

Pole 2
C

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER
SERVICES SCIENTIFIQUES CENTRAUX - BONDY

20 Mai 1980

ACTIVITE LARVICIDE DE *BACILLUS SPHAERICUS*

par

DAGNOGO Mamadou* et COZ Jean**

I - Le présent rapport fait suite à un travail précédant (DAGNOGNO & COZ, 1980) sur la sensibilité de différentes espèces et souches de moustiques à *Bacillus sphaericus* Neide ; il a pour objet :

- 1.1. La comparaison de l'activité de deux présentations de la souche 1593-4 de *B. sphaericus* : les poudres préparées par les laboratoires "Stauffer" et "Abbott".
- 1.2. L'étude comparée de la sensibilité de deux souches d'*Anopheles stephensi*, l'une résistante à la Dieldrine et au DDT (STR)***, l'autre sensible à ces mêmes insecticides (St 15)**** :
 - 1.2.1. Avec le produit "Stauffer" (poudre)
 - 1.2.2. Avec une culture de *B. sphaericus* provenant de l'Institut Pasteur de Paris (Service du Pr. de BARJAC).
- 1.3. L'étude de l'action de la température sur la conservation de *B. sphaericus*.
- 1.4. Un aperçu méthodologique sur l'importance du temps de contact dans les essais de *B. sphaericus* (poudre Stauffer).

* Maître es Sciences - Stagiaire ORSTOM - S.S.C. -Bondy -
 ** Pharmacien, Docteur Es Sciences- Chef du Laboratoire de Recherches en Entomologie médicale - O.R.S.T.O.M. - S.S.C. - BONDY - 93140 - FRANCE.
 *** Souches d'*Anopheles stephensi* provenant du Ross Institute de Londres. G.B.

10 JUN 1987
O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° : 20761 ex 1
Cpte : B

20761 ex 180
B

- II.1. Comparaison de l'activité de deux présentations de la souche 1593-4 de *Bacillus sphaericus* les produits "Stauffer" et Abbott".

Les deux produits, qui se présentent sous la forme d'une poudre, ont été testés sur une souche d'*Anopheles stephensi* résistante à la Dieldrine et au DDT (STR) ; les larves testées étaient au stade IV, les mortalités ont été observées après 24 heures et après 48 heures de contact.

Résultats : Les mortalités obtenues avec la poudre "Abbott" sont à notre avis légèrement plus élevées que celles données par la poudre "Stauffer". A la concentration 10^{-4} (100mg/l) la poudre "Abbott" donne 100% de mortalité après 48 heures de contact ce qui n'est pas le cas pour la poudre "Stauffer". Il faut toutefois remarquer qu'il n'y a pas de grandes différences d'activité entre les deux produits (tableaux 1 et 2).

- II.2. Etude comparée de la sensibilité de deux souches d'*Anopheles stephensi* l'une résistante à la Dieldrine et au DDT (STR), l'autre sensible à ces mêmes insecticides (ST 15).

2.2.1. Poudre "Stauffer" -

Les mortalités obtenues sur les stades IV d'*A. stephensi* ont été déterminées après 24, 48 et 72 heures de contact ; il est évident (tableaux 3 et 4) que les observations faites après 24 heures de contact ne peuvent être retenues ; par contre les mortalités relevées après 48 et 72 heures ne présentent pas, à notre avis, les différences notables qui justifieraient le prolongement de 24 heures de l'opération. La souche résistante au DDT et à la Dieldrine ne paraît pas être moins sensible au *B. sphaericus* que la souche St 15. Cette observation est corroborée par l'expérience suivante sur la culture.

2.2.2. Culture "Institut Pasteur, de Barjac" -

Avec des dilutions de la culture "Institut Pasteur, de Barjac", nous avons une activité moindre qu'avec la poudre

"Stauffer" (Tableaux 5 et 6). On n'observe pas de différence notable de sensibilité entre les souches St 15 et STR d'*Anopheles stephensi*.

II.3. Etude de l'action de la température sur la conservation de *Bacillus sphaericus* -

Nous avons d'une part étudié l'action des températures élevées, d'autre part, celle des basses températures. La poudre "Stauffer" supporte assez bien un chauffage à 70°C pendant 24 heures (tableau 7), 48 heures (tableau 8) ; elle perd un peu de son activité par rapport à une poudre conservée dans les conditions du laboratoire (21 - 22°C) (tableau 4). A 100°C (48 h) , on constate par contre une disparition totale de l'activité (tableau 9).

La culture de *B. sphaericus* (Institut Pasteur) a été conservée quatre mois à 21-22°C (température du laboratoire), à - 20°C et - 80°C sans changement notable d'activité (tableaux 10, 11 et 12).

II.4. Aperçu méthodologique sur l'importance des temps de contact dans les essais de *Bacillus sphaericus* (poudre Stauffer) sur les stades IV d'*A. stephensi* (souche STR).

Par analogie avec les expériences menées sur les insecticides classiques nous avons choisi des temps de contact de 24 heures. Devant les faibles létalités obtenues nous avons poursuivi les contacts jusqu'à 48 heures et 72 heures. Nous avons remarqué que les contacts de 24 heures ne donnaient qu'un faible reflet de l'activité de *B. sphaericus* et il nous paraissait qu'un contact de 48 heures ou plus était nécessaire. En fait, le problème est mal posé ; ce n'est pas un contact de 48 heures qui est nécessaire pour obtenir la mortalité supposée maximum mais une période d'observation de 48 heures.

Méthode : Des lots de 25 larves stade IV d'*Anopheles stephensi* souche STR sont mis en contact des temps variables avec différentes concentrations en *B. sphaericus* (1, 2, 4, 6, 24 et 48 heures). Tous ces lots, à l'exception du lot " 48heures de contact" sont sortis des solutions d'insecticides et placés dans l'eau permutée (pH : 4,6).

Les observations sont effectuées pour tous ces lots 48 heures après le début de l'expérience. On observe que les mortalités obtenues avec les contacts les plus courts 1 et 2 heures sont les mêmes pour les quatre concentrations utilisées 10^{-5} ; $0,5 \cdot 10^{-5}$; 10^{-6} et $0,5 \cdot 10^{-6}$ que celles données par le contact le plus long (48 heures de contact) (tableau 13).

Discussion : Il se vérifie en général pour les insecticides que leur activité sur les insectes suit une loi gaussio-logarithmique, c'est à dire, que le probit de mortalité est une fonction linéaire du logarithme de la dose pour un temps donné et que le probit de mortalité est une fonction linéaire du logarithme du temps de contact pour une dose donnée.

En fait, il n'apparaît pas que ce soit le cas pour l'activité de *Bacillus sphaericus* sur les larves stade IV d'*Anopheles stephensi*. Tout se passe comme s'il se produisait après absorption d'une certaine quantité de bacille, c'est à dire de toxine, un phénomène de blocage. On s'aperçoit que pour des temps de contact supérieurs à 1 heure, il n'y a pratiquement pas d'élévation de mortalité. Ceci s'explique peut être par l'hypothèse suivante : il se produirait un colmatage assez rapide des muqueuses stomacales et intestinales qui ne permettrait plus le passage d'autre toxine. Ceci ne va pas sans compliquer évidemment l'interprétation statistique des résultats.

On voit que pour des temps de contact courts, on obtient (tableau 14) des mortalités aussi importantes que pour des temps beaucoup plus longs. L'ajustement des points-mortalité obtenus à des droites ne se fait correctement que dans une situation, pour 48 heures de contact et ceci est sans doute aléatoire, ($X^2 = 2,856$ (2 ddl).

On ne peut, à notre avis, admettre que l'ajustement se fait d'autant mieux que le temps de contact est plus long puisque les facteurs d'hétérogénéité (tableau 14), à l'exception de 48 heures de contact, sont moins importants pour 1 et 2 heures de contact que pour 6 et 24 heures.

Cette étude mérite d'être poursuivie car il s'en dégage un intérêt pratique certain ; s'il s'avère qu'avec des temps de contacts courts, on obtient des mortalités sensiblement identiques à celles données par des temps plus longs, l'importance de certaines qualités physiques, suspension, mouillabilité, etc ... risque d'en être diminuée et de passer au second plan.

Référence : Dagnogo M. & COZ J., 1980 - Activité larvicide de *Bacillus sphaericus* sur différentes espèces et souches de moustiques.
Rapport n°11, Labo. Entomo. Méd., ORSTOM, S.S.C.
Bondy, 5 pages , 9 tableaux.

TABLEAU 1 - ETUDE DE L'ACTIVITE DE LA POUDRE "STAUFFER" SUR
LES STADES IV D'ANOPHELES STEPHENSI (STR)

Concentrations en g.	24 heures de contact			48 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻³	100	28	28,0	100	99	99,0
10 ⁻⁴	100	38	38,0	100	98	98,0
10 ⁻⁵	100	41	41,0	100	99	99,0
10 ⁻⁶	98	12	12,2	98	78	79,6
10 ⁻⁷	93	0	0,0	93	7	7,5
Témoin	99	0	0,0	98	0	0,0

TABLEAU 2 - ETUDE DE L'ACTIVITE DE LA POUDRE "ABBOTT" SUR LES
STADES IV D'ANOPHELES STEPHENSI (STR)

Concentrations en g.	24 heures de contact			48 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻³	100	62	62,0	100	100	100,0
10 ⁻⁴	100	59	59,0	100	100	100,0
10 ⁻⁵	100	25	25,0	100	91	91,0
10 ⁻⁶	97	11	11,3	95	72	75,8
10 ⁻⁷	99	0	0	99	1	1,0
Témoin	99	0	0	98	0	0

TABLEAU 3 - ACTIVITE DE LA POUDRE "STAUFFER" SUR LES LARVES

STADE IV D'ANOPHELES STEPHENSI (STR)

Concentration en g.	24 heures de contact			48 heures de contact			72 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻³	200	20	10,0	200	200	100,0	200	200	100,0
10 ⁻⁴	199	10	5,0	199	199	100,0	199	199	100,0
10 ⁻⁵	100	2	2,0	100	95	95,0	99	99	100,0
10 ⁻⁶	99	3	3,0	98	27	27,5	96	31	32,3
10 ⁻⁷	195	4	2,0	187	31	16,6	184	34	18,5
10 ⁻⁸	198	4	2,0	191	10	5,2	184	13	7,1
Témoin	197	1	0,5	192	1	0,5	188	1	0,5

TABLEAU 4 - ACTIVITE DE LA POUDRE "STAUFFER" SUR LES LARVES

STADE IV D'ANOPHELES STEPHENSI (ST 15)

Concentration en g.	24 heures de contact			48 heures de contact			72 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻³	100	61	61,0	100	100	100,0	100	100	100,0
10 ⁻⁴	100	93	93,0	100	100	100,0	100	100	100,0
10 ⁻⁵	200	151	75,5	199	192	96,5	99	97	98,0
10 ⁻⁶	100	10	10,0	100	22	22,0	100	25	25,0
10 ⁻⁷	99	9	9,1	99	24	24,2	99	29	29,3
Témoin	200	0	0	200	0	0	200	1	0,5

TABLEAU 5 - ACTIVITE DE LA CULTURE "INSTITUT PASTEUR, DE BANGUI"
SUR LES LARVES STADE IV D'*ANOPHELES STEPHENSI* (STR)

Concentration en CC	24 heures de contact			48 heures de contact			72 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻²	200	74	37,0	200	198	99,0	200	199	99,5
10 ⁻³	200	6	3,0	200	175	87,5	200	183	91,5
10 ⁻⁴	200	5	2,5	200	41	20,5	200	78	39,0
10 ⁻⁵	200	0	0	199	35	17,6	198	65	32,8
Témoin	197	0	0	192	0	0	188	1	0,5

TABLEAU 6 - ACTIVITE DE LA CULTURE "INSTITUT PASTEUR, de BANGUI"
SUR LES LARVES STADE IV D'*ANOPHELES STEPHENSI* (STR)

Concentration en CC	24 heures de contact			48 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻²	99	99	100,0	99	99	100,0
10 ⁻³	100	53	53,0	100	99	99,0
10 ⁻⁴	100	13	13,0	100	29	29,0
10 ⁻⁵	99	12	12,1	99	25	25,2
10 ⁻⁶	100	17	17,0	100	30	30,0
10 ⁻⁷	100	6	6,0	100	13	13,0
Témoin	200	1	0,5	200	1	0,5

TABLEAU 7 - ACTION DE LA CHALEUR SUR LA CONSERVATION DE LA POUDRE

"STAUFFER" : CHAUFFAGE 24 heures à 70°C

(*Anopheles stephensi*, stade IV - ST 15)

Concentration en g	24 heures de contact			48 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻³	96	5	5,2	96	85	88,5
10 ⁻⁴	99	6	6,1	99	85	85,9
10 ⁻⁵	96	6	6,2	96	62	64,6
10 ⁻⁶	75	24	32,0	75	60	80,0
Témoin	90	0	0	89	1	1,1

TABLEAU 8 - ACTION DE LA CHALEUR SUR LA CONSERVATION DE LA POUDRE

"STAUFFER" : CHAUFFAGE 48 heures à 70°C

(*Anopheles stephensi*, stade IV - ST 15)

Concentration en g	24 heures de contact			48 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻³	98	3	3,1	98	85	86,7
10 ⁻⁴	98	0	0	98	77	78,6
10 ⁻⁵	100	8	8,0	100	74	74,0
10 ⁻⁶	97	2	2,1	96	38	39,6
Témoin	90	0	0	89	1	1,1

TABLEAU 9 - ACTION DE LA CHALEUR SUR LA CONSERVATION DE LA POUDRE

"STAUFFER" : CHAUFFAGE 48 heures à 100°C

(*Anopheles stephensi*, stade IV - ST 15)

Concentration en g	48 heures de contact		
	T	M	%M
10 ⁻³	99	0	0
10 ⁻⁴	90	0	0
10 ⁻⁵	99	0	0
10 ⁻⁶	100	0	0
Témoin	96	0	0

TABLEAU 10 - ACTION DE LA TEMPERATURE SUR LA CONSERVATION D'UNE CULTURE DE *BACILLUS SPHAERICUS* (Institut Pasteur, de Barjac) -
Témoin 4 mois à 21 °C (*Anopheles stephensi* st. IV. ST15)

Concentration en CC	24 heures de contact			48 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻³	100	46	46,0	100	87	87,0
0,5 - 10 ⁻³	100	30	30,0	100	65	65,0
10 ⁻⁴	100	2	2,0	100	29	29,0
Témoin	100	0	0,0	100	0	0,0

TABLEAU 11 - ACTION DU FROID SUR LA CONSERVATION D'UNE CULTURE DE *BACILLUS SPHAERICUS* (Institut Pasteur, de Barjac) -
4 mois (- 20°C) (*Anopheles stephensi* st. IV. ST 15)

Concentration en CC	24 heures de contact			48 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻³	100	57	57,0	100	95	95,0
0,5 - 10 ⁻³	100	23	23,0	100	62	62,0
10 ⁻⁴	100	0	0	99	15	15,0
Témoin	100	0	0	100	0	0

TABLEAU 12 - ACTION DU FROID SUR LA CONSERVATION D'UNE CULTURE DE *BACILLUS SPHAERICUS* (Institut Pasteur, de Barjac) -
4 mois (- 80°C) (*Anopheles stephensi* st. IV . ST 15)

Concentration en CC	24 heures de contact			48 heures de contact		
	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻³	98	42	42,9	98	93	94,9
0,5 - 10 ⁻³	100	16	16,0	100	57	57,0
10 ⁻⁴	97	0	0	97	29	29,9
Témoin	100	0	0	100	0	0

TABLEAU 13 - EVALUATION DE LA RELATION ENTRE LE TEMPS DE CONTACT ET LA MORTALITE POUR QUELQUES CONCENTRATIONS DE *BACILLUS SPHAERICUS* (POUDRE "STAUFFER") (*ANOPHELES STEPHENSI* st. IV STR)

concentration en g	48 h de contact et lecture			24 h de contact et 24 h d'observation			6 h de contact et 42 h d'observation			4 h de contact et 44 h d'observation			2 h de contact et 46 h d'observation			1 h de contact et 47 h d'observation		
	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻⁵	50	45	90,0	100	92	92,0	97	89	91,8	75	72	96,0	72	70	97,2	72	72	100,0
0,5-10 ⁻⁵	47	33	70,2	99	87	87,9	95	82	86,3	74	74	100,0	72	60	81,1	74	53	71,6
10 ⁻⁶	49	22	44,9	100	59	59,0	92	47	51,1	74	45	60,8	70	26	37,1	73	17	23,3
0,5-10 ⁻⁶	49	9	18,4	95	14	14,7	97	10	10,3	74	27	36,5	67	2	3,0	65	5	7,7
Témoin	94	3	3,2	94	3	3,2	94	3	3,2	94	3	3,2	94	3	3,2	94	3	3,2

N.B. : Après les temps de contact 1, 2, 4, 6 et 24 heures , nous retirons les larves en contact des produits insecticides et nous les remettons dans de l'eau permutée et les mortalités sont lues après 48 heures.

TABLEAU 14 - TABLEAU DES DOSES LETALES 50 et 90 OBTENUS AVEC DES TEMPS VARIABLES DE CONTACT

Temps de contact	DL ₅₀	s DL ₅₀	DL ₉₀	s DL ₉₀	χ^2 2 ddl	facteur d'hétérogénéité
1 heure	$10^{-5,63}$	0,1107	$10^{-5,13}$	0,1725	8,256 S	4,128
2 "	$10^{-5,73}$	0,1079	$10^{-5,22}$	0,1718	8,127 S	4,062
4 "	$10^{-6,12}$	0,2245	$10^{-5,49}$	0,4200	9,342 S	4,671
6 "	$10^{-5,82}$	0,1642	$10^{-5,16}$	0,3218	13,914 S	6,957
24 heures	$10^{-5,9}$	0,2467	$10^{-5,19}$	0,5399	16,426 S	8,213
48 "	$10^{-5,75}$	0,0727	$10^{-4,9}$	0,1350	2,856 NS	-