



ESSAIS DE *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSENSIS*
SUR LES MOUSTIQUES

par

DENPAH J.* et COZ J.**

Les résultats rapportés dans cette étude font partie d'un travail qui se poursuit ; elle doit, à terme, déboucher pour le premier auteur sur un Diplôme d'Etudes Approfondies en Entomologie médicale et dans un deuxième temps sur une thèse de 3ème cycle.

I. MATERIEL - METHODES

Deux poudres de *Bacillus thuringiensis israelensis* (B.T.I.) ont été testées :

- La première provenant de l'Institut Pasteur de Paris (service de Melle H. de BARJAC), nommée I P S 78, a été désignée arbitrairement comme standard ; elle contient par définition 1000 Unités Internationales au milligramme.

- La seconde est préparée par les laboratoires Roger Bellon-Biolchem, c'est la poudre 153-78 ; elle nous a été remise par les soins de l'Organisation Mondiale de la Santé (V.B.C.), Genève. D'après ses auteurs cette poudre titrerait 3500 Unités Internationales.

Les deux poudres ont été mises en suspension dans de l'eau permutée à pH : 4,8 (Résistivité 125.610 ohms/cm) à raison de 4% ; ceci représente la suspension-mère qui après agitation subit des dilutions successives. Sur les différents tableaux, la dilution 10^{-5} correspond à 0.4 mg/litre ;
 10^{-6} correspond à 0.04 mg/litre ;
 10^{-7} correspond à 0.004 mg/litre.

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° : 280 ex 1
Cote : B

* Pharmacien - Stagiaire O.R.S.T.O.M. - S.S.C. - BONDY

Date 17 MARS 1981
4 JUL. 1979

** Pharmacien, Docteur es Sciences, Chef du Laboratoire de Recherches en Entomologie médicale - S.S.C. - O.R.S.T.O.M. - BONDY

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

Collection de Référence

N° 9758 Ent. Res.

II - MOUSTIQUES

Des souches d'*Aedes aegypti* d'origine différente (Polynésie, Tanzanie, Sénégal, Singapour, E.C.A., Nouvelle-Calédonie, Guadeloupe, Cameroun, Nigéria, etc ...) ont été testées au B.T.I.

III - METHODES

- 1) Dans des gobelets jetables de plastique, des lots de 25 larves au stade IV, sauf exception indiquée plus loin, sont soumis aux différentes dilutions de B.T.I. ; la mortalité est relevée au bout de 24 heures ;
- 2) Tout d'abord l'activité du produit standard a été étudiée sur différentes souches :
 - Une étude comparée de l'activité du Standard et du produit "R. Bellon" a été menée sur quatre souches ;
 - L'activité du B.T.I. 153-78 a été étudiée dans des eaux d'origine et de pH différents ;
 - Enfin dans une mare artificielle nous avons d'une part étudié la rémanence du B.T.I. et son activité sur la faune non cible.

RESULTATS

- 1 - Sensibilité comparée de onze souches d'*Aedes aegypti* au B.T.I. IPS 78 (tableaux I, II, III).

Sur papier gaussio-logarithmique, les mortalités obtenues avec des doses croissantes de B.T.I. s'alignent suivant des droites ; les DL₅₀ obtenues sont comprises entre les dilutions $0,125.10^{-5}$, c'est à dire 0,05 mg/litre, et $0,33.10^{-5}$, 0,133 mg/litre. Les DL₅₀, avec le même produit standard, pour onze souches différentes d'*Aedes aegypti* sont donc un rapport de 1 à 2,6 ; c'est dire toutes les précautions qu'il convient de prendre lorsque par une méthode biologique on compare un produit quelconque à un Standard. Il ne suffit donc pas de définir une poudre standard mais également une souche d'*Aedes aegypti* de référence, des conditions d'élevage et d'expérimentations standardisées.

2 - Etude comparative de l'I P S 78 et de la Poudre R. Bellon 153-78 - IRS 78 des tableaux IV, V, VI, VII.

Les résultats comparatifs obtenus avec quatre souches d'*Aedes aegypti* différentes sur le produit standard I P S 78 1000 u i /mg et le produit 152/78 indiquent comme valeur pour ce dernier :

- 1400 u i
- 1500 u i
- 1500 u i
- 2500 u i

Valeurs sensiblement différentes des 3500 u i théoriques du produit.

3 - Influence du stade larvaire sur l'activité du produit (R. 153-78)

Les larves aux stades III et IV présentent le même spectre de sensibilité au B.T.I. ; les larves au stade II par contre sont beaucoup plus sensibles (tableau VIII)

4 - Activité rémanente du B.T.I. (R. Bellon) dans des eaux différentes.

- Trois types d'eau - eau permutée pH 4,8
- eau de mare ensoleillée pH 8,4
 - eau de mare ombragée pH 7,6

ont été testées au laboratoire. Ils ont servi à la préparation de solutions à 0,4 mg/litre de B.T.I. ; des lots d'*Aedes aegypti* ont été placés pour 24 heures dans ces différentes solutions ; la mortalité est notée le 1er jour et les jours suivants (tableau IX).

Dans la gamme de pH utilisée il n'apparaît pas que le pH joue un rôle ; le pH où l'activité est la moins importante étant celui qui est le plus prêt de la neutralité. Au laboratoire le B.T.I. n'a plus aucune activité dans les trois types d'eau quinze jours après la mise en suspension.

5 - Traitement d'une petite mare (volume 4,5 m³ , profondeur 60-80 cm), la mare a été traitée à raison de 0,4 mg/litre de B.T.I. (R. Bellon) après inventaire de la faune aquatique.

A) Inventaire avant traitement - le 18-04-1979

- Crustacés - Daphnies ++
Cyclops +++
- Chaoborinae (larves et nymphes) +
- Chironomidae (larves) +
- Nautonectes

B) Traitement au B.T.I. - le 25.04.1979 -

Inventaire quelques minutes après le traitement

- Crustacés - Daphnies ++++
- Nautonectes
- Ephémères (larves)
- Chaoborinae (larves et nymphes)

On note l'absence de Cyclops, mais ceci n'est pas du directement à l'emploi du B.T.I. ; les Cyclops survivent au laboratoire à des doses de 400 mg/litre (expérience personnelle).

C) Inventaire le 26.04.1979 (24 heures après le traitement)

- Crustacés (Daphnies) ++++
- Nautonectes ++
- Dyptiques
- Chaoborinae
- Hydrocariens

D) Parallèlement des lots d'*Aedes aegypti* sont placés dans de l'eau venant de la mare traitée (tableau X) ; 48 heures après le traitement il n'y a plus d'activité du B.T.I.

DISCUSSION

La première observation que nous ferons à trait à la sensibilité différente des diverses souches d'*Aedes aegypti* au même produit standard ; ceci nous amène à demander que soit précisée la souche d' *Ae. aegypti* qui servira de référence ;

elle pourrait éventuellement venir des U.S. car si le trajet U.S. - autres pays est possible pour *Ae. aegypti* vivant il n'en est pas de même dans l'autre sens.

Le problème du stade de la larve d'*Ae. aegypti* doit également être abordé ; le stade II jusqu'ici retenu par les bactériologistes est certainement celui qui présente le plus d'inconvénients : larves difficiles à voir, stade très court, sensibilité plus grande que les stades suivants, difficultés de comparaisons avec les résultats acquis sur les insecticides chimiques, etc...

La différence d'activité rémanente dans l'eau des mares, gardée au laboratoire, après traitement, et dans l'eau de la mare elle-même peut à notre avis être reliée pour une bonne part aux phénomènes de sédimentation.

Les recherches vont maintenant s'orienter dans le cadre de la standardisation sur l'effet de la température, sur l'activité du B.T.I. Les études portent également sur d'autres espèces d'insectes.

I - Action de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* IPS78
sur diverses souches d'*Aedes aegypti*

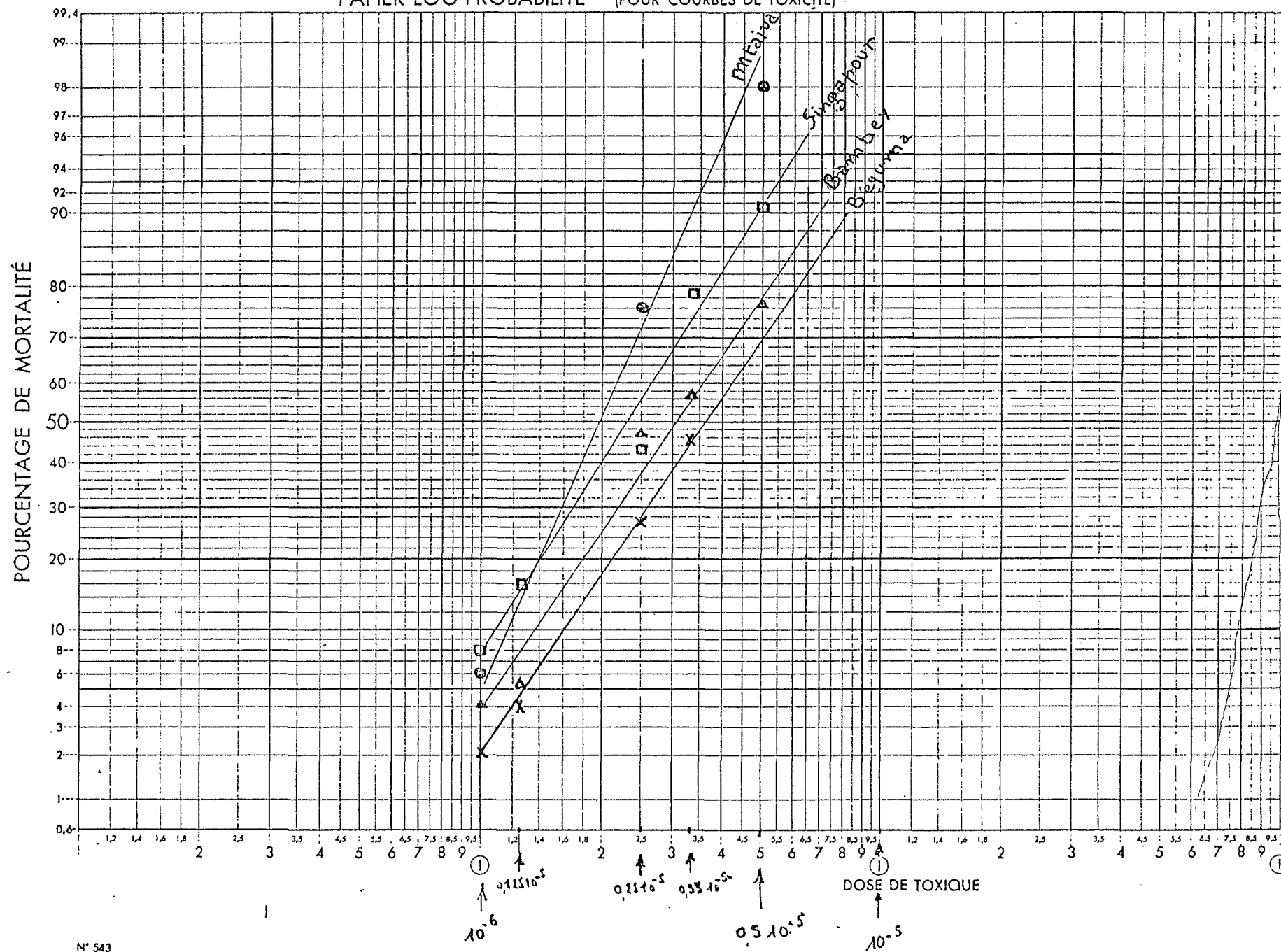
Souche dilution	MTAIVA TUAMOTUS			BEJUMA TANZANIE			BAMBEY SENEGAL			SINGAPOUR		
	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
10^{-5}	50	50	100									
$0,5.10^{-5}$	50	49	98				77	59	76.6	97	88	90.7
$0,33.10^{-5}$				53	24	45.3	75	43	57.3	99	78	78.8
$0,25.10^{-5}$	50	38	76	53	14	26.4	75	37	49.3	100	43	43
$0,125.10^{-5}$				48	2	4.2	75	4	5.3	100	18	18
10^{-6}	50	3	6	46	1	2.2	75	3	4	100	8	8
Témoin	25	0	0	25	0	0	50	0	0	50	0	0

T = nombre total de larves expérimentées pour chaque dilution.

M = mortalité observée

%M = pourcentage de mortalité

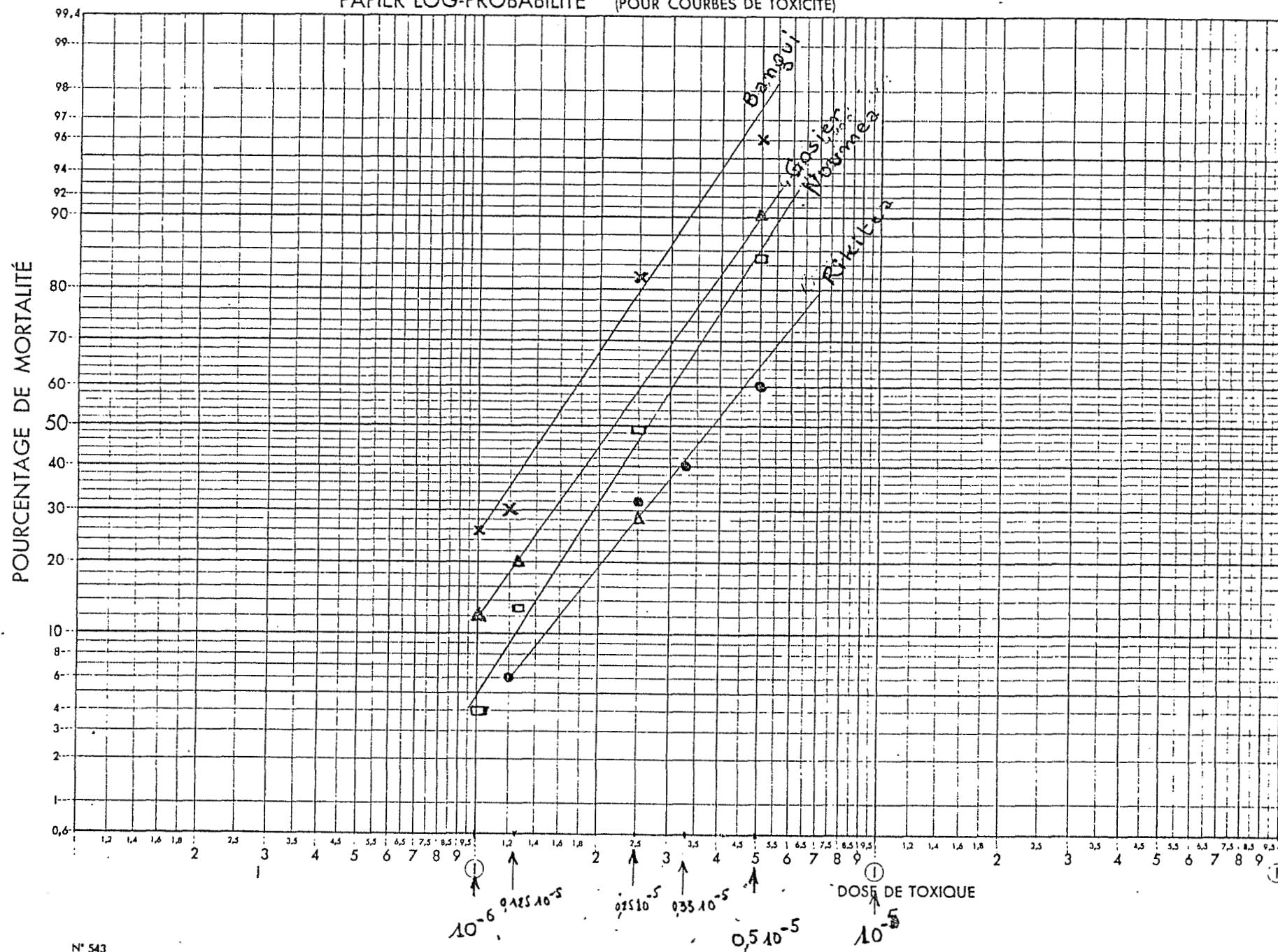
PAPIER LOG-PROBABILITÉ (POUR COURBES DE TOXICITÉ)



II - Action du *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* IPS78
sur diverses souches d'*Aedes aegypti*

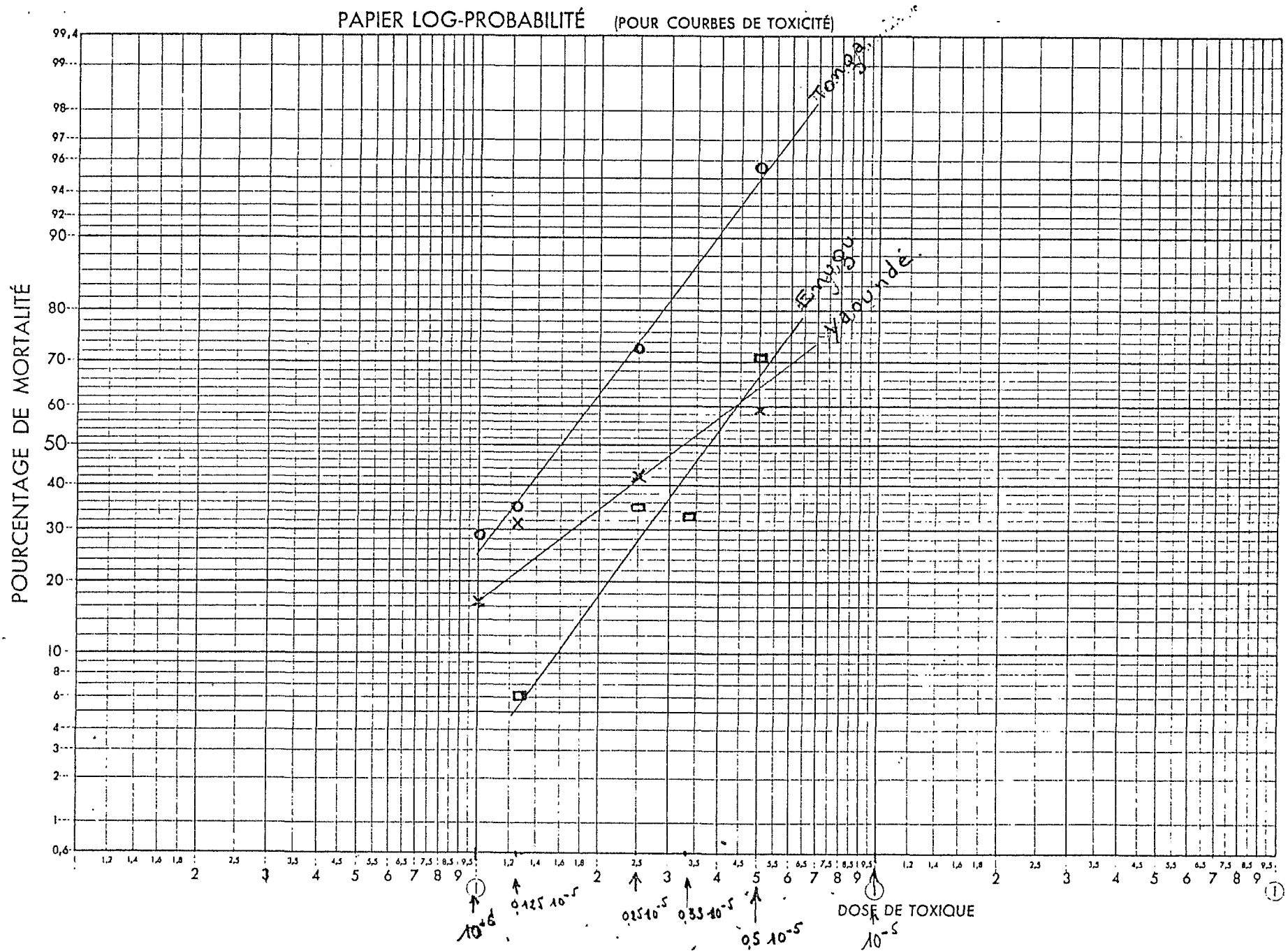
Souche Dilution	RIKITEA			BANGUI (E.C.A.)			NOUMEA - NOUVELLE CALEDONIE			GOSIER GUADELOUPE		
	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
10^{-5}				50	50	100						
$0,5.10^{-5}$	25	15	60	50	48	96	47	40	85,1	50	45	90
$0,33.10^{-5}$	50	20	40									
$0,25.10^{-5}$	50	16	32	50	41	82	49	24	49	50	14	28
$0,125.10^{-5}$	50	3	6	50	15	30	46	6	13	49	10	20,4
10^{-6}				50	13	26	50	2	4	25	3	12
Témoin	24	0	0	25	0	0	50	0	0	25	0	0

PAPIER LOG-PROBABILITÉ (POUR COURBES DE TOXICITÉ)



III - Action du *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* IPS78
sur diverses souches d'*Aedes aegypti*

Souche Dilution	YAOUNDE CAMEROUN			TONGA PACIFIQUE			ENUGU NIGERIA		
	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
10^{-5}									
$0,5 \cdot 10^{-5}$	47	28	59,6	47	45	95,7	48	34	70,8
$0,33 \cdot 10^{-5}$							45	15	33,3
$0,25 \cdot 10^{-5}$	38	16	42,1	44	32	72,7	48	17	35,4
$0,125 \cdot 10^{-5}$	39	12	30,8	48	17	35,4	50	3	6
10^{-6}	43	7	16,3	48	14	29,2	50	0	0
Témoin	25	0	0	25	0	0	25	0	0



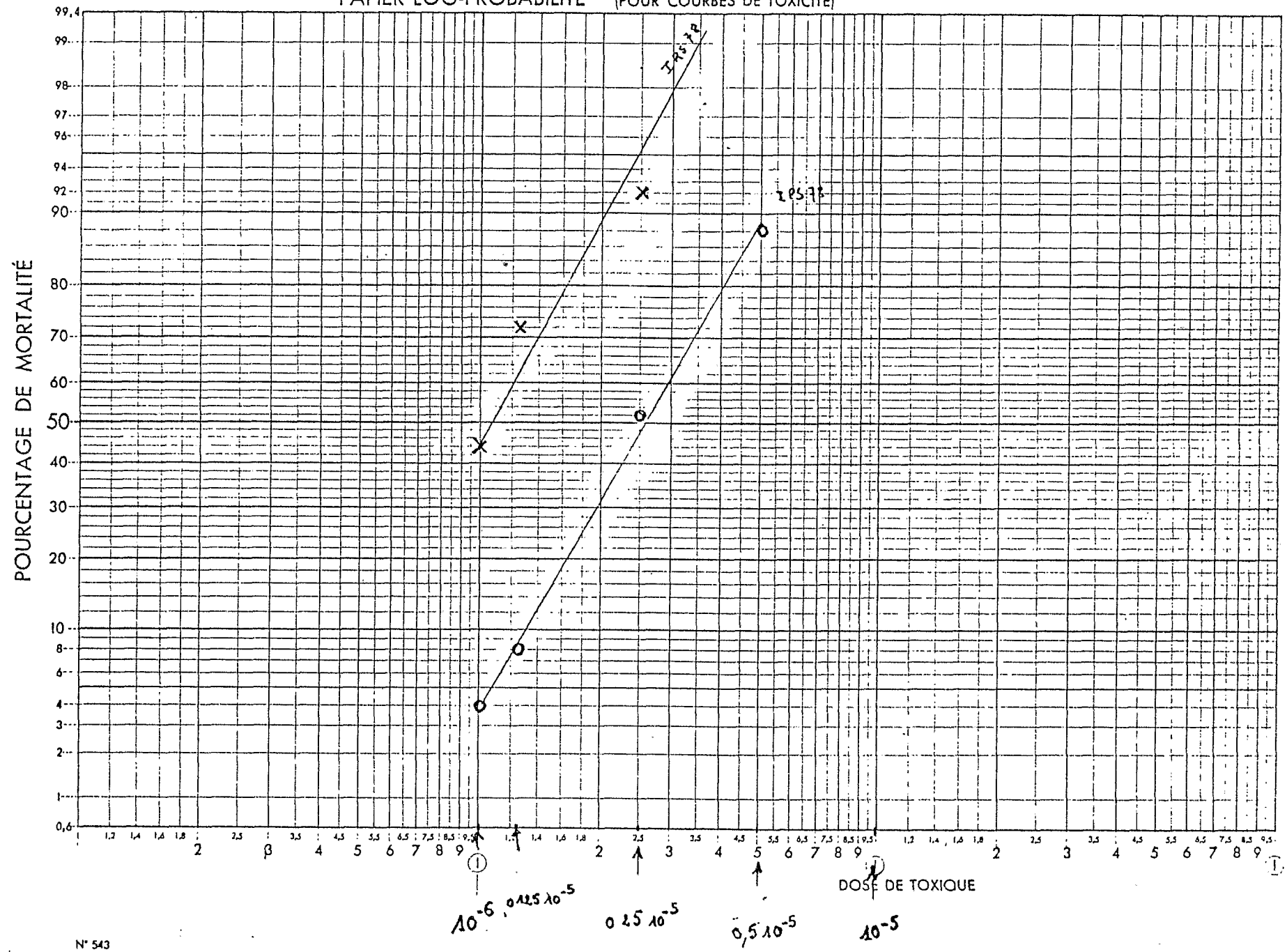
IV

Activité comparée de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* standard IPS78 et de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* IRS78 sur des larves de stade IV d'*Aedes aegypti* souche TEMATANGI (TUAMOTUS , POLYNESIE)

Dilution	IPS 78			IRS 78		
	T	M	%M	T	M	%M
$0,5.10^{-5}$	25	22	88	50	50	100
$0.25.10^{-5}$	50	26	52	25	23	92
$0.125.10^{-5}$	25	2	8	50	36	72
10^{-6}	25	1	4	25	11	44
Témoin	20	0	0	20	0	0

Lac de la ...
 Souche ketamangi, Tdamotus Polynesie

PAPIER LOG-PROBABILITY (POUR COURBES DE TOXICITÉ)

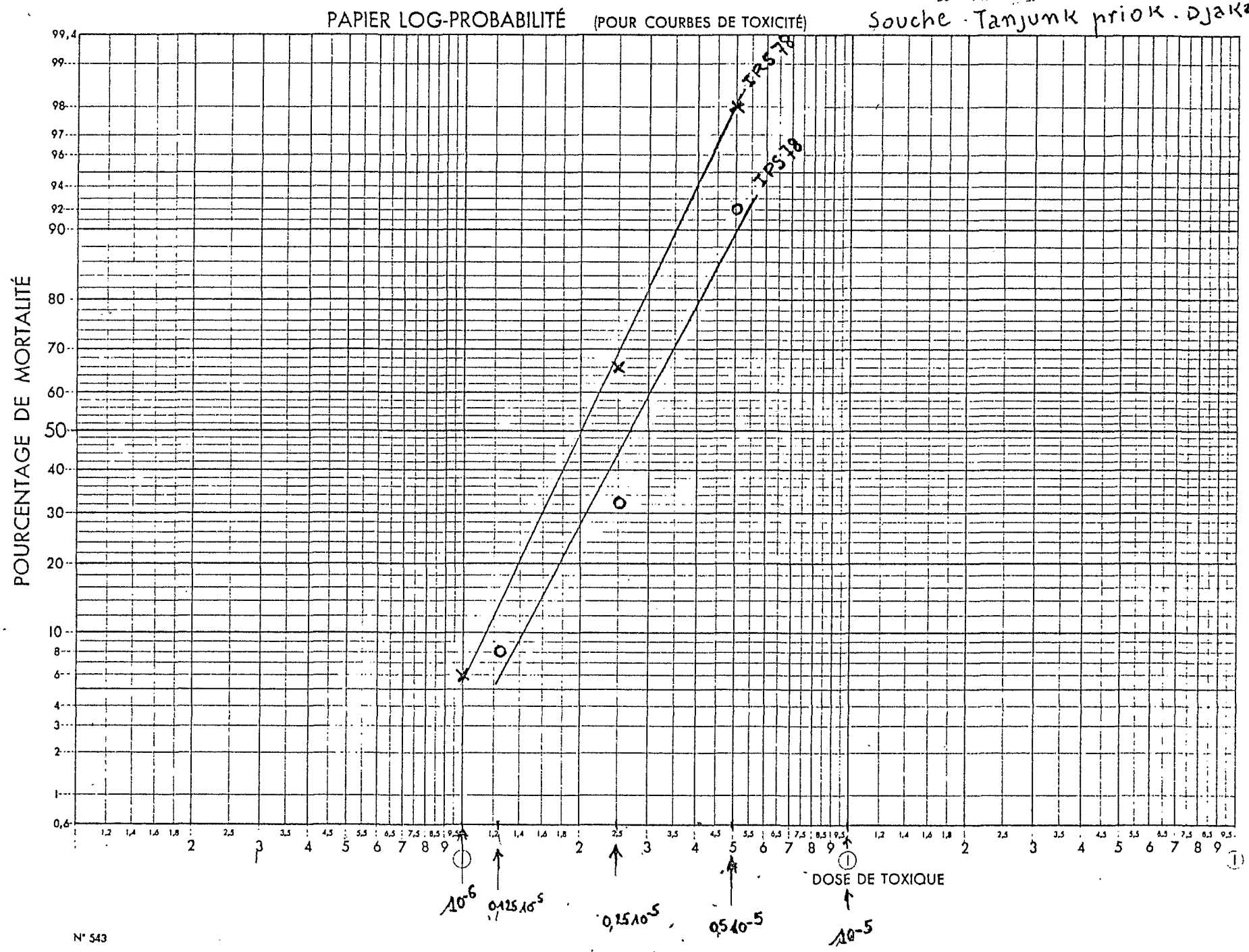


V

Activité comparée de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* standard IPS78 et de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* IRS78 sur des larves de stade IV d'*Aedes aegypti* souche TANJUNK PRIOK (DJAKARTA, INDONESIE)

Dilution	IPS 78			IRS 78		
	T	M	%M	T	M	%M
$0,5 \cdot 10^{-5}$	50	46	92	50	49	98
$0.25 \cdot 10^{-5}$	50	16	32	50	33	66
$0.125 \cdot 10^{-5}$	25	2	8	50	27	54
10^{-6}	25	0	0	50	3	6
$0,5 \cdot 10^{-6}$				50	3	6
Témoin	75	0	0	75	0	0

Souche Tanjong Priok
Talib...
Souche Tanjungk priok. Djakarta.



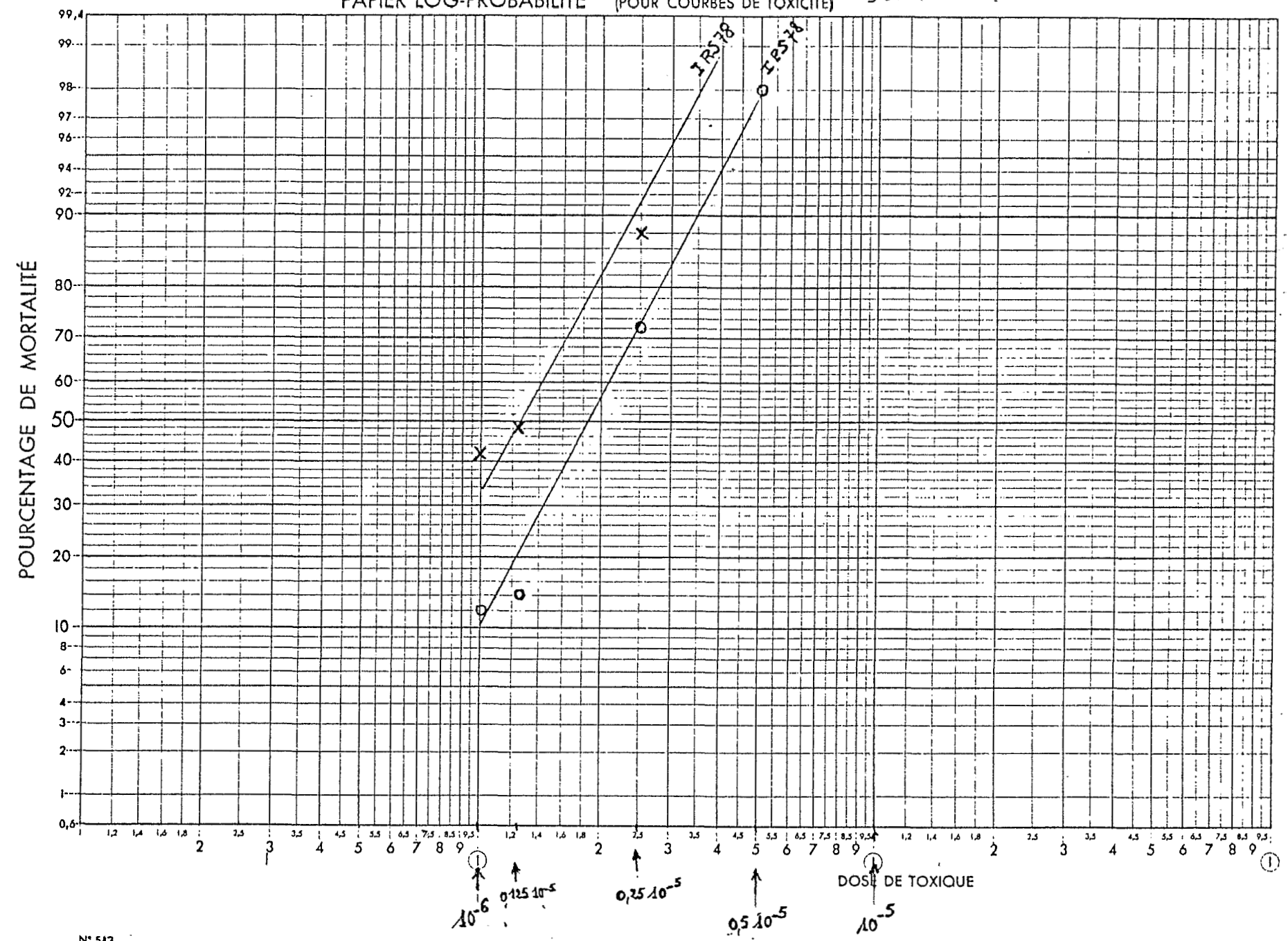
V!

Activité comparée de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* standard IPS78 et de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* IRS78 sur des larves de stade IV d'*Aedes aegypti* souche KOTA TINGGI (JOHORE, MALAISIE)

Dilution	IPS 78			IRS 78		
	T	M	%M	T	M	%M
$0,5 \cdot 10^{-5}$	50	49	98	50	50	100
$0,25 \cdot 10^{-5}$	50	36	72	25	22	88
$0,125 \cdot 10^{-5}$	50	7	14	50	24	48
10^{-6}	50	6	12	50	21	42
$0,5 \cdot 10^{-6}$				50	15	30
Témoin	50	0	0	50	0	0

PAPIER LOG-PROBABILITÉ (POUR COURBES DE TOXICITÉ)

souche Kofa tingei (sohore Malaisie)

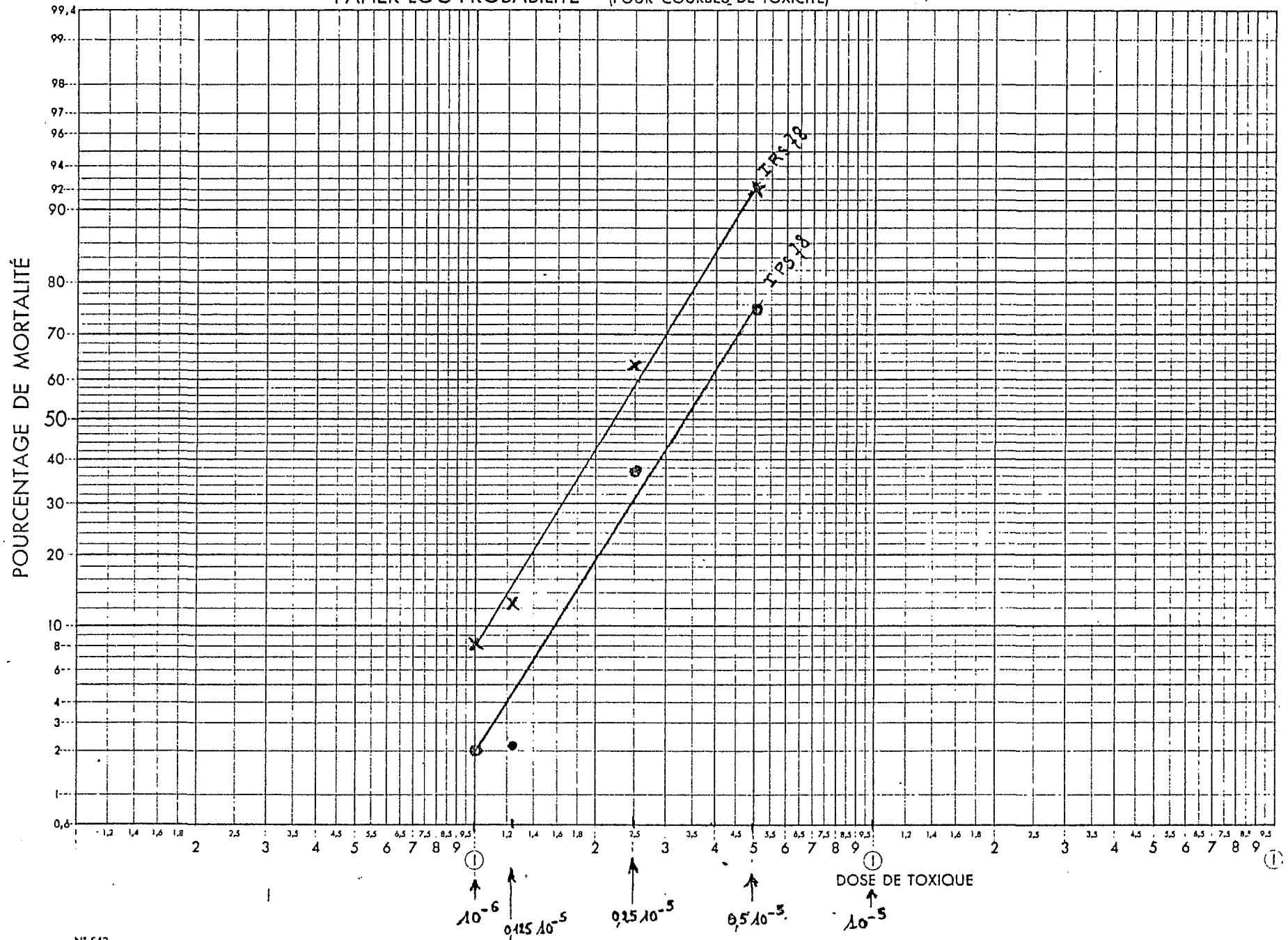


VII

Activité comparée de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* standard IPS78 et de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* IRS78 sur des larves de stade IV d'*Aedes aegypti* souche TIVAOUANE (SENEGAL)

Dilution	IPS 78			IRS 78		
	T	M	%M	T	M	%M
$0,5 \cdot 10^{-5}$	49	37	75,5	50	46	92
$0.25 \cdot 10^{-5}$	49	18	36,7	49	31	63,3
$0.125 \cdot 10^{-5}$	48	1	2,1	48	6	12,5
10^{-6}	49	1	2	49	4	8,2
Témoin	73	0	0	73	0	0

PAPIER LOG-PROBABILITÉ (POUR COURBES DE TOXICITÉ)



Action du *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* sur des larves de stade II , III et IV d'*Aedes aegypti*

(153-78)

souche PUKURUA (TUAMOTUS , POLYNESIE)

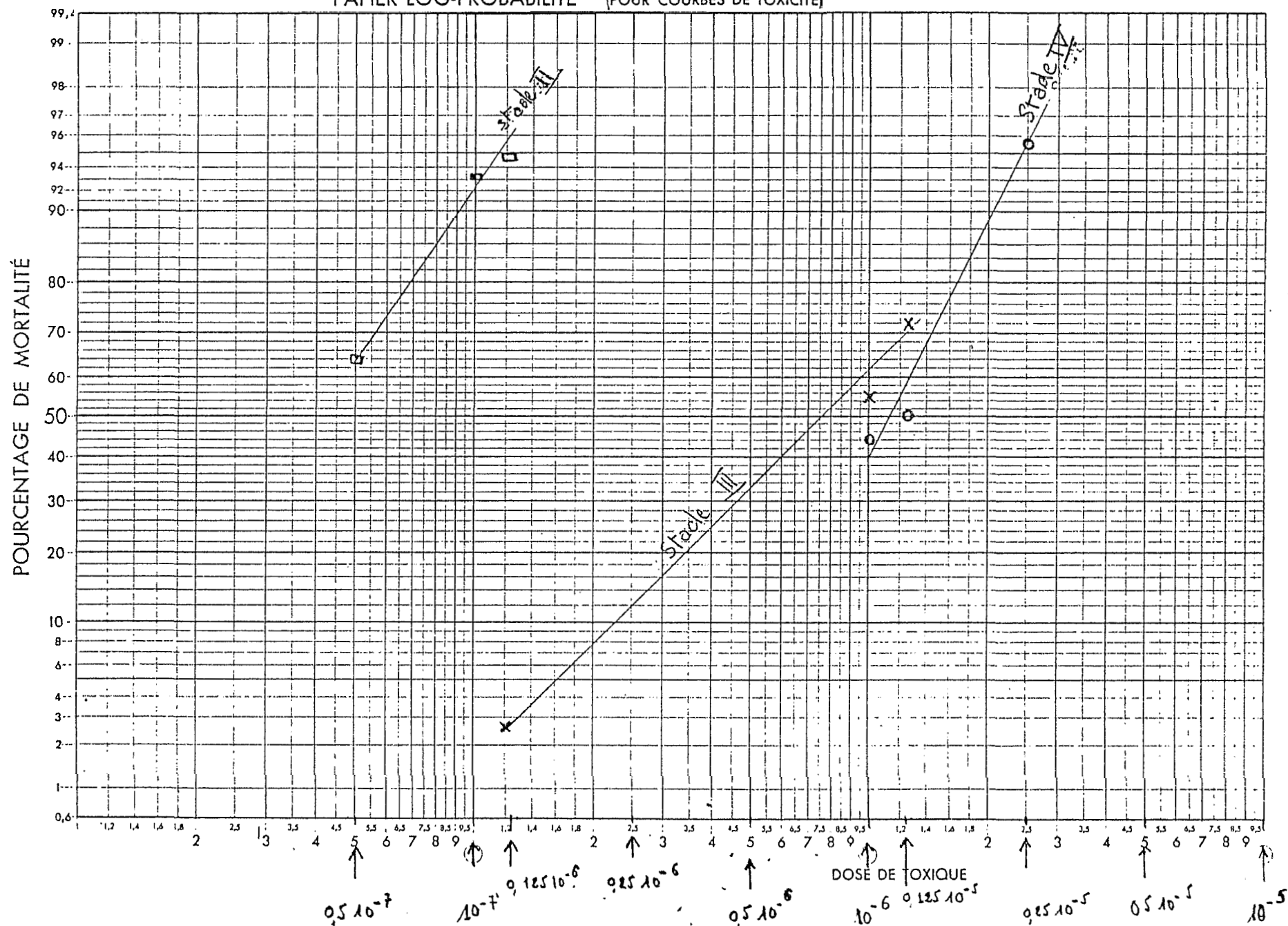
Mortalité obtenue après 24 heures

Dilution	Larves de stade II			Larves de stade III			Larves de stade IV		
	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
0,25.10 ⁻⁵							45	43	95,6
0,125.10 ⁻⁵				100	72	72	50	25	50
10 ⁻⁶				100	55	55	75	33	44
0,125.10 ⁻⁶	75	71	94,7	75	2	2,7			
10 ⁻⁷	75	70	93,3						
0,5.10 ⁻⁷	75	48	64						

Mortalité obtenue après 48 heures

Dilution	Larves du stade II			Larves de stade III			Larves de stade IV		
	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
0,25.10 ⁻⁵							45	43	95,6
0,125.10 ⁻⁵				100	72	72	50	28	56
10 ⁻⁶				100	55	55	75	47	62,7
0,125.10 ⁻⁶	75	75	100	75	2	2,7			
10 ⁻⁷	75	75	100						
0,5.10 ⁻⁷	75	67	89,3						

PAPIER LOG-PROBABILITÉ (POUR COURBES DE TOXICITÉ)



IX

Etude de la durée d'action d'une dilution 10^{-5} de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* sur des larves de stade IV d'*Aedes aegypti*, en fonction du liquide de dilution.

	Eau permutée pH 4,8			Eau d'une mare découverte pH 8,4			Eau d'une mare ombragée pH 7,6		
	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
1er jour	75	75	100	75	75	100	75	75	100
2e jour	75	74	98,7	75	75	100	75	73	97,3
3e jour	75	75	100	75	75	100	75	65	86,7
4e jour	75	68	90,7	75	68	90,7	75	47	62,7
8e jour	73	28	38,4	75	20	26,7	74	4	5,4
17e jour	50	14	28	50	2	4	50	1	2

T = nombre de larves expérimentées

M = nombre de larves mortes

%M = pourcentage de mortalité

au cours des expériences nous n'avons pas observé de mortalité dans les témoins.

PAPIER LOG-PROBABILITÉ (POUR COURBES DE TOXICITÉ)

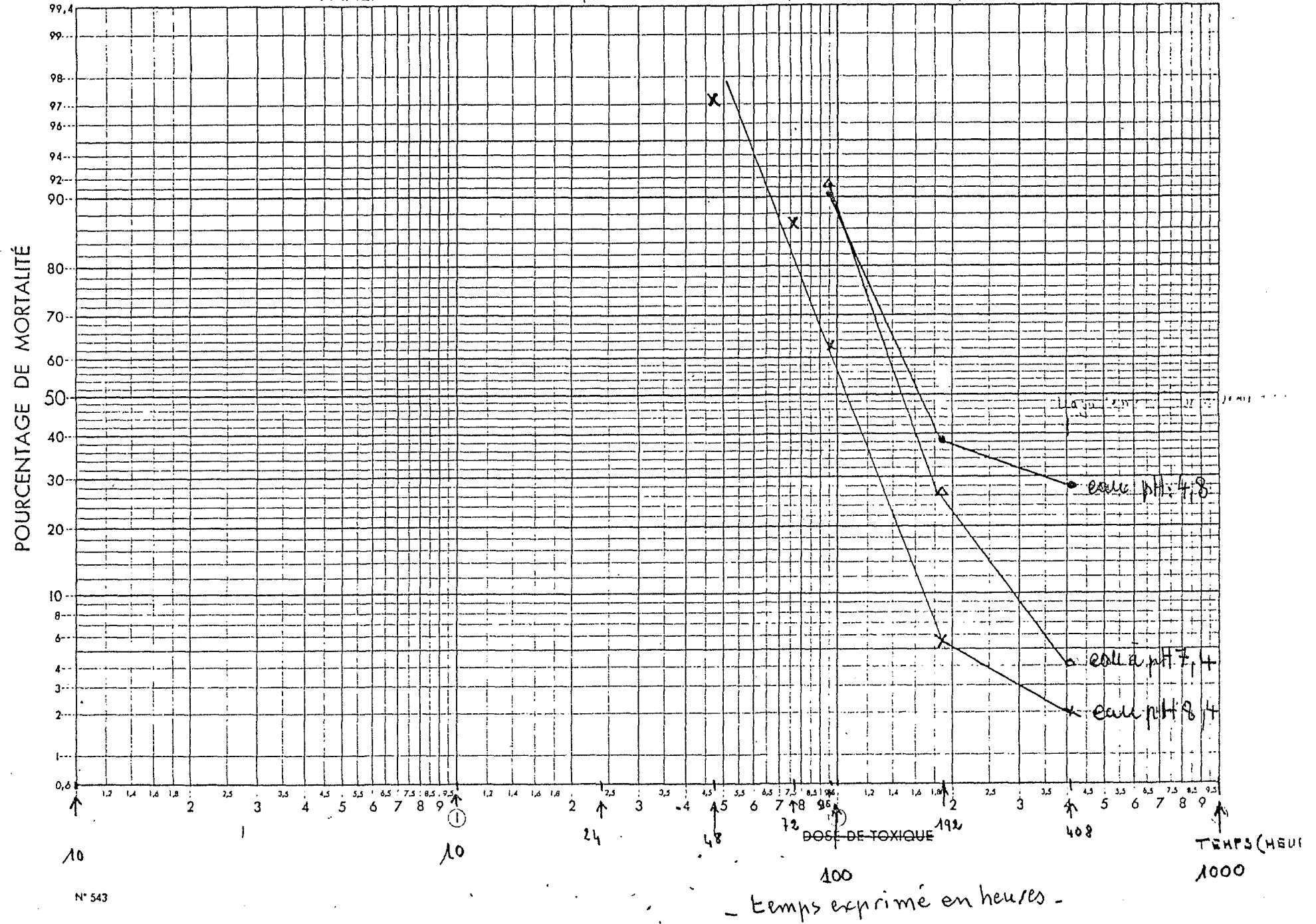


Tableau X

Etude de la permanence du *Bacillus thuringiensis israelensis* dans une mare
artificielle (traitée a 10^{-5})

	T	M	%M
4 heures après	75	74	98,7
48 heures après	150	19	12,7
216 heures après	68	0	0