O. C. C. G. E.

Institut de Recherches sur la Trypanosomiase et l'Onchocercose O. R. S. T. O. M.

Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération

(MINU 10. 28 DEC. 1984

PERSISTANCE ET RECYCLAGE DE BACILLUS SPHAERICUS NEIDE, 1904 SOUCHE 1593-4 DANS LES GITES LARVAIRES A CULEX QUINQUEFASCIATUS SAY, 1823 EN AFRIQUE DE L'OUEST⁽¹⁾

par

- -J.M. HOUGARD (2)
 - G. KOHOUN (3)
 - J. DOANNIO (4)
- -J. DUVAL (5)
- -H. ESCAFFRE (5)
- G.Y. LOUKOU (6)
- V. COSMAO DUMANOIR (7)

N° 37/IRTO/RAP/84

⁽¹⁾ Ce travail a bénéficié d'une subvention du PNUD/Banque Mondiale/OMS, Programme Spécial pour la Recherche et la Formation concernant les Maladies Tropicales.

⁽²⁾ Entomologiste médical de l'ORSTOM - OCCGE/IRTO, BP. 1500 Bouaké, Côte d'Ivoire.

⁽³⁾ Etudiant en Entomologie médicale au CEMV - Université d'Abidjan.

⁽⁴⁾ Entomologiste médical de l'OCCGE.

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

⁽⁵⁾ Technicien d'Entomologie médicale de l'ORSTOM.

^{· 28586}

⁽⁶⁾ Docteur en Pharmacie - Université d'Abidjan.

Cote B

⁽⁷⁾ Institut Pasteur-Laboratoire de Lutte Biologique II PARIS.

RESUME.

Dans la région de Bouaké, en Côte d'Ivoire, le traitement des gîtes larvaires à *Culex quinquefasciatus* par la souche 1593-4 de *Bacillus sphaericus* a mis en évidence, aux vues des résultats entomologiques et bactériologiques, les faits suivants :

- la "rémanence" de la bactérie dans le milieu varie avec la concentration utilisée;
- Bacillus sphaericus 1593-4 semble se recycler dans les larves mortes de Culex quinquefasciatus. Toutefois, ce recyclage ne se produit pas dans tous les gîtes et n'est pas assez important pour assurer un contrôle efficace de la population préimaginale.

Mots-clés : Bacillus sphaericus - Culex quinquefasciatus - eau polluée - évaluation sur le terrain - recyclage - Afrique de l'Ouest.

SUMMARY.

At Bouaké (Ivory Coast), treatment of *Culex quinquefasciatus* breeding sites by *Bacillus sphaericus* strain 1593-4 has given, after entomological and bacteriological studies, the following results:

- the concentration used modifies the residual activity of the bacteria;
- Bacillus sphaericus seems to recycle in dead Culex quinquefasciatus larvae but only in a few breeding sites and not at a high enough level to suppress mosquito larval population.

<u>Key-words</u>: Bacillus sphaericus - Culex quinquefasciatus - polluted water - field trials - recycling potential - West Africa.

1. INTRODUCTION.

Isolé en 1965 par KELLEN et al. à partir de larves moribondes de Culiseta incidens, Bacillus sphaericus Neide 1904 suscite depuis ces dernières années un intérêt croissant : la découverte de souches de plus en plus toxiques et les possibilités de recyclage envisagées dès 1979 par HERTLEIN et al. font de cet insecticide biologique un agent de lutte prometteur pour le contrôle de certains Culicidae.

Nous avons évalué l'efficacité de cette bactérie dans des réservoirs d'eau polluée (puisards, fosses septiques) à Bouaké en Côte d'Ivoire. Ces réservoirs constituent la plupart des gîtes préimaginaux à *Culex quinquefasciatus* qui représente un matériel de choix pour une telle expérimentation :

- outre son intérêt médical, les adultes représentent une nuisance non négligeable en Afrique de l'Ouest;
 - les larves sont résistantes à de nombreux insecticides chimiques;
- les gîtes préimaginaux sont faciles à localiser, bien délimités et par conséquent faciles à traiter.

Le travail que nous avons réalisé se divise en deux volets principaux :

- un volet entomologique qui consiste principalement en une étude de la dynamique de la population préimaginale après traitement par le bacille;
- un volet bactériologique qui tentera d'éclaircir les phénomènes observés sur le terrain par analyse bactériologique de l'eau prélevée dans les différents compartiments du puisard.

2. MATERIEL ET METHODE.

- 2.1. Volet entomologique.
 - 2.1.1. Bacillus sphaericus souche 1593-4.

La souche 1593-4 de Bacillus sphaericus a été isolée en 1974 en Indonésie à partir de larves moribondes de Culex quinquefasciatus. Malgré la découverte récente de nouvelles souches très pathogènes pour les larves de moustiques (2362, 2297 ...), cette souche n'en reste pas moins l'une des plus toxiques isolées jusqu'à ce jour.

Nous disposions pour cette expérimentation de 700 grammes d'une poudre primaire de spores de Bacillus sphaericus 1593-4 fournie par la firme SOLVAY. Cette poudre présente une grande stabilité dans les conditions ordinaires de stockage (5° C - obscurité): nous n'avons constaté aucune altération de sa toxicité (déterminée par la méthode OMS de titrage biologique sur une souche locale de Culex quinquefasciatus) après plus d'un an de conservation.

2.1.2. Prospection, choix et échantillonnage des gîtes.

Si en Afrique de l'Est et différentes îles de l'Océan Indien, Culex quinquefasciatus s'est implanté en milieu rural, il reste en Afrique de l'Ouest un moustique principalement urbain qui se développe dans les eaux polluées des caniveaux, puisards et latrines. Dans la ville de Bouaké, les gîtes préimaginaux à Culex quinquefasciatus sont constitués essentiellement par les puisards et fosses septiques et plus rarement par les fossés et caniveaux : contrairement à certaines grandes villes africaines, notamment celles situées en bordure de mer, le drainage des eaux de pluies et des eaux usées est ici suffisant pour éviter un engorgement de tout le réseau d'égout et par conséquent l'apparition dans ces caniveaux de gîtes larvaires (photos N° 1, 2 et 3 en annexe des différents types de puisards prospectés à Bouaké).

Une numération directe des populations préimaginales des différents puisards n'étant pas possible, l'échantillonnage des gîtes consite en une mesure relative de la densité en stades préimaginaux : les prélèvements se font à l'aide d'une louche (méthode du dipping, photo N° 3 en annexe), seules les larves stades III/IV et les mymphes sont prises en compte.

Parmi les différents puisards recensés à Bouaké, nous avons sélectionné dix d'entre eux, riches en larves de Culex quinque fasciatus et d'un accès aisé. Notons également que nous avons informé les propriétaires de chaque puisard sur les raisons de notre passage, afin d'éviter tout traitement ou vidange des gîtes durant l'expérimentation.

2.1.3. Traitement, contrôle de la mortalité, persistance de l'insecticide.

Pour des raisons de commodité, nous avons calculé les dosages en fonction de la surface et non du volume d'éau. Nous avons choisi trois concentrations: 1, 10 et 50 gr/m² à raison de 3 puisards par concentration et 1 témoin, soit un total de 10 puisards mis en observation.

A titre de comparaison, la plus faible concentration utilisée sur le terrain équivaut environ à 10 fois la CL 100/48 heures obtenue au laboratoire en eau distillée sur une souche locale de Culex quinquefasciatus.

Nous avons suivi l'évolution de la population préimaginale pendant 4 mois environ après le traitement. Ce contrôle s'est effectué toutes les 48 heures et s'est prolongé même après réapparition de la population larvaire et nymphale à son niveau initial (avant traitement).

2.2. Volet bactériologique.

Afin d'effectuer un parallèle avec les observations entomologiques, nous avons réalisé au cours de ces 4 mois d'expérimentation des analyses bactériologiques d'échantillons d'eaux prélevés dans différents compartiments de puisards traités. Ces échantillons étaient ensuite expédiés à un laboratoire de microbiologie de l'Ecole de Pharmacie d'Abidjan (Dr. LOUKOU) et mis en culture afin de mettre en évidence la présence éventuelle de Bacillus sphaericus dans le milieu.

2.2.1. Prélèvement des échantillons.

Les échantillons ont été collectés dans deux des puisards traités à 1 gr/m² (puisards N° 2 et 3). L'appareil de prélèvement consiste en une seringue en verre de 50 ml prolongée par un tuyau "cristal" de deux mètres de long lesté à son extrémité (photo N° 4 en annexe). Ce dispositif permet d'effectuer des prélèvements en surface, en profondeur, mais aussi dans le substrat meuble du puisard.

Les cadavres de larves de Culex quinque fasciatus collectés parfois lors du "dipping" font également l'objet d'analyses bactériologiques.

2.2.2. Fréquence des prélèvements.

Un premier prélèvement, réalisé pour chacun des puisards avant le traitement, permet de mettre en évidence la présence éventuelle de Bacillus sphaericus à l'état naturel dans le puisard. Les prélèvements ultérieurs sont effectués dès qu'un changement "notable" apparaît dans la dynamique de la population préimaginale.

2.2.3. Analyse des échantillons.

Les conditions opératoires sont exposées en annexe. Elles nous ont été fournies gracieusement par la firme SOLVAY qui nous a également livré la poudre primaire de Bacillus sphaericus. Le choc thermique à 65° C pendant 30 mn a pour but d'éliminer les formes végétatives des diverses bactéries et champignons et ne conserver que les germes sporulés. La nystatine élimine les moisisures et l'oxacilline inhibe la multiplication de certaines bactéries (Bacillus sphaericus est résistant à l'oxacilline jusqu'à 5 mcg/ml).

Cette technique ne permet pas cependant de différencier les souches saprophytes pouvant exister naturellement dans le gîte : pour avoir la quasi certitude d'avoir isolé la souche 1593, il faudrait avoir recours à la technique sérologique d'agglutination flagellaire.

3. RESULTATS.

3.1. Mortalité larvaire et persistance de Bacillus sphaericus dans le milieu.

Un premier contrôle 48 heures après le traitement montre que la mortalité larvaire est totale dans tous les puisards traités, même à la plus faible dose. La population préimaginale se reconstitue ensuite progressivement suivant la concentration utilisée (tableau l en annexe) : les larves stades III/IV réapparaissent entre le 8ème et 16ème jour après le traitement à l gr/m², entre le 20ème et 26ème jour à 10 gr/m² et entre le 32ème et 36ème jour à 50 gr/m². Notons également que cette réapparition de la population larvaire précède tout naturellement de quelques jours la réapparition de la population nymphale.

3.2. Effet secondaire de Bacillus sphaericus dans les puisards.

Nous avons poursuivi l'échantillonnage de la population préimaginale et avons établi pour chacun des puisards un graphique sur la dynamique de la population de Culex quinquefasciatus pour une période de 4 mois après le traitement.

3.2.1. Puisard non traité (puisard N° 1 - graphique I en annexe).

Les densités larvaires et nymphales passent par une série de minima et de maxima très marqués. Des observations effectuées sur le terrain et au laboratoire par SUBRA en 1971 montrent que l'allure de cette courbe est généralisable à l'ensemble des puisards non traités et qu'un grand nombre de facteurs conditionne, à des degrés divers, la dynamique de la population préimaginale de Culex quinque-fasciatus.

3.2.2. Puisards traités (puisards N° 2 à 10 - graphiques II à VIII en annexe).

Sur les 9 puisards traités, et malgré les précautions que nous avons eux prises, 2 d'entre/n'ont pu faire l'objet d'une étude prolongée : l'un de ces puisards a été vidangé peu après sa recolonisation tandis que l'autre s'est asséché suite à un arrêt de l'alimentation en eau.

Après recolonisation des gîtes, la population préimaginale des 7 puis sards traités passe, comme pour le témoin, par une série de minima et de maxima, et les courbes prennent alors la même allure que la courbe du puisard non traité. Notons toutefois pour un des puisards traité à 1 gr/m² (graphique IV en annexe), une disparition de la population préimaginale consécutive à un assèchement temporaire de ce gîte.

Dans le puisard N° 2 traité à 1 gr/m² (graphique II en annexe), nous avons constaté, 12 jours après la recolonisation du gîte, la présence de larves mortes pendant pratiquement toute la durée de nos observations. Ce même phénomène se retrouve, mais de façon épisodique, dans les puisards N° 3 et 8 traités respectivement à 1 et 50 gr/m² (graphiques III et VI en annexe). D'une façon générale, ces cadavres sont disséminés sur toute la surface de l'eau du puisard et cotoient les larves vivantes présentes en beaucoup plus grandes quantités.

L'apparition de cette mortalité larvaire ne semble pas modifier la dynamique de la population préimaginale.

3.3. Résultats des analyses bactériologiques (tableau 2 en annexe).

L'analyse bactériologique des prélèvements, pour les deux puisards, avant le traitement s'est révélée négative, tant en surface qu'en profondeur ou dans le substrat : il n'y a donc pas dans ces deux puisards de Bacillus sphaericus à l'état naturel.

<u>Puisard N° 2</u>: nous avons effectué trois séries de prélèvements et avons décelé la présence de *Bacillus sphaericus* en surface 10 jours après le traitement, dans le substrat après 20 jours et à la fois dans le substrat et en surface 40 jours après le traitement.

<u>Puisard N° 3</u>: nous avons réalisé également 3 séries de prélèvement après le traitement et avons décelé dans chacune des séries la présence de Bacillus sphaericus uniquement dans le substrat.

<u>Larves mortes</u>: tous les cadavres de larves apparus après la recolonisation des gîtes se sont révélés positifs en spores de *Bacillus sphaericus*.

3.4. Parallèle entre les observations entomologiques et bactériologiques.

Un parallèle entre les courbes de dynamique des populations préimaginales des puisards N° 2 et 3 et les résultats des analyses bactériologiques (tableau 2 en annexe), nous amène aux hypothèses suivantes :

- la présence de *Bacillus sphaericus* uniquement dans le substrat n'affecte pas la dynamique de la population préimaginale;
- la présence de *Bacillus sphaericus* uniquement en surface se traduit par l'absence de population préimaginale dans le gîte;
- la présence de *Bacillus sphaericus* en surface et en profondeur nous ramène au premier cas de figure avec présence supplémentaire de larves mortes disséminées à la surface de l'eau du puisard.

4. DISCUSSION.

4.1. Persistance de Bacillus sphaericus dans le milieu.

La recolonisation des gîtes larvaires à Culex quinquefasciatus traités par Bacillus sphaericus semble dépendre de la concentration utilisée : la persistance de l'effet larvicide ne dépasse pas 16 jours à 1 gr/m² alors qu'elle atteint plus d'un mois à 50 gr/m². Ces résultats confirment les travaux de MULLIGAN et al. (1980). Par contre, en ce qui concerne Bacillus thuringiensis H-14, la concentration ne semble pas avoir d'action sur la rémanence (HOUGARD et al., 1983; SUDOMO et al., 1981).

Des expérimentation menées en Inde n'ont permis d'observer aucun effet résiduel d'une poudre primaire de la souche 1593 sur Culex quinquefasciatus (Indian Council Medical Research 1977). KARCH (1984) obtient quant à lui 20 jours de rémanence en eau polluée à 160 mg/m² avec la même souche. Ces différents résultats s'expliquent sans doute par les différentes conditions physico-chimiques rencontrées lors de ces expérimentations : il existe notamment une corrélation négative entre l'efficacité de la souche 1593 et le degré de pollution de l'eau (MIAN and MULLA, 1983; MILLIGAN et al. loc. cit.) ainsi que le degré de luminosité (MULLIGAN et al. loc. cit). Bien que nous n'ayons pas ce problème en zone tropicale, notons toutefois qu'au laboratoire, les basses températures, réduisent l'efficacité de Bacillus sphaericus (WRAIGHT et al., 1981).

Les analyses bactériologiques semblent indiquer que les gîtes redeviennent positifs seulement quand les spores se retrouvent dans le substrat (§ 3.4.). Ceci confirme l'hypothèse de DAVIDSON et al., 1984; MULLA et al., 1984; MULLA et al., 1984; MULLIGAN et al., loc. cit.; SINEGRE et al., 1981 selon laquelle la matière active s'enlise dans le substrat et devient hors d'atteinte des larves. Ce substrat est un milieu favorable pour les spores puisque HERTLEIN et al., 1979; SINGER, 1980, ont montré que les spores pouvaient rester viables et infectantes pendant 9 mois. La pollution de l'eau est également un facteur qui inhibe la destruction des spores (HORNBY et al., 1981).

4.2. Recyclage de Bacillus sphaericus dans le milieu.

Les résultats des analyses bactériologiques montrent que les cadavres de larves retrouvés dans trois des puisards, après recolonisation des gîtes, sont contaminés par des spores de Bacillus sphaericus. Les travaux de DAVIDSON et al., loc. cit.) DESROCHERS et GARCIA, 1984 et SILAPANUNTAKUL et al., 1983, montrent que Bacillus sphaericus se multiplie dans les larves de Culex et que les spores sont relachées dans le milieu environnant lors de la désintégration des cadavres.

Nos observations ainsi que celles de ces différents auteurs laissent supposer que ce recyclage se produit également dans les puisards de Bouaké. Cependant, il ne suffit pas à assurer une suppression complète de la population préimaginale, ce qui confirme les résultats de HOTI et BALARAMAN 1984. D'autre part, ce phénomène n'est pas général (présence de cadavres dans seulement trois des puisards traités) et ne semble pas dépendre de la quantité initiale de spores déversée lors du traitement (2 des puisards sont traités à 1 gr/m² et le troisième à 50 gr/m²).

5. CONCLUSION.

La persistance de la souche 1593-4 de Bacillus sphaericus dans les gîtes préimaginaux à Culex quinquefasciatus n'est pas suffisante pour assurer un contrôle efficace de la population larvaire de ce moustique dans les eaux polluées. Cependant, le phénomène de recyclage observé dans certains puisards nous encourage à poursuivre nos recherches dans ce domaine :

- influence des conditions physico-chimiques (température et pH de l'eau, matière en suspension, demande biologique en oxygène ...);
 - influence des facteurs biologiques (densité larvaire, espèces ...);
- évaluation sur le terrain d'autres souches de *Bacillus sphaericus* telle la 2362, plus toxique au laboratoire que la 1593-4;
- marquage des spores avant traitement et devenir de celles-ci dans le puisard, tests de terrain simulés au laboratoire ...

Ces travaux devraient permettre de mieux cerner les conditions favorables à un recyclage optimum de *Bacillus sphaericus* dans les eaux polluées en Afrique de l'Ouest et d'envisager par la suite un contrôle biologique efficace de *Culex quinquefasciatus* par cette bactérie.

REMERCIEMENTS.

Nous remercions Messieurs D. QUILLEVERE et P. GUILLET pour leurs conseils apportés lors de notre travail et la rédaction de ce manuscrit ainsi que Monsieur J. BRENGUES, Directeur du CEMV et Monsieur Ch. DOUCKET; Directeur du Centre Muraz, pour leur bienveillante collaboration.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- DAVIDSON (E.W.), URBINA (M.), PAYNE (J.), MULLA (M.S.), DARWAZEH (H.), DULMAGE (H.T.) and CORREA (J.A.), 1984 Fate of Bacillus sphaericus 1594 and 2362 Spores Used as Larvicides in the Aquatic Environment. Appl. Environ. Microbiol. 47: 125-129.
- Des ROCHERS (B.) and GARCIA (R.), 1984 Evidence for persistence and recycling of Bacillus sphaericus. Mosq. News, 44: 160-165.
- HERTLEIN (B.C.), LEVY (R.) and MILLER, Jr (T.W.), 1979 Recycling potential and selective retrieval of *Bacillus sphaericus* from soil in a mosquito habitat. J. Invertebr. Pathol., 33: 217-221.
- HORNBY (J.A.), HERTLEIN (B.C.), LEVY (R.) and MILLER, Jr (T.W.), 1981 Persistent activity of mosquito larvicidal *Bacillus sphaericus* 1593 in fresh water and sewage. *Mimeo. Doc. WHO/VBC/81.830*, Geneva, 7p.
- HOTI (S.L.) and BALARAMAN (K;), 1984 Recycling potential of Bacillus sphaericus in natural mosquito breeding habitats. Indian J. Med. Res., 90-94.
- HOUGARD (J.M.), DARRIET (F.) et BAKAYOKO (S.), 1983 Evaluation en milieu naturel de l'activité larvicide de Bacillus thuringiensis H-14 sur Culex quinquefasciatus Say, 1823 et Anopheles gambiae Giles, 1902 s.l. (Diptera: Culicidae) en Afrique de l'Ouest. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., vol. XXI N° 2 : 111-117.
- KARCH (S.), 1984 Bacillus sphaericus agent de lutte biologique contre Culex pipiens Linné, 1758 (Culicidae-Diptera) et contre d'autres moustiques.

 Thèse de Docteur Ingénieur Université Paris XI Centre d'Orsay.
- KELLEN (W.R.), CLARCK (T.B.), LINDEGREN (J.E.), HO (B.C.), ROGOFF (M.H.) and SINGER (S.), 1965 Bacillus sphaericus Neide as a pathogen of mosquitoes.

 J. Invertebr. Pathol., 7: 442-448.

- MIAN (L.S.) and MULLA (M.S.), 1983 Factors influencing activity of the microbial agent Bacillus sphaericus against mosquito larvae. Bull. Soc. Vector Ecol., 8(2): 128-134.
- MULLA (M.S.), DARWASEH (H.A.), DAVIDSON (E.W.) and DULMAGE (H.T.), 1984 Efficacy and persistence of the microbial agent *Bacillus sphaericus* against mosquito larvae in organically enriched habitats. *Mosq. News*, 44(2): 166-173.
- MULLIGAN (F.S.), SCHAEFFER (C.H.) and MILDER (W.H.), 1980 Efficacy and persistence of Bacillus sphaericus and B. thuringiensis H.-14 against mosquitoes under laboratory and field conditions. J. Econ. Entomol., 73: 684-688.
- SILAPANUNTAKUL (S.), PANTUWATANA (S.), BHUMIRATANA (A.) and CHAROENSIRI (K.),

 1983 The comparative persistence of toxicity of Bacillus sphaericus
 strain 1593 and Bacillus thuringiensis serotype H-14 against mosquito
 larvae in different kinds of environments. J. Invertebr. Pathol., 42:
 387-392.
- SINEGRE (G.), GAVEN (B.) et JULLIEN (J.L.), 1981 Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoire concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de Bacillus thuringiensis.

 III. Influence séparée ou conjointe de la densité larvaire, du volume ou profondeur de l'eau et de la présence de terre sur l'efficacité et l'action larvicide résiduelle d'une poudre primaire. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., vol. XIX, JN° 3 : 157-163.
- SINGER (S.), 1980 Bacillus sphaericus for the control of mosquitoes.

 Biotechnol. Bioeng., 22: 1335-1355.
- SUBRA (R.), 1971 Etudes écologiques sur *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, 1828 (Diptera, Culicidae) dans une zone urbaine de savane soudanienne ouest-africaine. Dynamique des populations préimaginales. *Cah. ORSTOM*, sér. *Ent. méd. et Parasitol.*, vol. IX, N° 1: 73-102.

- SUDOMO (M.), AMINAH (S.), MATHIS (H.) and BANG (Y.H.), 1981 Small-scale field trials of *Bacillus thuringiensis* H-14 against different mosquito vector species in Indonesia. *Mimeo*. *Doc*. WHO/VBC/81.836, Geneva, lop.
- WRAIGHT (S.P.), MOLLOY (D.), JAMNBACK 5H.) and McCOY (P.), 1981 Effects of temperature and instars on the efficacy of Bacillus thuringiensis var. israelensis and Bacillus sphaericus strain 1593 against Aedes stimulars larvae. J. Invertebr. Pathol., 38: 78-87.

ANNEXE

Photos N° 1 à 4 (pages 14 - 15)

Conditions opératoires (page 16)

Tableaux N° 1 et 2 (pages 17 - 18)

Graphiques N° I à VIII (pages 19 à 22).

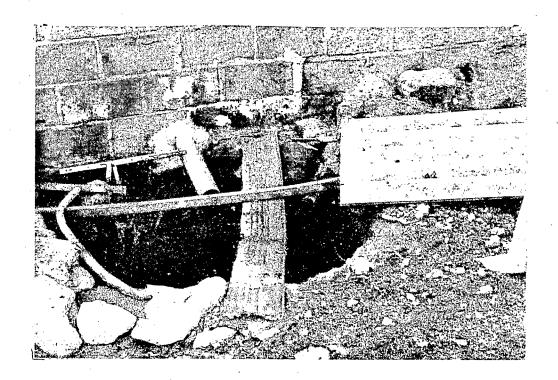


Photo N°I: Puisard formé d'un simple trou creusé dans le sol et collectant les eaux de toilette et de faibles quantités d'eaux de pluies.

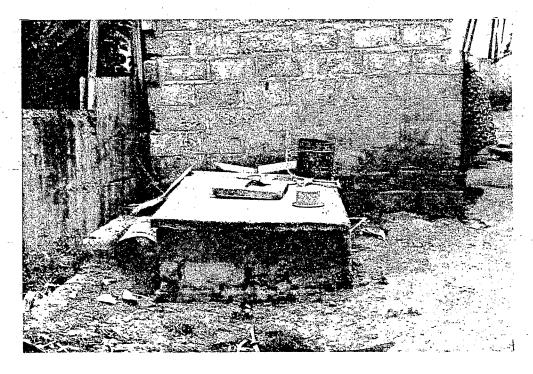


Photo N°2: Puisard limité par une paroi en parpaings et collectant essentiellement les eaux de toilette.

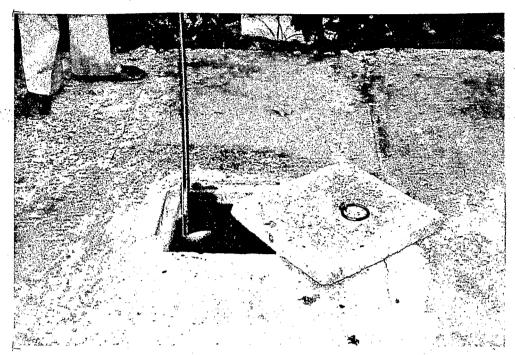


Photo N°3: Puisard entièrement cimenté et compartimenté, collectant exclusivement les eaux de toilette. Echantillonnage du puisard à l'aide d'une louche: néthode du "dipping".



Photo N°4: Dispositif de prélèvement des échantillons d'eaux.

Recherche de spores viables de Bacillus sphaericus après traitement en eaux polluées. Conditions opératoires.

1. Milieu utilisé : Gelose MP coulée en boîte de Pétri.

Peptone	5	(g/1)
Extrait de levure	10	
Extrait de viande	5	
Glucose	10	
NaCI	3	
Eau distillée	l litre	

PH ajusté à 7.2 avant stérilisation.

2. Antibiotique additionné : oxacilline

Eau	polluée	(après	30mn	à	65°	C)	9	ml
oxa	cilline	(à 50 r	ncg/m]	L)			1	ml

soit une concentration finale de 5 mcg/ml

3. Antifongique additionné : nystatine

Eau polluée	(après 30 mn à 65° C)	. 9	ml
nystatine	(à 250 U/ml)	1	ml

soit une concentration de 25 U/ml

- 4. Destruction des formes végétatives au bain-marie à 65° C pendant 30 minutes.
- 5. Ensemencement sur milieu MP puis incubation à 37° C pendant 18/24 heures.

=====	-====	=====	=====		=====	=====	=====				.===
Nombre de jours après traitement											
0	1	10	14	18	22	26	28	34	36	38	40
+ !	! + !	! +!	! + !	! + !	! + :	+ !	+ !	+ !	+ !	+	l +
+	!		+ !	+	+	+	+	+ !	+	+	+
+	!	+	+	+	+	+	+	+ ,	+	+	! +
+	! -	-	- !	! + ;	! +	+ !	+!	+ !	+ !	+	+ 1
+	!	!		! <u>-</u>		! +	+	+	+	+	+
+	!	_	, 		+	+	+	+	+	+	+
+	! -	! -		! ~	!	! - !	+ !	+ !	+	+	! +
+	!	-		-						+	+
+	!	·	 !!			!		+	+	+	!
+	1 -	! -		! -	-	! -	- !	!	+	! +	! +
	+ + + +	+!+!-	! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! !	! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! !	! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! !	0 1 10 14 18 22 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 - 1 - 1 + 1 + 1 + 1 + 1 - 1 - 1 - 1 + 1 + 1 + 1 - 1 - 1 - 1 + 1 + 1 + 1 - 1 - 1 - 1 + 1 + 1	O 1 1 10 14 18 22 26 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 - 1 - 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 - 1 - 1 - 1 + 1 + 1 + 1 + 1 - 1 - 1 - 1 + 1 + 1 + 1 + 1 - 1 - 1 - 1 - 1 + 1 + 1 + 1 + 1 - 1 - 1 - 1 - 1 + 1 + 1 + 1	O 1 1 10 14 18 22 26 28 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	O 1 1 10 14 18 22 26 28 34 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1 + 1	O 1 1 10 14 18 22 26 28 34 36 34 4 36 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	O 1 1 10 14 18 22 26 28 34 36 38 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4

Tableau 1 : Persistance de Bacillus sphaericus 1593 dans les eaux polluées en fonction de la concentration - évolution dans le temps de la population larvaire de Culex quinquefasciatus (+ : présence de larves stades III/IV. - : absence de larves stades III/IV).

			· ·	۔ بین جب سے سے بہتر شد سے پینر جدر میں سا					
	•	Nombre de		AU DE PRELE	VEMENT	Observations entomologiques			
		jours après Fréitement		Profondeur	Substrat	Observations encomologiques			
!	2	0		!		Population préimaginale abondante			
:	è	10	+	! <u></u>	į	Absence de larves et nymphes			
1	Puisard	! 20	-	!	! +	!Gîte en voie de recolonisation !			
1	Pui	Pui	Pui	Pui	! ! 40	+ 	! !	! !	Population préimaginale abondante. !Présence de larves mortes.
!-		. 0		!	!	Population préimaginale abondante			
; !	No 3	10	_	1	. +	Gîte en voie de recolonisation			
!	sard N	20		!	! +	Gîte en voie de recolonisation			
!	Puis	98		<u> </u>	!	Population préimaginale abondante			

Tableau 2 : Analyse bactériologique des prélèvements d'eaux de puisard et parallèle avec les observations entomologiques (+ : présence de spores de Bacillus sphaericus. - : absence de spores de Bacillus sphaericus).

