

Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoire concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de *Bacillus thuringiensis*

III — Influence séparée ou conjointe de la densité larvaire, du volume ou profondeur de l'eau et de la présence de terre sur l'efficacité et l'action larvicide résiduelle d'une poudre primaire ⁽¹⁾

Gilbert SINÈGRE ⁽²⁾

Bruno GAVEN ⁽²⁾

Jean-Louis JULLIEN ⁽²⁾

Résumé

Les auteurs ont étudié deux paramètres : le nombre de larves et le volume de suspension d'insecticides qui pourraient influencer la mortalité des larves de moustiques quand on les expose à l'endotoxine delta du sérotype H-14 de *B. thuringiensis* dans des conditions par ailleurs normalisées. Ils ont observé que le seul facteur d'importance est la quantité moyenne de matière active par larve. Cela implique que les tests biologiques standardisés peuvent être faits dans des récipients de diverses formes sans qu'il y ait de variation notable dans les résultats aussi longtemps que volume d'eau et nombre de larves par lot reste constant.

Au cours de simulations de terrain en laboratoire, les auteurs ont étudié l'influence du substrat de sol sur l'efficacité de la poudre primaire de cet agent biologique et ont constaté que de tels substrats réduisaient fortement la mortalité larvaire, probablement parce que la matière active sédimente rapidement dans la boue hors de portée des larves de moustique. Ils ont confirmé au cours de ces simulations, que le paramètre le plus important était la quantité de matériel disponible par larve.

Les auteurs ont également étudié le devenir des cristaux d'endotoxine delta après ingestion par les larves de moustiques ; ils ont trouvé qu'ils devenaient rapidement inactifs dans les larves mortes ou moribondes. Des larves saines nourries avec des cadavres de larves venant de mourir intoxiqués par cette toxine n'étaient pas affectées.

Mots-clés : *Culicidae* — Larves — Insecticides — Sensibilité — Formulation.

Summary

CONTRIBUTION TO STANDARDIZATION OF LABORATORY TESTS ON EXPERIMENTAL AND COMMERCIAL FORMULATIONS OF SEROTYPE H-14 OF *Bacillus thuringiensis*. III — SEPARATE OR JOINT INFLUENCE OF LARVAL DENSITY, VOLUME OR DEPTH OF WATER, AND PRESENCE OF SOIL SUBSTRATES ON EFFECTIVENESS AND RESIDUAL LARVICID ACTIVITY OF A PRIMARY POWDER

(1) Cette étude a bénéficié d'une aide financière du Programme spécial PNUD — Banque Mondiale — OMS de Recherche et de Formation concernant les Maladies Tropicales.

(2) Laboratoire d'Évaluation des Insecticides, Entente Interdépartementale pour la Démoustication du Littoral Méditerranéen, B.P. 6036, 34030 Montpellier-Cedex, France.

The authors have investigated two parameters : number of larvae and volume of insecticidal suspension which could influence the mortality of mosquito larvae when exposed to the delta endotoxin of the serotype H-14 of *B. thuringiensis* under otherwise standardized bioassay conditions. They observed that the only factor of importance is the average amount of active material per larva. This implies that standardized bioassays could be carried out in containers of various shapes without any noticeable shift in their results as long as the volume of water and the number of larvae for batch are kept constant.

During laboratory simulations of field conditions, the authors did study the influence of soil substrates on the effectiveness of primary powder of this biological agent and found that such substrates sharply decrease mosquito larvae mortality, probably because the active material rapidly sank into the mud, out of reach of mosquito larvae. They confirmed during these simulations that a most important parameter was the amount of active material available per larva. These findings underline the vital importance of developing formulations of *B. thuringiensis* H-14 which would maintain the delta endotoxin crystals within an easy reach of target larvae.

The authors also investigated the fate of delta endotoxin crystals once ingested by mosquito larvae and found that it was rapidly inactivated within dead or dying larvae. Healthy larvae fed cadavers of larval freshly killed by this toxin were not affected.

Key words : *Culicidae* — Larvae — Insecticides — Sensibility — Formulation.

1. INTRODUCTION

Les première et seconde parties de notre étude (Sinègre, 1980 et 1981 — Sinègre *et al.*, 1980 et 1981) concernant l'amélioration continue de la normalisation des épreuves biologiques destinées à déterminer la teneur en matière active des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de *B. thuringiensis* avaient porté sur la stabilité des suspensions d'épreuve, la détection d'éventuels contaminants chimiques, et l'influence de la température, du chlore libre, du pH, de la profondeur de l'eau et la forme du récipient d'épreuve sur l'activité biologique d'une poudre primaire de cet agent. Les conditions générales de l'épreuve étaient par ailleurs celles recommandées par le Groupe de Travail Scientifique pour la Lutte Biologique contre les Vecteurs (OMS, 1979). Cette troisième partie concerne essentiellement l'étude au laboratoire de variables supplémentaires : le nombre de larves par lot, le volume d'eau, et la présence de sol. Cette étude constitue en fait une simulation des conditions rencontrées sur le terrain et pourrait permettre non seulement de continuer à améliorer la normalisation des épreuves de laboratoire mais aussi de faciliter l'interprétation des essais faits sur le terrain.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Toutes les études ont été effectuées avec la poudre primaire R.153.78 du Laboratoire R. Bel-

lon. La suspension mère et les dilutions successives ont été préparées avant chaque essai en dispersant la poudre primaire dans de l'eau distillée et en agitant énergiquement.

Les études ont porté sur des larves au 4^e stade jeune de *Culex pipiens* et d'*Aedes aegypti* provenant des élevages de l'EID, ainsi que d'*Ae. detritus* toutes prélevées dans un même gîte naturel la veille ou le jour des essais.

La lecture de la mortalité a été faite 24 heures après l'introduction des larves dans les récipients d'épreuve. Les CL50 et CL90, exprimées en milligrammes de poudre primaire par litre, ont été déterminées graphiquement.

2.1. Étude de l'influence de la densité larvaire

Les épreuves ont été effectuées avec *Cx. pipiens* et *Ae. aegypti* dans des béciers contenant chacun 200 ml de suspension de poudre primaire et 6, 12, 24 et 48 larves. Le nombre de lots a été inversement proportionnel au nombre de larves par lot (16, 8, 4 et 2) de façon à ce que les mortalités observées pour chaque combinaison résultent de l'exposition de 96 larves.

2.2. Étude de l'influence du volume d'eau

Les épreuves ont été effectuées avec *Cx. pipiens* et *Ae. aegypti* dans des béciers tous du même modèle recevant respectivement 50, 100, 200 ou 400 ml de suspension de poudre primaire (ce qui correspond à des profondeurs d'eau de 1,3 — 2,6 — 5,2 et 10,4 cm).

Une première expérimentation a été réalisée avec six concentrations de poudre primaire comprise entre 0,012 et 0,4 mg/litre. Une seconde expérimentation a été effectuée en utilisant des concentrations décroissant en proportion inverse du volume (et de la profondeur) d'eau de façon à ce que pour une série de volumes donnée la quantité de poudre primaire par béccher soit constante (0,02 mg).

Quatre lots de 25 larves ont été utilisés pour chaque combinaison.

2.3. Étude de l'influence d'un substrat de terre

Les épreuves ont été effectuées dans des bécchers contenant au fond une couche de terre de 1 cm d'épaisseur, puis 200 ml de suspension de poudre primaire, avec 4 lots de 25 larves pour chaque combinaison étudiée.

Lors des épreuves portant sur *Ae. detritus* la terre utilisée provenait d'un gîte larvaire de cette espèce recouvert par une végétation de *salicornia*. La terre employée pour les essais effectués avec *Cx. pipiens* et *Ae. aegypti* provenait d'une pelouse.

2.4. Étude de l'influence conjuguée des facteurs pré-cédents sur l'efficacité et-ou l'action larvicide résiduelle de la poudre primaire

Une première expérience a consisté à placer un fond de terre dans des bécchers, puis 50 ml seulement de suspension de poudre primaire, puis 50 larves d'*Ae. detritus* par béccher, reproduisant ainsi des conditions de faible profondeur d'eau et de forte densité larvaire souvent rencontrées le long du littoral méditerranéen. Les concentrations de poudre primaire utilisées ont été de 0,8 — 3,2 — 12,4 et 50 mg/l.

Une seconde expérience a consisté à placer dans des bécchers ne recevant pas de terre 50 larves de *Cx. pipiens* dans 200 ml de suspension à 0,2 mg de poudre primaire par litre. Dans de telles conditions, cette concentration correspond à peu près à la CL95 de *Cx. pipiens*. Après environ quatre heures de contact, la presque totalité des larves étant mortes, survivantes et cadavres sont retirés, broyés finement et introduits dans de nouveaux bécchers avec 200 ml d'eau distillée. Vingt cinq larves sont alors placées dans les premiers bécchers d'où les survivantes et cadavres ont été retirés et 25 larves placées dans les bécchers contenant le broyat.

Une troisième simulation des conditions de terrain, à plus grande échelle, a été réalisée en aquarium. Une batterie de six aquariums identiques d'une section horizontale de 10 dm² ont été employés, recevant chacun une couche de terre de 5 cm d'épaisseur, puis des volumes d'eau respectifs de 5, 10, 20, 30, 40 et 40 litres d'eau, correspondant respectivement à des profondeurs d'eau de 5, 10, 20, 30, 40 et 40 cm (fig. 1). Les cinq premiers aquariums ont été traités au même moment par application à leur surface d'une quantité de suspension mère de poudre primaire assurant l'obtention dans chaque aquarium d'une concentration moyenne de 1 mg/l. Le sixième aquarium a servi de témoin. Cent larves de *Cx. pipiens* ont ensuite été placées dans chaque aquarium. Chaque 24 heures de contact, les larves survivantes ont été dénombrées, retirées, et remplacées par 100 nouvelles larves. L'expérience a été continuée jusqu'à diminution notable de la mortalité dans les lots traités.

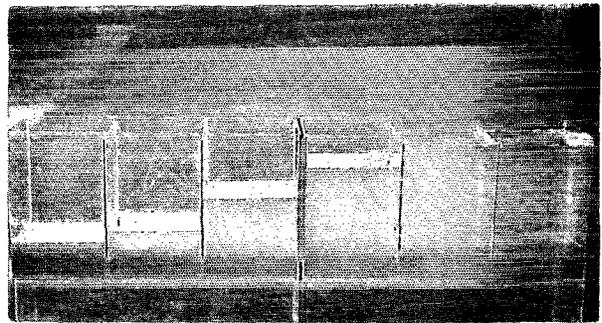


FIG. 1. — Dispositif d'étude, en aquarium, de l'influence de la profondeur de l'eau sur l'efficacité immédiate et résiduelle de la poudre primaire R.153.78 du sérotype H-14 de *B. thuringiensis*.

3. RÉSULTATS

3.1. Influence de la densité larvaire

Les observations, résumées dans le tableau I et la figure 2, montrent une excellente corrélation positive entre les CL50 et CL90 d'une part et le nombre de larves par lot d'autre part. A peu de choses près, les concentrations caractéristiques doublent lorsque la densité larvaire double. Il semble donc que ce soit la quantité de poudre primaire par larve qui conditionne le taux de mortalité.

TABLEAU I

Influence de la densité larvaire sur l'efficacité de différentes concentrations du sérotype H-14 de *B. thuringiensis*. Concentrations exprimées en mg de poudre R.153.78 par litre. CL.50 et CL.90 calculées après exposition pendant 24 heures dans 200 ml d'eau de 16 lots de 6 larves, 8 lots de 12 larves, 4 lots de 24 larves et 2 lots de 48 larves de *Cx. pipiens* et d'*Ae. aegypti*.

Espèce		Nombre de larves par récipient			
		6	12	24	48
<i>Ae. aegypti</i>	CL.50	0,024	0,05	0,065	0,14
	CL.90	0,047	0,09	0,11	0,22
<i>Cx. pipiens</i>	CL.50	0,01	0,02	0,035	0,07
	CL.90	0,025	0,045	0,09	0,18

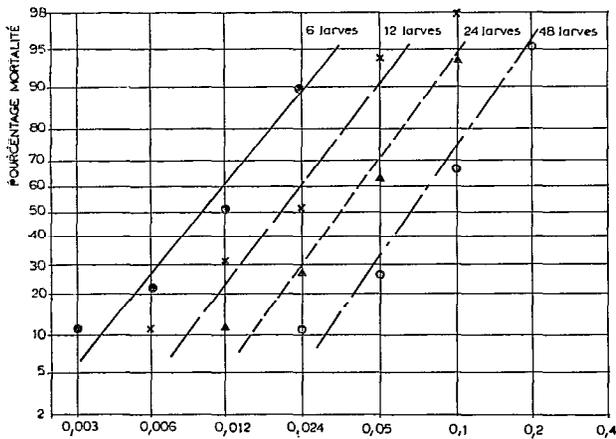


FIG. 2. — Lignes de régression « concentration-mortalité » obtenues en 24 heures après exposition de larves 4^e stade jeune de *Cx. pipiens* à différentes concentrations du sérotype H-14 de *B. thuringiensis*, avec 6, 12, 24 et 48 larves par lot. Concentrations exprimées en mg de poudre R.153.78 par litre. Mortalités calculées sur 96 larves par combinaison étudiée.

3.2. Influence du volume de l'eau

Les observations faites au cours de la première expérimentation, résumées dans le tableau II et la figure 3, montrent cette fois une corrélation négative très marquée entre le volume de l'eau (et sa profondeur qui est proportionnelle au volume) et les CL50 et CL90. Le produit de la CL50 (ou

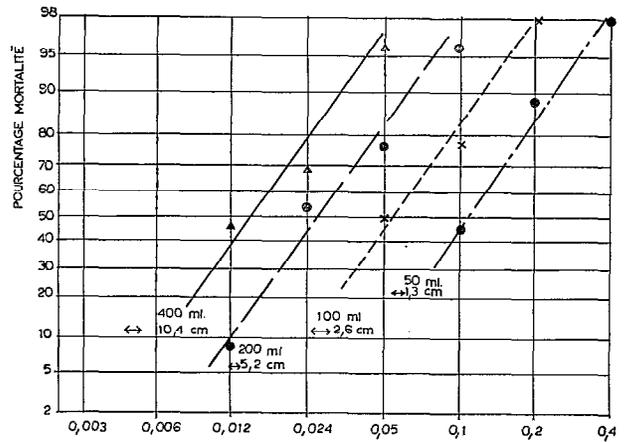


FIG. 3. — Lignes de régression « concentration-mortalité » obtenues en 24 heures après exposition de larves 4^e stade jeune de *Cx. pipiens* à différentes concentrations du sérotype H-14 de *B. thuringiensis* dans les récipients identiques contenant différents volumes des concentrations étudiées : 400, 200, 100 et 50 ml, correspondant respectivement à des profondeurs d'eau de 10,4 — 5,2 — 2,6 et 1,3 cm. Concentrations exprimées en mg de poudre P.153-78 par litre. Mortalités calculées sur 100 larves par combinaison étudiée.

de la CL90) par le volume (ou la profondeur) d'eau est pratiquement une constante.

Ces observations semblent contredire celles présentées lors de la seconde partie de notre étude (Sinègre *et al.*, 1980). En fait, il n'en est rien. Les mortalités obtenues au cours de la seconde expérimentation sur l'influence du volume de l'eau,

TABLEAU II

Influence du volume d'eau sur l'efficacité de différentes concentrations du sérotype H-14 de *B. thuringiensis*. Concentrations exprimées en mg de poudre R.153.78 par litre. Quatre lots de 25 larves 4^e stade jeune de *Cx. pipiens* par concentration et volume d'eau. Mortalités lues après 24 heures de contact.

Volume d'eau	Concentration de poudre R.153.78 et mortalités observées						CL. 50	CL. 90
	0,012	0,025	0,05	0,1	0,2	0,4		
50 ml	—	—	—	44	88	98	0,11	0,24
100 ml	—	—	50	76	98	—	0,055	0,12
200 ml	8	54	74	96	—	—	0,03	0,065
400 ml	46	68	96	100	—	—	0,016	0,032

avec un même poids de poudre primaire par bécber indépendamment du volume de liquide, ont été respectivement de 54 %, 68 %, 68 % et 56 % pour des volumes d'eau de 50, 100, 200 et 400 ml et donc des concentrations en poudre primaire de 0,4 — 0,2 — 0,1 et 0,05 mg/l. Ce qui influence la mortalité paraît donc bien être non pas le volume (ou la profondeur) d'eau dans le bécber, mais la quantité de poudre primaire contenue dans ce bécber. On retrouve ainsi les conclusions découlant de l'étude sur l'influence de la densité larvaire.

3.3. Influence d'un substrat de terre

Les observations, résumées dans le tableau III, montrent que la présence au fond de l'eau d'un substrat de terre « masque » la poudre primaire. Les CL50 et CL90 obtenues en présence d'un tel substrat, par rapport à celles observées en l'absence d'un tel substrat, sont 8 à 9 fois plus élevées dans le cas d'*Ae. aegypti*, 11 à 12 fois plus élevées dans

le cas d'*Ae. detritus*, et 20 à 22 fois plus élevées dans le cas de *Cx. pipiens*.

3.4. Influence conjuguée des différents facteurs étudiés sur l'efficacité immédiate et l'action résiduelle d'une application de poudre primaire

Les résultats de notre première expérimentation, portant sur des lots de 50 larves d'*Ae. detritus* placés dans 50 ml de suspension de poudre primaire avec substrat de terre, montrent que dans de telles conditions les CL50 et CL90 sont respectivement de l'ordre de 15 et 30 mg/l. Ces valeurs sont extrêmement élevées si on les compare à celles obtenues lors de l'étude initiale sur l'influence d'un substrat de terre (tabl. III).

Les résultats de notre seconde expérimentation ont mis en évidence le fait que dans des bécbers contenant une CL95 de poudre primaire après enlèvement des larves mortes et survivantes il ne reste plus assez de matière active dans le

TABLEAU III

Influence d'un substrat de terre sur l'efficacité de différentes concentrations du sérotype H-14 de *B. thuringiensis*. Concentrations exprimées en mg de poudre R.153.78 par litre. Mortalités observées après exposition pendant 24 heures de quatre lots de 25 larves 4^e stade jeune de chaque espèce pour chaque combinaison étudiée.

Concentrations de R.153.78	Conditions expérimentales et mortalités observées					
	<i>Ae. detritus</i>		<i>Ae. aegypti</i>		<i>Cx. pipiens</i>	
	Sans terre	Avec terre	Sans terre	Avec terre	Sans terre	Avec terre
Témoin	0	4	0	0	0	0
0,02	0	—	0	—	0	—
0,04	4	—	40	—	46	—
0,08	32	—	90	—	88	—
0,16	64	—	100	—	100	—
0,32	88	—	100	30	100	10
0,64	—	8	—	86	—	45
1,2	—	48	—	100	—	70
2,5	—	74	—	100	—	97
5	—	94	—	—	—	100
CL.50	0,13	1,5	0,05	0,4	0,04	0,8
CL.90	0,32	3.5	0,07	0,65	0,08	1,8
CL.90 Terre	× 10,9		× 9,3		× 22,5	
CL.90 sans terre						

bécher pour intoxiquer un second lot de larves introduit dans ce bécher. Le broyat des larves survivantes et mortes n'a par ailleurs aucune toxicité pour les larves de moustiques.

Les résultats de la troisième expérimentation, conduite en aquarium, sont résumés dans le tableau IV. La concentration unique de 1 mg de poudre primaire par litre n'a entraîné une mortalité initiale totale que pour des volumes d'eau égaux ou supérieurs à 20 l (soit des profondeurs d'eau égales ou supérieures à 20 cm), c'est-à-dire pour des applications égales ou supérieures à 200 mg/m². L'efficacité résiduelle de l'application croît avec le volume et la profondeur d'eau, c'est-à-dire avec la dose de poudre primaire par unité de surface.

TABLEAU IV

Résultats d'une étude en aquarium de l'efficacité immédiate et résiduelle, sous différents volumes d'eau, d'une concentration du sérotype H-14 de *B. thuringiensis* de 1 mg de poudre R.153.78 par litre. Mortalités observées 24 heures après l'introduction dans chaque aquarium de 100 larves 4^e stade jeune de *Cx. pipiens*. Introductions effectuées au moment de la préparation des aquariums, puis après 1, 3, 7, 9, 11 et 13 jours.

Nombre de jours écoulés entre la préparation du milieu et l'introduction des larves	Conditions expérimentales et mortalités observées				
	40 l	30 l	20 l	10 l	5 l
	100	100	100	96	72
1	100	100	100	58	19
3	100	99	76	52	6
7	97	84	38	8	0
9	99	89	59	0	0
11	89	78	58	0	—
13	93	51	44	—	—

4. DISCUSSION ET CONCLUSION

Tous les résultats présentés ici semblent pouvoir être expliqués par l'influence de deux facteurs : la sédimentation de la matière active, et la quantité de matière active disponible par larve de moustique. Les résultats des différentes expérimentations sur la densité larvaire et le volume de l'eau mettent parfaitement en évidence l'influence majeure de

cette quantité de matière active par larve. Les résultats des expérimentations conduites avec un substrat de terre montrent la grande diminution d'efficacité résultant de la sédimentation rapide de la matière active (Guillet *et al.*, 1980) suivi probablement par son « enlèvement » dans le substrat, les minimales différences observées entre *Cx. pipiens*, *Ae. caspius* et *Ae. aegypti* pouvant être attribuées aux différences de comportement existant entre les larves de ces espèces. Il semble par ailleurs très clair qu'après absorption par les larves de moustiques, la matière active disparaît ou devient extrêmement labile, l'ingestion par des larves en bonne santé du broyat de larves empoisonnées par le sérotype H-14 de *B. thuringiensis* n'entraînant aucune mortalité. Indépendamment du recyclage biologique du Bacille qui ne semble pas pouvoir se produire dans les gîtes larvaires de moustiques, il n'y a donc pas de recyclage mécanique de la matière active. Du fait de l'absence de recyclage, une larve de moustique absorbant, dans une suspension d'épreuve très hétérogène, un agrégat contenant 10 fois la dose létale risquerait en effet de « protéger » 9 autres larves de la mort, perturbant ainsi considérablement les résultats de l'épreuve.

Sur le plan de la méthodologie des épreuves de laboratoire visant à comparer diverses formulations avec le standard IPS.78 (de Barjac, 1979 — OMS, 1979), on peut donc conclure que le facteur essentiel est la quantité de matière active effectivement disponible par larve. Il faudra donc attribuer une très grande importance à la normalisation de la quantité de liquide et du nombre de larves par lot, ainsi qu'à une dispersion dans ce liquide de la matière active des formulations à comparer aussi identique que possible pour chacune de ces formulations. La méthode de dispersion de la matière active à employer, ou la durée de son application, devrait ainsi être ajustée aux caractéristiques de chacune des formulations. L'influence possible du substrat ne devrait pas être négligée ; la matière active se présente sous forme de particules qui seront presque toutes ingérées lors des épreuves entraînant normalement une mortalité de l'ordre de 95 % à 99 % ; tout revêtement du récipient d'épreuve susceptible de prévenir l'ingestion des cristaux d'endotoxine paraît ainsi susceptible de diminuer la mortalité toutes conditions étant égales par ailleurs ; l'emploi de récipients de verre ou de métal émaillé à fond lisse devrait donc être préféré à celui de gobelets de carton enduit ou de matière plastique non lisse.

Sur le plan de l'application sur le terrain, nos résultats montrent clairement que les dosages

devront être calculés en fonction de la surface à traiter et non pas en fonction de celui du volume d'eau. Les dosages devront être plus élevés lorsque la densité larvaire des moustiques est plus élevée, et aussi s'il existe dans les gîtes d'autres organismes susceptibles d'absorber, et donc de « négativer », la matière active (par exemple des larves chironomides) (Sinègre *et al.*, 1979a). La perte de matière active par sédimentation pouvant être considérable (90 à 95 % lors de certaines expérimentations), l'importance de produire des formulations maintenant la matière active proche de la surface de l'eau ne saurait trop être soulignée. Nos présentes expérimentations permettent de mieux comprendre certains résultats de terrain inattendus que nous avons observés en 1979 (Sinègre *et al.*,

1979b) lorsque les dosages appliqués avaient été calculés sur la base du volume d'eau traité ; ces gîtes étant peu profonds, la quantité de matière active par unité de surface avait été insuffisante et les résultats moins bons qu'escomptés.

REMERCIEMENTS

Nous remercions bien sincèrement toutes les personnes de l'EID qui ont contribué à cette étude ou en ont facilité la réalisation, et en particulier M. Ferlet, Secrétaire général, et le Dr Cousserans, Directeur technique. Nous souhaitons également remercier les Drs Coz et Mouchet, de l'ORSTOM, et les spécialistes de la Division de la Biologie et du Contrôle des Vecteurs de l'OMS, qui nous ont encouragés dans nos recherches et avec lesquels nous avons discuté nos résultats.

Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M. le 17 avril 1981

BIBLIOGRAPHIE

- DE BARJAC (H.), 1979. — Note sur la préparation d'une formulation de référence, IPS.78, pour le titrage biologique des formulations expérimentales et industrielles du sérotype H-14 de *Bacillus thuringiensis*. *Doc. miméogr.* OMS, WHO/VBC/79.741, Genève, 6 pp.
- GUILLET (P.), ДЕМПАХ (J.) & COZ (J.), 1980. — Évaluation de *Bacillus thuringiensis* sérotype 14 de Barjac pour la lutte contre les larves de *Simulium damnosum* s.l. III. Données préliminaires sur la sédimentation de l'endotoxine dans l'eau et sur sa stabilité en zone tropicale. *Doc. miméogr.* OMS, WHO/VBC/80.756, Genève, 9 pp.
- OMS, 1979. — Report of the Third Meeting of the Scientific Working Group on Biological Control of Insect Vectors of Diseases. *Doc. miméogr.* OMS, TDR/BCV-SWG (3)/79.03, Genève, 40 pp.
- SINÈGRE (G.), 1980. — Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoire concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de *Bacillus thuringiensis*. I. Stabilité des suspensions d'épreuve et détection des éventuels contaminants chimiques toxiques pour les larves de moustiques. *Doc. miméogr.* OMS, WHO/VBC/80.769, Genève, 7 pp.
1981. — *Idem.* *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XIX, n° 3 : 143-147.
- SINÈGRE (G.), 1981. — *Idem.* *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XIX, n° 3 : 148-155.
- SINÈGRE (G.), GAVEN (B.) et JULLIEN (J.-L.), 1979a. — Sécurité d'emploi du sérotype H-14 de *Bacillus thuringiensis* pour la faune non-cible des gîtes à moustiques du littoral méditerranéen français. *Doc. miméogr.* OMS, WHO/VBC/79.742, Genève, 6 pp.
- SINÈGRE (G.), VIGO (G.), GAVEN (B.) & JULLIEN (J.-L.), 1979b. — Activité larvicide immédiate et action résistante de l'endotoxine du sérotype H-14 de *Bacillus thuringiensis* dans deux biotopes à moustiques du littoral méditerranéen français. Efficacité comparée de sept formulations expérimentales dérivées de la même poudre primaire. *Doc. miméogr.* OMS, WHO/VBC/79.747, Genève, 7 pp.
- SINÈGRE (G.), GAVEN (B.) & VIGO (G.), 1980. — Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoire concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de *Bacillus thuringiensis*. II. Influence de la température, du chlore résiduel, du pH et de la profondeur de l'eau sur l'activité biologique d'une poudre primaire. *Doc. miméogr.* OMS, WHO/VBC/80.770, Genève, 8 pp.
1981. — *Idem.* *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XIX, n° 3 : 149-155.