,0208 :	195 :	200 :	184 :	189 :	11 :
( Témoin :	11 :	200 :	7 :	189 :	4 :
( :	:	:	:	:	:

Tableau 6 b

Obs. 48 heures.

( Concentration :	M+D :	T :	M :	T-D :	D :
( mg/l :	:	:	:	:	:
( 0,0039 :	90 :	200 :	32 :	142 :	58 :
( 0,0052 :	152 :	200 :	79 :	127 :	73 :
( 0,0078 :	185 :	200 :	97 :	112 :	88 :
( 0,0104 :	199 :	200 :	185 :	186 :	14 :
( 0,0156 :	200 :	200 :	169 :	169 :	31 :
( 0,0208 :	200 :	200 :	168 :	168 :	32 :
( Témoin :	15 :	200 :	12 :	185 :	3 :
( :	:	:	:	:	:

Tableau 7 a

Test 3 - Activité de l'IPS<sub>82</sub> sur les larves St<sub>4</sub> d'*Aedes aegypti*  
 Obs. 24 heures.

Concentration: mg/l	M+D	T	M	T-D	D
0,0039	128	200	83	155	45
0,0052	170	200	131	161	39
0,0078	185	200	148	163	37
0,0104	190	200	175	185	15
0,0156	195	200	190	195	5
0,0208	199	200	195	196	4
Témoin	6	200	3	197	3

Tableau 7 b

Obs. 48 heures.

Concentration: mg/l	M+D	T	M	T-D	D
0,0039	176	200	76	100	100
0,0052	196	200	107	111	89
0,0078	199	200	115	116	84
0,0104	200	200	152	152	48
0,0156	200	200	102	102	98
0,0208	200	200	124	115	85
Témoin	6	200	1	195	5

Tableau 8 Activité de l'IPS<sub>82</sub> sur larves St<sub>4</sub> d'*Aedes aegypti* (Bora-Bora)  
 Moyenne des trois tests (24 heures de contact)  
 OBS. (mortalité : morts + ind. disparus).

Concentration mg/l	Total	Morts	% Mort.
0,0039	600	256	42
0,0052	600	377	62
0,0078	600	474	79
0,0104	600	575	96
0,0156	600	583	97
0,0208	600	589	98
Témoin	600	18	3

Obs. (Mortalité : morts)

Concentration mg/l	Total	Morts	% Mort.
0,0039	600	175	37
0,0052	600	298	57
0,0078	600	403	76
0,0104	600	548	96
0,0156	600	565	97
0,0208	600	572	39
Témoin	600	10	17

Tableau 9

Moyenne des trois séries de tests de l'IPS<sub>82</sub>

24 Heures

(	:	:	:	:	)
(	Concentration:	M	%M	T	D
(	mg/l	:	:	:	:
(	-----	-----	-----	-----	-----
(	0,0039	: 175	: 37	: 469	: 81
(	0,0052	: 298	: 57	: 521	: 79
(	0,0078	: 403	: 76	: 529	: 71
(	0,0104	: 548	: 96	: 573	: 27
(	0,0156	: 565	: 97	: 584	: 18
(	0,0208	: 572	: 99	: 578	: 22
(	:	:	:	:	:

Tableau 10

Moyenne des trois séries de tests de l'IPS<sub>82</sub>

48 Heures.

(	:	:	:	:	)
(	Concentration:	M	%M	T	D
(	mg/l	:	:	:	:
(	-----	-----	-----	-----	-----
(	0,0039	: 154	: 37	: 412	: 188
(	0,0052	: 261	: 67	: 385	: 215
(	0,0078	: 361	: 95	: 381	: 219
(	0,0104	: 512	: 100	: 513	: 87
(	0,0156	: 447	: 100	: 449	: 153
(	0,0208	: 464	: 100	: 465	: 144
(	:	:	:	:	:

des larves à l'insecticide augmente la chance des larves d'être mises en contact avec les cristaux, et augmente aussi la possibilité d'ingérer ces cristaux, de devenir malades, et par conséquence favorise le cannibalisme. Les larves malades sont plus susceptibles d'être attaquées par les larves affamées.

Nous estimons qu'il s'agit de cannibalisme ou peut être de la nécrophagie car en 24 et 48 heures, de nombreuses larves disparaissent des lots traités ; on observe de plus, de nombreux restes de larves dans les gobelets.

Les larves saines peuvent peut-être se contaminer, en ingérant les larves moribondes ou mortes qui ont déjà absorbé des toxines ou en ingérant les cristaux directement dans les gobelets. On peut supposer que ce fait provoque une potentialisation de l'effet toxique.

b - Les tests avec les 12 préparations du *B. thuringiensis* var. *israelensis* à évaluer.

Les larves utilisées dans nos 12 préparations du *B. thuringiensis* var. *israelensis* ont aussi manifesté du cannibalisme ou de la nécrophagie. Pour les tests avec ces 12 préparations, nous avons dénombré après 24 heures les larves disparues comme les larves mortes. (tableaux 11 à 22). Les résultats démontrent que la préparation la plus efficace est la R 2103 B HD 919 qui a eu une  $DL_{50}$  de 0,0154 mg/l ; et la préparation la plus faible : la R 2109 A HD 789.

Nous avons estimé seulement les  $DL_{50}$  des préparations "efficaces", parmi les préparations qui n'ont pas d'efficacité, on trouve la R 2088 A HD 654 ; que nous avons considéré comme la plus active des préparations sans activité, avec un total de 112 larves mortes. La préparation R 2090 A HD 658 donne un total de 11 larves mortes, et la 2111 A HD 793 un total de 13 larves mortes.

A 1 mg/l, toutes les préparations actives donnèrent 100% de mortalité ; et à 0,001 mg/l, nous avons eu une très basse mortalité dans toutes les préparations. (tableau 23).

Activité de 12 préparations du *B. thuringiensis* var *.israelensis* sur des larves St<sub>4</sub> d'*Aedes aegypti* (Bora-Bora) - 24 heures de contact.

Tableau 11

Préparation R 2088 B HD 655

( Concentration	:	Total	:	Morts	:	% Mort.
( mg/l	:		:		:	
( 0,001	:	100	:	0	:	0
( 0,01	:	100	:	6	:	6
( 0,05	:	100	:	26	:	26
( 0,1	:	100	:	78	:	78
( 1	:	100	:	100	:	100
( Témoin	:	100	:	0	:	0

Tableau 12

Préparation R 2085 C HD 648

( Concentration	:	Total	:	Morts	:	% Mort.
( mg/l	:		:		:	
( 0,001	:	100	:	0	:	0
( 0,01	:	100	:	9	:	9
( 0,05	:	100	:	44	:	44
( 0,1	:	100	:	89	:	89
( 1	:	100	:	100	:	100
( Témoin	:	100	:	0	:	0

Tableau 13

Préparation R 2088 A HD 654

Concentration mg/l	Total	Morts	% Mort.
0,001	100	0	0
0,01	100	2	2
0,05	100	6	6
0,1	100	4	4
1	100	100	100
Témoin	100	0	0

Tableau 14

Préparation R 2109 A HD 789

Concentration mg/l	Total	Morts	% Mort.
0,001	100	0	0
0,01	100	0	0
0,05	100	1	1
0,1	100	1	1
1	100	2	2
Témoin	100	0	0

Tableau 15

Préparation R 2109 B HD 190

( Concentration	:	Total	:	Morts	:	% Mort.
( mg/1	:		:		:	
( 0,001	:	100	:	0	:	0
( 0,01	:	100	:	6	:	6
( 0,05	:	100	:	36	:	36
( 0,1	:	100	:	95	:	95
( 1	:	100	:	100	:	100
( Témoin	:	100	:	0	:	0

Tableau 16

Préparation R 2090 A HD 658

( Concentration	:	Total	:	Morts	:	% Mort.
( mg/1	:		:		:	
( 0,001	:	100	:	0	:	0
( 0,01	:	100	:	2	:	2
( 0,05	:	100	:	2	:	2
( 0,1	:	100	:	4	:	4
( 1	:	100	:	3	:	3
( Témoin	:	100	:	0	:	0

Tableau 17

Préparation R 2986 A HD 649

Concentration mg/l	Total	Morts	% Mort.
0,001	100	2	2
0,01	100	1	1
0,05	100	24	24
0,1	100	39	39
1	100	100	100
Témoin	100	2	2

Tableau 18

Préparation R 2087 A HD 653

Concentration mg/l	Total	Morts	% Mort.
0,001	100	2	2
0,01	100	2	2
0,05	100	44	44
0,1	100	99	99
1	100	100	100
Témoin	100	2	2

Tableau 19

Préparation R 2103 B HD 919

Concentration mg/l	Total	Morts	% Mort.
0,001	100	1	1
0,01	100	24	24
0,05	100	98	98
0,1	100	100	100
1	100	100	100
Témoin	100	0	0

Tableau 20

Préparation R 2110 B HD 792

Concentration mg/l	Total	Morts	% Mort.
0,001	100	1	1
0,01	100	21	21
0,05	100	96	96
0,1	100	100	100
1	100	100	100
Témoin	100	1	1

Tableau 21

Préparation R 2111 A HD 793

Concentration: mg/l	Total	Morts	% Mort.
0,001	100	1	1
0,01	100	1	1
0,05	100	4	4
0,1	100	5	5
1	100	2	2
Témoin	100	2	2

Tableau 22

Préparation R 2112 A HD 794

Concentration mg/l	Total	Morts	% Mort.
0,001	100	0	0
0,01	100	0	0
0,05	100	14	14
0,1	100	66	66
1	100	100	100
Témoin	100	0	0

Tableau 23

% de mortalité de 12 préparations de *Bacillus thuringiensis var israelensis* sur  $St_4$  d'*Aedes aegypti* - 24 heures de contact.

Préparation	CONCENTRATION (mg/l)					
	0,001	0,01	0,05	0,1	1	Témoin
R 2088 B HD 655	0	6	26	78	100	0
R 2085 C HD 648	0	9	44	89	100	0
R 2088 A HD 654	0	2	6	4	100	0
R 2109 A HD 789	0	0	1	1	2	0
R 2109 B HD 190	0	6	36	95	100	0
R 2090 A HD 658	0	2	2	4	3	0
R 2086 A HD 649	2	1	24	39	100	2
R 2087 A HD 653	2	2	44	99	100	2
R 2111 A HD 793	1	1	4	5	2	2
R 2112 A HD 794	0	0	14	66	100	0
R 2103 B HD 919	1	24	98	100	100	0
R 2110 B HD 792	1	21	96	100	100	1

Comparaison entre l'activité de l'IPS<sub>82</sub> et de 12 préparations  
du *B. thuringiensis* var. *israelensis*.

La DL<sub>50</sub> de l'IPS<sub>82</sub> après 24 heures de contact (considérant les disparues comme mortes) est de : 0,0044 mg/l mais elle est de 0,0048 mg/l lorsqu'on ne considère que les larves mortes. Quand on enlève les larves disparues le X<sub>2</sub> est légèrement plus petit et l'ajustement sur modèle Gausso-logarithmique est meilleur. (tabl. ann. probit 43-56).

Les DL<sub>50</sub> des 8 préparations à tester présentent une activité correcte : (tableaux analyse probit 58-65).

R 2088 B HD 655	0,065 mg/l
R 2109 B HD 190	0,047 mg/l
R 2085 C HD 648	0,044 mg/l
R 2103 B HD 919	0,0154 mg/l
R 2110 B HD 792	0,0178 mg/l
R 2112 A HD 794	0,089 mg/l
R 2087 A HD 653	0,044 mg/l
R 2086 A HD 649	0,119 mg/l

Ces résultats démontrent une plus grande toxicité de R 2103 B HD 919 par rapport aux autres préparations de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* et révèlent le R 2086 A HD 649 comme étant le produit le moins actif.

Les titres des différentes préparations ont été obtenus à partir du titre de notre produit standard, IPS<sub>82</sub> (15 000 UI/mg).

R 2103 B HD 919	4285 UI/mg
R 2110 B HD 792	3707 UI/mg
R 2086 A HD 649	555 UI/mg
R 2087 A HD 653	1500 UI/mg
R 2112 A HD 794	742 UI/mg
R 2088 B HD 655	1015 UI/mg
R 2085 C HD 648	1500 UI/mg
R 2109 B HD 190	1404 UI/mg

TABLEAUX ANALYSE PROBIT IPS<sub>82</sub>

TABLEAU 24 -

PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 (TEST 1) → 24 H

LES DOSES SONT EN MG/L (X 10 )

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	061	0200	30.0	0.591	4.4
02	00.052	103	0200	51.0	0.716	5.1
03	00.078	164	0200	82.0	0.892	6.0
04	00.104	198	0200	99.0	1.017	6.7
05	00.156	199	0200	99.0	1.193	7.6

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE .5 %

DL 50 = .05 MG/L (X 10 ) → 0,005 MG/L

DL 90 = .087 MG/L (X 10 ) → 0,0087 MG/L

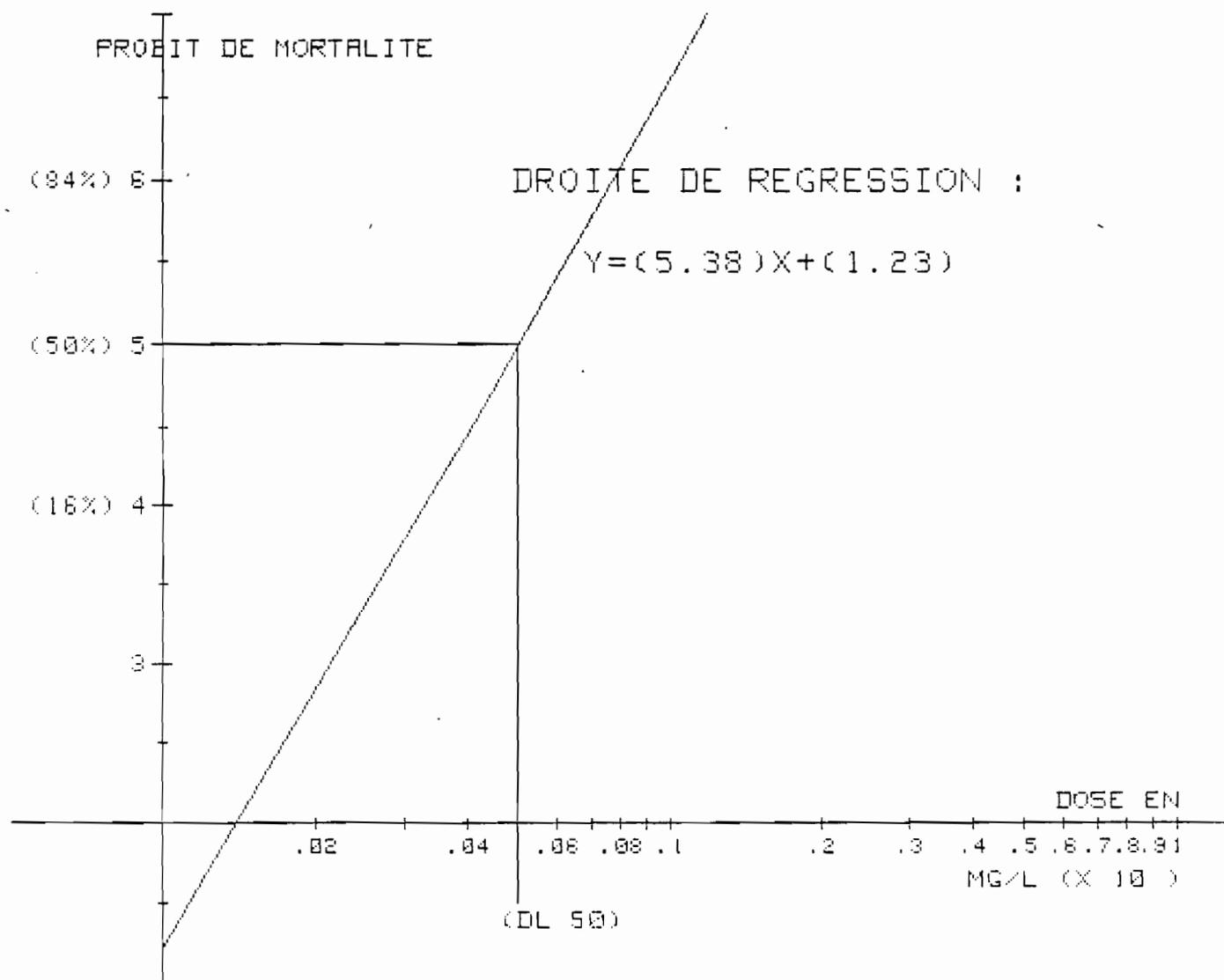
LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 7.815

VOTRE Xdeux EST DE 9.877

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .046 , .055

SOIT UNE IMPRECISION DE 8 %



## TABLEAU 25 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 (TEST 1) → 244-D

LES DOSES SONT EN MG/L (X10)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	046	0185	24.0	0.591	4.3
02	00.052	089	0186	48.0	0.716	5.0
03	00.078	151	0187	81.0	0.892	6.0
04	00.104	192	0194	99.0	1.017	6.7
05	00.156	197	0198	99.0	1.193	7.7

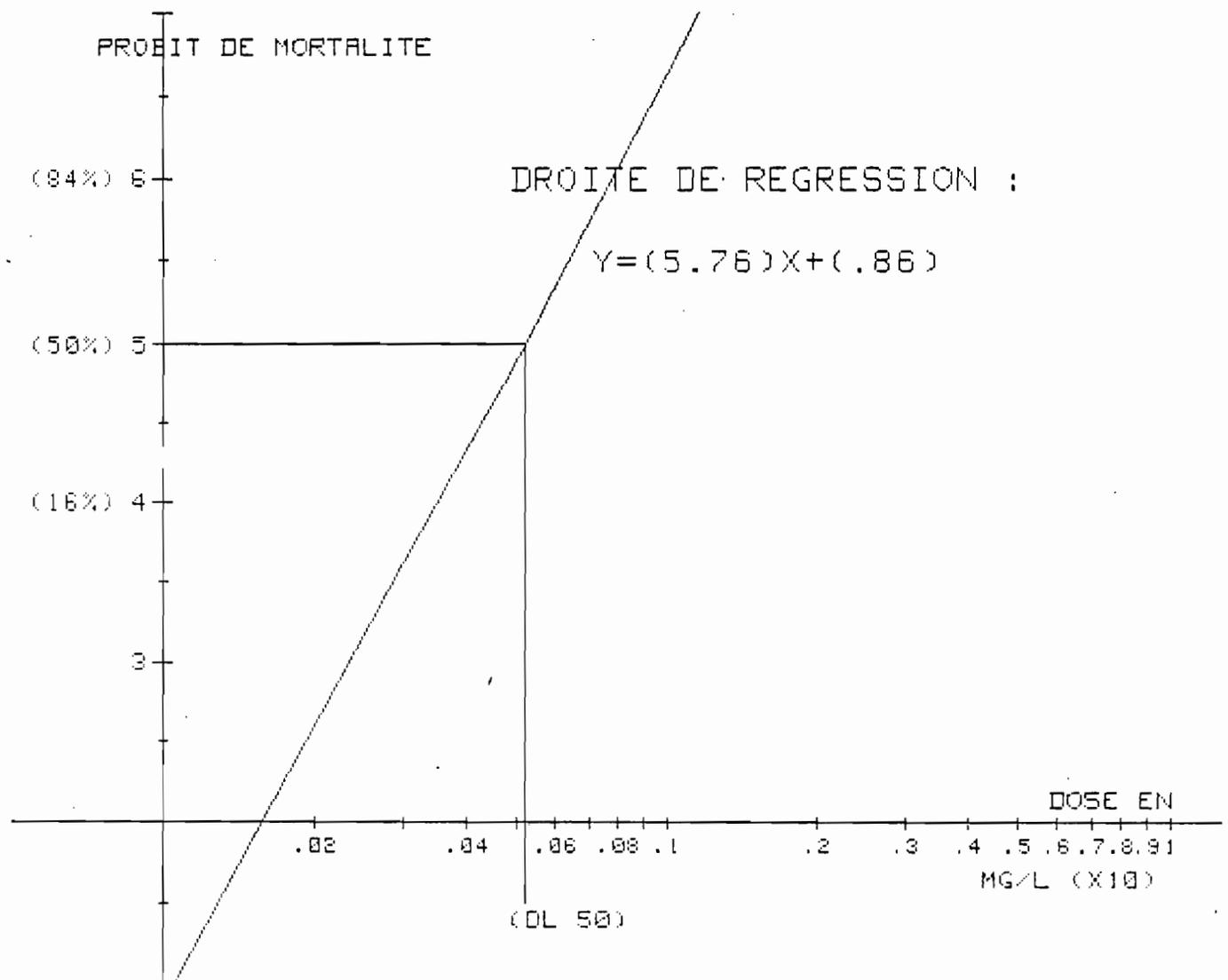
LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE .5 %

DL 50 = .052 MG/L (X10) → 0,0052 MG/L

DL 90 = .087 MG/L (X10) → 0,0087 MG/L

LE X<sub>deux</sub> DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 7.815VOTRE X<sub>deux</sub> EST DE 9.173

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .049 , .057  
SOIT UNE IMPRECISION DE 7 %

## TABLEAU 26 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 (TEST 1) → 48 H

LES DOSES SONT EN MG/L (X 10)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	076	0200	37.0	0.591	4.7
02	00.052	128	0200	63.0	0.716	5.4
03	00.078	196	0200	98.0	0.892	6.5
04	00.104	200	0200	99.0	1.017	7.2
05	00.156	200	0200	99.0	1.193	8.3

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 1.5 %

DL 50 = .044 MG/L (X 10) → 0,0044 MG/L

DL 90 = .072 MG/L (X 10) → 0,0072 MG/L

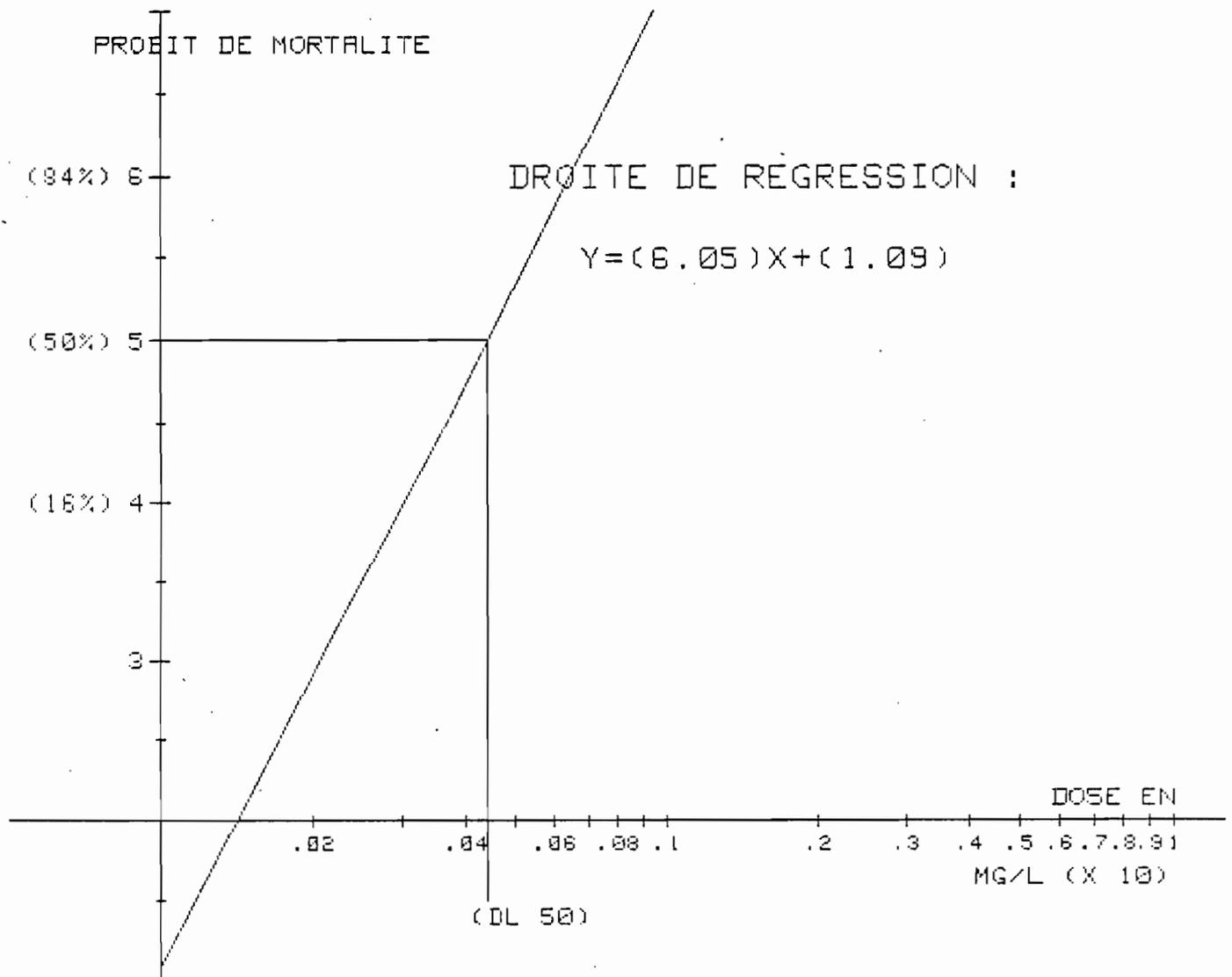
LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 7.815

VOTRE Xdeux EST DE 19.162

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .039 , .05

SOIT UNE IMPRECISION DE 11 %



## TABLEAU 27 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 (rest 4) → 48 H-D

LES DOSES SONT EN MG/L (X10)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	046	0170	26.0	0.591	4.3
02	00.052	075	0147	51.0	0.716	5.2
03	00.078	149	0153	97.0	0.892	6.3
04	00.104	175	0175	99.0	1.017	7.2
05	00.156	176	0176	99.0	1.193	8.3

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 1 %

DL 50 = .049 MG/L (X10) → 0,0049 MG/L

DL 90 = .076 MG/L (X10) → 0,0076 MG/L

LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 7.815

VOTRE Xdeux EST DE 18.092

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .044 , .055

SOIT UNE IMPRECISION DE 10 %

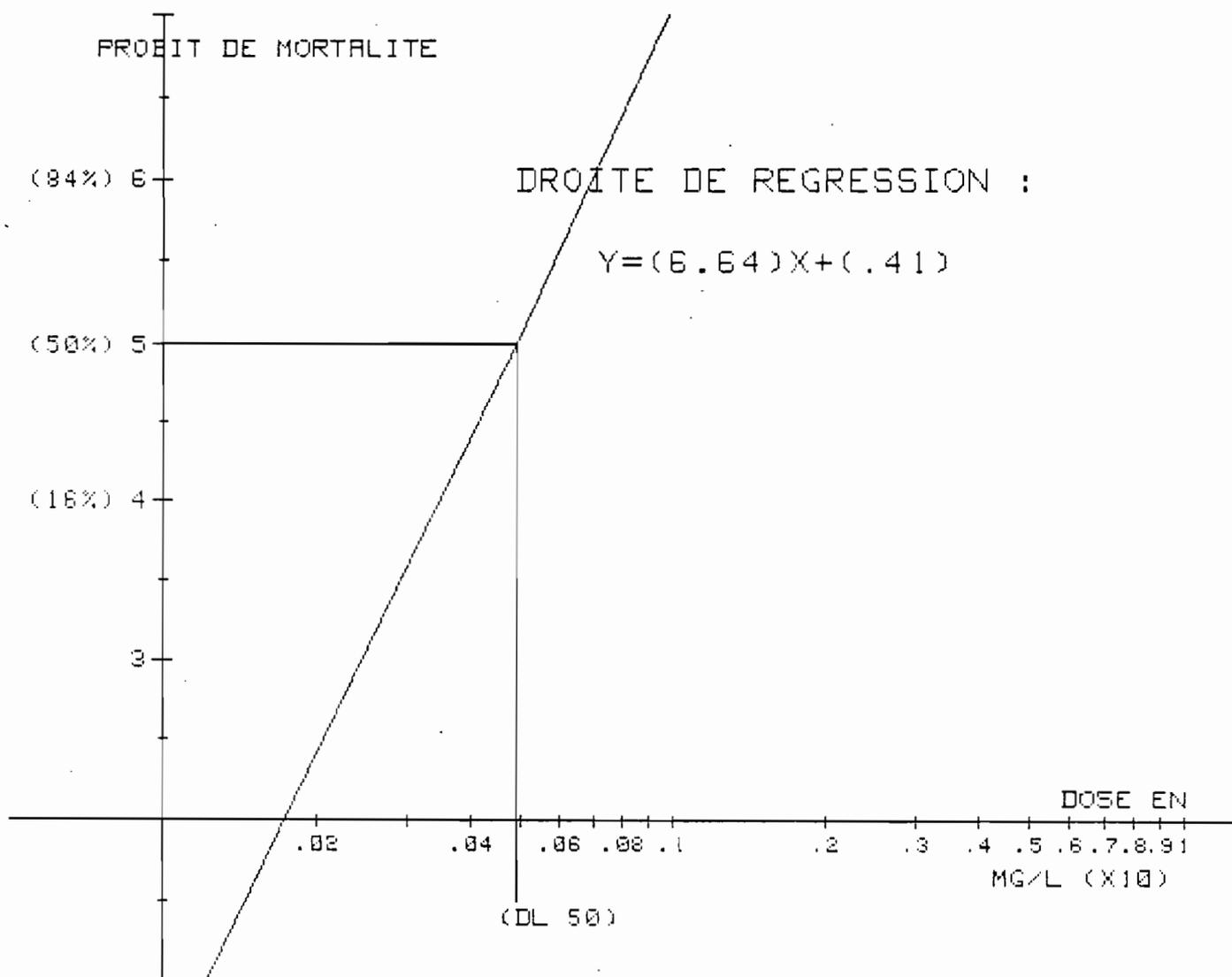


TABLEAU - 28 -

PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 (TEST 2) → 24M

LES DOSES SONT EN MG/L (X 10)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	067	0200	30.0	0.591	4.5
02	00.052	104	0200	49.0	0.716	4.9
03	00.078	125	0200	60.0	0.892	5.5
04	00.104	187	0200	93.0	1.017	6.0
05	00.156	189	0200	94.0	1.193	6.6
06	00.208	195	0200	97.0	1.318	7.0

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 5.5 %.

DL 50 = .055 MG/L (X 10) → 0.0055 MG/L

DL 90 = .127 MG/L (X 10) → 0.0127 MG/L

LE X<sub>deux</sub> DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 9.488VOTRE X<sub>deux</sub> EST DE 25.419

IL EST DONC SIGNIFICATIF

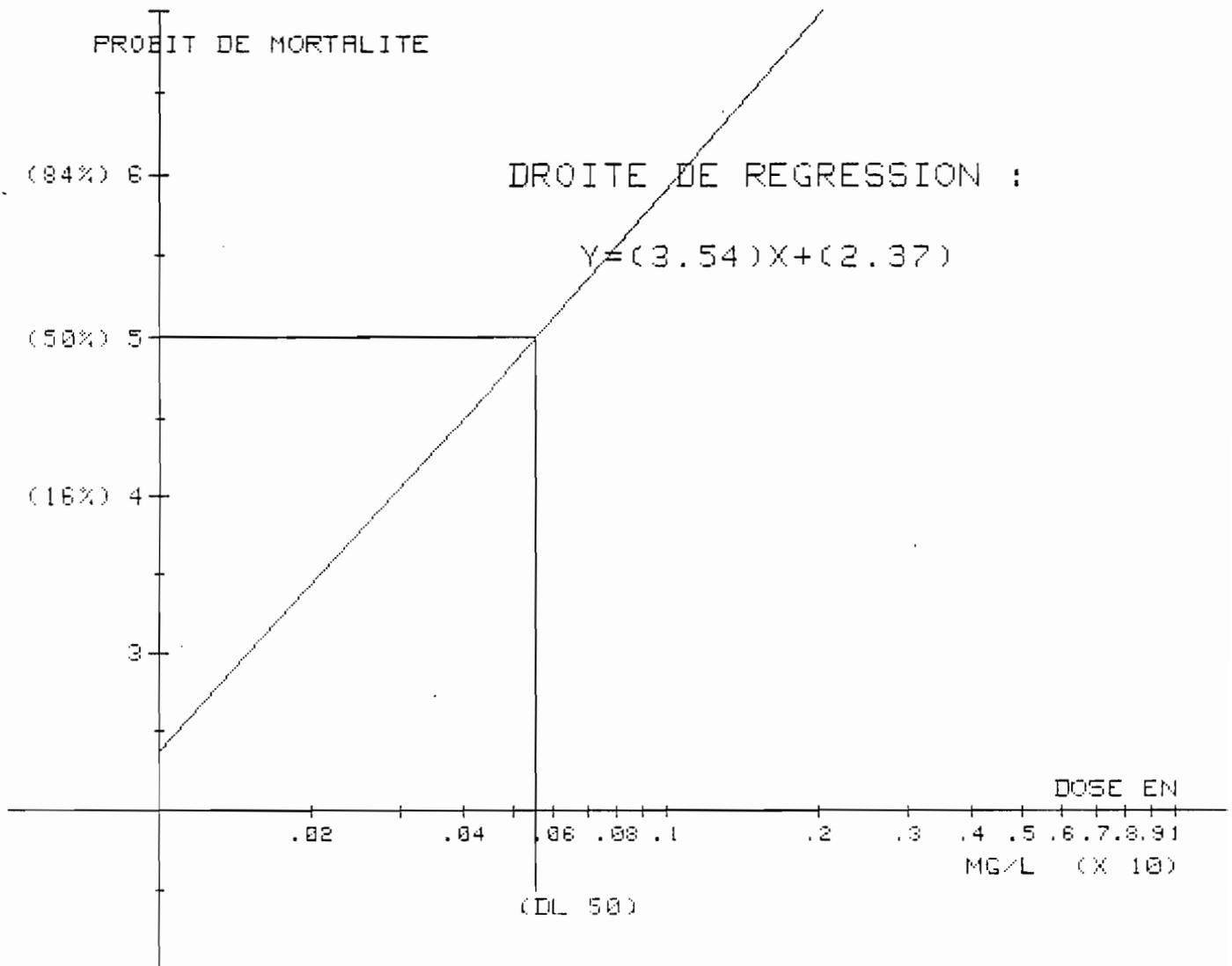
L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .047 , .065  
SOIT UNE IMPRECISION DE 15 %

TABLEAU 29 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 (TEST 2) → 244 →

LES DOSES SONT EN MG L (x10)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	046	0179	23.0	0.591	4.3
02	00.052	078	0174	43.0	0.716	4.8
03	00.078	104	0179	56.0	0.892	5.4
04	00.104	181	0194	93.0	1.017	5.9
05	00.156	178	0189	94.0	1.193	6.6
06	00.208	184	0189	97.0	1.318	7.1

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 3.7 %

DL 50 = .06 MG L (:10) → 0,006 MG/L

DL 90 = .127 MG L (:10) → 0,0127 MG/L

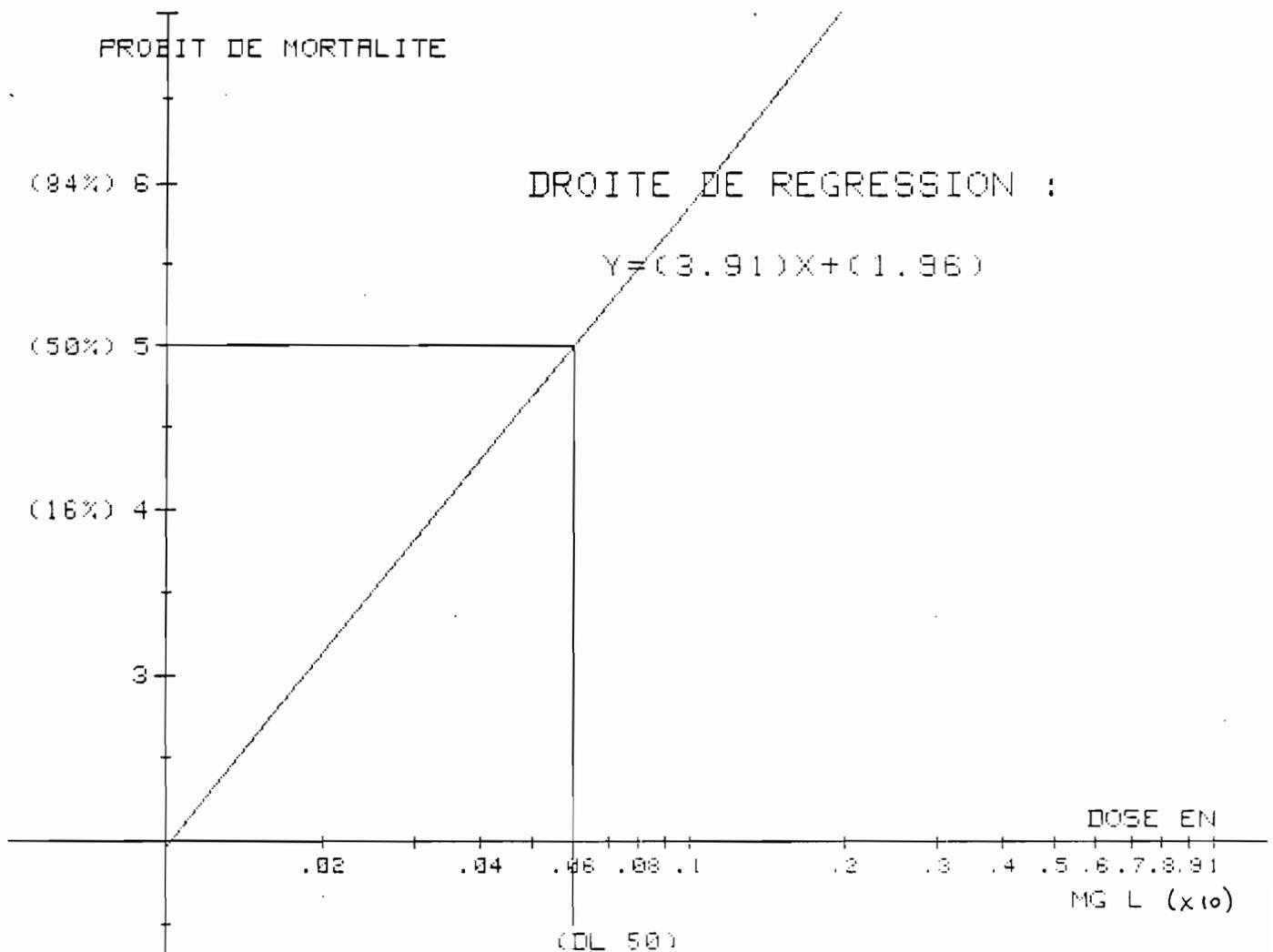
LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 9.488

VOTRE Xdeux EST DE 26.716

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .052 , .07

SOIT UNE IMPRECISION DE 14 %



## TABLEAU - 30 PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 (TEST 2...) → 48 H

LES DOSES SONT EN MG/L (X 10)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	090	0200	41.0	0.591	4.9
02	00.052	152	0200	74.0	0.716	5.5
03	00.078	185	0200	92.0	0.892	6.3
04	00.104	199	0200	99.0	1.017	6.9
05	00.156	200	0200	99.0	1.193	7.6
06	00.208	200	0200	99.0	1.318	8.2

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 7.5 %

DL 50 = .04 MG/L (X 10) → 0,004 MG/L

DL 90 = .078 MG/L (X 10) → 0,0078 MG/L

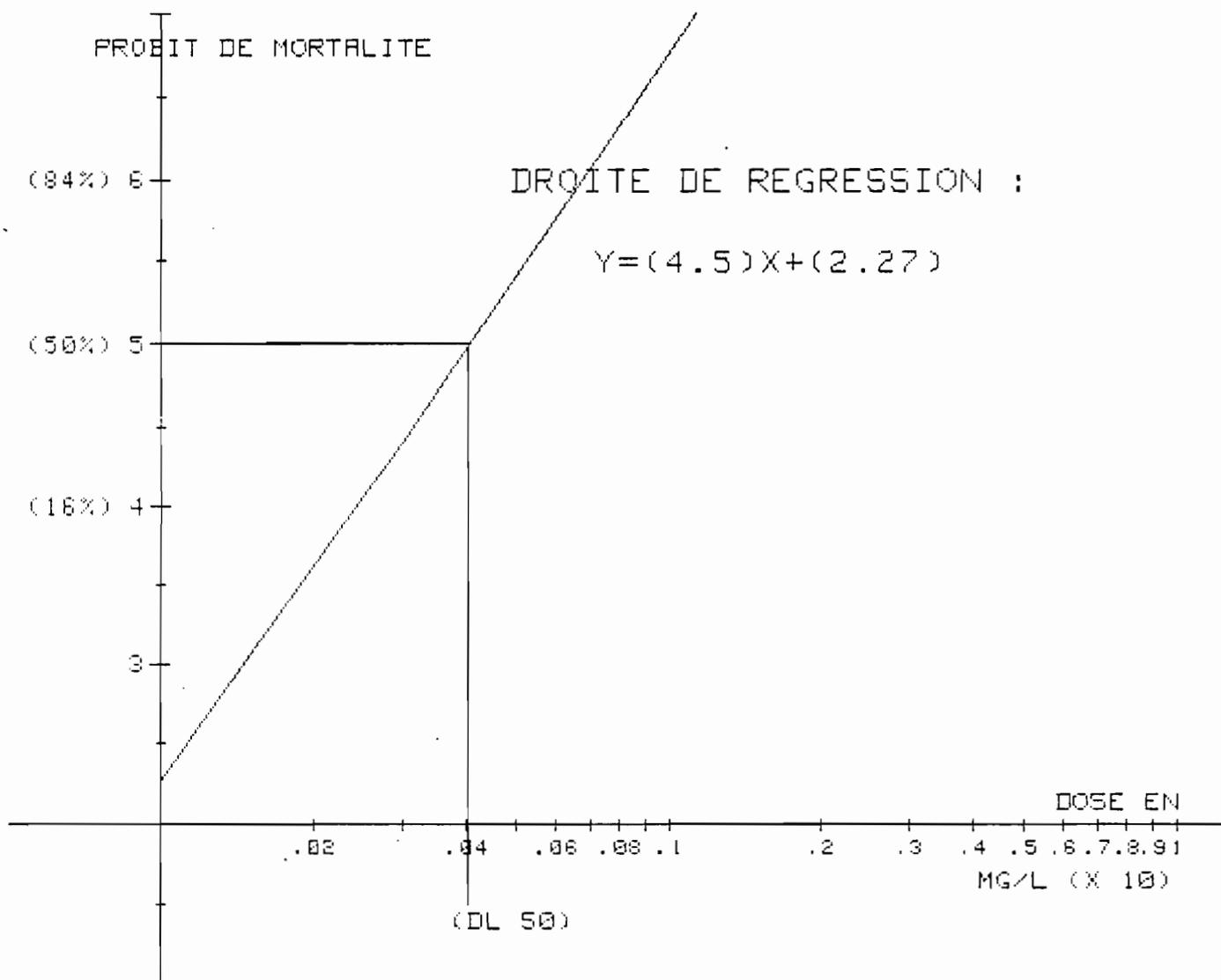
LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 9.488

VOTRE Xdeux EST DE 18.678

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .035 , .047

SOIT UNE IMPRECISION DE 14 %



## TABLEAU-31 PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS.82 (TEST 2) 48H-D

LES DOSES SONT EN MG/L (X10)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	032	0142	17.0	0.591	4.3
02	00.052	079	0127	60.0	0.716	5.0
03	00.078	097	0112	86.0	0.892	6.0
04	00.104	185	0186	99.0	1.017	6.7
05	00.156	169	0169	99.0	1.193	7.7
06	00.208	168	0168	99.0	1.318	8.4

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 6.5 %

DL 50 = .051 MG/L (X10) → 0.0051 MG/L

DL 90 = .087 MG/L (X10) → 0.0087 MG/L

LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 9.488

VOTRE Xdeux EST DE 24.387

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .045 , .059

SOIT UNE IMPRECISION DE 12 %

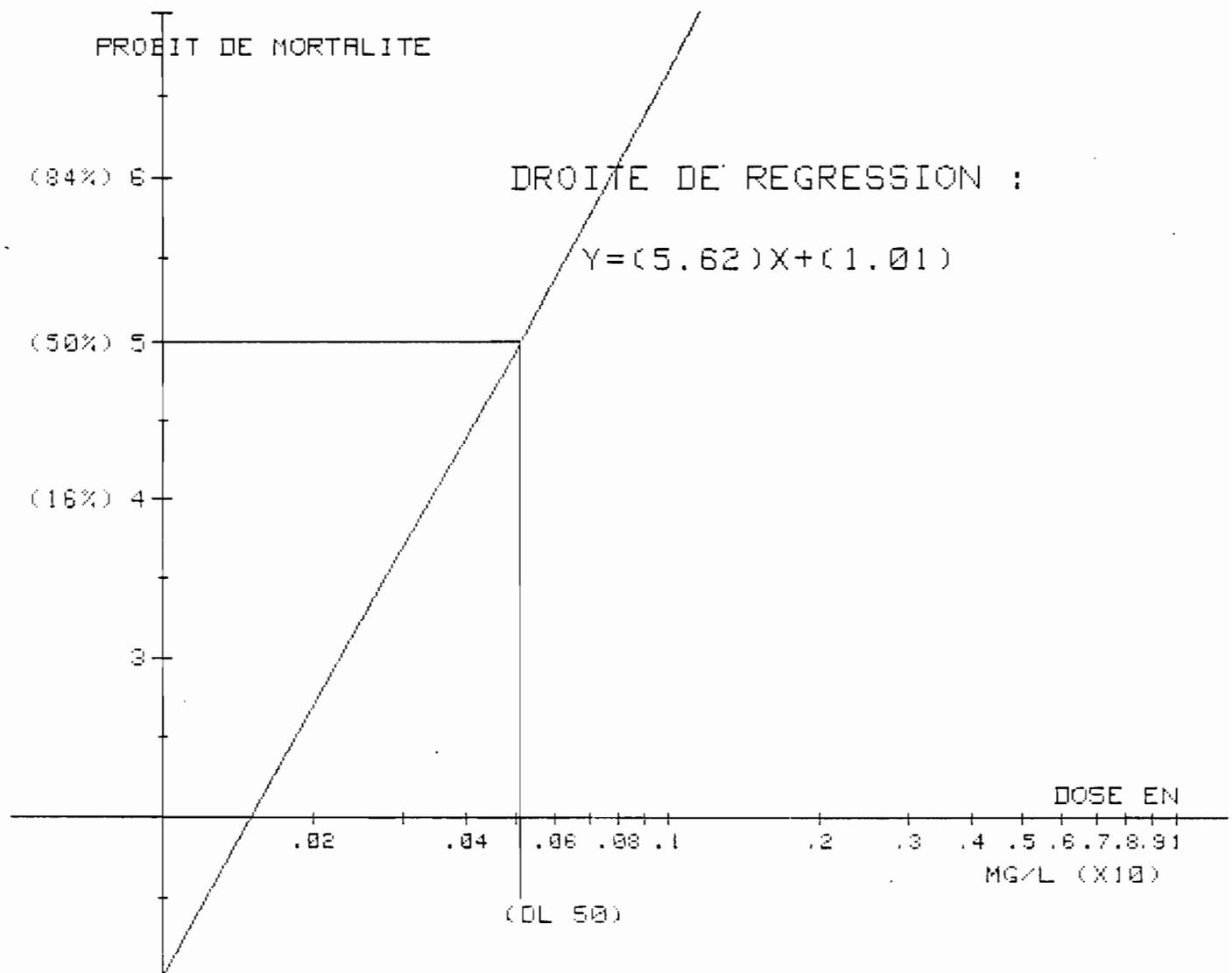


TABLEAU 32 - IPS 82 (test 3) → 24H

LES DOSES SONT EN MG L ( $\times 10$ )

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	128	0200	63.0	0.591	5.5
02	00.052	170	0200	85.0	0.716	5.8
03	00.078	185	0200	92.0	0.892	6.3
04	00.104	190	0200	95.0	1.017	6.6
05	00.156	195	0200	97.0	1.193	7.1
06	00.208	199	0200	99.0	1.318	7.4

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 3 %

DL 50 = .026 MG L ( $\times 10$ ) → 0,0026 MG/LDL 90 = .077 MG L ( $\times 10$ ) → 0,0077 MG/L

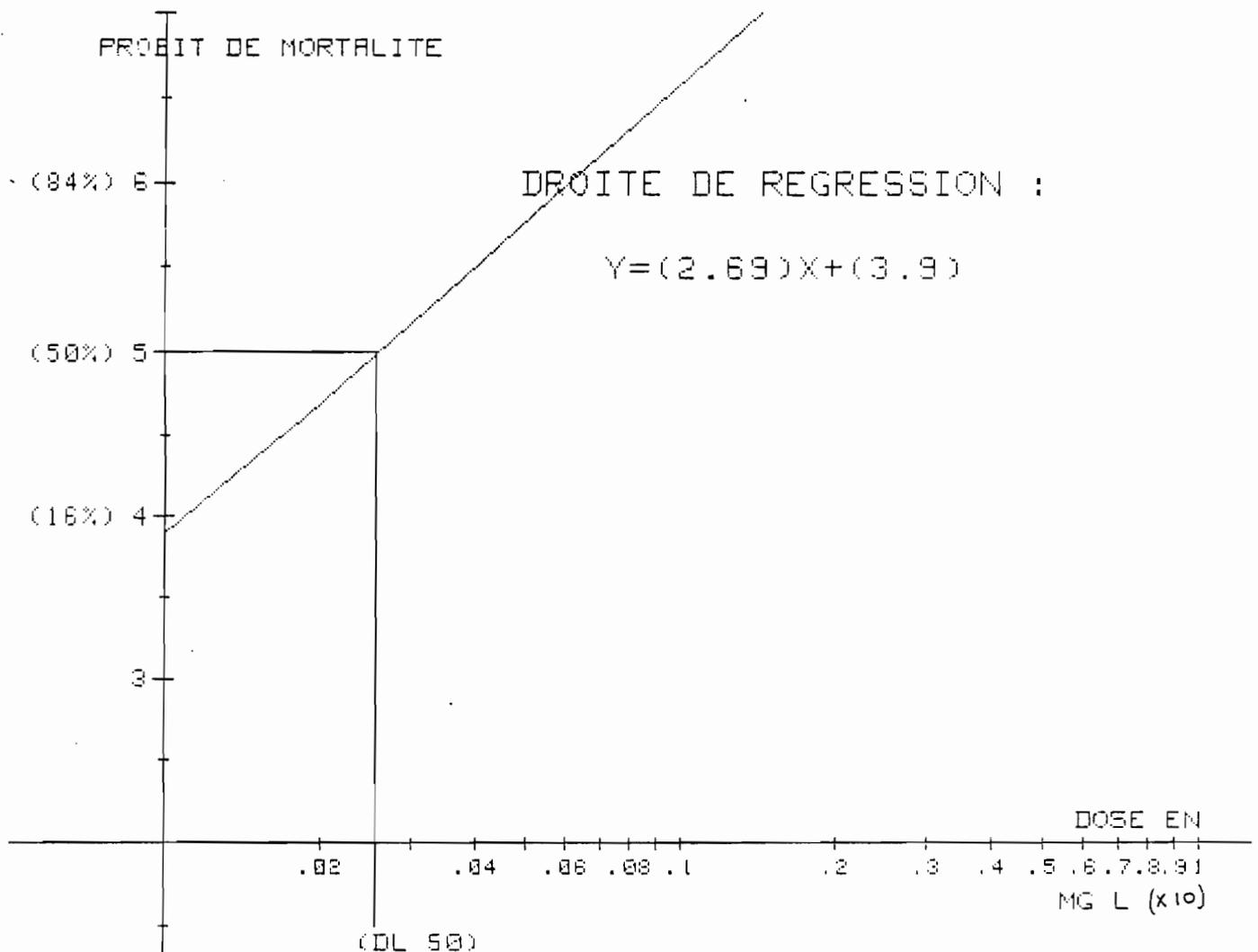
LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 9.488

VOTRE Xdeux EST DE 9.88

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .019 , .035

SOIT UNE IMPRECISION DE 26 %



## TABLEAU 33 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 (TEST 3) → 24H-D

LES DOSES SONT EN MG L ( $\times 10$ )

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	083	0155	53.0	0.591	5.3
02	00.052	131	0161	81.0	0.716	5.7
03	00.078	148	0163	91.0	0.892	6.2
04	00.104	175	0185	95.0	1.017	6.6
05	00.156	190	0195	97.0	1.193	7.1
06	00.208	195	0196	99.0	1.318	7.5

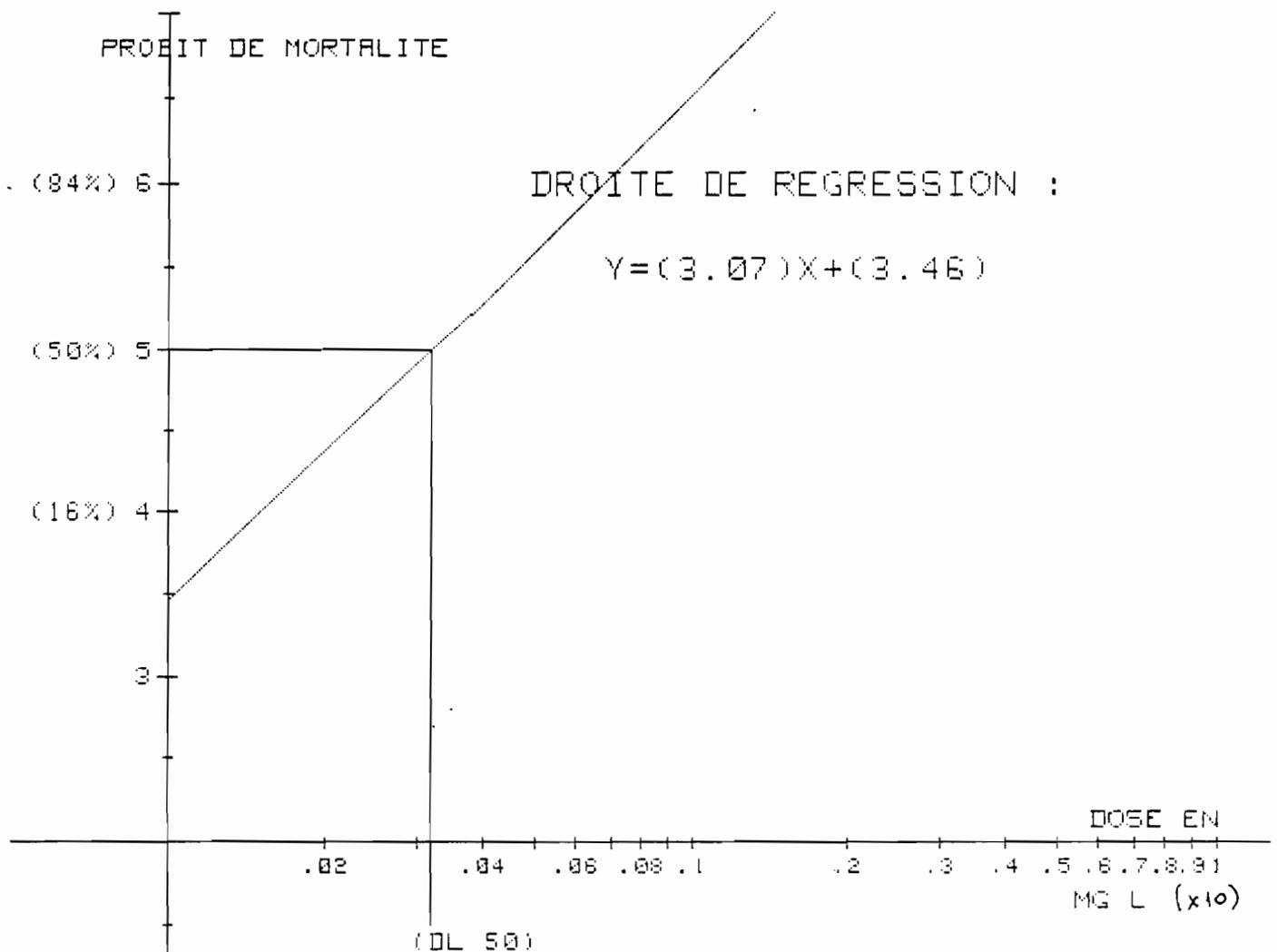
LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 1.5 %

DL 50 = .032 MG L (:10) → 0,0032 MG/L

DL 90 = .083 MG L (:10) → 0,0083 MG/L

LE  $X_{deux}$  DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 9.488VOTRE  $X_{deux}$  EST DE 10.835

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .025 , .04  
SOIT UNE IMPRECISION DE 21 %

## TABLEAU 34- PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 (Test 3) → 48H

LES DOSES SONT EN MG L (x100)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.390	176	0200	88.0	1.591	6.4
02	00.520	196	0200	98.0	1.716	6.6
03	00.700	199	0200	99.0	1.892	7.0
04	01.040	200	0200	99.0	2.017	7.2
05	01.560	200	0200	99.0	2.193	7.5
06	02.000	200	0200	99.0	2.318	7.7

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 3 %

DL 50 = .068 MG L (100) → 0,00068 MG/L

DL 90 = .335 MG L (100) → 0,00335 MG/L

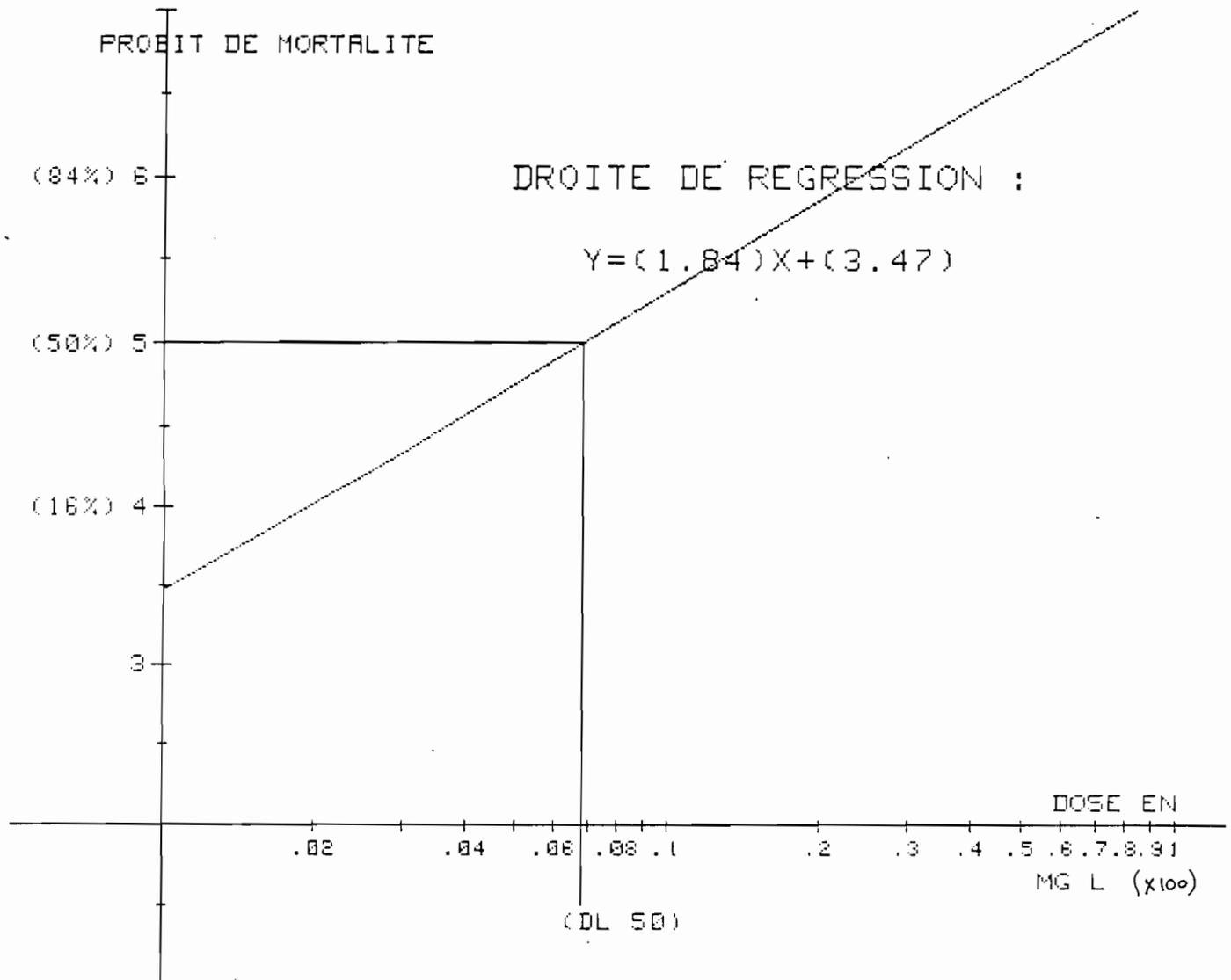
LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 9.488

VOTRE Xdeux EST DE 14.16

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .014 , .327

SOIT UNE IMPRECISION DE 79 %



## TABLEAU 35. PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 (Test 3) → 48H-D

LES DOSES SONT EN MG L (x100)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.390	076	0100	76.0	1.591	5.9
02	00.520	107	0111	96.0	1.716	6.3
03	00.780	115	0116	99.0	1.892	7.0
04	01.040	152	0152	99.0	2.017	7.4
05	01.560	102	0102	99.0	2.193	8.0

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE .5 %

DL 50 = .218 MG L (:100) → 0,00218 MG/L

DL 90 = .499 MG L (:100) → 0,00499 MG/L

LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 7.815

VOTRE Xdeux EST DE 9.755

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .126 , .377

SOIT UNE IMPRECISION DE 42 %

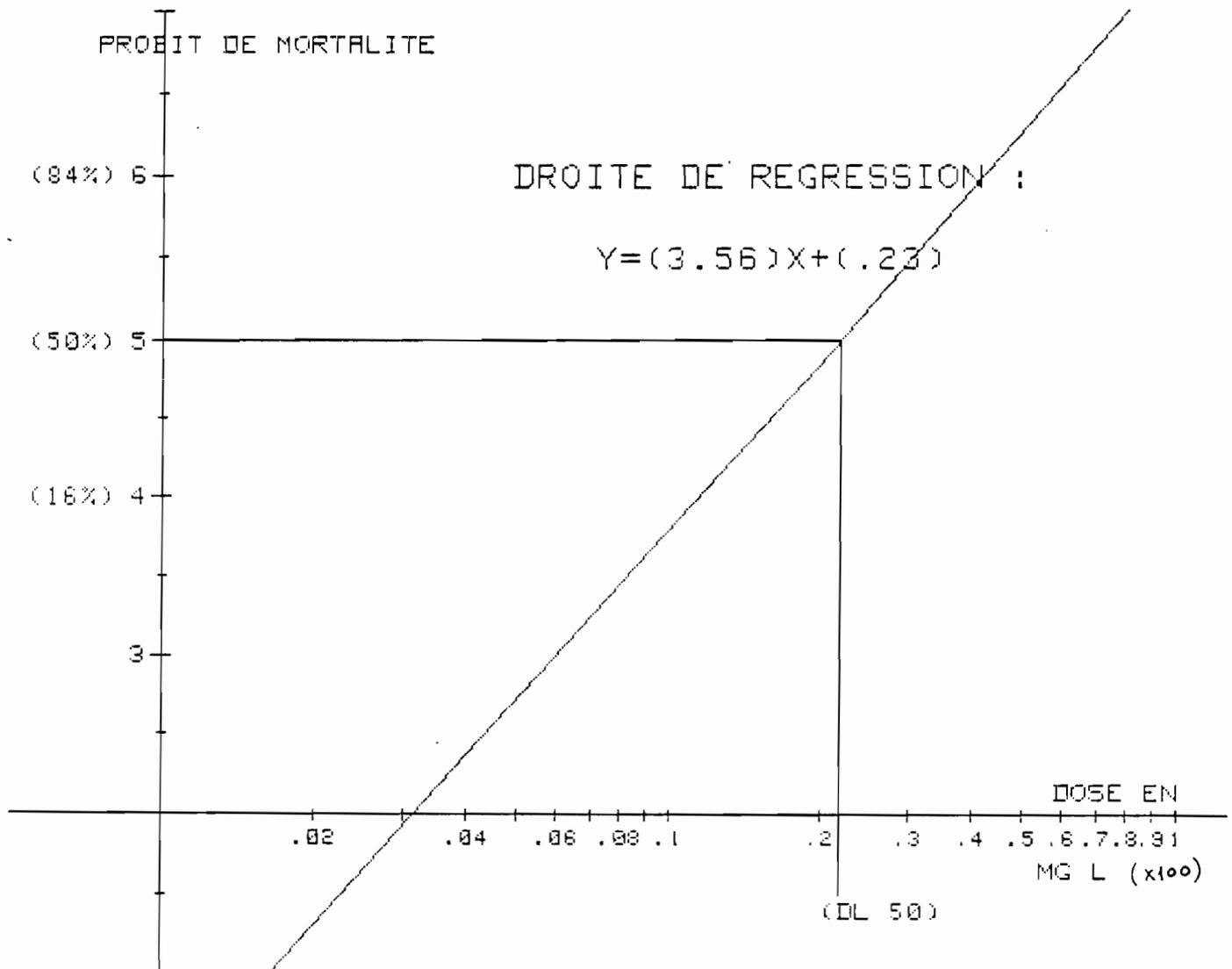


TABLEAU 36 -

## PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IPS 82 - MOYENNE DE 3 TESTS  
24H-D

LES DOSES SONT EN MG L (x10)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	175	0469	36.0	0.591	4.6
02	00.052	298	0521	56.0	0.716	5.1
03	00.078	403	0529	76.0	0.892	5.8
04	00.104	548	0573	96.0	1.017	6.3
05	00.156	565	0582	97.0	1.193	7.0
06	00.208	572	0578	99.0	1.318	7.5

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 1.7 %

DL 50 = .048 MG L (:10) → 0.0048 MG/L

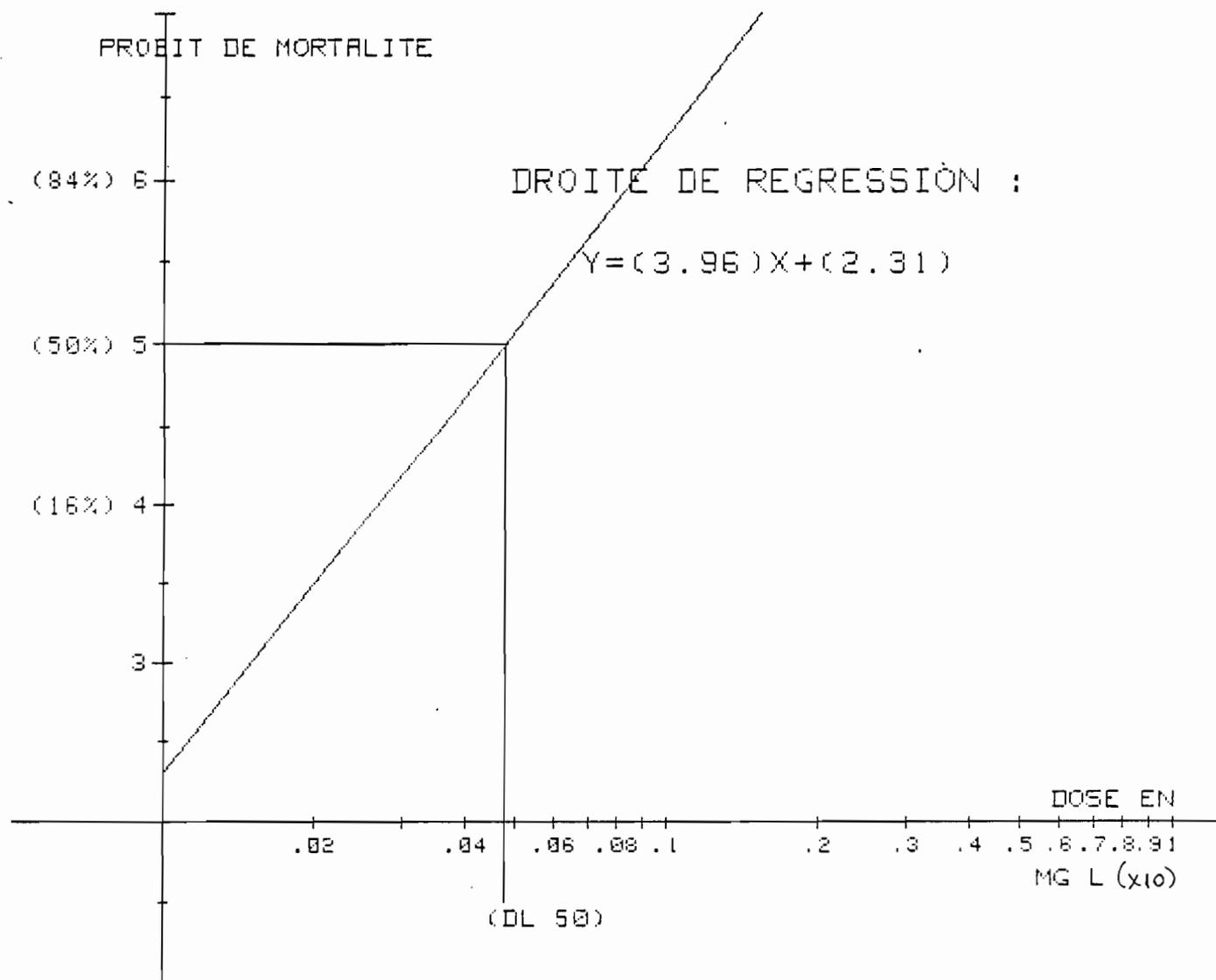
DL 90 = .101 MG L (:10) → 0.0101 MG/L

LE X<sub>deux</sub> DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 9.488VOTRE X<sub>deux</sub> EST DE 26.396

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .043 , .053

SOIT UNE IMPRECISION DE 10 %



56  
TABLEAU 37 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT

IP882 (MOYENNE DE 3 TESTS)  
24 H

LES DOSES SONT EN MG L (x10)

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.039	256	0600	41.0	0.591	4.8
02	00.052	377	0600	62.0	0.716	5.3
03	00.078	474	0600	78.0	0.892	5.9
04	00.104	575	0600	96.0	1.017	6.3
05	00.156	583	0600	97.0	1.193	7.0
06	00.208	589	0600	98.0	1.318	7.4

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 3 %

DL 50 = .044 MG L (:10) → 0,0044 mg/L

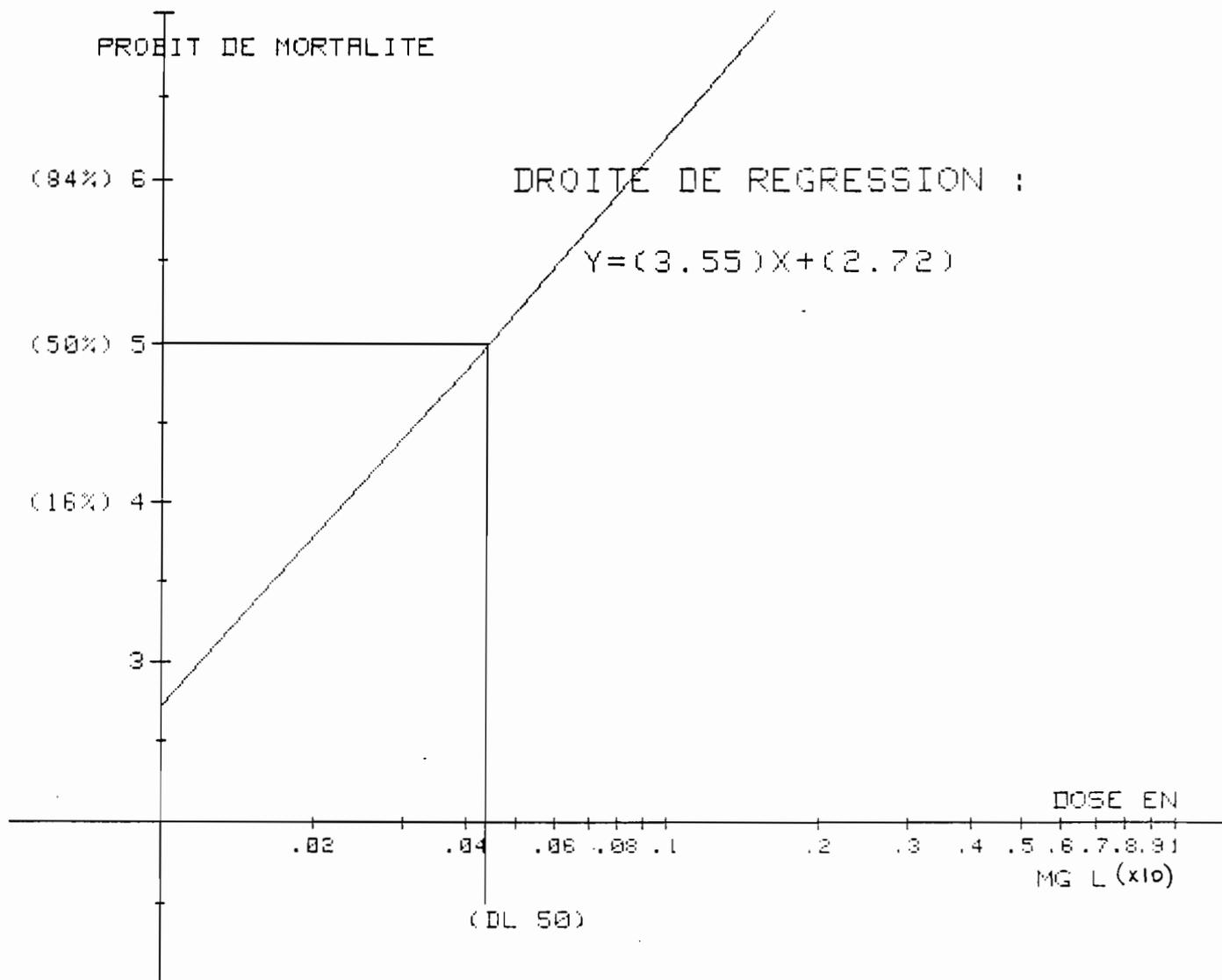
DL 90 = .101 MG L (:10) → 0,0101 mg/L

LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 9.488

VOTRE Xdeux EST DE 33.396

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .039 , .05  
SOIT UNE IMPRECISION DE 12 %



TABLEAUX ANALYSE PROBIT DES  
12 PREPARATIONS DE  
B. THURINGIENSIS VAR. ISRAEENSIS

## TABLEAU 38 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT

R 2088 B HD 655 → 24 H

LES DOSES SONT EN MG L

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.010	006	0100	06.0	0.000	3.2
02	00.050	026	0100	26.0	0.699	4.8
03	00.100	078	0100	78.0	1.000	5.4
04	01.000	100	0100	99.0	2.000	7.6

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 0 %

DL 50= .065 MG L

DL 90= .248 MG L

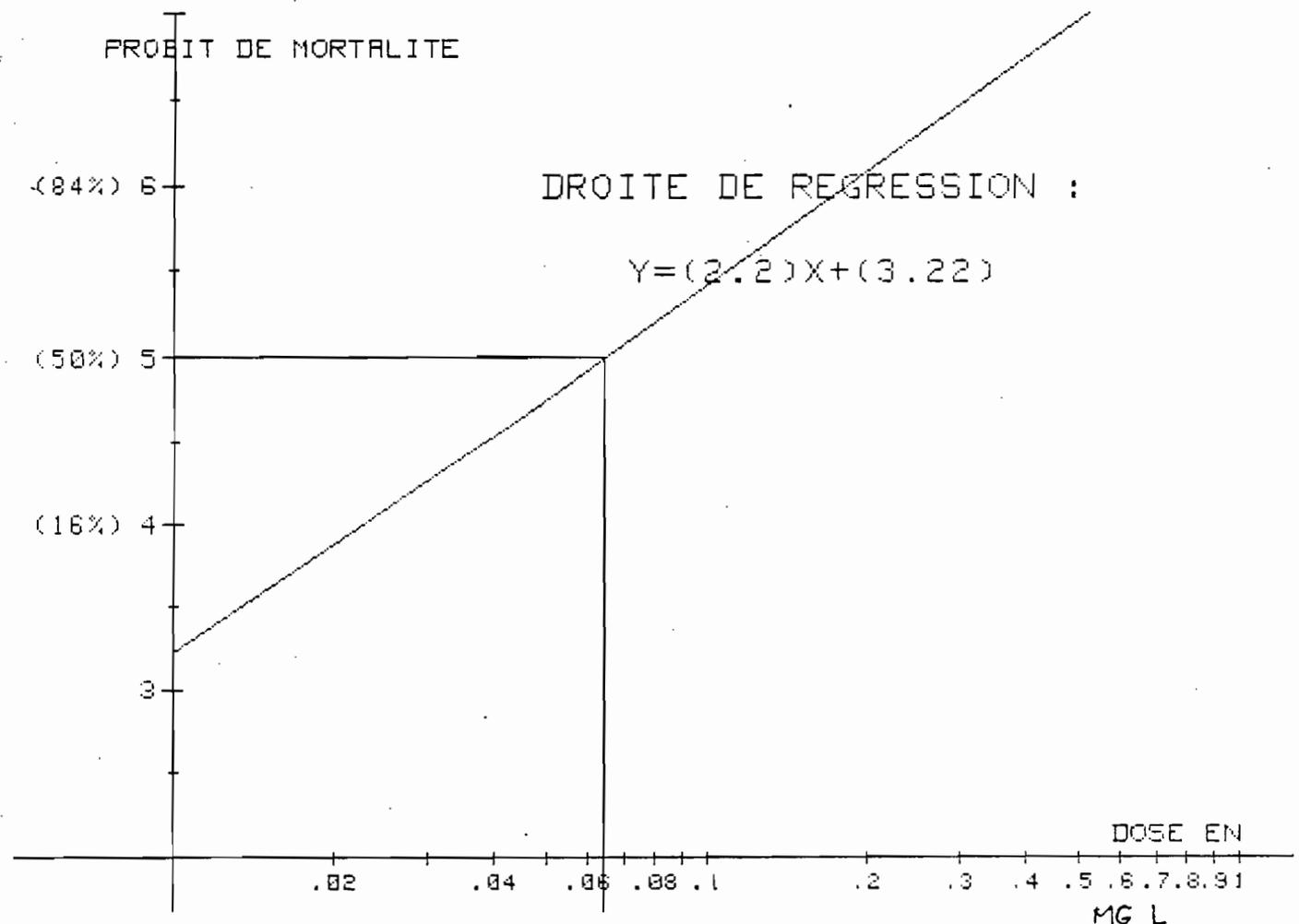
LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 5.991

VOTRE Xdeux EST DE 16.989

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .04 , .106

SOIT UNE IMPRECISION DE 39 %



## TABLEAU.39 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT

R 2109 B HD 190 → 24H

LES DOSES SONT EN MG L

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.010	006	0100	06.0	0.000	3.3
02	00.050	036	0100	36.0	0.699	5.1
03	00.100	095	0100	95.0	1.000	5.8
04	01.000	100	0100	99.0	2.000	8.3

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 0 %

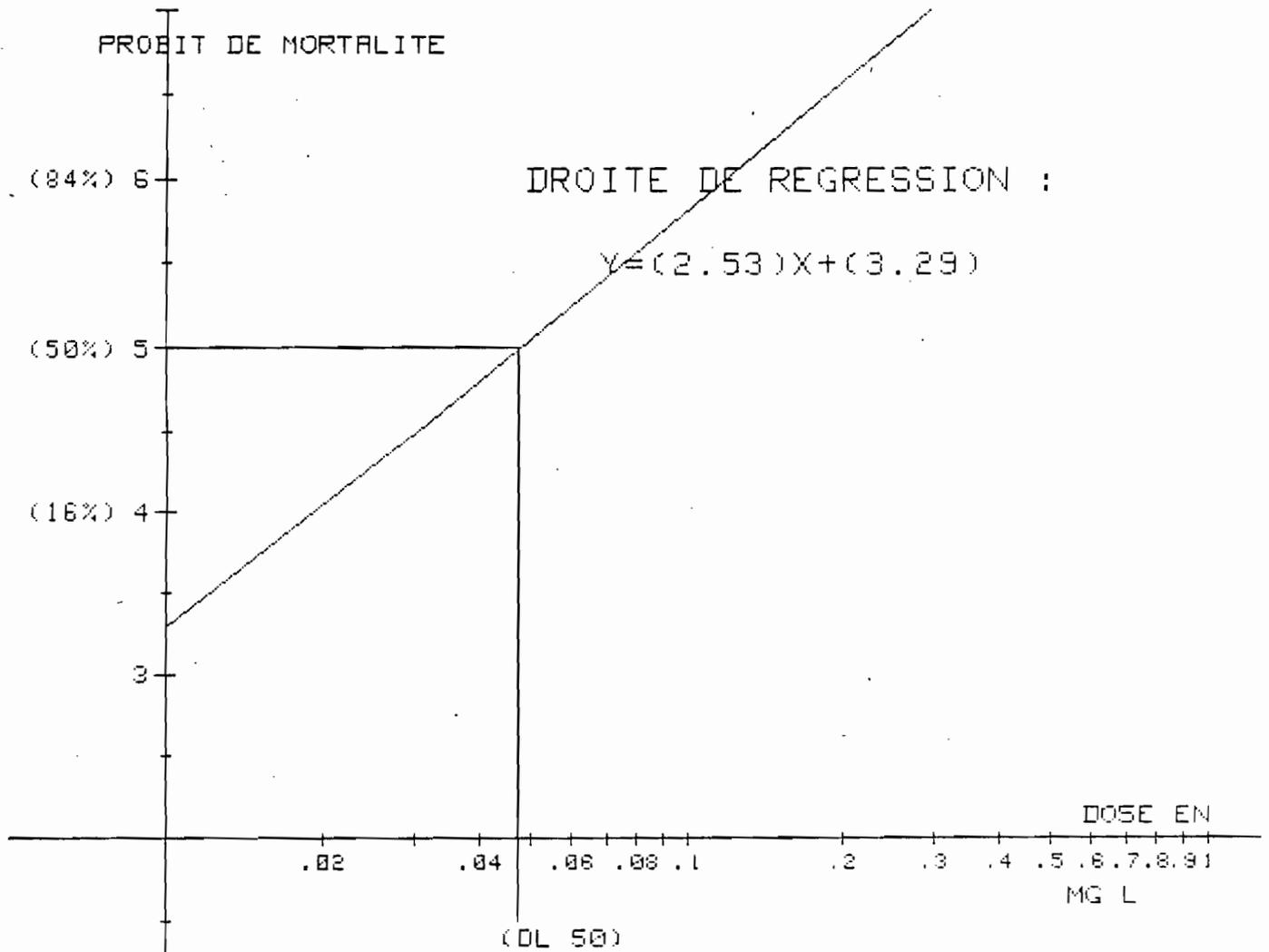
DL 50 = .047 MG L

DL 90 = .152 MG L

LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 5.991

VOTRE Xdeux EST DE 29.187

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .027 , .084  
SOIT UNE IMPRECISION DE 44 %

## TABLEAU 40 : PROGRAMME ANALYSE PROBIT

R 2085 C HD 648 → 24H

LES DOSES SONT EN MLG L

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.010	009	0100	09.0	0.000	3.6
02	00.050	044	0100	44.0	0.699	5.1
03	00.100	089	0100	89.0	1.000	5.8
04	01.000	100	0100	99.0	2.000	7.9

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 0 %

DL 50 = .044 MLG L

DL 90 = .172 MLG L

LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 5.991

VOTRE Xdeux EST DE 13.29

IL EST DONC SIGNIFICATIF.

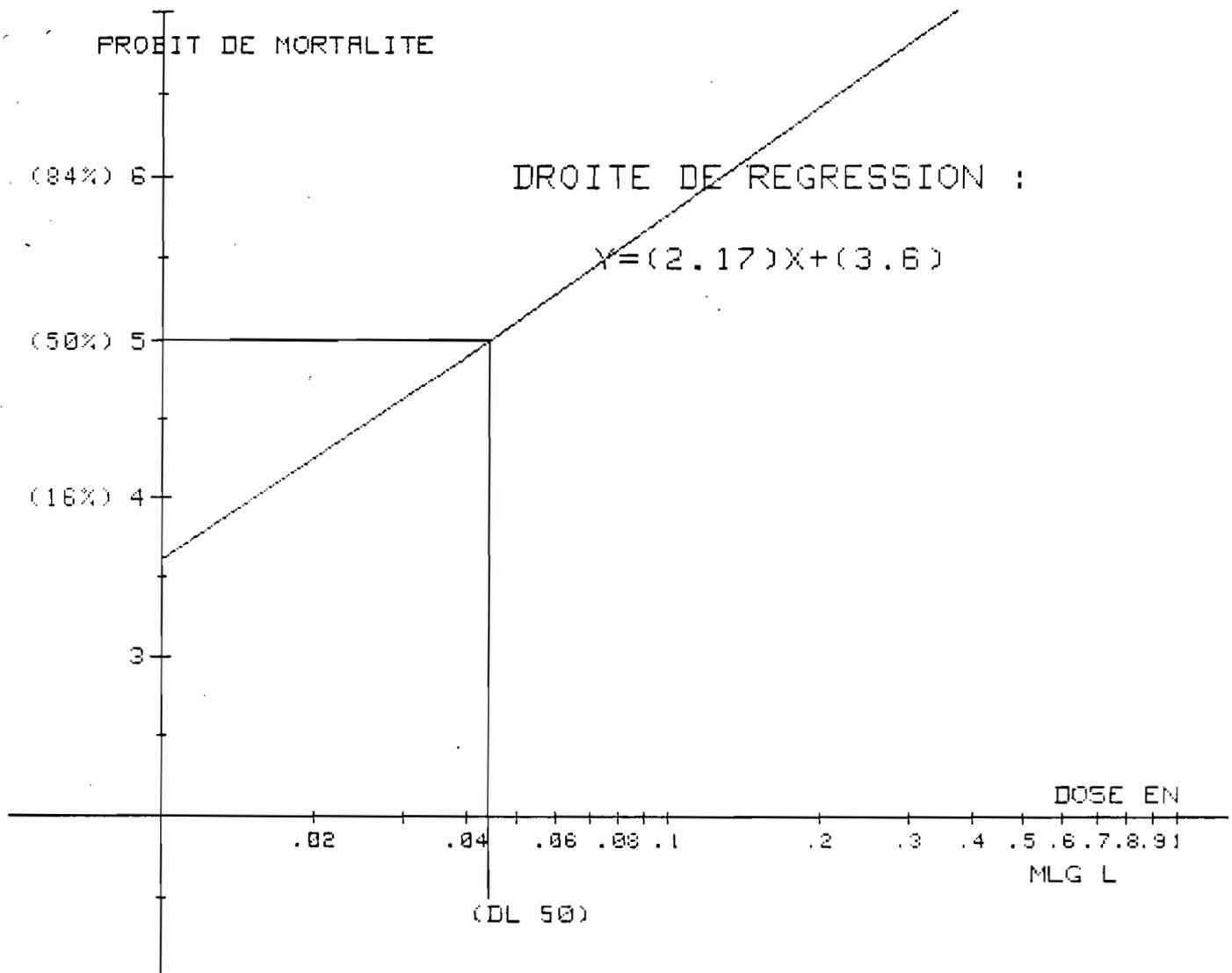
L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .028 , .069  
SOIT UNE IMPRECISION DE 36 %

Tableau 41 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT

R 2103 B HD 919 → 24 H

LES DOSES SONT EN MG L ( $\times 10$ )

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.010	001	0100	01.0	0.000	2.2
02	00.100	024	0100	24.0	1.000	4.6
03	00.500	098	0100	98.0	1.699	6.2
04	01.000	100	0100	99.0	2.000	6.9
05	10.000	100	0100	99.0	3.000	9.3

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 0 %

DL 50 = .154 MG L ( $\times 10$ ) → 0,0154 MG/L

DL 90 = .529 MG L ( $\times 10$ ) → 0,0529 MG/L

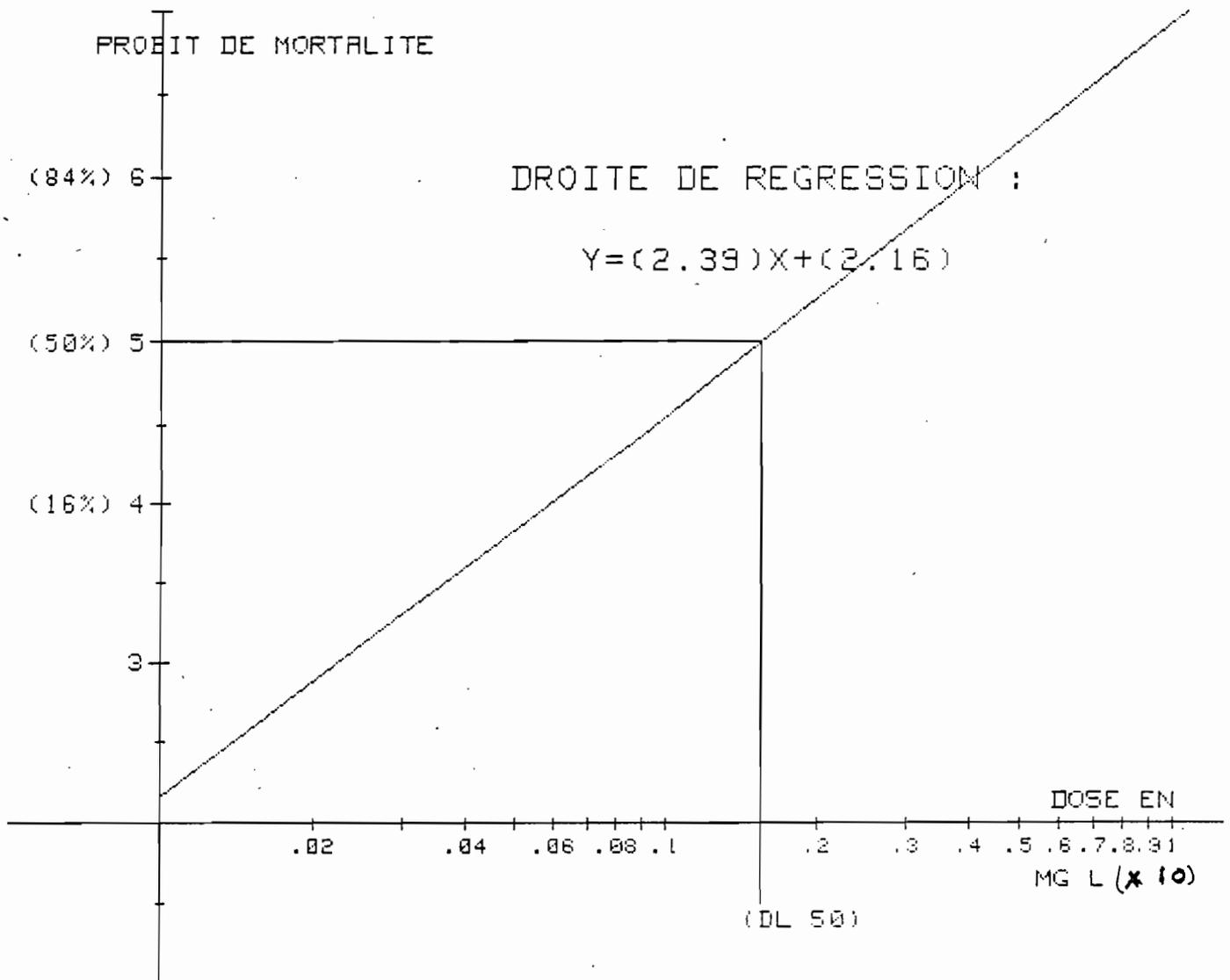
LE X<sub>deux</sub> DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 7.815

VOTRE X<sub>deux</sub> EST DE 35.44

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .085 , .281

SOIT UNE IMPRECISION DE 45 %



## TABLEAU 42- PROGRAMME ANALYSE PROBIT

L 2110 B HD 792 → 24H

LES DOSES SONT EN MG L ( $\times 10$ )

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.100	021	0100	20.0	1.000	4.4
02	00.500	096	0100	96.0	1.699	6.2
03	01.000	100	0100	99.0	2.000	6.9
04	10.000	100	0100	99.0	3.000	9.5

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 1 %

DL 50 = .178 MG L ( $\times 10$ ) → 0.0178 MG/LDL 90 = .556 MG L ( $\times 10$ ) → 0.0556 MG/L

LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 5.991

VOTRE Xdeux EST DE 25.568

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .095 , .33

SOIT UNE IMPRECISION DE 46 %

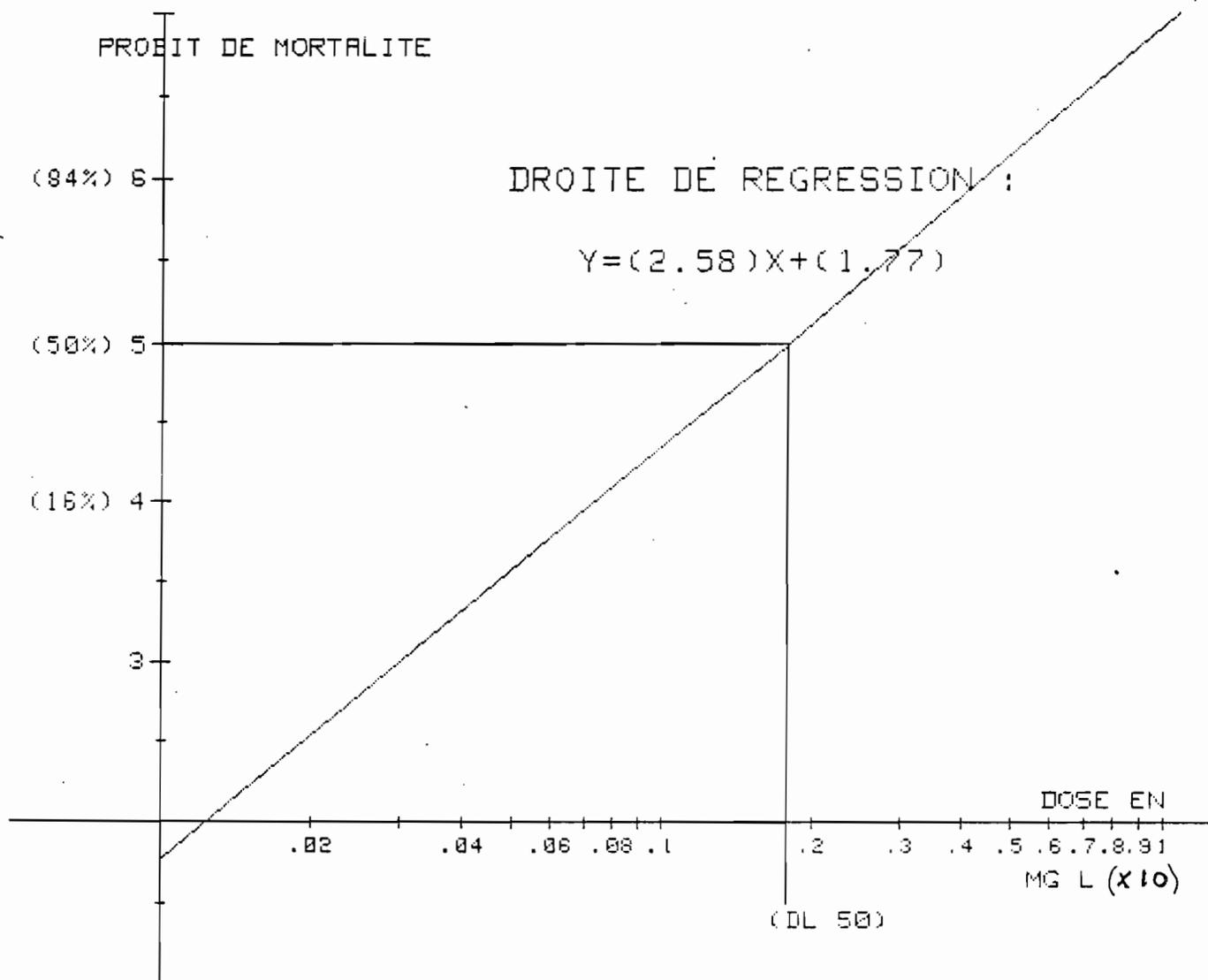


TABLEAU 43 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT<sup>63</sup>

R 2112 A HD 794 → 24H

LES DOSES SONT EN MG L

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.050	014	0100	14.0	0.699	4.2
02	00.100	066	0100	66.0	1.000	5.2
03	01.000	100	0100	99.0	2.000	8.4

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 0 %

DL 50 = .089 MG L

DL 90 = .22 MG L

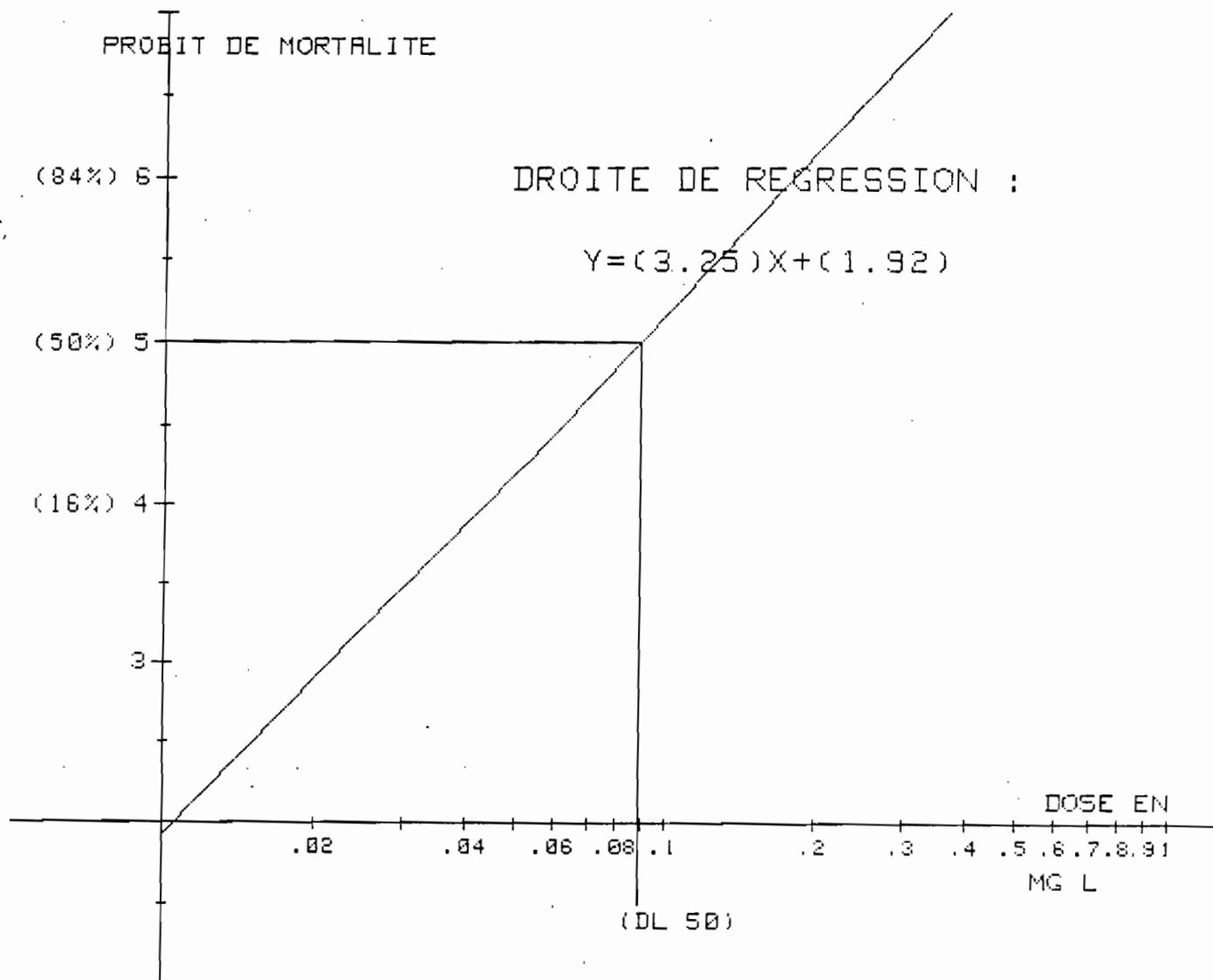
LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 3.841

VOTRE Xdeux EST DE 14.897

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .052 , .151

SOIT UNE IMPRECISION DE 41 %



## TABLEAU 44.- PROGRAMME ANALYSE PROBIT

R 2087 A HD 653 → 24 H

LES DOSES SONT EN MG L

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

! POINTS !	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU!
! 01 !	! 00.050 !	! 044 !	! 0100	! 43.0 !	! 0.699 !	! 5.2 !
! 02 !	! 00.100 !	! 099 !	! 0100	! 99.0 !	! 1.000 !	! 6.0 !
! 03 !	! 01.000 !	! 100 !	! 0100	! 99.0 !	! 2.000 !	! 8.8 !

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 2 %

DL 50= .044 MG L

DL 90= .126 MG L

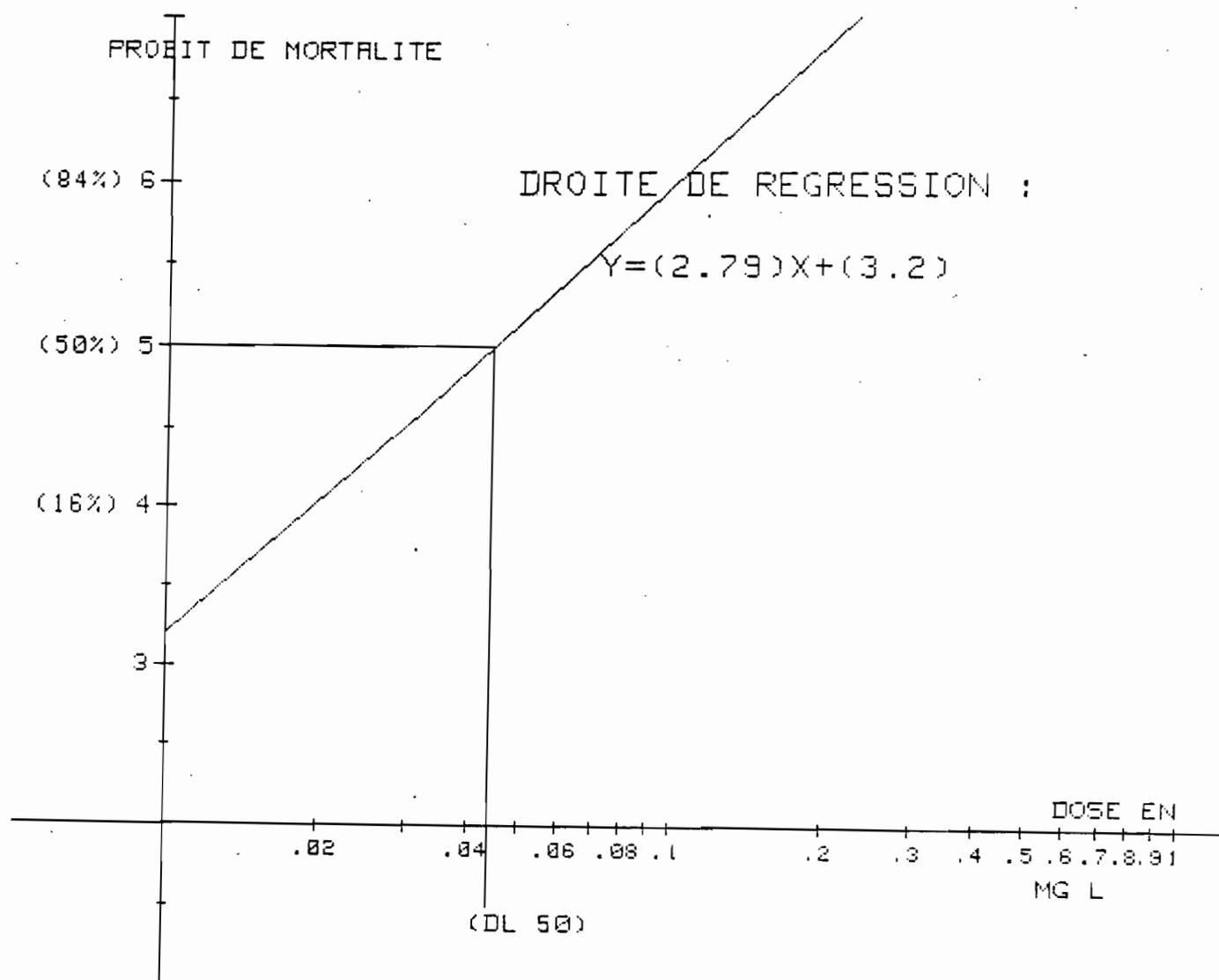
LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 3.841

VOTRE Xdeux EST DE 37.422

IL EST DONC SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .013 , .151

SOIT UNE IMPRECISION DE 71 %



## TABLEAU 45 - PROGRAMME ANALYSE PROBIT

R 2086 A HD 649 → 24H

LES DOSES SONT EN MG L

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

POINTS	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU
01	00.010	002	0100	01.0	0.000	2.6
02	00.050	024	0100	23.0	0.699	4.2
03	00.100	039	0100	38.0	1.000	4.8
04	01.000	100	0100	99.0	2.000	7.1

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 1 %

DL 50 = .119 MG L

DL 90 = .445 MG L

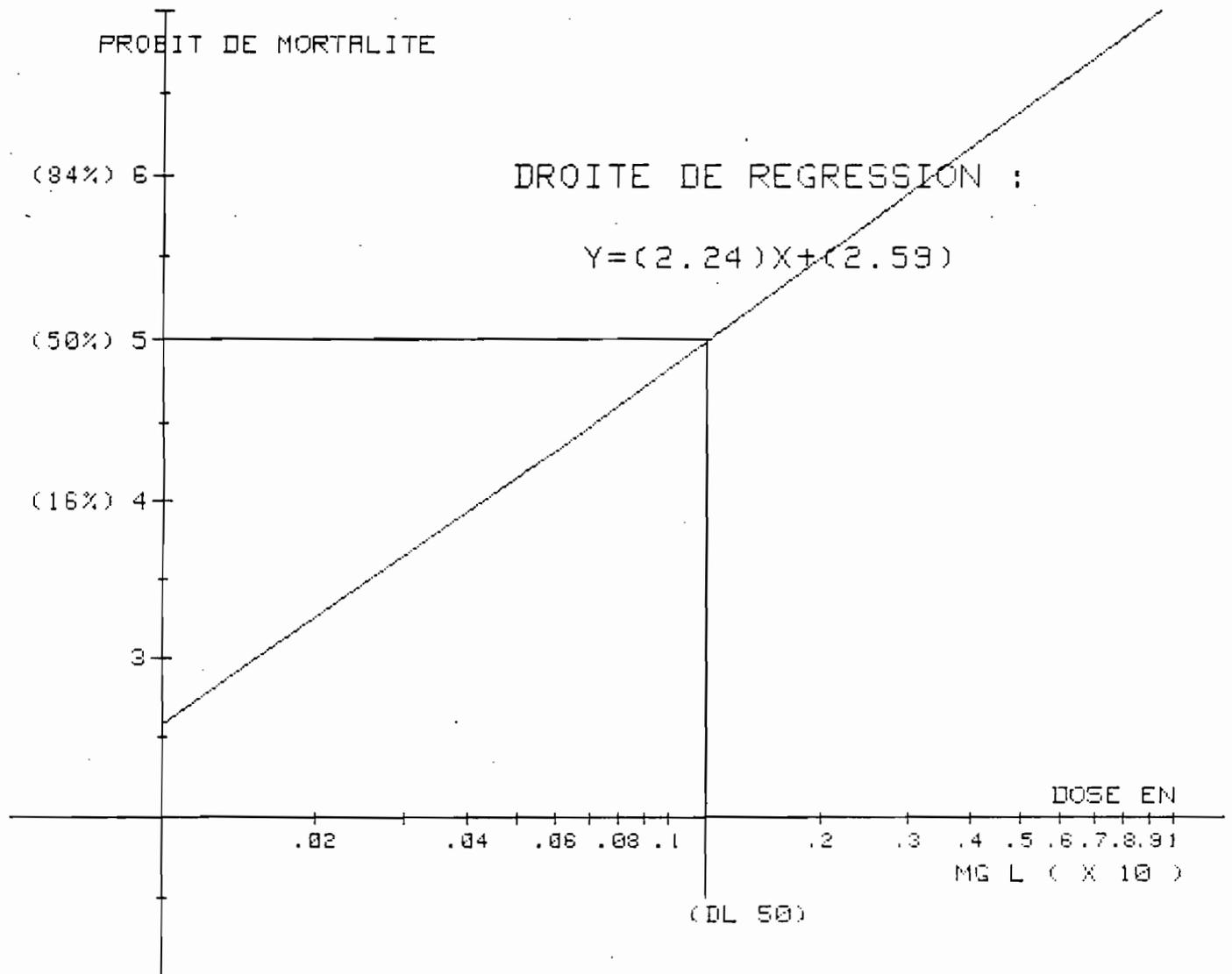
LE Xdeux DU TEMOIN POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 5.991

VOTRE Xdeux EST DE 2.263

IL N'EST DONC PAS SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .098 , .145

SOIT UNE IMPRECISION DE 18 %



Parmi les différentes préparations, celle qui présente la plus grande activité est la préparation R 2103 C HD 919 qui possède un titre de 4285 UI/mg.

Cette différence de potentiel d'activité est peut-être attribuable aux différents milieux de culture dans lesquels ont été élevés les *B. thuringiensis* var. *israelensis*.

Ces différents produits dont nous avons déterminé l'activité, faute d'autre méthode disponible physique ou chimique, proviennent de différentes souches de *B. thuringiensis* var. *israelensis* ou de souches élevées dans des milieux de culture différents.

Note : Nous avons modifié quelques données des tableaux d'analyse probit, soit en multipliant ou divisant les concentrations du *B. thuringiensis* var. *israelensis* par 10 ou 100, soit en les enlevant. Telles modifications ont été nécessaires pour estimer les  $DL_{50}$  et tracer les droites ou régressions à l'ordinateur.

## CONCLUSION

Les études réalisées dans ce mémoire ont permis de redémontrer l'efficacité contre *Aedes aegypti* du *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* utilisé en tant que larvicide biologique.

Toutefois, toutes les formulations de ce pesticide ne possèdent pas la même toxicité vis-à-vis des larves St<sub>4</sub> de ce Moustique. Ainsi, le produit standard IPS<sub>82</sub> possède une toxicité plus grande que les préparations américaines de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Cette différence de toxicité est sans doute due au mode d'obtention de ces formulations et plus particulièrement aux milieux de culture sur lesquels sont reproduits les Bacilles.

Outre la moindre toxicité des formulations américaines, l'analyse des résultats des tests insecticides a également mis en évidence durant les expériences, la disparition d'une certaine quantité de larves. Celle-ci est sans doute attribuable à des phénomènes de cannibalisme ou de nécrophagie ; les larves saines mangeant les larves moribondes ou mortes après un contact de 24 heures ou de 48 heures avec l'insecticide.

Nécrophagie et cannibalisme après application du *Bacillus thuringiensis* existent-ils dans la nature et dans l'affirmative, ont-ils lieu aussi fréquemment qu'en laboratoire ? Ce n'est pas certain ! Il faut en effet garder à l'esprit que les conditions des tests effectués en laboratoire diffèrent notablement de celles des tests effectués sur le terrain. Les 150 ml de solution contenus dans le gobelet d'expérimentation constituent un milieu confiné dans lequel la promiscuité des larves est grande, favorisant le contact entre les larves saines, affamées et les moribondes ou mortes.

Une approche méthodologique qui permettrait de répondre à cette interrogation, consisterait à additionner de la nourriture à la solution contenant le *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* ; les larves seraient alors nourries et il se pourrait que dans ces conditions, le cannibalisme soit moindre, voire inexistant.

Le cannibalisme ou la nécrophagie pourraient également avoir pour conséquence une mortalité accrue des larves, s'il y avait potentialisation du pouvoir toxique des cristaux par transfert de toxine des larves proies aux larves prédatrices. Des recherches portant sur le temps de dégradation de la toxine seraient à développer.

Enfin, il est probable que si nos résultats ne s'ajustent pas selon le modèle Gausso-logarithmique, c'est à cause du cannibalisme et/ou de la nécrophagie.

## BIBLIOGRAPHIE

- ANGUS (T.A.), 1954 : A bacterial toxin paralyzing silk worm larval. Nature, 173 : 54-56
- DE BARJAC (H.) et BONNEFOI (A.), 1962 : Essai de classification biochimique et sérologique de 24 souches de *Bacillus* du type *B. thuringiensis*. Entomophaga , t. 7, 1 : 5-31
- DE BARJAC (H.) et DEDONDER (R.), 1965 : Isolement d'un nucléotide identifiable à la "toxine thermostable" de *Bacillus thuringiensis* var. *Berliner*. C.R. Acad. Sci., Paris, 260, 13 : 7050-7053
- DE BARJAC (H.) et BONNEFOI (A.), 1967 : Classification des souches du *Bacillus thuringiensis*. C.R. Acad. Sc. Paris, t. 264 'D, : 1811-1813
- DE BARJAC (H.) and BONNEFOI (A.), 1968 : A classification of Strains of *Bacillus thuringiensis* Berliner with a key to their differentiation. J. Invertebr. Pathol., 11 : 335-347
- DE BARJAC (H.), 1968 : Les toxines de *Bacillus thuringiensis*. Revue Pathol. comparée, 5, 2. 795 : 89-94
- DE BARJAC (H.) et DEDONDER (R.), 1968 : Purification de la toxine thermostable de *B. thuringiensis* var. *israelensis* et analyses complémentaires. Bull. Soc. Chimie Biol., 50, 4 : 941-944
- DE BARJAC (H.) et BONNEFOI (A.), 1973 : Mise au point sur la classification des *Bacillus thuringiensis*. Entomophaga, 18<sub>(I)</sub> : 5-17
- DE BARJAC (H.) et LECADET (M.M.), 1976 : Dosage biochimique de l'exotoxine thermostable de *B. thuringiensis* d'après l'inhibition d'ARN polymérase bactériennes. C.R. Acad. Sci., 282 D : 2119-2122
- DE BARJAC (H.), COSMAO-DUMANOIR (V.), SHAIK (R.) et VIVIANI (G.), 1977 : *Bacillus thuringiensis* var. *pakistanii* : nouvelle sous-espèce correspondant au sérotype 13. C.R. Acad. Sc. Paris, 284 : 2051-2053
- DE BARJAC (H.), 1978 a : Une nouvelle variété de *Bacillus thuringiensis* très toxique pour les moustiques : *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sérotype 14. C.R. Acad. Sc. Paris, t. 286 D : 797-800
- DE BARJAC (H.), 1978 b : Toxicité de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* pour les larves d'*Aedes aegypti* et d'*Anopheles stephensi* C.R. Acad. Sc. Paris, t. 286 D : 1175-1178
- DE BARJAC (H.), 1978 c : Étude cytologique de l'action de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sur larves de Moustiques. C.R. Acad. Sc, Paris, t. 286 D : 1629-1632
- DE BARJAC (H.), 1978 d : Un nouveau candidat à la lutte biologique contre les moustiques : *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* Entomophaga, 23 : 309-319

- DE BARJAC (H.), 1979 : Note sur la préparation d'une formulation de référence, IPS<sub>78</sub>, pour le titrage biologique des formulations expérimentales et industrielles du sérotype H<sub>14</sub> de *Bacillus thuringiensis*. Doc. Miméogr., OMS, WHO/VBC/79,<sup>14</sup> Genève, 7 p
- DE BARJAC (H.) et COZ (J.), 1979 : Sensibilité comparée de six espèces différentes de Moustiques à *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Bull. OMS, 57 : 139-141
- DE BARJAC (H.) et LARGET (I.), 1979 b : Proposals for the adoption of a standardized bio-assay method for the evaluation of insecticidal formulation arrived from serotype H<sub>14</sub> of *Bacillus thuringiensis* Doc. Miméogr., OMS, WHO/VBC/79.744,<sup>14</sup> Genève
- DE BARJAC (H.), LARGET (I.), BENICHOU (L.), COSMAO DUMANOIR (V.), VIVIANI (G.), RIPOUTEAU (H.) et PAPION (S.), 1980 : Tests d'innocuité sur mammifères avec du sérotype H<sub>14</sub> de *Bacillus thuringiensis*. Doc. Miméogr., OMS, WHO/VBC/80.761,<sup>14</sup> Genève, 22p
- DE BARJAC (H.), MOULINIER (C.), COUPRIE (B.), GIAP (G.), BABIN (L.) et MAS (J.P.), 1980 b : Evaluation des gîtes naturels de l'activité larvicide du sérotype H<sub>14</sub> de *Bacillus thuringiensis* sur Culicides Bull. Soc. Pathol. Exot.<sup>14</sup> in : Larget (I.) et de Barjac (H.), 1970
- BERLINER (E.), 1911 : Ueber die schlafsucht der Mehlmotter-raupe 2 Ges. Getreidew., 3, 6370.
- BRIGGS (J.D.), 1960 : Réduction of adult house fly emergence by the effect of *Bacillus* sp. p. on the development of immature forms J. Insect. Pathol., 2 : 418-432
- BURGERJON (A.), 1962 : Relation entre l'intoxication provoquée par *Bacillus thuringiensis* Berliner et la consommation chez *Pieris brassicae* L. Ann. Epiph., 13:: 59-72
- BURGERJON (A.) et DE BARJAC (H.), 1964 : Étude de la toxine soluble thermostable chez différentes souches de *Bacillus thuringiensis* Colloq. interm. Pathol. Insectes, Paris, 1962. Entomophaga mem. 2 : 221-226
- BURGERJON (A.) et BIACHE (A.), 1967 : Contribution à l'étude du spectre d'activité de différentes souches de *Bacillus thuringiensis*, Entomol. Exp. Appl., 10 : 211-230
- BURGERJON (A.) et DULMAGE (H.), 1977 : Industrial and International standardization of microbial pesticides. I. *Bacillus thuringiensis*. Entomophaga, 22 : 121-129
- BURGES (H.D.), HILLYER (S.) et CHANTER (D.O.), 1974 : Effect of ultraviolet and Gamma Rays on the activity of  $\gamma$ -Endotoxin Protein crystals of *Bacillus thuringiensis*. J. Invertebr. Pathol. 25 : 5-9

- CHARLES (J.F.), et DE BARJAC (H.), 1982 c : Sporulation et cristallo-  
génèse de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en microscopie  
électronique. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 133 A : 425-442
- DEJOUX, (C.), 1979 : Recherches préliminaires concernant l'action de  
*Bacillus thuringiensis israelensis* de BARJAC sur la faune  
d'invertébrés d'un cours d'eau tropical. Doc. Miméogr. OMS,  
WHO/VBC/79.721, Genève
- DULMAGE (H.T.), CORREA (J.A.) et MARTINEZ (A.J.), 1970 : Coprécipita-  
tion with lactose as a mean of recovering the spore-crystal  
complex of *Bacillus thuringiensis*. I. Inver. Pathol., 15 : 15-20
- DULMAGE (H.T.), 1970 b : Production of the spore  $\delta$ -Endotoxin Complex  
by variants of *Bacillus thuringiensis* in two fermentation media  
J. Invertebr. Pathol. 16 : 385-389
- FAST (P.) and DONAGHUE (F.P.), 1971 : The  $\delta$  - endotoxin of *Bacillus*  
*thuringiensis* . II. on the mode of action. J. Invertebr. Pathol.  
18 : 135-138
- FAUST (R.M.), 1974 : Preliminary investigations of the molecular mode  
of action of the  $\delta$  - endotoxin produced by *Bacillus thurin-*  
*giensis* var. *alesti* . J. Invertebr. Pathol. 23 : 259-261
- FAUST (R.M.), HALLAM (G.M.) and TRAVERS (R.S.), 1974 : Degradation of  
the parasporal crystal produced by *Bacillus thuringiensis* var.  
*kurstaki* . J. Invertebr. Pathol. 24 : 365-373
- GOLBERG (L.J.) et MARGALIT (J.), 1977 : Bacterial spore demonstrating  
rapid laticidal activity against *Anopheles sergenti*, *Uranotaenia*  
*unguiculata*, *Culex univittatus* , *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*  
Mosquito News, 37 : 355-358
- GRISON (P.), MARTOURET (D.) et SERVALS (B.), 1965 : Lutte microbiolo-  
gique avec *Bacillus thuringiensis* Berliner contre la processionnaire  
du pin (*thaumetopoea pityocampa-schiff*) et modalités de la dis-  
tribution des germes. C.R. Acad. Agric. France., 117-123
- GUILLET (P.), et DE BARJAC (H.), 1979 : Toxicité de *Bacillus thurin-*  
*giensis* var. *israelensis* pour les larves de Simulies vectrices  
de l'onchocercose. C.R. Acad. Sci., Paris, 289 D : 549-552
- HALL (I.M.), ARAKAWA (K.Y.), DULMAGE (H.T.) et CORREA (J.), 1959 :  
The pathogenicity of strains of *Bacillus thuringiensis* to  
larval of *Aedes* and *Culex* mosquitos. Mosq. News 37, 246-251
- HANNAY (C.L.), 1953 : Crystalline inclusions in aerobic spore forming  
bacteria. Nature, 172, 1004
- HANNAY (C.L.) et FITZ-JAMES (P.C.), 1955 : The protein crystals of  
*Bacillus thuringiensis* Berliner . Can. J. Microb. 1: 694-710
- HEIMPEL (A.M.) et ANGUS (T.A.), 1958 : The protein-crystals of  
*Bacillus thuringiensis* Berliner . Canad. J. Microbiol. 1 : 694-  
710.

- HEIMPEL (A.M.), 1967 : A critical review of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner and other crystalliferous bacteria. Ann. Rev. Ent. 12 : 287-322
- HOLMES (K.C.) and MORNO (R.A.), 1965 : Studies on the structure of parasporal inclusions from *Bacillus thuringiensis*. J. Mol. Biol. 14, 572
- HURPIN (B.), 1974 : L'utilisation de micro organismes entomo-pathogènes dans la lutte contre les ravageurs agricoles et forestiers. Phytoma, 13-19
- IGNOFFO (C.M.), GARCIA (C.), KROHA (M.) and COUCH (T.L.), 1982 : High temperature sensivity of formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Environ. Entomol. 11 : 409-411
- ISHIWATA (S.), 1905 : Sur le Bacille appelé "sotto". Bull. Assoc. Sérinic. Japan. In : ANGUS (T.A.), 1956 : Can. J. Microb. 2 : 111-121
- KRIEG (A.), 1961 : *Bacillus thuringiensis* Berliner. Monograph. n° 103 Paul Parcy, Berlin et Hamburg 67 pp.
- KRIEG (A.), DE BARJAC (H.) et BONNEFOI (A.), 1968 : A new serotype of *Bacillus thuringiensis* isolated in Germany. *B. thuringiensis darmstadiensis*. J. Invertebr. Pathol. 10 : 428-430
- KRIEG (A.), 1969 : Transformations in the *Bacillus cercus*. *Bacillus thuringiensis* group description of a new subspecies : *Bacillus thuringiensis* var. *toumanoffi*. J. Invertebr. Pathol. 14 : 279-281
- KRIEG (A.), 1970 : In vitro determination of *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cercus* and related *Bacillus*. J. Invertebr. Pathol. 15 : 319-320
- KRYWIENCZYK (J.) et ANGUS (T.A.), 1960 : A serological comparaison of the parasporal bodies of three insect pathogens. J. Invertebr. Pathol. 2 : 411-417
- LARGET (I.) et DE BARJAC (H.), 1981 : Spécificité et Principe actif de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Bull. Soc. Pathol. Exot : 74, 2 : 216-227
- LECADET (M.M.), 1965 a : La toxine figurée du *Bacillus thuringiensis* Technique de séparation et composition en acides aminés. C.R. Acad. Sc., Paris, 261, 5693-5696
- LECADET (M.M.), 1965 b : Isolement et caractérisation de deux protéases des chenilles de *Pieris brassicae* L. et l'étude de leur action sur l'inclusion parasporale de *Bacillus thuringiensis*. Thèse de Doctorat d'Etat. Paris p. 18-19
- LECADET (M.M.) et MARTOURET (D.), 1967 : Hydrolise enzymatique de l'inclusion parasporale de *B. thuringiensis* par les protéases de *Bombyx mori*. C.R. Acad. Sc., Paris, 265, 1543
- LECADET (M.M.) et DEDONDER (R.), 1971 : Biogenesis of the crystalline inclusion of *Bacillus thuringiensis* during sporulation. Eur. J. Biochim. 23 : 282-294.

- MARTOURET (D.) et MILAIRE (H.), 1963 : Expérimentation de produits bactériens à base de *Bacillus thuringiensis* à l'échelon agricole. Phytiatrie, Phyto-pharmacie, 12 : 71-80
- MARTOURET (D.), 1967 : Etat de nos connaissances sur l'activité de toxines de *B. thuringiensis* sur les vertébrés. Phytiatrie, Phyto-pharmacie, 16, 235
- MATTES (O.), 1927 : Parasitaire krankheiten der Mehlmoten larven und Versuche ueber ihre Verwena barkeit als biologisches bekaempjungs mittel. Sitzungsben. Ges Befoerder. Ges Natur W Marburg, 62 : 381-417
- NORRIS (J.), 1964 : The classification of *Bacillus thuringiensis*. J. Appl. Bactériol. 27 : 439-447
- NORRIS (J.), 1970 : Spore formers as insecticides. J. Appl. Bacteriol. 33 : 192-200.
- NORRIS (J.), 1972 : The insect toxins from *Bacillus thuringiensis* Pestic. Chim. Proc. Int. Cong., 2 nd, 1 : 119-139. Ed. Tahore Alexander, S. Gordon et Breach, N.Y.
- O.M.S., 1970 : 17è rapport technique du Comité d'Experts Insecticides 443, 1-25. 306 p.
- PANBANGRED (W.), PANTUWATA (S.) et BHUMIRATANA (A.), 1979 : Toxicity of *Bacillus thuringiensis* toward *Aedes aegypti* larval. J. Invertebr. Pathol. 33 : 340-247.
- RAUN (S.), SUTTER (R.G.) et REVELO (M.A.), 1966 : Ecological Factors Appacting the Pathogenicity of *B. thuringiensis* var. *israelensis* to the European Corn Borer and Fall Army worm. J. Invertebr. Pathol. 8 : 365-375.
- ROGOFF (M.) and YOUSTEN (A.), 1969 : Microbial consideration of *Bacillus thuringiensis*. Ann. Rev. Microbiol., 23 : 357-383
- RIBIER (J.) et LECADET (M.M.), 1973 : Etude ultrastructural et cinétique de la sporulation de *Bacillus thuringiensis* var. *Berliner* 1715. Remarques sur la formation de l'inclusion parasporale. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 124 B : 311-344
- SINEGRE (G.), 1979 : Evaluation de l'activité larvicide de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sur les Culicides. Performances comparées des formulations commerciales. Impact du produit sur la faune cible. Doc. E.I.D., 40 Montpellier
- SINEGRE (G.), GAUEN (B.) and JULLIEN (J.L.), 1979 : Safety of *Bacillus thuringiensis* serotype H<sub>14</sub> for non-target organisms in mosquitos freeing sites of the french mediterranean coast. WHO/VBC/79-742 5 p.
- SOMERVILLE (H.J.) et POCKETT (H.), 1975 : An insect toxin from spores of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cercus*. J. Gen. Mic. 87 : 359-369.

- SVECOVA (O.J.), 1959 : The biological character of some entomopathogenic bacteria and their practical use. Trans. 1st Conf. Insect Pathol. and Biol. Control, Prague, 1958 : 105-107
- TYRELL (D.J.), DAVIDSON (L.I.), BULLA (A.), RAMOSKA (W.A.), 1979 : Toxicity of parasporal crystals of *Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis* to Mosquitos. Appl. Environn. Microb., 38, 4 : 656-658
- UNDEEN (A.A.), NAGEL (W.L.), 1978 : The effect of *Bacillus thuringiensis* ONR-60A strain (Goldberg) on Simulim larval in the laboratory Mosquito News, 38, 4 : 524-527
- WEISER (J.) and VANKOVA (J.), 1978 : Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for blackflies and other fresh-water invertebrates Proc. Int. Coll. Invertebr. Pathol. Prague, 243-244