

Evaluation de l'efficacité de nouveaux larvicides
pour la lutte contre les vecteurs d'endémies
en Afrique de l'Ouest.

Jean Marc HOUGARD

TDM 38

ORSTOM

Editions de l'ORSTOM

INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION

Collection :

Travaux et documents microédités
PARIS 1988

ISBN 2-7099-0911-1

© ORSTOM

« La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, « que les «copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective» et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, «toute représentation ou reproduction intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite» (alinéa 1er de l'article 40).

« Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code Pénal ».

F4

Cet ouvrage a fait l'objet d'une thèse de Doctorat soutenue le 14 novembre 1986 à l'Université Paris 6.

SOMMAIRE

AVANT PROPOS

INTRODUCTION

CHAPITRE I : PRESENTATION DES ZONES D'ETUDE

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE III : LUTTE CONTRE LES LARVES DU COMPLEXE SIMULIUM DAMNOSUM :
EVALUATION DE L'ACTIVITE LARVICIDE DE BACILLUS
THURINGIENSIS H-14 ET D'ANALOGUES DE REGULATEURS DE
CROISSANCE

CHAPITRE IV : LUTTE CONTRE LES LARVES D' AEDES AEGYPTI : EVALUATION
DE L'ACTIVITE LARVICIDE DE BACILLUS THURINGIENSIS H-14

CHAPITRE V : LUTTE CONTRE LES LARVES DE CULEX QUINQUEFASCIATUS :
EVALUATION DE L'ACTIVITE LARVICIDE DE BACILLUS
THURINGIENSIS H-14, BACILLUS SPHAERICUS ET
D'ANALOGUES DE REGULATEURS DE CROISSANCE

CHAPITRE VI : DISCUSSION GENERALE

CHAPITRE VII : CONCLUSIONS GENERALES

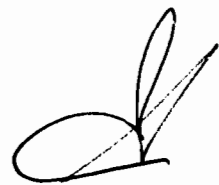
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RESUME

SUMMARY

TABLE DES MATIERES

A handwritten signature or mark, possibly a stylized 'd' or 'l', located in the top right corner of the page.

AVANT PROPOS

Dans les pays tropicaux, les insectes jouent un rôle important dans la propagation des grandes endémies parasitaires ou virales. Pour lutter contre ces maladies, les moyens thérapeutiques sont parfois inexistants, voire insuffisants ou difficiles à appliquer pour un traitement de masse. C'est pourquoi la lutte peut s'orienter vers le vecteur, afin de briser un maillon de la chaîne épidémiologique et réduire la transmission de l'agent pathogène.

Actuellement cette lutte peut faire appel à des procédés physiques, mettre en jeu des phénomènes génétiques (Coz, 1978), ou encore faire intervenir des prédateurs, des parasites et surtout des substances toxiques de synthèse ou d'origine biologique (insecticides).

Si les insecticides chimiques sont couramment employés en santé publique (Quélennec, 1978 ; Mouchet, 1980), leur utilisation se heurte cependant à un certain nombre de problèmes tels que la résistance des vecteurs à ces composés, la contamination de l'environnement ou encore le coût des traitements.

Toutes ces difficultés nécessitent constamment la recherche de nouveaux insecticides de remplacement et la sélection de formulations répondant le mieux aux diverses contraintes imposées par un programme de lutte antivectorielle.

Suivant l'écologie de l'espèce cible et les rapports de celle-ci avec l'homme, la lutte contre les vecteurs peut être appropriée tantôt au niveau des larves tantôt au niveau des adultes: la campagne pilote de lutte contre les glossines à Vavoua en Côte d'Ivoire (Laveissière et al., 1980) fournit un bon exemple de lutte adulticide alors que le programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest (Philippon et Le Berre, 1978 ; WHO, 1984a) repose uniquement sur une lutte contre les larves de simulies.

C'est dans le cadre de cette lutte larvicide que se situe notre travail, qui porte sur l'évaluation sur le terrain, à échelle réduite, de l'efficacité de deux nouvelles familles d'insecticides: les agents de lutte biologique et les composés régulateurs de croissance.

Dans un premier temps, nous avons testé diverses formulations de ces produits sur les larves du complexe Simulium damnosum Theobald, 1903. Nous avons ensuite élargi le programme d'évaluation en testant ces mêmes familles de composés sur deux autres importants vecteurs de maladies en milieu tropical: Culex quinquefasciatus Say, 1823 et Aedes aegypti Linné, 1762.

Cette étude a été réalisée en Côte d'Ivoire au sein de la mission ORSTOM* de Bouaké auprès de l'O.C.C.G.E.**, à l'Institut de Recherches sur la Trypanosomiase et l'Onchocercose, rebaptisé Institut Pierre Richet, le 21 avril 1985.

Nous avons bénéficié au cours de ce travail d'importantes subventions sous forme de contrats de recherches passés entre l'O.C.C.G.E. et l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.), plus précisément le programme O.C.P. (Onchocerciasis Control Programme) et le programme spécial TDR (Tropical Diseases Research) de recherches et de formation concernant les maladies tropicales.

Cette étude a pu être menée à bien grâce au soutien moral et matériel de nombreuses personnes parmi lesquelles je remercie tout particulièrement:

- Monsieur le Directeur Général de l'ORSTOM pour les facilités qu'il m'a accordées lors de la réalisation et la rédaction de ce travail.

- Monsieur le Secrétaire Général de l'O.C.C.G.E. qui m'a fait bénéficier du personnel, du matériel et des locaux nécessaires au bon déroulement de mes recherches.

- Madame J. Raccaud-Schoëller, Professeur à l'Université Paris VI, qui a suivi avec intérêt le déroulement de mes travaux et m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

- Monsieur J. Bergerard, Professeur de l'Université Paris Sud, qui a bien voulu s'intéresser à mon travail et accepté de figurer parmi les membres du jury.

- Monsieur J. Coz, Président de la Commission Scientifique ORSTOM des sciences biologiques appliquées à l'homme, qui m'a toujours encouragé et soutenu dans mes activités. Sa grande compétence et sa longue expérience, particulièrement dans le domaine des insecticides, m'ont été d'un grand secours lors de la rédaction de ce manuscrit.

- Monsieur R. Le Berre, de l'Organisation Mondiale de la Santé, qui m'a fait bénéficier de sa grande expérience et m'a apporté son précieux concours dans la correction de ce manuscrit. Je le remercie de me faire l'honneur de participer à mon jury de thèse.

* Institut français de recherche pour le développement en coopération

** Organisation de Coopération et de Coordination pour la lutte contre les Grandes Endémies.

- Monsieur B. Philippon, Responsable de l'unité de lutte antivectorielle du programme OCP, qui a toujours suivi de près le déroulement de mes travaux et accepté de faire partie des membres du jury. Ses compétences dans le domaine de l'onchocercose m'ont été d'une aide très appréciable pendant toute la durée de ce travail.

- Monsieur D. Quillévéré, Directeur de l'Institut Pierre Richet pendant les trois années passées à Bouaké. Outre ses remarquables connaissances sur l'onchocercose, j'ai pu apprécier et bénéficier de ses qualités d'organisateur et de ses qualités humaines. Qu'il trouve ici l'expression de toute ma gratitude et de mon amitié.

- Monsieur P. Guillet, avec qui j'ai eu le plaisir de travailler pendant mes deux premières années à Bouaké. Il m'a fait bénéficier de ses connaissances sur les insecticides, ainsi que de son réalisme et de son expérience du terrain. Je lui en suis vivement reconnaissant.

- Monsieur J. Duval pour son expérience, son active participation et son amical soutien tout au long de ce travail. Je le remercie également pour les excellents clichés qu'il a bien voulu réaliser et qui figurent en partie dans ce manuscrit.

- Monsieur H. Escaffre pour son expérience de terrain qui s'est révélée indispensable au bon déroulement de nos activités. Il a grandement contribué, par son ingéniosité, à la mise au point et à la réalisation de tous les dispositifs d'évaluation utilisés dans cette étude.

- Messieurs J.M. Doannio et J. Dossou-Yovo qui m'ont activement et efficacement secondé pendant ma dernière année à Bouaké.

- Monsieur L. Nicolas pour son dynamisme et son aide précieuse, particulièrement dans le domaine de la bactériologie.

- Monsieur J. Brengues, Directeur du C.E.M.V. de Bouaké puis responsable du département santé de l'ORSTOM, qui a toujours suivi avec intérêt le déroulement de mes activités. Qu'il trouve ici l'expression de toute ma gratitude et de mon amitié.

- Monsieur J. Mouchet, Inspecteur Général de Recherche honoraire de l'ORSTOM, pour sa grande compétence dans le domaine des insecticides et ses précieux conseils lors de la rédaction de ce manuscrit.

- Monsieur D. Couret qui, par les programmes informatiques qu'il a réalisés, a contribué à l'analyse statistique de nos résultats.

- Messieurs J. Prod'hon, J.P. Eouzan, C. Laveissière, L. Penchenier, T. Soukalo, G. Hébrard, J.M. Prud'hom, S. et P. Grébaut, C. Bellec, P. Diallo et A. Meda, mes collègues et amis de l'Institut Pierre Richet.

- Messieurs S. Bakayoko, V. Sanou, B. Koffi, B. Sanou, O. Sogomori, D. Souleymane, P. Ido Koro, T. Ousseini de l'équipe "insecticide" de l'IPR, sans lesquels cette étude n'aurait pu être menée à bien.

- Mesdames D. Disset, C. Gadioux et B. Ayosso, Monsieur D. Nazanga ainsi que tout le personnel auxiliaires, chauffeurs et captureurs de l'I. P. R.

- Messieurs P. Carnevale, V. Robert et F. Darriet du centre ORSTOM de Bobo-Dioulasso qui ont collaboré efficacement à nos travaux sur les moustiques urbains.

- Monsieur G. Quélennec, de l'Organisation Mondiale de la Santé, avec qui nous avons collaboré étroitement pendant ces trois années à Bouaké.

- Monsieur R. Subra, de l'Organisation Mondiale de la Santé, pour son expérience et son savoir, dont il a bien voulu nous faire bénéficier.

- Monsieur G. Chauvet, responsable de l'unité de recherche ORSTOM sur les insecticides, pour les facilités qu'il nous a accordées et ses connaissances scientifiques, particulièrement dans le domaine de la lutte antivectorielle.

- Mes deux complices N. Elissa et L. Lochouarn pour leurs conseils judicieux et les agréables moments passés en leur compagnie.

- Monsieur S. Karch pour sa brillante collaboration lors des derniers travaux réalisés au centre de Bondy.

- Monsieur M. Germain pour ses précieux conseils et sa disponibilité lors de la rédaction de ce manuscrit.

- Les entomologistes et techniciens du programme de lutte contre l'onchocercose: D. Kurtack, P. Renaud, M. Ocran, A. Akpoboua, M. Ouedraogo avec qui j'ai travaillé en étroite collaboration.

- Mes collègues de l'ORSTOM de Bondy et de Paris, A. Challier, A. Rickenbach, Ph. Desenfant, D. Berl, J. Pastre, C. Sannier, V. André, J. Barathe, D. Boucharinc, B. Roze et Y. Cavalazzi qui m'ont toujours encouragé pendant cette année en France.

- Mes collègues de l'Institut Pasteur de Paris, H. de Barjac, J.F. Charles, C. Bourgouin et I. Thiéry-Larget pour leurs précieux conseils, particulièrement dans le domaine de la bactériologie.

- Les autorités administratives, ministères, préfectures et autorités sanitaires de Côte d'Ivoire sans lesquelles ce travail n'aurait pu être mené à bien.

A mes parents, en témoignage d'affection et de profonde gratitude.

INTRODUCTION

Trois vecteurs importants de graves endémies ont en commun de pouvoir être combattus efficacement au niveau larvaire:

- S. damnosum Theobald, 1903, responsable de la transmission de l'Onchocercose humaine en Afrique de l'Ouest (Blacklock, 1926). Le vaste programme de lutte entrepris dans cette région contre cette maladie* repose uniquement sur une lutte antivectorielle larvicide. Les quelques essais réalisés contre les adultes n'ont pas permis d'envisager une telle lutte au stade opérationnel (Bellec, 1984).

- A. (Stegomyia) aegypti Linné, 1762, important vecteur d'arboviroses, notamment de fièvre jaune (Finlay, 1881 ; Reed et al., 1901). Une révision des conditions de transmission du virus amaril en Afrique (Hamon et al., 1971 ; Cordellier et al., 1974) montre que ce moustique est le principal responsable des épidémies interhumaines au niveau des villes et des villages. Si la lutte contre les adultes est nécessaire pendant les épidémies (Hervy, 1978), le traitement antilarvaire a une valeur préventive et reste très efficace en période interépidémique.

- C. quinquefasciatus Say, 1823**, important vecteur de la filariose de Bancroft en Afrique de l'Est (Nelson et al., 1962 ; White, 1971a). Ce moustique n'est pas un vecteur en Afrique de l'Ouest (Subra, 1973 ; Brengues, 1975), bien que des transmissions expérimentales aient été obtenues au laboratoire (Subra, 1965 ; Ogunba, 1971). La lutte antilarvaire paraît être la plus appropriée et la plus efficace bien que les adultes puissent être éliminés par des pulvérisations intradomiliaires lors des campagnes de lutte contre les anophèles.

Ces trois vecteurs sont résistants à un grand nombre d'insecticides chimiques couramment utilisés en santé publique. La lutte contre ces insectes doit faire alors appel à de nouvelles substances toxiques et si possible à de nouvelles classes d'insecticides pour diminuer les risques de résistance avec des composés analogues (résistance croisée).

* Programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest (O. C. P.).

** anciennement dénommé Culex pipiens fatigans Niedemann, 1828.

Nous avons ainsi testé deux catégories d'insecticides dont les facteurs toxiques et les mécanismes d'action sont différents des autres composés:

- Bacillus thuringiensis var. israelensis de Barjac, 1978 et Bacillus sphaericus Neide, 1904, deux bactéries entomopathogènes qui synthétisent des toxines protéiques activées uniquement sous certaines conditions enzymatiques et de pH;
- des composés régulateurs de croissance qui agissent sur la physiologie de l'insecte en perturbant les mécanismes du développement.

Outre la contribution à la sélection de nouveaux composés utilisables en santé publique, ce travail permet également de comparer la lutte antilarvaire en milieu aquatique, d'une part entre des insecticides divers, d'autre part entre des vecteurs vivant dans des biotopes différents:

- les larves de S. damnosum s.l. vivent en eaux courantes fixées sur des supports naturels;
- les larves d'A. aegypti vivent dans des petits réservoirs d'eau claire;
- les larves de C. quinquefasciatus vivent en eau polluée.

Après avoir présenté les zones d'étude et les larvicides testés, nous avons regroupé au sein d'un même chapitre les différentes techniques d'évaluation avant d'aborder, pour chaque vecteur, les résultats et les conclusions de notre travail. Nous terminerons enfin par une réflexion plus générale sur les différents problèmes rencontrés lors de l'évaluation des insecticides en santé publique.

CHAPITRE I

PRESENTATION DES ZONES D' ETUDE

Tous les gîtes étudiés se situent en Côte d'Ivoire. Aussi allons nous tout d'abord faire une présentation générale de ce pays avant de passer en revue les différents sites d'étude.

1. PRESENTATION GENERALE DE LA COTE D'IVOIRE (Fig. 1)

Située entre 4°30' et 10°30' de latitude Nord et 2°30' et 8°30' de longitude Ouest, la Côte d'Ivoire couvre une superficie de 321 000 km carrés et possède une population d'environ 8 000 000 d'habitants. Appartenant au vaste ensemble géographique de l'Afrique de l'Ouest, ce pays est limité au sud par une partie du golfe de Guinée, à l'ouest par le Libéria et la Guinée, au nord par le Mali et le Burkina-Faso et à l'est par le Ghana.

La Côte d'Ivoire possède un climat chaud dont les moyennes journalières de température calculées sur toute l'année sont voisines de 25°C. La zone de convergence inter-tropicale (Z.C.I.T), ligne de démarcation entre l'air chaud et sec de l'harmattan et l'air plus frais et humide de la mousson, détermine le régime pluviométrique qui, dans le cas de la Côte d'Ivoire, peut être modifié par la présence à l'ouest de divers massifs montagneux. Cette pluviométrie varie de 1200 à 2200 mm et détermine de deux à quatre saisons selon les régions: on passe ainsi insensiblement, du sud vers le nord, d'un régime équatorial de quatre saisons (grande saison sèche, grande saison des pluies, petite saison sèche, petite saison des pluies) à un régime tropical de deux saisons (saison sèche, saison des pluies).

La Côte d'Ivoire se divise schématiquement en deux grand types de végétation: la forêt dense et différents paysages de savanes.

La forêt dense s'étend sur tout le sud du pays, de la région de Man à celle de Bondoukou, en dessinant toutefois une profonde échancrure dans le pays Baoulé, le long du Bandama et du N'Zi.

La savane "guinéenne" est une savane arborée avec forêts-galeries, elle remonte jusqu'au niveau de Touba et de Katiola.

Les savanes "sub-soudanaise" et "soudanaise" formées de savanes herbeuses, de forêts claires et de forêts-galeries s'étendent sur tout le nord de la Côte d'Ivoire.

Le réseau hydrographique de Côte d'Ivoire comprend quatre bassins principaux orientés nord-sud (le Cavally, le Sassandra, le Bandama et la Comoé) ainsi que quelques fleuves côtiers et des affluents du fleuve Niger au nord.

Long de 700 km, le Cavally prend sa source en Guinée, au nord du mont Nimba, et sert de frontière naturelle entre le Libéria et la Côte d'Ivoire dans son cours moyen et inférieur.

Plus à l'est, le Sassandra (650 kms) prend également sa source en Guinée, dans la région de Beyla, sous le nom de FéréDougouba ou Bagbé.

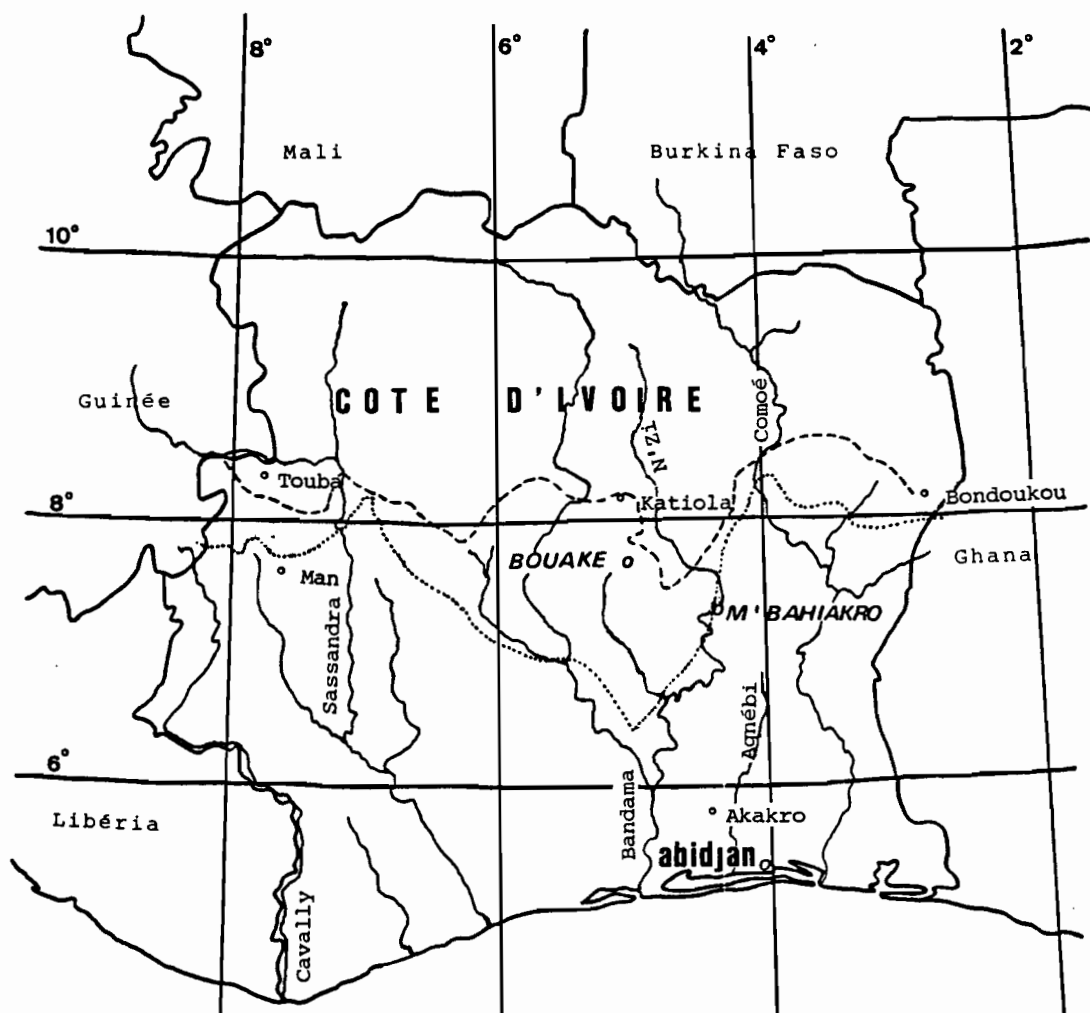


Fig. 1: Présentation générale de la Côte d'Ivoire et situation des différentes zones d'étude.

.... : limite forêt / savane

---- : limite savane guinéenne / savane sub-soudanaise et soudanaise

Au centre, le Bandama, d'une longueur de 1050 kms, prend sa source dans la région de Boundiali et reçoit peu après Kossou un affluent important, la Marahoué ou Bandama rouge.

Avec un cours de 1160 kms, la Comoé est le plus long fleuve de Côte d'Ivoire. Situé à l'est, celui-ci prend sa source dans la région de Banfora au Burkina Faso.

2. LES GITES PREIMAGINAUX A SIMULIUM DAMNOSUM

2.1. Rappels généraux

Les gîtes* à S. damnosum s.l. sont situés sur des portions de cours d'eau présentant un certain nombre de conditions indispensables à l'installation et au maintien des stades préimaginaux: outre la présence d'une vitesse de courant satisfaisante (comprise entre 0.5 et 2 m/s), le cours d'eau doit véhiculer une quantité suffisante et adéquate de matière organique en suspension et présenter des supports nécessaires à la fixation de la population de similies (Le Berre, 1966). L'eau doit posséder également des caractéristiques physico-chimiques (pH, composition ionique, T°, conductivité) compatibles avec le développement de cette espèce (Quillévé, 1979).

La zone de nutrition de ces larves se situe le plus souvent dans les 50 premiers centimètres d'eau (Philippon et al., 1973). La durée du développement préimaginal varie suivant la température et la quantité de nourriture disponible. En région de savane, Séchan (1980) a observé que dans des conditions très favorables, les 7 stades larvaires pouvaient se développer en seulement 4-5 jours et les premiers adultes émerger 6 à 7 jours après l'éclosion des oeufs.

Différents facteurs ont été pris en compte lors de la sélection de nos gîtes d'étude:

- la présence pendant la plus grande partie de l'année d'une population larvaire abondante;
- la possibilité d'installation des dispositifs d'évaluation à échelle réduite (cf chapitre II);
- un accès facile aux gîtes et aux supports larvaires;
- une bonne connaissance cytotaxonomique des espèces présentes.

* Qu'il s'agisse des moustiques ou des similies, le terme de gîte sera employé dans le sens de gîte préimaginal (oeufs, larves et nymphes).

Compte-tenu de ces facteurs et de la superficie couverte par la zone du programme de lutte contre l'onchocercose, le choix de nos zones d'étude était très limité. Toutefois, les deux gîtes décrits ci-après répondent à ces conditions. Ils sont de plus complémentaires dans la mesure où ils nous permettent de travailler pendant pratiquement toute l'année et sur plusieurs espèces du complexe S. damnosum.

2.2. La station de Touba

Située à proximité du village de N'Golodougou (8°24 N, 7°38 W) et à quelques kilomètres de la sous-préfecture de Touba (fig. 1), cette station appartient à la zone de savane guinéenne, caractérisée par une savane à hautes herbes plus ou moins boisée et des galeries forestières continues qui, dans le cas particulier de notre zone d'étude, sont occupées principalement par Pandanus sp. et Raphia sp.

Les variations journalières et saisonnières de température et d'hygrométrie sont nettement plus accentuées que dans la zone de forêt tropicale. Etant donné la proximité de massifs montagneux, les précipitations, réparties de juin à octobre (saison des pluies), sont pratiquement aussi importantes qu'en zone de forêt tropicale.

Le gîte préimaginal est très étendu et formé de plusieurs bras d'une grande rivière, la FéréDougouba (Sassandra) qui sur quelques dizaines de kilomètres, fait office de frontière naturelle entre la Côte d'Ivoire et la Guinée. Les supports larvaires sont nombreux et essentiellement constitués par les feuilles immergées de Pandanus sp. et de Raphia sp.

Dans ce type de gîtes, le courant est causé, aux basses eaux, par des accidents de terrain et, lors des crues, par la seule masse d'eau en déplacement.

Les espèces présentes appartiennent à divers groupes taxonomiques du complexe S. damnosum avec toutefois une prédominance des espèces de forêt (soubrense - sanctipauli) en saison des pluies et des espèces de savane (damnosum - sirbanum) en saison sèche (Vajime et Quillévé, 1978).

La température de l'eau dans ce type de rivière peut atteindre 28-29°C en saison sèche et baisse rarement en dessous de 26°C en saison des pluies. Quelle que soit la saison, le pH est toujours légèrement basique.

Si l'on se reporte à la classification de Le Berre (1966), la variation annuelle de la population préimaginale de ce gîte, qui reste productif pendant toute l'année, est synchrone avec le niveau de l'eau. Cependant, les supports larvaires étant difficilement

accessibles pendant les hautes eaux (de juillet à décembre), cette station n'est utilisée en général que de février à juin.

2. 3. La station d' Akakro

Cette station est située au sud de la Côte d'Ivoire (fig. 1) à quelques kilomètres du village d'Akakro (5°29 N , 4° 30 W), en zone de forêt tropicale fortement entamée par les exploitations forestières et les plantations de caféiers, cacaoyers et bananiers. La pluviométrie annuelle (environ 1800 mm) et l'hygrométrie (80% d'humidité relative) sont élevées. La température est remarquablement constante au cours de l'année et les moyennes diurnes annuelles sont de l'ordre de 25°C. En général, la grande saison des pluies débute vers le mois d'avril pour s'achever au mois de juillet. Elle est remplacée jusqu'à la mi-septembre par la petite saison sèche puis jusqu'au mois de novembre par la petite saison des pluies. La grande saison sèche commence alors à la fin de l'année pour durer jusqu'aux environs du mois de mars de l'année suivante.

Le gîte préimaginal, d'un débit maximum d'une dizaine de m³/sec., est causé par une rupture de pente qui accélère sur quelques mètres la vitesse du courant. Il est situé sur le M'Pedo, un affluent d'un petit fleuve côtier, l'Agnebi, qui se jette près de Dabou dans la lagune Ebrié.

L'étude cytotoxonomique des larves récoltées dans ce gîte a montré que celles-ci appartenaient presque exclusivement à l'espèce Simulium yahense (Quillévé, comm. pers.). Cette espèce est caractéristique des petites rivières de forêt et s'installe dans les zones où la pluviométrie annuelle est supérieure à 1300 mm (Quillévé, 1979)

La température de l'eau, relativement constante au cours de l'année, varie entre 24 et 26°C. le pH, légèrement acide en saison des pluies, tend à augmenter en saison sèche.

La variation annuelle de la population préimaginale de ce gîte est synchrone avec le niveau de l'eau et de type unimodale: les femelles apparaissent au début de la grande saison des pluies et disparaissent à l'étiage, quand le courant est devenu insuffisant, voire nul. Cependant, le débit de cette petite rivière, très imprévisible pendant la grande saison des pluies, peut varier dans des proportions importantes en fonction des précipitations locales et rend la productivité en larves très aléatoire. Ce gîte n'est donc exploité qu'à partir des mois d'août-septembre jusqu'au mois de décembre-janvier.

De ces deux stations d'étude, Akakro est celle qui présente le plus de facilités:

- les supports larvaires sont très densément colonisés et plus facilement accessibles qu'à Touba;
- la station est la plus proche du laboratoire de Bouaké (300 km de route goudronnée).

C'est pourquoi ce gîte a été aménagé de façon à obtenir un rendement maximum à chaque mission et ce pendant les 4 à 5 mois de forte productivité en larves (cf. 2.1.1.5., chapitre II).

3. LES GITES PREIMAGINAUX

A Aedes aegypti

3.1. Rappels généraux

A. aegypti est une espèce qui se trouve dans une grande variété de petits gîtes domestiques et sauvages ; elle est dite "sténotope". L'eau est généralement peu polluée, mais la présence de débris végétaux est cependant un élément attractif (Pichon et Sales, 1967). Cordellier et al. (1974) proposent pour ces gîtes la classification suivante que nous rappellerons brièvement:

- les gîtes naturels, essentiellement constitués par des trous d'arbres, noix de coco, cabosses de cacao, plantes à feuilles engainantes etc.
- les gîtes péri-domestiques sont pour la plupart des déchets ou des témoins de l'activité humaine (récipients abandonnés, vieux pneumatiques, ferrailles).
- les gîtes domestiques essentiellement liés au stockage de l'eau, dans la maison ou aux abords immédiats.

En Afrique de l'Ouest, à l'exception des zones désertiques où les nomades utilisent des outres, le stockage de l'eau s'effectue dans des jarres en poterie appelées "canaris". Les récipients ont une forme, une contenance, une localisation qui varient en fonction de l'ethnie considérée (Pichon et al., 1969). Pour ces auteurs, les canaris constituent d'excellents gîtes à A. aegypti (eau claire, fraîche, paroi légèrement rugueuse et humide) et seul le renouvellement complet de l'eau peut empêcher le développement complet des stades préimaginaux jusqu'à l'émergence des adultes (la durée du développement préimaginal est d'environ 6 jours). Les larves d'A. aegypti ne viennent en surface que pour respirer et se nourrissent le long des parois, principalement au fond des canaris.

3.2. La station de M' Bahiakro

Nous avons sélectionné notre zone d'étude en fonction de sa facilité d'accès, de sa richesse en gîtes larvaires à A. aegypti mais également en fonction de son importance épidémiologique:

En mai 1982, les autorités sanitaires de Côte d'Ivoire décidaient, à la suite des conclusions d'une enquête épidémiologique consécutive à l'apparition de cas suspects d'ictères fébriles, la vaccination immédiate de la région nord-est de M' Bahiakro. La transmission interhumaine de cette épidémie a été assurée par le seul A. aegypti domestique dont les larves se développent principalement dans les canaris situés à l'intérieur des habitations. Les gîtes péri et para-domestiques étaient pratiquement inexistants (Cordellier et Bouchité, 1982).

Cette zone est située dans la région nord-est de M' Bahiakro, à 80 kms de Bouaké (fig. 1), sur l'épaule est du "V" Baoulé, dans une zone de transition entre la forêt dégradée et la mosaïque forêt/savane, à proximité des savanes semi-humides de type sub-soudanienne. Le climat est de type équatorial atténué avec toujours une alternance de 4 saisons mais avec des précipitations anormalement basses pour cette latitude (environ 1200 mm par an).

Notre expérimentation s'est déroulée dans deux villages voisins, Dézidougou (7°43 N , 4°16 N) et Totodougou (7°46 N , 4°15 N) ayant respectivement 420 et 1000 habitants (données approximatives). Ces deux villages sont peuplés par un petit groupe ethnique, les N'Gains, apparentés aux Gouros de la région de Sinfra et aux Yacoubas de Man et n'ayant aucun point commun avec les Baoulés qui les entourent. Ces deux villages furent, avec les autres de la même ethnie, touchés par l'épisode amaril de mai 1982: en effet, la richesse en gîtes préimaginaux dépend essentiellement du facteur ethnique. Comme toutes les sociétés rurales, celles d'Afrique sont extrêmement conservatrices. Elles peuvent garder leur mode de stockage même si elles sont placées dans un contexte géographique différent (Pichon et al., 1969). Compte-tenu des faibles ressources hydriques de cette région, l'eau est conservée aussi bien par les N'Gains que les Baoulés environnants. Cependant, pour ces derniers, les récipients sont de petites tailles, peu nombreux, vidés et nettoyés chaque semaine. Par contre les N'Gains possèdent un type de récipient beaucoup plus gros où l'eau n'est pratiquement jamais entièrement renouvelée: ils constituent par conséquent de bons gîtes à A. aegypti.

4. LES GITES PREIMAGINAUX A CULEX QUINQUEFASCIATUS

4. 1. Rappels généraux

En Afrique de l'Est et dans différentes îles de l'océan indien (Madagascar, Comores, Seychelles), C. quinquefasciatus peut se trouver en milieu rural dans des collections d'eau polluée mais également dans des gîtes domestiques (réserve d'eau de pluies), péri-domestiques (récipients divers abandonnés) ou naturels (trous d'arbres, mares temporaires, trous de rocher...). Cependant, de façon classique, les gîtes larvaires à C. quinquefasciatus sont constitués en Afrique tropicale par des puisards, latrines, fosses septiques ou caniveaux engorgés, c'est à dire des réservoirs d'eaux usées résultant de l'activité humaine (White, 1971b ; Brunhes, 1975 ; Brengues, 1978 ; Subra ; 1980, Subra, 1982).

Contrairement à A. aegypti, la zone de nutrition des larves de C. quinquefasciatus se situe à la surface du gîte larvaire, dans les cinquante premiers centimètres d'eau.

L'urbanisation incontrôlée des grandes agglomérations africaines a entraîné ces dernières années la multiplication des gîtes préimaginaux à C. quinquefasciatus par la mauvaise évacuation des eaux usées et des eaux de pluies souillées ainsi que la non élimination de certains déchets (Subra, 1975).

Cette pullulation a également été favorisée par deux autres facteurs:

- la régression des espèces culicidiennes associées ou concurrentes (Culex nebulosus, Culex cinereus) plus sensibles aux insecticides chimiques (Service, 1966) et aux détergents (Subra et al., 1984);
- l'abandon des mesures physiques d'assainissement suite à l'utilisation des insecticides.

4. 2. La station de Bouaké

La population de Côte d'Ivoire présente trois caractéristiques essentielles communes à la plupart des pays en voie de développement:

- elle augmente rapidement avec près de 4% de croissance annuelle;
- plus de 50% des habitants ont moins de 20 ans;
- bien qu'à dominante rurale, elle a tendance à s'urbaniser

puisque un tiers des ivoiriens vivent dans les villes de plus de 4000 habitants.

Avec plus de 400 000 habitants, Bouaké est la deuxième ville de Côte d'Ivoire. Ville de savane, son développement est dû à sa position centrale dans le pays (7°45 N, 4° 58 W) et à deux atouts précieux, le rail et l'industrie textile. Située en secteur préforestier, en pays Baoulé, la région de Bouaké reçoit environ 1100 mm de précipitations par an avec deux pics principaux en juillet et septembre.

Comme la plupart des paysages urbains de Côte d'Ivoire, Bouaké a un paysage de contraste où se cotoient le quartier commercial au centre, ceinturé par le quartier résidentiel puis industriel en périphérie. Les quartiers résidentiels renferment la plupart des gîtes à C. quinquefasciatus dont la nature et l'abondance varient en fonction du type d'habitation et surtout des aménagements (puisards et fosses septiques essentiellement, cf. 2.2.2. chapitre 2).

Notre zone d'étude se situe plus précisément dans les quartiers résidentiels de "Sokoura", "Dar es Salaam", "Koko", "Air France 1" et "Air France 2".

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

1. REVUE DES LARVICIDES UTILISES

En 1960, l'Organisation Mondiale de la Santé a mis sur pied un programme d'évaluation des insecticides susceptibles d'être utilisés en santé publique. Les composés enregistrés (dans le "WHOPEP") passent alors par une série d'étapes d'évaluation (Wright, 1971 ; Quélenec, 1978) et ne sont admis au stade suivant que s'ils ont satisfait aux exigences du stade antérieur*.

Les larvicides que nous avons évalués dans cette étude nous sont parvenus par l'intermédiaire de l'OMS. Ils ont donc fait auparavant l'objet d'un certain nombre d'études portant notamment sur:

- leurs caractéristiques physiques, chimiques, toxicologiques et dans le cas des agents de lutte biologique, leurs caractéristiques biologiques;
- leur activité au laboratoire sur les différents vecteurs ainsi que leur toxicité sur la faune non-cible;
- les possibilités de production, les formulations disponibles, leur mode d'action, etc.

Dans la mesure où la connaissance de ces données peut aider à une meilleure compréhension du présent travail, nous avons regroupé et résumé dans ce paragraphe celles qui concernent les larvicides étudiés.

1.1. Les agents de lutte biologique

On appellera agents de lutte biologique les organismes prédateurs, pathogènes ou parasites d'insectes susceptibles d'être utilisés en santé publique comme un moyen d'intervention contre des vecteurs de maladies. C'est ainsi que nous regroupons sous cette définition les virus, bactéries, champignons, protozoaires, nématodes, poissons et invertébrés prédateurs. Parmi les bactéries, nous allons décrire dans ce paragraphe les principales caractéristiques de B. thuringiensis H-14 et de B. sphaericus.

* Le schéma d'évaluation des insecticides comporte à l'origine 7 étapes. Celui-ci a été adapté et réduit à trois étapes dans le cas particulier du programme de lutte contre l'onchocercose.

1.1.1. B. thuringiensis H-14

B. thuringiensis Berliner, 1915 est une bactérie aérobie et anaérobie facultative, gram +, de la famille des Bacillaceae. Elle est caractérisée par la production d'une ou plusieurs inclusions parasporales cristallines de nature protéique, synthétisées au cours de la phase de sporulation et responsables de la forte activité larvicide de cette bactérie (Hanney et Fitz-James, 1955). Les cristaux restent étroitement associés au corps parasporal et ne sont pas libérés dans le milieu de culture, d'où leur nom d'endotoxine (delta-endotoxine).

Isolée en Israël par Goldberg et Margalit (1977) à partir de larves mortes de moustiques, une bactérie sporulée a été caractérisée par de Barjac (1978a) comme appartenant au 14ème sérotype et dénommée variété israelensis.

Les méthodes de caractérisation de B. thuringiensis reposent sur des techniques biochimiques et principalement sur des techniques sérologiques: nature antigénique de l'antigène flagellaire de la cellule végétative (cellule H), composition antigénique de la delta-endotoxine (Krywienczyk et Fast, 1980) et nature des autres toxines (Bonnefoi et de Barjac, 1963 ; de Barjac et Bonnefoi, 1973). Ces techniques ont permis d'identifier jusqu'à présent 22 sérotypes dont certains sont très toxiques pour les larves de lépidoptères, de diptères, voire des deux. Le sérotype H-14 de B. thuringiensis a la particularité de ne pas synthétiser la beta-exotoxine et de produire une inclusion parasporale de forme et de taille variées, contrairement aux toxines des autres sérotypes de forme bi-pyramidale (de Barjac, 1978a). Sa structure composite est constituée de sous-unités différentes en taille et plus ou moins denses aux électrons (Charles et de Barjac, 1982).

L'activité larvicide est exclusivement liée à la delta-endotoxine présente dans le cristal et non à la spore (Tyrell et al., 1979 ; Larget et de Barjac, 1981 ; Samasanti et al., 1982). Cette toxine, de poids moléculaire élevé, est en réalité une protoxine: après ingestion par les larves, elle se scinde rapidement en sous-unités protéiques, qui attaquent et détruisent, sous pH alcalin et en présence d'enzymes protéolytiques appropriés, l'épithélium de l'intestin moyen de la larve (Lacey et Federici, 1979 ; Chilcott et al., 1981 ; Charles et de Barjac, 1981). Les phénomènes observés chez les lépidoptères sont à peu près identiques à ceux observés sur les larves de moustiques bien que les effets sur ces derniers soient beaucoup plus rapides: A forte dose, la mort des larves d'A. aegypti survient 30 minutes après l'ingestion de la toxine (Charles et de Barjac, 1981).

Contrairement à la plupart des autres sérotypes, B. thuringiensis H-14 n'est pas toxique pour les larves de lépidoptères, mais hautement pathogène pour les larves de moustiques et de simules. Dans une moindre mesure, elle est également toxique

pour les larves de Dixidae (Garcia et al., 1980b) et de Chironomidae (Weiser et Vankova, 1978).

Au laboratoire, B. thuringiensis H-14 est toxique vis à vis de toutes les espèces de moustiques testées bien que leur sensibilité varie en fonction du genre, de l'espèce et même de la souche. Ainsi par exemple, de Barjac (1978b), de Barjac et Coz (1979) et Dempah et Coz (1979) ont montré que B. thuringiensis H-14 est plus toxique pour les moustiques du genre Culex et Aedes que pour les anophèles, qu'A. aegypti est plus sensible que la plupart des autres espèces d'Aedes et qu'A. aegypti "Bora-Bora" est l'une des souches les moins sensibles.

Dans le cas des simulies, l'activité de B. thuringiensis H-14, testée sur de nombreuses espèces (Undeen et Berl, 1979 ; Molloy et al., 1981), met aussi en évidence le même phénomène de variation inter-spécifique.

Qu'il s'agisse de moustiques ou de simulies, le stade larvaire a également une influence sur l'efficacité de la toxine puisque les jeunes larves peuvent s'avérer 8 à 10 fois plus sensibles que les larves âgées (Molloy et al., 1981 ; Wraight et al., 1981b ; Tonetti-Magni, 1985).

De nombreuses études ont été entreprises ces dernières années pour évaluer l'impact de B. thuringiensis H-14 sur un éventail très large de groupes taxonomiques. Les résultats montrent que cette bactérie est très spécifique et pratiquement dépourvue de toxicité sur la faune associée, notamment les organismes aquatiques vivant dans les gîtes à moustiques (Sinègre et al., 1979 ; Garcia et al., 1980a ; Miura et al., 1980 ; Ali, 1981) et à simulies (Dejoux, 1979 ; Gibon et al., 1980).

B. thuringiensis H-14 est aussi dépourvu de toxicité aigüe, sub-aigüe pour les mammifères et autres vertébrés pour lesquels il est donc non pathogène, quel que soit le mode d'ingestion de la bactérie et la dose utilisée (de Barjac et al., 1980a ; Shadduck, 1980). Il ne présente également aucun effet carcinogène, mutagène ou tératogène. Thomas et Ellar (1983) ont cependant montré que la toxine hydrolysée était hautement toxique en injection sur des souris.

La delta-endotoxine du B. thuringiensis H-14 est stable à la chaleur et peut se conserver plusieurs mois sans altération notable de sa toxicité (Dempah, 1979 ; Guillet et al., 1980 ; Balaraman et Hoti, 1984 et de Barjac et Larget-Thiéry, 1984). Goldberg et Margalit (1977) montrent que la lyophilisation ou les ultra-violets ne modifient pas l'activité de cette bactérie.

B. thuringiensis H-14 est produit par fermentation en milieu liquide et plus rarement en milieu semi-solide (Long et Liang, 1983). Comme pour les productions commerciales des autres sérotypes, il peut être cultivé sur milieu nutritif agar, mais également sur d'autres milieux dont la composition varie suivant les auteurs (de Barjac, 1979 ; Yousten et al., 1982 ; Dharmsthiti et al., 1985). Le matériel issu de la fermentation peut être séché ou

lyophilisé pour donner des poudres primaires.

En ajoutant des agents chimiques au matériel primaire de fermentation, on obtient des formulations, soit sous une forme liquide par concentration directe (suspension concentrée, "flowable"), soit sous forme de poudres mouillables par addition d'agents tensio-actifs aux poudres séchées. Le B. thuringiensis H-14 peut également se présenter sous d'autres formes dérivées des formulations précédentes, tels les granulés, briquettes et sables permettant un relargage progressif de la matière active. Des formulations huileuses peuvent également être préparées. La plupart de ces formulations sont déjà produites industriellement.

Dans toute notre étude, les concentrations seront toujours exprimées en quantités de formulation et non de matière active puisque la toxine n'est pas dosable par la méthode chimique.

1.1.2. B. sphaericus

B. sphaericus Neide, 1904 est une bactérie aérobique, gram variable, de la famille des Bacillaceae. Contrairement au B. thuringiensis H-14, B. sphaericus comprend une majorité de souches non toxiques pour les larves de Culicidae. Les 45 souches entomopathogènes isolées jusqu'à présent se répartissent en 7 lysotypes (Yousten, 1984) et 5 sérotypes (H1a, H2, H5a5b, H25 et H26a26b ; de Barjac et al., 1980b et 1985). Yousten et al., (1980) montrent que les deux méthodes de différenciations lysotypique et sérotypique donnent des résultats assez voisins.

Les différentes études réalisées au laboratoire et sur le terrain ont permis de focaliser les recherches sur 3 souches particulièrement toxiques pour les larves de Culicidae: les souches 1593 (sérotipe H5a,5b - phage groupe 3), 2362 (sérotipe H5a,5b - phage groupe 3) et 2297 ou MR4 (sérotipe H25 - phage groupe 4). Elles ont été isolées respectivement en Indonésie sur des larves moribondes de moustiques (WHO, 1980a), au Nigéria sur des adultes de simules (Weiser, 1984) et au Sri Lanka dans un gîte larvaire à moustiques (Wickremesinghe et Mendis, 1980).

Les travaux relatifs au mode d'action de B. sphaericus sont moins avancés que ceux de B. thuringiensis H-14 dans la mesure où l'on a isolé plus tardivement les souches pathogènes et où la localisation, dans la bactérie, des facteurs toxiques semble varier en fonction des souches. La pathogénécité des souches 1593, 2362 et 2297 serait associée non seulement, comme B. thuringiensis H-14, à la présence d'une inclusion parasporale protéique de taille variable suivant les souches (de Barjac et Charles, 1983 ; Payne et Davidson, 1984), mais également à la spore et à sa paroi ainsi qu'au cytoplasme de la cellule végétative, peu avant la sporulation (Myers et

al., 1979 ; Yousten et Davidson, 1982 ; Kalfon et al., 1983). Des études sur l'isolement et l'identification du facteur responsable de la mort des larves montrent qu'il serait lié à une ou plusieurs toxines de nature protéique et que toutes les souches pathogènes contiendraient une toxine de même nature (Tinelli et Bourgouin, 1982). Compte-tenu de la similitude structurale et biochimique de cette toxine avec les cristaux de B. thuringiensis H-14, de Barjac et Charles (1983) proposent pour la toxine de la souche 2297 le nom d'alpha-endotoxine.

Bien que des sous-unités protéiques n'aient pas encore été identifiées, la toxine de B. sphaericus serait aussi, comme pour B. thuringiensis H-14, une protoxine qui serait dissoute sous certaines conditions enzymatiques et de pH réunies dans l'intestin moyen des larves hôtes (Davidson et Myers, 1981 ; Yousten et Davidson, 1982 ; de Barjac et Charles, 1983 ; Davidson, 1983). Les modifications pathologiques qui s'en suivent se traduisent par des dégénérescences cellulaires, qui ont été décrites par de nombreux auteurs, notamment Kellen et al. (1965), Davidson (1979) et Karch et Coz (1983). Ces dégénérescences aboutissent à la mort des larves qui se manifeste, pour Culex pipiens, environ 48 heures après le début de l'ingestion d'une dose létale (Karch et Coz, 1983).

B. sphaericus a la particularité d'être très spécifique puisque cette bactérie n'est pathogène que pour certaines espèces de moustiques. Nous ne donnerons ici que quelques généralités, communes aux souches 1593, 2362 et 2297 et tirées en particulier des travaux de Ramoska et al. (1977), Bourgouin et de Barjac (1980), Sinègre et al. (1980), Faye (1981), Wraight et al. (1981a), Dagnogo et Coz (1982a), Mian et Mulla (1983), Karch (1984), de Barjac et al. (1985) et Cheong et Yap (1985):

- ces souches sont toxiques pour toutes les espèces de Culex et notamment C. quinquefasciatus qui n'est pas cependant l'espèce la plus sensible;
- elles sont également toxiques pour les Anopheles, les Mansonia, les Psorophora et les Toxorhynchites;
- A. aegypti est pratiquement insensible à B. sphaericus, contrairement à d'autres moustiques du même genre dont la réponse varie en fonction de l'espèce;
- les jeunes stades larvaires sont, comme pour B. thuringiensis H-14 beaucoup plus sensibles que les larves âgées. Cette différence de sensibilité varie selon les souches de B. sphaericus et les espèces de moustiques testées.

La toxicité de cette bactérie sur les simules est pratiquement nulle tant sur les espèces d'Afrique de l'Ouest que sur des espèces néartiques (WHO, 1980a ; Guillet, 1985).

Mulligan et al. (1978), Mulla et al. (1984a) et Karch (1984) notamment, montrent que les différents vertébrés et invertébrés aquatiques coexistant avec les larves de moustiques ne sont pas affectés par la souche 1593 de B. sphaericus. Pour

Mathavan et Velpandi (1984), la souche 2362 n'affecte pas la faune non cible aux doses léthales pour tuer les moustiques et ne devient toxique qu'à des doses 100 fois supérieures. Bien que les investigations ne soient pas encore aussi poussées qu'avec B. thuringiensis H-14, B. sphaericus semble donc avoir peu d'effets sur la faune aquatique non-cible.

De Barjac et al. (1979) et Shaddock et al. (1980) montrent que les différentes souches de B. sphaericus testées ne provoquent chez les mammifères aucune morbidité, ni mortalité et ne possèdent aucune toxicité aigüe ni chronique, quels que soient le mode d'injection et la dose. Contrairement à B. thuringiensis H-14, la toxine hydrolysée de B. sphaericus n'est pas toxique pour des cultures de cellules de mammifères (Davidson, 1985).

Les facteurs toxiques de B. sphaericus sont dégradés par une exposition prolongée au rayonnement ultra-violet (Bourgouin et de Barjac, 1980 ; Burke et al., 1985). Ils sont également dégradés par les rayons solaires ainsi qu'à un pH alcalin supérieur à 10 (Mulligan et al., 1980). Contrairement aux résultats de Balaraman et Hoti (1984), les travaux réalisés par de nombreux auteurs montrent que les différents produits primaires et formulés de B. sphaericus peuvent se conserver plus de un an aux basses températures et à température ambiante (25°C) sans altération notable de leur toxicité (Hertlein et al., 1980 ; Dagnogo et Coz, 1982b ; Bourgouin et al., 1984 ; Hougard et al., 1985a).

B. sphaericus peut être produit par les techniques conventionnelles de fermentation. Il peut être cultivé sur des milieux contenant différentes substances protéiques dont la composition varie suivant les souches et dont la quantité modifie le phénomène de sporulation et la teneur en toxines (Yousten et al., 1982 et 1985 ; Kalfon et al., 1983 ; Bourgouin et al., 1984 ; Dharmsthiti et al., 1985 ; Massie et al., 1985). Contrairement à B. thuringiensis H-14, ces formulations étaient ces dernières années pour la plupart expérimentales. Certaines commencent à atteindre le stade industriel sous forme de poudres mouillables, de suspensions concentrées, de briquettes ou de granulés.

Pour les mêmes raisons que celles évoquées pour B. thuringiensis H-14, les concentrations seront exprimées en quantités de formulation et non de matière active.

1. 2. Les composés analogues des régulateurs de croissance

Les composés régulateurs de croissance sont des substances qui interviennent dans la physiologie de l'insecte et qui peuvent donc être utilisées comme un moyen de lutte contre les vecteurs.

Les substances évaluées dans cette étude se répartissent en deux groupes qui ont fait l'objet de nombreux travaux: les juvénoïdes et les inhibiteurs de synthèse de la chitine encore appelés ecdysoïdes. Ce sont pour la plupart des analogues ou des inhibiteurs des hormones du système endocrinien des insectes qui agissent sur leur croissance et leur développement.

1. 2. 1. Généralités sur les juvénoïdes et les ecdysoïdes

Les données relatives à la nature chimique et au mode d'action des hormones décrites dans ce paragraphe sont tirées des travaux de Jennings (1983).

Les hormones juvéniles des insectes sont synthétisées par les corpora allata ; elles ont une action au niveau de la reproduction et de la détermination des caractères larvaires au moment de la mue. Au niveau cellulaire, les hormones juvéniles agiraient notamment en déclenchant une série de gènes qui coderait la synthèse de la cuticule larvaire. Elles sont donc présentes pendant toute la vie larvaire, diminuent peu avant la nymphose et disparaissent avant la mue imaginale pour réapparaître chez la femelle adulte lors de la maturation des oeufs.

Les analogues des hormones juvéniles (juvénoïdes) peuvent avoir un rôle insecticide, s'ils sont appliqués plus particulièrement à la fin du dernier stade larvaire, en perturbant non seulement la métamorphose mais également la reproduction par effet ovicide notamment. Chez les diptères, les juvénoïdes ont pour effet principal la réduction des émergences, ce qui est le principal critère d'évaluation de leur activité.

L'hormone de mue des insectes ou ecdysone est un stéroïde libéré par les glandes prothoraciques sous l'influence d'une hormone neurosécrétée, l'hormone prothoracotrope. Chez certains insectes, l'ecdysone est ensuite transformée dans les tissus périphériques et le corps gras en hydroxyecdysone qui permet le phénomène de la mue. L'hormone de mue est aussi produite par les ovaires des femelles adultes et jouerait un rôle dans la reproduction. Elle est présente pendant toute la vie de l'insecte mais sa concentration varie suivant les stades.

Les inhibiteurs de la mue (ecdysoïdes) peuvent intervenir à

différents niveaux, soit directement au moyen de substances responsables de la dégradation de composés précurseurs de la chitine (ou de la chitine elle même), soit au moyen de substances empêchant la synthèse de l'ecdysone ou des hydroxyecdysones. Ils peuvent donc être utilisés comme insecticides mais, contrairement aux juvénoides, ils peuvent agir en principe sur tous les stades larvaires, leurs effets se manifestant au moment de la mue lors de la formation de la nouvelle cuticule. Les phénomènes histologiques sont mal connus et varient suivant les substances (Mulder et Gijswijt, 1973 ; Awad et Mulla, 1984). Les inhibiteurs de mue peuvent avoir, comme les juvénoides, un effet ovicide chez les femelles adultes. La réduction des émergences est également le meilleur critère d'évaluation de ces composés.

Ces deux groupes de composés régulateurs de croissance agissent principalement sur les stades larvaires et sont actifs surtout par ingestion de matière active adsorbée sur des particules en suspension (WHO, 1983).

Compte-tenu de la grande variété chimique de ces composés, il est difficile de donner des indications globales sur leur propriétés physico-chimiques et sur leur stabilité. Les juvénoides sont pour la plupart des huiles lipophiles, très peu solubles dans l'eau, biodégradables et peu stables à la lumière. Les autres composés ont également en général une faible solubilité (WHO, 1983). Des caractéristiques plus détaillées seront données dans le paragraphe 1.2.2. pour chacune des substances étudiées.

Au laboratoire, de nombreux travaux réalisés sur les moustiques avec le diflubenzuron (inhibiteur de mue), le méthoprène (juvénocide) et d'autres molécules récemment synthétisées montrent que les régulateurs de croissance sont très actifs sur les principales espèces vectrices et que pour un composé donné, leur sensibilité varie en fonction des espèces et du stade larvaire (Schaefer et al., 1974 ; WHO, 1981a ; Coz, 1983 ; Nelson et al., 1983a et b ; Kisida et al., 1984 ; Sergovskaya et al., 1984 ; Tiwari et Saxena, 1984 ; Phonchevin et al., 1985).

Ces composés sont également efficaces sur les larves de simules tant sur les espèces d'Afrique de l'Ouest (Guillet et al., 1985b) que d'Amérique du Nord (Mc Kague et al., 1978).

L'impact écologique des composés régulateurs de croissance n'a pas encore fait l'objet de nombreux travaux. On sait toutefois que certains juvénoides et inhibiteurs de mue peuvent affecter le développement de crustacés et insectes aquatiques (Colwell et Schaefer, 1978 ; Farlow et al., 1978 ; Ali et Mulla, 1978).

En ce qui concerne les poissons et mammifères, Kisida et al. (1984) ont montré qu'un juvénocide était peu toxique pour la carpe et la souris. Plus généralement, ces substances devraient être relativement peu toxiques dans la mesure où ils interviennent sur un processus physiologique spécifique des insectes.

Les composés régulateurs de croissance récemment développés par l'industrie peuvent être formulés sous les différentes présentations utilisées habituellement pour les insecticides chimiques:

- concentrés émulsifiables: la matière active dissoute dans un solvant organique s'émulsionne au contact de l'eau en donnant des particules d'une taille d'environ 0.2 microns ou parfois inférieure (microémulsions);

- poudres mouillables: elles contiennent une forte proportion de matière active à laquelle on ajoute des agents "mouillants" tels les agents tensio-actifs;

- suspensions de microcapsules: la matière active est enrobée dans des capsules dont la taille varie de 1 à 5 microns. Ces capsules peuvent être digérées et se dégrader rapidement sous l'action d'enzymes digestives;

- "slow-release": ce sont des briques, briquettes, granulés ou microcapsules qui relarguent progressivement la matière active au contact de l'eau.

1.2.2. Présentation des composés régulateurs de croissance utilisés dans cette étude

Les six composés régulateurs de croissance que nous avons testés ont été pour la plupart récemment synthétisés et ne sont pas homologués, encore moins commercialisés. Par conséquent, ces produits nous parviennent enregistrés sous leur nom de code O.M.S. et ne possèdent pas tous de nom commun. Pour chacun des composés décrits dans ce paragraphe, les industries nous ont fait parvenir les renseignements suivants:

1.2.2.1. L'OMS 2015

L'OMS 2015 est un inhibiteur de synthèse de la chitine commercialisé sous le nom d'Alsystin et de formule chimique empirique C15 H10 O3 N2 F3 Cl (triflumuron). C'est une urée disubstituée très peu soluble dans l'eau (solubilité inférieure à 0.1 mg/l) et peu toxique pour les mammifères (DL 50 supérieure à 5000 mg/kg chez le rat* et la souris par voie orale ou cutanée). La formulation dont nous disposons est un concentré émulsifiable à 6% de matière active.

1.2.2.2. L'OMS 2016 et l'OMS 2017

Nous avons peu d'indications sur l'OMS 2016 et l'OMS 2017 car ils ont été récemment synthétisés. Il s'agirait de deux inhibiteurs de synthèse de la chitine, de formules chimiques empiriques C18 H11 Cl N2 O S (OMS 2016) et C18 H12 Cl4 F2 N2 O3 (OMS 2017). Ils sont légèrement solubles dans l'eau (solubilité inférieure à 10 mg/l) et peu toxiques pour les mammifères (DL 50 chez le rat supérieure à 4000 mg/kg par voie orale et à 1000 mg/kg par voie cutanée). Ces deux composés sont disponibles sous forme de poudres mouillables à 50% (OMS 2016) et 25% (OMS 2017) de matière active.

* Le seuil de toxicité pour la matière active a été fixé par l'OMS à 600 mg/kg, par voie orale chez le rat.

1.2.2.3. L'OMS 3007 et l'OMS 3019

L'OMS 3007 et l'OMS 3019 sont des juvénoïdes de formules chimiques empiriques C₁₇ H₁₉ NO₃ (OMS 3007) et C₁₇ H₁₉ NO₄ (OMS 3019). Pour les mêmes raisons que précédemment, nous avons également peu de données sur ces composés qui sont peu toxiques pour les mammifères (DL 50 chez le rat femelle supérieure à 5000 mg/kg par voie orale et à 2000 mg/kg par voie cutanée). Nous disposons pour l'OMS 3007 d'un concentré émulsifiable à 10% de matière active, d'une formulation de microcapsules et d'une poudre mouillable à 5% de matière active ainsi que de granulés à 0.5% de matière active. L'OMS 3019 se présente en poudre mouillable et en microcapsules à 5% de matière active ainsi qu'en concentré émulsifiable à 10% de matière active.

1.2.2.4. L'OMS 3010

L'OMS 3010 est également un juvénoïde qui a la particularité d'appartenir à la famille des carbamates dont certains sont de puissants insecticides à toxicité immédiate. De formule chimique empirique C₁₇ H₁₉ O₄ N (phoxycarb), ce composé est légèrement soluble dans l'eau (6 mg/l). Il ne présente pratiquement pas de toxicité aiguë pour les oiseaux et les mammifères, n'est pas irritant pour la peau et les yeux et ne présente pas, à court terme, d'effets mutagènes. Il nous a été fourni sous forme de concentré émulsifiable à 12.5% de matière active et de microémulsion à 10% de matière active.

1.3. Remarques de terminologie

Pour certains auteurs, la lutte biologique contre les insectes vecteurs repose non seulement sur l'intervention d'agents de lutte biologique mais également sur l'utilisation de composés provoquant des altérations de la physiologie ou de la constitution génétique de l'insecte.

Nous serons pour notre part plus restrictif et considérerons que si la lutte génétique rentre bien dans le cadre de la lutte biologique, les composés régulateurs de croissance sont des substances chimiques de synthèse et font partie de l'arsenal des agents de lutte chimique.

Dans le même ordre d'idées, l'appartenance de B. thuringiensis H-14 et de B. sphaericus aux agents de lutte biologique est discutable: c'est la toxine qui provoque la mort des larves hôtes et non la bactérie elle-même. Ils agissent par conséquent comme des insecticides chimiques d'origine biologique au

même titre par exemple que les pyrèthres ou la roténone dont la matière active est extraite de substances végétales. Il serait donc préférable de les appeler agents biologiques de lutte.

Cependant, nous conserverons cette classification dans la mesure où ces bactéries pourraient se multiplier dans les gîtes larvaires (phénomène dit de recyclage) à un niveau suffisant pour perpétuer l'action initiale obtenue par introduction de l'agent biologique dans le milieu aquatique.

2. TECHNIQUES D'ETUDE

2.1. Evaluation à échelle réduite de l'efficacité de larvicides antisimulidiens

Il est difficile d'évaluer l'efficacité de formulations antisimulidiennes en traitant directement les gîtes préimaginaux: cette méthode est coûteuse, difficile à mettre en oeuvre, peu précise, peu reproductible et ne permet pas de tester un grand nombre de formulations (Guillet et Escaffre, 1979). C'est pourquoi il est préférable d'avoir recours à des dispositifs appropriés permettant de simuler les conditions naturelles.

2.1.1. Techniques de criblage des formulations antisimulidiennes

De nombreuses techniques furent mises au point pour tester les larvicides antisimulidiens au laboratoire (Lea et Dalmat, 1954 ; Muirhead-Thomson, 1957 ; Wilton et Travis, 1965 ; Jamnback et Frempong-Boadu, 1966 ; Lacey et Mulla, 1977), mais aucune d'entre elles ne donna de résultats comparables à ceux observés en rivière. Quelque temps plus tard, Guillet et Escaffre (1979) mettaient au point un dispositif simulant les conditions naturelles, appelé "gouttières flottantes". Celles-ci, bien que donnant des résultats fiables et extrapolables sur le terrain, ne permettaient pas cependant de tester à la fois un grand nombre de formulations.

2.1.1.1. Dispositif de traitement avec des insecticides chimiques

Pour Guillet (1985), le choix du dispositif est conditionné par le type de formulation à tester et le mode d'action de la matière active. Pour les larvicides chimiques (tels les composés régulateurs de croissance) et notamment les concentrés émulsifiables, la matière active doit être adsorbée sur les particules en suspension dans l'eau pour pouvoir être ingérée par les larves. Pour cela, le dispositif doit pouvoir mélanger l'eau et l'insecticide, plusieurs minutes avant le test et dans un aussi grand volume d'eau que possible.

Jamnback met au point un appareil inspiré d'un système créé quelques années plus tôt lors d'essais au laboratoire (Jamnback et

Frempong-Boadu, 1966). Cet appareil en circuit fermé (Photo. 1) comprend une pompe qui propulse de l'eau à partir d'un réservoir vers un petit récipient appelé auge. Cette eau déborde de l'auge à un endroit déterminé (déversoir), pour retourner dans les réservoirs d'eau et ainsi de suite. Dans une première auge, les larves colonisent naturellement des plaquettes métalliques amovibles placées sur les déversoirs. Ces plaquettes sont ensuite disposées sur une seconde auge pour le traitement des larves: une dizaine de minutes auparavant, la formulation est diluée dans tout le volume d'eau du dispositif (environ 60 à 80 litres d'eau prélevée dans la rivière) pour permettre l'adsorption de l'insecticide sur les particules en suspension.

2.1.1.2. Dispositif de traitement avec les agents de lutte biologique

Pour les agents de lutte biologique tel que le B. thuringiensis H-14, l'endotoxine de cette bactérie est insoluble dans l'eau et n'agit que par ingestion. Il n'y a sans doute pas par conséquent de phénomène d'adsorption et les précautions prises pour les insecticides chimiques semblent alors superflues.

Guillet et al. (1982a) mettent au point un système de "minigouttières" composé de 8 "descentes" (Photo. 2) colonisées et alimentées par gravité en circuit ouvert avec l'eau de la rivière. Un filet de dérive est placé à l'extrémité de chaque descente. La formulation, diluée dans 1.5 litre d'eau de la rivière, est introduite en amont de chaque descente où un dispositif assure son mélange avec l'eau. Cet appareil n'est pas adapté à l'évaluation des larvicides chimiques car le mélange eau/insecticide est trop faible, les particules naturelles risquent d'être saturées d'insecticides et la matière active restante peut s'adsorber sur les parois de l'appareil.

Nous avons récemment quelque peu modifié ce système en conservant le même principe de traitement mais en remplaçant les descentes par des plaquettes métalliques amovibles préalablement colonisées par les larves de simules. Ces plaquettes étant beaucoup plus courtes et plus étroites, ce nouveau dispositif est composé de 48 plaquettes métalliques, soit l'équivalent de 6 appareils comme celui décrit précédemment. Une expérimentation est actuellement en cours afin de comparer l'activité d'une suspension concentrée de B. thuringiensis H-14, testée simultanément avec les deux modèles et dans les mêmes conditions expérimentales.

2.1.1.3. Dispositif de mise en observation des larves traitées

Après le traitement, les larves sont mises en observation dans des dispositifs qui varient suivant le mode d'action de l'insecticide:

1) s'il s'agit d'un composé régulateur de croissance, l'effet se manifeste à retardement au moment des mues larvaires ou de la

nymphose. Les plaquettes métalliques colonisées par les larves traitées dans les auges sont alors placées sur un dispositif ("piano") adapté à ce type d'insecticide et alimenté par gravité par l'eau de la rivière (Guillet et al. 1985e). Ces plaquettes sont isolées par des cages d'émergence permettant de récolter simultanément les larves ayant dérivé après le traitement, les adultes non viables qui n'ont pu s'envoler au moment de l'émergence, et les adultes viables. Chaque dispositif peut supporter 10 plaquettes. Nous avons conçu récemment un nouveau modèle basé sur le même principe et permettant de tester simultanément sur le même appareil 4 fois plus de plaquettes (photo. 3). Avant de l'utiliser pour un criblage de routine, nous avons comparé avec celui obtenu avec l'ancien appareil le pourcentage d'adultes viables récoltés sur des plaquettes colonisées par des larves non traitées (tableau 1) : la différence de réduction d'émergence globale entre chaque dispositif est très significative à un seuil inférieur à 0.01%.

	nouveau dispositif					ancien dispositif				
plaquettes	1	2	3	4	total	A	B	C	D	total
larves testées	110	98	56	53	317	69	137	309	265	780
adultes viables	90	82	35	49	256	43	84	228	161	516
% de réd. émergence	18.2	16.3	37.5	7.5	19.2	37.7	38.7	26.2	39.2	33.8

Tableau 1: Comparaison du pourcentage de réduction d'émergence chez des larves de S. yahense mises en observation dans deux dispositifs de récupération des adultes.

2) pour les autres substances, l'effet se manifeste plus rapidement par la mort des larves dans les heures ou la journée qui suivent le traitement.

S'il s'agit d'un larvicide chimique, les plaquettes de larves traitées dans les auges sont mises ensuite en observation en circuit fermé dans une autre auge non traitée ou bien en circuit ouvert dans une minigouttière.

S'il s'agit du B. thuringiensis H-14, les larves traitées dans la minigouttière restent à demeure sur le dispositif toujours alimenté en circuit ouvert par l'eau de la rivière (Guillet et al., 1982a).

2.1.1.4. Dispositif de colonisation naturelle de supports artificiels par les larves de simulies

Inspiré du système de Jamnback et Frempong-Boadu (1966), nous avons spécialement conçu un appareil (fig. 2) pour coloniser les plaquettes métalliques utilisées lors des traitements dans les auges ou dans les minigouttières nouveau modèle (Escaffre et al., 1986). Ce dispositif que nous avons appelé "déversoir", est alimenté par gravité par l'eau de la rivière. Il permet de garnir à la fois 52 supports artificiels (plaquettes) par plusieurs centaines de larves, sans aucune manipulation de celles-ci et en un minimum de temps: après 3 heures, la majorité des larves ont quitté leur support naturel placé en eau calme et colonisé les plaquettes placées en eau courante (photo. 4).

2.1.1.5. Aménagement d'une station d'étude

La sélection d'un larvicide antismulidien est basée sur un criblage intensif à échelle réduite des formulations insecticides. C'est pourquoi nous avons aménagé à proximité d'un gîte larvaire un véritable "laboratoire de terrain" permettant de travailler avec un rendement nettement supérieur à celui obtenu habituellement dans les autres stations de travail (Photo. 5).

Des deux gîtes larvaires sur lesquels nous avons travaillé, celui d'Akakro présentait les conditions idéales pour subir ces transformations (cf 2.2. chapitre I). Rappelons simplement qu'il est séparé de Bouaké par seulement 300 km de route goudronnée très praticable, qu'il a l'avantage d'être très productif en larves de S. damnosum pendant une bonne partie de l'année et enfin qu'il était à l'abri de tout traitement par le programme OCP.

Nous avons construit une plateforme bétonnée d'une quarantaine de mètres carrés sur laquelle est installé un grand tube en chlorure de polyvynile distribuant par gravité, au moyen de 10 robinets, l'eau de la rivière. Cette plateforme peut recevoir et faire fonctionner simultanément tous les dispositifs d'évaluation. Elle est recouverte d'un toit et permet ainsi de travailler à l'abri des intempéries et surtout du soleil qui peut modifier l'état physiologique des larves et par conséquent les résultats des tests insecticides.

2.1.1.6. Protocole d'évaluation pour le criblage des formulations antismulidiennes

Avec les dispositifs d'évaluation à échelle réduite décrits dans les paragraphes précédents, le criblage des formulations antismulidiennes obéit à une succession de manipulations très voisines quel que soit le mode d'action de l'insecticide.

- prospection des gîtes et colonisation des dispositifs

les larves sont prélevées dans les gîtes larvaires sur leurs supports naturels. S'il s'agit des minigouttières "ancien modèle", les descentes sont peuplées artificiellement. S'il s'agit des autres systèmes, les plaquettes métalliques sont colonisées naturellement par l'intermédiaire du déversoir.

- échantillonnage

Les plaquettes métalliques sont transférées ensuite sur les appareils de traitement: les minigouttières "nouveau modèle" pour le B. thuringiensis H-14 et les auges pour les composés régulateurs de croissance. Pour les minigouttières, les différents stades larvaires sont comptés sur place à l'exception des stades 1 et 2 trop petits pour une observation à l'oeil nu. Pour les composés régulateurs de croissance, seules les larves âgées ou jeunes, selon la nature de test, seront triées, comptées et conservées sur les plaquettes.

- traitement

Pour chaque formulation, le traitement est effectué avec 3 ou 4 concentrations à raison de 2 plaquettes par concentration et 2 plaquettes non traitées (témoin). Le temps de traitement est en général de 10 mn mais peut être modifié quel que soit le dispositif.

B. thuringiensis H-14: dans un premier temps, on réalise un essai préliminaire, à la dose opérationnelle, du B. thuringiensis H-14 employé par le programme de lutte contre l'onchocercose. Si le produit s'avère avoir une bonne efficacité et de bonnes caractéristiques physiques, celui-ci fait l'objet d'un test "complet" avec 4 ou 5 doses supplémentaires. Nous avons testé sur S. damnosum s.l. plus de 200 formulations en minigouttières mais ne détaillerons ici que les 8 formulations les plus performantes. Ce sont exclusivement des suspensions concentrées.

Les composés régulateurs de croissance: il s'agit tout d'abord de savoir si le composé présente une toxicité rapide ou retardée. C'est pourquoi nous réalisons dans un premier temps un essai préliminaire avec un temps de contact long (60 mn) et sur des larves âgées sensibles en principe à la fois aux ecdysoïdes et aux juvénoïdes. Si celui-ci présente une certaine efficacité, des tests complémentaires sont alors entrepris tout d'abord avec un temps de contact de 10 mn (qui correspond mieux aux conditions réelles d'utilisation), et ensuite sur des larves de différents stades.

Nous avons testé avec les similies 3 juvénoïdes et 3 ecdysoïdes, dont 4 concentrés émulsifiables (OMS 2015, 3007 et 3010), 2 poudres mouillables (OMS 2016 et 2017) et 2 formulations microcapsules (OMS 3007 et 3019).

- contrôle de l'efficacité

Pour B. thuringiensis H-14, les larves mortes et vivantes sont récupérées séparément dans des piluliers 24 heures après le traitement et conservées dans de l'alcool pour déterminer la mortalité en fonction des stades larvaires (Guillet et al., 1982a).

Pour les composés régulateurs de croissance, nous avons récupéré les adultes viables (capables de voler), les adultes non viables et les larves mortes (Guillet et al., 1985e). Sur chaque plaquette, nous avons également noté au cours de l'observation le nombre de cocons vides normaux (avec exuvie nymphale) et anormaux (sans exuvie nymphale ou malformés). Les cages sont visitées plusieurs fois par jour jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'émergence dans les lots témoins.

- exploitation des résultats

B. thuringiensis H-14: les résultats sont exprimés en pourcentage de mortalité larvaire pour tous les stades mélangés mais également par groupe d'âge. Dans la pratique, la valeur la plus utilisée est la concentration qui tue 100% des larves (CL 100 observée), 24 heures après le traitement.

Composés régulateurs de croissance: les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction d'émergence calculé soit par rapport au nombre d'adultes viables récoltés sur le nombre de larves testées, soit par rapport au nombre de cocons vides normaux sur le nombre de larves testées.

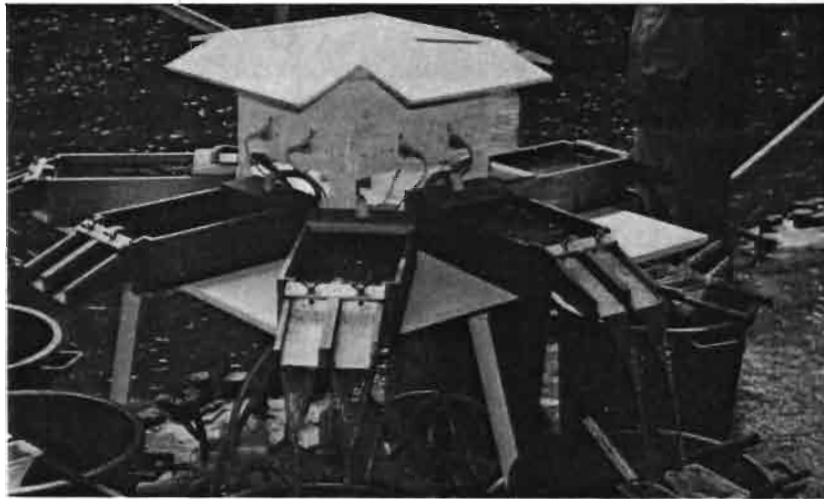


Photo. 1: Dispositif de traitement avec des formulations chimiques: le système des "auges".

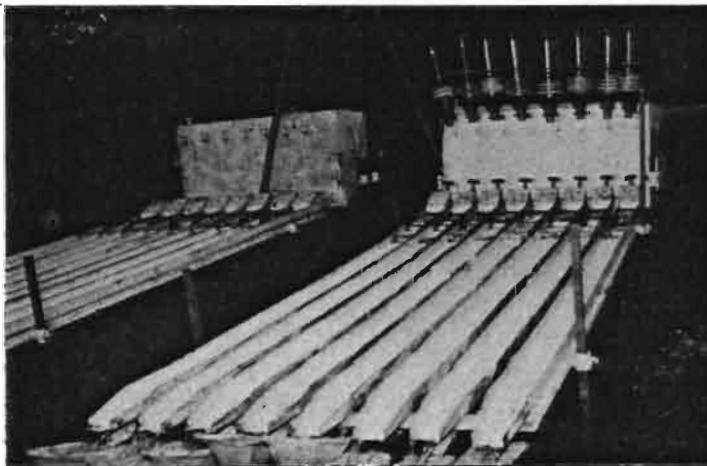


Photo. 2: Dispositif de traitement avec les insecticides biologiques ("minigouttières").

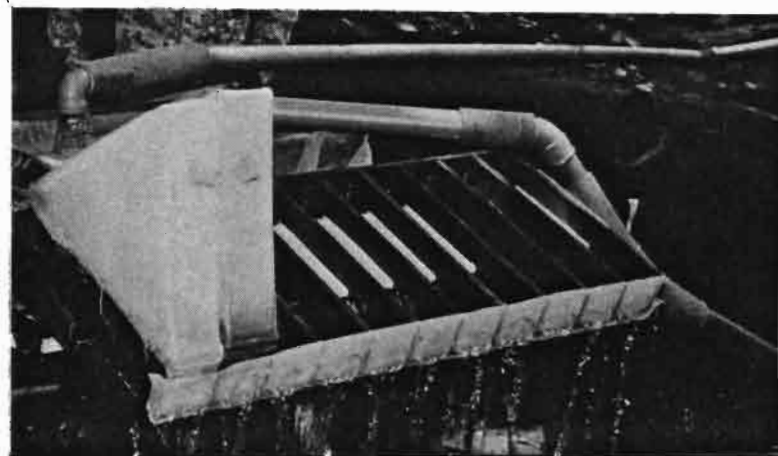


Photo. 3: Dispositif de mise en observation des larves traitées par des composés régulateurs de croissance ("piano").

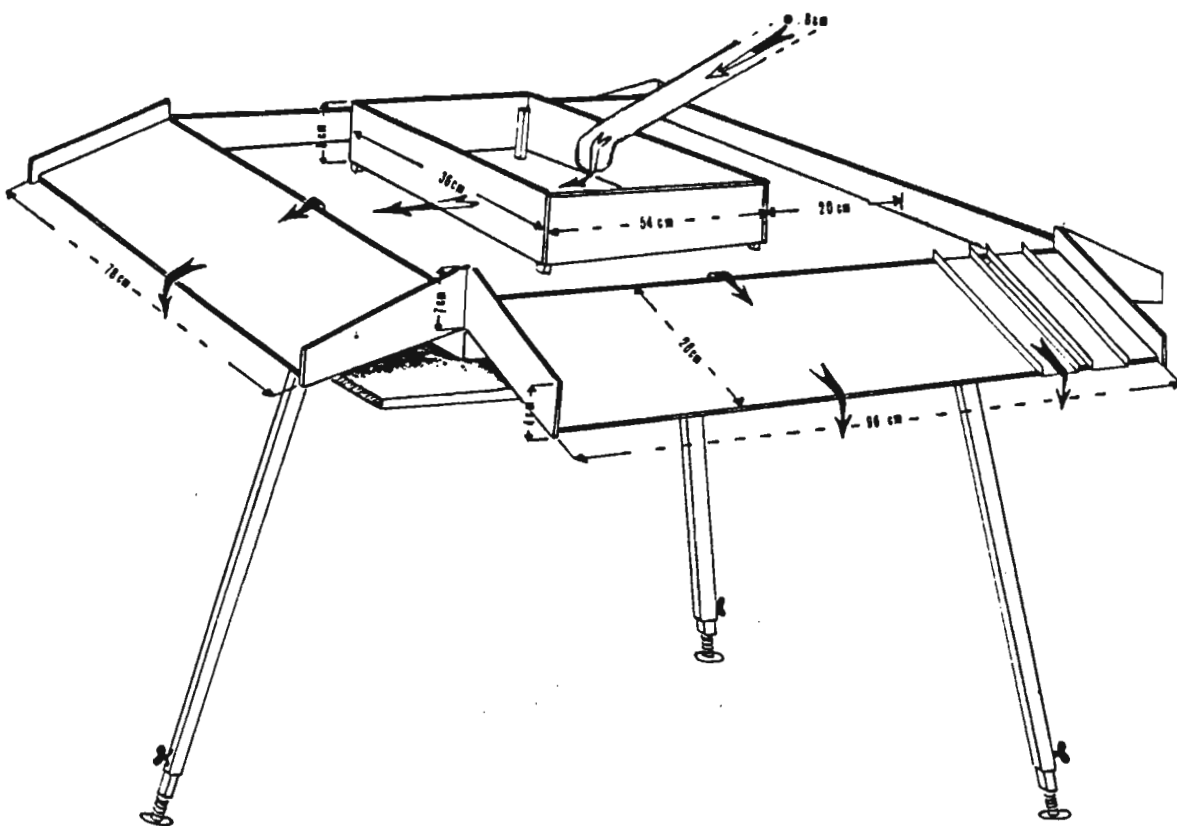


Fig. 2: Dessin du "déversoir" mis à niveau sur une table à pieds coulissants.



Photo. 4: Vue de détail des plaquettes métalliques colonisées par les larves du complexe S. damnosum.



Photo 5: Station de travail à Akakro

En conclusion, qu'il s'agisse d'insecticides chimiques conventionnels, d'analogues de régulateurs de croissance ou d'agents de lutte biologique, ce travail souligne l'importance des recherches méthodologiques pour la sélection de larvicides antisimulidiens.

L'utilisation de dispositifs déjà existants ("auges"), le perfectionnement de certains d'entre eux ("minigouttières", "pianos") ainsi que la mise au point de nouveaux appareils ("déversoirs") contribuent à l'amélioration des techniques d'évaluation (fig. 3) et permettent ainsi de tester un plus grand nombre de composés dans un minimum de temps.

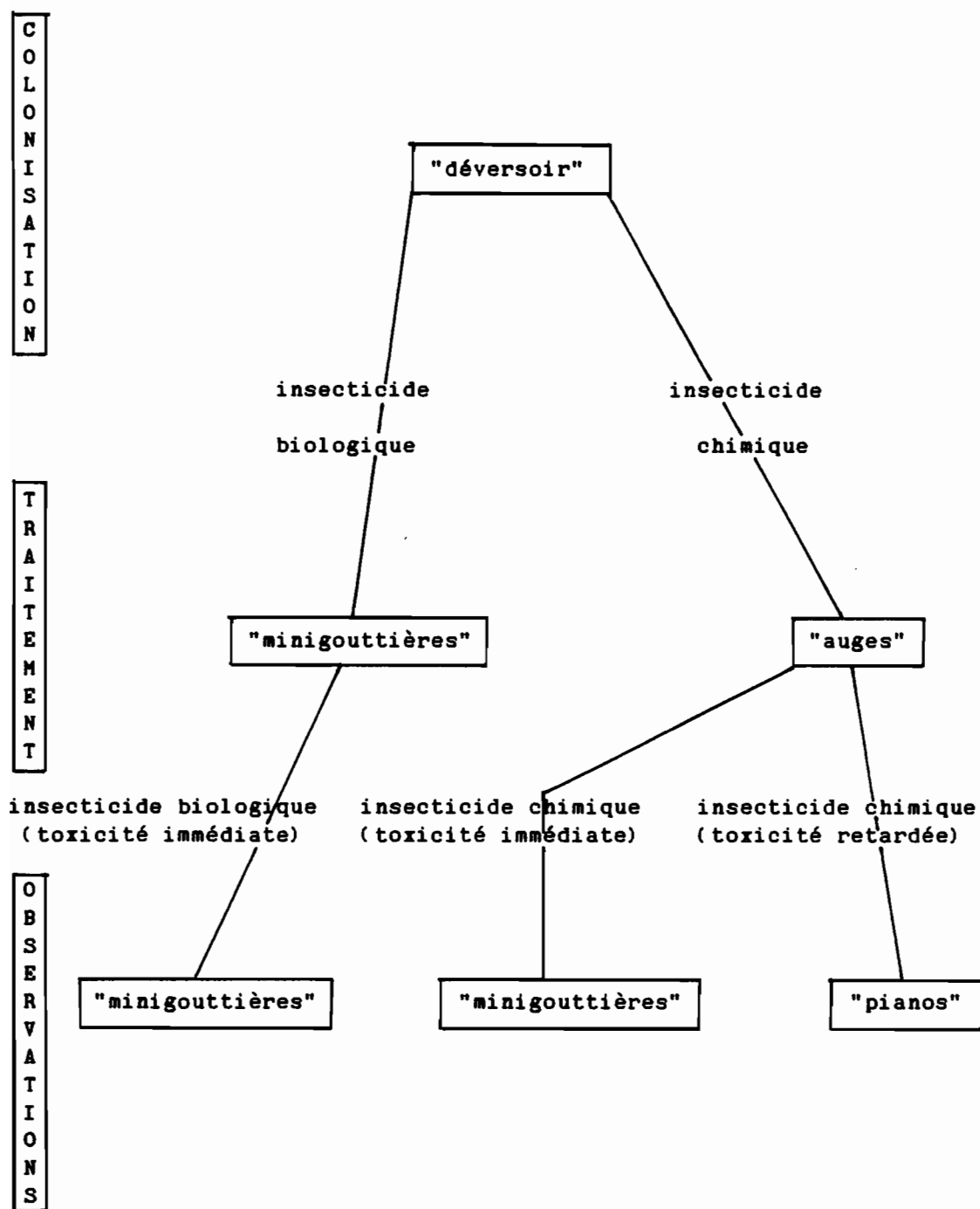


Fig. 3: Schéma de fonctionnement des dispositifs d'évaluation, à échelle réduite, des larvicides antisimulidiens.

2.1.2. Mesure des caractéristiques physiques des formulations de B. thuringiensis H-14

Si les dispositifs à échelle réduite permettent d'évaluer l'efficacité des formulations de B. thuringiensis H-14, ils ne permettent pas de prévoir leur comportement dans la rivière car ces formulations doivent se disperser spontanément et se répartir de façon homogène dès le point d'application. Elles doivent également posséder une fluidité suffisante pour ne pas engorger le système d'épandage. C'est pourquoi la mesure au laboratoire de deux caractéristiques physiques, fluidité et dispersion, est indispensable avant tout essai en rivière des formulations les plus efficaces.

La fluidité se mesure à une température constante à l'aide d'un viscosimètre calibré permettant d'évaluer le temps d'écoulement (en secondes) de la formulation testée lors du criblage.

Pour mesurer la dispersion, on ajoute dans une éprouvette contenant 500 ml d'eau, quelques ml de la formulation. Dans un premier temps, le comportement de la formulation est apprécié en dehors de toute agitation (dispersion spontanée) puis dans un deuxième temps après retournement de l'éprouvette. Cette mesure de la dispersion est très empirique: il s'agit uniquement d'une appréciation visuelle qui sera qualifiée de "très bonne", "bonne" ou de "mauvaise" dispersion.

Ces mesures ne seront pas effectuées pour les concentrés émulsifiables: ce type de formulation est régulièrement utilisé par le programme et par conséquent leur comportement physique dans la rivière et dans les systèmes d'épandage est déjà connu.

2.1.3. Transport et maintien en survie des larves de simulies

2.1.3.1. Introduction

Le caisson isotherme (glacière) était jusqu'à présent le seul moyen utilisé pour transporter les larves de simulies: ces dernières, prélevées dans la rivière sur leur support, sont mises dans un sac en plastique. L'ensemble est conservé dans la glacière et déposé sur du coton imbibé d'eau pour maintenir une certaine humidité.

Le transport du caisson se fait alors à pied, en voiture ou en hélicoptère suivant la distance à parcourir et les moyens disponibles.

Si cette méthode permet de conserver les larves pendant 3 ou 4 heures, elle possède cependant certains inconvénients:

- le pourcentage de mortalité peut être important si le voyage est trop long;
- les larves survivantes sont parfois dans un mauvais état

physiologique, ce qui peut fausser les résultats des tests insecticides;

- le transport est coûteux s'il doit être fait par hélicoptère.

C'est pourquoi Escaffre et al. (1985) ont conçu un appareil permettant de transporter en eau courante, sur route comme sur piste, plusieurs milliers de larves sur de longues distances tout en les conservant dans de bonnes conditions physiologiques.

2.1.3.2. Description de l'appareil

Cet appareil peut être fixé à l'arrière d'un véhicule type peugeot 504 "bachée" (photo. 6). Il est constitué de 4 éléments essentiels, à savoir (fig. 4):

- un fût principal contenant 200 litres d'eau de rivière distribuée, à débit constant au moyen de 10 buses calibrées, dans 10 supports soudés à ce fût. Sur chacun de ces supports s'adapte une plaquette préalablement colonisée par les larves;
- 5 bidons disposés autour du fût recueillant l'eau d'écoulement;
- 1 fût contenant une pompe immergée aspirant l'eau des 5 bidons et la refoulant dans le fût principal;
- 1 groupe électrogène assurant le fonctionnement de la pompe.

Ce dispositif en circuit fermé est recouvert par la bache du véhicule; l'ensemble est facilement démontable.

Afin de vérifier l'état physiologique des larves après un long déplacement dans cet appareil, nous avons tout d'abord évalué, après 24 heures dans l'appareil de transport, le taux de survie des similies. Dans une deuxième expérimentation, nous avons comparé la sensibilité à un insecticide de larves testées sur le gîte aussitôt après le prélèvement et de larves acheminées à Bouaké, testées après 4 heures, 1, 3 et 8 jours de maintien en survie dans l'appareil de transport. Nous avons pour cela comparé, avec une suspension concentrée de B. thuringiensis H-14, les CL 50 et 95 dans un appareil de mesure de la sensibilité spécialement conçu à cet effet (Guillet et al., 1985c).

2.1.3.3. Résultats

1) Taux de survie des larves de similies dans l'appareil

Une expérimentation menée aux abords du gîte larvaire, avec des larves de S. yahense maintenues dans l'appareil de transport, a mis en évidence les faits suivants:

- en l'absence de renouvellement de l'eau de rivière, et sans apport de nourriture, la mortalité larvaire est nulle après 24 heures et atteint 15% après 48 heures;
- en renouvelant l'eau de la rivière mais toujours sans apport de nourriture, il n'y a aucune mortalité après 48 heures.

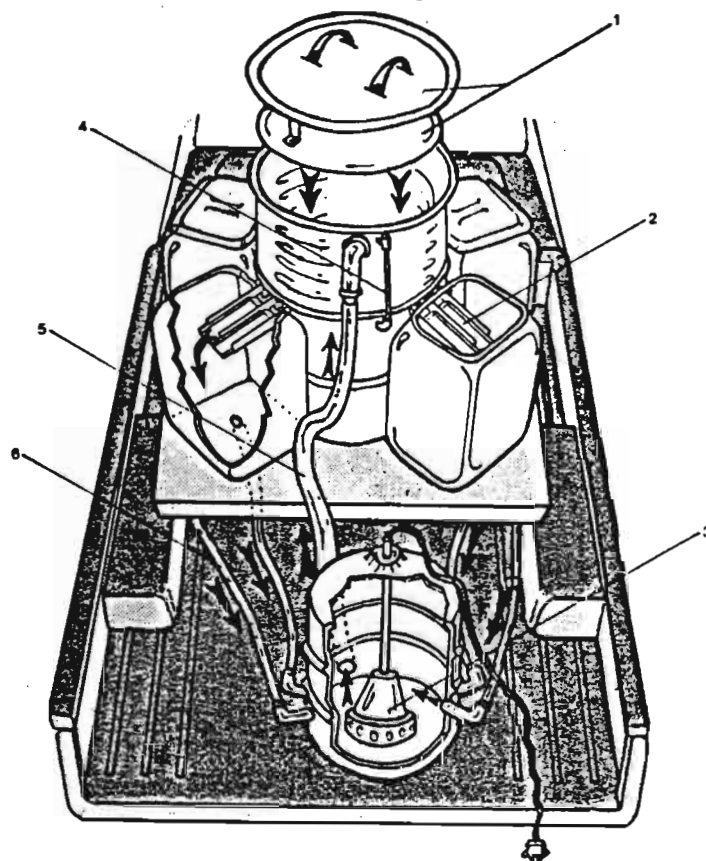


Fig. 4.: Schéma explicatif de l'appareil de transport et de maintien en survie des larves du complexe S. damnosum.

1. Couvercle anti-vagues
2. Plaquettes métalliques
3. Pompe immergée
4. Jauge de niveau d'eau
5. Tuyau de sortie d'eau
6. Tuyau d'arrivée d'eau



Photo. 6: Vue d'ensemble de l'appareil placé sur une Peugeot 504

Dans les deux cas, le pH et l'oxygène dissous varient peu dans le temps et restent à des valeurs proches de celles enregistrées dans la rivière (entre 6 et 7.7 pour le pH et 5.3 et 7.8 cm³/l pour l'oxygène).

La température, voisine de 24°C dans le gîte, peut parfois atteindre près de 27°C dans l'appareil, aux heures chaudes de la journée, même quand celui-ci est placé à l'abri du soleil. Cette température reste toutefois dans la fourchette caractéristique de l'espèce S. yahense (Quillévé et al., 1977).

2) Sensibilité à un insecticide des larves de simuliés après leur transport dans l'appareil

Cette évaluation a été réalisée avec le standard international IPS 82 (poudre lyophilisée). L'analyse gaussio-logarithmique des résultats nous amène à tracer, pour chacun de ces tests, des droites de régression dont l'allure est sensiblement la même quel que soit le temps de survie des larves dans l'appareil de transport (Fig. 5).

3) Discussion

Avec cet appareil, en l'absence de renouvellement de l'eau et sans apport de nourriture, les larves de S. yahense semblent rester en parfait état physiologique, du moins 24 heures après leur prélèvement.

La mortalité larvaire qui commence à apparaître après ce laps de temps est due sans doute à un appauvrissement de l'eau en nourriture (matières organiques en suspension) qui constitue un des éléments indispensables à la survie des simuliés (Le Berre, 1966). La température, le pH et la quantité d'oxygène dissout ne semblent pas devoir être mis en cause dans la mesure où ceux-ci ne s'écartent pas trop des valeurs enregistrées dans la rivière.

L'addition de nourriture et l'oxygénation de l'eau dans l'appareil de transport a permis de maintenir en survie, pendant plus de huit jours, des larves qui ont apparemment gardé leur sensibilité au B. thuringiensis H-14. Il conviendrait toutefois de renouveler ces tests avec de plus fortes concentrations du produit afin d'établir des comparaisons de doses diagnostiques pour la détection de la résistance.

Suite à ces résultats, nous pensons que notre appareil, peu coûteux et de fabrication aisée, pourra dans certains cas remplacer avantageusement le caisson isotherme et permettre ainsi à des équipes isolées de pouvoir transporter des larves sur de longues distances sans avoir recours à des moyens logistiques importants.

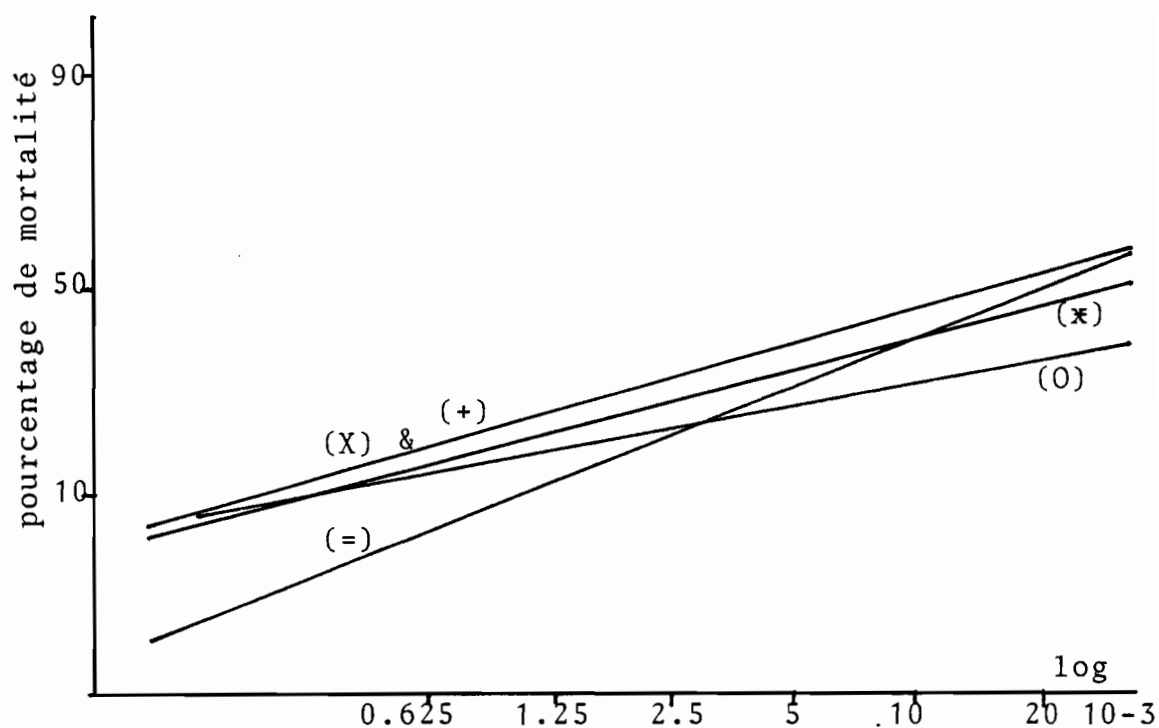


Fig. 5: Sensibilité au *B. thuringiensis* H-14 des larves de *S. yahense* soumises à différentes conditions de survie. (X): test réalisé sur le gîte ; (O): test réalisé après 4 heures ; (*): 1 jour ; (+): 3 jours et (=): 8 jours de maintien en survie.

2. 2. Evaluation à échelle réduite de l'efficacité de larvicides anticulicidiens

A. aegypti et C. quinquefasciatus sont des moustiques dont la présence est essentiellement liée à l'activité humaine. Dans les zones que nous avons étudiées, les stades préimaginaux sont inféodés à des gîtes domestiques facilement accessibles, bien délimités, de taille réduite et suffisamment nombreux pour permettre, contrairement aux similies, une évaluation in situ des formulations larvicides.

2. 2. 1. Evaluation de l'efficacité d'une formulation de B. thuringiensis H-14 dans des gîtes larvaires à A. aegypti

2. 2. 1. 1. Prospection

Nous avons visité deux villages N'Gain, dans la région de M'Bahiakro, et nous nous sommes assurés qu'ils ne faisaient l'objet d'aucun traitement larvicide ni adulticide. Dans chacun d'entre eux, nous avons prospecté une vingtaine d'habitations et recherché les réservoirs d'eau de boisson (jarres appelées "canaris", photo. 7). Leur nombre varie suivant les maisons mais aussi selon le type de pièce. Les cuisines sont en général les lieux privilégiés de stockage de l'eau. La taille des canaris est variable et leur contenance peut parfois atteindre une centaine de litres. Tout canari stockant de l'eau de boisson est considéré comme gîte préimaginal, même si celui-ci n'héberge pas de larves d'A. aegypti (gîte potentiel).

Il existe également autour des habitations quelques rares fûts (photo. 8) qui constituent occasionnellement des gîtes domestiques extérieurs (servant à collecter l'eau de pluie).

2. 2. 1. 2. Echantillonnage

L'échantillonnage des canaris s'effectue par une observation, directement dans le gîte, de la population préimaginale. L'intérieur des habitations étant très sombre, l'observation se fait avec une torche électrique dont le faisceau permet de mettre facilement en évidence la population préimaginale, sinon les larves jeunes, du moins les larves âgées et les nymphes. Cette méthode a été utilisée par de nombreux auteurs notamment pour l'établissement des indices (stégomyiens, maisons, récipients ...) ou lors de l'évaluation ou de l'application de larvicides. Cette méthode visuelle et sans prélèvement de larves est l'une des seules possibles dans la mesure où

pour de simples raisons d'hygiène, il est difficile de manipuler l'eau de boisson. En outre, cet échantillonnage est facilité par la clarté de l'eau et la petitesse des canaris.

En ce qui concerne notre étude, nous avons choisi au hasard une trentaine de canaris "en eau" et déterminé pour chacun des villages le pourcentage de gîtes positifs (indice réceptifs).

2.2.1.3. Traitement

Un seul village est traité (Totodougou), l'autre fait office de témoin (Dézidougou).

Pour plus de commodités, nous avons calculé les concentrations en fonction du volume du canari et non de la quantité d'eau présente au moment du traitement.

Pour une même expérimentation, tous les canaris sont traités, à la même dose, par une suspension concentrée de B. thuringiensis H-14.

2.2.1.4. Contrôle de l'efficacité

Le contrôle de l'efficacité après le traitement s'effectue de la même manière que pour l'échantillonnage des gîtes, avec une torche électrique. Dans un premier temps, on évalue la mortalité larvaire 24 heures après le traitement et dans un deuxième temps, une fois par semaine, on apprécie la persistance de l'insecticide dans le gîte. Un gîte sera considéré comme positif seulement lorsque seront visibles des larves âgées et (ou) des nymphes. Ce critère a été retenu pour les raisons suivantes:

- les jeunes stades larvaires sont difficiles à voir, surtout s'ils sont peu nombreux dans le gîte.
- le B. thuringiensis H-14 agit rapidement après l'ingestion de la toxine par les larves (cf 1.1.1. chapitre II)

L'expérimentation se prolonge jusqu'à réapparition d'un indice réceptif au moins égal à celui du village témoin.

2.2.1.5. Exploitation des résultats

Les résultats obtenus lors du contrôle de l'efficacité permettent de déterminer:

- l'effet immédiat de l'insecticide 24 heures après le traitement (exprimé en pourcentage de mortalité);
- l'effet résiduel de l'insecticide pour chaque canari traité (exprimé en nombre de semaines);
- le temps nécessaire à la réapparition d'un pourcentage de gîtes positifs au moins égal à celui du village non traité.



Photo. 7: Gîtes domestiques intérieurs ("canaris") à A .
aegypti dans un village N' Gain.

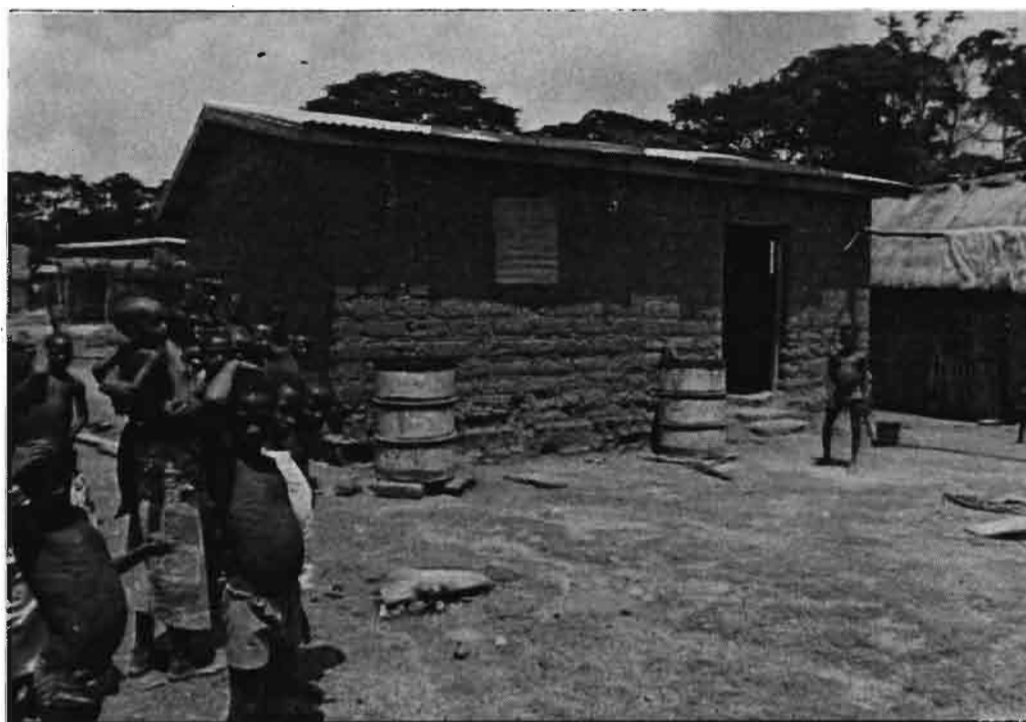


Photo. 8: Gîtes domestiques extérieurs (fûts) à A .
aegypti dans un village N' Gain.

2.2.2. Evaluation de l'efficacité de formulations de B. thuringiensis H-14, B. sphaericus et d'analogues de régulateurs de croissance dans des gîtes larvaires à C. quinquefasciatus

2.2.2.1. Prospection

Parmi les différents quartiers visités de Bouaké, nous avons sélectionné deux types de gîtes larvaires:

- dans les quartiers de Bouaké où les infrastructures de voirie sont pratiquement inexistantes, les puisards sont de simples trous creusés en bordure des concessions (photo. 9), ou des constructions plus élaborées, limitées au niveau de leur ouverture par quelques rangées de briques ou de parpaings (photo 10). Ce type de gîtes, décrit également par Subra (1971) à Bobo-Dioulasso, collecte essentiellement les eaux de toilette mais également certaines quantités d'eau de pluie;

- dans les quartiers plus aménagés, les puisards sont pour la plupart plus complexes, entièrement cimentés, compartimentés et ne reçoivent exclusivement que les eaux de toilette (fosse septique).

Pour chacun des gîtes sélectionnés, nous nous sommes assurés qu'ils ne faisaient pas l'objet de traitements périodiques, soit par les propriétaires, soit par les services d'hygiène de la ville.

2.2.2.2. Echantillonnage

Contrairement aux canaris, une numération, directement dans le gîte, des populations préimaginales des différents puisards prospectés est difficilement réalisable. On procède par conséquent à des mesures de densités relatives dont les techniques utilisées varient suivant le type de gîte mais aussi suivant les auteurs: certains effectuent des prélèvements normalisés à l'aide de filets calibrés (Basu, 1967 ; Soliman et al., 1967) mais d'autres auteurs prélèvent une certaine quantité d'eau à l'aide d'une cuvette ou d'une louche (Breeland et Pickard, 1967 ; Subra, 1971).

Pour notre part, nous échantillonnerons les gîtes avec une louche à raison de 5 prélèvements espacés de 2 mn: quatre coups de louche à la périphérie et un au centre du puisard (méthode du dipping).

Un échantillonnage avant traitement est réalisé pour s'assurer d'une part que le gîte est riche en stades préimaginaux de C. quinquefasciatus, d'autre part qu'il n'est pas traité.

2.2.2.3. traitement

Nous avons testé dans cette étude:

- 3 formulations de B. thuringiensis H-14, une suspension concentrée et deux formulations à relargage progressif, l'une sous forme de granulés, l'autre sous forme de briquettes renfermant 5% de formulation bactérienne;

- 2 formulations de B. sphaericus, une suspension concentrée de la souche 1593-4 et une poudre mouillable de la souche 2362;

- 3 juvénoïdes : l'OMS 3007 en poudre mouillable et en granulés, l'OMS 3010 en concentré émulsifiable et en microémulsion et l'OMS 3019 en poudre mouillable.

Le volume d'eau dans un puisard est difficile à apprécier et peut varier au cours de l'année en fonction de l'activité humaine mais surtout en fonction de la pluviométrie, notamment dans les gîtes non cimentés. C'est pourquoi nous avons calculé les concentrations en fonction de la surface traitée et non du volume d'eau présent lors du traitement. Nous verrons que compte-tenu de la localisation des larves, cette méthode de calcul est tout à fait légitime.

En ce qui concerne les poudres ou les formulations liquides, la quantité d'insecticide nécessaire pour chaque traitement est préalablement diluée dans de l'eau et répandue sur toute la surface du puisard soit au moyen d'un pulvérisateur à dos soit à l'aide d'une simple bouteille.

En ce qui concerne les formulations à relargage progressif, les briquettes flottantes sont jetées simplement par le regard du puisard et les granulés, préalablement pesés, sont dispersés à la surface du gîte.

Avec les agents de lutte biologique, nous avons utilisé 3 ou 4 concentrations et traité les gîtes préimaginaux à raison de deux ou trois puisards par concentration.

Avec les composés régulateurs de croissance, nous avons réalisé dans un premier temps un criblage préliminaire des formulations à dose unique puis dans un deuxième temps une évaluation plus détaillée de la formulation la plus performante sur un plus grand nombre de gîtes.

2.2.2.4. Contrôle de l'efficacité

Le contrôle de l'efficacité varie suivant le mode d'action de l'insecticide.

- s'il s'agit d'un larvicide à toxicité immédiate, le contrôle de la mortalité et la rémanence de l'insecticide dans le gîte s'évaluent par un échantillonnage sur place des gîtes larvaires par la méthode du dipping. Pour les mêmes raisons que dans le paragraphe précédent, un gîte sera considéré positif dès réapparition des larves âgées et (ou) des nymphes.

L'observation peut se prolonger bien après la recolonisation des gîtes pour observer d'éventuelles modifications dans la dynamique de la population préimaginaire en cas de recyclage de la bactérie. Il y aura alors une observation parallèle à long terme sur un puisard témoin (non traité).

- s'il s'agit de composés régulateurs de croissance, les auteurs expriment généralement l'efficacité en fonction des émergences.

Des observations personnelles ainsi que d'autres études faites sur le terrain, notamment par Schaefer et al. (1974), montrent que la plupart des larves de C. quinquefasciatus traitées par des juvénoïdes se nymphosent et émergent correctement si le contact avec l'insecticide n'est pas maintenu jusqu'au dernier stade larvaire.

C'est pourquoi nous avons utilisé une méthode d'évaluation spécifique de ce type de composé: de tous les stades préimaginaux prélevés dans 5 coups de louche, seules les nymphes sont prises en compte puis les vivantes mises en observation au laboratoire dans de l'eau du robinet. L'observation des émergences permet ensuite de déterminer le nombre d'adultes viables par rapport au nombre total de nymphes récoltées.

Le contrôle de l'efficacité se termine en général lors de la réapparition des émergences à un niveau pratiquement équivalent à celui avant le traitement.

2.2.2.5. Exploitation des résultats

Les résultats obtenus permettent de déterminer:

- l'effet immédiat de l'insecticide, à une concentration donnée, dans les conditions naturelles. Pour les agents de lutte biologique, il s'exprime en pourcentage de mortalité larvaire 24 heures après le traitement. Pour les juvénoïdes, il s'exprime en pourcentage de réduction d'émergence pour les larves ayant été en contact permanent avec l'insecticide.

- l'effet résiduel des différents composés c'est-à-dire la persistance de l'insecticide dans le gîte en fonction de la dose.



Photo. 9: Puisard creusé à même le sol, collectant les eaux de toilette et de faibles quantités d'eaux de pluie.



Photo. 10: Puisard limité par une paroi en parpaing et collectant essentiellement les eaux de toilette.

2.3. Expérimentations de laboratoire

L'évaluation de larvicides à échelle réduite peut être parfois précédée, accompagnée ou suivie par des expérimentations de laboratoire afin de mieux prévoir ou interpréter les résultats obtenus sur le terrain. En ce qui concerne les agents de lutte biologique, nous avons réalisé quelques études de cette nature en recourant plus particulièrement à des méthodes biologiques ou des analyses bactériologiques.

2.3.1. Expérimentation par la méthode biologique

2.3.1.1. Titrage biologique

- généralités

L'expérience acquise avec les sérotypes de B. thuringiensis utilisés en agriculture a montré que le nombre de spores dans un produit primaire ou une formulation ne donnait pas une idée précise de son activité sur les insectes cibles (Burgess et Thompson, 1971). Compte-tenu de la nature protéique complexe et mal connue des toxines élaborées par ce type de bactéries, il est impossible de doser chimiquement la matière active de ces composés. Par conséquent, seule reste valable la méthode biologique, capable de quantifier son efficacité.

Pour obtenir des résultats comparables et d'une précision acceptable, le titrage biologique repose sur un protocole d'expérimentation rigoureux et standardisé. Celui-ci permet d'évaluer la quantité de matière active par rapport à un matériel de référence, ayant statut de standard international, dont le titre est déterminé arbitrairement en Unités Internationales de toxicité pour un insecte donné (I. T. U. / mg).

Le protocole, largement inspiré de celui préconisé par l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 1981b), est basé sur la méthode du triple essai (trois tests réalisés dans les mêmes conditions expérimentales mais à plusieurs jours d'intervalle).

De nombreux auteurs ont contribué à la mise au point et à la standardisation de ce protocole, notamment Hougard et Coz (1982) pour B. thuringiensis H-14 et Karch (1984) pour B. sphaericus. Cependant, la méthode utilisée varie parfois suivant les auteurs mais aussi en fonction des conditions matérielles de travail.

- description sommaire du protocole

Au laboratoire de Bouaké, le titrage biologique des suspensions de B. thuringiensis H-14 se pratique de la manière suivante:

. Des larves d'A. aegypti souche "Bora-Bora" sont testées au stade 4 jeune 72 heures après l'éclosion des larves (élevées dans des conditions standardisées à 29 °C);

. Toutes les dilutions sont réalisées dans de l'eau distillée;

. Chaque essai comporte de 5 à 8 concentrations et 1 lot témoin;

. Pour chaque concentration, 100 larves sont réparties dans 4 gobelets contenant chacun 150 ml de la suspension bactérienne (ou d'eau distillée uniquement s'il s'agit du témoin);

. La lecture de la mortalité a lieu 24 heures après le début du test;

. La préparation de référence est le standard international IPS 82 (de Barjac et Larget-Thiery, 1984). C'est une poudre lyophilisée titrant dans notre laboratoire 15000 Unités Internationales A. aegypti/mg.

Pour B. sphaericus, le principe du test est le même que précédemment. Cependant, A. aegypti est peu ou pas sensible à cette bactérie. C'est pourquoi nous avons choisi comme insecte test une souche locale de C. quinquefasciatus que nous avons baptisée souche "Bouaké". Elle a été à l'origine prélevée dans les puits de la ville et maintenue en élevage dans notre laboratoire.

Les larves de C. quinquefasciatus sont testées au stade 3 jeune, 48 heures après leur éclosion, et élevées dans les mêmes conditions de standardisation que précédemment.

La mort des larves après ingestion de B. sphaericus étant plus tardive que pour B. thuringiensis H-14, la lecture de la mortalité a lieu après 48 et 72 heures de contact avec l'insecticide.

Par conséquent, un apport nutritif est nécessaire pour éviter qu'une trop forte mortalité ne survienne dans les lots témoins (Bourgouin et de Barjac, 1980). Des travaux personnels réalisés sur la souche "Bouaké" ont confirmé ces observations avec, chez les témoins, plus de 35% de mortalité après 48 heures et 50% après 72 heures si les larves ne sont pas nourries. C'est pourquoi toutes les dilutions sont réalisées dans de l'eau distillée contenant 10 mg/l de levure sèche de boulanger finement moulue, apparaissant au microscope sous forme d'une distribution homogène de particules de 4 microns de diamètre.

La préparation de référence varie suivant les sérotypes: pour le sérotype H5 (notamment les souches 2362 et 1593), on utilise une poudre lyophilisée de la souche 1593-4 dénommée RB 80. Elle contient

3.7 10 E7 cellules viables par mg et son titre est arbitrairement fixé à 1000 Unités Internationales Culex pipiens pipiens/mg (Bourgouin et al., 1984). Pour le sérotype H25, on utilise une poudre lyophilisée de la souche 2297 dénommée SPH 84. Elle contient 1.35 10 E8 cellules viables par mg.

- exploitation des résultats

Quelle que soit la bactérie testée, les résultats sont exprimés en pourcentage de mortalité larvaire en fonction de la concentration. Si ce pourcentage excède 5% dans le lot témoin, il est corrigé par la formule de la loi de combinaison des probabilités indépendantes dite formule de Abbott (1925). Si la mortalité excède 20% chez le témoin, le test est alors invalidé.

Il s'agit ensuite de savoir si les résultats obtenus peuvent s'inscrire dans le cadre d'une loi mathématique bien définie, en l'occurrence la loi gaussio-logarithmique, habituellement utilisée pour les insecticides chimiques. Cette loi consiste à linéariser la courbe de régression de la mortalité corrigée en fonction de la dose, par une transformation des variables en logarithme de la dose et probit de la mortalité. La représentation graphique aboutit théoriquement à une droite de régression permettant une détermination aisée des concentrations léthales 50 et 95 (CL 50 et CL 95). Pour savoir si les points s'alignent en une droite, on peut recourir à un test statistique de χ^2 (chi deux) selon la méthode de Finney (1971). L'intervalle de confiance des CL 50 et 95 est donné au seuil de 95%.

Toutes ces opérations sont réalisées sur ordinateur au laboratoire de Bouaké.

Nous avons réalisé au cours de cette étude le titrage biologique de quelques suspensions concentrées de B. thuringiensis H-14 et des produits primaires ou formulés de B. sphaericus appartenant aux souches 2362, 2297 et 1593 (dont les réisolats 1593-4 et 1593-M).

2.3.1.2. Autres expérimentations par la méthode biologique

Nous avons également utilisé la méthode biologique pour tenter de mieux comprendre au laboratoire certains phénomènes observés dans l'eau polluée des gîtes préimaginaux à C. quinquefasciatus.

- mise en évidence de la pollution et des facteurs polluants sur l'activité larvicide des bactéries entomopathogènes

A une concentration insecticide donnée, nous avons comparé, dans les mêmes conditions expérimentales, le pourcentage de mortalité larvaire chez des lots de moustiques mis au contact de différents types d'eau: eau distillée / eau polluée / eau déchlorée / eau distillée + détergents ...

- diffusion et sédimentation de la matière active de B. thuringiensis H-14 et de B. sphaericus

1) Un bac en ciment situé à l'abri des courants d'air est rempli d'eau du robinet. A l'une des extrémités du bac, on maintient à la surface de l'eau, pendant une semaine, une briquette renfermant du B. thuringiensis H-14. A la fin de ce temps, on effectue des prélèvements d'eau en profondeur et en surface, à des distances régulières de la briquette.

Ces échantillons sont ensuite soumis à un dosage biologique sur des larves d'A. aegypti.

2) Un fût contenant 24 litres d'eau distillée, traité à 10 mg/l d'une formulation de B. sphaericus, est percé de trois orifices situés en surface, au milieu et à quelques centimètres du fond.

Après homogénéisation de la suspension dans le fût, des prélèvements d'eau sont réalisés à différents temps aux trois niveaux précités et font également l'objet d'un dosage biologique sur des larves de C. quinquefasciatus.

3) Une éprouvette graduée est remplie d'un litre d'eau du robinet. On disperse à la surface de l'eau 10 ml d'une suspension concentrée de B. sphaericus préalablement diluée dans l'eau.

Avec une autre éprouvette, on procède de la même manière avec une suspension concentrée de B. thuringiensis H-14.

Les dilutions de chaque produit dans chaque éprouvette sont telles que les concentrations théoriques équivalent respectivement aux CL 90 C. pipiens et A. aegypti.

Des prélèvements d'eau sont pratiqués, à différents temps après le traitement, en surface, au milieu et au fond des éprouvettes.

Les échantillons font ensuite l'objet d'un titrage biologique ainsi que d'un comptage des spores viables selon la technique indiquée dans le paragraphe suivant.

2.3.2. Expérimentation par la méthode bactériologique

Les analyses bactériologiques que nous avons entreprises dans cette étude accompagnent ou complètent les travaux entomologiques sur l'évaluation de B. sphaericus dans les gîtes larvaires à C. quinquefasciatus.

Afin de suivre la sédimentation des spores de B. sphaericus dans les gîtes larvaires, nous avons prélevé des échantillons d'eau dans différents compartiments des puisards traités. L'analyse bactériologique de ces échantillons a permis de suivre l'évolution de la concentration en spores de cette bactérie, d'une part en fonction du niveau de prélèvement, d'autre part en fonction du temps après le traitement.

L'appareil de prélèvement consiste en une seringue en verre de 50 ml sur laquelle est adaptée un tuyau en plastique de 2 mètres de long lesté à son extrémité.

Dans un premier temps, ne disposant pas du matériel nécessaire pour réaliser sur place les analyses bactériologiques, nous avons expédié les prélèvements à un laboratoire de microbiologie d'Abidjan (Côte d'Ivoire) pour vérifier simplement l'absence ou la présence de spores dans les échantillons. Ceux-ci, conservés à 4°C pendant le transport, subissent tout d'abord un choc thermique (65°C pendant 30 mn) pour éliminer les formes végétatives des diverses bactéries et champignons et ne conserver que les spores. Ils sont ensuite ensemencés par étalement sur milieu MP gélosé de composition suivante: peptone (5 g/l), extrait de levure (10 g/l), extrait de viande (5 g/l), glucose (10g/l) et NaCl (3g/l). On ajoute alors dans le milieu de culture 5 mg/l d'oxacilline (qui inhibe la multiplication de certaines bactéries) et 10 mg/l de nystatine (qui élimine les moisissures). L'identification se fait après incubation par examen des colonies. Cette technique ne permet cependant pas de différencier les souches saprophytes de B. sphaericus pouvant exister naturellement dans le gîte et les résultats doivent être interprétés avec prudence.

C'est pourquoi nous avons acquis par la suite le matériel nécessaire pour réaliser sur place les analyses bactériologiques, nous permettant d'évaluer quantitativement la concentration en spores dans les prélèvements. Tous les échantillons ont été conservés à -20°C jusqu'à numération des spores. Des dilutions au dixième, d'un volume total d'un ml, ont été chauffées au bain-marie pendant 12 mn à 80°C, et des aliquots de 0.1 ml de ces dilutions ensemencés par étalement en boîtes de pétri sur milieu MBS (Kalfon et al., 1983) à 15 g/l de bacto-agar et 100 mg/l de sulfate de streptomycine. Les boîtes ont été incubées à 30-32°C pendant 48 h. Les colonies ont été identifiées morphologiquement et microscopiquement. Le sérotype a été vérifié sur un échantillon de colonies par la technique d'agglutination flagellaire avec un sérum H5-1, préparé sur lapin à l'Institut Pasteur de Paris (de Barjac et al., 1980b).

CHAPITRE III

LUTTE CONTRE LES LARVES DU COMPLEXE SIMULIUM DAMNOSUM:

EVALUATION DE L'EFFICACITE DE BACILLUS THURINGIENSIS H-14

ET D'ANALOGUES DE REGULATEURS DE CROISSANCE.

1. INTRODUCTION

Depuis la mise en place du programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest, de nombreux cas de résistance aux insecticides ont été mis en évidence sur différentes espèces du complexe S. damnosum. Pour Guillet (1985), toutes les solutions envisageables pour faire face, dans la pratique, aux problèmes posés par la résistance passent par la recherche de nouveaux composés ne présentant pas de résistance croisée avec le principal larvicide utilisé par le programme, le téméphos (organophosphoré). Les recherches doivent s'orienter par conséquent vers des insecticides ayant des modes d'action radicalement différents de ceux des insecticides conventionnels (insecticides non métabolisés par les enzymes de résistance).

Outre cette caractéristique, d'autres performances sont demandées aux larvicides antismulidiens, notamment quand ils sont utilisés dans un programme de l'ampleur de celui entrepris en Afrique de l'Ouest *. Si certaines d'entre elles sont communes à la plupart des insecticides utilisés en santé publique, d'autres sont spécifiques au cas particulier des eaux courantes:

- le composé doit être efficace sur l'insecte cible, non toxique pour l'homme et les vertébrés et aussi peu toxique que possible pour la faune non cible. La rivière renferme en effet une grande variété d'organismes aquatiques (poissons, invertébrés) et peut constituer une source d'eau potable pour les populations riveraines et les animaux domestiques;

- le composé doit avoir une portée aussi grande que possible. Cette caractéristique est peu importante en saison sèche pendant laquelle les rapides sont en général séparés par de grandes étendues d'eau stagnante. En revanche, en saison des pluies, l'insecticide peut être entraîné par le courant et atteindre des distances (jusqu'à 50 km) qui varient suivant le débit de la rivière et la formulation utilisée;

- la formulation doit posséder certaines caractéristiques physiques qui lui permettent de se disperser spontanément et de se répartir de façon homogène dans les 50 premiers centimètres d'eau dès son point d'application. Elle doit également être stable, notamment dans les conditions d'entreposition sur le terrain, en plein soleil, parfois pendant plusieurs mois.

* Ce programme couvre actuellement une superficie de 764 000 km² d'un seul tenant. Chaque semaine, de 6 000 Km (saison sèche) à 23 000 km (saison des pluies) de rivière sont surveillés et au besoin traités.

Toutes ces contraintes limitent le choix des composés disponibles et justifient l'évaluation de nouvelles familles de larvicides qui possèderaient sinon toutes, du moins la plupart des caractéristiques mentionnées ci-dessus. Des analogues de régulateurs de croissance et un agent de lutte biologique tel que le B. thuringiensis H-14 offrent dans ce contexte des perspectives très intéressantes de lutte.

2. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE DIFFERENTES FORMULATIONS DE BACILLUS THURINGIENSIS H-14

2.1. Rappels bibliographiques

Peu après les premiers tests de toxicité de B. thuringiensis H-14 réalisés au laboratoire sur différentes espèces de similies (cf. 1.1.1. chapitre II), des essais furent entrepris dès 1979 dans des rivières d'Afrique de l'Ouest, contre les larves du complexe S. damnosum.

Les études réalisées depuis cette date jusqu'à nos jours ont été particulièrement bien décrites dans un chapitre de l'ouvrage de Guillet (1985) dont nous rappelons ici les points essentiels:

B. thuringiensis H-14 est très efficace vis-à-vis des larves du complexe S. damnosum. Cet insecticide n'est pas toxique pour les organismes aquatiques associés et s'avère être très stable dans les conditions d'emmagasinement en milieu tropical. Encore plus que pour les insecticides conventionnels, la formulation joue un rôle au moins aussi important que la teneur en matière active: le choix s'est très vite orienté vers des suspensions à très fines particules dont l'efficacité serait indépendante de la turbidité de l'eau et du temps de contact avec l'insecticide. Parmi les différentes formulations expérimentales testées dans les dispositifs à échelle réduite (cf. 2.1. chapitre II), une suspension concentrée, le Teknar, fut envisagée pour une utilisation opérationnelle, car elle présente le meilleur compromis entre l'efficacité antisimulidienne et les contraintes de son emploi par voie aérienne (Guillet et al., 1982a).

Depuis la mise en évidence, en 1981, d'une résistance au téméphos dans certaines zones de l'aire du programme, cette formulation est utilisée, faute de larvicides chimiques de remplacement, contre les populations de similies résistantes.

Le Teknar peut être emmagasiné plus de 12 mois en milieu tropical sans altération de sa toxicité et peut être produit industriellement

tout en gardant une efficacité constante. Cependant, cette formulation présente certaines insuffisances: outre une efficacité et une portée limitée, elle présente une viscosité excessive qui oblige à diluer la formulation avec de l'eau pour ne pas engorger les systèmes d'épandage et permettre une bonne dispersion de l'insecticide dans la rivière.

Ces inconvénients, alliés à une dose opérationnelle relativement élevée (1.6 mg de formulation par litre pendant 10 mn), entraînent un coût d'utilisation élevé et limite son emploi, pour de simples raisons de logistique, à des rivières ayant un débit inférieur à 50 m³/sec.

Dans le but d'obtenir des produits plus efficaces, nous avons testé dans des dispositifs à échelle réduite plus de 200 formulations de B. thuringiensis H-14 (Guillet et al., 1984 ; Hougard et al., 1985b), mais n'indiquerons dans cette étude que les résultats des formulations ayant des performances au moins comparables au Teknar commercial.

Cette dernière formulation a été testée par de nombreux auteurs sur d'autres espèces de simuliés (Chilcott et al., 1982 ; Gaugler et al., 1983 ; Horosko et Noblet, 1983 ; Car et De Moor, 1984 ; Colbo et O'Brien, 1984 ; Lacey et Undeen, 1984): les résultats concordent avec ceux obtenus avec S. damnosum, à savoir une efficacité très nette mais une portée faible (quelques km).

Bien qu'aucune indication ne soit fournie sur la portée, signalons que Lacey et Heitzman (1985) ont testé dans les conditions naturelles différentes formulations de B. thuringiensis H-14 sur les larves de Simulium vittatum et n'ont pas observé de grandes différences d'efficacité entre les échantillons testés.

2.2. Observations personnelles

2.2.1. Sélection des formulations

L'efficacité des formulations de B. thuringiensis H-14 a été testée sur des larves du complexe S. damnosum dans un dispositif approprié d'évaluation à échelle réduite (cf 2.1.1.2. chapitre II). Les résultats, consignés dans le tableau 2 et détaillés dans les annexes 1 à 9, mentionnent la toxicité et les caractéristiques physiques (cf 2.1.2.1. chapitre II) des 8 échantillons les plus performants que nous ayons testés jusqu'à présent.

A titre comparatif, nous avons inclus dans ce tableau les résultats de la formulation commerciale (Teknar) testée dans des conditions expérimentales similaires.

références des formulations	% mortalité larvaire				caractéristiques physiques		
	1.6 (mg/l/10mn)	0.8	0.4	0.2	dispersion (1)	dispersion (2)	fluidité (3)
commerc.	100	94.1	89.1	48.9	nulle	bonne	> 25
T SC 60	99.7	96.9	94.6	75.9	bonne	très bonne	10-15
E SC 93	100	97.6	95.0	60.7	bonne	très bonne	10-15
N SC 98	100	99.2	97.9	84.4	très bonne	très bonne	5-10
R SC 99	100	99.7	98.3	83.6	bonne	très bonne	5-10
83/692.4 (BACTIMOS)	100	99.0	90.5	59.0	bonne	bonne	10-15
BT-4/11/NF	98.0	80.7	32.9	8.7	moyenne	très bonne	5-10
ABG-6145 (VECTOBAC)	100	93.7	97.7	63.8	nulle	très bonne	15-20
ST-8 (SKEETAL)	98.7	82.5	50.6	14.4	mauvaise	moyenne	20-25

Tableau 2: Toxicité sur S. damnosum s.l. et caractéristiques physiques de huit formulations de B. thuringiensis H-14 en comparaison avec la formulation commerciale.

(1) spontanée.

(2) après retournement (cf 2.1.2. chapitre II).

(3) en secondes; d'après Kurtak (non publié), une formulation ayant un temps d'écoulement inférieur à 12 secondes n'engorge pas les systèmes d'épandage alors qu'elle pose quelques problèmes entre 12 et 25 secondes et qu'elle devient impossible à répandre au delà de ce temps.

Remarque: la formulation de Teknar SC 93 est produite à partir d'une souche asporogène.

Deux de ces formulations, l'ABG-6145 et le ST-8 ne possèdent pas les qualités du Teknar commercial, tant au niveau de leurs caractéristiques physiques que de leur efficacité sur simules. Des

essais en rivière réalisés avec le Vectobac ont confirmé les résultats de l'évaluation en minigouttières: à un débit de 60 m³ /sec, la portée est très faible et la formulation ne peut être utilisée sans addition d'eau.

Malgré des performances intéressantes, le Bactimos 83/692.4 n'a pu être commercialisé, à la suite de difficultés survenues au niveau de la production industrielle: bien que des premiers essais en rivière se soient révélés très encourageants avec un lot expérimental, les résultats furent très décevants avec les lots industriels (WHO, 1984a). Le même problème a été rencontré par la suite avec un autre échantillon de Bactimos, le BT-4/11/NF. Ses performances, non seulement inférieures à la formulation précédente, n'ont pu être maintenues lors de sa production en plus grande quantité.

Les quatre formulations de Teknar que nous avons testées en minigouttières (SC 60, 93, 98 et 99) sont de loin les plus performantes et incitent à des essais en rivière, sans addition d'eau et à des concentrations égales ou même inférieures à 1.6 mg/l/10mn.

Les SC 60 et 99 n'ayant pas été commercialisés pour des raisons économiques, seules les deux autres formulations ont fait l'objet d'une évaluation plus approfondie.

Si le SC 98 n'a pas donné en rivière les résultats espérés, le SC 93 apporte une nette amélioration par rapport à la formulation opérationnelle (WHO, 1984b): une première série d'essais réalisée dans une rivière de Côte d'Ivoire (FéréDougouba) a permis d'obtenir, avec un débit de 70 m³ /sec, 100% de mortalité larvaire sur une distance de plus de 4 km à la concentration de 0.8 mg/l/10mn sans addition d'eau. A titre de comparaison, le Teknar commercial n'a pas dépassé, dans la même rivière, plus de 1 km de portée dans les conditions habituelles d'emploi (1.6 mg/l/10mn - 20% d'eau).

2.2.2. Evaluation complémentaire

Des essais supplémentaires réalisés sur une autre rivière de Côte d'Ivoire, la Comoé, ont donné par contre des résultats tout à fait différents de ceux enregistrés sur la FéréDougouba: aucune des formulations testées de Teknar commercial ou du SC 93 n'a donné 100% de mortalité aux doses habituelles, même au niveau du point d'épandage (Kurtak, non publié).

Dans le but de déterminer les raisons de ces contre-performances, nous avons contrôlé l'efficacité de 2 lots de SC 93 utilisés lors des essais sur la Comoé. Comme le montre le tableau 3, il ne semble pas que la formulation soit à mettre en cause, malgré une légère baisse d'efficacité de l'échantillon N°2, aux deux plus faibles concentrations.

	pourcentage de mortalité larvaire			
référence du lot	1.6*	0.8	0.4	0.2
lot expérimental	100	97.6	95.0	60.7
lot N°1	100	96.5	94.7	78.5
lot N°2	100	98.9	86.3	51.5

Tableau 3: Contrôle de l'efficacité sur simuliés de deux lots de Teknar SC 93 en comparaison avec notre lot expérimental (cf tableau 2). *: mg/l/10mn

L'efficacité de la formulation n'étant pas en cause, nous avons poursuivi l'expérimentation en comparant la sensibilité vis à vis du SC 93 (lot N°1) de larves prélevées sur la Comoé (S. soubrense - S. sanctipauli) et de larves de S. yahense prélevées dans dans le gîte d'Akakro (cf 2.2. chapitre I). Pour ces espèces, les tests ont été réalisés dans ce gîte, simultanément dans des minigouttières et par conséquent dans les mêmes conditions expérimentales.

Les résultats de cette expérimentation mettent tout d'abord en évidence une baisse d'efficacité du lot N°1 sur S. yahense: ce phénomène, également constaté sur les moustiques, est sans doute dû à l'entreposition de cet échantillon, à température ambiante, pendant plus de trois mois. En effet, les résultats mentionnés dans le tableau N°3 datent de décembre 84 alors que ceux du tableau N°4 datent de février 85 (annexe 10).

Le tableau N°4 montre également une mortalité légèrement supérieure de S. yahense sur S. sanctipauli - S. soubrense. Cependant, cette variation est à notre avis plus imputable à l'état physiologique des insectes qu'à une baisse de leur sensibilité: les larves en provenance de la Comoé (S. soubrense - S. sanctipauli) ne sont plus dans leur environnement naturel et sont soumises à des conditions physico-chimiques différentes de celles rencontrées dans l'eau des grandes rivières.

	pourcentage de mortalité larvaire			
espèces testées	1.6*	0.8	0.4	0.2
<u>S. yahense</u>	98.3	94.9	76.0	28.2
<u>S. soubrense</u>				
<u>S. sanctipauli</u>	96.5	88.9	71.1	25.0

Tableau 4: Sensibilité comparée en minigouttières des larves de S. yahense et S. soubrense - S. sanctipauli au Teknar SC 93 (lot N°1). *: mg/l/10mn.

Les échecs des traitements sur la Comoé ne semblent donc pas dus à une baisse de sensibilité des larves, consécutive à un traitement prolongé au B. thuringiensis H-14, mais plutôt à des conditions physico-chimiques particulières de l'eau: Kurtak (comm. pers.) a constaté que cette rivière favorisait, à certaines époques de l'année, la prolifération d'algues microscopiques qui avaient un effet négatif sur l'efficacité du B. thuringiensis H-14 (concurrence avec la toxine bactérienne lors de l'ingestion).

2. 3. Discussion

La majorité de composés testés précédemment ont été éliminés pour leur efficacité insuffisante sur les simules. En effet, des traitements efficaces même à 95% entraîneraient le maintien d'une transmission résiduelle de l'onchocercose supérieure au seuil épidémiologiquement acceptable. Ces résultats ainsi que les essais en rivière montrent également que d'autres facteurs entrent en ligne de compte pour la sélection des formulations:

- les caractéristiques physiques des formulations ont un rôle important dans la mesure où elles déterminent le comportement du produit dans la rivière et les facilités d'application avec les systèmes d'épandage par voie aérienne. Les mesures empiriques de la dispersion et de la fluidité qui accompagnent les tests d'efficacité permettent de donner une idée approximative des performances de ces produits sur le terrain, et de limiter ainsi le nombre des essais en rivière, très coûteux et parfois difficiles à mettre en oeuvre;

- les difficultés de production industrielle des formulations expérimentales posent un problème majeur auquel se sont heurtées la plupart des firmes. L'industrie doit également être capable de

maintenir la qualité de telles préparations du point de vue efficacité et de leurs caractéristiques physiques (Guillet et al., 1985g);

- Les facteurs économiques jouent parfois un rôle important dans l'avenir d'une formulation, si performante soit-elle. Une firme peut en effet retirer un composé très prometteur du marché afin de ne pas arrêter la production d'une autre formulation dont les investissements financiers n'auraient pas encore permis d'atteindre le seuil de rentabilité.

La prise en considération de ces différents facteurs explique pourquoi, sur plus de 200 formulations testées, une seule d'entre elles, le SC 93, semble pouvoir concurrencer avantageusement le Teknar commercial. Ce produit est désormais produit massivement et est évalué au stade opérationnel par le programme de lutte contre l'onchocercose à la dose de 1.2 mg/l/10mn, sans addition d'eau. Commercialisé sous le nom de Teknar HPD, son utilisation devrait par conséquent permettre le traitement de rivières à plus gros débit (de l'ordre de 300 m³/sec.) à condition toutefois que les conditions physico-chimiques et biologiques le permettent.

3. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE COMPOSES ANALOGUES DE REGULATEURS DE CROISSANCE

3.1. Rappels bibliographiques

Utilisés depuis quelques années contre les larves de moustiques (cf 4 chapitre V), les analogues de régulateurs de croissance ont fait l'objet d'un certain nombre d'essais contre les larves de similies, plus particulièrement en Amérique de Nord. Parmi les composés les plus connus, le diflubenzuron (ecdysolide) et le méthoprène (juvénolide) ont donné des résultats prometteurs sur des larves de similies néarctiques, mais souvent avec des temps de contact très longs, n'ayant pas de signification pratique (Dove et Mac Kague, 1975 ; Lacey et Mulla, 1979 ; Thompson et Adams, 1979 ; Rodrigues, 1982).

Sur les larves du complexe S. damnosum, l'efficacité de ces deux composés est plus limitée et leur utilisation opérationnelle en Afrique de l'Ouest semble difficilement envisageable, du moins avec les formulations actuelles (Guillet et al., 1985 a et b).

3. 2. Observations personnelles

A la suite des essais de Guillet et al. (1985 a et b), nous avons évalué sur les larves du complexe S. damnosum six autres régulateurs de croissance. Dans la mesure où ces composés ont été récemment synthétisés, nous ne disposons pratiquement d'aucune donnée sur leur efficacité sur similies, à l'exception du triflumuron (OMS 2015) dont une poudre mouillable a donné au laboratoire 85% de réduction d'émergence chez des larves de S. vittatum traitées à 0.02 mg/l de matière active pendant 60 mn (Lacey et Mulla, 1978).

Trois de ces composés, OMS 2015, 2016 et 2017, sont présentés comme des inhibiteurs de la mue; les trois autres, OMS 3007, 3010 et 3019 comme des mimétiques d'hormones juvéniles. Ces insecticides nous sont parvenus formulés soit sous forme de poudre mouillable (PM), soit en concentré émulsifiable (CE), soit encore sous forme de microcapsules (mic).

3.2.1. Evaluation préliminaire sur larves âgées

A l'exception de l'OMS 3010, nous avons testé dans un premier temps ces composés sur des larves âgées de similies, à fortes concentrations et à un temps de contact de 60 mn (tableau 5). Les résultats de cette évaluation, détaillés en annexe (11 et 12), mettent en évidence les faits suivants:

- l'OMS 2015 et l'OMS 2016 sont moins efficaces que les autres régulateurs de croissance. A la plus forte dose (1 mg/l), la réduction des émergences n'excède pas 70% alors qu'elle atteint 100% avec les autres composés;

- l'OMS 3007 et l'OMS 3019 sont les plus performants, notamment les concentrés émulsifiables qui provoquent une suppression des émergences, même à la plus faible dose utilisée (0.1 mg/l pendant 60mn).

référence des formulations	pourcentage corrigé de réduction d'émergence		
	0.1 (mg/l-60mn)	0.33 (mg/l-60mn)	1 (mg/l-60mn)
OMS 2015 (CE 6%)	28.4 (123)	40.6 (121)	64.9 (79)
OMS 2016 (PM 50%)	41.1 (60)	68.5 (97)	68.9 (62)
OMS 2017 (PM 25%)	62.0 (38)	89.6 (123)	100 (57)
OMS 3007 (CE 10%)	100 (71)	100 (87)	100 (93)
OMS 3007 (mic 5%)	96.1 (124)	100 (86)	100 (151)
OMS 3019 (CE 10%)	100 (58)	100 (45)	100 (139)
OMS 3019 (mic 5%)	93.9 (53)	83.8 (79)	100 (45)

Tableau 5: Evaluation de 7 formulations d'analogues de régulateurs de croissance: pourcentage de réduction d'émergence après traitement de larves stades VI/VII de S. yahense (temps de contact de 60 mn). Entre parenthèses: nombre total de larves testées.

Les stades âgés de simulies sont théoriquement sensibles à la fois aux mimétiques d'hormones juvéniles et aux inhibiteurs de la mue (cf 1.2.1. chapitre II). Par conséquent, étant donné le temps de contact assez important utilisé dans ce test, l'OMS 2015 et l'OMS 2016 ne feront pas l'objet d'une évaluation complémentaire. Il en est de même des microcapsules de l'OMS 3007 et l'OMS 3019 légèrement moins performantes que les concentrés émulsifiables.

3.2.2. Evaluation secondaire sur larves âgées

Nous avons poursuivi l'évaluation des autres composés, toujours sur des larves âgées, mais à des temps de contact de 10 mn (tableau 6 et annexe 13).

L'abaissement du temps de contact se traduit par une perte très nette de l'efficacité de l'OMS 2017 qui ne provoque guère plus de 50% de réduction d'émergence, même à des doses élevées (2 mg/l).

En ce qui concerne les deux concentrés émulsifiables de l'OMS 3007 et l'OMS 3019, un contact de 10 mn est apparemment aussi efficace qu'un contact de 60 mn puisqu'il y a toujours suppression des émergences à la plus faible dose (0.1 mg/l).

A 0.1 et 0.33 mg/l-10mn, l'OMS 3010 semble moins performant que les deux précédents. Il est cependant très actif sur les larves âgées de S. damnosum s.l. quand il est utilisé à des concentrations de l'ordre de 0.4 mg/l pendant 10 mn. Bien qu'il s'agisse d'une molécule de la famille des carbamates, nous avons constaté que ce composé ne possédait pas de toxicité immédiate vis-à-vis des larves de similies.

référence des formulations	pourcentage corrigé de réduction d'émergence						
	0.01	0.033	0.1 (mg / l / 10 mn)	0.33	0.4	1	2
OMS 2017 (PM 25%)	-	-	22.0 (90)	32.2 (140)	-	51.9 (80)	22.4 (94)
OMS 3007 (CE 10%)	-	-	98.5 (111)	100 (91)	-	97.9 (81)	96.3 (90)
OMS 3019 (CE 10%)	-	-	100 (85)	100 (99)	-	100 (111)	97.1 (115)
OMS 3010 (CE 12.5%)	49.0 (65)	92.5 (147)	95.6 (125)	96.6 (121)	100 (106)	-	-

Tableau 6: Evaluation de 4 formulations d'analogues de régulateurs de croissance: pourcentage de réduction d'émergences après traitement de larves de stades VI/VII de S. yahense (temps de contact de 10 mn). Entre parenthèses: nombre de larves testées.

Remarque: les quelques adultes récupérés avec l'OMS 3019 à 2 mg/l-10mn proviennent sans doute de larves n'ayant pas absorbé d'insecticides (dérive dans les systèmes d'observation ou altération des pièces buccales lors des manipulations).

3.2.3. Evaluation sur larves jeunes

Nous avons poursuivi avec des larves jeunes de similies l'évaluation de l'efficacité des concentrés émulsifiables des OMS 3007, 3010 et 3019 (tableau 7 et annexe 14).

L'OMS 3010 s'avère être aussi efficace sur les larves jeunes que sur les larves âgées, à une concentration de l'ordre de 0.4 mg/l-10 mn.

Le stade larvaire semble jouer par contre un rôle plus important sur les performances de l'OMS 3007 et l'OMS 3019: à 0.1 mg/l pendant 10 mn, la réduction d'émergence est pratiquement nulle avec ces deux composés et ne dépasse pas 98% à une dose 10 fois supérieure.

référence des formulations	pourcentage corrigé de réduction d'émergence					
	0.001	0.01	0.033	0.1	0.33	1
	(mg / l - 10 mn)					
OMS 3007 (CE 10%)	19.8 (247)	30.7 (244)	-	19.1 (105)	-	97.6 (124)
OMS 3019 (CE 10%)	24.3 (206)	26.7 (374)	-	52.9 (274)	-	98.0 (341)
OMS 3010 (CE 12.5%)	-	-	60.1 (177)	94.0 (217)	98.7 (215)	100 (188)

Tableau 7: Evaluation de 3 formulations d'analogues de régulateurs de croissance: pourcentage de réduction d'émergence après traitement pendant 10 mn de larves jeunes de S. yahense. Entre parenthèses: nombre de larves testées.

Un contrôle d'efficacité réalisé dans le même temps avec les OMS 3007 et 3019 sur des larves âgées n'a pas confirmé les résultats du tableau 6: à 0.1 mg/l pendant 10mn, les réductions d'émergence n'excèdent pas 75% alors qu'elles étaient de 100% lors des tests précédents. Il faut préciser que ces deux séries de tests ont été réalisées à près d'un an d'intervalle, avec deux lots différents.

Ces trois régulateurs de croissance ne possèdent pas de toxicité immédiate aux doses utilisées dans cette étude.

3.3. Discussion

A l'instar du B. thuringiensis H-14, le type de formulation des larvicides chimiques joue un rôle essentiel dans leur action contre les simuliés (Guillet et al., 1985a). Les résultats de notre étude ne permettent cependant pas de mettre en évidence ce phénomène dans la mesure où chaque composé testé n'est formulé que d'une seule manière à l'exception des OMS 3007 et 3019 pour lesquels nous avons disposé de deux sortes de formulations. Pour ces deux produits, les concentrés émulsifiables semblent plus performants que les microcapsules.

Si l'OMS 2015 (triflumuron) semble donner de bons résultats en Amérique du Nord contre S. vittatum (Lacey et Mulla, 1978), il n'en est pas de même en Afrique de l'Ouest, où les faibles

performances de cet insecticide n'incitent pas à poursuivre son évaluation. Cette différence de sensibilité entre S. vittatum et S. damnosum ne peut être toutefois appréciée à sa juste valeur dans la mesure où les travaux portant sur les similies néarctiques ont été réalisés au laboratoire, avec des temps de contact plus importants (60 mn) et avec une formulation différente (poudre mouillable).

L'OMS 2016 et l'OMS 2017 ne sont plus synthétisés par l'industrie. Ils présentaient de toute façon une efficacité trop faible pour envisager la poursuite des essais. Notons, à titre indicatif, que des tests supplémentaires réalisés par notre équipe (Guillet et al., 1985b) ont permis de mettre en évidence une différence significative de sensibilité à ces deux composés entre des similies sensibles et des similies résistantes aux organophosphorés. Pour ces auteurs, il pourrait exister un lien avec ce phénomène de résistance car certaines enzymes, impliquées dans les mécanismes de détoxification des insecticides organophosphorés, dégradent également l'hormone juvénile et certains de ses analogues.

Bien qu'apparemment très actifs sur les larves âgées de similies, les composés OMS 3007 et 3019 semblent moins efficaces sur les larves jeunes. Ce phénomène est à priori logique quand on sait qu'il s'agit de mimétiques d'hormones juvéniles dont l'intervention se situe plus particulièrement au niveau des mues nymphales et (ou) imaginale. Nous émettrons cependant quelques réserves quant à l'interprétation de ces résultats puisque le deuxième lot testé n'a semble-t-il pas les mêmes qualités que le premier lot. Il serait donc souhaitable d'approfondir cette question avant de tirer des conclusions définitives sur l'avenir de ces deux juvénoïdes dans la lutte contre les similies.

Sur les 6 composés testés, l'OMS 3010 a donné les résultats les plus prometteurs tant sur les larves jeunes que sur les larves âgées. Il semble cependant difficilement envisageable de procéder à des essais en rivière, compte-tenu des quantités de produit à épandre: il faudrait près de deux litres de formulation par mètre cube seconde de débit pour atteindre une concentration de 0.4 mg/l pendant 10 mn. Ce composé représente toutefois une nette amélioration par rapport aux autres régulateurs de croissance testés jusqu'à présent sur les larves du complexe S. damnosum. Ainsi avec la formulation la plus efficace de diflubenzuron, Guillet et al. (1985d) signalent que la dose qui entraîne seulement 96% de mortalité nécessiterait l'épandage de 12 litres de produit pour une rivière de 1 m³/sec.

D'un point de vue méthodologique, les résultats enregistrés avec les dispositifs d'évaluation semblent donner des indications assez satisfaisantes: des essais réalisés par notre équipe avec le diflubenzuron et en collaboration avec l'Organisation Mondiale de la Santé avec l'OMS 3019 ont donné des résultats en rivière tout à fait comparables à ceux obtenus à échelle réduite. Il sera toutefois nécessaire de refaire ce genre de comparaison avec des formulations plus performantes, à des concentrations donnant 100% de réduction d'émergence à tous les stades larvaires.

4. CONCLUSIONS

Les larvicides antisimulidiens, sélectionnés à l'issue de l'évaluation à échelle réduite, peuvent rencontrer par la suite une série d'obstacles qui empêchent parfois leur utilisation opérationnelle: outre les performances habituellement demandées à ce type de composés (cf 1.), un certain nombre de phénomènes imprévus peuvent survenir, réduisant ainsi les espoirs qu'ils avaient fait naître.

C'est ainsi que plusieurs formulations de B. thuringiensis H-14, présentant les qualités essentielles d'un bon larvicide antisimulidien, ne devinrent jamais opérationnelles, par suite de problèmes techniques, économiques ou encore biologiques (cf 2.3.).

Il convient par conséquent d'être prudent sur l'avenir des composés qui ont passé "avec succès" cette première étape d'évaluation, notamment avec les insecticides non conventionnels tels que ceux que nous avons testés dans cette étude.

Si l'on se place dans le contexte du programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest, la sélection d'une nouvelle formulation de B. thuringiensis H-14 efficace à 1.2 mg/l-10mn (Teknar HPD) devrait permettre d'élargir les possibilités d'utilisation de cette bactérie à des rivières à plus grand débit et par conséquent de diminuer la pression de sélection de résistance par les insecticides chimiques ainsi que la pression sur l'environnement.

Compte-tenu des récents échantillons que nous avons testés, on peut raisonnablement espérer atteindre dans un proche avenir des concentrations efficaces de l'ordre de 0.8 voire 0.4 mg/l-10mn. En terme de quantités de formulation, un tel produit se rapprocherait du téméphos, l'insecticide chimique actuellement le plus utilisé par le programme, sans prétendre cependant atteindre des portées capables de le concurrencer: avec un débit de l'ordre de 500 m³/sec., nous avons obtenu 50 km de portée (Hougard et al., 1983b) alors que le Teknar HPD n'excède pas 5 km à un débit à peu près identique.

Bien qu'aucun des composés régulateurs de croissance que nous avons testés n'ait dépassé le stade de l'évaluation à échelle réduite, les résultats enregistrés avec certains d'entre eux, notamment l'OMS 3010 et 3019, nous incitent à poursuivre les recherches sur cette catégorie d'insecticides. Un effort particulier doit être tout d'abord entrepris au niveau de la méthodologie non seulement pour l'amélioration des dispositifs déjà existants mais également par la mise au point d'un protocole d'évaluation en rivière permettant de donner une bonne approximation de l'impact des traitements expérimentaux.

La différence de sensibilité enregistrée avec les OMS 3007 et 3019 entre les larves jeunes et âgées soulève le problème de l'avenir des juvénoïdes pour la lutte contre les similies.

D'une façon générale, l'utilisation de larvicides dans un écosystème lotique se traduit par un contact bref (*) avec la cible qui n'est par conséquent atteinte qu'à un stade bien déterminé de la vie préimaginale.

D'un point de vue purement spéculatif, la lutte contre les larves de simulies semble dans ces conditions difficilement concevable dans la mesure où ce type de composé n'est théoriquement actif qu'au niveau des derniers stades larvaires (cf 1.2.1. chapitre II). Sur le plan pratique, les OMS 3007, 3010 et 3019 conservent à des degrés divers, une certaine efficacité sur les jeunes larves de simulies, bien que ces composés aient un effet "juvénoïde" sur les larves de moustiques (cf 4. chapitre IV). Nous pensons par conséquent que l'évaluation des analogues de régulateurs de croissance doit se poursuivre, quel que soit le mode d'action de ces composés.

Une politique à long terme serait de diversifier la recherche sur les larvicides dans différentes directions portant à la fois sur des domaines appliqués, mais aussi plus fondamentaux.

La poursuite de l'évaluation de nouveaux insecticides et de nouvelles formulations reste toujours le domaine prioritaire. Outre B. thuringiensis H-14 et les régulateurs de croissance, il faudrait orienter les recherches vers de nouveaux composés à mode d'action si possible différent des insecticides conventionnels, comme par exemple les avermectines, substances remarquablement toxiques vis-à-vis des larves de simulies et agissant à la fois comme des insecticides à toxicité immédiate et comme des régulateurs de croissance (Guillet et al., 1985f).

Dans la mesure où la recherche d'un insecticide est généralement long et coûteux, le problème important est de stimuler les compagnies industrielles en général peu motivées à investir dans ce type de travail très spécialisé et d'un intérêt économique faible par rapport au domaine agricole.

Il serait souhaitable également que cette évaluation s'accompagne d'études plus approfondies sur le mode de nutrition des larves de simulies, le comportement physique des formulations dans les cours d'eau, ou encore l'acquisition d'une résistance dont il est actuellement impossible de prévoir son évolution sur le terrain. L'ensemble de ces travaux permettrait ainsi de diriger les recherches vers les nouveaux composés à développer et contribuerait au succès du programme de lutte contre l'onchocercose.

* à moins d'utiliser des formulations à relargage progressif de la matière active, ce qui a donné jusqu'à présent de médiocres résultats en Afrique de l'Ouest.

CHAPITRE IV

LUTTE CONTRE LES LARVES D' Aedes Aegypti:

EVALUATION DE L'EFFICACITE DE Bacillus thuringiensis H-14.

1. INTRODUCTION

Parmi les nouveaux composés récemment apparus dans l'arsenal des insecticides, B. thuringiensis H-14 semble être celui qui offre les perspectives les plus intéressantes d'utilisation pour le traitement des eaux à usage domestique. Contrairement à B. sphaericus, cet agent de lutte biologique est très toxique pour les larves d'A. aegypti, sa delta-endotoxine est stable à la chaleur, aux ultra-violets et il présente une totale innocuité pour les mammifères (cf 1.1.1. chapitre II). Enfin, aucun cas de résistance à ce sérotype n'a été signalé pour les insectes cibles. Il faut noter toutefois qu'en agriculture, un lépidoptère ravageur, Plodia interpunctella a développé une résistance importante et stable à B. thuringiensis, tant au laboratoire que sur le terrain (Mc Gaughey, 1985).

La formulation de B. thuringiensis H-14 que nous avons choisie est une suspension concentrée (Teknar). Utilisée opérationnellement par le programme de lutte contre l'onchocercose, cette formulation commerciale a l'avantage d'être disponible en quantité suffisante et de bien supporter les conditions de stockage en milieu tropical: après 16 mois en plein soleil, cette suspension concentrée ne perd pas de son activité (Guillet *et al.*, 1982b). De plus, à 1 et 3 mg/l (ordre de grandeur des concentrations généralement utilisées pour le traitement des eaux de boisson), le Teknar n'a ni couleur, ni odeur et ne présente aucun goût, 7 jours après la dilution (Donat, comm. pers.).

Nous avons choisi la région de M'Bahiakro (cf 3.2. chapitre I) pour les raisons suivantes:

- l'épidémie de fièvre jaune, survenue en 1982 dans cette région, était limitée uniquement à quelques villages appartenant à la même ethnie, les M'Gains;
- la transmission interhumaine a été intégralement assurée par le seul A. aegypti domestique;
- contrairement aux villages baoulés environnants, les poteries "canaris" utilisées à l'intérieur des maisons ne sont ni vidées, ni nettoyées et constituent par conséquent de bons gîtes à A. aegypti;
- ces canaris sont peu nombreux (l'importance numérique du peuplement M'Gain est faible) et constituent les seuls gîtes à A. aegypti (les gîtes péri-domestiques sont pratiquement inexistantes).

Ces quelques données expliquent le choix de la zone d'étude:

- d'un point de vue épidémiologique, nous nous plaçons dans le cas le plus favorable pour éviter, par le traitement de tous les canaris, l'apparition d'une transmission inter-humaine de la maladie;
- du point de vue de notre évaluation, ces poteries représentent un matériel de choix pour une telle expérimentation (gîtes accessibles, traitements faciles à réaliser...).

Notons cependant qu'il ne s'agit pas ici d'évaluer l'impact d'un traitement larvicide mais de tester, dans les conditions naturelles et sur un nombre restreint de gîtes, l'efficacité et la rémanence d'une formulation insecticide. Par conséquent, sur le plan épidémiologique, un traitement ne se justifierait que s'il était étendu, avec la formulation la plus adaptée, à l'ensemble de la zone sous menace amarile.

2. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

Le téméphos (Abate) est actuellement le seul composé utilisé pour le traitement des eaux à usage domestique. De faible toxicité pour les mammifères (Laws et al., 1968), cet organophosphoré n'a ni goût ni aspect désagréable dans les conditions habituelles d'emploi et possède une bonne rémanence dans les réservoirs d'eau de boisson: qu'il s'agisse de concentrés émulsifiables ou de granulés, un traitement à 1 mg/l de téméphos élimine totalement la population stégomyienne pendant au moins un mois (Pichon, 1968 ; Bang et al., 1969 ; Hervy et Kambou, 1978 ; Chadee, 1984). Cette persistance de l'insecticide dans ce type de gîte serait due à une adsorption de la matière active sur les parois en terre des jarres (Sales et Hervy, 1974).

En ce qui concerne B. thuringiensis H-14, Silapanuntakul et al. (1983) ont étudié la persistance de toxicité d'une poudre primaire dans des jarres remplies d'eau du robinet et colonisées artificiellement par des larves d'A. aegypti: l'activité larvicide de cette poudre décroît lentement puisque la mortalité larvaire, d'environ 90% au début de l'expérimentation, est encore supérieure à 50% quinze semaines après le traitement. Cependant, avec deux autres poudres primaires, Larget (1981) n'obtient pas plus de 5 jours de rémanence avec la même espèce en eau claire.

Avec une suspension concentrée identique à celle utilisée dans notre étude, Sudomo et al. (1981) montrent que des larves d'A. aegypti réapparaissent dans des récipients remplis d'eau du robinet moins de 6 jours après un traitement à 0.5 mg/l. A la même dose et la même formulation, Klein et al. (1981) observent des résultats à peu près identiques dans des fûts de 200 litres colonisés par des larves d'A. aegypti.

3. OBSERVATIONS PERSONNELLES

3.1. Village non traité

Le pourcentage de canaris positifs dans le village non traité (Dézidougou) se situe, pendant les deux mois de notre étude, aux alentours de 45% avec un minimum observé de 26% et un maximum de 62% (tableau 8). Ces résultats concordent avec ceux trouvés en 1982 dans ces deux villages par Cordellier et Bouchité (comm. pers.).

Nombre de semaines d'observation	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Pourcentage de gîtes positifs en larves âgées et (ou) nymphes	48.4	26.5	48.5	48.5	60.6	42.4	42.9	39.4	35.3
		*							
	15/31	9/34	16/33	16/33	20/33	14/33	15/35	13/33	12/34

Tableau 8: Evolution du pourcentage de gîtes positifs pendant huit semaines consécutives dans le village témoin de Dézidougou.

*: nombre de gîtes positifs sur le nombre total de gîtes prospectés

3.2. Village traité

Dans le village de Totodougou, le pourcentage de gîtes positifs avant l'expérimentation est de 38%.

Après un premier traitement de tous les canaris à 1 mg (de formulation)/l, la mortalité des larves d'*A. aegypti* est de 100% après 24 heures (1). La rémanence est par contre inférieure à 7 jours puisque trois des canaris contrôlés la semaine suivante renfermaient quelques larves dont certaines avaient déjà atteint le stade III. Toutefois, le pourcentage de gîtes positifs (tableau 9) ne redevient à un niveau équivalent à celui du village témoin qu'entre les deuxième et troisième semaines (fig. 6).

(1) A titre indicatif, 1 mg/l représente plus de 5 fois la dose qui tue, au laboratoire, 100% des larves d' *A. aegypti* souche "Bora-Bora" (considérée comme souche de référence).

Quelques semaines après la fin de cette première expérimentation, les mêmes canaris sont alors traités à 5 mg/l. La mortalité larvaire est également de 100% après 24 heures mais les gîtes ne redeviennent positifs qu'entre la première et la deuxième semaine. La rémanence semble par conséquent légèrement supérieure bien qu'un des canaris renferme quelques larves stade III une semaine après le traitement (tableau 9). Le pourcentage de gîtes positifs ne revient à un niveau équivalent à celui du village témoin qu'entre les troisième et quatrième semaines (fig 6).

	Traitement à 1 mg/l					Traitement à 5 mg/l				
Nombre de semaines d'observations	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Pourcentage de gîtes positifs en larves âgées et (ou) nymphes	38.2	9.1	12.2	46.7	29.6	29.6	3.3	22.2	16.1	33.3
	*									
	13/34	3/33	6/33	14/30	8/27	8/27	1/30	6/27	5/31	9/27

Tableau 9: Evolution dans le village de Totodougou du pourcentage de gîtes positifs en fonction du nombre de semaines après un traitement à 1 mg/l puis 5 mg/l de Teknar.

*: nombre de gîtes positifs sur le nombre total de gîtes prospectés.

3.3. Observations diverses

Lors de la prospection des gîtes larvaires, nous avons procédé à l'identification des Culicidae présents dans les canaris. Outre A. aegypti, trois d'entre-eux renfermaient des larves de C. decens. Ces moustiques se développent naturellement au sein des villages dans les gîtes surtout péri-domestiques mais parfois dans les gîtes domestiques intérieurs.

Nous avons remarqué également dans quelques canaris la présence de Cyclops sp. provenant vraisemblablement des mares avoisinantes.

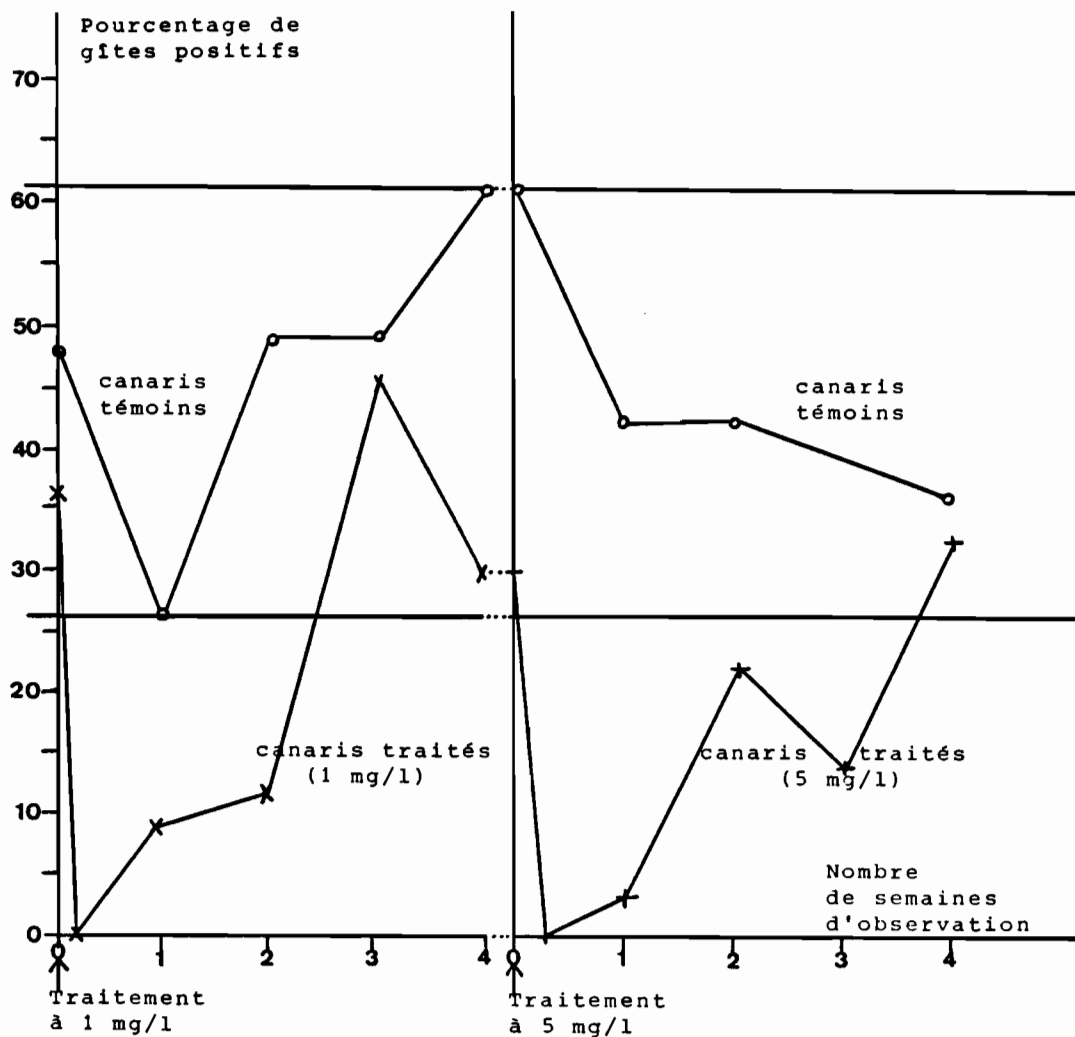


Fig. 6: Comparaison dans le temps du pourcentage de gites positifs entre des "canaris" traités à 1 mg/l (X), 5 mg/l (+) et non traités (O). Les deux traits horizontaux représentent les variations maximales du pourcentage de gites positifs dans les canaris témoins.

4. DISCUSSION

Nos résultats confirment ceux obtenus sur le terrain ou en tests simulés par la plupart des auteurs, à savoir une rémanence qui n'excède pas une semaine aux doses habituellement utilisées pour le traitement des eaux de boisson. Les performances du B. thuringiensis H-14 sont par conséquent dans ce cas nettement inférieures au téméphos. Cependant, une étude comparative réalisée entre cet organophosphoré et le Teknar par Pussennier et de Borger (1984) montre qu'au laboratoire la rémanence des deux formulations est à peu près similaire. C'est pourquoi nous pensons que les conditions naturelles jouent un rôle essentiel dans la persistance de l'activité larvicide, notamment dans le cas particulier de notre étude.

Guillet et al. (1980) ont étudié, pour plusieurs formulations, la perte de toxicité de B. thuringiensis H-14 par sédimentation de la matière active. Pour ces auteurs, les concentrés aqueux donnent lieu à une sédimentation quasi-totale en éprouvette au bout de 48 heures. Il est donc fort probable que ce phénomène se soit produit avec le Teknar et que la toxine se soit accumulée au fond des canaris.

Compte-tenu de la stabilité de la delta-endotoxine bactérienne à la lumière et à la chaleur, la faible rémanence peut être difficilement imputée à une perte de toxicité de la matière active, d'autant plus que les canaris sont situés dans des endroits très ombragés.

Dans ces conditions, l'hypothèse la plus plausible serait que les larves ne sont pas en contact avec les cristaux de B. thuringiensis H-14: l'eau des canaris est légèrement chargée en matières organiques et il en résulte le dépôt au fond des récipients d'une mince couche de substrat qui pourrait entrer en compétition avec la toxine (Larget-Thiéry, 1984) ou "masquer" son activité (Sinègre et al., 1981).

En dehors de l'insecticide lui-même, le facteur humain semble jouer ici un rôle très important. En effet, bien que les villageois n'aient pas l'habitude de vider ni de nettoyer leurs récipients, il se peut que malgré nos recommandations, certains d'entre eux aient préféré enlever à notre insu l'eau traitée et même rincer les canaris.

Ces facteurs ne semblent pas limitants avec le téméphos dans la mesure où celui-ci peut s'adsorber sur la paroi (limitant ainsi la perte de matière active), ou sur la matière organique ingérée par les larves.

5. CONCLUSIONS

La faible rémanence de la suspension concentrée de B. thuringiensis H-14 (Teknar) ne permet pas d'envisager une utilisation opérationnelle de cette formulation, dans les eaux à usage domestique, pour la lutte contre A. aegypti. Cependant, compte-tenu des qualités de cet insecticide biologique (innocuité pour les mammifères, thermo-stabilité de la toxine et toxicité pour A. aegypti), il serait intéressant de rechercher une formulation qui maintiendrait la toxine sur la paroi des canaris ou à la surface du substrat, à portée des larves d'A. aegypti.

Une formulation dense et à relargage progressif de la matière active (slow release) pourrait répondre à cette condition: Novak et al. (1985) ont obtenu avec ce type de formulation plus de trois mois de rémanence avec le téméphos et 1 à 2 mois avec des briquettes de B. thuringiensis H-14 dans des jarres de plus de 150 litres. Cependant, le substrat enrobant la matière active devra être lui-même non toxique pour l'homme et inerte pour éviter l'apparition de proliférations microbiennes dans l'eau: des essais réalisés par notre équipe avec des granulés à base de matière organique et imprégnés de B. thuringiensis H-14 ont mis en évidence, après seulement quelques jours dans les canaris, la formation d'un halo blanchâtre de "moisissures" autour de la formulation.

Le comité d'expert de l'OMS sur la sécurité d'emploi des pesticides a décidé de recommander l'emploi de souches asporogènes pour le traitement des eaux potables. Aussi comptons-nous désormais orienter nos travaux sur des formulations type "slow release" à substrat inerte, imprégnées de souches asporogènes telles que celles utilisées dans le programme de lutte contre l'onchocercose (cf 2.2.2. chapitre III).

Nous pensons que des recherches dans cette direction doivent se poursuivre dans la mesure où la lutte antilarvaire repose essentiellement sur l'utilisation de larvicides. Une éducation sanitaire visant à modifier le comportement des villageois vis-à-vis de l'eau, est difficilement envisageable en Afrique, compte-tenu des habitudes conservatrices des différents groupes ethniques de ce continent.

Parmi les nouvelles classes d'insecticides testées, des essais ont été réalisés par Aminah et al. (1981) dans des jarres en terre avec deux analogues de régulateurs de croissance, le méthoprène et le diflubenzuron. Bien que les résultats aient été encourageants, le manque d'information sur la toxicité de ces composés ne permet pas actuellement leur utilisation sur le terrain.

B. thuringiensis H-14 reste ainsi l'unique candidat à la

succession du téméphos, dans l'éventualité d'une résistance à cet organophosphoré. Bien qu'en Afrique de l'Ouest aucune résistance de niveau très élevé au téméphos n'ait été observée chez A. aegypti (Mouchet et al., 1972), ce phénomène vient d'être mis en évidence avec le dichlorvos (Don-Pedro et Adegbite, 1985) et est déjà apparu avec de nombreux organochlorés et des pyréthrinoïdes.

CHAPITRE V

LUTTE CONTRE LES LARVES DE CULEX QUINQUEFASCIATUS:

EVALUATION DE L'EFFICACITE DE BACILLUS THURINGIENSIS

H-14, DE BACILLUS SPHAERICUS ET D'ANALOGUES

DE REGULATEURS DE CROISSANCE.

1. INTRODUCTION

L'éventail des insecticides utilisables pour la lutte antilarvaire en milieu aquatique est beaucoup plus large pour le traitement des eaux polluées que pour le traitement des rivières ou des eaux de boisson. En effet, les problèmes de toxicité sur la faune non cible et sur les mammifères se posent avec moins d'acuité lorsqu'il s'agit des gîtes larvaires à C. quinquefasciatus (cf 4 chapitre I): ils sont pour la plupart difficilement accessibles aux animaux domestiques et ne communiquent pas avec les points d'eau de boisson. C'est pourquoi beaucoup d'insecticides chimiques, parfois assez toxiques pour les mammifères (dieldrine, HCH, chlorpyrifos), furent ou sont encore utilisés pour le traitement des puisards, latrines et caniveaux, surtout dans les villes où ce moustique transmet la filariose de Bancroft.

C. quinquefasciatus a semble t-il un patrimoine héréditaire très riche, lui permettant de s'adapter plus ou moins rapidement à des conditions très variées et notamment de constituer des populations résistantes aux insecticides (Hamon et Mouchet, 1967). C'est ainsi que ce moustique est actuellement résistant aux composés organochlorés sur toute l'étendue de son aire de répartition, ainsi qu'à un grand nombre de composés organophosphorés, entre autres dans de nombreuses agglomérations urbaines d'Afrique tropicale (Mouchet et Quiroga, 1976). Signalons toutefois que ce moustique n'est pas résistant à ce dernier groupe de composés dans la région de Bouaké (Magnin, comm. pers.).

La recherche et l'évaluation de l'efficacité de nouvelles familles de larvicides tels que les agents de lutte biologique ou les composés régulateurs de croissance deviennent donc une priorité dans la mesure où l'arsenal dont disposent les hygiénistes atteint désormais un seuil critique.

2. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE TROIS FORMULATIONS DE BACILLUS THURINGIENSIS H-14

La plupart des raisons évoquées quant au choix de B. thuringiensis H-14 pour le traitement des eaux de boisson (cf 1 chapitre IV) nous a incité à tester également cette bactérie dans les eaux polluées: sa delta-endotoxine est stable à la chaleur, très toxique pour C. quinquefasciatus et aucun cas de résistance n'a été jusqu'à présent signalé avec ce sérotype.

Nous avons évalué au cours de cette étude trois formulations de B. thuringiensis H-14:

- une suspension concentrée (Teknar);
- des briquettes à relargage progressif de matière active. Elles renferment 5% d'une poudre primaire de B. thuringiensis H-14 titrant 8 000 ITU/mg (dimensions: 5 cm de diamètre, 1 cm d'épaisseur);
- des granulés à relargage progressif de matière active. L'ensemble titre 300 ITU/mg (taille variant entre 5 et 10 mm).

Dans un premier temps, les performances de ces trois formulations ont été évaluées sur le terrain, dans des puisards de Bouaké. Parallèlement ou suite à ces essais, nous avons entrepris quelques expérimentations de laboratoire, basées sur la méthode biologique (cf 2.3.1.2 chapitre II), pour tenter de mieux interpréter les résultats obtenus dans les gîtes larvaires à C. quinquefasciatus.

2.1. Evaluation dans les conditions naturelles

2.1.1. Rappels bibliographiques

L'évaluation de l'efficacité de B. thuringiensis H-14 dans les conditions naturelles a fait l'objet de nombreux travaux portant sur un grand nombre de vecteurs et dans des biotopes très variés.

En ce qui concerne les eaux polluées, les poudres primaires sont très actives sur C. quinquefasciatus mais la rémanence est pratiquement nulle même à de fortes concentrations (Balaraman et al., 1983 ; Rampal et al., 1983 ; Aphale et al., 1984). Avec des produits formulés, principalement avec la suspension concentrée utilisée dans notre étude, les résultats diffèrent

légèrement selon les auteurs : Jambulingam et al. (1984) puis Sharma et al. (1985) n'observent pratiquement pas de rémanence en eaux polluées, même à de fortes concentrations. Majori et Ali (1984) obtiennent plus de 5 jours de rémanence à 0.25 g/m et Sudomo et al. (1981) près d'une semaine, quelle que soit la dose utilisée, dans des gîtes artificiels (trous tapissés de sédiments organiques et remplis de 10 litres d'eau polluée). Cependant, ces derniers auteurs n'observent aucune rémanence dans des caniveaux engorgés.

Dans des récipients de 15 litres d'eau colonisés naturellement par C. quinquefasciatus, Lacey et al. (1984) ont comparé l'efficacité d'une poudre mouillable de B. thuringiensis H-14 avec deux formulations à relargage progressif de la matière active (briquettes et granulés): si la rémanence n'excède pas 3 jours avec la poudre mouillable et les granulés, elle atteint par contre 3 semaines avec les briquettes.

2.1.2. Observations personnelles

2.1.2.1. Suspension concentrée Teknar

Nous avons choisi pour cette expérimentation 8 puisards que nous avons traités à 1, 5, 10 et 50 g/m², à raison de 2 puisards par concentration. Avant le traitement, tous ces gîtes étaient colonisés par des larves de C. quinquefasciatus à l'exception d'un seul (puisard N°7) qui ne contenait que des larves de C. cinereus.

24 heures après le traitement, la population larvaire a quasiment disparu dans tous les puisards mais les larves âgées (stades III/IV) commencent à réapparaître dès le 5ème jour. Neuf jours après, la population initiale s'est totalement reconstituée dans la presque totalité des gîtes, quelle que soit la concentration utilisée (tableau 10).

Remarques: - en dehors des larves de moustiques, la plupart des puisards que nous avons échantillonnés renfermaient des larves et nymphes de psychodidae qui se sont avérées insensibles à B. thuringiensis H-14 aux doses utilisées dans cette étude;
- à titre indicatif, la plus faible dose utilisée (1 g/m²) représente environ 4 fois la CL 100 observée au laboratoire en eau distillée sur C. quinquefasciatus.

puisard N°	nombre de jours après traitement						
	1	2	4	5	8	9	10
1 (1 g/m ²)	(2 ny)	(1 lv)	-	-	+	+	+
2 (1 g/m ²)	(1 lv)	-	-	-	-	+	+
3 (5 g/m ²)	-	-	-	-	-	+	+
4 (5 g/m ²)	-	-	-	-	+	+	+
5 (10 g/m ²)	-	-	-	-	+	+	+
6 (10 g/m ²)	-	-	-	-	-	-	+
7 (50 g/m ²)	-	-	-	+	+	+	+
8 (50 g/m ²)	-	-	-	-	+	+	+

Tableau 10: Evolution dans le temps des populations préimaginales de C. quinquefasciatus après traitement avec une suspension concentrée de B. thuringiensis H-14. (+): présence ou (-): absence de larves âgées (lv) et (ou) de nymphes (ny).

2.1.2.2. Briquettes

Sur les huit puisards choisis pour cette expérimentation, quatre d'entre eux sont traités avec une briquette et les quatre autres avec une demi-briquette. Une briquette représente environ deux à quatre fois la dose maximum préconisée par le fabricant dans le cas d'une eau riche en matière organique.

En cas de population larvaire abondante, de végétation dense ou d'eau polluée, la firme recommande d'éliminer au préalable la population préimaginale, le temps que la matière active de la briquette ait pu diffuser dans le gîte. C'est pourquoi deux puisards de chaque série ont fait l'objet d'un traitement simultané à 1 g/m² avec la suspension concentrée testée précédemment (Teknar).

Quelle que soit la quantité de briquettes utilisée, la population préimaginale ne disparaît jamais totalement dans les puisards qui n'ont pas subi un traitement au Teknar: dans certains d'entre eux, l'échantillonnage met en évidence la présence simultanée de larves vivantes et de larves mortes (tableau 11). Cette situation se maintient environ pendant une trentaine de jours avant que la population retrouve son équilibre initial.

Dans les puisards traités simultanément avec du Teknar, la population larvaire est éliminée pendant 4 à 5 jours, mais après ce laps de temps, la situation redevient identique à celle des puisards de la série précédente (tableau 11).

N° puisard et conditions de traitement	nombre de jours après traitement							
	1	2	4	9	11	14	17	21
1 1 briquette	+	(M)+	+	+	puisard scellé			
2	+	vidangé 1 jour après le traitement						
3 1/2 briquette	+	+	(M)+	+	+	+	(M)+	(M)+
4	+	+	(M)+	(M)+	(M)+	+	(M)+	(M)+
5 1 briquette +	-	-	-	+	(M)+	+	+	+
6 Teknar (1g/m2)	-	-	-	puisard asséché				
7 1/2 briquette +	(M)-	-	-	+	(M)+	+	(M)+	+
8 Teknar (1g/m2)	-	-	-	+	+	+	+	+

Tableau 11: Evolution dans le temps des populations préimaginales de C. quinquefasciatus après traitement par une formulation "slow-release" de B. thuringiensis H-14 (briquette), accompagné ou non d'un traitement au Teknar. (+): présence ou (-): absence de larves âgées et (ou) de nymphes ; (M): présence de larves mortes à la surface de l'eau des gîtes.

2.1.2.3. Granulés

Peu d'indications nous ayant été fournies par le fabricant, nous avons choisi arbitrairement 3 concentrations exprimées en grammes de granulés par unité de surface. 6 puisards ont été traités à 10, 25 et 50 g/m² à raison de 2 puisards par concentration. A titre indicatif, 50 g de granulés représentent environ le volume d'un verre à eau.

Quelle que soit la concentration utilisée, la population larvaire, très riche avant le traitement, disparaît au bout de 24 à 72 heures pour réapparaître dans la plupart des gîtes 7 à 11 jours après le début de l'expérimentation. De même que pour les briquettes, on constate dans certains puisards la présence simultanée de larves vivantes et mortes. Ces dernières peuvent se rencontrer à la surface de l'eau des gîtes jusqu'à plus de deux semaines après le traitement (tableau 12).

puisard N°	nombre de jours après traitement							
	1	3	4	7	9	11	13	16
1 (10 g/m ²)	*	-	*	(M)+	(M)+	(M)+	(M)+	(M)+
2 (10 g/m ²)	*	-	-	-	+	+	puisard vidangé	
3 (25 g/m ²)	-	-	+	+	+	(M)+	(M)+	+
4 (25 g/m ²)	(M)+	-	-	+		puisard vidangé		
5 (50 g/m ²)	(M)+	-	-	+	+	+	+	+
6 (50 g/m ²)	(M)+	-	-	-	-	+	+	+

Tableau 12: Evaluation dans le temps des populations préimaginales de C. quinquefasciatus après traitement par une formulation "slow-release" de B. thuringiensis H-14 (granulés). (+): présence ou (-): absence de larves âgées et (ou) de nymphes; (M): présence de larves mortes à la surface de l'eau des gîtes.

*: population non recensée

2. 2. Essais complémentaires au laboratoire

2.2.1. Rappels bibliographiques

Compte-tenu des conditions physico-chimiques particulières régnant dans les réservoirs d'eaux polluées, de nombreux auteurs ont étudié au laboratoire l'influence de certains facteurs susceptibles de modifier l'activité de B. thuringiensis H-14 dans ce type de gîte. Pour Mulligan et al. (1980), Ali et al. (1981), Ignoffo et al. (1981) et Larget-Thiéry (1984), le degré de pollution de l'eau intervient sur l'activité de cet insecticide par suite d'une compétition trophique entre la matière active et les particules en suspension. Cet effet serait d'autant plus important que les particules sont de petites tailles (Ramoska et al., 1982; Margalit et Bobroglo, 1984). Les travaux de Sinègre et al. (1981) ont montré qu'il existait une corrélation négative très marquée entre la teneur en chlore libre et l'efficacité de l'endotoxine.

2.2.2. Observations personnelles

2.2.2.1. Suspension concentrée Teknar

- effet de la pollution sur l'activité du Teknar

Cent larves d'A. aegypti souche "Bora-Bora" (4 gobelets de 25 larves) sont mises au contact d'une suspension de Teknar à 0.2 mg par litre d'eau distillée. 8 autres séries sont réalisées dans les mêmes conditions expérimentales, à la même concentration, mais avec de l'eau prélevée dans chacun des 8 puisards.

Après 24 heures de contact avec la suspension bactérienne, le pourcentage de mortalité larvaire pour les 8 séries est significativement plus faible dans l'eau polluée que dans l'eau distillée (tableau 13).

eau prélevée dans les puisards N°	1	2	3	4	5	6	7	* 8	eau distillée
% de mortalité corrigée à 0.2 mg/l	40	18	11	25	3	19	8	19	57

Tableau 13: Comparaison des pourcentages de mortalité, à 0.2 mg/l de Teknar, entre des larves d'A. aegypti mises en contact avec différentes eaux de puisards et de l'eau distillée.

*: l'eau de ce puisard étant très chargée en matière en suspension, nous avons réalisé une série de dilution de cette eau avec de l'eau distillée et constaté que l'efficacité du Teknar augmentait lorsque le degré de turbidité diminuait.

- influence de la nourriture

Cent larves de moustiques sont mises au contact d'une suspension de Teknar à 0.3 mg par litre d'eau distillée. 4 autres séries sont réalisées dans les mêmes conditions expérimentales, mais avec addition dans l'eau distillée de quantités croissantes de nourriture (mélange levure-aliment 1er âge). Nous avons choisi pour cette expérimentation C. cinereus qui peut supporter de très fortes concentrations de matières en suspension (Subra, 1971).

Entre 10 et 1000 mg/l de nourriture, les résultats montrent que le pourcentage de mortalité corrigé après 24 heures de contact diminue quand la quantité de nourriture augmente (tableau 14).

quantité de nourriture (mg/l)	0	10	100	1 000	2 000
% de mortalité corrigé à 0.3 mg/l	92	97	57	33	32

Tableau 14: Influence de la quantité de nourriture sur le pourcentage de mortalité, à 0.3 mg/l de Teknar, des larves de C. cinereus.

- influence du chlore libre

Deux séries de 100 larves d'A. aegypti sont mises au contact d'une suspension bactérienne à 0.3 mg/l. Dans l'une des séries l'eau est prélevée dans un puisard puis déchlorée par simple agitation pendant 1 journée. L'autre série (même eau de puisard non déchlorée) fait office de témoin.

La lecture de la mortalité après 24 heures de contact ne révèle pas de différence significative entre les deux séries (60% de mortalité pour l'eau déchlorée contre 66% pour le témoin).

- influence des détergents

Cent larves d'A. aegypti sont mises au contact d'une suspension de Teknar à 0.3 mg par litre d'eau distillée. Quatre autres séries sont réalisées dans les mêmes conditions expérimentales, mais avec addition dans l'eau de quantités croissantes de savon (type savon de Marseille). Un deuxième test, identique au précédent est effectué avec du Teepol.

La mortalité larvaire baisse significativement à partir de 100 mg/l de savon (tableau 15).

concentration de savon (mg/l)	0	1	10	100	1 000
% de mortalité corrigé à 0.3 mg/l	84	82	84	39	- *

tableau 15: Influence du savon sur le pourcentage de mortalité, à 0.3 mg/l, des larves d'A. aegypti. *: mortalité témoin supérieure à 20%

Le deuxième test relatif au produit Teepol n'a pas confirmé les résultats précédents: quelle que soit la concentration de Teepol dans l'eau, il n'y a pas de diminution de la mortalité larvaire.

- sensibilité comparée des larves de C. cinereus et de C. quinquefasciatus

En dehors de C. quinquefasciatus, nous avons rencontré trois autres espèces de moustiques: Culex tigripes, C. decens et C. cinereus. Si les deux premières espèces sont rarement présentes dans ce type de gîtes, cette troisième peut, à certaines époques de l'année, coloniser les puisards et rentrer en compétition avec C. quinquefasciatus (Subra et Dransfield, 1984).

Compte-tenu de la présence de C. cinereus dans l'un des puisards traités, nous avons comparé, par titrage biologique au laboratoire, la sensibilité de ces deux espèces au Teknar.

Les CL 50 et 95 de ces deux moustiques mettent en évidence une plus grande sensibilité de C. cinereus à la toxine du B. thuringiensis H-14:

CL 50 <u>cinereus</u> :	0.04 mg/l	CL 95: 0.12 mg/l
CL 50 <u>quinquefasciatus</u> :	0.10 mg/l	CL 95: 0.32 mg/l

La réapparition de C. cinereus dans le puisard N°7 (cf 2.1.2.1.) traduit donc d'autant mieux le fait que la rémanence du Teknar a cessé dans ce gîte.

2.2.2.2. Formulations "slow release"

La présence simultanée de larves vivantes et mortes au sein d'un même puisard nous a incité à suivre, pour les formulations "slow release", le devenir de la matière active après son relargage dans le milieu environnant.

Pour une meilleure compréhension des résultats, nous allons brièvement rappeler les conditions de l'expérimentation (cf 2.3.1.2. chapitre II): Dans un bac en ciment rempli d'eau du robinet et situé à l'abri du moindre courant d'air, on maintient pendant une semaine une briquette à l'une des extrémités du bac. A la fin de ce temps, on effectue des prélèvements d'eau en profondeur et en surface, à des distances régulières de la briquette (fig. 7).

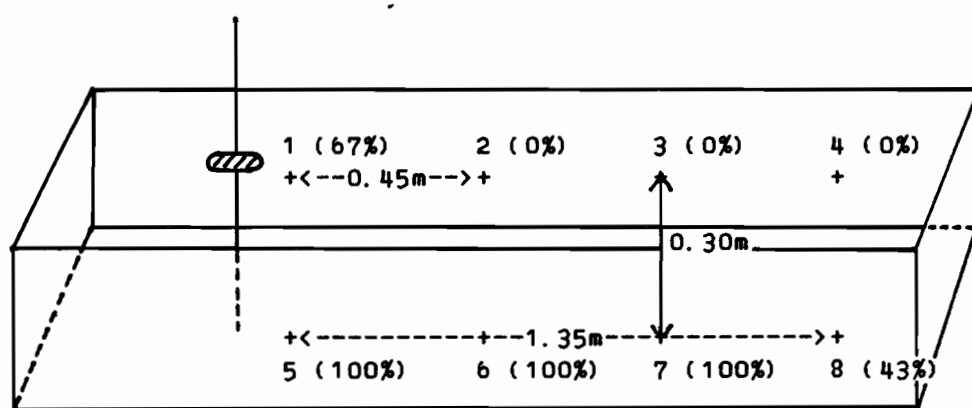


Fig. 7: Schéma du bac en ciment: indication des pourcentages de mortalité corrigés chez des larves d'*A. aegypti* mises au contact d'échantillons d'eaux prélevés à différentes distances de la briquette, une semaine après le début de l'expérimentation.

Cent larves d'*A. aegypti* sont mises au contact de chacun des prélèvements. La lecture de la mortalité après 24 heures montre que la matière active, libérée par la briquette (1), sédimente rapidement à la verticale de celle-ci (5) pour ensuite diffuser rapidement en profondeur (6 et 7). Cette diffusion est cependant limitée puisqu'à 1.35 m de la briquette (8), le pourcentage de mortalité baisse significativement (fig. 7).

Avec les granulés, une expérimentation réalisée dans un fût de 25 litres en plastique (cf 2.3.1.2. chapitre II) a permis de préciser, toujours par dosage biologique, que la libération de la matière active débutait dès le contact des granulés avec l'eau et cessait après moins de 15 jours (toute la matière active ayant sédimenté au fond du fût).

2. 3. Discussion

Qu'il s'agisse d'un produit primaire ou formulé, nos travaux ainsi que ceux réalisés par différentes équipes montrent clairement que la rémanence de *B. thuringiensis* H-14 en eaux polluées n'excède jamais plus d'une semaine quelle que soit la dose utilisée.

Trois hypothèses sont envisageables pour tenter d'expliquer les faibles performances de cet insecticide dans ce type de gîte: 1) la toxine bactérienne a perdu de son activité; 2) elle entre en compétition avec les particules nutritives en suspension; 3) elle n'est plus accessible aux larves et se trouve en dehors de leur champs de nutrition.

Dans la première hypothèse, la chaleur et les ultra-violets ne peuvent expliquer une éventuelle perte d'activité de la bactérie: la température de l'eau des puisards n'excède jamais plus de 30°C et la lumière pénètre généralement peu dans le gîte. De plus, la toxine est stable à la chaleur et aux ultra-violets, ce qui a été confirmé par Garcia et Desrochers (1979) et Mulligan et al. (1980) dans des gîtes larvaires ensoleillés.

En ce qui concerne le chlore libre et les détergents, nos résultats montrent que ces deux facteurs, s'ils peuvent inactiver la toxine à fortes doses, ne sont pas présents en quantités suffisantes dans le gîte larvaire pour expliquer la faible rémanence du Teknar. Toutefois ces facteurs ne doivent pas être totalement rejetés dans la mesure où un apport important de chlore ou de détergents peut survenir temporairement à l'occasion d'une opération de nettoyage (désinfection de sanitaire par exemple).

Dans la deuxième hypothèse, la compétition trophique entre les particules en suspension et la toxine, mise en évidence par de nombreux auteurs, se confirme dans le cas de notre étude. Mais ce phénomène ne semble pas important dans les conditions naturelles: les doses opérationnelles sont toujours supérieures aux limites de la CL 100 et la rémanence ne semble pas varier en fonction des puisards, qu'ils soient riches ou pauvres en matières en suspension.

La dernière hypothèse semble par contre la plus plausible: la sédimentation rapide de l'endotoxine bactérienne (cf 4. chapitre IV) la rendrait rapidement hors d'atteinte des larves que l'on trouve rarement à plus de 50 cm de profondeur (Nicolas, comm. pers). De plus, en cas de gîtes peu profonds, la matière active ayant sédimenté peut s'enliser dans le substrat boueux du puisard, "masquant" ainsi son activité, selon l'hypothèse proposée dans le chapitre IV.

Dans ces conditions, une formulation à relargage progressif de B. thuringiensis H-14 semblait à priori pouvoir résoudre le problème de la sédimentation de la toxine:

- pour les briquettes, l'effet insecticide a persisté pendant une trentaine de jours (conformément aux indications fournies par le fabricant) mais l'efficacité n'était que partielle et s'est traduite par la présence simultanée de larves vivantes et mortes. L'expérimentation que nous avons réalisée au laboratoire laisse à penser que l'eau stagnante des puisards n'a pas permis à la matière active de diffuser dans tout le gîte. Les trois semaines de rémanence obtenues par Lacey et al. (1984) avec des briquettes en provenance de la même firme sont dans ce cas probablement dues à la petitesse des gîtes dans lesquels s'est déroulée l'expérimentation (récipients de 15 litres);

- pour les granulés, le même phénomène se produit mais l'effet insecticide persiste moins longtemps, comme cela a été constaté au laboratoire.

3. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE DIFFERENTES SOUCHES ET FORMULATIONS DE BACILLUS SPHAERICUS

A l'instar de B. thuringiensis H-14, B. sphaericus présente une totale innocuité pour les mammifères et est particulièrement actif sur les larves de certains Culicidae. De plus, la découverte de souches entomopathogènes de plus en plus toxiques ainsi que les possibilités de recyclage de cette bactérie, envisagées dès 1978 par Hertlein et al. (1979), font que cet insecticide biologique suscite un intérêt croissant pour la lutte contre les moustiques.

Les poudres primaires et formulations que nous avons testées appartiennent aux souches 1593, 2362 et 2297. Deux formulations ont fait l'objet d'une évaluation de leur efficacité dans les conditions naturelles, une poudre mouillable de la souche 1593-4 (réisolat de la souche 1593) et une suspension concentrée de la souche 2362. Afin de mieux interpréter les résultats obtenus dans les gîtes larvaires, nous avons eu recours à des expérimentations complémentaires basées sur la méthode biologique et sur des analyses bactériologiques.

Indépendamment de ces essais, nous avons comparé, par un titrage biologique, l'efficacité de différentes préparations, pour la plupart non formulées, des 3 souches de B. sphaericus mentionnées ci-dessus.

3. 1. Titrage biologique de B. sphaericus

Compte-tenu de la diversité des souches toxiques et des formulations disponibles, il serait difficile de tester directement sur le terrain les différentes préparations de B. sphaericus produites par l'industrie et différents centres de recherche. C'est pourquoi nous avons collaboré à un programme d'évaluation, au

laboratoire, de différents échantillons de cette bactérie afin de préciser leur efficacité sur quelques moustiques d'intérêt médical et de permettre ainsi aux firmes d'orienter leurs recherches dans la production de formulations commerciales.

Nous avons reçu puis testé par titrage biologique 15 produits pour la plupart non formulés et appartenant aux souches 2362, 1593 et 2297.

3.1.1. Rappels bibliographiques

De nombreux auteurs ont testé au laboratoire l'activité de B. sphaericus sur différentes espèces de moustiques. Mulla et al. (1984a) montrent que pour une même souche la sensibilité à un insecte donné varie en fonction des techniques de préparation des échantillons (lyophilisés, séchés, crèmes ...). Pour de Barjac et al. (1985), le milieu de culture jouerait aussi un rôle important dans l'efficacité des différentes souches puisque le milieu "MBS" permettrait d'obtenir plus de toxicité qu'avec le milieu "POLY".

Par titrage biologique, Larget-Thiéry (comm. pers.), Coz et al. (1985) et Karch et Coz (1985) mettent également en évidence, toujours pour une même souche, des différences de toxicité en fonction de la formulation. Cependant, malgré la difficulté d'appréciation réelle de la toxicité de ces souches, la plupart des auteurs s'accordent à reconnaître la plus grande efficacité de celles appartenant aux sérotypes H5a,5b et H25, particulièrement les souches 2362, 1593 et 2297.

3.1.2. Observations personnelles

Les résultats du titrage biologique, réalisé selon la technique décrite dans le chapitre II (2.3.1.1.), sont résumés dans le tableau 16. Le détail de chaque essai (annexes 15 à 22) met en évidence pour la plupart des tests une mauvaise corrélation dose/mortalité (chi deux significatif au seuil de 5%). C'est pourquoi il est difficile de réaliser une classification très fine de l'efficacité de ces préparations que nous avons cependant établie en fonction de leur titre.

souche	provenance	présentation	code	CL 50 48h (mg/l)*	CL 95 48h (mg/l)*	Titre (ITU/mg)
2362	Abbott	poudre primaire	101-51	0.00059	0.0065	3595
inconnue	Abbott	poudre primaire	101-52	0.00092	0.0159	-
2362	U. S. A.	poudre primaire	-	0.00139	0.0100	1525
2297	Pasteur	pde lyophilisée	SPH 84	0.00150	0.0101	1500
2362	Abbott	pde mouillable	ABG 6184	0.00152	0.0124	1395
1593	Inde	poudre primaire	-	0.00164	0.0099	1290
2297	U. S. A.	poudre primaire	-	0.00174	0.0128	1290
1593-4	Pasteur	pde lyophilisée	RB 80	0.00212	0.0217	1000
2362	Solvay	poudre primaire	BS 48	0.00231	0.0236	915
1593-4	Solvay	pde mouillable	-	0.00322	0.0724	660
2297	Solvay	poudre primaire	BS 40	0.00423	0.0362	530
2362	Solvay	sus. concentrée	BSP 1	0.00600	0.0400 (1)	355
1593-M	Inde	poudre primaire	-	0.02090	0.2250	100
2297	Inde	poudre primaire	-	0.04020	0.2250	55
2362	Inde	poudre primaire	-	0.68300	5.1400	-

Tableau 16: CL 50, CL95 et titre biologique de 15 échantillons de B. sphaericus testés sur une souche locale (Bouaké) de C. quinquefasciatus. *: concentration exprimée en quantité de formulation.

(1): Nicolas et Dossou-Yovo, comm. pers.

Si l'on compare le titre de chaque préparation pour une souche donnée (fig. 8), on constate que l'efficacité de ces produits dépend essentiellement de leur provenance. Ainsi par exemple, la poudre primaire de la souche 2362 fabriquée en Inde est pratiquement inactive sur C. quinquefasciatus alors qu'elle est extrêmement toxique si elle provient de la firme Abbott.

Le fait de formuler diminue également la toxicité des préparations puisque la formulation 2362 de Abbott (poudre mouillable) est nettement moins efficace que la poudre primaire 2362 produite par la même firme (fig. 8). Il en est de même pour Solvay avec la suspension concentrée 2362 qui ne contient, il est vrai, que 12% de poudre primaire.

Enfin, malgré les précautions que nous venons de signaler pour interpréter les résultats de ce titrage, l'histogramme de la fig. 8 montre que les préparations les plus toxiques appartiennent pour la plupart à la souche 2362 qui semblerait la plus prometteuse.

3.1.3. Discussion

Compte-tenu de la diversité des insectes testés et des variantes apportées par chaque laboratoire au protocole de titrage biologique (Mathavan et Velpandi, 1984 ; Pantuwatana et Youngvanitsed, 1984 ; Cheong et Yap, 1985), il est difficile de comparer, pour un échantillon donné, les résultats fournis par les différents centres de recherche.

En valeur relative, les interprétations de la plupart des auteurs corroborent nos observations personnelles:

- la provenance des échantillons et par conséquent les conditions de culture et de préparation jouent un rôle important sur l'efficacité des poudres primaires de B. sphaericus;
- la souche 2362 semble effectivement la plus toxique.

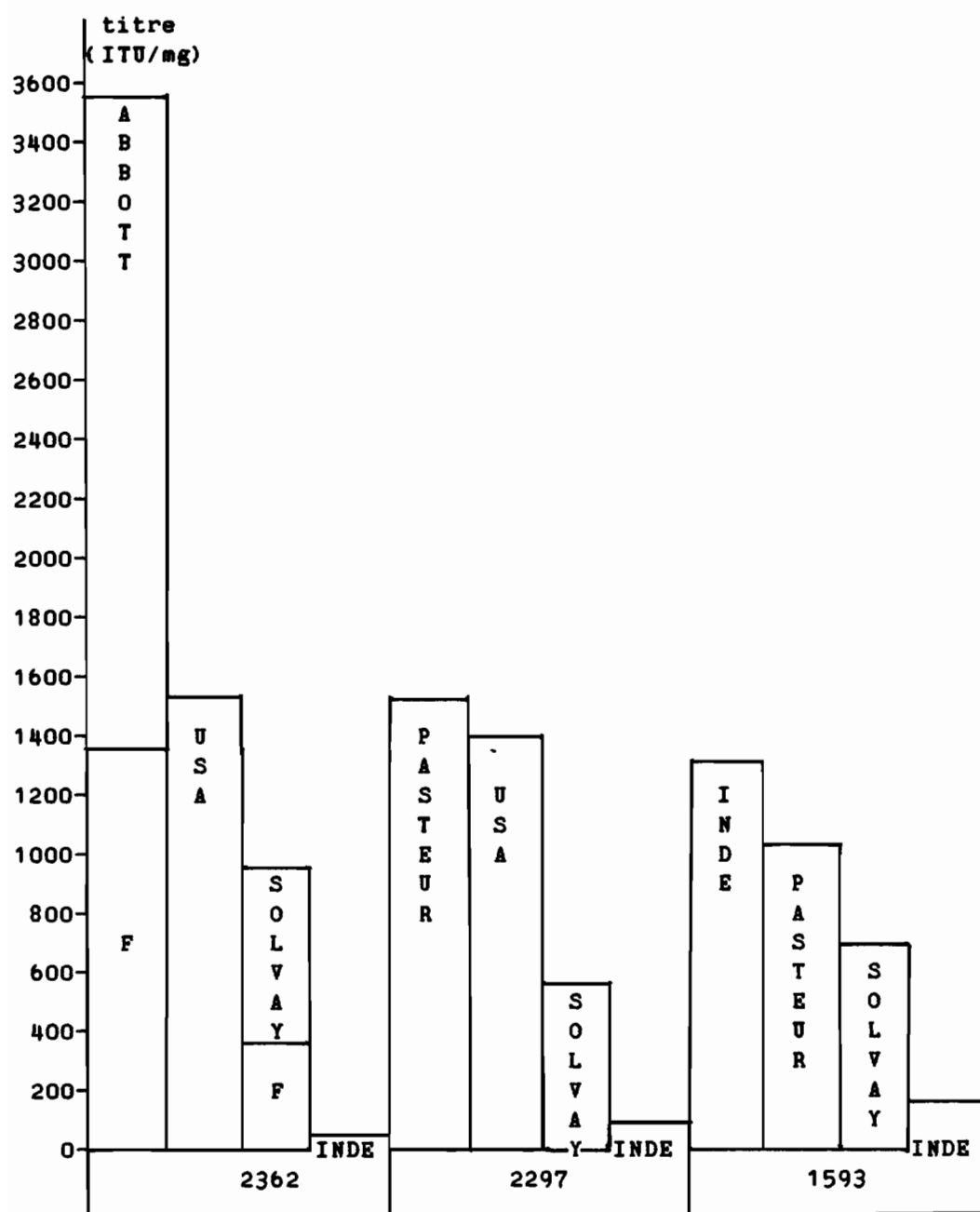


Fig. 8: Comparaison, pour une souche donnée, des titres de chaque préparation de B. sphaericus en fonction de leur provenance.
F: produit formulé.

3. 2. Evaluation de l'efficacité de B. sphaericus dans les conditions naturelles

3.2.1. Rappels bibliographiques

Dans des gîtes larvaires à C. quinquefasciatus traités par la souche 1593, Hornby et al. (1981) obtiennent plus de 90 jours de rémanence alors que pour d'autres auteurs elle peut être assez faible (Davidson et al., 1981) voire nulle (Indian Council of Medical Research, 1977).

Dans des gîtes à C. pipiens traités à 0.2 g/m² environ, Karch (1984) obtient une vingtaine de jours de rémanence avec la même souche et Sinègre et al. (1986) environ deux jours avec une suspension concentrée de la souche 2362.

Toujours en eaux polluées, avec deux autres souches appartenant au sérotype H5a,5b, Hoti et Balaraman (1984) n'obtiennent aucune rémanence dans des gîtes à Culex sitiens traités à 0.3 g/m²

3.2.2. Observations personnelles

3.2.2.1. Poudre mouillable 1593-4

Nous avons sélectionné 10 puisards (riches en larves de C. quinquefasciatus) que nous avons traités à 1, 10 et 50 g/m² à raison de 3 puisards par concentration et 1 témoin.

- toxicité immédiate de B. sphaericus

Un premier contrôle, 48 heures après le traitement, montre que la mortalité larvaire est totale dans tous les puisards traités, même à la plus faible dose. La population préimaginaire se reconstitue ensuite progressivement suivant la concentration utilisée (tableau 17): les larves stades III/IV réapparaissent entre le 8ème et le 16ème jour après le traitement à 1 g/m², entre le 20ème et le 26ème jour à 10 g/m² et entre le 32ème et 36ème jour à 50 g/m².

puisard N°	nombre de jours après traitement											
	0	1	10	14	18	22	26	28	34	36	38	40
1 (témoin)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 (1 g/m2)	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 (1 g/m2)	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 (1 g/m2)	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
5 (10 g/m2)	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
6 (10 g/m2)	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
7 (10 g/m2)	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
8 (50 g/m2)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
9 (50 g/m2)	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
10 (50 g/m2)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

Tableau 17: Persistance de l'efficacité de B. sphaericus souche 1593-4 dans les eaux polluées en fonction de la concentration; évolution dans le temps de la population larvaire de C. quinquefasciatus. (+): présence ou (-): absence de larves stades III/IV et (ou) de nymphes.

- observations à long terme

Nous avons ensuite poursuivi l'échantillonnage de la population préimaginale et avons établi pour quelques puisards un graphique de la dynamique de C. quinquefasciatus pour une période de 4 mois après le traitement.

Dans le puisard non traité, les densités larvaires et nymphales passent par une série de minimums et de maximums très marqués (fig. 9 - graphe 1). Des observations effectuées dans le même type de gîte par Subra (1971) montrent que l'allure de ces courbes est généralisable à l'ensemble des puisards non traités.

Sur les 9 puisards traités, et malgré les précautions que nous avons prises, deux d'entre eux n'ont pu faire l'objet d'une étude prolongée: l'un de ces puisards a été vidangé peu après sa recolonisation tandis que l'autre s'est asséché suite à un arrêt de l'alimentation en eaux. Après recolonisation des gîtes, la population préimaginale des sept puisards traités passe, comme pour le témoin, par une série de minimums et de maximums. Cependant, dans un puisard traité à 1 g/m2 (fig. 9 - graphe 2), nous avons constaté, 12 jours après la recolonisation du gîte, la présence de larves mortes pendant pratiquement toute la durée de nos observations. Ce même phénomène se retrouve, mais de façon épisodique, dans deux autres puisards traités à 1 et 50 g/m2 (fig. 9 - graphe 3 et 4). D'une façon générale, les cadavres sont disséminés sur toute la surface de l'eau du puisard et côtoient les larves vivantes présentes en plus grandes

quantités. L'apparition de cette mortalité larvaire ne semble pas modifier pas de façon sensible la dynamique de la population préimaginaire.

3.2.2.2. Suspension concentrée 2362 (BSP 1)

Cette expérimentation étant plus particulièrement destinée à des études bactériologiques, nous avons traité 4 gîtes larvaires à la dose unique de 10 g/m².

24 heures après le traitement, la mortalité était comprise entre 99 et 100% dans les 4 puisards et atteignait 100% à 48 heures. La réapparition des larves stades III/IV a lieu suivant les gîtes entre le 35ème et le 42ème jour soit 5-6 semaines après le traitement. Tout au long de cette période de non productivité larvaire, des pontes et des larves stades I de C. quinquefasciatus étaient cependant présentes dans les puisards mais n'ont jamais atteint le stade suivant.

3.2.2.3. Observations diverses

Les larves et nymphes de Psychodidae que nous avons rencontrées dans la plupart des puisards se sont avérées, comme pour B. thuringiensis H-14, insensibles à B. sphaericus aux doses utilisées dans cette étude.

A l'inverse de B. thuringiensis H-14, les larves de C. cinereus sont peu sensibles à la souche 2362 de B. sphaericus (Nicolas et Dossou-Yovo, 1985a).

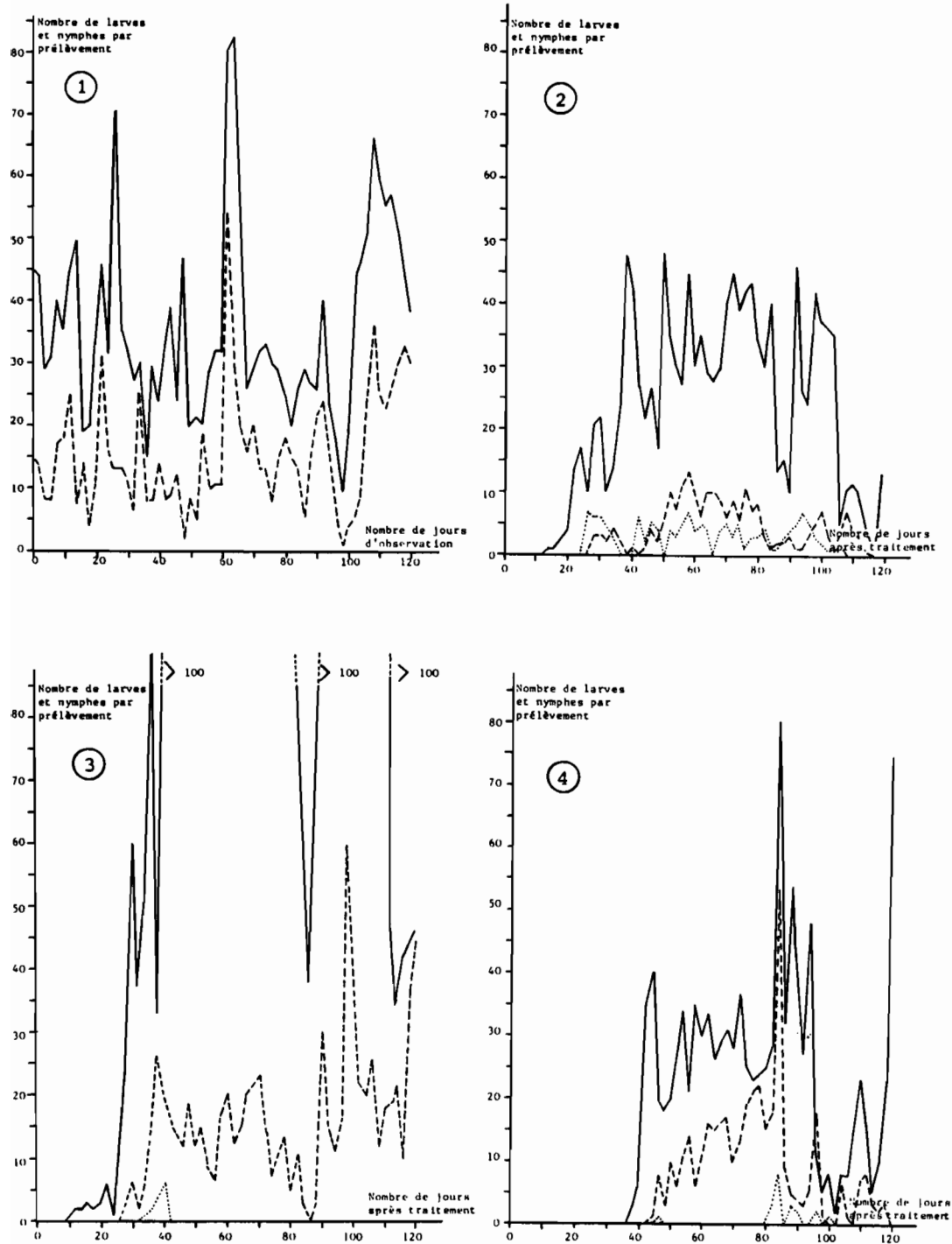


Fig. 9: Etude de la dynamique de la population préimaginale de *Cx. quinquefasciatus* dans un puisard non traité (graphe 1) et des puisards traités par *B. sphaericus* à 1 g/m² (graphes 2 et 3) et 50 g/m² (graphe 4).

— : larves vivantes ; ---- : nymphes vivantes
 : larves et nymphes mortes

3. 3. Essais complémentaires de l'évaluation sur le terrain

3. 3. 1. Rappels bibliographiques

Parallèlement aux observations entomologiques, des auteurs ont étudié le devenir de la matière active de B. sphaericus dans l'eau des gîtes traités par cet insecticide. Pour Hornby et al. (1981), l'activité larvicide est liée à la concentration en spores et la population préimaginale réapparaît quand cette concentration devient égale ou inférieure à environ 100 spores par ml, ce qui a été confirmé par la suite par Davidson et al. (1984) et Mulla et al. (1984a).

La sédimentation de la matière active a également été mise en évidence par titrage biologique d'échantillons d'eau prélevés dans des gîtes traités par B. sphaericus (Mulligan et al., 1978 et 1980): la baisse de mortalité en fonction du temps dans les prélèvements de surface est concomitante à une augmentation de mortalité au fond des gîtes.

3. 3. 2. Observations personnelles

3. 3. 2. 1. Sédimentation de la matière active

Pour une meilleure compréhension des résultats qui vont suivre, nous allons rappeler les conditions de l'expérimentation, brièvement décrites dans le chapitre II (2. 3. 1. 2.): un fût d'une quarantaine de cm de hauteur est rempli de 24 litres d'eau distillée traitée par la poudre mouillable 1593 à 10 mg/l. Ce fût est percé de trois orifices situés près de la surface, au milieu et à quelques centimètres du fond. Après homogénéisation de la suspension dans le récipient, des prélèvements sont réalisés, aux trois niveaux précités, 12, 24, et 48 heures puis 5 et 10 jours après le traitement. Les échantillons sont ensuite dilués au 1/100 et font l'objet d'un dosage biologique sur des larves de C. quinquefasciatus. Cette dilution correspond, au moment du traitement, à une concentration de 0.1 mg/l, soit un peu plus de la CL 95 (48 heures) obtenue lors du titrage biologique de cette formulation.

Six heures après le traitement, la mortalité larvaire se situe aux alentours de 90% aux trois niveaux puis diminue progressivement en fonction du temps et devient très faible après une dizaine de jours pour devenir nulle après deux semaines, aussi bien en surface qu'au milieu ou à quelques centimètres du fond (fig. 10).

Un dosage biologique réalisé tout au fond du fût après ces deux semaines d'expérimentation a mis en évidence une mortalité de 100%.

Il y a par conséquent sédimentation progressive, aux différentes hauteurs d'eau, de la matière active qui s'accumule au fond du fût pour ne se retrouver qu'à ce niveau après 14 jours d'expérimentation.

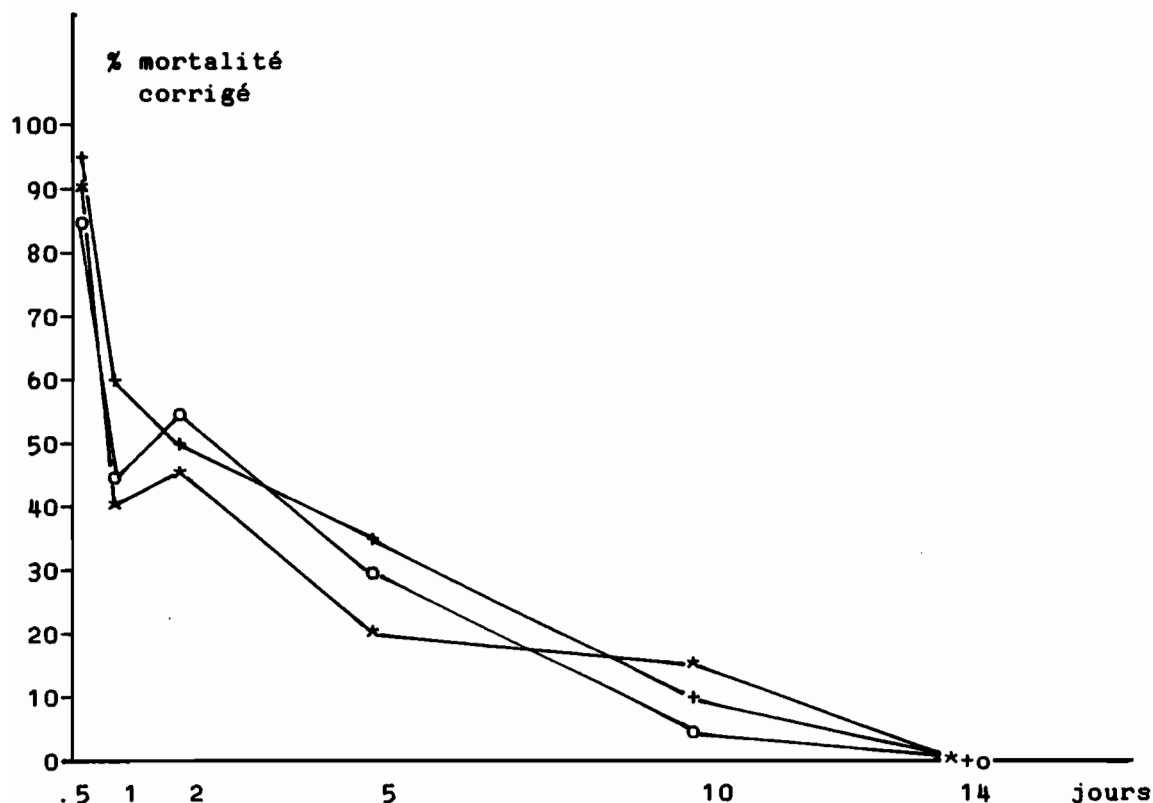


Fig. 10: Evolution du pourcentage de mortalité de larves de *C. quinquefasciatus* mises au contact d'échantillons d'eau prélevés, à différents niveaux et à différents temps, dans un fût traité par la poudre mouillable 1593.
(o): prélèvements en surface ; (+): prélèvements au milieu ; (*): prélèvements à quelques cm du fond du fût.

3.3.2.2. Sédimentation in situ des spores de la souche 1593

Parallèlement aux observations entomologiques, nous avons réalisé dans deux des puisards traités à 1 g/m² (graphes 2 et 3, fig. 9) des analyses bactériologiques qualitatives, d'une part sur des échantillons d'eau prélevés à différentes profondeurs (surface, fond et substrat), d'autre part sur des larves mortes rencontrées lors de notre expérimentation.

Avant le traitement des puisards, l'analyse bactériologique des prélèvements s'est révélée négative, tant en surface qu'au fond ou dans le substrat: il ne semble donc pas y avoir dans ces deux gîtes de *B. sphaericus* à l'état naturel.

Nous avons ensuite effectué pour chacun de ces deux gîtes trois séries de prélèvements: 10, 20 et 98 jours après le traitement pour le puisard N°1 et 10, 20 et 40 jours pour le puisard N°2.

Les résultats de ces analyses ainsi que l'état de la population préimaginale lors des prélèvements mettent en évidence les faits suivants (tableau 18):

- la présence de B. sphaericus dans le substrat n'affecte pas la dynamique de la population préimaginale dans le gîte;
- les spores présentes dans les prélèvements de surface entraînent des modifications notables qui se traduisent soit par l'absence totale de larves, soit par la présence de larves mortes au sein de la population larvaire.

jours	niveau de prélèvement			* observations entomologiques	
	surf.	prof.	subs.		
P U I S A R D 1	0	-	-	-	population préimaginale abondante
	10	-	-	+	gîte en voie de recolonisation
	20	-	-	+	gîte en voie de recolonisation
	98	-	-	+	population préimaginale abondante
P U I S A R D 2	0	-	-	-	population préimaginale abondante
	10	+	-	-	absence de larves et de nymphes
	20	-	-	+	gîte en voie de recolonisation
	40	+	-	+	population préimaginale abondante et présence de larves mortes

Tableau 18: Analyse bactériologique des échantillons prélevés en parallèle avec les observations entomologiques dans deux puisards traités avec la poudre mouillable 1593. (+): présence ou (-): absence de spores de B. sphaericus. *: pour plus de précisions, se reporter aux graphes 2 et 3, fig. 9.

L'analyse des larves mortes retrouvées après la recolonisation des gîtes a montré qu'elles étaient infectées par des spores de B. sphaericus. Des études plus fines ont précisé l'appartenance de ces spores au sérotype H5 auquel appartient la souche 1593-4 que nous avons testée.

3.3.2.3. Sédimentation in situ des spores de la souche 2362

Dans les quatre puisards traités à 10 g/m² par la souche 2362, des échantillons d'eau ont été prélevés en surface, à 1 mètre de profondeur et dans le substrat avant, après 2h, 6h, 1, 2 et 3 jours après le traitement puis tous les 4-7 jours (Nicolas et al., 1985).

Compte-tenu de la similitude des phénomènes observés dans les quatre puisards, nous ne détaillerons les résultats que pour l'un d'entre eux (fig. 11):

- la diffusion des spores est rapide puisque 6 heures après le traitement, celles-ci sont réparties de façon homogène dans tout le volume d'eau du puisard, à une concentration d'environ 10 E4 spores par ml;

- la sédimentation des spores situés à la surface et à un mètre de profondeur est très lente, passant d'une concentration d'environ 10 E4 spores/ml lors du traitement à un peu plus de 10 E2 après 5 semaines, ce qui correspond au début de réapparition des larves dans le gîte larvaire;

- en ce qui concerne le substrat, la concentration en spores aurait tendance à diminuer. Pour Nicolas et al. (1985), ce phénomène pourrait s'expliquer par une percolation des spores dans les couches profondes ou par une perte de viabilité des spores après un séjour prolongé dans le substrat.

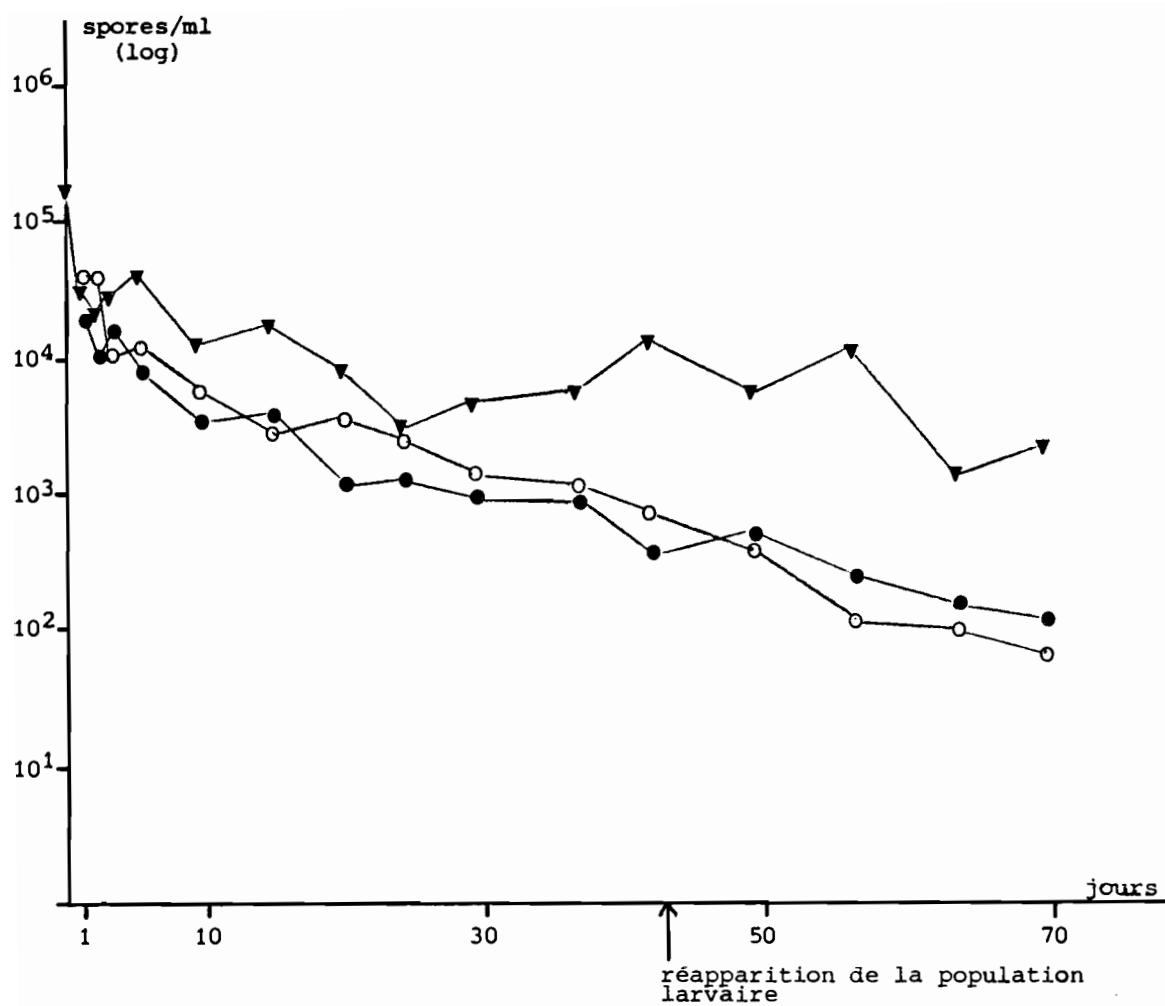


Fig. 11: Evolution du nombre de spores viables dans l'eau d'un puitsard à fond cimenté traité à 10 g/m^2 d'une suspension concentrée de la souche 2362 de *B. sphaericus*.
 (●): prélèvement en surface ; (○): prélèvement à 1 m de profondeur ; (▼): prélèvement au fond.

3.3.2.4. Etude comparative au laboratoire du devenir de la matière active et des spores de B. sphaericus et de B. thuringiensis H-14 en milieu aqueux.

Rappel sommaire des conditions d'expérimentation (cf. 2.3.1.2. chapitre II): une éprouvette graduée contient 1 litre d'eau du robinet à la surface de laquelle on disperse 10 ml de la suspension concentrée de B. sphaericus 2362 préalablement diluée. Dans une autre éprouvette, on disperse de la même façon 10 ml d'une suspension diluée de B. thuringiensis H-14. On prélève, à différents temps, en surface, au milieu et au fond, des échantillons d'eau qui font ensuite l'objet d'un titrage biologique ainsi que d'un comptage de spores.

Les résultats de ces analyses, rapportés dans la figure 12, mettent en évidence les faits suivants:

- en terme de perte de toxicité, la sédimentation de la matière active des deux formulations semble s'opérer de façon tout à fait différente: la matière active de la formulation Teknar de B. thuringiensis sédimente très rapidement par rapport à celle de la formulation BSP 1 de B. sphaericus, si bien qu'après 12 heures, une partie a déjà sédimenté et la quasi-totalité au bout de 24 heures; en revanche, aucune sédimentation n'est décelée pour la formulation BSP 1 même après 7 jours d'expérimentation;

- la diffusion des spores de B. sphaericus et de B. thuringiensis H-14 semble se dérouler de façon identique. Cependant, bien qu'une légère baisse du nombre de spores soit observée après 48 heures dans les deux cas, leur répartition dans l'eau reste homogène pendant toute la durée de l'expérimentation.

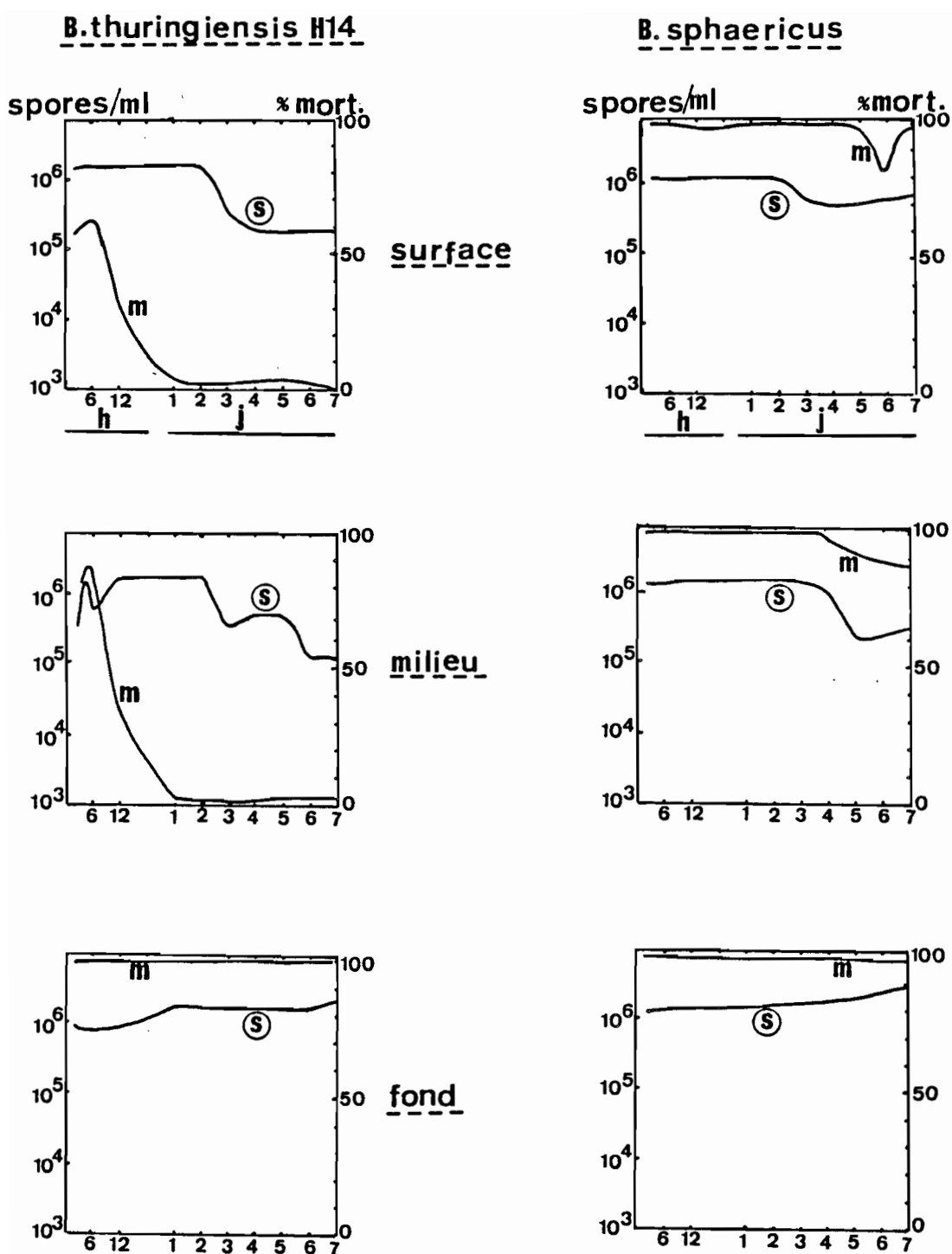


Fig. 12: Sédimentation en milieu aqueux des spores (S) et de la matière active (m) de deux suspensions concentrées de B. thuringiensis H-14 et de B. sphaericus.

3. 4. Discussion

3. 4. 1. Persistance de B. sphaericus dans le milieu

Il est difficile de comparer les différents travaux réalisés dans les conditions naturelles, compte-tenu de la diversité des gîtes larvaires, ainsi que des souches et des formulations de B. sphaericus testées. Cependant, si la rémanence varie selon les auteurs dans des proportions assez importantes, nos résultats obtenus avec la souche 1593-4 sembleraient indiquer qu'elle augmente avec la concentration, confirmant ainsi les travaux de Mulligan et al. (1980) et Sinègre et al. (1986).

Les 3-4 semaines et 5-6 semaines de rémanence obtenues respectivement avec les souches 1593 et 2362 dans des puisards traités à 10 g/m² nous ont incité à poser le problème du devenir de la matière active dans ce type de gîte. L'interprétation de ce phénomène nous amène à formuler trois hypothèses qui serviront de point de départ à notre discussion, basée notamment sur nos expérimentations de laboratoire.

1) la matière active sédimente lentement

L'expérimentation que nous avons menée au laboratoire avec la poudre mouillable 1593 montre qu'il faut près de deux semaines pour que la matière active sédimente totalement dans de l'eau distillée, alors qu'il ne faut que quelques heures avec B. thuringiensis H-14 (Guillet et al., 1980). Les analyses bactériologiques effectuées in situ avec la même formulation ont mis également en évidence que la toxicité était liée à la présence des spores puisque la population préimaginale réapparaît dans les gîtes quand celles-ci ont sédimenté en dehors de la zone de nutrition des larves.

Ces résultats ont été précisés par la suite de manière quantitative avec la suspension concentrée 2362, confirmant ainsi les résultats des autres auteurs (cf 3.3.1.): la rémanence de B. sphaericus dépend de la vitesse de sédimentation des spores et cesse quand leur leur nombre devient inférieur à environ 10 E₂ spores/ml.

Cette différence de rémanence entre ces deux bactéries semble liée essentiellement aux rapports existant entre la toxine et la spore: dans le cas de B. thuringiensis H-14, les cristaux ne sont pas liés aux spores (photo 11) et sédimentent plus rapidement que ces dernières, alors que dans le cas de B. sphaericus, les facteurs toxiques sont étroitement associés (photo 12) à la spore qui ferait alors en quelque sorte office de "flotteur" (cf 3.3.2.4.).

2) la matière active ne perd pas de sa toxicité

De nombreux travaux réalisés au laboratoire ont montré que les facteurs toxiques de B. sphaericus étaient moins stables que ceux de B. thuringiensis H-14 et dégradés notamment par les rayonnements ultra-violets et la lumière solaire (cf chapitre II, 1.1.2.). Ce phénomène a également été mis en évidence sur le terrain par Hornby et al. (1981) et Karch (comm. pers.) qui constatent que la rémanence de cet insecticide est supérieure dans des gîtes en eaux polluées ou dans des gîtes ombragés car les spores seraient protégées dans les deux cas de l'action des rayons solaires.

Ces observations expliquent peut-être en partie la variabilité des résultats obtenus par les différents auteurs ainsi que la rémanence des formulations que nous avons testées: l'eau des puisards de Bouaké est en général très polluée et dans la plupart des cas à l'abri de la lumière sinon parfois dans l'obscurité.

3) la matière active reste disponible

Ainsi que Ramoska et Pacey (1979), Mulligan et al. (1980) et Mian et Mulla (1983), nous avons constaté qu'il existait, comme avec B. thuringiensis H-14, une corrélation négative entre l'efficacité de B. sphaericus et la quantité de matière en suspension disponible pour les larves.

Ceci ne représente pas cependant un handicap majeur pour les eaux polluées dans la mesure où il suffit d'augmenter la concentration pour compenser ce phénomène.

3.4.2. Recyclage de B. sphaericus dans le milieu

Dans les puisards traités par la poudre mouillable 1593 de B. sphaericus, l'apparition plusieurs semaines après la recolonisation des gîtes, de larves mortes contaminées par des spores appartenant au même sérotype (cf 3.2.2.1.), nous amène à poser le problème du recyclage de cette bactérie dans les eaux polluées.

Pour Davidson et al. (1984), Desrochers et Garcia (1984) et Karch et Coz (1986), les larves représentent un milieu favorable pour la germination des spores: les cellules végétatives se multiplient puis redonnent des spores viables toxiques qui sont libérées lors de la désintégration des larves mortes dans le gîte. Cependant, bien que ce recyclage ait été mis en évidence au laboratoire et in situ dans les puisards de Bouaké (Nicolas et Dossou-Yovo, 1985b), il est peu probable que celui-ci joue un rôle larvicide important dans les conditions naturelles: les larves mortes sédimentent au fond des gîtes avant que le recyclage n'ait eu lieu, entraînant ainsi les spores hors de la zone de nutrition des larves vivantes.

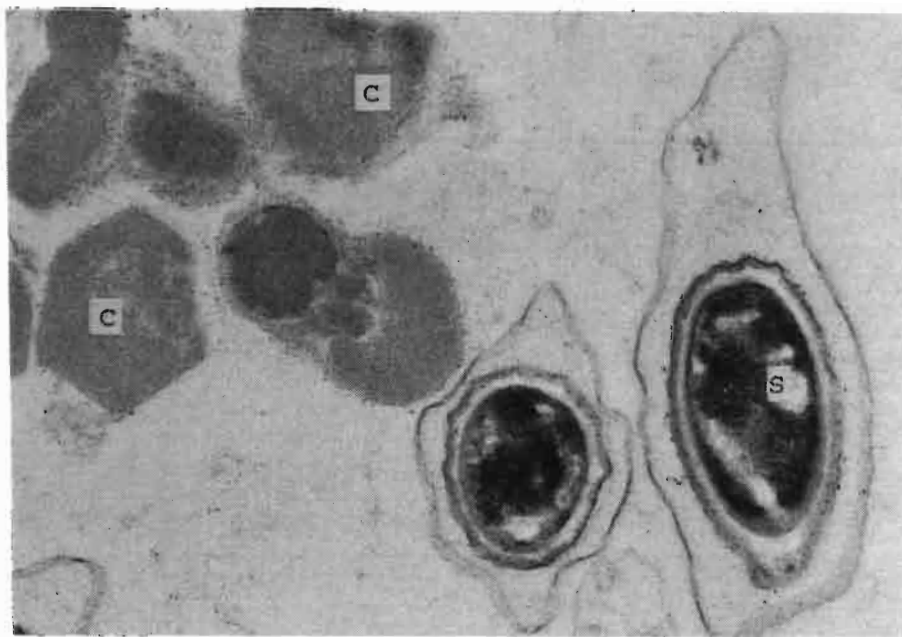


Photo. 11: Spores (S) et cristaux libres (C) de *B. thuringiensis* H-14 après la lyse du sporange. (microscopie électronique à transmission - grossissement X 30 000 - cliché Charles).

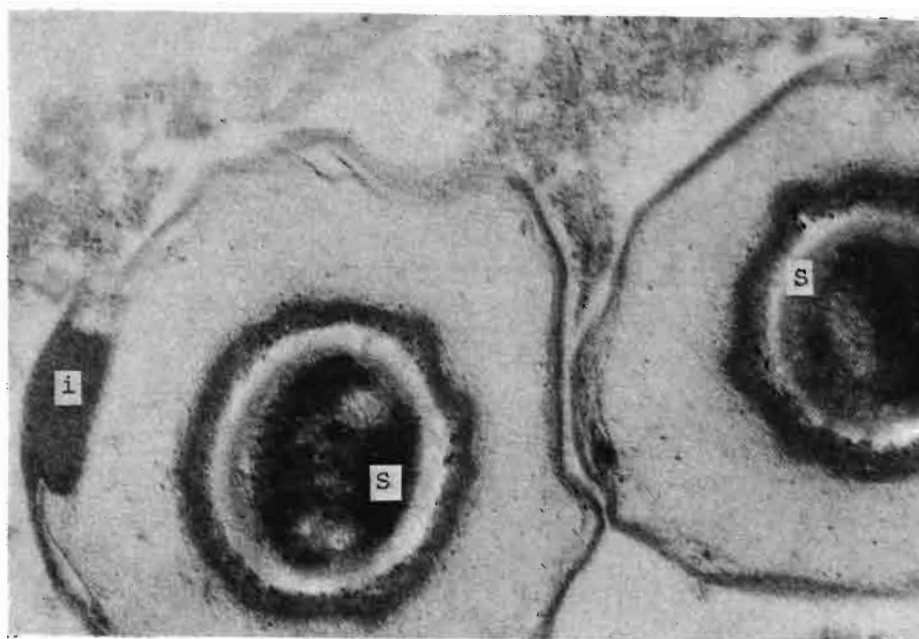


Photo. 12: Spores (S) de *B. sphaericus* souche 2362, montrant l'inclusion toxique (i) dans la paroi la paroi de l'exosporium de la spore. (microscopie électronique à transmission - grossissement X 60 000 - cliché Charles).

Pour en revenir à notre expérimentation avec la poudre mouillable 1593, la question se pose alors de déterminer l'origine des spores isolées dans les larves mortes, parfois plusieurs mois après le traitement.

Compte-tenu des résultats de Hertlein et al. (1979) et Singer (1980), nous aurions tendance à penser que ces spores sont issues du traitement: d'après ces auteurs, ce substrat est un milieu favorable pour les spores qui resteraient ainsi viables et infectantes pendant au moins neuf mois. Dans cette hypothèse, les spores de la souche 1593 peuvent avoir sédimenté au fond des puisards traités puis avoir été remises accidentellement en suspension suite à une agitation de l'eau.

4. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE COMPOSES ANALOGUES DE REGULATEURS DE CROISSANCE

De nombreux analogues de régulateurs de croissance sont produits par l'industrie depuis les années 1970. Parmi les plus connus, le méthoprène (juvénoïde) et le diflubenzuron (ecdysoïde) ont été utilisés avec succès contre certaines espèces de moustiques, particulièrement dans le cas de résistance aux insecticides chimiques conventionnels (Schaefer et Dupras, 1973 ; Mathis et al., 1975 ; Aminah et al., 1981 ; Ten Houten et al., 1980).

Contrairement à l'hypothèse de Williams (1967), les insectes seraient capables de développer des résistances aux régulateurs de croissance, notamment des résistances croisées avec les insecticides chimiques conventionnels (Georghiou et al., 1974 ; WHO, 1980b).

C'est pourquoi, compte-tenu de la grande efficacité de ces composés vis-à-vis des larves de moustiques et de leur faible toxicité pour les mammifères (cf 1.2.1. chapitre II), l'industrie a orienté ses recherches vers la synthèse de nouvelles molécules de ce type, permettant non seulement de diversifier l'arsenal de régulateurs de croissance, mais aussi de disposer de substances encore plus toxiques et plus stables.

Nous avons testé dans les puisards de Bouaké trois composés régulateurs de croissance, formulés en poudre mouillable, en granulés ou en concentrés émulsifiables. Ce sont tous trois des mimétiques d'hormones juvéniles qui nous sont parvenus sous les noms de code de l'Organisation Mondiale de la Santé: OMS 3007, OMS 3010 et OMS 3019 (cf 1.2.2. chapitre II).

4. 1. Rappels bibliographiques

Ces trois composés ayant été récemment synthétisés par l'industrie, nous disposons de peu de données concernant leurs performances sur le terrain à l'exception des travaux de Darriet et al. (1985b) qui ont testé l'activité de l'OMS 3007 dans des gîtes à C. quinquefasciatus, et obtenu une dizaine de jours de rémanence à 0.5 mg/l.

Avec les autres composés régulateurs de croissance testés dans des conditions similaires, la rémanence peut être variable même quand il s'agit de la même molécule. Avec un ecdysoïde tel que le diflubenzuron, Sharma et al. (1979) n'obtiennent que 4 jours de rémanence à 1 mg/l alors que Self et al. (1978) obtiennent 2 semaines et Sales et Hervy (1977) un mois à la même concentration.

Avec un autre ecdysoïde (triflumuron), la rémanence est d'environ un mois dans des gîtes larvaires à C. quinquefasciatus (Darriet et al., 1985a).

En ce qui concerne les juvénoïdes et toujours en eaux polluées, la rémanence du méthoprène est d'environ trois semaines à 1 mg/l selon Nelson et al. (1976) et de 5 semaines selon Self et al. (1978).

4. 2. Observations personnelles

Le contrôle de l'efficacité des 5 formulations juvénoïdes que nous avons testées s'exprime en pourcentage de réduction d'émergence (cf 2.2.4. chapitre II). Précisons que ce paramètre est calculé en additionnant le nombre de nymphes mortes récoltées lors du prélèvement et après la mise en observation ainsi que le nombre d'adultes non viables, sur le nombre total de nymphes récoltées. Ce pourcentage est ensuite confirmé par le nombre d'exuvies nymphales flottant à la surface de l'eau. A titre d'exemple, nous avons détaillé dans l'annexe 23 le calcul du pourcentage de réduction d'émergence pour l'une des formulations testées (OMS 3019).

4. 2. 1. Pourcentage d'émergence dans un puisard non traité

Dans un puisard non traité, nous avons suivi pendant plus de 10 semaines le pourcentage de réduction d'émergence des adultes et constaté que celui-ci n'excédait jamais plus de 7%, ce qui confirme les résultats enregistrés peu avant le traitement insecticide dans d'autres puisards.

4. 2. 2. Evaluation préliminaire

Dans un premier temps, nous avons testé les 5 formulations à 0.1 et 1 g de matière active / m², doses habituellement utilisées avec les insecticides chimiques pour le traitement des eaux polluées.

Les résultats, consignés dans le tableau 19, mettent en évidence les faits suivants:

- à l'exception de l'OMS 3019, la concentration semble avoir peu d'effet sur la rémanence des formulations;
- pour un même composé, cette rémanence varie peu avec la formulation: avec l'OMS 3007, la réduction des émergences n'est totale que pendant une quinzaine de jours, qu'il s'agisse de la poudre mouillable ou des granulés. Avec l'OMS 3010, les premiers adultes ne réapparaissent qu'après 9-10 semaines avec le concentré émulsifiable et 11-12 semaines avec la microémulsion;
- contrairement à l'OMS 3007, l'activité de l'OMS 3010 se manifeste encore plusieurs semaines après le traitement: 8 semaines après le

début de réapparition des adultes, ce composé provoque toujours un effet partiel très net avec une réduction des émergences d'environ 50%, quelle que soit la formulation;

- de toutes les formulations testées, la poudre mouillable de l'OMS 3019, utilisée à 1 g/m², est de loin la plus performante: après 6 mois d'expérimentation, nous n'avons toujours pas d'émergences dans le gîte larvaire.

pourcentage de réduction d'émergence										
		OMS 3007				OMS 3010				OMS 3019
		gran. 0.5%		P. M. 5%		C. E. 12.5%		Mic. 10%		P. M. 5%
doses:		0.1*	1	0.1	1	0.1	1	0.1	1	0.1 1
S										
E	1	100	100	100	97	100	100	100	100	93 100
M	2	43	100	100	95	100	100	100	100	100 100
A	3	1	48	85	28	100	100	100	100	98 100
I	4	1	12	64	37	100	100	100	100	99 100
N	5	2	14	16	58	99	100		100	55 100
E	6	-	5	5	44	100	100		100	30 100
S	7	-	-	3	35	100	100	P	100	14 100
	8	-	-	-	5	90	100	U	100	14 100
A	9	-	-	-	-	100	94	I	100	3 100
P	10	-	-	-	-	87	84	S	100	- 100
R	11	-	-	-	-	47		A	100	- 100
E	12	-	-	-	-	90	P	R	47	- 100
S	13	-	-	-	-	45	U	D	58	- 100
	14	-	-	-	-	44	I		82	- 100
T	15	-	-	-	-	50	S	V	76	- 100
R	16	-	-	-	-	63	A	I	24	- 100
A	17	-	-	-	-	-	R	D	42	- 100
I	18	-	-	-	-	-	D	E	25	- 100
T	19	-	-	-	-	-			57	- 100
E	20	-	-	-	-	-	V		50	- 100
M	21	-	-	-	-	-	I		11	- 100
E	22	-	-	-	-	-	D		30	- 100
N	23	-	-	-	-	-	E		26	- 100
T	24	-	-	-	-	-			17	- 100

Tableau 19: Evaluation préliminaire de 5 formulations d'analogues de régulateurs de croissance: évolution dans le temps des pourcentages de réduction d'émergence dans des gîtes larvaires à C. quinquefasciatus traités à 0.1 et 1 g/m².

*: g/m ; (-): prélèvements non réalisés.

4.2.3. Evaluation complémentaire

Compte-tenu de l'importante rémanence de la poudre mouillable de l'OMS 3019 dans les gîtes traités à 1 g/m², nous avons poursuivi notre évaluation à cette dose dans 6 puisards supplémentaires (tableau 20).

Les résultats confirment ceux de l'évaluation préliminaire puisque, à l'exception d'un gîte, l'effet est encore total 9 mois après le traitement, temps au bout duquel nous avons dû interrompre notre expérimentation pour diverses raisons de logistique.

		pourcentage de réduction d'émergence						
puisards N°		1	2	3	4	5	6	7
doses: 1g/m ²		1g/m ²	1g/m ²	1g/m ²	1g/m ²	1g/m ²	1g/m ²	1g/m ²
S								
E	1 à 19	100	100	100	100	100	100	100
M	20	12	100	100	100	100	100	100
A	21	17	100	100	100	100	100	100
I	22	43	100	100	100	100	100	100
N	23	54	100	100	100	100	100	100
E	24	-	100	100	100	100	100	100
S	25	31	100	100	100	100	100	100
	26	48	100	100	100	100	100	100
A	27	100	100	100	100	100	100	100
P	28	70	100	100	100	100	100	100
R	29	-	100	100	57	100	100	100
E	30	-	100	100	71	100	100	100
S	31	74	100	100	100	100	100	100
	32	50	100	100	-	100	100	100
T	33	59	100	100	-	100	100	100
R	34	-	100	100	-	100	100	100
A	35	-	100	100	-	100	100	100
I	36	-	100	100	100	100	100	100
T	38	4	100	100	100	100	100	100
E	39	-	100	100	-	100	100	100
M	40	-	100	100	-	100	100	100
E	41	-	100	100	100	100	100	100
N								
T								

Tableau 20: Evaluation secondaire de l'OMS 3019 (poudre mouillable 5% MA): évaluation dans le temps du pourcentage de réduction d'émergences dans des gîtes larvaires à C. quinquefasciatus traités à 1 g/m² (puisards 1 à 7).

(-): prélèvements non réalisés.

4.2.4. Observations diverses

4.2.4.1. Validité de la méthode d'évaluation

A chaque fois que nous effectuons un prélèvement de nymphes dans les gîtes traités, un certain nombre de moustiques s'échappe par le regard des puisards, bien que le pourcentage de réduction d'émergence, après observation au laboratoire, soit toujours de 100%. Nous avons donc contrôlé la nature de cette population préimaginale afin de savoir s'il s'agissait de moustiques venant de l'extérieur du gîte ou de moustiques venant d'émerger.

Après avoir capturé des adultes à la sortie d'un puisard traité, nous avons déterminé le nombre de mâles et disséqué quelques femelles afin de connaître leur état physiologique (tableau 21).

nombre de moustiques capturés	282
nombre de mâles capturés	1
nombre de femelles disséquées	52
nombre de femelles pares (1)	26
nombre de femelles nullipares (1)	1 (spermathèque vide)
nombre de femelles stades IV/V de Christophers (2)	25

tableau 21: Etat physiologique d'une population de moustiques récoltée à la sortie d'un puisard traité 3 mois auparavant par l'OMS 3019.

(1): déterminé par la méthode des trachéoles sur des femelles stade I à III de Christophers ; (2): état de parturité non déterminé.

Ces résultats indiquent une origine extérieure au gîte de la population imaginale puisque sur les 282 moustiques récoltés, la quasi-totalité sont des femelles (281) dont les quelques dissections ont montré qu'elles ne pouvaient être néonates:

- la moitié d'entre elles sont pares;
- l'autre moitié est au stade IV/V de Christophers. Cette souche étant anautogène (observation personnelle), il a fallu que ces femelles (pares ou nullipares) soient fécondées et prennent un repas de sang (à l'extérieur du gîte) pour que les oeufs arrivent à ce stade.

Seul le mâle et la femelle nullipare non fécondée peuvent

provenir du gîte traité par l'OMS 3019. Cependant, cette très faible proportion de néonates ne peut que confirmer la validité de notre méthode d'évaluation.

4.2.4.2. Autres moustiques présents dans le gîte

A certaines époques de l'année, C. cinereus entre en compétition avec C. quinquefasciatus (Subra et Dransfield, 1984) et supplante totalement ce dernier dans certains des puisards traités. Nous avons poursuivi les observations pendant cette période et constaté que C. cinereus était également très sensible aux régulateurs de croissance que nous avons testés.

4.3. Discussion

Mis à part l'OMS 3007 pour lequel la rémanence est du même ordre de grandeur que celle trouvée par Darriet et al. (1985b), les performances des deux autres régulateurs de croissance sont supérieures à celles obtenues par différents auteurs avec d'autres composés du même type (cf 4.1.). Cette rémanence ne semble pas due à une présentation particulière de la matière active puisque les travaux de Mulla et Darwaseh (1975), Axtell et al. (1980) sur le diflubenzuron et nos observations personnelles montrent que la formulation ne modifie pas ou peu les performances des régulateurs de croissance dans les gîtes larvaires à moustiques.

Les résultats impressionnants obtenus avec l'OMS 3019 (rémanence parfois supérieure à 9 mois) amènent à émettre les mêmes hypothèses que celles formulées avec B. sphaericus (cf. 3.4.):

1) la matière active sédimente lentement

Il est probable qu'à l'instar d'autres insecticides chimiques tels que le chlorpyrifos (Schaefer et Dupras, 1970), la matière active s'adsorbe sur la matière organique en suspension qui la maintiendrait ainsi dans la zone de nutrition des larves.

2) la matière active est stable

Contrairement au méthoprène (Schaefer et Dupras, 1973), on peut supposer que la molécule insecticide n'est pas dégradée, car elle est d'une remarquable stabilité du moins dans l'eau polluée des gîtes à C. quinquefasciatus.

3) la matière active reste disponible

Contrairement aux formulations particulières tels celles de B. sphaericus ou B. thuringiensis H-14, la matière organique favoriserait l'ingestion de l'insecticide adsorbé sur les particules en suspension.

Il faut noter enfin que C. quinquefasciatus est un des moustiques les plus sensibles aux analogues de composés régulateurs de croissance (Nelson et al., 1983a et b ; Phonchevin et al. 1985) et qu'après 9 mois de traitement, il reste encore suffisamment d'insecticide en suspension pour provoquer encore dans certains gîtes, 100% de réduction d'émergence.

5. CONCLUSIONS

L'évaluation de différents larvicides dans les gîtes larvaires à C. quinquefasciatus a permis de mettre en évidence une différence de performances entre les composés testés: la rémanence de B. thuringiensis H-14 n'excède pas une semaine, quelle que soit la dose utilisée, alors qu'elle atteint 5-6 semaines à 10 g/m² avec B. sphaericus et dépasse 9 mois à 1 g/m² avec l'OMS 3019 (fig. 13).

Compte-tenu des résultats des différents auteurs et de nos observations personnelles, deux facteurs essentiels semblent responsables de ces différences entre les différents composés testés.

1) il existe tout d'abord une différence intrinsèque marquée de toxicité entre les insecticides vis-à-vis de C. quinquefasciatus: au laboratoire, les régulateurs de croissance agissent à des doses très faibles de l'ordre de 10⁻³ / 10⁻⁴ mg/l (WHO, 1981a) alors que B. sphaericus est toxique aux environs de 10⁻² mg/l et B. thuringiensis H-14 à 10⁻¹ mg/l (cf 2.2.2. et 3.3.2).

2) la sédimentation de la matière active est également un facteur très important qui pourrait rendre compte de la différence de rémanence entre ces trois larvicides (fig. 14): pour B. thuringiensis H-14, la toxine tombe rapidement au fond du gîte, en dehors de la zone de nutrition des larves, alors que pour B. sphaericus elle serait liée, du moins en partie, à la nature de la spore et resterait ainsi plus longtemps en suspension. Le même phénomène se produirait avec les régulateurs de croissance dont la matière active s'adsorberait sur les particules organiques présentes dans l'eau polluée des puisards.

Nos différentes observations (fig. 13) montrent que la formulation ne joue pas ici un rôle capital sur les performances de ces insecticides dans les eaux polluées. Cependant, des recherches pourraient être entreprises pour tenter d'améliorer la flottabilité de la matière active, notamment dans le cas de B. thuringiensis H-14 dont la toxine, de densité supérieure à 1 n'est pas retenue dans la zone de nutrition des larves. Dans cet ordre d'idée, Levy et al. (1984) ont associé à différentes préparations commerciales de B. thuringiensis H-14, une formulation larvicide provoquant des modifications physico-chimiques de la surface de l'eau: si les résultats n'ont pas augmenté la rémanence du B. thuringiensis H-14, cette association avait cependant permis de disperser la toxine sur toute la surface de l'eau avant sa sédimentation au fond du gîte.

Le recyclage de B. sphaericus dans les gîtes larvaires à C. quinquefasciatus ne joue pas non plus un rôle important sur l'activité larvicide de cette bactérie. Cependant, ce phénomène, mis également en évidence au laboratoire avec B. thuringiensis H-14 (Aly, 1985), mérite peut-être de plus amples investigations dans d'autres types de gîtes et sur d'autres espèces de moustiques.

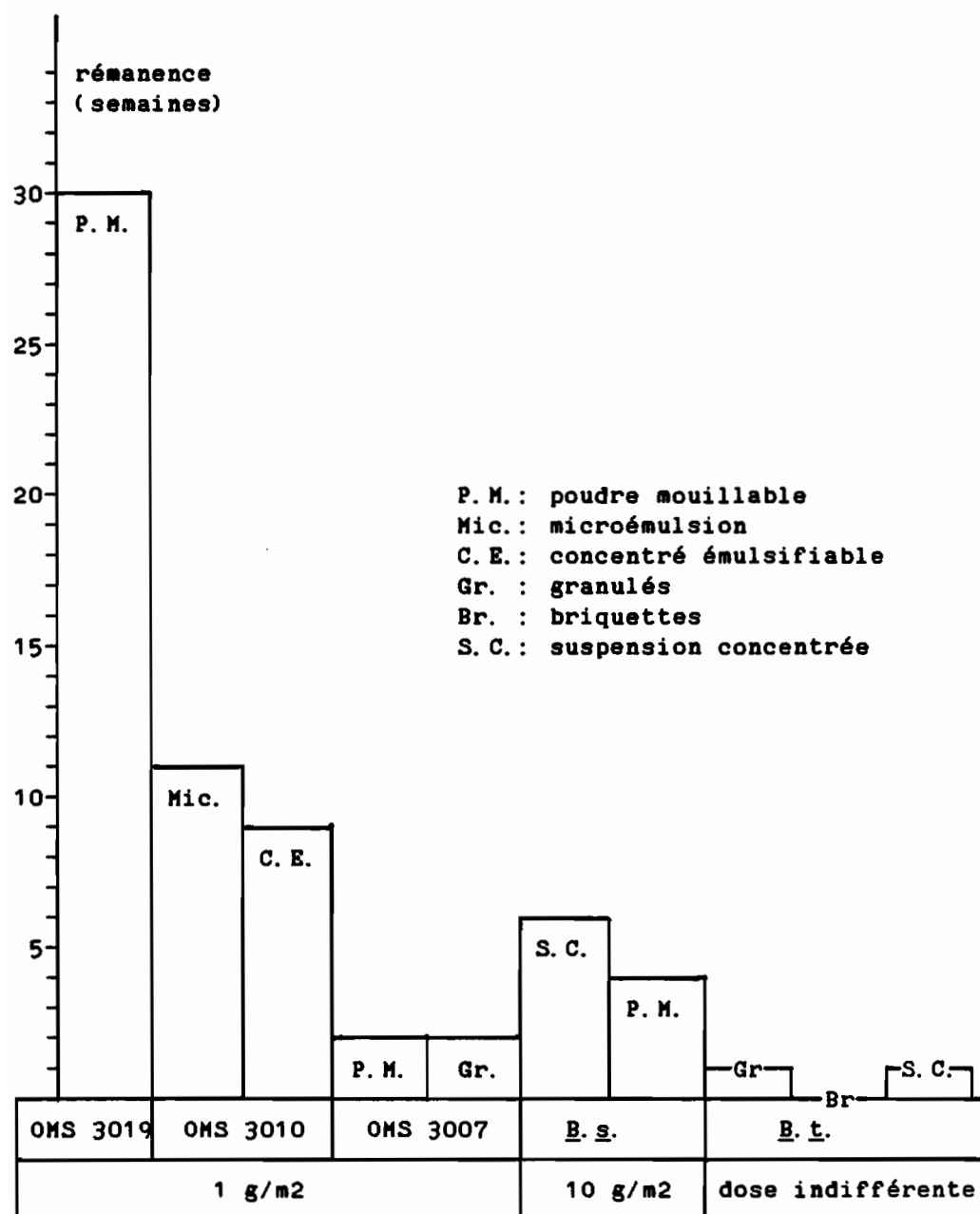


Fig. 13: Comparaison de la rémanence de 3 types de composés dans des gîtes larvaires à C. quinquefasciatus.

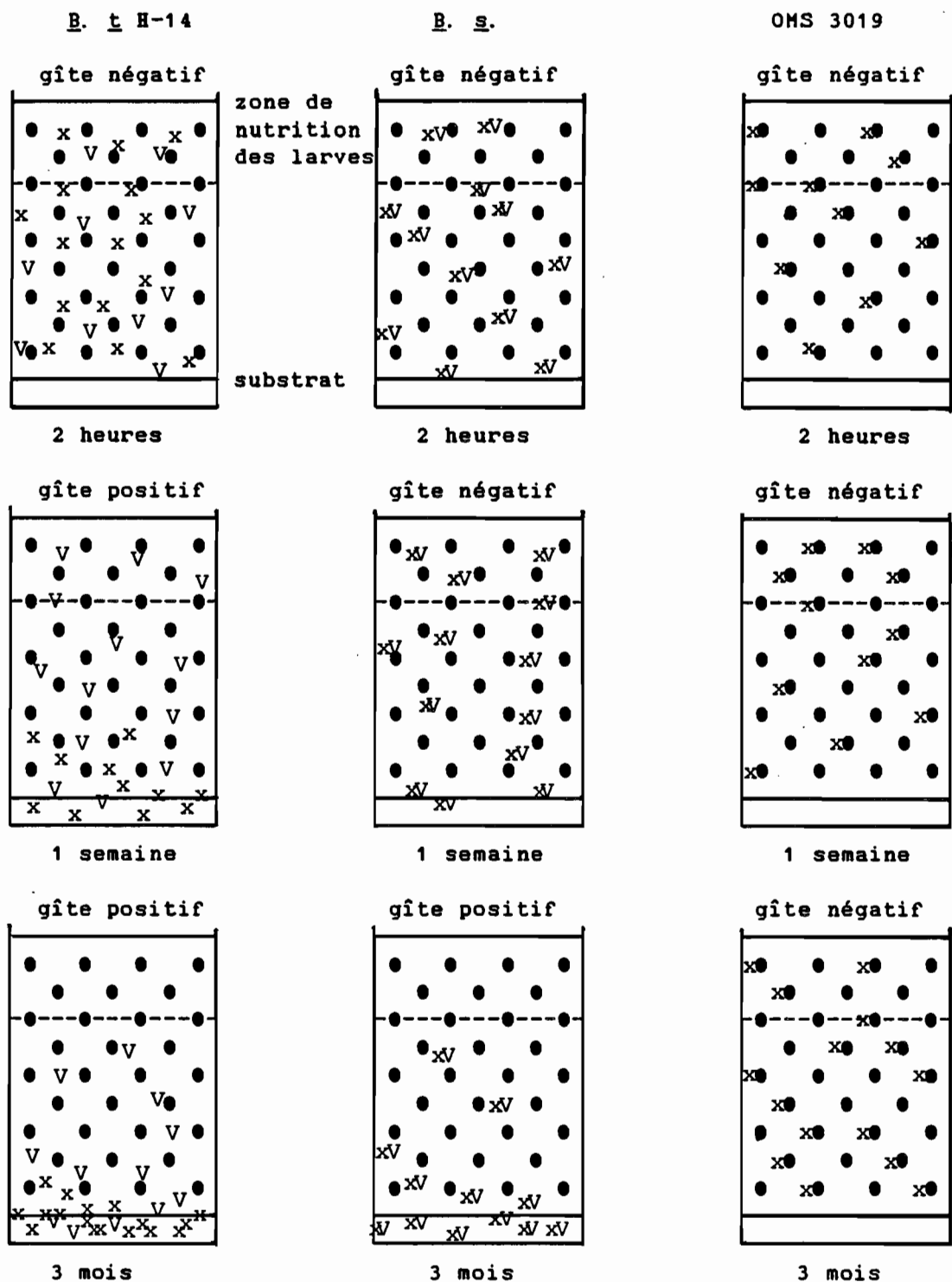


Fig. 14: Sédimentation de la matière active de trois insecticides dans des gîtes larvaires à Cx. quinquefasciatus: schéma comparatif de la situation 2 heures, une semaine et 3 mois après le traitement. (●): matière organique ; (V): spores ; (x): matière active.

Si l'on se place dans une perspective d'utilisation opérationnelle de ces composés, l'OMS 3019 semble à priori être le candidat le plus prometteur. Cependant, la prise en considération des points exposés ci-après nous amène à réviser nos critères de sélection.

1) résistance

Avec les analogues de régulateurs de croissance, les possibilités de résistance, notamment croisée, avec les insecticides chimiques conventionnels, incitent à émettre certaines réserves quant à l'utilisation unique d'un composé tel que l'OMS 3019. C'est pourquoi il est conseillé, comme le préconisent notamment Hamon et Mouchet (1967) avec les insecticides chimiques, d'alterner judicieusement les composés et d'avoir recours à des produits tout à fait différents tels qu'actuellement les agents de lutte biologique, plus particulièrement B. sphaericus. Les travaux de Sun et al. (1980) ont montré que des souches de C. quinquefasciatus résistantes à divers insecticides chimiques gardaient leur sensibilité vis-à-vis de B. thuringiensis H-14.

2) toxicité

Il se peut parfois que les gîtes larvaires à C. quinquefasciatus communiquent avec des points d'eau de boisson ou avec la nappe phréatique et qu'on ne puisse utiliser des larvicides dont la toxicité pour les mammifères est trop importante ou mal connue. Ici aussi, les agents de lutte biologique tels que B. thuringiensis H-14 ou B. sphaericus sont les seuls composés actuellement utilisables.

3) rentabilité

Malgré la forte concentration préconisée pour le traitement des eaux polluées avec B. sphaericus (10 g de produit par m²), l'utilisation d'une formulation telle que la suspension concentrée de la souche 2362 (cf. 3.2.2.2.) semble déjà dans certains cas très prometteuse. Ainsi, une étude préliminaire, que nous avons entreprise à Dar es Salaam (Tanzanie), montre qu'avec une rémanence de 6 semaines (9 cycles par an), cette formulation peut concurrencer, d'un point de vue coût, le chlorpyrifos utilisé actuellement par les services d'hygiène de la ville (tableau 22). En effet, compte-tenu de la résistance de C. quinquefasciatus à ce composé, la fréquence de traitement à 1 g/m² est passée ces dernières années de 12 semaines (Bang et al., 1975) à 15 jours (Curtis et Pasteur, 1981 ; Curtis et al., 1984).

	<u>B. s.</u> 2362 (susp. conc.)	chlorpyrifos (conc. émul. 480 g/l)
concentration	10 g/m ² (0.01 l/m ²)	1 g/m ² (0.001 l/m ²)
fréquence de traitement	9 cycles par an	24 cycles par an
quantité de formulation nécessaire pour un an	45 litres	24 litres
personnel (1)	12 \$ x 9 = 108 \$	12 \$ x 24 = 288 \$
équipement (2)	30 \$ x 9 = 270 \$	30 \$ x 24 = 720 \$
insecticide	8 \$ x 45 = 360 \$	15 \$ x 24 = 360 \$
total	738 dollars U. S.	1368 dollars U. S.

Tableau 22: Comparaison à Dar es Salaam (Tanzanie) des coûts approximatifs d'un traitement pendant un an de 100 gîtes larvaires (environ 500 m²) à C. quinquefasciatus entre le chlorpyrifos et B. sphaericus souche 2362.

(1): environ 12 \$ pour deux personnes pour un cycle de traitement

(2): environ 30 \$ pour un véhicule pour un cycle de traitement

Les bactéries entomopathogènes présentent l'avantage de pouvoir être produites localement et à bon marché par utilisation de milieu de culture à base de déchets animaux et végétaux, disponibles sur place (Hertlein et al., 1981 ; Obeta et Okafor, 1983 et 1984 ; Dharmsthiti et al., 1985). Soulignons à ce propos que la suspension concentrée peut être produite industriellement et que des essais à grande échelle devraient être réalisés prochainement.

La lutte larvicide contre C. quinquefasciatus doit donc tenir compte non seulement des performances des insecticides dans les gîtes larvaires (concentrations, rémanence), mais également de certains critères tels que le coût, la toxicité ou les perspectives de résistance vis à vis des composés utilisés.

Par conséquent, l'instauration d'une campagne de lutte contre ce moustique en milieu urbain nécessite une étude préalable afin de choisir le ou les insecticides les mieux adaptés à la situation.

La suspension concentrée de B. sphaericus 2362 et le

concentré émulsifiable de l'OMS 3019 semblent d'ores et déjà pouvoir être opérationnels et pourraient renforcer dans un proche avenir l'arsenal des insecticides utilisés pour la lutte contre C. quinquefasciatus en milieu tropical.

CHAPITRE VI

DISCUSSION GENERALE

La diversité des insectes et des larvicides que nous avons étudiés au cours de ce travail offre l'occasion d'émettre quelques considérations d'ordre général sur l'évaluation de l'efficacité des insecticides en santé publique.

Nous aborderons ainsi successivement les différents problèmes et obstacles auxquels nous avons été confrontés au cours de cette étude, avant, pendant et après l'évaluation de l'efficacité d'un nouveau composé.

1. PROBLEMES SOULEVES AVANT L' EVALUATION DE L' EFFICACITE D' UN COMPOSE

Avant d'entreprendre l'évaluation de l'efficacité de quelque insecticide et formulation que ce soit, il convient de se placer dans les conditions possibles d'utilisation, qui dépendent essentiellement des contraintes épidémiologiques imposées par l'insecte cible.

1. 1. Réalisme d' une évaluation

Nous n'avons pas traité de la lutte antilarvaire contre Anopheles gambiae: celle-ci est difficilement envisageable en Afrique de l'Ouest, compte-tenu de la multiplicité et du caractère souvent temporaire des gîtes préimaginaux.

Il ne faudrait pas cependant refuser systématiquement ce genre d'étude qui pourrait s'avérer, dans certains contextes éco-épidémiologiques, digne d'intérêt.

Par exemple:

- à la Grande Comore, les gîtes larvaires à A. gambiae se rencontrent essentiellement dans des citernes, dans des bassins d'ablutions ou dans des fûts métalliques servant au stockage de l'eau de boisson (Brunhes, 1978). Par conséquent, cette caractéristique écologique en milieu insulaire, permettrait d'envisager raisonnablement une lutte antilarvaire associée aux mesures adulticides (pulvérisations intradomiciliaires), chimioprophylactiques (antipaludiques) et thérapeutiques habituellement utilisées.

- en Inde, à Bombay, la lutte contre le paludisme en milieu urbain

repose en partie, depuis de nombreuses années, sur des mesures antilarvaires très efficaces contre les larves d'Anopheles stephensi, dont les gîtes principaux sont constitués par des citernes, fontaines ou bassins de jardins publics (in Rao, 1984).

C'est pourquoi nous avons entrepris récemment, en Afrique de l'Ouest, et bien qu'A. gambiae ne se prête pas, dans cette région, au traitement larvicide, des études préliminaires sur le comportement de formulations de B. thuringiensis H-14 (Hougard et al., 1983a) et de B. sphaericus (Nicolas et al., 1986). Des essais à plus grande échelle ne sont pas envisageables dans cette région. Cependant les résultats de cette évaluation contribueront peut-être à son utilisation ponctuelle dans des situations privilégiées telles que celles mentionnées précédemment.

1. 2. Limitation dans le choix des insecticides

La prise en considération de certains facteurs limite considérablement le choix des nouveaux composés susceptibles d'être testés dans les conditions naturelles:

- la sensibilité du vecteur à l'insecticide.

C'est le principal facteur limitant, notamment quand il s'agit de composés à spectre d'activité très réduit. Ainsi les différentes souches de B. sphaericus que nous avons testées n'ont été évaluées que sur les larves de C. quinquefasciatus, puisqu'elles ne présentent qu'une toxicité faible, voire nulle, sur les larves d'A. aegypti ou de S. damnosum s.l.

- La toxicité des insecticides sur la faune non-cible et les mammifères

Elle limite parfois d'entrée de jeu leur évaluation sur le terrain, plus particulièrement quand les gîtes préimaginaux sont constitués par des réservoirs d'eau de boisson. Dans cette étude, le traitement des canaris, gîtes larvaires à A. aegypti, par un insecticide autre que le téméphos, ne laisse actuellement pas d'autre alternative que B. thuringiensis H-14 (cf chapitre IV) et interdit par exemple l'utilisation des analogues de régulateurs de croissance, dont les tests d'innocuité ne sont pas encore suffisamment avancés et dont l'action tardive ne convient pas, en cas d'épidémie, à la destruction d'un vecteur de maladie de nature épidémique.

A la Grande Comore, le problème se pose également dans la mesure où les larves d'A. gambiae vivent essentiellement dans des réservoirs d'eau à usage domestique (cf 1. 1.).

Plus indirectement, il est parfois difficile de traiter les gîtes pollués avec des composés toxiques, si l'eau traitée peut entrer en contact avec des points d'eau de boisson: dans le cas particulier de Mayotte, Subra et Hébrard (1975) émettent l'hypothèse d'une infiltration possible, dans certaines conditions, de l'eau des latrines dans la nappe phréatique sous-jacente.

- les perspectives de résistance

Les possibilités de résistance croisée avec des composés appartenant à une même famille insecticide peuvent compromettre l'utilisation de telles molécules pour une utilisation à grande échelle. Le programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest fournit un bon exemple de l'orientation des recherches vers des composés ne présentant pas, à priori, des perspectives de résistance croisée avec le téméphos, tels les agents de lutte biologique ou les analogues de régulateurs de croissance (cf chapitre III).

- les exigences écologiques

Les exigences écologiques des vecteurs limitent également le choix des insecticides. Ainsi, par exemple, la lutte contre l'onchocercose, dans le cadre du programme OCP, compromet l'utilisation d'adulticides (cf avant propos) tandis que la lutte contre A. gambiae en Afrique de l'Ouest compromet l'utilisation de larvicides (cf 1.1.).

2. PROBLEMES SOULEVES PENDANT L' EVALUATION DE L' EFFICACITE D' UN COMPOSE

2.1. Problèmes de méthodologie

Outre la contribution à la sélection de nouveaux composés utilisables en santé publique, ce travail permet de souligner les difficultés rencontrées parfois au niveau méthodologique de par la nature même des gîtes larvaires ou du mode d'action de l'insecticide.

- nature des gîtes larvaires

La nature des gîtes larvaires conditionne les techniques

d'évaluation en milieu naturel des larvicides, notamment quand il s'agit de tester un grand nombre de composés. Elle oblige parfois à recourir à des dispositifs d'évaluation à échelle réduite souvent difficiles à réaliser dans les conditions locales: les larvicides antisimulidiens ne peuvent par exemple être testés directement dans les rivières pour des raisons évidentes de logistique et doivent passer par une étape intermédiaire qui permet de sélectionner les produits les plus efficaces (cf 2.1. chapitre II).

- mode d'action de l'insecticide

Pour les insecticides à toxicité retardée (régulateurs de croissance), le protocole d'évaluation doit faire intervenir une méthodologie plus élaborée dans la mesure où il faut suivre le développement des stades préimaginaux jusqu'à l'émergence des adultes (ex. des "pianos" pour les larves de simuliés - cf 2.1. chapitre II).

2. 2. Problèmes de formulation des insecticides

Qu'il s'agisse de la lutte antilarvaire contre les simuliés ou les moustiques, nous avons constaté au cours de cette étude que la toxicité intrinsèque de l'insecticide vis-à-vis de la cible n'était pas le seul critère de sélection d'un composé et que la formulation, qui permet le mieux de mettre le produit toxique à disposition de la cible, jouait un rôle primordial sur l'avenir d'un composé.

Dans les gîtes préimaginaux à simuliés, Guillet (1985) souligne l'importance du choix des formulations en fonction des qualités physico-chimiques de l'eau, du comportement trophique des larves ou encore des contraintes liées à leur utilisation opérationnelle (cf 1. chapitre III).

Dans les gîtes préimaginaux à moustiques, la formulation conditionne la rémanence de l'insecticide qui doit se maintenir le plus longtemps possible dans la zone de nutrition des larves. Ainsi, nous avons mis en évidence dans le chapitre V les inconvénients d'une sédimentation trop rapide de la matière active dans les gîtes à C. quinquefasciatus et les améliorations éventuelles que pourrait apporter une formulation mieux adaptée.

2. 3. Qualités physico-chimiques de l'eau des gîtes

Les qualités physico-chimiques de l'eau peuvent avoir un rôle important sur l'efficacité d'une formulation:

Nous avons constaté que les eaux polluées avaient un effet plutôt favorable sur les insecticides chimiques (adsorption de la matière active sur les particules en suspension) et plutôt défavorable sur les formulations particulières (phénomène de compétition trophique).

Le même phénomène se retrouve dans les écosystèmes lotiques où la turbidité de l'eau dans la rivière peut modifier les concentrations opérationnelles: en saison sèche, le téméphos est utilisé à la dose de 0.1 mg/l/10 mn (eau peu chargée en matière en suspension) et à 0.05 mg/l/10 mn en saison des pluies (turbidité élevée). Dans le chapitre III (cf 2.2.2.), nous avons mis également en évidence le cas particulier d'une rivière de Côte d'Ivoire où la prolifération d'algues microscopiques, favorisée par des conditions physico-chimiques particulières, avait un effet négatif sur l'efficacité des formulations de B. thuringiensis H-14.

3. PROBLEMES RENCONTRES APRES L' EVALUATION DE L' EFFICACITE D' UN COMPOSE

Un composé sélectionné lors d'un essai à échelle réduite dans les conditions naturelles peut se heurter par la suite à un certain nombre d'obstacles souvent inattendus. A titre d'exemple, nous rappellerons trois événements survenus à l'issue de l'évaluation de l'efficacité de composés testés dans cette étude.

- Difficultés de production industrielle d'une formulation expérimentale

L'industrie doit être en mesure de produire en grandes quantités des formulations expérimentales tout en gardant leur qualité tant au point de vue de leurs caractéristiques physiques que de leur efficacité. Ainsi, telle suspension concentrée de B. thuringiensis H-14 n'a pas donné, sur S. damnosum, les résultats escomptés lors des essais à grande échelle.

- Difficultés économiques

Des facteurs d'ordre économique jouent parfois un rôle important dans l'avenir d'un composé: ainsi par exemple, telle firme a retiré de la fabrication une formulation très prometteuse sur les simules afin de ne pas hypothéquer la production d'une autre formulation dont les investissements n'auraient pas permis d'atteindre le seuil de rentabilité (cf 2.2.1. chapitre III).

- Influence du comportement humain

Lors de nos missions en pays N'Gain en Côte d'Ivoire (cf. chapitre IV), nous avons constaté combien il était difficile de traiter les canaris, gîtes larvaires à A. aegypti: malgré nos recommandations, un certain nombre de villageois vidaient systématiquement l'eau traitée et rinçaient même parfois les canaris.

Le même comportement a été observé lors du traitement des puisards et fosses septiques dans la ville de Bouaké: quelques-uns d'entre eux étaient régulièrement vidangés peu après notre passage, sans doute en souvenir des anciennes mesures de pénalisation qui furent appliquées, jusqu'à l'indépendance, par les services d'hygiène.

4. CONCLUSIONS

Les quelques éléments de réflexion énumérés dans ce chapitre et récapitulés dans le schéma de la fig. 15, n'ont pas la prétention d'être exhaustifs, mais contribueront, nous l'espérons, à donner une idée des difficultés et des barrières rencontrées depuis l'évaluation d'un nouveau composé jusqu'à son utilisation opérationnelle dans un programme de lutte.

L'avenir de la lutte antivectorielle à l'aide d'insecticides, chimiques ou biologiques, nécessite l'évaluation d'un grand nombre de composés sur le terrain. Cette condition s'avère cependant de plus en plus difficile à remplir dans la mesure où peu de produits nous parviennent et compte-tenu du nombre de plus en plus réduit d'équipes travaillant dans ce domaine.

Stimuler les firmes et centres de recherche dans la synthèse de nouvelles molécules (ou la recherche de nouveaux agents pathogènes) devient donc la principale priorité de la lutte antivectorielle en santé publique: Quélenec (comm. pers.) signale que la division des pesticides de l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO/VBC) n'a reçu en 1985 que 5 nouvelles molécules à tester.

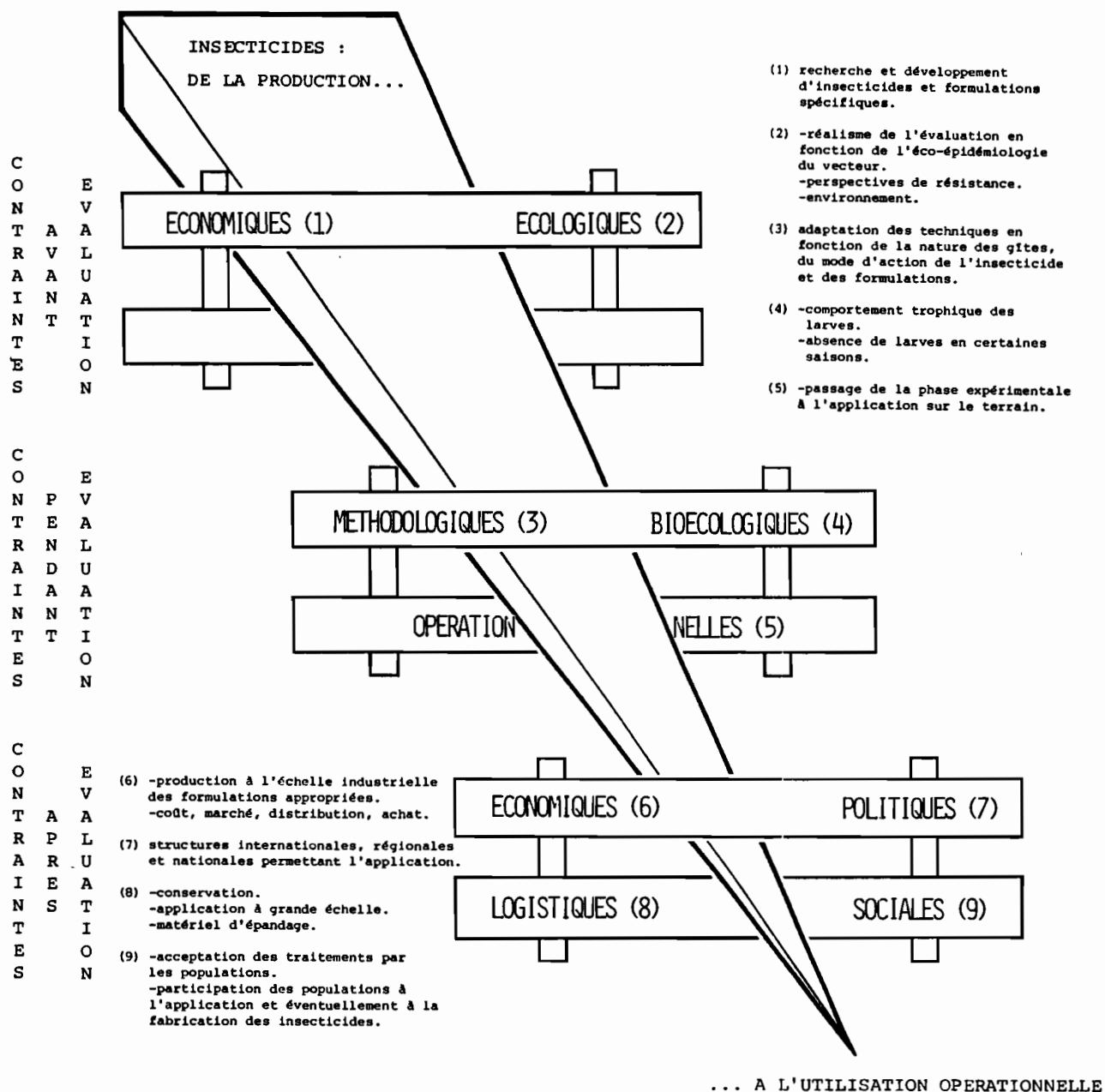


Fig. 15: Schéma récapitulatif des principales contraintes rencontrées avant, pendant et après l'évaluation de l'efficacité de nouveaux insecticides en santé publique.

CHAPITRE VII

CONCLUSIONS GENERALES

S. damnosum s.l., A. aegypti et C. quinquefasciatus ont en commun de pouvoir être combattus efficacement au niveau larvaire et d'être résistants, contrairement à d'autres vecteurs, à certains insecticides chimiques couramment utilisés en santé publique.

La lutte contre ces vecteurs doit faire appel, par conséquent, à de nouvelles substances et si possible à de nouvelles familles d'insecticides dont les principes toxiques ou les mécanismes d'action soient différents d'autres insecticides, ceci afin de diminuer les risques de résistance croisée avec des composés analogues.

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris l'évaluation de deux bactéries entomopathogènes ainsi que de composés analogues de régulateurs de croissance dont les caractéristiques répondaient, à priori, le mieux aux diverses contraintes imposées par les problèmes actuels ou potentiels de résistance. D'autres paramètres, tels que la contamination de l'environnement, la toxicité sur les mammifères ou encore le coût des traitements ont été pris en considération.

1. FORMULATIONS SELECTIONNEES

Ce travail a permis de discuter des difficultés rencontrées avant, pendant et après l'évaluation de chaque composé et de souligner l'importance de tester un grand nombre de formulations afin d'espérer sélectionner la plus adaptée aux conditions imposées par chaque vecteur.

C'est ainsi que sur plus de 200 formulations de B. thuringiensis H-14, 3 souches de B. sphaericus (15 formulations) et 6 composés régulateurs de croissance (11 formulations) évalués à échelle réduite, seuls trois d'entre eux ont donné des résultats suffisamment encourageants pour espérer atteindre dans un proche avenir le stade de l'utilisation opérationnelle dans un programme de lutte antivectorielle:

- B. thuringiensis H-14

Si les résultats de l'évaluation à échelle réduite se sont avérés décevants pour la lutte contre C. quinquefasciatus et A. aegypti, ils ont été beaucoup plus prometteurs contre les larves de S. damnosum: une suspension concentrée, le Teknar HPD, est en passe de remplacer avantageusement l'ancienne formulation utilisée

depuis plus de cinq ans par le programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest (cf 2.3. chapitre III).

- B. sphaericus

Peu ou pas toxique contre les larves de S. damnosum et d'A. aegypti, une suspension concentrée de la souche 2362, le BSP 1, a donné sur les larves de C. quinquefasciatus des résultats suffisamment encourageants pour que cette formulation puisse espérer atteindre le stade de l'utilisation opérationnelle, notamment dans les zones où ce moustique est résistant à la plupart des insecticides chimiques habituellement utilisés (cf 5. chapitre V). Des essais à grande échelle, projetés dans plusieurs agglomérations tropicales, devraient permettre de tirer, dans un proche avenir, des conclusions définitives sur l'avenir de cet agent de lutte biologique.

- Analogues de régulateurs de croissance

Parmi les nombreuses molécules et formulations testées sur moustiques et simules, un concentré émulsifiable de l'OMS 3019 (juvénoïde) a donné dans des gîtes larvaires à C. quinquefasciatus des résultats supérieurs à tous ceux enregistrés jusqu'à présent avec les autres insecticides chimiques (cf 4. chapitre IV). Dans la mesure où cette formulation serait productible industriellement et à un prix compétitif, ce juvénoïde pourrait être un candidat prometteur pour la lutte contre C. quinquefasciatus dans les eaux polluées.

2. RECOMMANDATIONS

Compte-tenu du faible nombre de formulations retenues, un effort important doit être fourni à tous les niveaux de l'évaluation, depuis la synthèse de la molécule (ou la découverte de l'agent entomopathogène) jusqu'à son utilisation opérationnelle:

- Industrie et centres de recherche

Nous avons mis l'accent dans le chapitre précédent sur l'importance de stimuler l'industrie et les centres de recherche pour la synthèse ou la recherche de nouveaux agents de lutte, chimiques ou biologiques: le marché des insecticides en santé publique étant a priori beaucoup moins rentable qu'en agriculture, il faudrait intensifier les contacts avec l'industrie afin que celle-ci évalue l'importance des problèmes sanitaires dans le contexte économique, l'impact financier des recherches à mener, mais aussi les retombées possibles sur le plan de la promotion de travaux de prestige bien qu'économiquement et

immédiatement peu rentables.

La participation sur le terrain de l'industrie est également à encourager notamment pour adapter les formulations (le plus souvent agricoles) aux problèmes spécifiques posés par les vecteurs. Ainsi dans le cas du programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest, des "formulateurs" insecticides ont fréquemment participé aux essais en rivière, observant le comportement des formulations dans l'eau courante et contribuant ainsi à leur amélioration.

En ce qui concerne cette étude, l'exemple pourrait être suivi dans le cas de la lutte antilarvaire contre certains moustiques vecteurs afin de montrer les différents problèmes qui surviennent lors de telles expérimentations (sédimentation de la matière active, influence de la pollution, comportement humain ...).

- Evaluation au laboratoire

Avant de parvenir au stade de l'évaluation dans les conditions naturelles, les différents composés doivent satisfaire à un certain nombre de normes de toxicité et faire l'objet au laboratoire de tests de sensibilité sur les différents vecteurs.

A cette fin, l'Organisation Mondiale de la Santé a mis sur pied, dès 1960, un programme d'évaluation des insecticides (WHOPES), comprenant une série d'essais, réalisées dans des centres collaborateurs, où les composés ne sont admis au stade suivant que s'ils satisfont aux exigences du stade antérieur (cf 1. chapitre II).

Par conséquent, l'effort de recherche entrepris par l'industrie ne pourra être profitable que s'il est poursuivi au niveau de ces centres, afin de disposer, avant l'évaluation des nouveaux composés sur le terrain, du maximum d'informations les concernant.

- Evaluation sur le terrain

L'évaluation à échelle réduite d'un nombre croissant de formulations doit consacrer une partie importante de la recherche à la mise au point de méthodologies de plus en plus performantes permettant de fournir, dans un minimum de temps, des résultats extrapolables à grande échelle. Nous avons souligné dans cette étude (cf 2. chapitre II), l'importance d'un tel travail et les difficultés rencontrées selon le mode d'action de l'insecticide et l'écologie de tel ou tel vecteur.

Toutefois, ce travail ne peut être entrepris qu'à la condition de disposer de matériel biologique en quantité suffisante. Ainsi en Côte d'Ivoire, l'augmentation des capacités d'évaluation des larvicides antismulidiens se heurte actuellement à un problème de disponibilité des gîtes larvaires, compte-tenu de l'aire de répartition d'OCF et des prochaines extensions territoriales du programme.

C'est pourquoi l'évaluation des insecticides à échelle réduite doit prendre en considération le choix de la zone d'étude, préalable indispensable à tout effort de recherche dans ce domaine.

3. PERSPECTIVES DE RECHERCHES

Si la sélection de formulations, telle que nous l'avons réalisée dans ce travail, représente une partie importante de l'évaluation des insecticides, elle ne doit pas négliger pour autant des domaines de recherches plus approfondies dont les résultats pourraient à l'avenir élargir le rôle de ces composés dans un programme de lutte antivectorielle. Nous mentionnerons dans ce paragraphe trois sujets possible de recherches auxquels nous avons été plus ou moins directement confrontés lors de cette étude.

- lutte biologique

Bien que le recyclage de B. sphaericus ait été mis en évidence au laboratoire et sur le terrain par de nombreux auteurs, il est peu probable que celui-ci joue un rôle important dans les conditions naturelles (cf 2.4.2. chapitre V).

Cependant, ce phénomène biologique et, plus généralement, l'utilisation de parasites dans la lutte antivectorielle, mériterait des recherches plus approfondies et plus diversifiées non seulement sur d'autres bactéries tels que B. thuringiensis H-14 (Aly, 1985) mais également sur d'autres agents de lutte biologique tels que des champignons, microsporidies, virus ou nématodes (Jaronsky et Artell, 1982 ; WHO, 1984c).

C'est à cette condition seulement que la lutte biologique, au sens strict du terme, peut espérer s'intégrer aux diverses méthodes de lutte actuellement utilisées en santé publique.

- influence des doses subléthales

De nombreux travaux, réalisés notamment chez les Anophèles, tendent à démontrer que les insecticides utilisés à des doses subléthales pourraient intervenir sur la physiologie de l'insecte en perturbant par exemple les fonctions de reproduction ou les capacités vectrices de l'insecte (Bitsindou, 1983 ; Noireau et Karch, 1983 ; Elissa et al., 1986).

Ces travaux sont restés pour la plupart au stade de l'expérimentation de laboratoire. Il serait peut-être intéressant de les poursuivre sur le terrain afin de mesurer l'impact réel d'un tel

phénomène dans les conditions naturelles, notamment dans le cas des sous-dosages lors des campagnes de lutte antilarvaire.

D'un point de vue technique, ces recherches nécessiteraient la mise au point de protocoles d'étude plus complexes que ceux habituellement utilisés lors des évaluations classiques. Cependant, l'expérience acquise avec les analogues de régulateurs de croissance, tant sur les similies que sur les moustiques, a montré qu'il était relativement aisé de mettre en observation des adultes, traités à l'état larvaire dans les gîtes préimaginaux.

Compte-tenu des difficultés d'élevage des similies, il semble difficile actuellement de mesurer l'impact des doses subléthales sur ces insectes. En revanche, leur évaluation sur les moustiques semble à priori plus réaliste, notamment dans les zones de haute endémicité filarienne où il serait possible d'avoir recours à des études expérimentales de la transmission.

- résistance aux insecticides

Nous avons insisté tout particulièrement au cours de cette étude sur les conséquences de l'apparition d'une résistance aux insecticides, lors des traitements opérationnels. Si la recherche de nouveaux composés est actuellement le moyen le plus sûr de pallier ce phénomène, une meilleure compréhension des mécanismes génétiques de la résistance pourrait permettre de mieux gérer l'utilisation des insecticides dans un programme de lutte antivectorielle.

Dans le cas de S. damnosum s.l., il est très difficile de réaliser de telles études dans la mesure où ces espèces sont actuellement impossibles à coloniser. C'est ainsi que la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest repose sur une stratégie empirique d'utilisation des larvicides antisimulidiens, basée sur l'alternance des composés en fonction des données acquises sur le terrain: pression de sélection, résistance croisée, phénomènes de réinvasion, nature des populations traitées (Guillet, 1985).

Dans le cas des moustiques et notamment de C. quinquefasciatus, les nombreux travaux réalisés sur le terrain et au laboratoire sur les mécanismes génétiques de la résistance (Pasteur, 1977 ; Georghiou et al., 1980 ; Curtis et al., 1984 ; Magnin, 1985) encouragent à poursuivre les recherches dans ce domaine, notamment dans les agglomérations d'Afrique tropicale où ce moustique est résistant à la plupart des insecticides chimiques habituellement utilisés.

4. ROLE DE LA LUTTE ANTIVECTORIELLE

La lutte antivectorielle au moyen d'insecticides reste, pour la plupart des maladies à vecteurs, une arme efficace pour réduire la transmission de l'agent pathogène.

Pour reprendre les exemples de l'onchocercose, de la fièvre jaune et de la filariose de Bancroft, la lutte antilarvaire s'avère particulièrement performante sinon en toutes circonstances, du moins dans un contexte épidémiologique bien particulier:

- le programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest repose uniquement sur une lutte antilarvaire dont les résultats ont eu pour effet, après dix ans de traitement ininterrompu, de supprimer la transmission dans 90% de l'aire du programme;

- en cas d'épidémie, la transmission interhumaine de la fièvre jaune impose une élimination immédiate des vecteurs par une lutte adulticide (pulvérisation intra-domiciliaires, traitements aériens à très faible volume) associée à une lutte larvicide appropriée (cf chapitre IV);

- en Afrique de l'Est, la lutte contre la filariose de Bancroft repose sur le traitement des gîtes larvaires à C. quinquefasciatus.

La recherche pharmaceutique est en passe de mettre au point des médicaments ou même des vaccins qui dans les années à venir seront utilisés avec succès pour la lutte contre les maladies non seulement virales mais aussi parasitaires.

Ainsi par exemple, pour l'onchocercose, un nouveau composé, l'Ivermectine, possède un effet microfilaricide par voie orale en dose unique entraînant une réduction très importante de la transmission par le vecteur jusqu'à 17 mois après le traitement (Prod' hon et al., 1986).

Cependant, au cas où ces médicaments seraient utilisés avec succès, ils ne devraient pas rayer les insecticides de l'arsenal des moyens de lutte: la mise au point du vaccin anti-amaril n'a pas empêché pour autant les épidémies de fièvre jaune, faute de campagne systématique de vaccination.

Les problèmes d'accès aux populations, de surveillance médicale, de manque de médicaments et autres problèmes de logistique nous incitent à penser que la lutte antivectorielle, même si elle se révèle parfois difficile, reste l'arme la plus performante à disposition des hygiénistes.

Comme le souligne Le Berre (1985), la lutte antivectorielle de demain reposera sur un concept de lutte intégrée, mettant en oeuvre au niveau local, des méthodes telles que la lutte chimique, la lutte

biologique et l'aménagement de l'environnement. Ces moyens de lutte devant être simples pour être applicables par les communautés rurales, il est évident que leur conception, leur développement et leur évaluation seront complexes et nécessiteront l'utilisation de technologies avancées. En conséquence, il s'établira une nécessaire collaboration entre les chercheurs de laboratoire et les entomologistes de terrain. Ces derniers étant déjà en partie des entomologistes nationaux, il conviendra de renforcer leurs effectifs et de compléter leur formation afin qu'ils puissent prendre en charge, à l'avenir, les problèmes inhérents à la lutte contre les maladies à vecteurs dans leur propre pays.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott (W.S.), 1925. - A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol., 18: 265-267.
- Ali (A.), 1981. - Bacillus thuringiensis serovar. israelensis (ABG-6108) against chironomids and some non-target aquatic invertebrates, J. Invertebr. Pathol., 38: 264-272.
- Ali (A.), Baggs (R.D.) et Stewart (J.P), 1981. - Susceptibility of some Florida chironomids and mosquitoes to various formulations of Bacillus thuringiensis serovar. israelensis. J. Econ. Entomol., 74: 672-677.
- Ali (A.) et Mulla (M.S.), 1978. - Effects of chironomid larvicides and diflubenzuron on nontarget invertebrates in residential-recreational lakes. Environ. Entomol., 7: 21.
- Aly (C.), 1985. - Germination of Bacillus thuringiensis var. israelensis spores in the gut of Aedes larvae (Diptera: Culicidae). Journal of Invertebrate Pathology, 45(1): 1-8.
- Aminah (S.), Mathis (H.L.) et Seregeg (I.G.), 1981. - Persistence of two insect development inhibitors in domestic water containers in Jakarta, Indonesia. Doc. Miméo. non publié WHO/VBC/81.832, 7 p.
- Aphale (R.V.), Vittal (M.) et Deobhankar (R.B.), 1984. - Field trials of Bacillus thuringiensis serotype H-14 (isolate VCRC B.17), on Culex quinquefasciatus and Anopheles larvae in Pune City, Maharashtra (India). Pesticides, 18(4): 24-29.
- Awad (T.I.) et Mulla (M.S.), 1984. - Morphogenetic and histopathological effects of the insect growth regulator cryomazine in larvae of Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology, 21(4): 427-431.
- Artell (R.C.), Rutz (D.A.) et Edwards (T.D.), 1980. - Field tests of insecticides and insect growth regulators for the control of Culex quinquefasciatus in anaerobic animal waste lagoons. Mosquito News, 40(1): 36-42.
- Balaraman (K.), Balasubramanian (M.) et Jambulingam (P.), 1983. - Field trial of Bacillus thuringiensis H-14 (VCRC B-17) against Culex and Anopheles larvae. Indian J. Med. Res., 77: 38-43.
- Balaraman (K.) et Hoti (S.L.), 1984. - Impact of storage period and temperature on the larvicidal activity of bacterial pesticide formulations. Indian Journal of Medical research, 80(July): 71-73.

- Bang (Y. H.), Sabuni (I. B.) et Tonn (R. J.), 1975. - Integrated control of urban mosquitoes in Dar es Salaam using community sanitation supplemented by larviciding. E. Afr. med. J., 52: 578-588.
- Bang (Y. H.), Tonn (R. J.) et Jatanasen (S.), 1969. - Pilot studies of OMS-786 (Abate) as a larvicide for control of Aedes aegypti in Bangkok, Thailand. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/69.164, 13 p.
- Barjac (H. de), 1978a. - Une nouvelle variété de Bacillus thuringiensis très toxique pour les moustiques: Bacillus thuringiensis var. israelensis, sérotype H-14. C. R. Acad. Sc. Paris, 286: 787-800.
- Barjac (H. de), 1978b. - Toxicité de Bacillus thuringiensis var. israelensis pour les larves d'Aedes aegypti et d'Anopheles stephensi. C. R. Acad. Sc. Paris, 286: 1175-1178.
- Barjac (H. de), 1979. - Note on the preparation of a reference formulation IPS-78 for the bioassay of experimental and industrial formulations of Bacillus thuringiensis serotype H-14. Doc. miméo. non publié, WHO/VBC/79.741, 6p.
- Barjac (H. de) et Bonnefoi (A.), 1973. - Mise au point sur la classification des Bacillus thuringiensis. Entomophaga, 18: 5-17.
- Barjac (H. de) et Charles (J. F.), 1983. - Une nouvelle toxine active sur les moustiques, présente dans les inclusions cristallines produites par Bacillus sphaericus. C. R. Acad. Sc. Paris, 296 série III: 905-910.
- Barjac (H. de) et Coz (J.), 1979. - Sensibilité comparée de six espèces différentes de moustiques à Bacillus thuringiensis var. israelensis. Bull. Org. mond. Santé, 57: 139-141.
- Barjac (H. de) et Larget-Thiéry (I.), 1984. - Characteristics of IPS 82 as standard for biological assay of Bacillus thuringiensis H-14 preparations. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/84.892, 10 p.
- Barjac (H. de), Larget (I.), Bénichou (L.), Cosmao (V.), Viviani (G.), Ripouteau (H.) et Papion (S.), 1980a. - Tests d'innocuité sur mammifères avec du sérotype H-14 de Bacillus thuringiensis. Doc. miméo. non publié, WHO/VBC/80.761, 23 p.
- Barjac (H. de), Larget (I.), Cosmao (V.), Bénichou (L.) et Viviani (G.), 1979. - Innocuité de Bacillus sphaericus, souche 1593, pour les mammifères. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/79.731, 20 p.

- Barjac (H. de), Larget-Thiéry (I.), Cosmao Dumanoir (V.) et Ripouteau (H.), 1985. - Serological classification of Bacillus sphaericus strains on the basis of toxicity to mosquito larvae. Appl. Microbiol. Biotechnol., 21: 85-90.
- Barjac (H. de), Véron (M.) et Cosmao Dumanoir (V.), 1980b.
- Caractérisation biochimique et sérologique de souches de Bacillus sphaericus pathogènes ou non pour les moustiques. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 131(B): 191-201.
- Basu (P. C.), 1967. - Notes relatives à la méthodologie de l'évaluation épidémiologique. Doc. miméo. non publié WHO/FIL/67.72, 7 p.
- Bellec (C.), 1984. - Les techniques et méthodes de récoltes des adultes des espèces du complexe Simulium damnosum. Application à l'échantillonnage, la biologie et l'écologie des vecteurs, l'épidémiologie de l'onchocercose et la lutte antivectorielle. Thèse Doct. Etat, Univ. Paris Sud, 310 p.
- Bitsindou (P.), 1983. - Impact des traitements insecticides sur la transmission du paludisme et sa morbidité dans un village des environs de Brazzaville. Thèse de doctorat de 3ème cycle. Université Paris Sud, 101 p.
- Blacklock (D. B.), 1926. - The further development of O. volvulus Leuckart in S. damnosum. Ann. trop. Med. Parasit., 20: 203-218.
- Bonnefoi (A.) et Barjac (H. de), 1963. - Classification des souches du groupe Bacillus thuringiensis par la détermination de l'antigène flagellaire. Entomophaga, 8: 223-229.
- Bourgouin (C.) et Barjac (H. de), 1980. - Evaluation du potentiel de Bacillus sphaericus comme larvicide anti-moustiques. Doc. miméo. non publié, WHO/VBC/80.792, 24 p.
- Bourgouin (C.), Larget-Thiéry (I.) et Barjac (H. de), 1984.
- Efficacy of Dry Powders from Bacillus sphaericus: RB 80, a potent reference preparation for biological titration. J. Invertebr. Pathol., 44: 146-150.
- Breeland (S. G.) et Pickard (E.), 1967. - Field observations on twenty-eight broods of floodwater mosquitoes resulting from controlled floodings of a natural habitat in the Tennessee Valley. Mosq. News, 27: 343-358.
- Brengues (J.), 1975. - La filariose de Bancroft en Afrique de l'Ouest, Mém. ORSTOM, Paris, N° 79: 299 p.
- Brengues (J.), 1978. - Culex pipiens fatigans Wiedmann, en Afrique tropicale: son importance et son contrôle. Méd. trop., 38(6): 691-694.

- Brunhes (J.), 1975. - La filariose de Bancroft dans la sous région malgache (Comores, Madagascar, la réunion). Mém. ORSTOM, Paris, N° 81: 212 p.
- Brunhes (J.), 1978. - Faune entomologique de l'archipel des Comores. Mémoires de Muséum d'Histoire Naturelle, série A, Zoologie, 109: 193-246.
- Burges (H.D.) et Thompson (E.M.), 1971. - Standardisation and assay of microbial insecticides. Microbial control of insects and mites, London, Academic Press.
- Burke jr. (W.F.), McDonald (K.O.) et Davidson (E.W.), 1985. - Effect of UV light on spore viability and mosquito larvicidal activity of Bacillus sphaericus 1593. Applied and Environmental Microbiology, 46(4): 954-956.
- Car (M.) et De Moor (F.C.), 1984. - The response of vaal river drift and benthos to Simulium (Diptera: Nematocera) control using Bacillus thuringiensis var. israelensis (H-14). Onderstepoort J. vet. Res., 51: 155-160.
- Chadee (D.D.), 1984. - An evaluation of temephos in water drums in trinidad, W.I. Mosquito News, 44(1): 51-53.
- Charles (J.F.) et Barjac (H. de), 1981. - Histopathologie de l'action de la delta-endotoxine de Bacillus thuringiensis var. israelensis sur les larves d'Aedes aegypti (Dip.: Culicidae). Entomophaga, 26(2): 203-212.
- Charles (J.F.) et Barjac (H. de), 1982. - Sporulation et cristallogénèse de Bacillus thuringiensis var. israelensis en microscopie électronique. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 133(A): 425-442.
- Cheong (W.C.) et Yap (H.H.), 1985. - Bioassays of Bacillus sphaericus (strain 1593) against mosquitoes of public health importance in malaysia. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 16(1): 54-58.
- Chilcott (C.N.), Kalmakoff (J.) et Pillai (J.S.), 1981. - Biological significance of protease activity in Bacillus thuringiensis var. israelensis crystals. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/81.835, 7 p.
- Chilcott (C.N.), Pillai (J.S.) et Kalmakoff (J.), 1982. - The field effectiveness of Bacillus thuringiensis var. israelensis against blackfly larvae in new zealand. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/82.859, 14 p.

- Colbo (M.E.) et O'Brien (E.), 1984. - A pilot black fly (Diptera: Simuliidae) control program using Bacillus thuringiensis var. israelensis in Newfoundland. Canadian Entomologist, 116(8): 1085-1096.
- Colwell (A.E.) et Schaefer (C.H.), 1978. - Effects of Dimilin on nontarget organisms during a Chaoborus field trial. Proc. Papers Calif. Mosquito Control Assoc., 46: 111.
- Cordellier (R.) et Bouchité (B.), 1982. - Rapport sur l'épidémie de fièvre jaune de la sous-préfecture de M'Bahiakro. Doc. Ronéo. non publié ORSTOM/Institut Pasteur de Cote d'Ivoire, 34 p.
- Cordellier (R.), Germain (M.) et Mouchet (J.), 1974. - Les vecteurs de fièvre jaune en Afrique. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 12(1): 57-75.
- Coz (J.), 1978. - Utilisation de la génétique dans le contrôle des espèces d'insectes vecteurs de maladies humaines. Méd. trop., 38(6): 659-665.
- Coz (J.), 1983. - Bioassays for the evaluation of substances: - Insect growth inhibitors (juvenoids) - Chitin inhibitors (ecdysenoids). Doc. miméo. non publié OCP/PDS/IC/83/08, 2 p.
- Coz (J.), Karch (S.), André (V) et Sannier (C.), 1985. - Bioassays of different strains of Bacillus sphaericus on Culex pipiens larvae. Doc. miméo. non publié ORSTOM, Paris, N°79: 8 p.
- Curtis (C.F.), Keto (A.), Ramji (B.D.) et Iosson (I.), 1984. - Assessment of the impact of chlorpyrifos resistance in Culex quinquefasciatus on a control scheme. Insect. sci. Applic., 5: 263-267.
- Curtis (C.F.) et Pasteur (M.), 1981. - Organophosphate resistance in vector populations of the complex of Culex pipiens L. (Diptera: Culicidae). Bull. ent. Res., 71: 153-161.
- Dagnogo (M.) et Coz (J.), 1982a. - Un insecticide biologique: Bacillus sphaericus. 1. Activité larvicide de Bacillus sphaericus sur quelques espèces et souches de moustiques. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 20(2): 133-138.
- Dagnogo (M.) et Coz (J.), 1982b. - Un insecticide biologique: Bacillus sphaericus. 2. Influence de la température et du temps de contact sur l'activité larvicide de B. sphaericus. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 20(2): 139-144.

- Darriet (F.), Carnevale (P.) et Robert (V.), 1985a. - Laboratory and field evaluation of the activity of an ecdysoid-type insect growth inhibitor, Triflumuron (OMS 2015) on Culex quinquefasciatus, Anopheles gambiae and Aedes aegypti. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/85.916, 16 p.
- Darriet (F.), Robert (V.) et Carnevale (P.), 1985b. - Evaluation en laboratoire et sur le terrain de l'activité larvicide d'un inhibiteur de croissance de type juvénile: l'OMS-3007 sur Culex quinquefasciatus Say, 1823 et Anopheles gambiae s.s. Giles, 1902. Doc. miméo. N° 8.804/85-Doc. tech. OCCGE, 29 p.
- Davidson (E.W.), 1979. - Ultrastructure of midgut events in the pathogenesis of Bacillus sphaericus strain SSII-I infections of Culex quinquefasciatus larvae. Can. J. Microbiol., 25: 178-184.
- Davidson (E.W.), 1983. - Alkaline extraction of toxin from spores of the mosquito pathogen, Bacillus sphaericus strain 1593. Can. J. Microbiol., 29: 271-275.
- Davidson (E.W.), 1985. - Mode of action of Bacillus sphaericus. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/CSP/85.5, 6 p.
- Davidson (E.W.) et Myers (P.), 1981. - Parasporal inclusions in Bacillus sphaericus. FEMS Microbiol. lett., 10: 261-265.
- Davidson (E.W.), Sweeney (A.W.) et Cooper (R.), 1981. - Comparative field trials of Bacillus sphaericus strain 1593 and B. thuringiensis var. israelensis commercial powder formulations. J. Econ. Entomol., 74: 350-354.
- Davidson (E.W.), Urbina (M.), Payne (J.), Mulla (M.S.), Darwazeh (H.), Dulmage (H.T.) et Correa (J.A.), 1984. - Fate of Bacillus sphaericus 1593 and 2362 spores used as larvicides in the aquatic environment. Appl. Environ. Microbiol., 46: 954-956.
- Dejoux (C.), 1979. - Recherches préliminaires concernant l'action de Bacillus thuringiensis israelensis de Barjac sur la faune d'invertébrés d'un cours d'eau tropical. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/79.721, 11 p.
- Dempah (J.), 1979. - Essai de Bacillus thuringiensis israelensis sur les moustiques. Diplôme d'études approfondies, Université PARIS sud. Doc. miméo. ORSTOM, 55 p.
- Dempah (J.) et Coz (J.), 1979. - Essais de Bacillus thuringiensis israelensis sur les moustiques. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/79.719, 10 p.

- Desrochers (B.) et Garcia (R.), 1984. - Evidence for persistence and recycling of Bacillus sphaericus. Mosquito News, 44(2): 160-165.
- Dharmsthiti (S.C.), Pantuwatana (S.) et Bhumiratana (A.), 1985. - Production of Bacillus thuringiensis subsp. israelensis and Bacillus sphaericus strain 1593 on media using a byproduct from a monosodium glutamate factory. J. Invertebr. Pathol., 46: 1-8.
- Don-Pedro (K.W.) et Adegbite (T.O.), 1985. - Nuva resistance in a field strain of Aedes aegypti (L.) in Lagos, Nigeria. Environmental Pollution, A, 38(1): 19-29.
- Dove (R.F.) et Mc Kague (A.B.), 1975. - Effects of insect developmental inhibitors on adult emergence of black flies (Diptera: simuliidae). Can. Ent., 107: 1211-1213.
- Elissa (M.), Sannier (C.) et Richard (A.), 1986. - La réceptivité à Plasmodium yoelii yoelii d'Anopheles soumis à des doses subléthales de deltaméthrine. IV^e Congrès sur la Protection de la Santé Humaine et des Cultures en Milieu Tropical, Marseille, 2-3-4 juillet 1986, 6 p.
- Elsen (P.), 1977. - Méthodes d'échantillonnage des populations préimaginales de Simulium damnosum Théobald, 1903 (Diptera, Simuliidae) en Afrique de l'Ouest. I. Distribution verticale des larves et des nymphes: observations préliminaires. Tropenmed. Parasit., 28: 91-96.
- Escaffre (H.), Hougard (J.M.), Duval (J.), Renaud (P.), Ocran (M.) et Penchenier (L.), 1986. Description of two devices: (A) an artificial support for natural colonization by Simulium damnosum complex larvae and (B) a survival-maintenance device for transport of Simulium larvae by road. Doc. Miméo. non publié WHO/VBC/86.925, 7 p.
- Farlow (J.E.), Breaud (T.P.), Steelman (C.D.) et Schilling (P.E.), 1978. - Effects of the insect growth regulators diflubenzuron on nontarget aquatic population in a louisiana intermediate marsh. Environ. Entomol., 7: 199.
- Faye (O.J.), 1981. - Etude de l'activité larvicide de Bacillus sphaericus sur quelques souches de moustiques. Diplôme d'Etudes Aprofondies, Université Paris 6, ORSTOM, 32 p.
- Finlay (C.J.), 1881. - El mosquito hipoteticamente considerado como agente de transmission de la fiebre amarilla. Ann. Acad. Sci. méd. La Havane, 18: 147-169.
- Finney (D.J.), 1971. - Probit analysis - a statistical treatment of the sigmoid response curve. Cambridge Univ. Press, third edition. London/New York, 333 p.

- Garcia (R.) et Desrochers (B.), 1979. - Toxicity of Bacillus thuringiensis var. israelensis to some californian mosquitoes under different conditions. Mosquito News, 39(3): 541-544.
- Garcia (R.), Desrochers (B.) et Tozer (W.), 1980a. - Studies on the toxicity of Bacillus thuringiensis var. israelensis against organisms found in association with mosquito larvae, Proc. Pap. Calif. Mosq. Vector Contr. Assoc., 48: 33-36.
- Garcia (R.), Federici (B.A.), Hall (I.M.), Mulla (S.) et Schaefer (C.H.), 1980b. - Bacillus thuringiensis var. israelensis - A potent new biological weapon. California agriculture, 34: 17-19.
- Gaugler (R.), Kaplan (B.), Alvarado (C.), Montoya (J.) et Ortega (M.), 1983. - Assessment of Bacillus thuringiensis serotype 14 and Steinernema feltiae (Nematoda: Steinernematidae) for control of the Simulium vectors of onchocerciasis in Mexico. Entomophaga, 28(4): 309-315.
- Georghiou (G.P.), Lin (C.S.) et Pasternak (M.E.), 1974. - Assessment of potentiality of Culex tarsalis for development of resistance to carbamate insecticides and insect growth regulators. Proc. Papers Calif. Mosq. Control Assoc., 42: 117-118.
- Georghiou (G.P.), Pasteur (M.) et Hawley (M.K.), 1980. - Linkage relationships between organophosphate resistance and a highly active esterase-B in Culex quinquefasciatus from California. J. Econ. Ent., 73: 301-305.
- Gibon (F.M.), Elouard (J.M.) et Troubat (J.J.), 1980. - Action du Bacillus thuringiensis var. israelensis sur les invertébrés aquatiques. I. Effets d'un traitement expérimental sur la maraoué. Rapport ORSTOM N°38, 15 p.
- Goldberg (L.J.) et Margalit (J.), 1977. - Potential application of a bacterial spore, ONR-60A to mosquito larval control: demonstrated rapid larval activity against Anopheles sergentii, Uranotaenia unguiculata, Culex univittatus, Aedes aegypti and Culex pipiens (complex). Mosq. News, 37: 355-358.
- Guillet (P.), 1985. - La lutte contre les vecteurs de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest: étude de la résistance et recherche de nouveaux larvicides. Thèse Doct. état, Université Paris-sud, ORSTOM, 444 p.

- Guillet (P.), Dempah (J.) et Coz (J.), 1980. - Evaluation 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. miméo. non publié WHO/VBC/80.756, 9 p.
- Guillet (P.), Doannio (J.), Hougard (J.M.), Escaffre (H.) et Duval (J.), 1985g. - Production de masse d'un agent de lutte biologique, le Bacillus thuringiensis H-14, pour la lutte contre les vecteurs de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., sous presse.
- Guillet (P.) et Escaffre (H.), 1979. - La recherche de nouvelles formulations d'insecticides utilisables contre les larves des vecteurs de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. Congrès sur la lutte contre les insectes en milieu tropical. Marseille, 1979.
- Guillet (P.), Escaffre (H.) et Prud'hom (J.M.), 1982a.
- L'utilisation d'une formulation à base de Bacillus thuringiensis H-14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. I - Efficacité et modalités d'application. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 20(3): 175-180.
- Guillet (P.), Escaffre (H.) et Prud'hom (J.M.), 1982b.
- L'utilisation d'une formulation à base de Bacillus thuringiensis H-14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. II - Stabilité dans les conditions de stockage en milieu tropical. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 20(3): 181-185.
- Guillet (P.), Hougard (J.M.), Doannio (J.), Escaffre (H.) et Duval (J.), 1985a. - Evaluation de l'activité d'un insecticide régulateur de croissance, le diflubenzuron, sur les larves du complexe Simulium damnosum. I- Etude de quelques facteurs conditionnant l'efficacité. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., à paraître.
- Guillet (P.), Hougard (J.M.), Doannio (J.), Escaffre (H.) et Duval (J.), 1985b. - Evaluation de l'activité de cinq insecticides régulateurs de croissance sur les larves du complexe Simulium damnosum. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., à paraître.
- Guillet (P.), Hougard (J.M.), Doannio (J.), Escaffre (H.) et Duval (J.), 1985c. - Evaluation de la sensibilité des larves du complexe Simulium damnosum à la toxine du Bacillus thuringiensis H-14. I. Méthodologie. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 23(4): 241-250.

- Guillet (P.), Hougard (J.M.), Doannio (J.), Escaffre (H.)
et Duval (J.), 1985d. - Evaluation de l'activité d'un
insecticide régulateur de croissance, le diflubenzuron, sur
les larves du complexe Simulium damnosum.
II - Efficacité comparée de quelques formulations et résultats
des essais en rivière. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et
Parasitol., à paraître.
- Guillet (P.), Hougard (J.M.), Doannio (J.), Escaffre (H.)
et Duval (J.), 1985e. - Méthodologie pour tester
l'efficacité des formulations d'insecticides sur les larves
du complexe Simulium damnosum. II. Composés
régulateurs de croissance. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et
Parasitol., à paraître.
- Guillet (P.), Hougard (J.M.), Doannio (J.), Escaffre (H.)
et Duval (J.), 1985f. - Etude de l'activité de l'Avermectine
MK 936 sur les larves des simulies vectrices de l'onchocercose
appartenant au complexe Simulium damnosum.
Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., à paraître.
- Guillet (P.), Hougard (J.M.), Duval (J.) et Escaffre (P.), 1984.
- Rapport préliminaire sur le criblage de nouvelles
formulations de Bacillus thuringiensis H-14 durant la
période mai 1983 - mai 1984. Doc. miméo. OCCGE
N°16/IRTO/Rap/84, 13 p.
- Hamon (J.) et Mouchet (J.), 1967. - La résistance aux insecticides
chez Culex pipiens fatigans Wiedemann.
Bull. Org. mond. Santé, 37: 277-286.
- Hamon (J.), Pichon (G.) et Cornet (M.), 1971. - La transmission du
virus amaril en Afrique occidentale. Ecologie, répartition,
fréquence et contrôle des vecteurs, et observations
concernant l'épidémiologie de la fièvre jaune. Cah. ORSTOM,
sér. Ent. méd. Parasitol., 9(1): 3-60.
- Hannay (C.L.) et Fitz-James (P.C.), 1955. - The protein crystals
of Bacillus thuringiensis Berliner. Can. J.
Microbiol., 1: 694-710.
- Hertlein (B.C.), Hornby (J.), Levy (R.) et Miller Jr. (T.W.), 1980.
- Shelf-life of larvicidal preparations based on the strain
1593 of Bacillus sphaericus. Doc. miméo. non publié
WHO/VBC/80.790, 3 p.
- Hertlein (B.C.), Hornby (J.), Levy (R.) et Miller Jr. (T.W.),
1981. - Prospects of spore forming bacteria for vector
control with special emphasis on their local production
potential. Dev. Ind. Microbiol., 22: 53-60.
- Hertlein (B.C.), Levy (R.) et 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.

- Hervy (J. P.), 1978. - Le contrôle des Aedes (stegomyia) et espèces voisines vecteurs d'arboviroses humaines, en Afrique Tropicale. Méd. trop., 38(6): 685-690.
- Hervy (J. P.) et Kambou (F.), 1978. - Village scale evaluation of Abate for larval control of Aedes aegypti in Upper Volta. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/78.694, 10 p.
- Hornby (J. A.), Hertlein (B. C.), Levy (R) et Miller Jr. (T. W.), 1981. - Persistent activity of mosquito larvicidal Bacillus sphaericus 1593 in fresh water and sewage. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/81.830, 8 p.
- Horosko III (S.) et Noblet (R.), 1983. - Efficacy of Bacillus thuringiensis var. israelensis for control of black fly larvae in South Carolina. Journal of the Georgia Entomological Society, 18(4): 531-537.
- Hoti (S. L.) et Balaraman (K.), 1983. - Stability of virulence in Bacillus sphaericus. Indian J. Med. Res., 77(March): 318-323.
- Hoti (S. L.) et Balaraman (K.), 1984. - Recycling potential of Bacillus sphaericus in natural mosquito breeding habitats. Indian J. Med. Res., 80(July): 90-94.
- Hougard (J. M.) et Coz (J.), 1982. - Titrage biologique d'une suspension de Bacillus thuringiensis sérotype H-14. Doc. miméo. non publié ORSTOM Paris N°29: 16 p.
- Hougard (J. M.), Darriet (F.) et Bakayoko (S.), 1983a. - Evaluation en milieu naturel de l'activité larvicide de Bacillus thuringiensis sérotype H-14 sur Culex quinquefasciatus Say, 1823 et Anopheles gambiae Giles, 1902 s.l. (Diptera: Culicidae) en Afrique de l'Ouest. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 21(2): 111-117.
- Hougard (J. M.), Diarrassouba (S.) et Escaffre (H.), 1983b. - Mise en place de la campagne de lutte contre les vecteurs de l'onchocercose en saison des pluies sur le site du barrage de Manantali (Mali). Doc. miméo. OCCGE N°26/IRTO/Rap/83, 6 p.
- Hougard (J. M.), Doannio (J.), Duval (J.), Escaffre (H.), Guillet (P.), Couret (D.) et Dossou (J.), 1985a. - Criblage de nouvelles formulations de Bacillus thuringiensis H-14 sur les larves du complexe S. damnosum. Doc. miméo. OCCGE N°15/IRTO/Rap/85, 11 p.
- Hougard (J. M.), Kohoun (G.), Guillet (P.), Doannio (J.), Duval (J.) et Escaffre (H.), 1985b. - Evaluation en milieu naturel de l'activité larvicide de Bacillus sphaericus Neide, 1904 souche 1593-4 dans des gîtes larvaires à Culex quinquefasciatus Say, 1823 en Afrique de l'Ouest. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 23(1): 35-44.

- Ignoffo (C.M.), Garcia (C.), Kroha (M.J.), Fukuda (T.) et Couch (T.L.), 1981. - Laboratory tests to evaluate the potential efficacy of Bacillus thuringiensis var. israelensis for use against mosquitoes. Mosquito News, 41(1): 85-93.
- Indian Council of Medical Research, 1977. - Vector Control Research Centre, Pondichery. Doc. miméo. non publié, Annual report: 81-83.
- Jambulingam (P.), Kuriakose (K.M.), Gunasekaran (K.) et Manonmani (A.M.), 1984. - Field evaluation of Bacillus thuringiensis serotype H-14 formulations. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/84.893.
- Jannback (H.) et Frempong-Boadu (J.), 1966. - Testing blackfly larvicides in the laboratory and in streams. Bull. Org. mond. Santé, 34: 405-421.
- Jaronsky (S.T.) et Axtell (R.C.), 1982. - Effects of organic water pollution on the infectivity of the fungus Lagenidium giganteum (Oomycetes: Lagenidiales) for larvae of Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae): field and laboratory evaluation. J. Med. Entomol., 19(3): 255-262.
- Jennings (R.C.), 1983. - Insect hormones and growth regulators. Pestic. Sci., 14: 327-333.
- Kalfon (A.), Larget-Thiéry (I.), Charles (J.F.) et Barjac (H. de), 1983. - Growth, sporulation and larvicidal activity of Bacillus sphaericus. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 18: 168-173.
- Karch (S.), 1984. - Bacillus sphaericus, Agent de lutte biologique contre Culex pipiens Linné, 1758 (Culicidae-Diptera) et contre d'autres moustiques. Thèse doct. Ingénieur, Université Paris sud, ORSTOM, 104 p.
- Karch (S.) et Coz (J.), 1983. - Histopathologie de Culex pipiens Linné (Diptera, Culicidae) soumis à l'activité larvicide de Bacillus sphaericus 1593-4. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 21(4): 225-230.
- Karch (S.) et Coz (J.), 1985. - Etude de l'activité de trois souches de B. sphaericus: 2297(MR4) B.s.40, 2362 B.s.48 et 1593-4 RB80. Doc. miméo. non publié ORSTOM N°66: 8 p.
- Karch (S.) et Coz (J.), 1986. - Recycling of Bacillus sphaericus in dead larvae of Culex pipiens (Diptera, Culicidae). Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 24(1): 41-43.

- Karch (S.), Coz (J.) et Sinègre (G.), 1986. - Contribution à l'étude de la persistance, la viabilité et le devenir des spores de Bacillus sphaericus en tant qu'agent de lutte antimoustiques dans divers milieux aquatiques. IVE congrès sur la protection de la santé humaine et des cultures en milieu tropical, Marseille, 7 p.
- Kellen (W.R.), Clark (T.B.), Lindegren (J.E.), Rogoff (H.B.C.) et Singer (S.), 1965. - Bacillus sphaericus Neide as a pathogen of mosquitoes. J. Invertebr. Path., 7: 442-448.
- Kisida (H.), Hatakoshi (M.), Itaya (N.) et Nakayama (I.), 1984. - New insect juvenile hormone mimics: thiolcarbamates. Agricultural and Biological chemistry. 48(11): 2889-2891.
- Klein (J.M.), Duval (J.), Rivière (F.) et Faarua (M.), 1981. - Evaluation de Bacillus thuringiensis sérotype H-14 de Barjac pour la lutte antilarvaire contre les moustiques de la Polynésie Française. Doc. ronéo. non publié, ORSTOM Papeete, 11 p.
- Krywienczyk (J.) et Fast (P.G.), 1980. - Serological relationships of the crystals of Bacillus thuringiensis var. israelensis. J. invertebr. Path., 36: 139-140.
- Lacey (L.A.) et Federici (B.A.), 1979. - Pathogenesis and midgut histopathology of Bacillus thuringiensis in Simulium vittatum (Diptera: Simuliidae). J. Invertebr. Path., 33: 171-182.
- Lacey (L.A.) et Heitzman (C.M.), 1985. - Efficacy of flowable concentrate formulations of Bacillus thuringiensis var. israelensis against black flies (Diptera: Simuliidae). J. Am. Mosq. Control Assoc., 1(4), 493-497.
- Lacey (L.A.) et Mulla (M.S.), 1977. - A new bioassay unit for evaluating larvicides against blackflies. J. Econ. Ent., 70: 453-456.
- Lacey (L.A.) et Mulla (M.S.), 1978. - Biological activity of diflubenzuron and three new IGRs against Simulium vittatum (Diptera: Simuliidae). J. Amer. mosquito Contrl. Assoc., 38(3): 337-381.
- Lacey (L.A.) et Mulla (M.S.), 1979. - Field evaluation of diflubenzuron against Simulium larvae. J. Amer. Mosquito Contrl. Assoc., 39(1): 86-91.
- Lacey (L.A.), et Undeen (A.H.), 1984. - Effect of formulation, concentration, and application time on the efficacy of Bacillus thuringiensis (H-14) against black fly (Diptera: Simuliidae) larvae under natural conditions. Journal of Economic Entomology, 77(2): 412-418.

- Lacey (L. A.), Urbina (M. J.) et Heitzman (C. M.), 1984. - Sustained release formulations of Bacillus sphaericus and Bacillus thuringiensis (H-14) for control of container-breeding Culex quinquefasciatus. Mosquito News, 44(1): 26-32.
- Larget (I.), 1981. - Etude de la rémanence de Bacillus thuringiensis var. israelensis. Rev. gén. Bot., 88: 33-42.
- Larget (I.) et Barjac (H. de), 1981. - Spécificité et principe actif de Bacillus thuringiensis var. israelensis. Bull. Soc. Pathol. Exot., 74(2): 216-227.
- Larget-Thiéry (I.), 1984. - Simulation studies on the persistence of Bacillus thuringiensis H-14. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/84.906, 8 p.
- Laveissière (C.), Gouteux (J. P.) et Couret (D.), 1980. - Essais de méthodes de lutte contre les glossines en zone pré-forestière de Côte d'Ivoire. 5. Note de synthèse. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 18(4): 323-328.
- Laws (E. R.), Sedlak (V. A.), Miles (J. W.), Romney Joseph (C.), Lacomba (J. R.) et Diaz Riviera (A.), 1968. - Field study of the safety of Abate for treating potable water and observations on the effectiveness of a control programme involving both Abate and Malathion. Bull. Org. mond. Santé, 38: 439-445.
- Lea (A. O.) et Dalmat (H. T.), 1954. - Screening studies of chemicals for larval control of blackflies in Guatemala. J. Econ. Ent., 47: 135-141.
- Le Berre (R.), 1966. - Contribution à l'étude biologique et écologique de Simulium damnosum Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). Mém. ORSTOM, Paris, N°17: 204 p.
- Le Berre (R.), 1985. - L'entomologie de demain: satellites ou papier tue-mouches ? Panorama 2000 (panorama du médecin), 115 - 117.
- Levy (R.), Powell (C. M.), Hertlein (B. C.) et Miller Jr. (T. W.), 1984. - Efficacy of Arosurf MSF (Monomolecular Surface Film) base formulations of Bacillus thuringiensis var. israelensis against mixed populations of mosquito larvae and pupae: bioassay and preliminary field evaluations. Mosquito News, 44(4): 537-543.
- Long (Q. X.) et Liang (Y. J.), 1983. - Production of Bacillus thuringiensis var. israelensis with semi-solid fermentation in open culture. Natural Enemies of Insects, 5(1): 14-17.

- Magnin (M.), Fournier (D.) et Pasteur (M.), 1985. - Mécanismes physiologiques de la résistance des insectes aux insecticides. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 23(4): 273-280.
- Majori (G.) et Ali (A.), 1984. - Laboratory and field evaluation of industrial formulations of Bacillus thuringiensis serovar. israelensis against some mosquito species of central Italy. J. Invertebr. Pathol., 43: 316-323.
- Margalit (J.) et Bobroglo (H.), 1984. - The effect of organic materials and solids in water on the persistence of Bacillus thuringiensis var. israelensis serotype H-14. Zeitschrift fur Angewandte Entomologie, 97(5): 516-520.
- Massie (J.), Roberts (G.) et White (P.J.), 1985. - Selective isolation of Bacillus sphaericus from soil by use of acetate as the only major source of carbone. Appl. Environ. Microbiol., 49(6): 1478-1481.
- Mathavan (S.) et Velpandi (A.), 1984. - Toxicity of Bacillus sphaericus strains to selected target and non-target aquatic organisms. Indian J. Med. Res., 80: 653-657.
- Mathis (H.L.), Ree (H.I.), Jolivet (P.H.A.) et SHIM (J.C.), 1975. - A field trial of the insect growth inhibitors, OMS-1697 (Altosid) and OMS-1804 against Culex pipiens in Seoul, Korea. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/75.494, 5 p.
- McGaughey (W.H.), 1985. - Insect resistance to the biological insecticide Bacillus thuringiensis. Science, 229: 193-195.
- Mc Kague (A.B.), Pridmore (R.B.) et Wood (P.M.), 1978. - Effects of Altosid and Dimilin on Black flies (Diptera: Simuliidae). Laboratory and field tests. Can. Entomologist, 110: 103.
- Mian (L.S.) et Mulla (M.R.), 1983. - Factors influencing activity of the microbial agent Bacillus sphaericus against mosquito larvae. Bull. Soc. Vector Ecol., 8(2): 128-134.
- Miura (T.), Takahashi (R.M.) et Mulligan III (F.S.), 1980. - Effects of the bacterial mosquito larvicide Bacillus thuringiensis serotype H-14 on selected aquatic organisms. Mosq. News, 40(4): 619-622.
- Molloy (D.), Gaugler (R.) et Jamnback (H.), 1981. - Factors influencing efficacy of Bacillus thuringiensis var. israelensis as a biological control agent of black fly larvae. J. Econ. Entomol., 74: 61-64.
- Molly (D.), Wraight (S.P.), Kaplan (B.), Gerardi (J.) et Peterson (P.), 1984. - Laboratory evaluation of commercial formulations of Bacillus thuringiensis var. israelensis against mosquito and black fly larvae. Journal of Agricultural Entomology, 1(2): 161-168.

- Mouchet (J.), 1980. - Lutte contre les vecteurs et nuisances en Santé publique. Encycl. Méd. Chir. (Paris). Maladies infectieuses, 8120 B10 (3-1980).
- Mouchet (J.), Dejardin (J.), Barathe (J.), Sannier (C.) et Sales (S.), 1972. - Doses discriminatives pour la résistance d'Aedes aegypti aux insecticides organophosphorés et étude de quelques éléments susceptibles de modifier les résultats des tests. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 10(1): 77-83.
- Mouchet (J.) et Quiroga (M.), 1976. - la résistance aux insecticides chez les Culicinés. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 14(2): 111-123.
- Muirhead-Thomson (R. C.), 1957. - Laboratory studies on the reaction of Simulium larvae to insecticides.
I. A laboratory method for studying the effects of insecticides on Simulium larvae. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 6: 920-932.
- Mulder (R.) et Gijswijt (M. J.), 1973. - The laboratory evaluation of two promising insecticides which interfere with cuticle deposition. Pestic. Sci., 4: 737-745.
- Mulla (M. S.) et Darwazeh (H. A.), 1975. - Activity and longevity of insect growth regulators against mosquitoes. J. Econ Entomol., 68(6): 791-794.
- Mulla (M. S.), Darwaseh (H. A.), Davidson (E. W.) et Dulmage (H. T.), 1984a. - Efficacy and persistence of the microbial agent Bacillus sphaericus against mosquito larvae in organically enriched habitats. Mosq. News, 44(2): 166-173.
- Mulla (M. S.), Darwaseh (H. A.), Davidson (E. W.), Dulmage (H. T.) et Singer (S.), 1984b. - Larvicidal activity and field efficacy of Bacillus sphaericus strains against mosquito larvae and their safety to non target organisms. Mosq. News, 44(3): 336-342.
- Mulligan III (F. S.), Schaefer (C. H.) et Miura (T.), 1978. - Laboratory and field evaluation of Bacillus sphaericus as a mosquito control agent. J. Econ. Entomol., 71: 774-777.
- Mulligan III (F. S.), Schaefer (C. H.) et 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., 73: 684-688.

- Myers (P. A.), Yousten (A. A.) et Davidson (E. W.), 1979.
- Comparative studies of the mosquito-larval toxin of Bacillus sphaericus SSII-I and 1593. Can. J. Microbiol., 25: 1227-1231.
- Nelson (F. R. S.), Rejali (A.) et Mohamed (A. K.), 1983a.
- Performance of an insect growth regulator on two species of mosquitoes. Journal of the Georgia Entomological Society, 18(3): 359-363.
- Nelson (F. R. S.), Rejali (A.) et Mohamed (A. K.), 1983b.
- Susceptibility of Aedes aegypti and Culex quinquefasciatus to a new insect growth regulator. Journal of the Florida Anti-Mosquito Association, 54(1): 8-10.
- Nelson (G. S.), Heisch (R. B.) et Furlong (M.), 1962. - Studies in filariasis in East Africa. II. Filarial infection in man, animals and mosquitoes on the Kenya Coast. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 56: 202-217.
- Nelson (M. J.), Self (L. S.) et Pant (C. P.), 1976. - Field trials with the insect growth regulator O. M. S. 1697 (Altosid, methoprene) against Culex pipiens fatigans in Jakarta, Indonesia. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/76.604.
- Nicolas (L.), Darriet (F.) et Hougard (J. M.), 1986. - Efficacy of Bacillus sphaericus 2362 against larvae of Anopheles gambiae under laboratory and field conditions, in West Africa. Applied and Environmental Microbiology, à paraître.
- Nicolas (L.) et Dossou-Yovo (J.), 1985a. - Influence de Bacillus sphaericus 2362 sur Culex cinereus Theobald, moustique compétiteur de Culex quinquefasciatus Say (Diptera, Culicidae), en Côte d'Ivoire. Doc. miméo. OCCGE N°28/IPR/Rap/85, 6p.
- Nicolas (L.) et Dossou-Yovo (J.), 1985b. - Recyclage de Bacillus sphaericus 2362 dans les larves de Culex quinquefasciatus, en gîtes urbains. Toxicité et persistance des spores recyclées. Doc. miméo. OCCGE N°41/IPR/Rap/85, 13 p.
- Nicolas (L.), Hougard (J. M.), Dossou-Yovo (J.), Doannio (J. M. C.), Duval (J.) et Escaffre (H.), 1985. - Persistance et recyclage de Bacillus sphaericus 2362 dans les gîtes urbains à Culex quinquefasciatus en Afrique de l'Ouest. Doc. miméo. OCCGE N°24/IPR/Rap/85, 12 p.
- Noireau (F.) et Karch (S.), 1983. - Réceptivité à Plasmodium yoelii yoelii d'Anophèles soumis à Bacillus thuringiensis sérotype H-14 et Bacillus sphaericus. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 21(4): 221-224.

- Novak (R. J.), Gubler (D. J.) et Underwood (D.), 1985. - Evaluation of slow-release formulations of temephos (Abate) and Bacillus thuringiensis var. israelensis for the control of Aedes aegypti in Puerto Rico. J. Am. Mosq. Control Assoc., 1(4): 449-453.
- Obeta (J. A. N.) et Okafor (N.), 1983. - Production of Bacillus sphaericus strain 1593 primary powder on media made from locally obtainable nigerian agricultural products. Can. J. Microbiol., 29: 704-709.
- Obeta (J. A. N.) et Okafor (N.), 1984. - Medium for the production of primary powder of Bacillus thuringiensis subsp. israelensis. Appl. Environ. Microbiol., 47(4): 863-867.
- Ogunba (E. O.), 1971. - Observations on Culex pipiens fatigans in Ibadan, Western Nigeria, Ann. trop. med. parasit., 65: 399-402.
- Pantuwatana (S.) et Youngvanitsed (A.), 1984. - Preliminary evaluation of Bacillus thuringiensis serotype H-14 and Bacillus sphaericus strain 1593 for toxicity against mosquito larvae in Thailand. J. Sci. Soc. Thailand, 10: 101-108.
- Pasteur (N.), 1977. - Recherches génétiques chez Culex pipiens pipiens L. Polymorphisme enzymatique, autogénèse et résistance aux insecticides organophosphorés. 170 pp. Thèse de Doctorat d'Etat, mention sciences, Université de Montpellier II.
- Payne (J. M.) et Davidson (E. W.), 1984. - Insecticidal activity of the cristalline parasporale inclusions and other components of the Bacillus sphaericus 1593 spore complex. J. invertebr. Pathol., 43: 383-388.
- Philippon (B.) et Le Berre (R.), 1978. - La lutte contre les vecteurs d'onchocercose humaine en Afrique intertropicale. Méd. trop., 38(6): 667-675.
- Philippon (B.), Sechan (Y.), Rivière (F.), Kulzer (H.), Pawlick (O.) et Krupke (M.), 1973. - Lutte contre Simulium damnosum vecteur de l'onchocercose humaine en Afrique occidentale. VI. Epandages de nouvelles formulations insecticides par hélicoptère en saison des pluies en région de savane guinéenne. Doc. miméo. O. C. C. G. E. non publié 425/Oncho/73, 26 p.
- Phonchevin (T.), Upatham (E. S.), Phanthumachinda (B.), Prasittisuk (C.) et Sukhapanth (N.), 1985. - Effects of Cryomazin and Methoprene on the developmental stages of Anopheles dirus, Aedes aegypti and Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae). southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 16(2): 240-247.

- Pichon (G.), 1968. - Preliminary field evaluation of Abate (OMS 786) pellets against Aedes aegypti larvae in West Upper Volta, West Africa. Doc. mimeo. non publié WHO/VBC/68.9 add.2, 1p.
- Pichon (G.) et Sales (S.), 1967. - Etude de la répartition et de la fréquence d'Aedes aegypti Linné dans le Niger occidental. Doc. ronéo. O. C. C. G. E., 95/Ent./67, 20 p.
- Pichon (G.), Hamon (J.) et Mouchet (J.), 1969. - Groupes ethniques et foyers potentiels de fièvre jaune dans les états francophones d'Afrique occidentale; considérations sur les méthodes de lutte contre Aedes aegypti. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 7(1): 39-50.
- Prod'hon (J.), Hebrard (G.), Prud'homme (J.M.) et Courret (D.), 1986. - Action de l'Ivermectine (MK 933) sur la transmission de l'onchocercose humaine par le groupe vecteur Simulium soubrense - Simulium sanctipauli en zone forestière de Côte d'Ivoire. Résultats immédiatement et 6 mois après traitement. Doc. mimeo. OCCGE N°03/IPR/RAP/86, 19 p.
- Pussemier (L.) et Berger (R. de), 1984. - Study on the initial activity and persistence of an experimental larvicide based on Bacillus thuringiensis var. israelensis and of a commercial preparation containing the organophosphate insecticide temephos. Journal of Environmental Science and Health, B 19(6): 539-554.
- Quélénnec (G.), 1978. - Lutte chimique contre les arthropodes d'intérêt médical. Evaluation des nouveaux insecticides opérationnels. Insecticides nouveaux. Méd. Trop., 38(6): 1978.
- Quillévéré (D.), 1979. - Contribution à l'étude des caractéristiques taxonomiques, bioécologiques et vectrices des membres du complexe Simulium damnosum présents en Côte d'Ivoire. Travaux et Documents de l'ORSTOM, Paris, N°109: 304 p.
- Quillévéré (D.), Gouzy (M.), Séchan (Y.) et Pendriez (B.), 1977. - Etude du complexe Simulium damnosum en Afrique de l'Ouest. VI - Analyse de l'eau des gîtes larvaires en saison des pluies: comparaison avec la saison sèche. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 15(3): 195-207.
- Ramoska (W.A.) et Hopkins (T.L.), 1981. - Effects of mosquito larval feeding behavior on Bacillus sphaericus efficacy. J. invertebr. Pathol., 37: 269-272.
- Ramoska (W.A.) et Pacey (C.), 1979. - Food availability and period of exposure as factors of Bacillus sphaericus efficacy on mosquito larvae. J. Econ. Entomol., 72: 523-525.

- Ramoska (W.A.), Singer (S.) et Levy (R.), 1977. - Bioassay of three strains of Bacillus sphaericus on field-collected mosquito larvae. J. invertebr. Pathol., 30: 151-154.
- Ramoska (W.A.), Watts (S.) et Rodriguez (R.E.), 1982. - Influence of suspended particulates on the activity of Bacillus thuringiensis serotype H-14 against mosquito larvae. J. Econ. Entomol., 75: 1-4.
- Rampal (L.), Thevasagayan (E.S.), Kolta (S.) et Hooi (C.W.), 1983. - A small scale field trial with Bacillus thuringiensis against culicine mosquitoes, Kelang, Malaysia. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 14(1): 101-105.
- Rao (T.R.), 1984. - The anophelines of India. Malaria Research Center (Indian Council of Medical Research), New Delhi, 518 p.
- Reed (W.), Carroll (J.), Agramonte (A.) et Lazear (J.W.), 1901. - The ethiology of the yellow fever. A preliminary note, Columbus, Ohio.
- Rodrigues (C.S.) et Wright (R.E.), 1978. - Evaluation of the insect growth regulators methoprene and diflubenzuron against floodwater mosquitoes (Diptera: Culicidae) in southwestern Ontario, Canada. Can. Entomologist, 110: 319.
- Rodrigues (C.S.), 1982. - Ph. D. thesis, University of Guelph, Canada.
- Sales (S.) et Hervy (J.P.), 1974. - Report on evaluating the residual effect of five insecticidal compounds (OMS-786, OMS-1170, OMS-1197, OMS-1211 and OMS-1424) on larval populations of Aedes aegypti L., household vector of yellow fever, under the local conditions household vector of water storage. Doc. miméo. OCCGE N°19/Ent. 74.
- Sales (S.) et Hervy (J.P.), 1977. - L'évaluation au stade IV de l'efficacité de l'O.M.S. 1804 (Dimilin) contre les larves de Culex pipiens fatigans Wiedemann et Aedes aegypti Linné. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/77.655.
- Samasanti (W.), Pantuwatana (S.) et Bhumiratana (A.), 1982. - Role of the parasporal body in causing toxicity of Bacillus thuringiensis toward Aedes aegypti larvae. J. invertebr. Pathol., 39: 41-48.
- Schaefer (C.H.) et Dupras (E.F.), 1970. - Factors affecting the stability of Dursban in polluted water. J. Econ. Entomol., 63: 701-705.

- Schaefer (C. H.) et Dupras (E. F.), 1973. - Insect developmental inhibitors. 4 - Persistence of ZR-515 in water. J. Econ. Entomol., 66: 923-925.
- Schaefer (C. H.), Wilder (W. H.), Mulligan III (F. S.) et Dupras jr. (E. F.), 1974. - Insect development inhibitors: effects of Altosid, TH6040 and H24108 against mosquitoes (Diptera: Culicidae). Thirtieth Annual Meeting of the American Mosquito Control Association, Inc. February 24-27.
- Séchan (Y.), 1980. - Durée du développement des stades préimaginaux de Simulium sirbanum Vajimé et Dunbar, 1975 à la limite nord de son aire de répartition en Afrique occidentale. Note préliminaire. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 18(1): 59-60.
- Self (L. S.), Nelson (M. J.), Pant (C. P.) et Salim Usman, 1978. - Field trials with two insect growth regulators against Culex quinquefasciatus. Mosq. News, 38(1): 74-79.
- Sergovskaya (N. L.), Kornienko (N.), Shekhter (O. V.), Tsizin (Y. S.), Pridantseva (E. A.), Vladimirova (V. V.) et Rasnitsyn (S. P.), 1984. - A study of compounds with juvenile activity. XVI. The activity of 4-substituted 2,6-di-ter-butylphenols. Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnyy Bolezni, 1: 30-34.
- Shadduck (J. A.), 1980. - Bacillus thuringiensis serotype H-14 maximum challenge and eye irritation safety tests in mammals. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/80.763, 12 p.
- Shadduck (J. A.), Singer (S.) and Lause (S.), 1980. - Lack of mammalian pathogenicity of entomological isolates of Bacillus sphaericus. Environ. Entomol., 9: 403-407.
- Sharma (S. K.), Kalra (N. L.) et Bhargava (Y. S.), 1985. - Small scale field trials with Bacillus thuringiensis variety israelensis H-14 strain against larvae of anopheline and culicine mosquitoes. Journal of Communicable Diseases, 15(4): 223-234.
- Sharma (V. P.), Batra (C. P.) et Brooks (G. D.), 1979. - Laboratory and field evaluation of a growth-regulating compound (TH-6040) against Culex pipiens fatigans (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol., 15(5-6), 506-509.
- Silapanuntakul (S.), Pantuwatana (S.), Bhumiratana (A.) et Charoensiri (K.), 1983. - The comparative persistence of Toxicity of Bacillus sphaericus strain 1593 and Bacillus thuringiensis serotype H-14 against mosquito larvae in different kinds of environments. J. Invert. Path., 42: 387-392.

- Sinègre (G.), Gaven (B.) et Jullien (L.), 1979. - Sécurité d'emploi du sérotype H-14 de Bacillus thuringiensis pour la faune non-cible des gîtes à moustiques du littoral méditerranéen français. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/79.742, 6 p.
- Sinègre (G.), Gaven (B.) et Jullien (L.), 1981. - 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 d'une poudre primaire. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 19(3): 157-163.
- Sinègre (G.), Gaven (B.) et Vigo (G.), 1980. - Evaluation préliminaire de l'activité larvicide de la souche 1593 de Bacillus sphaericus vis à vis de quatre espèces de moustiques du littoral méditerranéen français. Doc. miméo. non publié, WHO/VBC/80.762, 8 p.
- Sinègre (G.), Gaven (B.), Jullien (J.L.), Vigo (G.) et Karch (S.), 1986. - Activité initiale et résiduelle de Bacillus sphaericus dans les gîtes larvaires à Culex pipiens du sud de la France. IV^e congrès sur la protection de la santé humaine et des cultures en milieu tropical. Marseille, 2-4 juillet 1986.
- Singer (S.), 1980. - Bacillus sphaericus for the control of mosquitoes. Biotechnol. Bioeng., 22: 1335-1355.
- Soliman (A.A.), Rifaat (M.A.) et Ibrahim (M.T.H.), 1967. - Biology of Egyptian anophelines. 1. Biological activities of Anopheles pharoensis in nature. J. trop. Med. Hyg., 70: 63-67.
- Subra (R.), 1965. - Culex pipiens fatigans Wiedemann, vecteur possible de la filariose urbaine à Wuchereria bancrofti Cobbold en Afrique de l'Ouest. Rap. fin. multigr. 5^{ème} Conf. tech. O.C.C.G.E., 1: 193-195.
- Subra (R.), 1971. - Etudes écologiques sur Culex pipiens fatigans Wiedemann, 1828 (Diptera, Culicidae) dans une zone urbaine de savane soudanienne ouest-africaine. Dynamique des populations préimaginales. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. Parasitol., 9(1): 73-102.
- Subra (R.), 1973. - Etudes écologiques sur Culex pipiens fatigans Wiedemann, 1828 (Diptera, Culicidae) dans une zone urbaine de savane soudanienne ouest-africaine. Dynamique des populations imaginales. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. Parasitol., 11(2): 79-100.

- Subra (R.), 1975. - Urbanisation et filariose de Bancroft en Afrique et à Madagascar. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 13(4): 193-203.
- Subra (R.), 1980. - Biology and control of Culex pipiens quinquefasciatus Say, 1823 (Diptera, Culicidae) with special reference to Africa. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/80.781, 40 p.
- Subra (R.), 1982. - The distribution and frequency of Culex pipiens quinquefasciatus Say 1823 (Diptera, Culicidae) breeding places on the Kenya Coast in relation to human sociological factors. Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 85: 57-61.
- Subra (R.) et Dransfield (R.D.), 1984. - Field observations on competitive displacement, at the preimaginal stage, of Culex quinquefasciatus Say by Culex cinereus Theobald (Diptera: Culicidae) at the Kenya Coast. Bull. ent. Res., 74: 559-568.
- Subra (R.) et Hébrard (G.), 1975. - Ecologie larvaire de Culex pipiens fatigans Wiedemann, 1828, (Diptera, Culicidae) dans une zone de haute endémie filarienne (Mayotte, Archipel des Comores). Tropenmed. Parasit., 26: 48-59.
- Subra (R.), Service (M.W.) et Mosha (F.W.), 1984. - The effect of domestic detergents on the population dynamics of the immature stages of two competitor mosquitoes, Culex cinereus Theobald and Culex quinquefasciatus Say (Diptera, Culicidae) in Kenya. Acta Tropica, 41: 69-75.
- Sudomo (M.), Aminah (S.), Mathis (H.) et Bang (Y.H.), 1981. - Small-scale field trials of Bacillus thuringiensis H-14 against different mosquito vector species in Indonesia. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/81.836, 10 p.
- Sun (C.N.), Georghiou (G.P.) et Weiss (K.), 1980. - Toxicity of Bacillus thuringiensis var. israelensis to mosquito larvae variously resistant to conventional insecticides. Mosquito News, 40(4): 614-618.
- Ten Houten (A.), Aminah (S.), Gratz (M.G.) et Mathis (H.L.), 1980. - Pilot trial with methoprene (OMS 1697) against Aedes aegypti in Jakarta, Indonesia. Doc. Miméo. non publié WHO/VBC/80.796.
- Thomas (W.E.) et Ellar (D.J.), 1983. - Bacillus thuringiensis var. israelensis crystal delta-endotoxine: effects on insects and mammalian cells in-vitro and in-vivo. J. Cell. Sci., 60: 181-197.

- Thompson (B. H.) et Adams (B. G.), 1979. - Laboratory and field trials using Altosid insect growth regulator against black flies (Diptera: Simuliidae) of Newfoundland, Canada. J. Med. Entomol., 16(6): 536-546.
- Tinelli (R.) et Bourgouin (C.), 1982. - Larvicidal toxin from Bacillus sphaericus spores. FEBS Letters, 142(1): 155-158.
- Tiwari (O. P.) et Saxena (R. C.), 1984. - Effect of a juvenile hormone analogue on the larval mortality of Culex fatigans (Diptera: Culicidae). Comparative Physiology and Ecology, 9(1): 54-55.
- Tonetti-Magni (S.), 1985. - Bacillus thuringiensis sérotype H-14, larvicide biologique contre les moustiques: Aedes aegypti, Culex pipiens et Anopheles stephensi. Thèse doct. 3ème cycle. Université Paris 6. ORSTOM, 199 p.
- Tyrell (D.), Davidson (L. I.), Bulla (L. A.) et Ramoska (W. A.), 1979. - Toxicity of parasporal crystal of Bacillus thuringiensis sub sp. israelensis to mosquitoes. Appl. Environm. Microbiol., 38: 656-658.
- Undeen (A. H.) et Berl (D.), 1979. - Laboratory studies on the effectiveness of Bacillus thuringiensis de Barjac against Simulium damnosum (Diptera: Simuliidae) larvae. Mosq. News, 39: 742-745.
- Vajime (C. G.) et Quillévéré (D.), 1978. - The distribution of the Simulium damnosum complex in West Africa with particular reference to the onchocerciasis control programme area. Tropenmed. Parasit., 29: 473-482.
- Vankova (J.), Weiser (J.), Rytir (V.) et Hofman (J.), 1978. - The pathogenicity of a strain of Bacillus thuringiensis var. israelensis to mosquito larvae. Proc. Int. Colloquium. Invertebr. Pathol., Prague, 219-222.
- Weiser (J.), 1984. - A mosquito-virulent Bacillus sphaericus in adult Simulium damnosum from northern Nigeria. Zentrablatt für Mikrobiologie, 139(1): 57-60.
- Weiser (J.) et Vankova (J.), 1978. - Toxicity of Bacillus thuringiensis var. israelensis for blackflies and other freshwater invertebrates. Proc. Int. Coll. Invertebr. Pathol., Prague, 243-244.
- White (G. B.), 1971a. - Studies on transmission of Bancroftian filariasis in North-Eastern Tanzania. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 65: 819-829.

- White (G.B.), 1971b. - The present importance of domestic mosquitoes (Culex pipiens fatigans Wiedemann) in East Africa and recent steps towards their control. E. Afr. Med. J., 48: 266-274.
- WHO, 1980a. - Data sheet on the biological control agent Bacillus sphaericus, strain 1593. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/80.777, 16 p.
- WHO, 1980b. - Resistance of vectors of disease to pesticides. Doc. miméo. non publié O.M.S., techn. Rep. Ser., N°655.
- WHO, 1981a. - Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insect development inhibitors. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/81.812, 6 p.
- WHO, 1981b. - Informal consultation on standardization of Bacillus thuringiensis H-14. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/81.828, 15 p.
- WHO, 1983. - Informal consultation on insect growth regulators. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/83.883, 12 p.
- WHO, 1984a. - Consultation on insecticides in the Onchocerciasis Control Programme in the volta river basin area. Doc. miméo. non publié OCP/EAC5.8, 24 p.
- WHO, 1984b. - Dix ans de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. Doc. miméo. non publié WHO/OCP/84.3, 125 p.
- WHO, 1984c. - Report of the seventh meeting of the scientific working group on biological control of vectors. Doc. miméo. non publié WHO/BCV/SWG-7/84-3, 33 p.
- WHO, 1985a. - Revue annuelle de la recherche sur les insecticides à OCP. Doc. miméo. non publié N° 421/VCU/ADM/3.4, 29 p.
- WHO, 1985b. - Informal consultation on the development of Bacillus sphaericus as a microbial larvicide. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/SPHAERICUS/85.3, 24 p.
- Nickremesinghe (R.S.B.) et Mendis (C.L.), 1980. - Bacillus sphaericus spore from Sri Lanka strains of larval Culex quinquefasciatus. Mosq. News, 40: 387-389.
- Williams (C.M.), 1967. - Third-generation pesticides. Scientific Amer., 217: 13-18.
- Wilton (D.P.) et Travis (B.V.), 1965. - An improved method for simulated stream tests of blackfly larvicides. Mosq. News, 25: 118-123.

- Wraight (S.P.), Molloy (D.) et Jamnback (H.), 1981a. - Efficacy of Bacillus sphaericus strain 1593 against the four instars of laboratory reared and field collected Culex pipiens and laboratory reared Culex salinarius. Can. Entomol., 113: 379-386.
- Wraight (S.P.), Molloy (D.), Jamnback (H.) et McCoy (P.), 1981b. - Effects of temperature and instar on the efficacy of Bacillus thuringiensis var. israelensis and Bacillus sphaericus strain 1593 against Aedes stimulans larvae. J. invertebr. Pathol., 38: 78-87.
- Wright (J.W.), 1971. - The WHO Programme for the evaluation and testing of New Insecticides. Bull. Org. mond. Santé, 44: 11-22.
- Yousten (A.A.), 1984. - Bacteriophage typing of mosquito pathogenic strains of Bacillus sphaericus. J. Invertebr. Pathol., 43: 124-125.
- Yousten (A.A.), Fretz (S.B.) et Jelley (S.A.), 1985. - Selective medium for mosquito-pathogenic strains of Bacillus sphaericus. Appl. Environ. Microbiol., 49(6): 1532-1533.
- Yousten (A.A.), Barjac (H. de), Hedrick (J.), Cosmao Dumanoir (V.) et Myers (P.), 1980. - Comparison between bacteriophage typing and serotyping for the differentiation of Bacillus sphaericus strains. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 131(B): 297-308.
- Yousten (A.A.) et Davidson (E.W.), 1982. - Ultrastructural analysis of spores and parasporal crystals formed by Bacillus sphaericus 2297. Appl. Environ. Microbiol. 44: 1449-1455.
- Yousten (A.A.) et Hedrick (J.), 1982. - Bacteriophage typing of mosquito pathogenic strains of Bacillus sphaericus. Proceedings of 3rd International Colloquium on Invertebrate Pathology, 6-10 sep, 476-482.
- Yousten (A.A.), Jones (M.E.) et Benoit (R.E.), 1982. - Development of selective/differential bacteriological media for the enumeration of Bacillus thuringiensis serovar. israelensis (H-14) and Bacillus sphaericus 1593. Doc. miméo. non publié WHO/VBC/82.844, 7 p.

ANNEXES

ANNEXE 1

EVALUATION I.R.T.O. LARVICIDES EXPERIMENTAUX

PRODUITS: BTH14 FIRME: SANDOZ
FORMULATION: TEKNAR N°LOT: 33451 COMMERCIAL REFERENCE FICHE: BT 112

CARACTERISTIQUES PHYSIQUES

FLUIDITE : (TEKNAR: 2 MN 09 ABATE: 1 S 57) POPULATION:
DISPERSION SPONTANEE :
DISPERSION APRES RETOURNEMENT :
PRESENTATION MICROSCOPIQUE :

ACTIVITE BIOLOGIQUE SUR LES LARVES DU COMPLEXE S.DAMNOSUM

DATE: 25/05/84	TYPE DE :	DOSE :	MORTALITE PAR STADES				TOTAL	
LIEU:	TEST :	PPM/10MN:	1 A 3	4 ET 5	6 ET 7			
TOUBA (RCI)								
ESPECES:	TEMPOIN :	0.00(	0):	0.00(	0):	0.00(	0):	0.00(
MELANGE	SCREENING:	0.00 :	0.00(	0):	0.00(	0):	0.00(	0)
FORET		0.00 :	0.00(	0):	0.00(	0):	0.00(	0)
SAVANE								
DISPOSITIF:	TEMPOIN :	0.00(	0):	2.94(	68):	0.00(	46):	1.75(
MINIGOUTTIERES	TEST :	1.60 :	0.00(	0):	100.00(	199):	100.00(	274)
TEMPERATURE EAU:		0.80 :	0.00(	0):	100.00(	58):	89.06(	64):
29C <5JTU	COMPLET :	0.40 :	0.00(	0):	93.71(	82):	85.96(	114):
TURBIDITE:		0.20 :	0.00(	0):	35.30(	86):	58.67(	121):
MATIERE SUSPENSION:		0.00 :	0.00(	0):	0.00(	0):	0.00(	0)

ACTIVITE BIOLOGIQUE SUR LES LARVES A.AEGYPTI L4 JEUNE SOUCHE BORA-BORA

TITRE (I.T.U. A.AEGYPTI/MG) = CL50= CL90=
AUTRES INFORMATIONS:

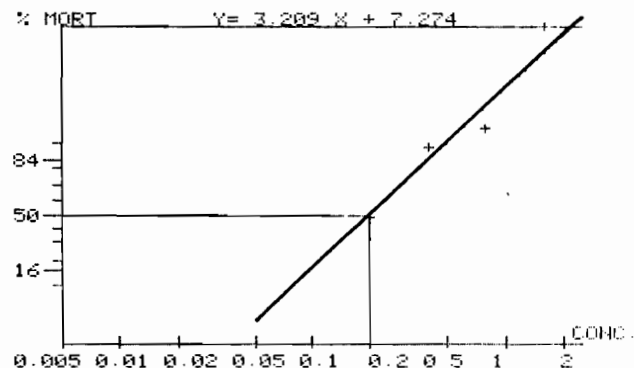
AUTRES INFORMATIONS DISPONIBLES

TEST RIVIERE:

OBSERVATION:

ANALYSE PROBIT (S. damnosum)

TOUS STADES MELANGES STADES 6 ET 7
A 5% POUR 2 DDL LE X2= SIGNIFICATIF (13.315) A 5% POUR 2 DDL LE X2= NON SIGNIFICATIF (5.074)
CL50 = .196 (.174 .22) CL90 = .49 CL50 = .152 (.096 .236) CL90 = .582



ANNEXE 2

* I.R.T.O. LARVICIDES EVALUATION *

COMPOUND: BT H-14
FORMULATION: TEKNAR

COMPANY: SANDOZ
LOT NO.: SC 60

SHEET REFERENCE: BT147
DATE: 14/11/83

PHYSICAL CHARACTERISTICS

FLOW OUT TIME: 4.3 S
DISPERSIBILITY INDEX: VERY GOOD / VERY GOOD

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST S. damnosus COMPLEX LARVAE

LOCALITY: AKAKRO
WATER TEMPERATURE: 25 C

SPECIES: S. YAHENSE
TURBIDITY: *

APPARATUS: MINIGUTTERS
FH: *

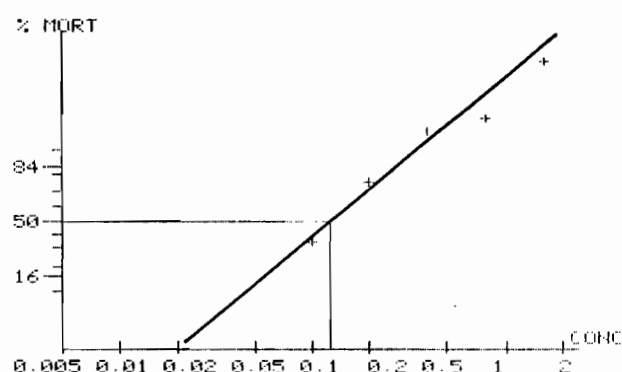
DOSAGE :	MORTALITY / INSTAR			
	MG/L/10MN:	1 A 3	4 ET 5	6 ET 7
TEMPOIN :	0.00(0):	0.00(59):	0.00(126):	0.00(185)
1.60 :	0.00(0):	99.71(355):	100.00(56):	99.75(411)
0.80 :	0.00(0):	97.21(251):	96.45(141):	96.93(392)
0.40 :	0.00(0):	97.15(211):	92.57(256):	94.64(467)
0.20 :	0.00(0):	84.15(202):	70.56(316):	75.86(518)
0.10 :	0.00(0):	44.75(143):	30.06(326):	34.54(469)

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST A. aegypti LARVAE

IRTD TITER: 2600 ITU/MG A.AEGYPTI
COMPANY TITER: 1500 AAU

LC50: .132
LC95: *

PROBIT ANALYSIS ALL INSTARS. (S. damnosus)



IR = 8 (24 67)

LC50 = .125 (.117 .134)

LC95 = .462

ANNEXE 3

* I.R.T.O. LARVICIDES EVALUATION *

COMPOUND: BT H-14
FORMULATION: TEKNAR

COMPANY: SANDOZ
LOT NB.: SC 93

SHEET REFERENCE: BT149
DATE: 14/11/83

PHYSICAL CHARACTERISTICS

FLOW OUT TIME: 3.8 S
DISPERSIBILITY INDEX: VERY GOOD / VERY GOOD

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST *S.dannosus* COMPLEX LARVAE

LOCALITY: AKAKRO
WATER TEMPERATURE: 25 C

SPECIES: S. YAHENSE
TURBIDITY: *

APPARATUS: MINIGUTTERS
PH: *

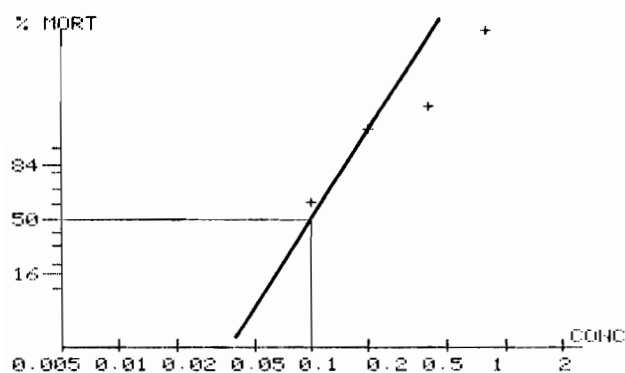
DOSAGE :	MORTALITY / INSTAR				
MG/L/10MN:	1 A 3	:	4 ET 5	:	6 ET 7 : TOTAL
TEMOIN :	0.00(0):		3.33(30):		0.00(161): 0.52(191)
0.80 :	0.00(0):		100.00(78):		100.00(186): 100.00(264)
0.40 :	0.00(0):		91.00(46):		99.38(163): 97.59(209)
0.20 :	0.00(0):		92.61(126):		96.48(199): 95.05(325)
0.10 :	0.00(0):		60.94(98):		60.42(235): 60.75(333)
0.05 :	0.00(0):		0.00(336):		1.72(58): 1.25(794)

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST *A.aegypti* LARVAE

IRTO TITER: 4350 ITU/MG A. AEGYPTI
COMPANY TITER: 3000 AAU

LC50: .079
LC95: *

PROBIT ANALYSIS ALL INSTARS. (*S.dannosus*)



$$X^2 = 5 (289.88)$$

$$LC50 = 0.099 (0.0949 - 0.103)$$

$$LC95 = .199$$

ANNEXE 4

* I.R.T.O. LARVICIDES EVALUATION *

COMPOUND: BT H-14
FORMULATION: TEKNAR

COMPANY: SANDDZ
LOT NO.: SC 98

SHEET REFERENCE: -
DATE: 14/11/83

PHYSICAL CHARACTERISTICS

FLOW OUT TIME: 8 S
DISPERSIBILITY INDEX: VERY GOOD / VERY GOOD

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST S.daniosus COMPLEX LARVAE

LOCALITY: AKAKRO
WATER TEMPERATURE: 25 C

SPECIES: S. YAHENSE
TURBIDITY: *

APPARATUS: MINIGUTTERS
PH: *

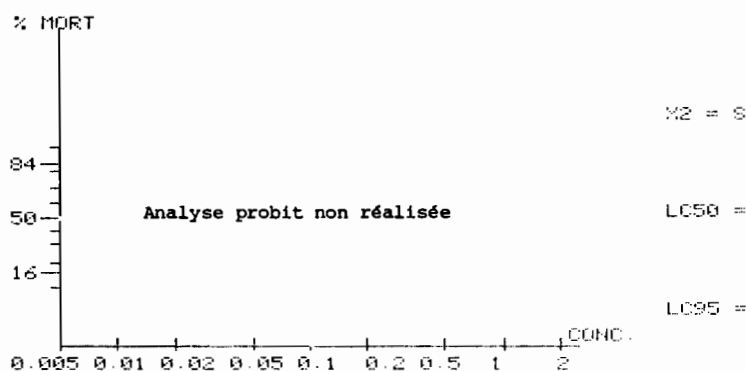
DOSAGE :	MORTALITY / INSTAR				TOTAL
	1 A 3	4 ET 5	6 ET 7		
TEMQIN :	0.00 (0)	0.00 (65)	0.00 (112)	0.00 (177)	
0.80 :	0.00 (0)	99.57 (231)	99.00 (401)	99.21 (632)	
0.40 :	0.00 (0)	98.10 (211)	97.83 (276)	97.95 (487)	
0.20 :	0.00 (0)	92.39 (184)	78.76 (259)	84.42 (443)	
0.10 :	0.00 (0)	59.15 (164)	34.19 (506)	37.31 (670)	
0.05 :	0.00 (0)	0.00 ()	0.00 ()	0.00 ()	

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST A.aegypti LARVAE

IRTO TITER: 2460 ITU/MG A. AEGYPTI
COMPANY TITER: -

LC50: -
LC95: *

PROBIT ANALYSIS ALL INSTARS. (S.daniosus)



ANNEXE 5

* I.R.T.O. LARVICIDES EVALUATION *

COMPOUND: BT H-14
FORMULATION: TEKNAR

COMPANY: SANDDZ
LOT NO.: SC 99

SHEET REFERENCE: BT151
DATE : 25/04/84

PHYSICAL CHARACTERISTICS

FLOW OUT TIME: 2.3 S
DISPERSIBILITY INDEX: GOOD / VERY GOOD

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST S. damnosus COMPLEX LARVAE

LOCALITY: TOUBA
WATER TEMPERATURE: 29 C

SPECIES: MIXED
TURBIDITY: < 5 JTU

APPARATUS: MINIGUTTERS
PH : *

DOSAGE :	MORTALITY / INSTAR				TOTAL
	MG/L/10MN:	1 A 3	4 ET 5	6 ET 7	
TEMOIN :	0.00(0):	2.94(68):	0.00(46):	1.75(114)	
1.60 :	0.00(0):	100.00(165):	100.00(85):	100.00(250)	
0.80 :	0.00(0):	99.55(229):	100.00(131):	99.71(360)	
0.40 :	0.00(0):	98.70(239):	97.45(118):	98.28(357)	
0.20 :	0.00(0):	87.04(167):	79.86(144):	83.63(311)	
0.10 :	0.00(0):	52.81(214):	34.32(268):	42.13(482)	

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST A. aegypti LARVAE

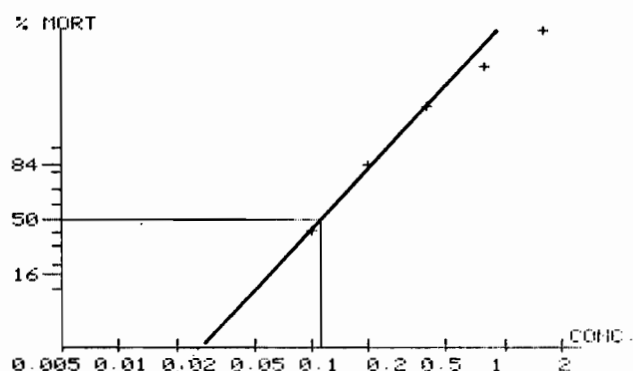
IRTO TITER: *

COMPANY TITER: 4 TO 5 TIMES COMMERCIAL TEKNAR

LC50: *

LC95: *

PROBIT ANALYSIS ALL INSTARS. (S. damnosus)



$\chi^2 = NS (2.422)$

LC50 = .112 (.106 .118)

LC95 = .31

ANNEXE 6

EVALUATION I.R.T.O. LARVICIDES EXPERIMENTAUX

PRODUITS: BTH14
FORMULATION: BACTIMOS

FIRME: SOLVAY
N°LOT: 83/692.4

REFERENCE FICHE: BT079

CARACTERISTIQUES PHYSIQUES

FLUIDITE : * (TEKNAR: 2 MN 09 ABATE: 1 S 57) POPULATION: *
DISPERSION SPONTANEE : BONNE
DISPERSION APRES RETOURNEMENT: BONNE
PRESENTATION MICROSCOPIQUE : *

ACTIVITE BIOLOGIQUE SUR LES LARVES DU COMPLEXE S.DAMNOSUM

DATE: 10/05/83 LIEU: AKAKRO (RCI) ESPECES: MELANGE damnosum	TYPE DE TEST	DOSE : PPM/10MN:	MORTALITE PAR STADES				TOTAL
			1 A 3	4 ET 5	6 ET 7		
DISPOSITIF: MINIGOUTIERRES TEMPERATURE EAU: 30.5C TURBIDITE: * MATIERE SUSPENSION: *	SCREENING	TEMPOIN : 0.00	(0)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)
		0.00	(0)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)
		0.00	(0)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)
	TEST	TEMPOIN : 3.57	(84)	1.03 (97)	0.00 (116)	1.34 (297)	
		1.60	(141)	100.00 (177)	100.00 (142)	100.00 (460)	
		0.80	(110)	98.88 (91)	97.89 (95)	98.97 (296)	
	COMPLET	0.40	(49)	94.68 (133)	84.90 (106)	90.49 (288)	
		0.20	(89)	57.67 (148)	57.31 (164)	59.04 (401)	
		0.00	(0)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)	

ACTIVITE BIOLOGIQUE SUR LES LARVES A.AEGYPTI L4 JEUNE SOUCHE BORA-BORA

TITRE (I.T.U. A.AEGYPTI/MG) = * CL50= * CL90= *
AUTRES INFORMATIONS: *

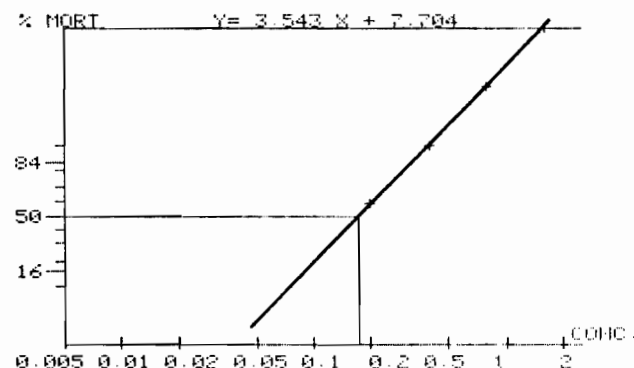
AUTRES INFORMATIONS DISPONIBLES

TEST RIVIERE: *

OBSERVATION: *

ANALYSE PROBIT (S. damnosum)

TOUS STADES MELANGES
A 5% POUR 2 DDL LE X2= NON SIGNIFICATIF (.195)
CL50 = .172 (.168 .178) CL90 = .396
STADES 6 ET 7
A 5% POUR 2 DDL LE X2= NON SIGNIFICATIF (.376)
CL50 = .177 (.165 .189) CL90 = .462



ANNEXE 7

* I.R.T.O. LARVICIDES EVALUATION *

COMPOUND: BT H-14
FORMULATION: BACTIMOS

COMPANY: SOLVAY
LOT NO.: BT 4/11/NE

SHEET REFERENCE: BT145
DATE: 06/06/84

PHYSICAL CHARACTERISTICS

FLOW OUT TIME: 2.8 S
DISPERSIBILITY INDEX: MEDIUM / VERY GOOD

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST S. damnosus COMPLEX LARVAE

LOCALITY: AKAKRO
WATER TEMPERATURE: 28 C

SPECIES: S. YAHENSE
TURBIDITY: 10 JTU

APPARATUS: MINIGUTTERS
PH: *

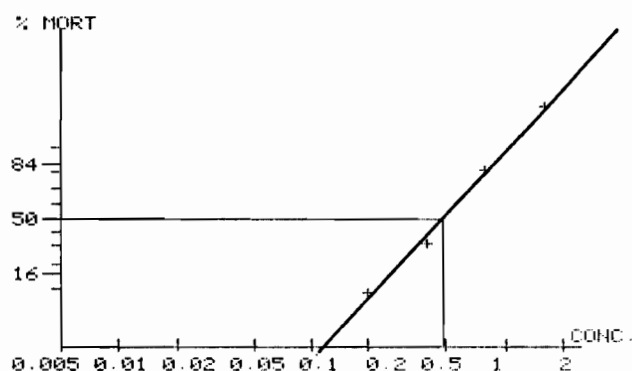
DOSAGE : MG/L/10MN:	MORTALITY / INSTAR				TOTAL
	1 A 3	4 ET 5	6 ET 7		
TEMOIN :	0.00(0):	0.00(162):	0.00(65):	0.00(227)	
1.60 :	0.00(0):	90.47(42):	100.00(155):	97.96(197)	
0.80 :	0.00(0):	78.35(134):	82.53(166):	80.66(300)	
0.40 :	0.00(0):	21.16(137):	47.32(112):	32.93(249)	
0.20 :	0.00(0):	3.62(248):	15.50(187):	8.73(435)	
0.00 :	0.00(0):	0.00(0):	0.00(0):	0.00(0)	

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST A. aegypti LARVAE

IRTO TITER: *
COMPANY TITER: 1175 ITU/MG A.AEGYPTI

LC50: *
LC95: *

PROBIT ANALYSIS ALL INSTARS. (S. damnosus)



$\chi^2 = NS (4.633)$

LC50 = .481 (.441 .525)

LC95 = 1.316

* I.R.T.O. LARVICIDES EVALUATION *

COMPOUND: BT H-14
FORMULATION: VECTOBAC

COMPANY: ABBOTT
LOT NO.: A86 6145

SHEET REFERENCE: BT152
DATE: 17/05/84

PHYSICAL CHARACTERISTICS

FLOW OUT TIME: 5.6 S
DISPERSIBILITY INDEX: VERY BAD / VERY GOOD

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST S.dannosus COMPLEX LARVAE

LOCALITY: TOUBA
WATER TEMPERATURE: 28 C

SPECIES: MIXED
TURBIDITY: 30 JTU

APPARATUS: MINIGUTTERS
PH: *

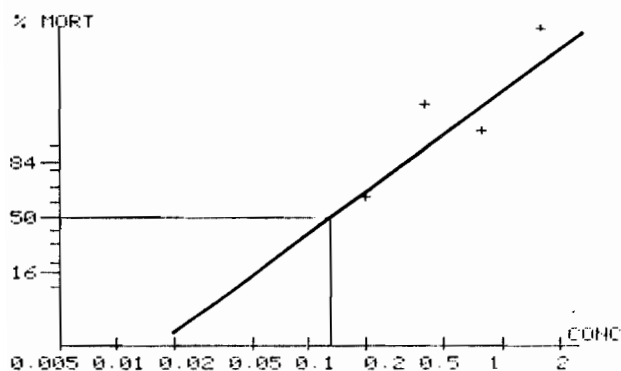
DOSAGE :	MORTALITY / INSTAR			
	MG/L/10MN:	1 A 3	4 ET 5	6 ET 7
TEMOIN :	0.00(0):	0.00(72):	0.00(190):	0.00(262)
1.60 :	0.00(0):	100.00(133):	100.00(104):	100.00(237)
0.80 :	0.00(0):	83.63(55):	96.70(182):	93.67(237)
0.40 :	0.00(0):	95.77(71):	98.62(145):	97.68(216)
0.20 :	0.00(0):	65.51(174):	60.95(105):	63.79(279)
0.00 :	0.00(0):	0.00(0):	0.00(0):	0.00(0)

BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST A.aegypti LARVAE

IRTO TITER: *
COMPANY TITER: 600 ITU/MG A. AEGYPTI

LC50: *
LC95: *

PROBIT ANALYSIS ALL INSTARS. (S.dannosus)



$X^2 = 8. (35.675)$

LC50 = .131 (.108 .158)

LC95 = .575

ANNEXE 9

EVALUATION I.R.T.O. LARVICIDES EXPERIMENTAUX

PRODUITS: BTH14
FORMULATION: SEETAL

FIRME: TATE & LYLE
N° LOT: ST BE

REFERENCE FICHE: BT 130

CARACTERISTIQUES PHYSIQUES

FLUIDITE : 9.6 (TEKNAR: 2 MN 09 ABATE: 1 S 57) POPULATION: *
DISPERSION SPONTANEE : MAUVAISE
DISPERSION APRES RETOURNEMENT: MOYENNE
PRESENTATION MICROSCOPIQUE : *

ACTIVITE BIOLOGIQUE SUR LES LARVES DU COMPLEXE S.DAMNOSUM

DATE: 23/09/84

LIEU:

AKAKRO

ESPECES:

YAHENSE

DISPOSITIF:

MG

TEMPERATURE EAU:

24C

TURBIDITE: *

MATIERE SUSPENSION:

*

TYPE DE TEST	DOSE : PPM/10MN	MORTALITE PAR STADES				TOTAL
		1 A 3	4 ET 5	6 ET 7		
SCREENING:	TEMOIN	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)		0.00 (0)
	0.00	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)		0.00 (0)
	0.00	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)		0.00 (0)
TEST COMPLET	TEMOIN	0.00 (0)	1.17 (339)	0.00 (282)		0.64 (621)
	1.60	0.00 (0)	98.86 (267)	98.23 (113)		98.67 (380)
	0.80	0.00 (0)	90.80 (242)	68.53 (143)		82.48 (385)
COMPLET	0.40	0.00 (0)	61.44 (231)	37.29 (185)		50.64 (416)
	0.20	0.00 (0)	16.33 (254)	12.28 (228)		14.38 (482)
	0.00	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)		0.00 (0)

ACTIVITE BIOLOGIQUE SUR LES LARVES A.AEGYPTI L4 JEUNE SOUCHE BORA-BORA

TITRE (I.T.U. A.AEGYPTI/MG) = 1100 TATE & LYLE

CL50 = *CL90 = *

AUTRES INFORMATIONS: *

AUTRES INFORMATIONS DISPONIBLES

TEST RIVIERE: NON RECOMMANDE

OBSERVATION: *

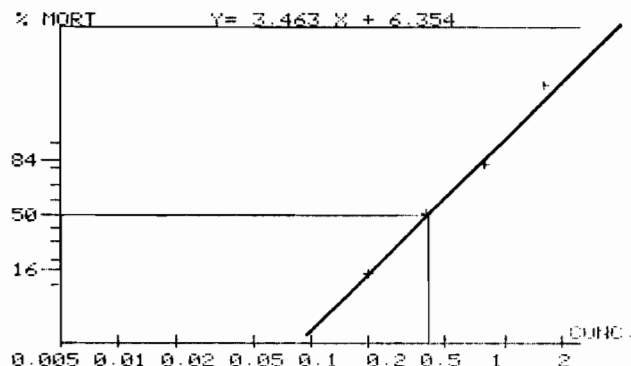
ANALYSE PROBIT (S. damnosum)

TOUS STADES MELANGES

A 5% POUR 2 DDL LE X2 = NON SIGNIFICATIF (5.55)
CL50 = .406 (.373 .442) CL90 = .952

STADES 6 ET 7

A 5% FOUR 2 DDL LE X2 = SIGNIFICATIF (6.027)
CL50 = .501 (.459 .546) CL90 = 1.29

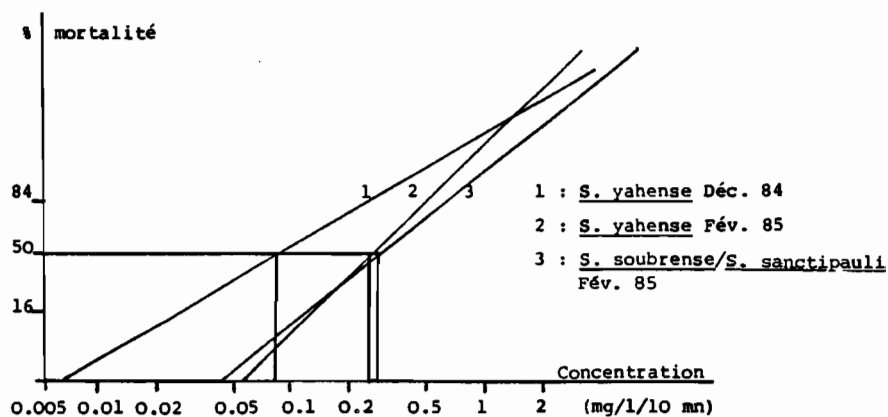


ANNEXE 10

Espèces Testées	Pourcentage de mortalité larvaire (tous stades)				CL 50	CL 95	CL 50 CL 95
	1.6*	0.8	0.4	0.2			
<u>S. yahense</u> Décembre 1984	100 (233) **	96.5 (320)	94.6 (281)	78.2 (335)	0.081 (0.059- 0.111)	0.515	0.16
<u>S. yahense</u> Février 1985	98.3 (415)	94.9 (652)	76.0 (743)	28.2 (372)	0.268 (0.220- 0.326)	0.806	0.33
<u>S. soubrense/</u> <u>S. sanctipauli</u> Février 1985	96.5 (484)	88.9 (404)	71.1 (521)	25.0 (294)	0.292 (0.229- 0.372)	1.130	0.26

* mg/l/10 mn

** nombre de larves testées



Sensibilité comparée en minigouttières des larves de S. yahense (Akakro) et S. soubrense / S. sanctipauli (Comoé) au SC 93 lot 41.081. Détermination des droites de régression et des valeurs caractéristiques de ces droites (Akakro - Côte d'Ivoire).

Formulations I.G.R.	Témoir (3)	OMS 2015 CE 6%			OMS 2016 WDP 50%			OMS 2017 WDP 25%			Témoir (4)
Concentrations mg/l pdt 60 mn	-	0.1	0.33	1	0.1	0.33	1	0.1	0.33	1	-
Nombre larves testées	137	123	121	79	60	97	62	38	123	57	69
Mortalité larvaire totale	12	21	25	31	27	47	32	24	57	9	5
Mortalité larvaire 24 heures	0	0	0	1	-	-	-	-	-	-	-
Nymphose	125	102	96	48	33	50	30	14	66	48	64
Cocons vides normaux	88	77	63	25	24	28	14	12	24	0	59
Cocons vides anormaux	37	25	33	24	9	22	16	2	42	48	5
Adultes viables récoltés	84	54	44	17	22	19	12	9	8	0	43
Adultes non viables récoltés	11	24	40	19	1	4	1	1	23	28	1
Z corrigé de réduction d'émergence (cocons) (1)	35,8	2,5	18,8	50,8	53,2	66,2	73,6	63,0	77,2	100	14,5
Z corrigé de réduction d'émergence (adultes) (2)	38,7	28,4	40,6	64,9	41,1	68,5	68,9	62,0	89,6	100	37,7

ANNEXE 11 : Pourcentage corrigé de réduction d'émergence pour l'OMS 2015 CE 6%, l'OMS 2016 WDP 50%, l'OMS 2017 WDP 25%. Screening préliminaire sur S.yahense stades VI et VII. Temps de contact 60 mn Akakro Octobre/Novembre 1984.

- (1) : Calculé par rapport au nombre de cocons vides normaux sur le nombre de larves testées.
(2) : Calculé par rapport au nombre d'adultes viables sur le nombre de larves testées.
(3) : Témoir Novembre 1984 - OMS 2015.
(4) : Témoir Octobre 1984 - OMS 2016 et 2017.

FORMULATIONS I.G.R.	Témoïn	OMS 3007 CE 10%			OMS 3007 Mic 5%			OMS 3019 CE 10%			OMS 3019 Mic 5%		
CONCENTRATIONS mg/l pdt 60 mn	-	0.1	0.33	1	0.1	0.33	1	0.1	0.33	1	0.1	0.33	1
Nombre larves testées	69	71	87	93	124	86	151	58	45	139	53	79	45
Mortalité larvaire	5	44	54	54	59	40	83	42	29	109	31	44	33
Nymphose	64	27	33	39	65	46	68	16	16	30	22	35	12
Cocons vides normaux	59	1	0	0	6	0	0	0	0	0	2	8	0
Cocons vides anormaux	5	26	33	39	59	46	68	16	16	30	20	27	12
Adultes viables récoltés	43	0	0	0	3	0	0	0	0	0	2	8	0
Adultes non viables récoltés	1	9	21	8	27	39	21	7	5	8	13	16	5
% corrigé de réduction d'émergence (cocons) (1)	14,5	98,4	100	100	94,4	100	100	100	100	100	95,6	88,2	100
% corrigé de réduction d'émergence (adultes) (2)	37,7	100	100	100	96,1	100	100	100	100	100	93,9	83,8	100

ANNEXE 12 : Pourcentage corrigé de réduction d'émergence pour l'OMS 3007 (CE 10% et Mic 5%) et l'OMS 3019 (CE 10% et Mic 5%).
Screening préliminaire sur *S. yahense* stades VI et VII - Temps de contact 60 mn - AKAKRO Octobre 1984.

(1) Calculé par rapport au nombre de cocons vides normaux sur le nombre de larves testées.

(2) Calculé par rapport au nombre d'adultes viables sur le nombre de larves testées.

FORMULATIONS I.G.R.	OMS 2017 WDP 25% (1)				OMS 3007 CE 10% (2)				OMS 3010 CE 12.5% (3)					OMS 3019 CE 10% (2)			
CONCENTRATIONS mg/l pdt 10 mn	0.1	0.3	1	2	0.1	0.3	1	2	0.01	0.033	0.1	0.33	0.4	0.1	0.3	1	2
Nombre larves testées	90	140	80	94	111	91	81	90	65	147	125	121	106	85	99	111	115
Mortalité larvaire	8	39	25	20	33	39	35	26	-	-	-	-	-	46	38	45	40
Nymphose	82	101	55	74	78	52	46	54	-	-	-	-	-	39	61	66	75
Cocons vides normaux	-	-	-	-	1	0	1	2	-	-	-	-	-	0	1	0	2
Cocons vides anormaux	-	-	-	-	77	52	45	62	-	-	-	-	-	39	60	66	73
Adultes viables récoltés	51	69	28	53	1	0	1	2	24	8	4	3	0	0	0	0	2
Adultes non viables récoltés	-	-	-	-	64	45	26	42	-	-	-	-	-	27	33	22	43
% de réduction d'émergence (cocons) (4)	-	-	-	-	98.6	100	98.1	96.6	-	-	-	-	-	100	98.4	100	97.4
% de réduction d'émergence (adultes) (5)	22.0	32.2	51.9	22.4	98.5	100	98.1	96.6	49.0	92.5	95.6	96.6	100	100	100	97.4	

ANNEXE 13: Pourcentage de réduction d'émergence pour l'OMS 2017 WDP 25%, l'OMS 3007 CE 10%, l'OMS 3010 CE 12.5% et l'OMS 3019 CE 10%. Evaluation secondaire sur larves de S. yahense stades VI/VII - temps de contact 10 mn - Akakro - Novembre 1984. (1) témoin: 27.3% R.E. (2) témoin: 38.7% R.E. (3) témoin: 27.6% R.E. (4): calculé par rapport au nombre de cocons vides normaux sur le nombre total de larves testées. (5): calculé par rapport au nombre d'adultes viables sur le nombre de larves testées.

FORMULATIONS I.G.R.	OMS 3007 CE 10%					OMS 3019 CE 10%				OMS 3010 CE 12.5%				
CONCENTRATIONS mg/l pdt 10 mn	Témoin	0.001	0.01	0.1	1	0.001	0.01	0.1	1	Témoin	0.03	0.1	0.33	1
Nombre de larves testées	221	247	244	105	124	206	374	274	341	62	177	217	215	188
Mortalité larvaire	13	15	31	6	16	24	23	18	11	-	-	-	-	-
Cocons vides normaux	203	223	203	95	6	176	345	254	7	-	-	-	-	-
Cocons vides anormaux	5	9	10	4	102	6	6	5	316	-	-	-	-	-
Adultes viables récoltés	180	198	169	85	3	156	274	129	7	43	49	9	2	0
Adultes non viables récoltés	3	10	19	1	1	0	0	16	3	-	-	-	-	-
% nymphose	94.1	93.9	87.3	94.3	87.1	88.3	93.8	93.4	94.7	-	-	-	-	-
% réduction d'émergence (cocons) (1)	8.1	9.7	16.8	9.5	95.2	14.6	7.8	8.4	97.9	-	-	-	-	-
% réduction d'émergence (adultes) (2)	18.6	19.8	30.7	19.1	97.6	24.3	26.7	52.9	97.9	30.6	60.1	94.0	98.7	100

ANNEXE 14: Pourcentage de réduction d'émergence pour l'OMS 3007 CE 10%, l'OMS 3019 CE 10% et l'OMS 3010 CE 12.5%.

Evaluation complémentaire sur larves jeunes de S. yahense. Temps de contact 10 mn - Akakro - Janvier 1986.

(1): calculé par rapport au nombre de cocons vides normaux sur le nombre total de larves testées.

(2): calculé par rapport au nombre d'adultes viables sur le nombre total de larves testées.

	101-51 (souche 2362)			
	essai N°1	essai N°2	essai N°3	moyenne
CL 50 48hrs	0.078 (0.05/0.122)	0.044 (0.024/0.08)	0.055 (0.041/0.075)	0.059
CL 95 48hrs	0.452 (S)	0.851 (S)	0.634 (S)	0.65
CL 50 72hrs	0.013 (0.01/0.018)	0.019 (0.014/0.026)	0.048 (0.021/0.011)	0.027
CL 95 72hrs	0.084 (NS)	0.074 (S)	1.411 (S)	0.52

	101-52 (souche inconnue)			
	essai N°1	essai N°2	essai N°3	moyenne
CL 50 48hrs	0.073 (0.064/0.083)	0.133 (0.106/0.167)	0.071 (0.055/0.093)	0.092
CL 95 48hrs	0.33 (NS)	0.726 (S)	3.731 (NS)	1.59
CL 50 72hrs	0.019 (0.016/0.023)	0.038 (0.018/0.079)	0.082 (0.063/0.107)	0.046
CL 95 72hrs	0.117 (NS)	0.279 (S)	0.501 (S)	0.30

ANNEXE 15: Titrage biologique de deux échantillons de B. sphaericus (101-51 et 101-52) sur C. quinquefasciatus souche "Bouaké".
 Résultats détaillés du triple essai.
 Les concentrations sont exprimées en 10⁻² mg/l.
 (S): X2 significatif au seuil de 5%.
 (NS): X2 non significatif au seuil de 5%.

	U. S. A. (souche 2362)			
	essai N°1	essai N°2	essai N°3	moyenne
CL 50 48hrs	0.119 (0.104/0.136)	0.139 (0.111/0.174)	0.16 (0.109/0.231)	0.139
CL 95 48hrs	0.72 (NS)	1.028 (S)	1.274 (S)	1.00
CL 50 72hrs	0.034 (0.031/0.038)	0.043 (0.038/0.048)	0.064 (0.064/0.089)	0.047
CL 95 72hrs	0.073 (NS)	0.188 (NS)	0.641 (S)	0.3

	SPH 84 (souche 2297)			
	essai N°1	essai N°2	essai N°3	moyenne
CL 50 48hrs	0.16 (0.14/0.19)	0.121 (0.105/0.139)	0.17 (0.15/0.2)	0.150
CL 95 48hrs	1.12 (NS)	0.91 (NS)	1.02 (NS)	1.01
CL 50 72hrs	0.0508 (0.045/0.055)	0.061 (0.049/0.076)	0.09 (0.061/0.132)	0.067
CL 95 72hrs	0.31 (S)	0.461 (S)	0.337 (S)	0.369

ANNEXE 16: Titrage biologique de deux échantillons de B. sphaericus (U. S. A. - 2362 et SPH 84) sur C. quinquefasciatus souche "Bouaké.
Résultats détaillés du triple essai.
Les concentrations sont exprimées en 10⁻² mg/l.
(S): X2 significatif au seuil de 5%.
(NS): X2 non significatif au seuil de 5%.

	ABG 6184 (souche 2362)			
	essai N°1	essai N°2	essai N°3	moyenne
CL 50 48hrs	0.13 (0.12/0.16)	0.154 (0.115/0.206)	0.174 (0.139/0.219)	0.152
CL 95 48hrs	0.71 (NS)	1.84 (S)	1.17 (S)	1.24
CL 50 72hrs	0.037 (0.026/0.052)	0.053 (0.041/0.068)	0.047 (0.042/0.054)	0.045
CL 95 72hrs	0.19 (S)	0.369 (S)	0.16 (NS)	0.182

	Inde (souche 1593)			
	essai N°1	essai N°2	essai N°3	moyenne
CL 50 48hrs	0.120 (0.10/0.16)	0.127 (0.097/0.165)	0.246 (0.217/0.279)	0.164
CL 95 48hrs	0.78 (S)	0.887 (S)	1.312 (NS)	0.993
CL 50 72hrs	0.038 (0.027/0.053)	0.035 (0.027/0.045)	0.109 (0.096/0.123)	0.060
CL 95 72hrs	0.169 (S)	0.338 (NS)	0.538 (NS)	0.348

ANNEXE 17: Titrage biologique de deux échantillons de B. sphaericus (ABG 6184 et Inde - 1593) sur C. quinquefasciatus souche "Bouaké".
 Résultats détaillés du triple essai.
 Les concentrations sont exprimées en 10^{-2} mg/l.
 (S): X2 significatif au seuil de 5%.
 (NS): X2 non significatif au seuil de 5%.

	U. S. A. (souche 2297)			
	essai N° 1	essai N° 2	essai N° 3	moyenne
CL 50 48hrs	0.123 (0.087/0.174)	0.199 (0.118/0.334)	0.2 (0.159/0.258)	0.174
CL 95 48hrs	0.963 (S)	1.9 (S)	1.0 (S)	1.28
CL 50 72hrs	0.056 (0.043/0.072)	0.057 (0.035/0.093)	0.051 (0.042/0.061)	0.054
CL 95 72hrs	0.535 (S)	1.066 (S)	0.571 (S)	0.724

	RB 80 (souche 1593-4)			
	essai N° 1	essai N° 2	essai N° 3	moyenne
CL 50 48hrs	0.183 (0.135/0.247)	0.270 (0.203/0.360)	0.183 (0.141/0.238)	0.212
CL 95 48hrs	2.778 (S)	2.296 (S)	1.427 (S)	2.167
CL 50 72hrs	0.099 (0.083/0.119)	0.079 (0.060/0.104)	0.044 (0.034/0.057)	0.074
CL 95 72hrs	1.079 (NS)	0.451 (S)	0.206 (S)	0.579

ANNEXE 18: Titrage biologique de deux échantillons de B. sphaericus (U. S. A. - 2297 et RB 80) sur C. quinquefasciatus souche "Bouaké".
 Résultats détaillés du triple essai.
 Les concentrations sont exprimées en 10⁻² mg/l.
 (S): X2 significatif au seuil de 5%.
 (NS): X2 non significatif au seuil de 5%.

	BS 48 (souche 2362)			
	essai N° 1	essai N° 2	essai N° 3	moyenne
CL 50 48hrs	0.196 (0.144/0.266)	0.240 (0.179/0.322)	0.258 (0.177/0.375)	0.231
CL 95 48hrs	0.957 (S)	3.367 (S)	2.772 (S)	2.365
CL 50 72hrs	0.038 (0.020/0.071)	0.082 (0.064/0.104)	0.089 (0.067/0.118)	0.070
CL 95 72hrs	0.152 (S)	0.587 (S)	0.376 (S)	0.372

	Solvay (souche 1593-4)			
	essai N° 1	essai N° 2	essai N° 3	moyenne
CL 50 48hrs	0.392 (0.308/0.499)	0.322 (0.220/0.472)	0.253 (0.166/0.385)	0.322
CL 95 48hrs	1.447 (S)	15.271 (S)	5.001 (S)	7.240
CL 50 72hrs	0.104 (0.94/0.116)	0.091 (0.064/0.130)	0.145 (0.123/0.171)	0.113
CL 95 72hrs	0.304 (NS)	2.433 (S)	1.549 (NS)	1.429

ANNEXE 19: Titrage biologique de deux échantillons de B. sphaericus (BS 48 et Solvay 1593-4) sur C. quinquefasciatus souche "Bouaké".
 Résultats détaillés du triple essai.
 Les concentrations sont exprimées en 10^{-2} mg/l.
 (S): X2 significatif au seuil de 5%.
 (NS): X2 non significatif au seuil de 5%.

	BS 40 (souche 2297)			
	essai N° 1	essai N° 2	essai N° 3	moyenne
CL 50 48hrs	0.353 (0.281/0.444)	0.430 (0.378/0.489)	0.485 (0.335/0.701)	0.423
CL 95 48hrs	3.040 (S)	2.420 (NS)	5.414 (S)	3.625
CL 50 72hrs	0.182 (0.135/0.247)	0.174 (0.106/0.286)	0.134 (0.117/0.152)	0.163
CL 95 72hrs	1.232 (S)	2.179 (S)	0.750 (NS)	1.387

	BSP 1 (souche 2362)			
	essai N° 1	essai N° 2	essai N° 3	moyenne
CL 50 48hrs	0.9 (0.7/1.0)	0.6 (0.52/0.69)	0.3 (0.22/0.45)	0.6
CL 95 48hrs	2.5 (S)	5.02 (NS)	5.09 (S)	4.0
CL 50 72hrs	0.7 (0.6/0.8)	0.12 (0.07/0.22)	0.12 (0.08/0.18)	0.3
CL 95 72hrs	2.2 (NS)	1.22 (S)	1.37 (S)	1.6

ANNEXE 20: Titrage biologique de deux échantillons de B. sphaericus (BS 40 et BSP 1) sur C. quinquefasciatus souche "Bouaké".
 Résultats détaillés du triple essai.
 Les concentrations sont exprimées en 10⁻² mg/l.
 (S): X2 significatif au seuil de 5%.
 (NS): X2 non significatif au seuil de 5%.

	Inde (souche 1593-M)			
	essai N°1	essai N°2	essai N°3	moyenne
CL 50 48hrs	2.16 (1.55/3.03)	2.18 (1.84/2.59)	1.94 (1.35/2.80)	2.09
CL 95 48hrs	29.9 (S)	15.8 (NS)	21.8 (S)	22.5
CL 50 72hrs	0.28 (0.23/0.34)	0.59 (0.38/0.93)	0.23 (0.11/0.49)	0.37
CL 95 72hrs	3.4 (NS)	9.9 (S)	7.6 (S)	6.97

	Inde (souche 2297)			
	essai N°1	essai N°2	essai N°3	moyenne
CL 50 48hrs	1.8 (1.56/2.08)	2.88 (2.32/3.57)	4.7 (4.0/5.5)	3.12
CL 95 48hrs	11.42 (NS)	16.16 (S)	40.00 (NS)	22.52
CL 50 72hrs	0.259 (0.118/0.570)	1.93 (1.56/2.39)	9.9 (8.3/11.8)	4.02
CL 95 72hrs	4.164 (S)	9.3 (S)	53.6 (NS)	22.35

ANNEXE 21: Titrage biologique de deux échantillons de B. sphaericus (1593-M et Inde - 2297) sur C. quinquefasciatus souche "Bouaké".
 Résultats détaillés du triple essai.
 Les concentrations sont exprimées en 10⁻² mg/l.
 (S): X2 significatif au seuil de 5%.
 (NS): X2 non significatif au seuil de 5%.

	Inde (souche 2362)			
	essai N°1	essai N°2	essai N°3	moyenne
CL 50 48hrs	60.9 (44.0/84.3)	44.0 (39.0/51.0)	100.0 (72.0/140.0)	68.3
CL 95 48hrs	332.8 (S)	339.0 (NS)	869.0 (S)	513.6
CL 50 72hrs	19.2 (13.4/27.4)	23.0 (18.0/30.0)	18.0 (15.0/21.0)	20.06
CL 95 72hrs	142.2 (S)	88.0 (S)	147.0 (NS)	125.73

ANNEXE 22: Titrage biologique d'un échantillon de B. sphaericus (Inde - 2362) sur C. quinquefasciatus souche "Bouaké".
 Résultats détaillés du triple essai.
 Les concentrations sont exprimées en 10⁻² mg/l.
 (S): X2 significatif au seuil de 5%.
 (NS): X2 non significatif au seuil de 5%.

	Nombre de semaines après traitement								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Total nymphes récoltées	165	153	184	138	78	67	130	84	92
Nymphes mortes au moment du prélèvement	63	30	73	47	8	3	0	1	0
Nymphes mortes après mise en observation	90	123	108	86	35	12	18	4	3
Exuvies nymphales	12	0	3	5	35	52	112	72	89
Adultes non viables	0	0	0	3	0	5	0	7	0
Pourcentage de réduction d'émergence	92.7	100	98.4	98.6	55.1	29.9	13.8	14.3	3.3

ANNEXE 23: Mise en observation hebdomadaire des nymphes de C. quinquefasciatus prélevées dans un puisard traité à 0.1 mg/l par l'OMS 3019 (poudre mouillable).

RESUME

LUTTE CONTRE LES SIMULIES ET LES MOUSTIQUES EN AFRIQUE DE L'OUEST: EVALUATION DANS LES CONDITIONS NATURELLES DE L'EFFICACITE DE NOUVEAUX LARVICIDES, AGENTS DE LUTTE BIOLOGIQUE ET ANALOGUES DE REGULATEURS DE CROISSANCE.

Trois vecteurs importants de graves endémies ont en commun de pouvoir être combattus efficacement au niveau larvaire: Simulium damnosum s.l., responsable de la transmission de l'onchocercose humaine en Afrique de l'Ouest, Aedes aegypti, important vecteur d'arboviroses et Culex quinquefasciatus, vecteur de la filariose de Bancroft dans certaines régions tropicales.

Ces insectes sont résistants à un grand nombre d'insecticides chimiques couramment utilisés en santé publique. Aussi avons nous évalué dans les conditions naturelles de nouveaux agents de lutte dont les facteurs toxiques et les mécanismes d'action sont différents des autres composés, ceci afin de diminuer les risques de résistance avec des substances analogues.

Après avoir présenté les zones d'étude et les larvicides testés, nous avons regroupé au sein d'un même chapitre les techniques d'évaluation avant d'aborder, vecteur après vecteur, les résultats et les conclusions de notre travail.

CHAPITRE I: PRESENTATION DES ZONES D'ETUDES

Tous les gîtes larvaires que nous avons étudiés se situent en Côte d'Ivoire (Afrique de l'Ouest). Après avoir présenté brièvement ce pays, nous avons passé en revue les différents sites d'étude.

Les stations de travail pour l'évaluation de l'efficacité des larvicides antisimulidiens diffèrent essentiellement par la nature des espèces présentes: S. yahense pour le gîte d'Akakro (petite rivière en forêt tropicale) et un mélange d'espèces forêt/savane du complexe S. damnosum pour le gîte de Touba (grande rivière en zone de savane guinéenne). Ces gîtes ont été sélectionnés en fonction de la densité larvaire, des possibilités d'installation des dispositifs d'évaluation à échelle réduite et de leur facilité d'accès.

L'évaluation de larvicides pour la lutte contre A. aegypti s'est déroulée dans la région nord-est de M'Bahiakro, victime en 1982 d'une épidémie de fièvre jaune. Compte-tenu de l'importance

épidémiologique d'A. aegypti, seul responsable de la transmission interhumaine de la maladie, nous avons sélectionné deux villages, dont les gîtes larvaires sont essentiellement constitués par les réservoirs d'eau de boisson situés à l'intérieur des habitations.

De façon classique, les gîtes préimaginaux à C. quinquefasciatus sont constitués par des puisards, latrines, fosses septiques ou canivaux engorgés, c'est-à-dire des réservoirs d'eaux usées résultant de l'activité humaine. Le choix de notre zone d'étude s'est porté sur la ville de Bouaké, deuxième ville de Côte d'Ivoire, dont l'urbanisation incontrôlée, caractéristique de toutes les grandes agglomérations africaines, a favorisé la multiplication de ce type d'habitat.

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

Nous avons réalisé, dans une première partie, une revue des principales caractéristiques des insecticides utilisés dans cette étude.

B. thuringiensis sérotype H-14 est une bactérie sporogène dont l'activité larvicide est exclusivement liée à une delta-endotoxine hautement pathogène pour les larves de moustiques et de similies, et dépourvue de toxicité sur la faune non-cible et les mammifères.

Les différentes souches de B. sphaericus que nous avons testées sont très pathogènes pour certaines espèces de moustiques mais leur toxicité sur les similies est pratiquement nulle. L'activité larvicide est liée à une ou plusieurs toxines de nature protéique dont la localisation dans la bactérie varie avec les souches considérées. Cette bactérie sporogène est également dépourvue de toxicité sur la faune non-cible et les mammifères.

Outre ces deux agents de lutte biologique, nous avons évalué sur le terrain des composés analogues de régulateurs de croissance, insecticides chimiques intervenant sur la physiologie de l'insecte. Sur les six composés que nous avons testés, 3 d'entre eux sont des inhibiteurs des synthèses de la chitine (ecdysosides) et les 3 autres des analogues de l'hormone juvénile des insectes (juvénoïdes). Leur toxicité sur la faune non cible et les mammifères est encore peu connue mais ces substances devraient être relativement peu toxiques dans la mesure où elles interviennent sur un processus physiologique spécifique des insectes.

Dans la deuxième partie de ce chapitre, nous avons regroupé les techniques d'étude utilisées pour l'évaluation à échelle réduite de ces composés.

S. damnosum: il est difficile d'évaluer l'efficacité des formulations en traitant directement les gîtes préimaginaux. C'est pourquoi nous avons eu recours à des dispositifs appropriés permettant de simuler les conditions naturelles. Après avoir décrit les différents appareils (auges, minigouttières, piano), nous avons rappelé le protocole d'évaluation des larvicides antisimulidiens et terminé ce paragraphe par la description et l'évaluation de la validité d'un appareil permettant de maintenir en survie et de transporter sur de longues distances des larves de simuliés.

A. aegypti et C. quinquefasciatus: dans les zones que nous avons étudiées, les stades préimaginaux sont inféodés à des gîtes domestiques facilement accessibles, bien délimités, de taille réduite et suffisamment nombreux pour permettre, contrairement aux simuliés, une évaluation in situ des formulations larvicides. Nous avons décrit pour chaque espèce testée le protocole d'évaluation composé de 5 étapes principales: prospection des gîtes, échantillonnage de la population larvaire, traitement, contrôle de l'efficacité et exploitation des résultats.

La dernière partie concerne les expérimentations de laboratoire qui ont précédé, accompagné ou suivi l'évaluation des larvicides sur le terrain, particulièrement les agents de lutte biologique. Nous avons eu recours à la méthode biologique (titrage biologique et expérimentations dérivées de ce titrage) et à des analyses bactériologiques, principalement avec B. sphaericus.

CHAPITRE III: LUTTE CONTRE LES LARVES DU COMPLEXE SIMULIUM DAMNOSUM: EVALUATION DE L'EFFICACITE DE BACILLUS THURINGIENSIS H-14 ET D'ANALOGUES DE REGULATEURS DE CROISSANCE.

Sur plus de 200 formulations de B. thuringiensis H-14 testées, la majorité a été éliminée pour leur efficacité insuffisante et des caractéristiques physiques non adaptées aux conditions de terrain.

Si l'on se place dans le contexte du programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest, une seule d'entre elles, le Teknar HPD (suspension concentrée d'une souche asporogène), a été retenue suite à des essais en rivière avec une formulation industrielle. La sélection de cette formulation, efficace à 1,2 mg/l/10mn, permet d'élargir les possibilités d'utilisation de cette bactérie à des rivières à plus grand débit pouvant atteindre 300

m3/sec (contre 50 m3/sec avec l'ancienne formulation).

Bien qu'aucun des analogues de régulateurs de croissance que nous ayons testés n'ait dépassé le stade de l'évaluation à échelle réduite, les résultats enregistrés avec deux juvénoïdes, notamment l'OMS 3010 et 3019, incitent à poursuivre les recherches sur cette catégorie d'insecticides. Un effort particulier doit être entrepris au niveau de la méthodologie non seulement pour l'amélioration des dispositifs déjà existants mais également pour la mise au point d'un protocole d'évaluation en rivière afin de donner une bonne approximation de l'impact des traitements expérimentaux.

CHAPITRE IV: LUTTE CONTRE LES LARVES D'AEDES AEGYPTI: EVALUATION DE L'EFFICACITE DE BACILLUS THURINGIENSIS H-14.

Le traitement à 1 et 5 mg/l des eaux de boisson par une suspension concentrée de B. thuringiensis H-14 (Teknar) provoque 100% de mortalité des larves d'A. aegypti mais la rémanence est inférieure à une semaine, quelle que soit la concentration utilisée. Toutefois, le pourcentage de gîtes positifs dans le village traité ne revient à un niveau équivalent à celui du village témoin qu'entre les deuxième et troisième semaines après un traitement à 1 mg/l et les troisième et quatrième semaines à 5 mg/l.

La faible rémanence de cette formulation ne permet pas d'envisager son utilisation opérationnelle pour la lutte contre A. aegypti. Cependant, compte-tenu des qualités de cet insecticide biologique (innocuité pour les mammifères, stabilité de la toxine et toxicité pour A. aegypti), il serait peut-être intéressant de rechercher une formulation qui maintiendrait la toxine sur la paroi des canaris, c'est-à-dire dans la zone de nutrition des larves.

CHAPITRE V: LUTTE CONTRE LES LARVES DE CULEX
QUINQUEFASCIATUS: EVALUATION DE L'EFFICACITE
DE BACILLUS THURINGIENSIS H-14, DE
BACILLUS SPHAERICUS ET D'ANALOGUES DE
REGULATEURS DE CROISSANCE.

Qu'il s'agisse d'un produit primaire ou formulé, la rémanence de B. thuringiensis H-14 en eaux polluées n'excède jamais plus d'une semaine quelle que soit la concentration utilisée. Ces résultats seraient dus principalement à une sédimentation de l'endotoxine bactérienne qui, bien que toujours toxique, se retrouverait rapidement en dehors de la zone de nutrition des larves de C. quinquefasciatus (dans les premiers cinquante centimètres d'eau).

Contrairement à B. thuringiensis H-14, une suspension concentrée de la souche 2362 de B. sphaericus (BSP 1) a permis de supprimer la population préimaginale de C. quinquefasciatus pendant 5 à 6 semaines après un traitement à 10 g/m². A la suite de travaux complémentaires réalisés dans les gîtes larvaires (essentiellement des analyses bactériologiques), l'hypothèse avancée est que cette différence de rémanence entre les deux bactéries serait liée aux rapports existant entre la toxine et la spore: dans le cas de B. thuringiensis H-14, les cristaux ne sont pas liés aux spores et sédimentent plus rapidement que ces dernières alors que pour B. sphaericus, les facteurs toxiques sont étroitement associés à la spore qui ferait en quelque sorte office de "flotteur".

Bien que le recyclage de B. sphaericus ait été mis en évidence dans les gîtes larvaires, celui-ci ne semble pas jouer un rôle important dans les conditions naturelles.

Parmi les différents composés et formulations d'analogues de régulateurs de croissance testés dans cette étude, un juvénoïde, l'OMS 3019 a supprimé toutes les émergences des adultes pendant au moins neuf mois après un traitement des gîtes larvaires à 1 g/m². Cette remarquable rémanence, jamais atteinte avec d'autres insecticides chimiques, serait due d'une part à une adsorption de la matière active sur les particules organiques en suspension, d'autre part à une remarquable stabilité de l'insecticide dans les conditions régnant dans les gîtes larvaires.

Si l'on se place dans une perspective d'utilisation opérationnelle de ces composés, le BSP 1 (B. sphaericus) et l'OMS 3019 (régulateur de croissance) sont des candidats très prometteurs pour la lutte contre ce moustique en milieu urbain et pourraient dans un avenir proche renforcer l'arsenal des insecticides habituellement utilisés, notamment dans les zones de haute endémicité filarienne où C. quinquefasciatus est résistant aux insecticides chimiques.

CHAPITRE VI: DISCUSSION GENERALE

Dans ce chapitre sont émises quelques considérations d'ordre général sur les différents problèmes et obstacles rencontrés avant, pendant et après l'évaluation de nouveaux insecticides en santé publique. Ces quelques éléments de réflexion mettent en évidence l'importance que revêt la formulation des produits actifs, permettant une utilisation spécifique contre des vecteurs ayant chacun une écologie larvaire très particulière.

CHAPITRE VII: CONCLUSIONS GENERALES

Nous rappelons, dans ce chapitre, les formulations les plus prometteuses sélectionnées lors de l'évaluation à échelle réduite et émettons quelques recommandations visant à augmenter le nombre des insecticides utilisables en santé publique. Après avoir proposé quelques perspectives de recherches dans des domaines bien particuliers (lutte biologique, influence des doses subléthales et résistance aux insecticides), nous terminons sur la place et l'avenir de la lutte antivectorielle pour la lutte contre les grandes endémies en milieu tropical.

Mots-clés: insectes vecteurs - agents de lutte biologique -
analogues de régulateurs de croissance - lutte
antilarvaire - évaluation à échelle réduite -
Afrique tropicale.

SUMMARY

THE CONTROL OF BLACK FLIES AND MOSQUITOS IN WEST AFRICA : FIELD EVALUATION OF NEW LARVICIDES, BIOLOGICAL CONTROL AGENTS AND INSECT GROWTH REGULATORS.

It is a feature common to three important vectors of serious diseases that they can be controlled in the larval stage : these vectors are Simulium damnosum s.l., a vector of human onchocerciasis in West Africa, Aedes aegypti, an important vector of arbovirosis and Culex quinquefasciatus, a vector of Bancroftian filariasis in tropical zones.

Because these insects are resistant to many of the chemical insecticides commonly used in public health, we conducted field tests on new control agents differing in their toxicity and mode of action from the other compounds. Our purpose in so doing was to reduce the risks of resistance that arise with similar substances.

An account of the various study areas and the larvicides tested is followed by a chapter on evaluation methods, separate chapters on the results, one for each vector, and two final chapters embodying the conclusions of our study.

CHAPTER I : THE STUDY AREAS

All the breeding sites investigated are in the Ivory Coast (West Africa). A brief description of the country is followed by a survey of the breeding sites investigated. The main difference between the study points at which the black fly larvicides were screened was in the species present, namely S. yahense for the Akakro breeding site (small tropical forest river) and a mixture of savanna and forest species of the S. damnosum complex for the touba breeding site (a large river in the Guinean savanna zone). These sites were selected for their larval density, their accessibility and their suitability for the installation of small-scale devices.

Larvicides for the control of A. aegypti were evaluated in the north-eastern zone of M'Bahiakro, which suffered from an epidemic of yellow fever in 1982. Given the epidemiological importance of A. aegypti, which is solely responsible for the inter-human transmission of the disease, we selected two villages in which Aedes breeding sites are mainly earthen drinking-water jars inside the house.

C. quinquefasciatus breeding sites are to be found as a rule in septic tanks, pit latrines or blocked drains, i.e. in domestic

waste water and sewage. Our chosen study area here was Bouaké, the second largest city of the Ivory Coast, where uncontrolled urban development (a feature of the major african cities) has led to the proliferation of this type of breeding site.

CHAPTER II : MATERIAL AND METHODS

The opening section sets out the main characteristics of the insecticides used in this study.

B. thuringiensis H-14 is a sporogenic bacterium whose larvicidal activity is exclusively linked to a delta-endotoxin which is highly pathogenic for mosquito and black fly larvae, but safe for the non-target fauna, including mammals.

the various strains of B. sphaericus tested are highly pathogenic for certain species of mosquitos, but their toxicity for black fly larvae is practically nil. The larvicidal activity is linked to one or more proteinic toxins whose localization differs from strain to strain. This sporogenic bacterium is also safe for the non-target fauna, including mammals.

In addition to these two biological control agents, we field tested some chemical analogues of insect growth regulators, which are insecticides that affect the physiology of the insect. Of the six compounds tested, three were Chitin Synthesis inhibitors (C.S.i.), and the others were Juvenile Hormone mimics (J.H.m.). Little is known yet about their toxicity for the non-target fauna, including mammals, but it seems likely to be relatively slight in view of their involvement in a physiological process specific to insects.

The second section of this chapter deals with methods used for the small-scale evaluation of the compounds.

S. damnosum : it is difficult to evaluate insecticide formulations by direct application in the breeding sites. We therefore used devices that adequately simulated the field conditions. A description of the different systems ("troughs", "minigutters", "piano"), is followed by a recapitulation of the protocol for the evaluation of black fly larvicides. The paragraph concludes with the description and assessment of a device used to keep larvae alive and transport them over long distances.

A. aegypti and C. quinquefasciatus : in the zones that we investigated the preimaginal stages are found in domestic breeding sites that are easily accessible, well delimited, of reduced size and numerous enough to permit in situ evaluation of the formulations, which was not possible for the black flies. A five-stage

evaluation protocol is described for each of the species : site prospecting, sampling of the larval population, treatment, assessment of larvicidal activity and analysis of the results.

The last section deals with the laboratory experiments which preceded, accompanied or followed the field evaluation of the larvicides. The methods employed were bioassay and bacteriological analyses, more especially in the study of B. sphaericus .

CHAPTER III : THE CONTROL OF LARVAE OF THE SIMULIUM DAMNOSUM COMPLEX : EVALUATION OF BACILLUS THURINGIENSIS H-14 AND ANALOGUES OF INSECT GROWTH REGULATORS.

Most of the more than 200 formulations of B. thuringiensis H-14 tested were rejected as inadequately effective and because their physical characteristics were unsuitable for the field.

In the context of the Onchocerciasis Control Programme (OCP) in West Africa, only one, Teknar HPD (a liquid concentrate of an asporogenic strain), was selected, after preliminary field tests with a commercial formulation. This formulation, which is effective at 1.2 mg/1/10mn, potentially extends the use of this bacterium to rivers with a discharge of up to 300m³/sec. (as against 50 m³/sec. with the previous Teknar formulation).

Although none of the insects growth regulators tested on a small scale has got beyond that stage, the results obtained with some of them, mainly OMS 3010 and OMS 3019, prompt us to continue our research on this type of insecticide. A special effort must be made in the methodology not only to improve the evaluation devices but also to develop a river test protocol adequately to reflect the impact of such compounds when used for treatment.

CHAPTER IV : CONTROL OF AEDES AEGYPTI LARVAE : EVALUATION OF BACILLUS THURINGIENSIS H-14.

The treatment of drinking water jars with a concentrated suspension of B. thuringiensis H-14 (Teknar) (1 and 5mg/l) produces 100% mortality of A. aegypti larvae, but the residual effect is less than one week, whatever the concentration. Despite that fact the percentage of positive breeding sites in the treated village does not return to a level similar to that in the untreated village until

between the second and third week after treatment at 1mg/l and between the third and fourth week after treatment at 5mg/l.

The low residual effect of this formulation rules out its consideration for the control of A. aegypti in drinking water. Nevertheless, in view of the qualities of this biological insecticide (harmlessness for mammals, stability of the toxin and toxicity for A. aegypti), it would be of interest to find a formulation which would maintain the active ingredient on the wall of the earthen jars, namely in the larval feeding zone.

CHAPTER V : CONTROL OF CULEX QUINQUEFASCIATUS LARVAE :
EVALUATION OF BACILLUS THURINGIENSIS H-14,
BACILLUS SPHAERICUS AND ANALOGUES OF INSECT
GROWTH REGULATORS.

Whatever the concentration used, the residual activity of B. thuringiensis H-14 in polluted water never exceeds one week, either for the primary or the formulated compound. These results are likely to be due mainly to settling of the bacterial endotoxin, which would rapidly pass out of the C. quinquefasciatus larval feeding zone (in the upper fifty cm of the water).

Unlike B. thuringiensis, a concentrate suspension of B. sphaericus strain 2362 (BSP 1) eliminated the C. quinquefasciatus larval population for 5 to 6 weeks following treatment at 10 g/m². Arising from further analyses in the breeding sites (mainly bacteriological analyses), it is assumed that this difference of residual effect between the two bacteria is likely to be due to the relations existing between the toxin and the spore : in the case of B. thuringiensis H-14, the crystal are not linked to the spores and they settle more rapidly than the latter, while in the case of B. sphaericus, the toxic agents are closely linked to the spore, making it a kind of "float".

Although recycling of B. sphaericus has been shown to occur in breeding sites, it does not seem to play a significant role under field conditions.

Among the various compounds and formulations of insect growth regulator analogues tested in this study, a juvenoid, OMS 3019, was effective in preventing the emergence of adult insects for at least nine months after treatment of the breeding sites at 1 g/m². This very striking residual effect, never achieved with other chemical insecticides, is likely to be due, on the one hand, to the adsorption of the active ingredient on suspended organic matter and, on the other hand, to the extraordinary stability of the insecticide under the

conditions prevailing in the breeding sites.

As regards the operational feasibility of these compounds, BSP 1 (B. sphaericus) and OMS 3019 (insect growth regulator) are very promising for the control of this mosquito in urban areas and could very shortly be added to the arsenal of compounds in common use, mainly in areas of high filariasis endemicity, where C. quinquefasciatus is resistant to chemical insecticides.

CHAPTER VI : GENERAL DISCUSSION

In this chapter, the author expresses some general views on the problems and obstacles encountered before, during and after the evaluation of new insecticides for public health use. These views reveal how important it is to produce formulations of active products "tailor made" for use against vectors, each of which has a highly distinctive larval ecology.

CHAPTER VII : GENERAL CONCLUSIONS

This chapter contains a recapitulation of the most promising formulations selected in the field tests and suggestions for increasing the number of insecticides suitable for use in public health. After making a few suggestions on the prospects for research in specific fields (biological control, influence of sub-lethal dosages, insecticide resistance), the author concludes with some considerations on the present and future role of vector control in combatting the major endemic diseases prevailing in the tropical zone.

Key-words : Vectors - biological control agents - insect growth regulators - larval control - field tests - tropical Africa.

TABLE DES MATIERES

	pages
AVANT PROPOS.....	5
INTRODUCTION.....	11
CHAPITRE I: PRESENTATION DES ZONES D'ETUDES.....	15
1. PRESENTATION GENERALE DE LA COTE D'IVOIRE.....	17
2. LES GITES PREIMAGINAUX A <u>SIMULIUM DAMNOSUM</u>	19
2.1. Rappels généraux.....	19
2.2. La station de Touba.....	20
2.3. La station d' Akakro.....	21
3. LES GITES PREIMAGINAUX A <u>AEDES AEGYPTI</u>	22
3.1. Rappels généraux.....	22
3.2. La station de M' Bahiakro.....	23
4. LES GITES PREIMAGINAUX A <u>CULEX QUINQUEFASCIATUS</u>	24
4.1. Rappels généraux.....	24
4.2. La station de Bouaké.....	24
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES.....	27
1. REVUE DES LARVICIDES UTILISES.....	29
1.1. Les agents de lutte biologique.....	29
1.1.1. <u>B. thuringiensis</u> H-14.....	30
1.1.2. <u>B. sphaericus</u>	32
1.2. Les composés analogues des régulateurs de croissance.....	35
1.2.1. Généralités sur les juvénoïdes et les ecdysoïdes.....	35
1.2.2. Présentation des composés régulateurs de croissance utilisés dans cette étude.....	37
1.2.2.1. L'OMS 2015.....	37
1.2.2.2. L'OMS 2016 et 2017.....	37
1.2.2.3. L'OMS 3007 et 3019.....	38
1.2.2.4. L'OMS 3010.....	38
1.3. Remarques de terminologie.....	38

2. TECHNIQUES D'ETUDE.....	41
2.1. Evaluation à échelle réduite de l'efficacité des larvicides antisimulidiens.....	41
2.1.1. Techniques de criblage des formulations antisimulidiennes.....	41
2.1.1.1. Dispositif de traitement avec des insecticides chimiques.....	41
2.1.1.2. Dispositif de traitement avec les agents de lutte biologique.....	42
2.1.1.3. Dispositif de mise en observation des larves traitées.....	42
2.1.1.4. Dispositif de colonisation naturelle de supports artificiels par les larves de simulies.....	44
2.1.1.5. Aménagement d'une station d'étude.....	44
2.1.1.6. Protocole d'évaluation pour le criblage des formulations antisimulidiennes.....	44
2.1.2. Mesure des caractéristiques physiques des formulations de <u>B. thuringiensis</u> H-14.....	52
2.1.3. Transport et maintien en survie des larves de simulies.....	52
2.1.3.1. Introduction.....	52
2.1.3.2. Description de l'appareil.....	53
2.1.3.3. Résultats.....	53
2.2. Evaluation à échelle réduite de l'efficacité de larvicides anticulicidiens.....	57
2.2.1. Evaluation de l'efficacité d'une formulation de <u>B. thuringiensis</u> H-14 dans des gîtes larvaires à <u>A. aegypti</u>	57
2.2.1.1. Prospection.....	57
2.2.1.2. Echantillonnage.....	57
2.2.1.3. Traitement.....	58
2.2.1.4. Contrôle de l'efficacité.....	58
2.2.1.5. Exploitation des résultats.....	58
2.2.2. Evaluation de l'efficacité de <u>B. thuringiensis</u> H-14, <u>B. sphaericus</u> et d'analogues de régulateurs de croissance dans des gîtes larvaires à <u>C. quinquefasciatus</u>	60
2.2.2.1. Prospection.....	60
2.2.2.2. Echantillonnage.....	60
2.2.2.3. Traitement.....	61
2.2.2.4. Contrôle de l'efficacité.....	62
2.2.2.5. Exploitation des résultats.....	62
2.3. Expérimentations de laboratoire.....	65

2.3.1. Expérimentation par la méthode biologique.....	65
2.3.1.1. Titrage biologique.....	65
2.3.1.2. Autres expérimentations par la méthode biologique.....	67
2.3.2. Expérimentation par la méthode bactériologique.....	68

**CHAPITRE III: LUTTE CONTRE LES LARVES DU COMPLEXE SIMULIUM
DAMNOSUM: EVALUATION DE L'EFFICACITE DE
BACILLUS THURINGIENSIS H-14 ET
D'ANALOGUES DE REGULATEURS DE CROISSANCE.....**71

1. INTRODUCTION.....	73
2. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE DIFFERENTES FORMULATIONS DE <u>BACILLUS</u> <u>THURINGIENSIS</u> H-14.....	74
2.1. Rappels bibliographiques.....	74
2.2. Observations personnelles.....	75
2.2.1. Sélection des formulations.....	75
2.2.2. Evaluation complémentaire.....	77
2.3. Discussion.....	79
3. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE COMPOSES ANALOGUES DE REGULATEURS DE CROISSANCE.....	80
3.1. Rappels bibliographiques.....	80
3.2. Observations personnelles.....	81
3.2.1. Evaluation préliminaire sur larves âgées.....	81
3.2.2. Evaluation secondaire sur larves âgées.....	82
3.2.3. Evaluation sur larves jeunes.....	83
3.3. Discussion.....	84
4. CONCLUSIONS.....	86

**CHAPITRE IV: LUTTE CONTRE LES LARVES D'Aedes
Aegypti: EVALUATION DE L'EFFICACITE
DE Bacillus thuringiensis H-14..... 89**

1. INTRODUCTION.....	91
2. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....	92
3. OBSERVATIONS PERSONNELLES.....	93
3.1. Village non traité.....	93
3.2. Village traité.....	93
3.3. Observations diverses.....	94
4. DISCUSSION.....	96
5. CONCLUSIONS.....	97

**CHAPITRE V: LUTTE CONTRE LES LARVES DE Culex
quinquefasciatus: EVALUATION DE
L'EFFICACITE DE Bacillus thuringiensis
H-14, DE Bacillus sphaericus ET
D'ANALOGUES DE REGULATEURS DE CROISSANCE..... 99**

1. INTRODUCTION.....	101
2. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE TROIS FORMULATIONS DE <u>Bacillus thuringiensis</u> H-14.....	102
2.1. Evaluation dans les conditions naturelles.....	102
2.1.1. Rappels bibliographiques.....	102
2.1.2. Observations personnelles.....	103
2.1.2.1. Suspension concentrée Teknar.....	103
2.1.2.2. Briquettes.....	104
2.1.2.3. Granulés.....	105
2.2. Essais complémentaires au laboratoire.....	106
2.2.1. Rappels bibliographiques.....	106
2.2.2. Observations personnelles.....	107
2.2.2.1. Suspension concentrée Teknar.....	107
2.2.2.2. Formulations "slow release".....	109
2.3. Discussion.....	110

3. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE DIFFERENTES SOUCHES ET FORMULATIONS DE <u>BACILLUS SPHAERICUS</u>.	113
3.1. Titrage biologique de <u>B. sphaericus</u> .	113
3.1.1. Rappels bibliographiques.	114
3.1.2. Observations personnelles.	114
3.1.3. Discussion.	116
3.2. Evaluation de l'efficacité de <u>B. sphaericus</u> dans les conditions naturelles.	118
3.2.1. Rappels bibliographiques.	118
3.2.2. Observations personnelles.	118
3.2.2.1. Poudre mouillable 1593-4.	118
3.2.2.2. Suspension concentrée 2362 (BSP 1).	120
3.2.2.3. Observations diverses.	120
3.3. Essais complémentaires de l'évaluation sur le terrain.	122
3.3.1. Rappels bibliographiques.	122
3.3.2. Observations personnelles.	122
3.3.2.1. Sédimentation de la matière active.	122
3.3.2.2. Sédimentation <u>in situ</u> des spores de la souche 1593.	123
3.3.2.3. Sédimentation <u>in situ</u> des spores de la souche 2362.	125
3.3.2.4. Etude comparative au laboratoire du devenir de la matière active et des spores de <u>B. sphaericus</u> et de <u>B. thuringiensis</u> K-14 en milieu aqueux.	127
3.4. Discussion.	129
3.4.1. Persistance de <u>B. sphaericus</u> dans le milieu.	129
3.4.2. Recyclage de <u>B. sphaericus</u> dans le milieu.	130
4. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE COMPOSES ANALOGUES DE REGULATEURS DE CROISSANCE.	133
4.1. Rappels bibliographiques.	133
4.2. Observations personnelles.	134
4.2.1. Pourcentage d'émergence dans un puisard non traité.	134
4.2.2. Evaluation préliminaire.	134
4.2.3. Evaluation complémentaire.	136
4.2.4. Observations diverses.	137
4.2.4.1. Validité de la méthode d'évaluation.	137
4.2.4.2. Autres moustiques présents dans le gîte.	138
4.3. Discussion.	138
5. CONCLUSIONS.	140

CHAPITRE VI: DISCUSSION GENERALE..... 147

1. PROBLEMES SOULEVES AVANT L'EVALUATION DE L'EFFICACITE D'UN COMPOSE.....	149
1.1. Réalisme d'une évaluation.....	149
1.2. Limitation dans le choix des insecticides.....	150
2. PROBLEMES SOULEVES PENDANT L'EVALUATION DE L'EFFICACITE D'UN COMPOSE.....	151
2.1. Problèmes de méthodologie.....	151
2.2. Problèmes de formulation des insecticides.....	152
2.3. Qualités physico-chimiques de l'eau des gîtes.....	152
3. PROBLEMES RENCONTRES APRES L'EVALUATION DE L'EFFICACITE D'UN COMPOSE.....	153
4. CONCLUSIONS.....	154

CHAPITRE VII: CONCLUSIONS GENERALES..... 157

1. FORMULATIONS SELECTIONNES.....	159
2. RECOMMANDATIONS.....	160
3. PERSPECTIVES DE RECHERCHES.....	162
4. ROLE DE LA LUTTE ANTIVECTORIELLE.....	164

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	167
----------------------------------	-----

ANNEYES.....	195
--------------	-----

RESUME.....	221
-------------	-----

SUMMARY.....	229
--------------	-----

TABLE DES MATIERES.....	237
-------------------------	-----

