Évaluation 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 [1]

Jean-Marc HOUGARD [2], G. KOHOUN [3],
Pierre GUILLET [4], J. DOANNIO [5],
Jacques DUVAL [6], Henri ESCAFFRE [6]

Résumé

Dans la région de Bouaké, en Côte d'Ivoire, le traitement des gîtes larvaires à Culex quinquefasciatus *par la souche 1593-4 de* Bacillus sphaericus *a mis en évidence, au vu des résultats entomologiques et bactériologiques, les faits suivants :*

— *la « rémanence » de la bactérie dans le milieu varie avec la concentration utilisée ;*

— Bacillus sphaericus *1593-4 semble se recycler dans les larves mortes de* Culex quinquefasciatus. *Toutefois, ce recyclage ne se produit pas dans tous les gîtes et n'est pas assez important pour assurer un contrôle efficace de la population préimaginale.*

Mots-clés : *Bacillus sphaericus* — *Culex quinquefasciatus* — Eau polluée — Évaluation sur le terrain — Recyclage — Afrique de l'Ouest.

Summary

FIELD EVALUATION OF LARVICIDAL ACTIVITY OF *Bacillus sphaericus* NEIDE, 1904 STRAIN 1593-4 AGAINST *Culex quinquefasciatus* SAY, 1823 IN WEST AFRICA. *At Bouaké (Ivory Coast), treatment of* Culex quinquefasciatus *breeding sites by* Bacillus sphaericus *strain 1593-4 has given, after entomological and preliminary bacteriological studies, the following results :*

— *the used concentration modifies the residual activity of the bacteria (16 days at 1 g/m², over 1 month at 50 g/m²) ;*

— *recolonization of the breeding sites occurs when* Bacillus sphaericus *spores are accumulated in bottom mud.*

— Bacillus sphaericus *seems to recycle in dead* Culex quinquefasciatus *larvae but only in a few breeding sites and not at a level high enough to suppress mosquito larval population.*

Key words : *Bacillus sphaericus* — *Culex quinquefasciatus* — Polluted water — Field trials — Recycling potential — West Africa.

---

(1) Dans le cadre des accords conclus entre l'ORSTOM et l'OCCGE, ce travail a bénéficié d'une subvention du Programme Spécial PNUD/Banque Mondiale/OMS de Recherche et de Formation concernant les Maladies Tropicales.

(2) *Entomologiste médical de l'ORSTOM, OCCGE/IRTO, BP. 1500, Bouaké, Côte d'Ivoire.*
(3) *CEMV, Université Nationale de Côte d'Ivoire, BP. 2597. Bouaké, Côte d'Ivoire.*
(4) *Entomologiste médical de l'ORSTOM, 70-74 Route d'Aulnay, 93140 Bondy, France.*
(5) *Entomologiste médical de l'OCCGE/IRTO, BP. 1500, Bouaké, Côte d'Ivoire.*
(6) *Technicien d'Entomologie médicale de l'ORSTOM, OCCGE/IRTO, BP. 1500, Bouaké, Côte d'Ivoire.*

1. Introduction

Isolé en 1965 par Kellen *et al.* à partir de larves moribondes de *Culiseta incidens, Bacillus sphaericus* Neide, 1904 suscite depuis ces dernières années un intérêt croissant : la découverte de souches de plus en plus toxiques et les possibilités de recyclage envisagées dès 1979 par Hertlein *et al.* font de cet insecticide biologique un agent de lutte prometteur pour le contrôle de certains Culicidae.

Nous avons évalué l'efficacité de cette bactérie dans les réservoirs d'eau polluée (puisards, fosses septiques) à Bouaké en Côte d'Ivoire. Ces réservoirs constituent la plupart des gîtes préimaginaux à *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 en milieu urbain. Ce moustique représente une cible de choix pour une telle expérimentation :

— c'est un vecteur majeur de la filariose de Bancroft dans de nombreux pays ;

— les larves sont résistantes à de nombreux larvicides chimiques ;

— les femelles adultes, par leur piqûres, représentent une nuisance non négligeable ;

— les gîtes préimaginaux sont faciles à localiser, bien délimités et par conséquent faciles à traiter.

Le travail que nous avons réalisé repose essentiellement sur une étude de la dynamique de la population préimaginale de *Culex quinquefasciatus* traitée par ce bacille. A ce volet entomologique, nous avons adjoint une étude préliminaire bactériologique pour éclaircir les phénomènes observés sur le terrain par des analyses bactériologiques de l'eau des gîtes traités.

2. Matériel et méthodes

2.1. Volet entomologique

2.1.1. *Bacillus sphaericus souche 1593-4*

La souche 1593-4 de *Bacillus sphaericus* a été isolée en 1974 en Indonésie à partir de larves moribondes de *Culex quinquefasciatus*. Malgré la découverte récente de nouvelles souches très pathogènes pour les larves de moustiques (2362, 2297...), cette souche n'en reste pas moins l'une des plus toxiques isolées jusqu'à ce jour.

Nous disposions pour cette expérimentation de 700 grammes d'une poudre primaire de spores de *Bacillus sphaericus* 1593-4 fournie par la firme Solvay. Cette poudre présente une grande stabilité dans les conditions ordinaires de stockage (5°C — obscurité) : nous n'avons constaté aucune altération de sa toxicité (déterminée par la méthode OMS de titrage biologique sur une souche locale de *Culex quinquefasciatus*) après plus d'un an de conservation.

2.1.2. *Prospection, choix et échantillonnage des gîtes*

Si en Afrique de l'Est et dans différentes îles de l'Océan Indien, *Culex quinquefasciatus* s'est également implanté en milieu rural, il reste en Afrique de l'Ouest un moustique principalement urbain qui se développe dans les eaux polluées des caniveaux, puisards et latrines. Dans la ville de Bouaké, les gîtes préimaginaux à *Culex quinquefasciatus* sont constitués essentiellement par les puisards et fosses septiques et plus rarement par les fossés et caniveaux : contrairement à certaines grandes villes africaines, notamment celles situées en bordure de mer, le drainage des eaux de pluies et des eaux usées est ici suffisant pour éviter un engorgement de tout le réseau d'égoûts et par conséquent l'apparition dans ces caniveaux de gîtes larvaires (cf. photos 1 et 2 des différents types de puisards prospectés à Bouaké).

L'échantillonnge dans les gîtes consiste en une mesure relative de la densité en stades préimaginaux : les prélèvements se font à l'aide d'une louche (méthode du « dipping ») ; seules les larves stades III/IV et les nymphes sont prises en compte.

Parmi les différents puisards recensés à Bouaké, nous en avons sélectionné dix, riches en larves de *Culex quinquefasciatus* et d'un accès aisé. Notons également que nous avons informé les propriétaires de chaque puisard des raisons de notre passage, afin d'éviter tout traitement ou vidange des gîtes durant l'expérimentation.

2.1.3. *Traitement, contrôle de la mortalité, persistance de l'insecticide*

Pour des raisons de commodité, nous avons calculé les dosages en fonction de la surface et non du volume d'eau. Nous avons choisi trois concentrations : 1, 10 et 50 g/m^2 à raison de trois puisards par concentration et un témoin, soit un total de dix puisards mis en observation.

Nous avons suivi l'évolution de la population préimaginale pendant quatre mois environ après le traitement. Ce contrôle s'est effectué toutes les 48 heures et s'est prolongé même après un retour de la population larvaire et nymphale à son niveau initial (avant traitement).

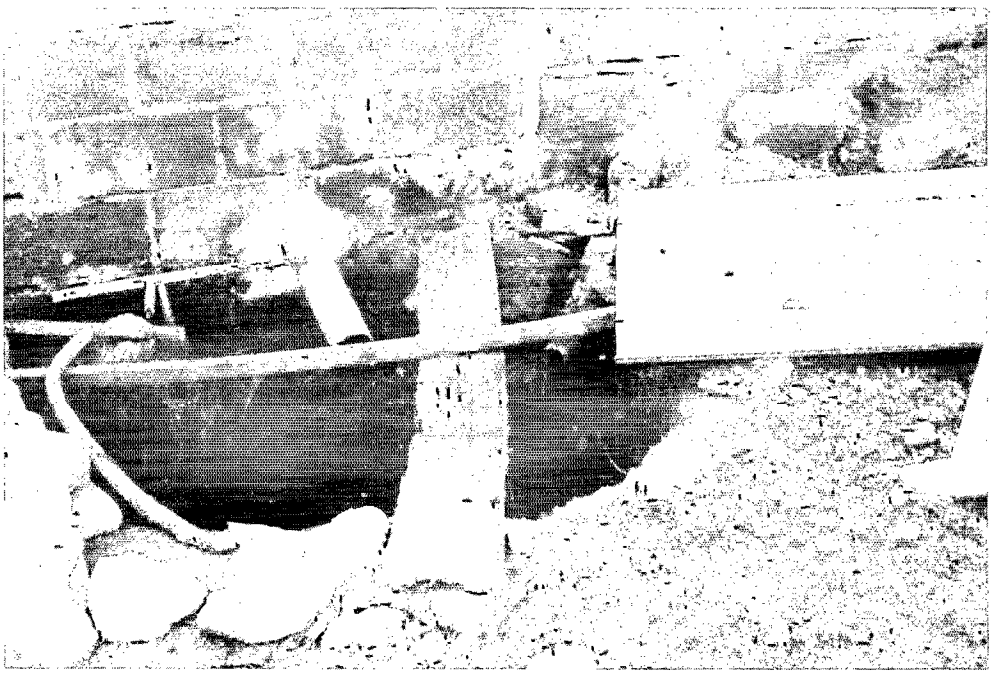

PHOTO 1. — Puisard creusé à même le sol, collectant les eaux de toilette et de faibles quantités d'eaux de pluies

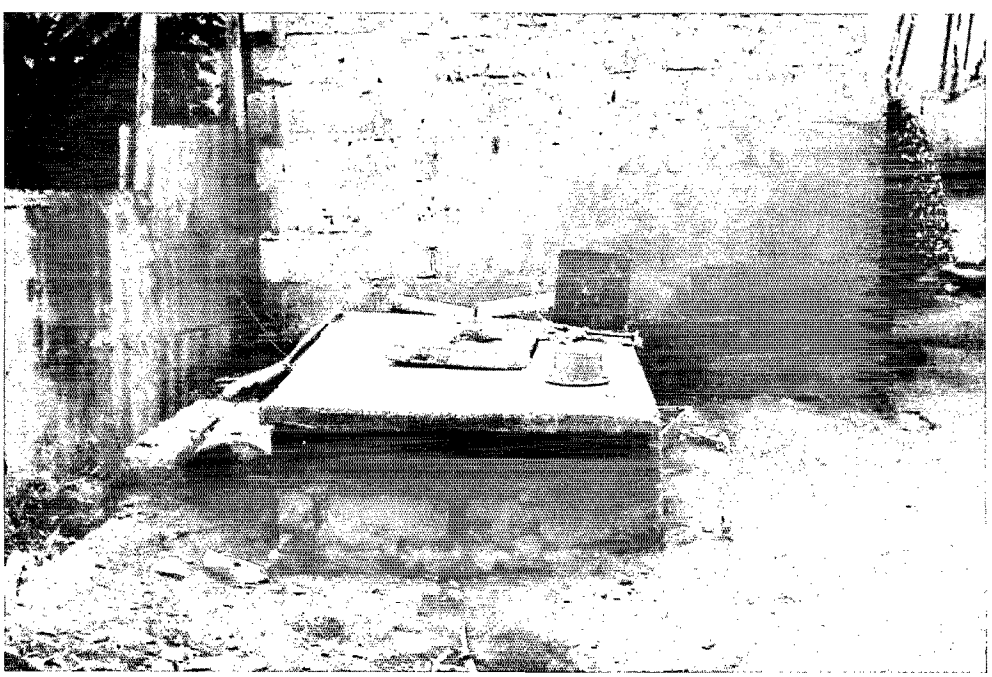

PHOTO 2. — Puisard limité par une paroi en parpaings et collectant essentiellement les eaux de toilette

2.2. Volet bactériologique

Parallèlement aux observations entomologiques, nous avons réalisé au cours de ces quatre mois d'expérimentation des analyses bactériologiques qualitatives de l'eau dans deux des puisards traités. Ce travail avait pour but de donner un aperçu du devenir des spores de *Bacillus sphaericus* après le traitement. Cette étude préliminaire a permis de mettre sur pied un programme plus élaboré d'analyses bactériologiques qui nous permettra de préciser et d'approfondir les données acquises lors de cette étude.

2.2.1. *Prélèvement des échantillons*

Les échantillons ont été collectés dans deux des puisards traités à 1 g/m². L'appareil de prélèvement consiste en une seringue en verre de 50 ml sur laquelle est adapté un tuyau en plastique de 2 mètres de long lesté à son extrémité. Ce dispositif permet d'effectuer des prélèvements en surface, en profondeur, mais aussi dans le substrat meuble du puisard. Les cadavres de larves de *Culex quinquefasciatus* collectés lors du dipping font également l'objet d'analyses bactériologiques.

Ces échantillons étaient conservés au réfrigérateur à 4°C pour éviter la germination des spores, puis expédiés à un laboratoire de microbiologie d'Abidjan pour analyses.

2.2.2. *Fréquence des prélèvements*

Un premier prélèvement, réalisé pour chacun des puisards avant le traitement, permet de mettre en évidence la présence éventuelle de *Bacillus sphaericus* à l'état naturel dans le puisard. Les prélèvements ultérieurs sont effectués dès qu'un changement notable apparaît dans la dynamique de la population préimaginale.

2.2.3. *Analyse des échantillons*

Les échantillons prélevés 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 (10 g/l) et NaCl (3 g/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 pas cependant de différencier les souches saprophytes de *sphaericus* pouvant exister naturellement dans le gîte et les résultats devront être interprétés avec prudence. C'est pourquoi nous aurons désormais recours à la technique sérologique d'agglutination flagellaire (de Barjac *et al.*, 1980) pour avoir à l'avenir la quasi-certitude d'avoir isolé la souche recherchée.

3. Résultats

3.1. Mortalité larvaire et persistance de *Bacillus sphaericus* dans le milieu

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 préimaginale se reconstitue ensuite progressivement suivant la concentration utilisée (tabl. I) : les larves stades III/IV réapparaissent entre le 8e et 16e jour après le traitement à 1 g/m², entre le 20e et 26e jour à 10 g/m² et entre le 32e et 36e jour à 50 g/m². Notons également que cette réapparition de la population larvaire précède tout naturellement de quelques jours la réapparition de la population nymphale.

3.2. Effet secondaire de *Bacillus sphaericus* dans les puisards

Nous avons poursuivi l'échantillonnage de la population préimaginale et avons établi pour chacun des puisards un graphique sur la dynamique de la population de *Culex quinquefasciatus* pour une période de quatre mois après le traitement.

3.2.1. *Puisard non traité* (fig. 1, graphe 1)

Les densités larvaires et nymphales passent par une série de minimums et de maximums très marqués. Des observations effectuées sur le terrain et au laboratoire par Subra en 1971 montrent que l'allure de cette courbe est généralisable à l'ensemble des puisards non traités et qu'un grand nombre de facteurs conditionne, à des degrés divers, la dynamique de la population préimaginale de *Culex quinquefasciatus*.

3.2.2. *Puisards traités* (fig. 1 et 2, graphes 2 à 8)

Sur les neuf puisards traités, et malgré les précautions que nous avons prises, deux d'entre eux

TABLEAU I

Persistance de *Bacillus sphaericus* souche 1593-4 dans les eaux polluées en fonction de la concentration ; évolution dans le temps de la population larvaire de *Culex quinquefascistus* (+ : présence de larves stades III/IV ; — : absence de larves stades III/IV)

	NOMBRE DE JOURS APRES TRAITEMENT											
PUISARD N°	0	1	10	14	18	22	26	28	34	36	38	40
1 (Témoin)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 (1 g /m^2)	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 (1 g /m^2)	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 (1 g /m^2)	+	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
5 (10 g /m^2)	+	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
6 (10 g /m^2)	+	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+
7 (10 g /m^2)	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
8 (50 g /m^2)	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+
9 (50 g /m^2)	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+
10 (50 g /m^2)	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+

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 eau.

Après recolonisation des gîtes, la population préimaginale des sept puisards traités passe, comme pour le témoin, par une série de minimums et de maximums et les courbes prennent alors la même allure que la courbe du puisard non traité. Notons toutefois pour un des puisards traité à 1 g/m^2 (fig. 1, graphe 2) une disparition de la population préimaginale consécutive à un assèchement temporaire de ce gîte.

Dans un puisard traité à 1 g/m^2 (fig. 1, graphe 4), 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/m^2 (fig. 1, graphe 3 ; fig. 2, graphe 6). D'une façon générale, ces cadavres sont disséminés sur toute la surface de l'eau du puisard et côtoient les larves vivantes présentes en beaucoup plus grande quantité.

L'apparition de cette mortalité larvaire ne semble pas modifier la dynamique de la population préimaginale.

3.3. RÉSULTATS DES ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES

L'analyse bactériologique des prélèvements, pour les deux puisards, avant le traitement s'est révélée négative, tant en surface qu'en profondeur ou dans le substrat : il ne semble donc pas y avoir dans ces deux puisards de *Bacillus sphaericus* à l'état naturel.

Nous avons ensuite effectué pour chacun des deux puisards trois séries de prélèvements, 10, 20 et 40 jours après le traitement pour l'un des puisards (puisard n° 1) et 10, 20 et 98 jours pour le second (puisard n° 2).

Les résultats de ces analyses, ainsi que l'état de

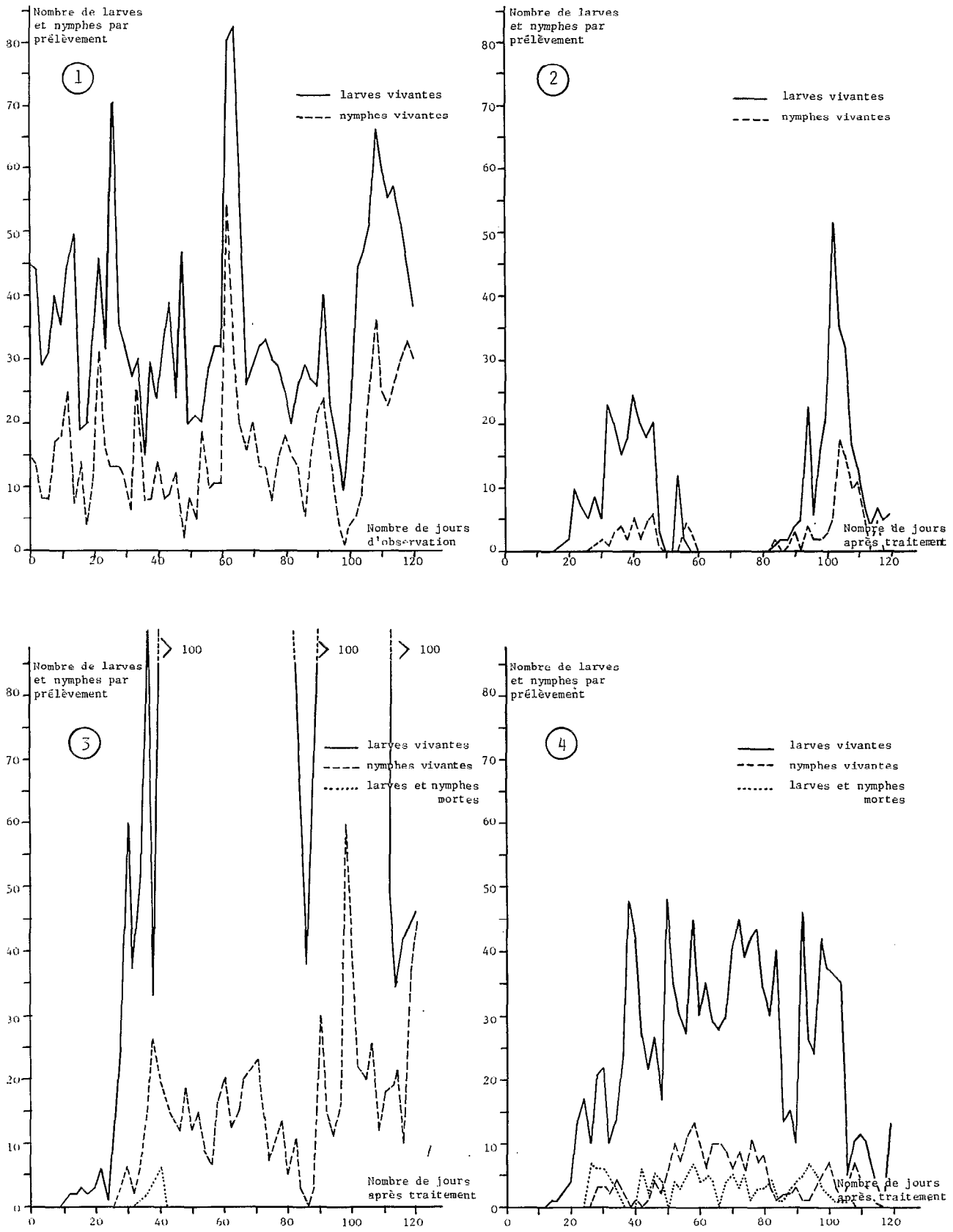

FIG. 1. — Étude de la dynamique de la population préimaginale de *Culex quinquefasciatus* dans un puisard non traité (graphe 1) et des puisards traités à 1 g/m^2 (graphes 2, 3 et 4)

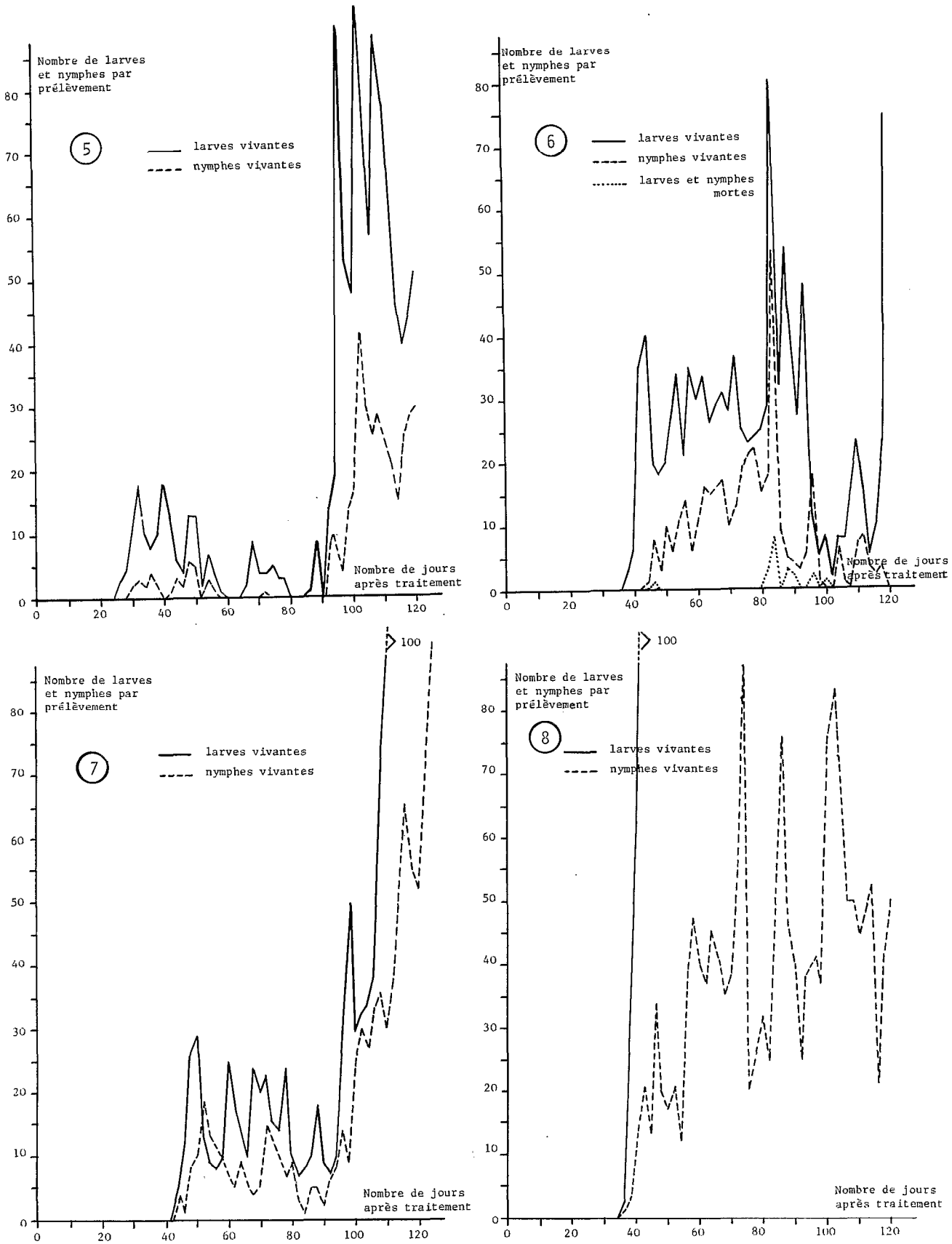

FIG. 2. — Étude de la dynamique de la population préimaginale de *Culex quinquefasciatus* dans des puisards traités à 10 g/m² (graphe 5) et 50 g/m² (graphes 6, 7 et 8)

la population préimaginale lors des prélèvements sont consignés dans le tableau II.

Ces résultats semblent indiquer d'une part que la présence de *Bacillus sphaericus* dans le substrat n'affecte pas la dynamique de la population préimaginale, d'autre part que les spores présentes à la surface de l'eau du gîte entraînent des modifications notables qui se traduisent soit par l'absence totale de larves et de nymphes, soit par la présence de larves mortes.

L'analyse de ces cadavres, préalablement rincés à l'eau distillé, a montré qu'ils étaient infectés par des spores de *Bacillus sphaericus*. Des études plus fines (réalisées à l'Institut Pasteur de Paris) ont précisé l'appartenance de ces spores au sérotype H5 auquel appartient notamment la souche 1593-4.

TABLEAU II

Analyse bactériologique des échantillons prélevés et parallèle avec les observations entomologiques (+ : présence de spores de *Bacillus sphaericus* ; — : absence de spores de *Bacillus sphaericus*) ; * pour plus de précisions, se reporter au graphe 4 pour le puisard n° 1 et au graphe 3 pour le puisard n° 2 (fig. 1)

	Nombre de jours après traitement	NIVEAU DE PRELEVEMENT			OBSERVATIONS ENTOMOLOGIQUES*
		SURFACE	PROFONDEUR	SUBSTRAT	
PUISARD N°1	0	-	-	-	Population préimaginale abondante
	10	+	-	-	Absence de larves et de nymphes
	20	-	-	+	Gîte en voie de recolonisation
	40	+	-	+	Population préimaginale abondante Présence de larves mortes
PUISARD N°2	0	-	-	-	Population préimaginale abondante
	10	-	-	+	Gîte en voie de recolonisation
	20	-	-	+	Gîte en voie de recolonisation
	98	-	-	+	Population préimaginale abondante

4. Discussion

4.1. Persistance de *Bacillus sphaericus* dans le milieu

La recolonisation des gîtes larvaires à *Culex quinquefasciatus* traités par *Bacillus sphaericus* semble dépendre de la concentration utilisée : la persistance de l'effet larvicide ne dépasse pas 16 jours à 1 g/m^2 alors qu'elle atteint plus d'un mois à 50 g/m^2. Ces résultats confirment les travaux de Mulligan *et al.* (1980). Par contre, en ce qui concerne *Bacillus thuringiensis* H-14, la concentration ne semble pas avoir d'action sur la rémanence (Hougard *et al.*, 1983 ; Sudomo *et al.*, 1981).

Des expérimentations menées en Inde n'ont permis d'observer aucun effet résiduel d'une poudre primaire de la souche 1593 sur *Culex quinquefasciatus* (Indian Council of Medical Research, 1977). Karch (1984) obtient quant à lui 20 jours de rémanence en eau polluée à 160 mg/m^2 avec la même souche. Ces différents résultats s'expliquent sans doute par les différentes conditions physico-chimiques rencontrées lors de ces expérimentations : il existe notamment une corrélation négative entre l'efficacité de la souche 1593 et le degré de pollution de l'eau (Mian et Mulla, 1983 ; Mulligan *et al.*, *op. cit.*) ainsi que le degré de luminosité (Mulligan *et al.*, *op. cit.*). Bien que nous n'ayons pas ce problème en zone tropicale, notons toutefois qu'au laboratoire, les basses températures réduisent l'efficacité de *Bacillus sphaericus* (Wraight *et al.*, 1981).

Les analyses bactériologiques semblent indiquer que les gîtes redeviennent positifs quand les spores ne se retrouvent plus que dans le substrat (§ 3.4.). Ceci confirme l'hypothèse de Davidsc *et al* (1984), Mulla *et al.* (1984), Mulligan *et al.* (*op. cit.*) et Sinè-

gre *et al.* (1981) selon laquelle la matière active s'enlise dans le substrat et devient hors d'atteinte des larves. Ce substrat est un milieu favorable pour les spores puisque Hertlein *et al.* (1979) et Singer (1980) ont montré que les spores pouvaient rester viables et toxiques pendant neuf mois. La pollution de l'eau est également un facteur qui protègerait les spores de la desruction par les ultra-violets notamment (Hornby *et al.*, 1981).

4.2. Recyclage de *Bacillus sphaericus* dans le milieu

Les résultats des analyses bactériologiques montrent que les cadavres de larves retrouvés dans trois des puisards, après recolonisation des gîtes, sont contaminés par des spores de *Bacillus sphaericus*. Les travaux de Davidson *et al.* (*op. cit.*), Des Rochers et Garcia (1984) et Silapanuntakul *et al.* (1983) montrent que *Bacillus sphaericus* se multiplie dans les larves de *Culex* et que les spores sont relâchées dans le milieu environnant lors de la désintégration des cadavres.

Nos observations ainsi que celles de ces différents auteurs laissent supposer que ce recyclage se produit également dans les puisards de Bouaké. Cependant il ne suffit pas à assurer une suppression complète de la population préimaginale, ce qui confirme les résultats de Hoti et Balaraman (1984). D'autre part, ce phénomène n'est pas général (présence de cadavres dans seulement trois des puisards traités) et ne semble pas dépendre de la quantité initiale de spores déversée lors du traitement (deux des puisards sont traités à 1 g/m^2 et le troisième à 50 g/m^2).

5. Conclusion

En eaux polluées, la persistance de la souche 1593-4 de *Bacillus sphaericus* dans les gîtes larvaires à *Culex quinquefasciatus* n'est pas suffisamment durable pour concurrencer efficacement les insecticides chimiques ou certains régulateurs de croissance récemment apparus sur le marché : nous avons en effet obtenu dans les mêmes types de gîtes, avec des mimétiques d'hormone juvénile à doses équivalentes des rémanences au moins huit fois supérieures à celles enregistrées dans cette étude (Hougard *et al.*, 1984).

Cependant, les possibilités de recyclage de cette bactérie ainsi que la découverte de souches de plus en plus toxiques pour les larves de moustiques (2297, 2362...) nous encouragent à poursuivre nos recherches dans ce domaine. C'est ainsi que nous allons entreprendre une étude biologique et physico-chimique plus détaillée de ce biotope particulier que représentent les puisards et fosses septiques en milieu tropical.

Ce travail devrait nous permettre de mieux cerner les conditions favorables à un développement optimum de *Bacillus sphaericus* dans les eaux polluées en Afrique de l'Ouest et d'envisager par la suite un contrôle biologique efficace de *Culex quinquefasciatus*.

Dans cette hypothèse, soulignons que cette bactérie peut être produite localement et à bon marché par utilisation de milieu de culture à base de déchets animaux ou végétaux disponibles sur place, notamment en Afrique de l'Ouest (Obeta et Okafor, 1983 ; Hertlein *et al.*, 1981).

Remerciements

Nous tenons à remercier tout particulièrement M. G. Y. Loukou, Responsable du Laboratoire de Microbiologie d'Abidjan, Mlle V. Cosmao Dumanoir de l'Institut Pasteur de Paris, pour les analyses biologiques réalisées au cours de cette étude, MM. D. Quillévéré, Directeur de l'IRTO de Bouaké, et G. Quélennec de l'OMS/VBC, pour leurs conseils apportés lors de notre travail et la rédaction de cet article, MM. J. Brengues, Directeur du CEMV de Bouaké et C. Douchet, Directeur du Centre Muraz de Bobo-Dioulasso, pour leur bienveillante collaboration, enfin la firme Solvay qui a eu l'amabilité de nous fournir la poudre de *Bacillus sphaericus* souche 1593-4.

Manuscrit accepté par le Comité de Rédaction le 5 mars 1985.

BIBLIOGRAPHIE

Barjac (H. de), Véron (M.) et Cosmao Dumanoir (V.), 1980. — Caractérisation biochimique et sérologique de souches de *Bacillus sphaericus* pathogènes ou non pour les moustiques. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*., 131 B : 191-201.

Davidson (E. W.), Urbina (M.), Payne (J.), Mulla (M. S.), Darwazeh (H.), Dulmage (H. T.) et Correa (J. A.), 1984. — Fate of *Bacillus sphaericus* 1594 and 2362 Spores Used as Larvicides in the Aquatic Environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 47 : 125-129.

Des Rochers (B.) et Garcia (R.), 1984. — Evidence for persistence and recycling of *Bacillus sphaericus*. *Mosq. News*, 44 : 160-165.

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. Invert. Path.*, 33 : 217-221.

Hertlein (B. C.), Horney (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. *Devel. Industr. Microbiol.*, 22 : 53-60.

Hornby (J. A.), Hertlein (B. C.), Levy (R.) et Mil-

LER Jr. (T. W.), 1981. — Persistent activity of mosquito larvicidal *Bacillus sphaericus* 1593 in fresh water and sewage. Doc. miméo. WHO/VBC/81.830, Genève, 7 p.

HOTI (S. L.) et BALARAMAN (K.), 1984. — Recycling potential of *Bacillus sphaericus* in natural mosquito breeding habitats. *Indian J. Med. Res.*, 80 : 90-94.

HOUGARD (J. M.), DARRIET (F.) et BAKAYOKO (S.), 1983. — Evaluation en milieu naturel de l'activité larvicide de *Bacillus thuringiensis* 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.), DOANNIO (J.), DUVAL (J.) et ESCAFFRE (H.), 1984. — Évaluation en milieu naturel de l'activité des composés régulateurs de croissance sur *Culex quinquefasciatus* en Afrique de l'Ouest. Rapp. OCCGE/ORSTOM, n° 31/ IRTO/Rap/84, multigr.

Indian Council of Medical Research, 1977. — Vector Control Research Centre, Pondichery. Annual Report : 81-83.

KARCH (S.), 1984. — *Bacillus sphaericus* agent de lutte biologique contre *Culex pipiens* Linné, 1758 (Culicidae-Diptera) et contre d'autres moustiques. Thèse d'Ingénieur Docteur, Université Paris XI, Centre d'Orsay.

KELLEN (W. R.), CLARCK (T. B.), LINDEGREN (J. E.), HO (B. C.), ROGOFF (M. H.) et SINGER (S.), 1965. — *Bacillus sphaericus* Neide as a pathogen of mosquitoes. *J. Invert. Path.*, 7 : 442-448.

MIAN (L. S.) et MULLA (M. S.), 1983. — Factors influencing activity of the microbial agent *Bacillus sphaericus* against mosquito larvae. *Bull. Soc. Vector Ecol.*, 8, 2 : 128-134.

MULLA (M. S.), DARWASEH (H. A.), DAVIDSON (E. W.) et DULMAGE (H. T.), 1984. — Efficacy and persistence of the microbial agent *Bacillus sphaericus* against mosquito larvae in organically enriched habitats. *Mosq. News*, 44, 2 : 166-173.

MULLIGAN (F. S.), SCHAEFFER (C. H.) et MILDER (W. H.), 1980. — Efficacy and persistence of *Bacillus sphaericus* and *B. thuringiensis* H-14 against mosquitoes under laboratory and field conditions. *J. Econ. Ent.*, 73 : 684-688.

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.

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 (J. 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 résiduelle d'une poudre primaire. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 19, 3 : 157-163.

SINGER (S.), 1980. — *Bacillus sphaericus* for the control of mosquitoes. *Biotechnol. Bioeng.*, 22 : 1335-1355.

SUBRA (R.), 1971. — Études 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. et Parasitol.*, 9, 1 : 73-102.

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. WHO/VBC/81.836, Genève, 10 p.

WRAIGHT (S. P.), MOLLOY (D.), JAMNBACK (H.) et MCCOY (P.), 1981. — Effects of temperature and instars on the efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* strain 1593 against *Aedes stimulans* larvae. *J. Invert. Path.*, 38 : 78-87.