

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
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

DOCU

EVALUATION EN MILIEU NATUREL DE L'ACTIVITE LARVICIDE
DE BACILLUS SPHAERICUS SOUCHE 1593 SUR CULEX PIPIENS
QUINQUEFASCIATUS SAY, 1823 (DIPTERA, CULICIDAE) EN
AFRIQUE DE L'OUEST.*
=====

par

J.M. HOUGARD**, P. GUILLET**, J. DUVAL*** & S. BAKAYOKO****

24 OCT. 1983

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

N° : 3518ex1

Cote : B

N° 22/IRTU/kap/83

B3518ex1

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

** Entomologiste médial de l'ORSTOM.

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

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

RÉSUMÉ.

Dans la région de Bouaké (Côte d'Ivoire), le traitement des gîtes larvaires à Culex pipiens quinquefasciatus par la souche 1593 de Bacillus sphaericus (poudre primaire) a donné les résultats suivants : L'activité résiduelle de la bactérie varie avec la concentration utilisée. Si elle n'excède pas une vingtaine de jours à 10 gr/m², par contre il n'y a toujours pas de recolonisation du gîte deux mois après le traitement, à 50 gr/m².

Des études sont actuellement en cours pour déterminer si cette forte rémanence ne serait pas due à un recyclage de la bactérie.

SUMMARY.

At Bouake (Ivory Coast), treatment of Culex pipiens quinquefasciatus breeding sites with a primary powder of Bacillus sphaericus strain 1593 has given the following results : the concentration modifies the residual activity of the bacteria (8 days at 0.5 gr/l, 20 days at 10 gr/l).

At 50 gr/l, after 2 months, there is no colonization of the breeding site. Studies are actually running to know if recycling bacteria does not occur.

1. INTRODUCTION.

En raison de l'importance médicale de Culex pipiens quinquefasciatus et de sa résistance à de nombreux insecticides chimiques, la lutte larvicide doit faire appel à de nouvelles substances comme les régulateurs de croissance ou les insecticides biologiques.

Le sérotype H-14 de Bacillus thuringiensis ne constitue pas un larvicide idéal pour le traitement des gîtes larvaires de ce moustique (HOUGARD et al. 1983). C'est pourquoi nous consacrons cette étude à l'essai d'une autre bactérie entomopathogène : la souche 1593 de Bacillus sphaericus.

Isolée de larves malades de Culex quinquefasciatus collectées à Jakarta en Indonésie, cette souche est l'une des plus intéressantes pour la lutte anticulicidienne. Les possibilités de recyclage envisagées par HERTLEIN et al. (1978) rendent les perspectives de lutte encore plus prometteuses.

La poudre primaire de Bacillus sphaericus utilisée pour le traitement nous a été aimablement fournie par les laboratoires Solvay.

Parallèlement à ces essais de terrain, des tests complémentaires sont réalisés au laboratoire.

2. TRAITEMENT DES GITES LARVAIRES.

2.1. Matériel et méthodes.

- Echantillonnage des puisards : Les critères retenus pour le choix et l'échantillonnage des puisards (dipping), sont détaillés par ailleurs (HOUGARD et al. loc. cit.).

- Formulation et doses utilisées : Nous utilisons une poudre primaire de Bacillus sphaericus souche 1593 d'aspect ocre-jaune, d'odeur très caractéristique et pulvérulent.

Les concentrations sont exprimées en grammes par mètre carré. Nous utilisons, à l'exception de la plus forte dose, deux puisards par concentration. Les doses utilisées sont les suivantes : 0.5 - 1 - 2 - 10 et 50 gr/m².

Remarque : La plus faible concentration (0.5 gr/m²) équivaut environ à 5 fois la CL 100 obtenue au laboratoire sur Culex pipiens quinquefasciatus (voir chapitre 3).

2.2. Résultats et discussion.

Cette expérimentation s'est déroulée pendant la saison sèche au début de l'année 1983 à Bouaké. Nous avons poursuivi l'échantillonnage des puisards quelques temps après la réapparition des 4èmes stades larvaires et des nymphes afin de mettre en évidence un éventuel recyclage de la bactérie. Le tableau N° 1, détaillé en annexe, indique l'évolution de la population préimaginale dans les neuf puisards testés.

Puisard N°	Nombre de jours après traitement*							
	0**	1	8	10	12	15	17	20
1 (0.5gr/m ²)	+	-	+	+	+	+	+	+
2 (0.5gr/m ²)	+	-	+	+	+	+	+	+
3 (1gr/m ²)	+	-	-	-	+	+	+	+
4 (1gr/m ²)	+	-	-	+	+	+	+	+
5 (2gr/m ²)	+	-	-	-	-	-	-	+
6 (2gr/m ²)	+	-	-	-	-	+	+	+
7 (10gr/m ²)	+	-	-	-	-	-	-	+
8 (10gr/m ²)	+	-	-	-	-	-	+	+
9 (50gr/m ²)	+	-	-	-	-	-	-	-

Tableau N° 1 : Evolution dans le temps de la population préimaginale de Culex pipiens quinquefasciatus après traitement par une suspension de Bacillus sphaericus 1593 (voir tableau détaillé en annexe). (+ : population larvaire et nymphale abondante; - : absence de larves et nymphes).

* Les jours indiqués ici correspondent à la date de réapparition des larves dans les puisards.

** Population recensée juste avant le traitement.

A l'exception du puisard N° 9, la réapparition des larves et nymphes s'échelonne entre le 8ème et le 20ème jour. Ce temps de rémanence semble nettement dépendre de la concentration utilisée (8 jours à 0.5 gr/m², de 17 à 20 jours à 10 gr/m²). A partir du 20ème jour, un contrôle hebdomadaire effectué jusqu'au 40ème jour s'est révélé positif pour ces huit puisards (pas de disparition de la population préimaginale).

Deux mois après le traitement du puisard N° 9, il n'y a toujours pas de réapparition de la population préimaginale. Afin de savoir si ce phénomène est bien dû à la bactérie elle-même ou à un quelconque contaminant, nous avons colonisé artificiellement le gîte avec des pontes de Culex pipiens quinquefasciatus : les jours suivant, le gîte était toujours négatif. Dans un deuxième temps, nous avons prélevé en surface et sans agitation préalable de l'eau de ce puisard : un test biologique effectué au laboratoire s'est révélé totalement négatif sur Aedes aegypti et positif (100% de mortalité) sur Culex pipiens quinquefasciatus après 45 jours. La différence de sensibilité entre ces deux moustiques à Bacillus sphaericus a été clairement montrée au laboratoire (voir chapitre 3) : cette spécificité, unique dans tout l'arsenal insecticide, démontre clairement la présence de Bacillus sphaericus dans le gîte.

Contrairement aux diverses formulations de Bacillus thuringiensis H-14 testées dans les puisards (HOUGARD et al. loc.cit., SUDOMO et al., 1981), la rémanence de ce produit dépend de la dose utilisée. Si jusqu'à 10 grammes par mètre carré ce phénomène semble se vérifier, par contre à une dose très élevée (50 gr/m²), il n'y a toujours pas de recolonisation du gîte deux mois après le traitement.

3. ESSAIS AU LABORATOIRE.

La sédimentation de la matière active et l'enlèvement dans le substrat est le principal facteur responsable de la faible rémanence de Bacillus thuringiensis H-14 dans les puisards (HOUGARD et al. loc. cit.). La poudre de Bacillus sphaericus étant suspendible, nous avons effectué au laboratoire un test de sédimentation afin de savoir si ce phénomène existait aussi sur cette bactérie.

Nous avons au préalable mis en évidence la très grande spécificité de cette souche en comparant les sensibilités de Culex pipiens quinquefasciatus et d'Aedes aegypti souche "Bora-bora".

3.1. Matériel et méthodes.

3.1.1. Sensibilité comparée de Culex pipiens quinquefasciatus et d'Aedes aegypti.

Nous utilisons pour chaque essai 5 concentrations et un témoin à raison de 4 x 25 larves par concentration. Un triple essai est effectué pour chaque espèce. La lecture de la mortalité est faite après 24 et 48 heures de contact avec la suspension : nous utiliserons donc des stades III pour éviter la nymphose. Les CL 50 et 95 sont déterminées par ordinateur. Les larves ne sont pas nourries pendant toute la durée de l'expérience.

3.1.2. Sédimentation de la matière active.

Un fût rempli de 24 litres d'une suspension à 10 gr/l d'eau distillée est percé de trois orifices situés près de la surface (A), au milieu (B) et à quelques centimètres du fond (C). Des prélèvements (6 et 60 ml effectués aux trois niveaux précités et à intervalles de temps réguliers, sont complétés à 600 ml d'eau distillée puis font l'objet d'un test biologique (à 0.1 et 1 mg/l sur Culex pipiens quinquefasciatus).

3.2. Résultats et discussion.

3.2.1. Sensibilité comparée de Culex pipiens quinquefasciatus et d'Aedes aegypti.

La comparaison des CL 50 met en évidence une plus grande sensibilité de Culex pipiens quinquefasciatus à Bacillus sphaericus 1593 :

- CL 50 <u>quinquefasciatus</u>	24 heures : 0.0078 mg/l.
	48 heures : 0.0037 mg/l.
- CL 50 <u>Aedes aegypti</u>	24 heures : 11.9 mg/l.
	48 heures : 4.8 mg/l.

Culex pipiens quinquefasciatus est environ 1500 fois plus sensible que la souche Bora-bora d'Aedes aegypti.

Cette très grande spécificité de Bacillus sphaericus 1593 nous a permis de constater lors des essais sur le terrain que la bactérie était toujours présente dans l'eau du puisard N° 9 (voir chapitre 2.2.).

3.2.2. Sédimentation de la matière active.

Le tableau N° 2 met en évidence une sédimentation progressive de la matière active en fonction du temps.

Concentration mg/l	Niveau de prélèvement	Temps de contact avec la suspension (en jours)				
		J 1/2	J1	J2	J5	J10
0.1	A	84%	45%	51%	29%	4%
1		100%	100%	100%	X	12%
0.1	B	97%	60%	45%	29%	4%
1		100%	100%	96%	X	8%
0.1	C	94%	42%	45%	18%	10%
1		100%	99%	96%	X	16%

Tableau N° 2 : Pourcentage de mortalité corrigée des larves de Culex pipiens quinquefasciatus en fonction du niveau de prélèvement dans un fût de 24 litres et du temps de contact avec la suspension bactérienne. Les tests sont effectués à 0.1 et 1 mg/l (respectivement 6 et 60 ml complétés à 600 ml d'eau distillée).

Après 2 semaines de contact, la matière active a presque totalement sédimentée puisqu'un test biologique au 3 niveaux à 10 mg/l (100 fois la CL 100), s'est révélé négatif.

Un prélèvement tout au fond du fût suivi d'un test biologique a montré que toute la matière active se trouvait à ce niveau (99% de mortalité à 0.1mg/l).

4. CONCLUSION.

La souche 1593 de Bacillus sphaericus est très active sur les larves de Culex pipiens quinquefasciatus. Mais le traitement des gîtes de ce moustique pose les mêmes problèmes que ceux rencontrés avec Bacillus thuringiensis H-14. La sédimentation de la matière active est beaucoup plus lente et semble dépendre de la dose utilisée. Ceci confirme les résultats de MULLIGAN et al. (1980).

En milieu naturel, SCHAEFFER et al. ont observé que l'activité de B. sphaericus 1593 sur C. quinquefasciatus décroît en fonction du degré de pollution de l'eau.

A Pondichery, en Inde, des auteurs ont testé en milieu naturel l'activité d'une poudre primaire de la souche 1593 (poudre stauffer) sur Culex quinquefasciatus et n'ont observé aucun effet résiduel (Indian Council of Medical Research 1977).

Cependant, si la rémanence n'excède pas une vingtaine de jours à 10 grammes par mètre carré, par contre elle atteint à une très forte dose (50 gr/m²) plus de deux mois. La question se pose alors de savoir si, à de telles concentrations, n'intervient pas le phénomène de recyclage signalé par HERTLEIN et al. en 1978.

Des études sont actuellement en cours à Bouaké pour tenter de répondre à cette question. Nous poursuivons dans un premier temps l'évolution de la population du puisard N° 9 et traitons simultanément d'autres puisards à cette concentration.

Seul ce phénomène de recyclage permettrait d'envisager un avenir prometteur à cette bactérie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- 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.
- HOUGARD (J.M.), DARRIET (F.) et BAKAYOKO (S.), 1983 - Evaluation en milieu naturel de l'activité larvicide de Bacillus thuringiensis Sérotype H-14 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).
- INDIAN COUNCIL OF MEDICAL RESEARCH (1977). Vector Control Research Centre, Pondichery . Annual Report 1977, pp. 81-83.
- MULLIGAN (F.S.), SHAEFFER (C.H.) and WILDER (W.H.), 1980 - Efficacy and persistence of Bacillus sphaericus and Bacillus thuringiensis H-14 against mosquitoes under laboratory and field conditions. J. Econ. Entomol. In press.

SCHAEFFER (C.H.), 1978 - Comprehensive evaluation of mosquito control agents. University of California, Mosquito Control Research Laboratory, Annual Report 1978, p.44.

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. Mimeographed document; WHO/VBC/81.836, Geneva, 10 pages.

ANNEXE

Nombre de jours après traitement	P U I S A R D S N°								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
J0*	120L 15N	117L 7N	9L	82L 1N	32L 7N	102L 8N	26L 5N	14L 2N	50L 1N
J1	1L 22N	22L 6N	2N	x	-	11N	1L 5N	-	3N
J2	-	18L	x	-	-	-	2L	-	x
J3	-	69L 2N	x	-	-	x	-	-	x
J4	x	x	x	-	-	x	-	-	-
J5	x	x	-	x	x	x	x	x	-
J6	21L	28L 5N	x	x	x	5L	x	x	x
J7	44L	x	x	-	-	x	-	-	x
J8	95L 3N	113L 6N	-	-	-	15L	-	-	-
J9	x	x	x	x	-	6L	-	x	x
J10	x	x	x	6L 2N	-	x	-	x	-
J11	x	x	x	16L 2N	x	x	-	x	-
J12	x	x	8L 5N	x	x	15L	x	x	-
J13	x	x	x	x	x	x	x	x	x
J14	100L 57N	x	x	10L	18L	31L	48L	x	x
J15	x	x	x	x	x	11L 5N	x	23L	x
J16	x	x	x	6L	x	x	x	28L	-
J17	x	x	x	18L 1N	x	x	x	33L 3N	x
J18	x	x	4L 1N	x	x	x	x	70L 16N	x
J19	x	x	x	x	31L 21N	118L 30N	x	x	x
J20	x	x	x	x	20L 8N	x	6L 3N	x	x
J21	x	x	x	20L 8N	x	x	3L 2N	x	x
J22	x	x	x	x	x	x	x	x	-
J23	x	x	x	x	x	x	x	x	x
J24	x	x	x	x	x	x	x	x	x
J25	x	x	x	15L 12N	x	x	x	x	x
J26	x	x	x	x	x	x	x	x	-
J27	x	x	x	x	30L 5N	x	18L 3N	x	x
J28	x	x	x	x	x	x	x	x	x
J29	x	x	x	51L 6N	x	x	x	x	-
J30	x	x	x	x	x	x	x	x	-
J31	x	x	x	x	x	x	x	x	x
J32	x	x	x	116L 42N	x	x	x	x	x
J33	x	x	x	x	x	x	x	x	-
J34	x	x	x	x	11L	x	63L 34N	x	x
J35	x	x	x	x	x	x	x	x	x
J36	x	x	x	x	78L	x	92L 62N	x	x
J37	x	x	x	x	14L 5N	x	63L 22N	x	x
J38	x	x	x	x	x	x	x	x	-

Evolution dans le temps de la population préimaginale de Culex pipiens quinquefasciatus après traitement par une suspension de Bacillus sphaericus.

L : larves stades III ou IV; N : nymphes; M : mortes; x : échantillonnage non effectué.

* Population recensée juste avant le traitement.