

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

(O. C. C. G. E.)  
=====

OFFICE DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE  
OUTRE-MER

(O. R. S. T. O. M.)  
=====



INSTITUT DE RECHERCHES SUR LA TRYPANOSOMIASE ET L'ONCHOCERCOSE

B. P. 1500

BOUAKE - COTE D'IVOIRE

DOCU

EVALUATION EN MILIEU NATUREL DE NOUVELLES FORMULATIONS  
DE BACILLUS THURINGIENSIS SEROTYPE H14 SUR LES LARVES  
DE CULEX PIPIENS QUINQUEFASCIATUS SAY, 1823 (DIPTERA,  
CULICIDAE) EN AFRIQUE DE L'OUEST\*  
XX

par

HOUGARD J.M.\*\*

GUILLET P.\*\*

DUVAL J.\*\*\*

BAKAYOKO S.\*\*\*\*

24 OCT. 1983

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

N° : 3517ex1

Cote : B

N° 21/IRTO/Rap/83

B 3517 ex 1

\* Ce travail a bénéficié d'une aide financière du Programme Spécial PNUD - Banque Mondiale - OMS de Recherche et de Formation concernant les maladies tropicales.

\*\* Entomologiste médical de l'ORSTOM.

\*\*\* Technicien d'Entomologie médicale de l'ORSTOM.

\*\*\*\* Auxiliaire de Laboratoire de l'OCCGE.

## RESUME.

Dans la région de Bouaké en Côte d'Ivoire, le traitement des gîtes larvaires à Culex pipiens quinquefasciatus par le sérotype H14 de Bacillus thuringiensis imprégné dans un support inerte (briquettes ou granulés), a donné les résultats suivants : l'activité larvicide n'excède pas onze jours, quelle que soit la concentration utilisée. Ce type de formulation, bien que libérant progressivement la matière active dans le milieu, n'améliore pas significativement l'efficacité de cette bactérie.

## SUMMARY.

At Bouake (Ivory Coast), treatment of Culex pipiens quinquefasciatus breeding sites by briquets or granules of Bacillus thuringiensis has given the following results : whatever the concentration used, the larvicidal activity does not exceed eleven days. The gradual release of the active ingredient does not improve the efficacy of the bacteria.

## 1. INTRODUCTION.

Le sérotype H14 de Bacillus thuringiensis, formulé en concentré de suspension dispersible (Teknar<sup>(R)</sup>) ne constitue pas un larvicide idéal pour le traitement des gîtes larvaires à Culex pipiens quinquefasciatus; des travaux effectués au laboratoire montrent que la faible rémanence de ce produit (5 jours) tient plus à des problèmes de formulation que de stabilité de l'endotoxine bactérienne (HOUGARD et al. 1983). C'est pourquoi nous consacrons cette étude à l'essai de deux nouveaux types de formulations: les briquettes et les granulés. Dans les deux cas, la matière active, imprégnée dans un support inerte, est libérée plus ou moins progressivement dans le milieu ambiant.

L'efficacité de ces produits est évaluée tout d'abord en milieu naturel dans les puisards de la ville de Bouaké en Côte d'Ivoire. Des tests complémentaires, réalisés au laboratoire, font l'objet d'une deuxième partie.

## 2. TRAITEMENT DES GITES LARVAIRES.

### 2.1. Matériel et méthodes.

#### 2.1.1. Choix et échantillonnage des puisards.

Les critères retenus pour le choix des puisards ainsi que la méthode d'échantillonnage (diping), sont détaillés dans un précédent rapport (HOUGARD et al. loc. cit.).

#### 2.1.2. Présentation des formulations par les fabricants.

##### 2.1.2.1. "Bactimos briquets".

Fournies par les laboratoires Biochem, les briquettes bactimos sont destinées pour "un contrôle à long terme des larves de moustiques".

Pourcentage de matière active : 5%.

Titre de la poudre primaire de Bacillus thuringiensis H14:  
8000 ITU/mg.

Poids net de la briquette : 13 gr.

Dimensions : 5 cm de diamètre, 1 cm d'épaisseur.

Conseils d'utilisation : Les briquettes bactimos sont formulées pour être efficaces pendant 30 jours ou plus suivant l'environnement. La matière active est libérée progressivement puis sédimente graduellement au fond. Les briquettes peuvent être utilisées dans tous les types de gîtes. Elles peuvent être maintenues par un fil grâce au trou situé au centre de la briquette.

Doses préconisées : Une briquette pour 100 pieds carré (environ 30 m<sup>2</sup>) sans tenir compte de la profondeur. Cette dose peut être multipliée par 4 pour une eau riche en matière organique. Un prétraitement est recommandé en cas de population larvaire dense, d'une végétation aquatique importante ou d'une eau polluée.

#### 2.1.2.2. "Granulés vectobac".

Fournies par la firme Abbott, aucune indication particulière n'est donnée par le fabricant, si ce n'est un titre de 300 ITU/mg. La taille des granulés varie de 5 à 10 mm.

#### 2.1.3. Concentrations utilisées.

Briquettes : Les gîtes larvaires à Culex pipiens quinquefasciatus étant particulièrement pollués, nous avons suivi les recommandations des laboratoires Biochem : sur les huit puisards traités par les briquettes, quatre d'entre eux subissent un traitement simultané au tekmar<sup>R</sup> à la dose de 1 ml/m<sup>2</sup> (HOUGARD et al. loc. cit.).

La répartition des briquettes s'effectue ainsi :

- Puisards N° 1 et 2 : 1 briquette + 1 traitement au tekmar.
- Puisards N° 3 et 4 : 1 briquette.
- Puisards N° 5 et 6 : 1/2 briquette + 1 traitement tekmar.
- Puisards N° 7 et 8 : 1/2 briquette.

Remarque : En termes de briquettes par unité de surface, le puisard N° 8 possède la plus faible dose (équivalent d'une briquette pour 4 m<sup>2</sup>). Cette quantité représente près de deux fois la quantité maximum préconisée par le fabricant dans le cas d'une eau riche en matière organique.

Granulés : La matière active étant libérée très rapidement (voir chapitre 3), nous ne procédons pas à un traitement préalable au tekmar<sup>R</sup>. Nous utilisons 6 puisards à raison de 2 puisards par concentration.

Ces concentrations, exprimées en grammes par mètre carré, sont les suivantes : 10, 25 et 50 gr/m<sup>2</sup>.

Remarque : A titre indicatif, 50 grammes de granulés représentent environ le volume d'un verre à eau.

## 2.2. Résultats et discussion.

Briquettes : Le traitement a débuté au mois de Décembre 1982. L'échantillonnage des puisards s'est achevé dès réapparition des quatrièmes stades larvaires et des nymphes. L'évolution de la population est détaillée dans le tableau N° 1.

Nous n'avons pas jugé nécessaire de refaire un traitement pour remplacer les puisards N° 2 et 4. En effet, les 6 autres suffisent à mettre en évidence les faits suivants :

- Puisards non traités au Teknar : Quelle que soit la quantité de briquettes utilisées, la population préimaginale ne disparaît jamais totalement (présence simultanée de vivantes et de mortes). Cette situation se maintient pendant environ une trentaine de jours/<sup>pour</sup> ensuite retrouver sa population initiale.

- Puisards traités au Teknar : 1ml/m<sup>2</sup> de Teknar suffit à éliminer totalement la population pendant 4 à 5 jours. Après ce laps de temps, la situation redevient identique aux puisards non traités au Teknar.

Granulés : Le traitement a débuté au mois de février 1983. L'échantillonnage des puisards s'est achevé dès réapparition des quatrièmes stades larvaires et des nymphes. L'évolution de la population est détaillée dans le tableau N° 2.

Quelle que soit la concentration utilisée, la population larvaire disparaît rapidement (entre un et trois jours), pour réapparaître entre 7 et 11 jours. De la même manière que les briquettes, on constate pour certains puisards la présence simultanée de vivantes et de mortes. Cette situation se maintient entre une et deux semaines.

.../...

### 3. ESSAIS AU LABORATOIRE.

#### 3.1. Matériel et méthodes.

##### - Briquettes.

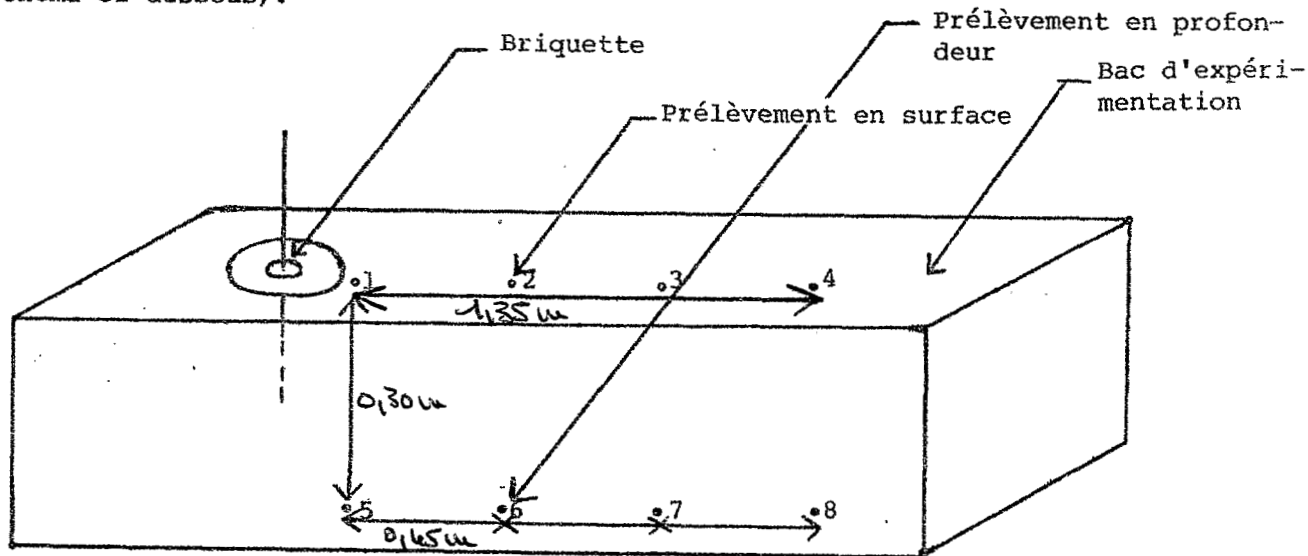
La présence simultanée de larves vivantes et mortes au sein d'un même puisard pose le problème du comportement physique des briquettes au contact de l'eau (désagrégation, diffusion et sédimentation de la matière active). Nous avons effectué alors quelques tests au laboratoire afin de déterminer le ou les facteurs responsables de ces piètres résultats.

##### . Comportement physique des briquettes au contact de l'eau.

Nous avons suivi l'évolution dans le temps et dans l'espace d'une briquette placée dans un bidon contenant 15 litres d'eau du robinet.

##### . Diffusion et sédimentation de la matière active.

Un bac en ciment de dimension 1.6 m x 0.3 m x 0.3 m et situé à l'abri du moindre courant d'air, est rempli d'eau du robinet. On dépose, à l'une des extrémités du bac une briquette, fixée par un fil de fer, à la surface de l'eau (système du flotteur). Une semaine après, des prélèvements d'eau (600 ml) sont effectués à des distances précises de la briquette et à des profondeurs bien déterminées (schéma ci-dessous).



Cent larves stade IV d'Aedes aegypti (4 gobelets de 25 larves) sont mises au contact de chacun de ces prélèvements. Une série supplémentaire avec de l'eau distillée fait office de témoin. La lecture de la mortalité après 24 heures de contact en fonction de la distance et de la profondeur permet de donner des indications quant à la diffusion et à la sédimentation de la matière active

- Granulés.

Devant la similitude des résultats présentés par les granulés, nous avons effectué les mêmes tests que pour les briquettes.

. Comportement physique des granulés au contact de l'eau.

Nous avons suivi l'évolution dans le temps et l'espace de 40 gr de granulés placés dans un fût de 25 litres d'eau du robinet.

. Sédimentation de la matière active.

Le fût décrit ci-dessus est percé de trois orifices situés en surface (A), au milieu (B) et à quelques centimètres du fond (C). Des prélèvements d'eau (2.5ml) effectués à intervalles de temps réguliers aux trois niveaux précités, sont complétés à 1 litre d'eau puis font l'objet d'un test biologique; (cette dilution au 1/400ème permet de ne pas faire trop varier le niveau d'eau dans le fût).

3.2. Résultats et discussion.

- Briquettes.

. Comportement physique des briquettes au contact de l'eau.

La briquette a très rapidement tendance à se loger le long de la paroi du bidon. La même observation a été faite sur le terrain : les briquettes, situées le long de la paroi du puisard, ne quittent plus leur emplacement jusqu'à leur totale désagrégation (eau stagnante). Après un mois de contact, une petite moitié de la briquette se répartit en surface tandis que le reste tombe au fond de l'eau. Seul subsiste de la briquette un petit anneau central.

. Diffusion et sédimentation de la matière active.

La lecture de la mortalité après 24 heures de contact est détaillée dans le tableau N° 3. Ce tableau montre clairement que la matière active libérée par la briquette (1), sédimente à la verticale de celle-ci (5) pour ensuite diffuser en profondeur (6 et 7). Cette diffusion est cependant limitée puisqu'à 1m 35 de la briquette (B), le pourcentage de mortalité baisse significativement.

Ces résultats ne sont valables que pour des eaux stagnantes (puisards). Une eau agitée mettrait en suspension la matière active.

- Granulés.

. Comportement physique des granulés au contact de l'eau.

La moitié des granulés tombe au fond de l'eau quelques temps après leur mise en contact avec le milieu liquide. Six heures plus tard, les 4/5 sont au fond et au bout de 24 heures, il n'y a plus de granulés en surface (l'eau reste cependant très trouble). La répartition des granulés au fond du fût est très homogène.

. Sédimentation de la matière active.

Le tableau N° 4 met en évidence une libération rapide de la matière active qui sédimente ensuite progressivement au fond de l'eau\*. Après 48 heures de contact, nous avons également effectué un prélèvement tout au fond du fût et obtenu 100% de mortalité avec une suspension diluée au 1/800ème. Après une heure de contact, nous avons obtenu 100% de mortalité à tous les niveaux avec une suspension diluée au 1/160ème : la libération de la matière active débute pratiquement dès que les granulés sont au contact de l'eau.

4. CONCLUSION.

Les deux nouvelles formulations testées au cours de cette étude n'ont pas donné les résultats escomptés :

- Briquettes : Si l'effet de la sédimentation est résolu par libération progressive de la matière active, la diffusion de celle-ci pose des problèmes majeurs. En effet, les gîtes à Culex pipiens quinquefasciatus constituent un biotope particulier caractérisé notamment par la stagnation de l'eau. La mauvaise répartition de la matière active, provoquée par ce phénomène a été mise en évidence au laboratoire. Ceci explique probablement la présence simultanée de larves mortes et vivantes pendant toute la durée de désagregation de la briquette (environ 30 jours).

---

\* La sédimentation n'est cependant pas totale puisqu'une dilution au 1/160ème de la suspension mère provoque encore 100% de mortalité au bout d'une semaine. Après quinze jours de contact, la sédimentation est totale (0% de mortalité).



Granulés : La libération plus rapide de la matière active (moins de 15 jours), explique la réapparition plus précoce de la population préimaginale dans les puisards. Bien que les granulés soient plus aisés à répartir, on constate également la présence simultanée de vivantes et de mortes.

Quelle que soit la formulation utilisée (concentrée de suspension dispersible, briquettes ou granulés), l'efficacité de Bacillus thuringiensis H14 dans les puisards n'excède jamais plus de 11 jours : l'avenir de cet insecticide biologique, qui passait dans ce domaine, par la recherche de nouvelles formulations, semble donc bien compromis.

#### REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE.

HOUGARD (J.M.), DARRIET (F.) et BAKAYOKO (S.), 1983 - Evaluation en milieu naturel de l'activité larvicide de Bacillus thuringiensis sérotype H14 sur Culex pipiens quinquefasciatus SAY, 1823 et Anopheles gambiae GILES, 1902 (Diptera : Culicidae) en Afrique de l'Ouest. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., sous presse.

Concentration	Puisard N°	Nombre de jours après traitement										
		0*	1	2	3	4	9	11	14	17	21	
1 Briquette + tekmar	1	(13 L)					(30 L)	(15 L)	(32 L)			
		(4 N)						(1 M)	(18 N)			
		+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
	2	(8 L)										
(6 N)												
		+	-	-	-	-	Puisard asséché					
1 Briquette	3	(41 L)	(80 L)	(48 L)	(24 L)	(38 L)						
		(4 N)	(13 N)	(12 M)	(15 M)	(15 N)						
			(20 N)	(5 N)								
		+	+	+	+	+	Puisard scellé					
1 Briquette	4	Puisard vidangé un jour après le traitement										
1/2 Briquette + tekmar	5	(16 L)	(2 L)	(1 L)			(14 L)	(57 L)	(54 L)	(4 L)	(10 L)	
		(6 N)	(2 N)	(7 N)				(1 N)	(8 N)	(38 N)	(2 N)	
			(10 M)					(6 M)		(23 M)		
		+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
1/2 Briquette + tekmar	6	(1 L)					(6 L)	(6 L)	(2 L)			
		(3 N)							(2 N)			
		+	-	-	-	-	+	+	+	+		
1/2 Briquette	7	(12 L)	(11 L)	(15 L)	(13 L)	(17 L)	(7 L)	(5 L)	(15 L)	(39 L)		
		(3 N)	(1 N)	(2 N)	(1 N)	(3 N)	(1 N)	(1 N)	(1 M)	(1 M)		
					(1 M)							
		+	+	+	+	+	+	+	+	+		
1/2 Briquette	8	(6 L)	(3 L)	(4 L)	(7 L)	(6 L)	(17 L)	(25 L)	(3 L)	(6 L)	(16 L)	
		(2 N)	(1 N)	(2 N)	(1 N)	(6 M)	(2 N)	(5 M)	(3 N)	(4 M)	(3 M)	
						(2 M)	(2 N)					
		+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Tableau N° 1 : Evolution dans le temps de la population préimaginale de Culex pipiens quinquefasciatus après traitement par les briquettes.

"Bactimos" (avec ou sans traitement simultané au Teknar<sup>R</sup>).

+ : population préimaginale abondante; L : larves stade III ou IV; N : nymphes; M : mortes; \* : population recensée juste avant le traitement.

Puisard N°	Nombre de jours après traitement										
	0*	1	3	4	7	9	11	13	16	17	18
1 (10gr/m <sup>2</sup> )	31 L 3 N +	X	-	X	3 L 6 M	2 L 11 M	14 L 15 M	24 L 2 N	13 L 1 N	X	7 L 3 N +
2 (10gr/m <sup>2</sup> )	41 L 2 N +	X	-	X	-	1 L 2 L	2 L	Puisard vidé			
3 (25gr/m <sup>2</sup> )	90 L 29 N +	3 L 4 N 19 M	-	-	37 L 8 N +	X	X	X	X	X	X
4 (25gr/m <sup>2</sup> )	116 L 42 N +	-	-	3 L	36 L 6 N	X	24 L 6 N	40 L 11 N	23 L 1 N	X	X
5 (50gr/m <sup>2</sup> )	132 L 98 N +	3 L 6 N 23 M	-	-	X	3 N	9 L 1 N	24 L 5 N	31 L 50 N	63 L X	X
6 (50gr/m <sup>2</sup> )	100 L 57 N +	30 N 13 M	-	-	X	-	5 L 2 N	13 L 1 N	21 L 13 N	36 L 13 N	X

Tableau N° 2 : Evolution dans le temps de la population préimaginale de Culex pipiens quinquefasciatus après traitement par les granulés "Abbott".

+ : population préimaginale abondante; L : larves stade III ou IV; N : Nymphes; M : larves mortes; X : échantillonnage non effectué; \* : population recensée juste avant le traitement.

Prélèvement N°	1	2	3	4	5	6	7	8
% de mortalité corrigée	67	0	0	0	100	100	100	43

Tableau N° 3 : Comparaison des pourcentages de mortalité corrigée en fonction des prélèvements d'eau.

Niveau de prélèvement	Temps de contact avec les granulés		
	6 heures	24 heures	48 heures
A	83%	0%	0%
B	49%	0%	0%
C	82%	0%	0%

Tableau N° 4 : Pourcentage de mortalité corrigée des larves d'Aedes Aegypti en fonction du niveau de prélèvement dans un fût de 25 litres et du temps de contact avec les granulés. Les tests sont effectués dans une dilution au 1/400ème de la suspension mère (prélèvement à chaque niveau de 2.5 ml complété à un litre d'eau distillée).