



EVALUATION DE BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS DE BARJAC
POUR LA LUTTE CONTRE LES LARVES DE SIMULIUM DAMNOSUM s.l.
II. EFFICACITE COMPAREE DE TROIS FORMULATIONS EXPERIMENTALES

par

P. Guillet¹ et H. Escaffre²

1. INTRODUCTION

Des essais préliminaires sur le terrain ont montré que l'endotoxine de B. t. israelensis pourrait être à la base de la production de larvicides ayant une grande efficacité vis-à-vis des larves de simuliés appartenant au complexe S. damnosum (Guillet et Escaffre, 1979a) tout en ayant une innocuité presque totale pour la faune non-cible des rivières traitées (Dejoux, 1979). Ces essais préliminaires ayant été effectués à l'aide de la poudre primaire R.153-78 préparée à des fins expérimentales par le groupe Roger Bellon-Biochem, il nous a paru intéressant de les compléter en utilisant des présentations plus élaborées de l'endotoxine de B. t. israelensis déjà évaluées contre les larves de moustiques dans le sud de la France (Sinègre et al., 1979). Notre évaluation de trois formulations expérimentales a été faite dans le sud de la Côte d'Ivoire où avaient déjà pris place les expérimentations concernant la poudre primaire R.153-78; la poudre primaire a été employée également, à titre de référence.

2. MATERIELS ET METHODES

Les trois formulations expérimentales utilisées avaient été élaborées à partir de la poudre primaire R.153-78 et se présentaient sous les formes suivantes :

- (a) un concentré émulsionnable à 5 % de poudre primaire;
- (b) une formulation aqueuse concentrée à 10 % de poudre primaire;
- (c) une poudre mouillable dispersible dans l'eau à 50 % de poudre primaire.

L'ensemble des essais a été réalisé sur des populations préimaginales de Simulium damnosum s.l., S. cervicornutum, S. unicornutum, ainsi que sur des larves appartenant au groupe S. alcocki.

Les essais ont été effectués en rivière à l'aide de cages flottantes (Guillet et Escaffre, 1979b) pour chacune des formulations. La poudre mouillable à 50 % a aussi été employée lors d'essais à plus grande échelle sur le terrain.

Les méthodes employées ont été les mêmes que celles utilisées pour l'évaluation des larvicides conventionnels (Guillet, 1978) et lors de l'étude de la poudre primaire (Guillet et Escaffre, 1979a). Les concentrations ont été exprimées en milligrammes par litre de poudre primaire appliqués au volume d'eau à traiter s'écoulant en 10 minutes.

¹Entomologiste médical ORSTOM, Institut de Recherches sur l'Onchocercose de l'OCCGE, Bouaké, Côte d'Ivoire.

²Technicien entomologiste ORSTOM, Institut de Recherches sur l'Onchocercose de l'OCCGE, Bouaké, Côte d'Ivoire.

WHO/VBC/79.735

Page 2

3. EVALUATION PHYSIQUE DES FORMULATIONS

Le concentré émulsionnable se disperse relativement bien dans l'eau mais une proportion importante de la formulation reste en surface et ne s'incorpore à l'eau qu'après un léger brassage. La formulation aqueuse concentrée, de consistance semi-pâteuse, ne se disperse pas spontanément dans l'eau et sombre instantanément au fond du récipient servant à diluer ce concentré. Une fois mélangées de façon homogène à un certain volume d'eau ces deux formulations se mélangent facilement à un volume d'eau beaucoup plus important et leur sédimentation semble relativement lente.

La poudre mouillable se disperse aisément dans l'eau mais des agrégats de 1 à 2 mm de diamètre persistent même après un vigoureux brassage. Ainsi que nous l'avons déjà indiqué dans notre précédente note la poudre primaire est difficilement dispersible dans l'eau.

Après la mise en suspension des différentes formulations la taille moyenne et les tailles extrêmes des particules ainsi obtenues varient considérablement d'une formulation à une autre (tableau n° 1). Les suspensions de poudre primaire et de poudre mouillable contiennent des agrégats sphériques (figure 1) ayant des diamètres moyens respectifs de 29,1 et 14,2 microns (correspondant respectivement à des extrêmes de 5,7 - 100 et 2,3 - 87,4 microns). La suspension obtenue à partir de la formulation aqueuse concentrée est composée presque exclusivement de spores-cristaux isolés avec quelques petits agrégats n'excédant pas 5,7 microns. La suspension créée à partir du concentré émulsionnable contient des agrégats de petite taille (9,5 microns) et d'un nombre important de spores-cristaux isolés.

4. EVALUATION BIOLOGIQUE DES FORMULATIONS

Les observations faites lors de l'évaluation comparée de la poudre primaire et des trois formulations expérimentales sont résumées dans le tableau n° 2. Elles permettent de conclure, en dépit d'une certaine hétérogénéité des résultats obtenus avec la poudre mouillable et le concentré émulsionnable que, pour une même concentration de matière active, plus la suspension obtenue contient de petites particules, moins elle est active vis-à-vis des larves de similies. L'efficacité de la formulation aqueuse est pratiquement nulle. Une évaluation à plus grande échelle de la poudre mouillable a donné des résultats tout à fait comparables à ceux obtenus en cages flottantes, avec une mortalité de 100 % des larves de similies lors d'un traitement à 0,4 mg/l pendant 10 minutes et un effet très modeste pour une application à 0,2 mg/l pendant 10 minutes (tableau n° 3).

5. DISCUSSION DES RESULTATS

Les études les plus récentes faites sur la taille des particules ingérées par les larves de similies appartenant au complexe *S. damnosum* (Elsen, 1979) ont montré que bien que la majorité des particules observées dans le tube digestif des larves des stades 2 à 7 aient moins de 5 microns ces larves pouvaient toutefois, dès le stade 2, ingérer des particules indéformables de 9 x 18 microns et des particules déformables de 26 x 29 microns. Il est probable qu'au cours de l'ingestion certaines des grandes particules sont morcelées contribuant à diminuer la fréquence relative de telles particules dans le tube digestif. Cette fréquence relative des classes de taille des particules ingérées peut donner une fausse idée de l'importance réelle de ces classes dans l'alimentation et l'intoxication des larves de similies. Si l'on exprime les observations en terme de masse ingérée on constate que les particules de 9,5 microns et plus, bien que peu abondantes, représentent une masse beaucoup plus importante que les nombreuses particules d'une taille plus faible.

On doit tenir compte par ailleurs de ce que la poudre primaire est un mélange contenant notamment des débris de cellules végétatives d'une densité spécifique proche de l'unité et des spores-cristaux dont la densité est voisine de 1,28 (Sharpe et al., 1975). Lors de la mise en suspension dans l'eau les grosses particules composites restent donc mieux en suspension que les spores-cristaux isolés et les petits agglomérats de spores-cristaux. Plus la suspension contient de fines particules et plus la matière active, constituée par les cristaux d'endotoxine, et les spores-cristaux, sédimentera rapidement.

Il est difficile de dire actuellement lequel des deux phénomènes précités joue le plus grand rôle pour réduire l'efficacité des formulations expérimentales produisant une grande abondance de petites particules. Des études sont en cours pour étudier ce problème et essayer de déterminer les caractéristiques optimales que devront avoir les formulations de B. t. israelensis pour être opérationnellement efficaces contre les larves de simules.

6. STABILITE DE L'ENDOTOXINE DE B. T. ISRAELENISIS EN MILIEU TROPICAL

A l'issue des essais décrits dans la présente note, les reliquats des formulations expérimentales et de la poudre primaire ont été laissés sur le lieu de l'expérimentation et ont été ainsi exposés à des températures souvent élevées. Trois semaines plus tard une nouvelle série d'essais effectués avec la poudre primaire, et la poudre mouillable a montré que ces deux formulations avaient perdu une partie importante de leur efficacité. Ce phénomène est en cours d'étude.

7. CONCLUSIONS

La toxicité sélective de l'endotoxine de B. t. israelensis pour les larves de simules ouvre des perspectives intéressantes pour la lutte contre les vecteurs de l'onchocercose en Afrique tropicale. Il conviendrait toutefois de déterminer la stabilité de cette endotoxine dans les conditions habituelles de stockage des insecticides en zone tropicale et de préciser, lors de recherches opérationnelles, quelles caractéristiques physiques devraient avoir les particules contenant l'endotoxine pour assurer la destruction des larves de simules immédiatement en-dessous du point de traitement et sur une distance aussi longue que possible en aval.

8. REMERCIEMENTS

Tous nos remerciements vont à ceux de nos collègues qui nous ont encouragés dans ce travail et ont contribué à le rendre possible. Nous souhaiterions nommer à ce titre, en particulier, Mademoiselle H. de Barjac, Institut Pasteur de Paris, et Messieurs Ph. d'Oultremont et L. Charmoille, du Laboratoire Roger Bellon, qui nous ont fourni les échantillons de B. t. israelensis utilisés, Monsieur C. Dejoux, Hydrobiologiste de l'ORSTOM, qui a participé à nos essais, et la Division de la Biologie et du Contrôle des Vecteurs de l'Organisation mondiale de la Santé qui nous a communiqué une partie de la documentation utilisée pour préparer notre étude.

SUMMARY

A primary powder of Bacillus thuringiensis israelensis experimentally produced at the industrial level, R.153-78, has been evaluated against blackfly larvae belonging to the Simulium damnosum complex at the same time and under the same field conditions as three experimental formulations derived from this primary powder: one 50% water dispersible powder, one 10% water-based concentrate and one 5% emulsifiable concentrate. Once mixed with water prior to application to the breeding sites the primary powder and the wdp produced suspensions with respectively large and moderately large particular aggregates containing the B. t. israelensis endotoxin. The emulsifiable concentrate produced a suspension with fine particules and the water-based concentrate resulted in a suspension containing mostly free "spore-crystal" particules. The biological effect on blackfly larvae, for a given concentration of R.153-78, was inversely proportional to the size of the particules, the water-based concentrate being ineffective and the wdp being noticeably less effective than the primary powder itself. Studies are underway to determine if the influence of the particule size is related to the amount of primary powder ingested by blackfly larvae, to the differential sedimentation of inert ingredient and "spore-crystal" particules, or both.

REFERENCES

- de Barjac, H. (1978a) Une nouvelle variété de Bacillus thuringiensis très toxique pour les moustiques, B. thuringiensis var. israelensis, sérotype 14, C.R. Acad. Sci. (Paris), 286 D, 797-800
- Dejour, C. (1979) Recherches préliminaires concernant l'action de Bacillus thuringiensis israelensis de Barjac sur la faune d'invertébrés d'un cours d'eau tropical. Document miméographié OMS, WHO/VBC/79.721, Genève, 11 pp.
- Elsen, P. (1979) La nature et la taille des particules ingérées par les larves du complexe Simulium damnosum dans les rivières de Côte d'Ivoire (Diptera Simuliidae). Rev. Zool. afr., 93, 476-484
- Guillet, P. et Escaffre, H. (1979a) Evaluation de Bacillus thuringiensis israelensis de Barjac pour la lutte contre les larves de Simulium damnosum s.l. I. Résultats des premiers essais réalisés sur le terrain. Document miméographié OMS, WHO/VBC/79.730, Genève, 7 pp.
- Guillet, P. et Escaffre, H. (1979b) La recherche de nouvelles formulations d'insecticides utilisables contre les larves des vecteurs d'onchocercose en Afrique de l'Ouest. Congrès sur la lutte contre les insectes en milieu tropical, 1979, Marseille. A paraître.
- Sharpe, E.S., Nickerson, K. W., Bulla, L. A. et Aronson, J. N. (1975) Separation of spores and parasporal crystals of Bacillus thuringiensis in gradients of certain X-ray contrasting agents. Applied Microbiology, 30, 1052-1053
- Sinègre, G., Gaven, B. et Jullien, J. L. (1979) Evaluation de l'activité larvicide de Bacillus thuringiensis var. israelensis sur les Culicidés. Performances comparées des formulations commerciales. Impact du produit sur la faune non-cible. Document miméographié, EID no.40, Montpellier, 23 pp.

	Poudre primaire	Poudre mouillable à 50 %	Concentré émulsionnable à 5 %	Concentré aqueux à 10 %
Nombre de mesures	348	397	350	-
Taille moyenne en μ	29,1	14,2	9,5	Spores & cristaux isolés 1,5 - 2,5
Ecart type	16	11,3	2,6	-
Taille maximum en μ	100	87,4	20,7	5,7
Taille minimum en μ	5,7	2,3	3,4	1,5

Tableau n° 1. Taille des particules après mise en suspension aqueuse de la poudre primaire R.153-78 et de 3 formulations expérimentales de B. thuringiensis israelensis dérivées de cette poudre primaire

Formulation	Concentrations de poudre primaire R.153-78 utilisées, en mg/l pendant 10 minutes					
	0,1		0,2		0,4	
	Nombre de larves testées	% de mortalité	Nombre de larves testées	% de mortalité	Nombre de larves testées	% de mortalité
Poudre primaire	329	94,4	247	100	-	-
Poudre mouillable à 50%	430	4,4	538	13,5	188	100
Concentré émulsionnable à 5%	1760	3,3	529	35,5	211	23,2
Concentré aqueux à 10%	1983	0,3	701	5,4	141	5,7
Témoin	227	4,6	382	3,5	153	8

Tableau n° 2. Mortalité des larves de S. damnosum s.l. traitées en cages flottantes avec la poudre primaire R.153-78 et trois formulations expérimentales de B. thuringiensis israelensis

Rivière	Date	Débit	Dosage en mg/l pendant 10mn	Effet sur les larves de simules
Goué	7.06.79	1,6m ³ /s	0,4	100 % de mortalité
Goué	8.06.79	2,3m ³ /s	0,2	effet très partiel

Tableau n°3. Essais en rivière d'une poudre mouillable de B. thuringiensis israelensis à 50 % de poudre primaire R.153-78

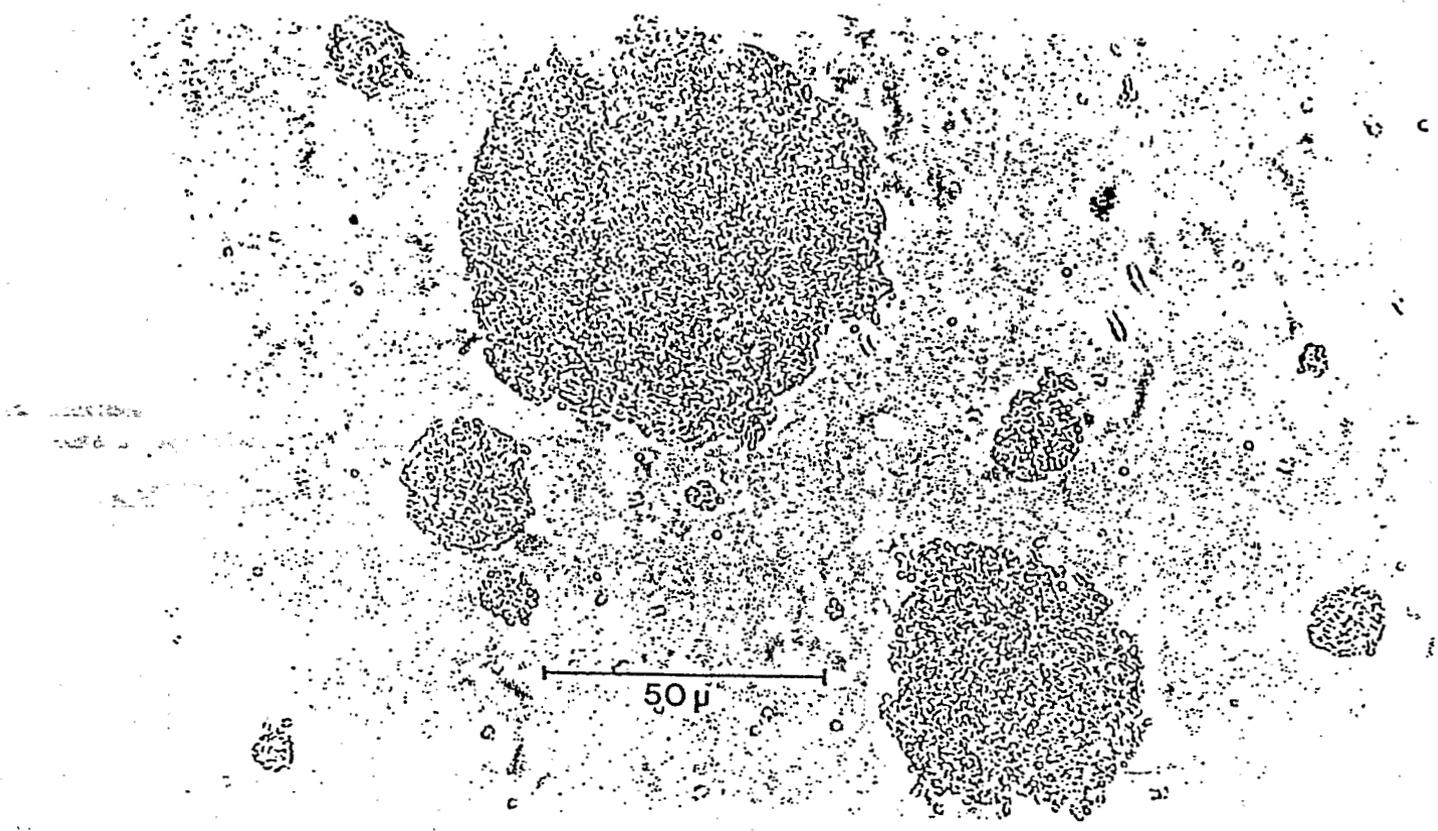


Figure 1. Agrégats observés lors de la mise en suspension dans l'eau de la poudre primaire R.153-78 de B. t. israelensis