

# Utilisation des formulations à base de *Bacillus thuringiensis* H-14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest <sup>(1)</sup>

## Efficacité de onze formulations contre les larves du complexe *Simulium damnosum*

Joël DOSSOU-YOVO <sup>(2)</sup>, Julien M.C. DOANNIO <sup>(2)</sup>,  
Jacques DUVAL <sup>(2)</sup>, R. MEYER <sup>(3)</sup>

---

### Résumé

Dans le cadre du programme d'évaluation des formulations de *Bacillus thuringiensis* H-14 utilisables contre les larves du complexe *Simulium damnosum*, 11 nouvelles formulations ont été testées. Dans l'ensemble, elles sont comparables au Teknar HPD<sup>®</sup> en ce qui concerne leurs caractéristiques physiques. Par contre, leur concentration en toxine est nettement plus importante et leurs titres biologiques très élevés. Les résultats obtenus en minigouttières sont très remarquables. Les deux formulations les plus performantes sont 12 fois plus efficaces que le Teknar HPD<sup>®</sup> sur des larves du complexe *S. damnosum*.

**Mots-clés :** Complexe *Simulium damnosum* - Onchocercose - *Bacillus thuringiensis* H-14 - Efficacité.

---

### Summary

THE USE OF *BACILLUS THURINGIENSIS* H-14 FORMULATIONS FOR ONCHOCERCIASIS CONTROL IN WEST AFRICA . EFFICACY OF 11 NEW FORMULATIONS AGAINST LARVAE OF THE *SIMULIUM DAMNOSUM* COMPLEX. *In the framework of a screening programme of Bacillus thuringiensis H-14 formulations for Simulium damnosum larval control in West Africa, 11 experimental formulations were tested.*

*Their physical characteristics were comparable to those of Teknar HPD<sup>®</sup>, the formulation now operationally used in the Onchocerciasis Control Programme : very good fluidity and very good spontaneous dispersion.*

*As regard to their efficacy in mini-gutters, they are actually the best formulations of B. thuringiensis H-14 tested so far against larvae of the S. damnosum complex. They caused more than 98 % larval mortality at 0.4 mg/l/10 mn. The CL 50 values ranged from 0.030 mg/l/10 mn to 0.100 mg/l/10 mn. The least active formulation was equivalent to Teknar HPD<sup>®</sup> (CL 50 : 0.110 mg/l/10 mn) and the most active was 12 times more effective.*

*The biological titres recorded with Aedes aegypti larvae (Bora Bora strain) ranged from 3130 to 5023 I.U./mg and are all superior to that of Teknar HPD<sup>®</sup> (2857 I.U./mg).*

**Key words :** *Simulium damnosum* - Onchocerciasis - *Bacillus thuringiensis* H-14 - Efficacy.

---

(1) Ce travail a bénéficié d'une subvention de l'OMS/OCP, B.P. 549, Ouagadougou, Burkina Faso.

(2) Institut Pierre RICHET/OCCGE, B.P. 1500, Bouaké, Côte-d'Ivoire.

(3) Programme OMS de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest, B.P. 1474, Bouaké, Côte-d'Ivoire.

## Introduction

L'apparition de la résistance au téméphos au sein des populations larvaires du complexe *Simulium damnosum* (Guillet *et al.*, 1980) et son extension aux autres composés organophosphorés (Kurtak *et al.*, 1982 ; Guillet et Kurtak, *in* Guillet, 1985) ont conduit à la recherche d'insecticides présentant un mode d'action différent des insecticides conventionnels. La découverte et l'utilisation d'un agent de lutte biologique, le *Bacillus thuringiensis* H-14 a permis au Programme OMS de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest (Programme OCP) de poursuivre avec succès les opérations de traitement dans les zones de résistance ; il est même devenu en période de basses eaux le seul larvicide utilisé.

Les activités d'évaluation des formulations de cette bactérie entomo-pathogène initiées depuis une dizaine d'années et ayant porté sur quelque centaines d'échantillons expérimentaux n'ont permis de sélectionner que deux formulations opérationnelles. Il s'agissait du Teknar<sup>®</sup>, sélectionné en 1981 (Guillet *et al.*, 1982 ; Lacey *et al.*, 1982) et utilisé par le Programme de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest à la concentration de 1,6 mg/l/10 mn, mais dont la viscosité excessive nécessitait l'adjonction de 20 % d'eau avant le traitement. Ce premier produit fut remplacé en 1986 par le Teknar HPD<sup>®</sup>, issu d'une souche asporogène, dont les caractéristiques nettement améliorées permirent de l'utiliser sans adjonction d'eau à la concentration de 1,2 mg/l/10 mn.

A de telles concentrations, l'utilisation du Teknar HPD<sup>®</sup> pose certains problèmes : les quantités de produit à appliquer sont très importantes entraînant ainsi de réelles difficultés logistiques (trop faible autonomie des aéro-nefs de traitement) et sa portée reste faible (10 km au maximum) comparée à celle de l'Abate<sup>®</sup> (30 à 50 km). De ce fait, le rapport coût/efficacité des formulations actuellement disponibles devrait encore être amélioré sensiblement. Toutefois, dans le contexte actuel, son utilisation est la seule alternative pour la continuation des traitements dans les zones de résistance aux insecticides organophosphorés.

Il apparaît donc que les recherches doivent s'orienter d'une part, vers des formulations plus concentrées en  $\delta$ . endotoxine et, d'autre part, vers une amélioration des caractéristiques physiques (notamment la viscosité et la dispersion spontanée) qui confèrent à ces formulations toute leur efficacité lors des traitements en rivière.

Nous avons testé dans la présente étude l'efficacité de 11 échantillons expérimentaux de *B. thuringiensis* H-14 produits par la firme Sandoz. Il est à noter que les résultats de cette évaluation ont ensuite servi de base à la mise au point d'autres séries de formulations dont une d'entre elles fait actuellement l'objet d'une évaluation opérationnelle.

## Matériel et méthodes

Les onze formulations testées sont toutes des suspensions aqueuses obtenues par concentration de cultures d'une souche asporogène de *B. thuringiensis* H-14.

### TESTS D'EFFICACITÉ

Les tests ont porté sur l'efficacité des formulations contre les larves de simules en comparaison avec le Teknar HPD<sup>®</sup>. Ils ont été réalisés sur le terrain à l'aide d'un système de minigouttières (Guillet *et al.*, 1982). Ces gouttières sont disposées en parallèle par groupe de huit et sont alimentées par gravité avec l'eau de la rivière filtrée à travers une toile à maille de 120  $\mu$ . Ce dispositif est colonisé avec des larves de stades VI et VII de *S. yahense* (Vajime et Dunbar, 1975), une espèce forestière du complexe *S. damnosum*. La mise en place des larves a lieu trois heures avant le début du traitement pour leur permettre de se positionner et de retrouver un rythme normal d'alimentation avant le passage de l'insecticide. Le temps de contact avec les insecticides est de dix minutes ; il est suivi d'une période d'observation de 24 heures au bout de laquelle la mortalité est décomptée.

Pour chaque formulation, une gamme de quatre à cinq concentrations a été testée avec deux répliques par concentration. Les larves intoxiquées par le *B. thuringiensis* H-14 ne dérivant pas, elles ont été manuellement décrochées à l'aide d'une pince souple, et conservées dans de l'alcool à 70° jusqu'à leur identification (espèce, stade larvaire) et leur comptage. Les CL 50 et CL 95 ont été calculées à l'aide d'un programme d'analyse-probit (Finney, 1971) ; l'intervalle de confiance a été calculé au seuil de 95 %. La turbidité de l'eau de la rivière mesurée extemporanément était de 50 JTU et sa température de 25 °C. Ces deux paramètres sont restés constants tout le long des essais.

### TITRAGE BIOLOGIQUE

Le titre biologique de chacune des formulations a été réalisé avec des larves d'*Aedes aegypti*, souche Bora Bora. La méthode utilisée est celle du triple essai proposée par l'OMS (Anonyme, 1981). Les tests ont été faits en comparaison avec le standard IPS 82 titrant 15 000 U.I. *Ae. aegypti*/mg. Les résultats ont également été analysés avec un programme d'analyse-probit (Finney, *op. cit.*).

### ÉVALUATION DES CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES

Elle a porté sur la viscosité des formulations et leur dispersibilité au contact de l'eau. L'évaluation de ces deux caractéristiques revêt une importance particulière car ce

sont elles qui permettent de prévoir le comportement réel des produits lors des épandages en rivière et qui déterminent en partie le succès des traitements.

Pour mesurer la viscosité, nous avons utilisé un rhéoviscosimètre du type Zahn Cup N° 3. Les mesures ont été faites à 25 °C. L'opération qui consiste à mesurer le temps d'écoulement de la formulation par gravité, donne une indication sur sa viscosité cinétique. La formulation idéale doit présenter un temps d'écoulement voisin de celui de l'eau (huit secondes), garantissant ainsi un passage aisé à travers le système d'épandage monté sur les aéronefs de traitement.

Une évaluation de la dispersibilité des formulations basée sur l'établissement d'un index de dispersion mesuré au turbidimètre (Meyer, non publié) n'a pu être réalisée que pour sept produits, en raison des quantités insuffisantes disponibles pour les autres. Les mesures ont été faites par l'Équipe de Recherches sur les Insecticides du Programme OMS de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest. Une dispersion satisfaisante se traduit par un index de dispersion compris entre 0,7 et 0,95. Au-delà de 0,95, la dispersion est jugée excellente. Une évaluation visuelle de la dispersion a été réalisée pour la totalité des formulations. La méthode utilisée est celle décrite par Guillet *et al.* (in Guillet, 1985) : elle consiste à faire couler au-dessus d'une éprouvette de verre de 1 litre, les cinq premiers ml du produit à l'aide d'une pipette maintenue à 15 cm au-dessus du niveau de l'eau ; la dispersion est jugée très bonne, lorsqu'on observe un nuage de fines particules sans agrégats qui sédimentent rapidement.

## Résultats

A l'issue du premier essai en minigouttières à la concentration de 0,4 mg/l/10 mn, toutes les formulations ont eu une efficacité supérieure à 98 %. Les tests complets ont confirmé le niveau d'efficacité très élevé de ces échantillons (tabl. I). Les CL 50 enregistrées sont comprises entre 0,030 et 0,100 mg/l/10 mn. La formulation la moins performante (19-12-12) a encore une CL 50 comparable à celle du Teknar HPD® (0,11 mg/l/10 mn). Deux formulations ont présenté une efficacité particulièrement remarquable, les lots 19-9-1 et 19-10-3 avec respectivement 99,1 % et 98,51 % de mortalité larvaire à la dose de 0,1 mg/l/10 mn. Leurs CL 50 (0,030 et 0,034 mg/l/10 mn) sont trois fois plus faibles que celle du Teknar HPD®.

Les résultats du titrage biologique sur larves d'*Ae. aegypti* sont présentés dans le tableau I. Les CL 50 sont comprises entre 0,043 et 0,069 mg/l et les titres biologiques s'échelonnent entre 3130 et 5023 U.I. *Ae. aegypti*/mg ; ils sont tous supérieurs à celui du HPD (2857 U.I. *Ae. aegypti*/mg).

En revanche, les caractéristiques physiques des échantillons sont comparables à celles du HPD. Les temps d'écoulement au viscosimètre se situent entre sept et dix secondes. La très bonne dispersion visuelle enregistrée pour tous a été confirmée par les index établis au turbidimètre : pour les sept produits évalués de cette façon les index sont supérieurs à 0,7 (tabl. II).

## Discussion

Les performances enregistrées avec les 11 formulations sont à tous points de vue satisfaisantes. Dans l'ensemble, elles sont comparables au Teknar HPD® en ce qui concerne leurs caractéristiques physiques : très bonne dispersion, très bonne fluidité. Par contre, leur concentration en endotoxine est nettement plus importante avec, pour certaines formulations, des titres biologiques jamais atteints auparavant. Leur efficacité vis-à-vis des larves du complexe *S. damnosum* est tout aussi remarquable : la formulation la moins performante de toute la série est déjà équivalente au Teknar HPD®.

Les formulations testées au cours du présent travail sont donc les meilleures de toutes celles qui ont été évaluées pour la lutte contre les larves du complexe *S. damnosum*. Les deux échantillons les plus performants de la série, sont respectivement 16 fois et 12 fois plus efficaces que le Teknar® et le Teknar HPD®.

Sur la base de ces résultats, deux autres séries de formulations ont été élaborées et ont conduit finalement à la sélection d'un nouveau produit, le Teknar 6000, utilisable opérationnellement à la concentration de 0,8 mg/l/10 mn. Les premiers essais effectués en rivière avec cette formulation ont été satisfaisants (Kurtak, comm. pers.). A une dose opérationnelle 1,5 fois plus faible que celle du Teknar HPD®, les quantités de produits à utiliser par m<sup>3</sup>/s de débit pourront être ramenées de 720 ml à 480 ml donnant ainsi une plus grande autonomie aux aéronefs de traitement et abaissant aussi sensiblement le coût des traitements.

Mais la tendance des firmes a été jusqu'à présent de fixer leur prix en fonction du titre biologique qu'elles garantissent aux produits. Ceci a eu pour conséquence l'augmentation substantielle des prix. Cette pratique tend à limiter sérieusement les améliorations possibles dans le rapport coût/efficacité des formulations de *B. thuringiensis* H-14 (tabl. III). Il est donc souhaitable que les firmes, tout en améliorant les performances des produits, diminuent les coûts de production afin de proposer des prix plus intéressants. Par ailleurs, la concurrence de plus en plus serrée qui s'établit entre les firmes impliquées dans la production du *B. thuringiensis* H-14 devrait contribuer à la révision en baisse des prix.

TABLEAU I

Efficacité en minigouttières sur larves âgées (stades VI et VII) de *S. yahense* et activité biologique sur larves d'*Aedes aegypti* (stade IV jeune) de 11 formulations expérimentales de *B. thuringiensis* H-14 en comparaison avec le Teknar HPD®.

+ : mg/l/10 mn ++ : nombre de larves testées

The efficacy in mini-gutters on mature larvae (VI and VII instars) of *S. yahense* and biological activity on *Ae. aegypti* larvae (4<sup>th</sup> instar) of 11 experimental formulations of *B. thuringiensis* H-14 in comparison with Teknar HPD®.

+ : mg/l/10 mn ++ : number of larvae tested

Formulations	Larves de <i>Simulium yahense</i>			Larves d' <i>Aedes aegypti</i>		Titre en U.I./mg I.T.U./mg
	Simulium yahense larvae			Aedes aegypti larvae		
	Pourcentage de mortalité Per cent mortality			CL 50 (intervalle de confiance)	CL 50 (intervalle de confiance)	
	0.2*	0.1	0.05	LC 50 (confidence interval) mg/l/10mn	LC 50 (confidence interval) mg/l	
Teknar HPD® Lot 192 9826	78,8 (314)**	43,5 (261)	-	0,11 (0,074 - 0,014)		2850
19-9-1	100 (291)	99,19 (247)	76,47 (272)	0,030 (0,026 - 0,034)	0,060 (0,0504 - 0,0696)	3600
19-10-2	98,89 (272)	87,90 (372)	37,24 (245)	0,057 (0,039 - 0,085)	0,045 (0,041 - 0,049)	4800
19-10-3	100 (203)	98,51 (105)	66,94 (242)	0,034 (0,029 - 0,040)	0,069 (0,063 - 0,075)	3130
19-12-6	100 (169)	86,45 (196)	31,86 (182)	0,062 (0,058 - 0,066)	0,061 (0,050 - 0,072)	3541
19-12-8	100 (185)	92,63 (163)	60,73 (191)	0,036 (0,031 - 0,043)	0,043 (0,036 - 0,050)	5023
19-12-9	97,31 (186)	54,22 (225)	11,89 (328)	0,092 (0,087 - 0,097)	0,046 (0,041 - 0,051)	4696
19-12-10	99,18 (222)	92,56 (246)	51,68 (238)	0,042 (0,035 - 0,051)	0,048 (0,041 - 0,055)	4500
19-12-11	100 (136)	68,11 (323)	35,78 (204)	0,069 (0,057 - 0,082)	0,055 (0,049 - 0,061)	3927
19-12-12	94,62 (279)	50 (308)	6,98 (160)	0,100 (0,096 - 0,105)	0,057 (0,053 - 0,061)	3789
19-12-13	88,88 (270)	43,75 (256)	39,82 (113)	0,089 (0,064 - 0,123)	0,06 (0,050 - 0,07)	3429
19-12-14	97,71 (219)	53,79 (290)	15,95 (194)	0,091 (0,077 - 0,108)	0,061 (0,051 - 0,071)	3541

L'amélioration du rapport coût/efficacité débouchera sur l'utilisation généralisée du *B. thuringiensis* H-14 en saison sèche (période de basses eaux), même dans les zones où la résistance est encore inexistante, et permettra d'assurer la continuité des traitements à un coût raisonnable en cas de résistance aux insecticides organophosphorés. Cette utilisation ainsi qu'un recours pendant la saison des pluies pour le traitement des biefs à débits modérés, devraient permettre de retarder l'extension géographique de la résistance aux organophosphorés dans les popula-

tions sylvicoles des espèces du complexe *S. damnosum* dans la zone du Programme OCP.

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions le Docteur P. Guillet, OMS/OCP, Bamako, Mali, pour les conseils qu'il a bien voulu nous prodiguer lors de la rédaction de ce manuscrit.

Manuscrit accepté par le Comité de Rédaction le 30 mars 1988.

TABLEAU II

Caractéristiques physiques des 11 formulations expérimentales de *B. thuringiensis* en comparaison avec celles du Teknar HPD®  
 + : ZAHN CUP N° 3      ++ : secondes  
 Physical characteristics of the 11 experimental formulations of  
*B. thuringiensis* in comparison with those of Teknar HPD®  
 + : N° 3 ZAHN CUP      ++ : seconds

Formulations	Fluidité* (temps d'écoulement)	Index de dispersion	Dispersion visuelle
	Fluidity (flow-out time)	Suspension index	Visual dispersion
Teknar <sup>(R)</sup> HPD	8**	0.90	Très bonne Very good
19-9-1	7	0.94	Très bonne Very good
19-10-2	9	0.93	Très bonne Very good
19-10-3	7	0.96	Très bonne Very good
19-12-6	9	-	Très bonne Very good
19-12-8	8	-	Très bonne Very good
19-12-9	9	0.90	Très bonne Very good
10-12-10	9	0.92	Très bonne Very good
19-12-11	10	-	Très bonne Very good
19-12-12	9	-	Très bonne Very good
19-12-13	9	0.72	Bonne Good
19-12-14	7	0.74	Très bonne Very good

TABLEAU III

Performance et coût relatif des traitements avec les formulations de *B. thuringiensis* H-14 en comparaison avec l'Abate®.  
 Performance and relative cost of treatments with formulations of *B. thuringiensis* in comparison with Abate.

Formulations	Dosage Dosage (mg/1/10mn)	Volume par m <sup>3</sup> /s Volume per m <sup>3</sup> /s (1)	Portée et coût relatif Carry and relative cost			
			Faible débit Low discharge		Débit élevé High discharge	
			Portée (km) Carry	Coût Cost	Portée (km) Carry	Coût Cost
Abate <sup>(R)</sup>	0.05 - 0.1	0.15 - 0.3	1 - 3	1	40 - 50	1
Teknar <sup>(R)</sup>	1.6	+ 20% d'eau + 20% water	1 - 2	1.4	5 - 7	18
Teknar HPD <sup>(R)</sup>	1.2	0.720	1 - 2	1,4	10 - 12	4.3
Teknar 6000 <sup>(R)</sup>	0.8	0.480	-	-	-	-

## BIBLIOGRAPHIE

- ANONYME, 1981. — Informal consultation on standardization of *Bacillus thuringiensis* H-14. Doc. Miméo. WHO/VBC/81.828.
- FINNEY (D.J.), 1971. — Probit analysis. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 333 p.
- GUILLET (P.), ESCAFFRE (H.), OUEDRAOGO (M.) et QUILLEVERE (D.), 1980. — Mise en évidence d'une résistance au téméphos dans le complexe *Simulium damnosum* (*S. sanctipauli* et *S. soubrense*) en Côte-d'Ivoire. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 18, 3 : 291-299.
- GUILLET (P.), ESCAFFRE (H.) et PRUD'HOM (J.M.), 1982. — L'utilisation d'une formulation à base de *Bacillus thuringiensis* H-14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. 1. Efficacité et modalités d'application. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 20, 3 : 175-180.
- GUILLET (P.), 1985. — La lutte contre les vecteurs de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest : étude de la résistance et recherche de nouveaux larvicides. Thèse Doctorat Sciences naturelles, Université Paris-Sud, centre d'Orsay, 444 p.
- KURTAK (D.), OUEDRAOGO (M.), OCRAN (M.), BARRO (T.) et GUILLET (P.), 1982. — Préliminary note on the appearance in Ivory Coast of resistance to chlorphoxim in *Simulium soubrense*/*sanctipauli* larvae already resistant to temephos (Abate®). Doc. Miméo. WHO/VBC/82.850.
- LACEY (C.A.), ESCAFFRE (H.), PHILIPPON (B.), SEKETELI (A.) et GUILLET (P.), 1982. — Large river treatment with *Bacillus thuringiensis* (H-14) for the control of *Simulium damnosum* s.l. in the Onchocerciasis Control Programme. *Tropenmed. Parasit.*, 33 : 97-101.
- VAJIME (C.G.) et DUNBAR (R.W.), 1975. — Chromosomal identification of eight species of the subgenus *Edwardsellum* near and including *Simulium* (*Edwardsellum*) *damnosum* Theobald (Diptera : Simuliidae). *Tropenmed. Parasit.*, 26, 1 : 111-138.