

Essais en laboratoire des nouveaux molluscicides Bayer 73 et ICI 24223

J. GILLET¹ & P. BRUAUX¹

Les propriétés molluscicides du Bayer 73 et du ICI 24223 ont été comparées, en laboratoire, sur des mollusques pulmonés africains. Bayer 73 agit de façon plus rapide et à plus faible concentration, et résiste mieux aux rayons ultraviolets. Il a une action létale comparable à celle de l'ozone et du chlore sur les cercaires de Schistosoma mansoni, contre lesquelles ICI 24223 est sans action.

Le nouveau molluscicide proposé par la firme Bayer et portant le numéro 73 est un produit conditionné en poudre mouillable à 70% de substance active. Il se présente sous l'aspect d'une poudre jaune, non irritante à la manipulation, et sans odeur. Selon le fabricant il s'agit du dichloro-5,2' nitro-4' salicylanilide, de formule brute: $C_{13}H_8O_4N_2Cl_2$. Les tests en laboratoire furent suivis d'applications sur le terrain dont les résultats viennent d'être publiés (Gillet, Bruaux, Nannan & Lukali, 1961)².

La seconde substance expérimentée dans le présent travail, fournie par les Imperial Chemical Industries porte le numéro 24223. Il s'agit de l'isobutyltriphénylméthylamine, fort peu soluble dans l'eau, dont la formule est la suivante: $(C_6H_5)_3 \equiv C-NH-CH_2CH-(CH_3)_2$. Elle est conditionnée soit en solution à 40% de base dans du toluol auquel est ajouté du Lipassol à raison d'une partie dans 500, soit en poudre mouillable blanche sous forme de chlorhydrate à 94% de produit actif, non irritante à l'usage et sans odeur. Les essais ont été conduits en utilisant cette poudre mouillable, dont la mise en suspension aurait pu être meilleure.

Les deux produits ont été testés sur des mollusques pulmonés africains (*Biomphalaria*, *Physopsis*, *Lymnaea*), des œufs de limnées et également des cercaires de *Schistosoma mansoni*.

ACTION SUR LES MOLLUSQUES

Matériel et méthode

Mollusques. Dans les expériences relatées ici, les mollusques sont de deux origines. Les uns (*Biomphalaria*) ont été récoltés sur les rives du lac Kivu. Seul Bayer 73 a été testé avec les planorbes de cette

provenance; faute de temps, ces mollusques ne furent pas mis en présence du ICI 24223. Les autres mollusques sur lesquels les deux produits ont été expérimentés (*Biomphalaria*, *Physopsis*, *Lymnaea*) proviennent d'étangs d'une station de pisciculture établie à quelques kilomètres de Bukavu. La taille des mollusques est en général notée dans les tableaux.

Eau. Si nous insistons sur les origines des mollusques utilisés, c'est que les qualités chimiques de l'eau des gîtes de récolte diffèrent fortement selon qu'il s'agit du lac Kivu ou des étangs. Comme on le sait, ces qualités chimiques peuvent influencer l'activité d'un molluscicide. L'eau des étangs prospectés est pratiquement neutre et possède un pH de 7,2. Comme elle est relativement trouble, ce qui aurait pu gêner les observations, les suspensions à appliquer aux mollusques d'étangs ont été faites avec de l'eau de distribution de la Ville de Bukavu provenant d'une rivière, traitée tout d'abord par les procédés classiques d'épuration et ensuite stérilisée à l'ozone. L'eau distillée et l'eau chlorée ont été soigneusement écartées.

Nous donnons ci-dessous les résultats de l'analyse chimique de l'eau de surface du Lac Kivu, et de l'eau de distribution de Bukavu:

Radicaux chimiques (mg/l)	Ville de Bukavu	Lac Kivu
Carbonates	Néant	160,8
Bicarbonates	48,8	614,8
Chlorures	1,4	36,3
Nitrates	0,53	0,18
Nitrites	Néant	Traces
Sulfates	22,9	19
Calcium	14,8	10,4
Magnésium	4,7	101,9
Sodium	3	115,2
Potassium	1	98,8
Silice	19	5,9
pH	7,65	9,01

¹ Laboratoire du Service de l'Hygiène de Bukavu, République du Congo (Léopoldville).

² Gillet, J., Bruaux, P., Nannan, P. & Lukali, G. (1961) *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 41, 35.

L'analyse de l'eau de distribution a été faite au laboratoire de l'Hygiène de Bukavu (analyste: L. Pereman); l'analyse de l'eau du lac Kivu a été tirée d'un travail de Wolfs & Devignat (1949)¹ et elle a été faite à l'époque par le laboratoire de géologie de Bukavu.

Température. Tous les essais avec Bayer 73 ont été effectués dans un laboratoire non conditionné, dont la température oscillait entre 22° et 25°C, tandis que l'expérimentation avec ICI 24223 a été faite dans une pièce conditionnée à 25°C; les solutions préparées le jour même étant laissées 2-3 heures dans le local afin qu'elles atteignent la température ambiante.

Exposition. Des flacons d'un litre à large ouverture, contenant 500 ml de la solution à tester reçoivent 50 mollusques. La durée d'exposition est de 1, 2, 6 ou 24 heures suivant les essais. Après le temps fixé, la solution est rejetée et les mollusques, recueillis sur treillis moustiquaire en nylon non coloré, sont rincés pendant 30 secondes environ sous eau faiblement courante puis transférés dans un flacon identique au premier et contenant de l'eau pure (provenant du lac Kivu ou de la distribution suivant le cas) portée à la température du local; une feuille de laitue fraîche est ajoutée. Après 24 heures de récupération les mollusques sont examinés et les résultats obtenus à ce moment sont considérés comme définitifs. Toutes ces manipulations doivent évidemment être aussi peu traumatisantes que possible. Dans les tests avec Bayer 73, le diagnostic de la mort a été fait par observation directe, éventuellement sous loupe stéréoscopique; pour les essais avec ICI 24223, et à moins qu'elle ne soit évidente, la mort fut vérifiée par écrasement du mollusque. Les mollusques témoins conservés en eau pure — du lac Kivu ou de la distribution suivant le cas — pendant toute la durée du contact subissent également un rinçage et un transfert après le temps d'épreuve. Pour la durée de 24 heures, les mollusques sortis de la solution durant la nuit sont éliminés. Pour les autres durées de contact les flacons sont régulièrement surveillés et les mollusques sortant de la solution y sont replongés. Dans tous les essais l'insolation directe a été soigneusement évitée.

Action molluscicide des suspensions fraîches

Le taux corrigé de mortalité dont il est fait mention est calculé compte tenu de la mortalité cons-

tatée dans le témoin et suivant la formule d'Abbott:

$$\frac{\% \text{ mortalité observée} - \% \text{ mortalité du témoin}}{100 - \% \text{ mortalité du témoin}} \times 100$$

Le tableau 1 résume les résultats obtenus avec le Bayer 73.

Il est intéressant de comparer nos résultats avec ceux obtenus par Foster et al. (1959)² au Kenya sur *Biomphalaria pfeifferi nairobiensis*, *Bulinus tropicus* et *Lymnaea natalensis* avec le même produit. A la dose de 0,5 p.p.m. et après 24 heures de contact, il n'y a pas d'action sur *Bulinus*, tandis que *B. pfeifferi* accuse une mortalité de 60%. Nos essais pour la même dose et le même temps d'exposition donnent 84,3% de mortalité avec *Biomphalaria* du lac Kivu; 100% de mortalité avec *Biomphalaria* d'étang sont obtenus après 24 heures de contact à la dose de 0,05 p.p.m. tandis que la même mortalité chez *Physopsis* est obtenue avec la concentration de 0,3 p.p.m. pour une même durée d'exposition. Les mollusques du Kivu seraient donc plus sensibles au produit.

On remarquera que pour chaque espèce et par série de tests correspondant à un temps déterminé, la mortalité tombe brusquement à partir d'une concentration donnée. A noter également que les essais préliminaires en notre laboratoire mentionnés par McMullen (1959)³ avaient montré des résultats beaucoup moins favorables: pour les planorbes la concentration mortelle 100% (CL₁₀₀) était de 2 p.p.m. en eau du robinet, et de 7 p.p.m. en eau alcaline du lac Kivu. Ceci s'explique par la mise en suspension défectueuse de la poudre mouillable que nous possédions à l'époque en très petite quantité. Le conditionnement du produit a été amélioré depuis.

Le tableau 2 groupe les résultats obtenus avec ICI 24223. Disons tout de suite que le produit reçu pour nos essais et conditionné en poudre mouillable à 94% se met assez mal en suspension et qu'il est indispensable de prendre de très grandes précautions, tant lors de la préparation de la suspension-mère à 100 p.p.m. (broyage de la poudre au mortier), que lors des dilutions successives (agitation prolongée). En ajoutant à l'eau de dilution du Tween 80 à raison de 1‰, les suspensions obtenues sont beaucoup plus stables. Les mollusques mis dans une

¹ Wolfs, J. & Devignat, R. (1949) *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 29, 557.

² Foster, R., Teesdale, C. & Poulton, G. F. (1959) *Miscellaneous Report*, 232, Arusha, Tanganyika.

³ McMullen, D. B. & Rainey, M. B. (1959) Document de travail non publié WHO/PA/18.59 Add.4.

TABLEAU 1

ACTION DE SUSPENSIONS FRAÎCHES DE BAYER 73 SUR DIVERS MOLLUSQUES ADULTES

Espèces, caractères, provenance	Concentration (p.p.m.)	Taux corrigé de mortalité (%)			
		Contact (heures)			
		1	2	6	24
<i>Biomphalaria</i> , Lac Kivu, pH 9 Diamètre: 5-10 mm, essai 24 h.: 12-13 mm	16	100	—	—	—
	8	100	100	—	—
	4	91	100	—	—
	2	62,7	60,8	100	100
	1	2,6	5,2	85,7	100
	0,5	0	0	10	84,3
	0,25	—	0	0	3,86
	0,1	—	0	0	0
	0,05	—	—	0	0,3
	Témoin	1,7	0	0	0
	<i>Biomphalaria</i> , étangs, pH 7,5 Diamètre: 5-10 mm	4	100	—	—
2		100	—	—	—
1		100	100	100	100
0,5		92,85	100	100	100
0,25		46,55	80	100	100
0,1		0	4	87,1	98
0,07		—	—	77,4	—
0,05		—	0	42,85	100
0,04		—	—	—	93,1
0,03		—	—	—	24,1
0,02		—	—	—	17,2
0,01	—	—	—	0	
Témoin	0	0	0	0	
<i>Physopsis</i> , étangs, pH 7,5 Hauteur 15-20 mm	4	100	100	—	—
	2	96	100	100	100
	1	64,5	97,9	98,1	100
	0,5	52,7	95,9	82	100
	0,3	—	—	—	100
	0,25	6	38,7	66,3	86
	0,2	—	—	—	54,7
	0,1	0	2,2	7	12,2
	0,05	0	0	0	0
	0,01	—	—	—	0
	Témoin	0	2	0	0
Limnées, étangs, pH 7,5 Hauteur 10-20 mm	4	100	—	—	—
	2	100	—	—	—
	1	100	100	100	100
	0,5	100	100	100	100
	0,3	—	—	100	—
	0,25	48,3	72,91	99,8	100
	0,2	—	—	78,7	76,8
	0,15	—	—	31,3	62,5
	0,1	2	7,4	2,4	8,8
	0,05	—	0	0	0
	0,01	—	0	0	0
Témoin	0	0	2,91	6	

TABLEAU 2

ACTION DE SUSPENSIONS DE ICI 24223, SANS TWEEN 80 SUR DIVERS MOLLUSQUES

Espèces, caractères, provenance	Concentration (p.p.m.)	Taux de mortalité corrigé (%)			
		Contact (heures)			
		1	2	6	24
<i>Biomphalaria</i> , étang Diamètre: 3-6 mm	15	76	—	—	—
	12,5	51	—	—	—
	10	37,5	98,4	—	—
	7,5	15,3	—	—	—
	5	6,2	68,2	—	—
	4	—	—	97,25	—
	2	0	15	72,89	100
	1	—	0	47,25	100
	0,5	—	0	20,9	100
	0,3	—	—	—	100
	0,25	—	—	9,65	100
	0,2	—	—	—	87,7
	0,1	—	—	0	8,6
	0,07	—	—	—	0
	Témoin	4	0	5,2	0
	<i>Physopsis</i> , étang Hauteur: 9-12 mm	20	100	100	—
15		47,8	94	—	—
10		20	81,2	100	—
7,5		10,5	39,6	100	—
5		6,2	24,4	100	100
2,5		—	2,1	91,1	100
1		—	—	50,9	100
0,5		—	—	10	95,7
0,25		—	—	—	34,6
0,1		—	—	—	0
Témoin		0	0	0	0
Limnées, étangs Hauteur: 6-8 mm	20	100	—	—	—
	15	85,4	—	—	—
	10	77,2	100	—	—
	7,5	56,5	—	—	—
	5	16,5	100	100	100
	2,5	—	100	98,8	100
	1	—	68,7	82,6	100
	0,5	—	29,5	51,1	90
	0,25	—	2	—	76
	0,1	—	—	8,7	50
	Témoin	4,1	0	2	0

solution de Tween 80 à 1 ‰ vivent parfaitement bien et d'autre part nous avons répété les essais sur *Biomphalaria* d'étang, contact 1 heure et 2 heures, dans des suspensions additionnées de Tween 80: les résultats ainsi obtenus sont à peu près superposables à ceux obtenus avec une suspension sans Tween.

Comme on le verra plus loin pour l'étude de l'influence des rayons ultraviolets et du vieillissement sur le produit, nous avons utilisé des suspensions avec Tween 80, en raison de leur plus grande stabilité physique.

En ce qui concerne *Biomphalaria* nos résultats avec ICI 24223 confirment à peu de chose près ceux obtenus par les laboratoires expérimentaux du fabricant qui ont effectué des tests uniquement sur *Australorbis*, genre voisin de *Biomphalaria*. Dans une note de 1958 qui nous a été communiquée par les laboratoires ICI, D.G. Davey et N. Greenhalgh mentionnent en effet avoir obtenu 100% de mortalité chez *Australorbis glabratus* après une exposition de 24 heures dans une suspension de ICI 24223 à la concentration de 1 partie pour 4 millions, soit 0,25 p.p.m. Pour la même concentration et la même durée de contact, nous avons également obtenu 100% de mortalité chez *Biomphalaria*. Par contre ces auteurs obtiennent la mort de la majorité des mollusques (sans autre précision) avec 0,1 p.p.m. tandis qu'à cette concentration nous n'obtenons que 8,6% de mortalité. *Biomphalaria* du Kivu serait donc légèrement moins sensible qu'*Australorbis glabratus* testé par les laboratoires ICI. D'après notre expérience, *Physopsis* est moins sensible que *Biomphalaria* mais par contre *Lymnaea* est nettement plus sensible.

Afin de permettre une comparaison aisée des résultats obtenus par les deux molluscicides expérimentés nous résumons dans le tableau 3 les concentrations létales 50% (CL₅₀) et 90% (CL₉₀), classées d'après les espèces de mollusques en expérience et la durée de contact; les chiffres mis entre parenthèses indiquent les limites de confiance avec une probabilité de 0,95. Pour une claire compréhension de ce tableau nous y mentionnons les rapports d'efficacité en notant qu'un molluscicide donné est *x* fois plus actif que l'autre. Les CL₅₀ et CL₉₀ ont été calculées d'après la méthode relativement simple proposée par Litchfield et Wilcoxon (1949).¹

A la lecture du tableau on peut constater qu'à la plus courte durée de contact (1 heure) le molluscicide Bayer est 25-46 fois plus actif que le produit ICI. Cependant au fur et à mesure que la durée d'exposition s'allonge la différence d'efficacité entre les deux produits s'atténue, si bien que pour un contact de 24 heures le produit Bayer n'est plus que 1,6-5 fois plus actif que le produit ICI; on remarquera même que pour cette dernière durée de

24 heures et vis-à-vis de *Lymnaea*, ICI devient légèrement plus efficace (1,2).

D'autre part, lorsqu'on compare les CL₅₀ et CL₉₀ obtenues par le produit Bayer pour des durées respectives de contact de 1 et de 24 heures, on constate que la réduction des doses létales n'est pas directement proportionnelle au temps d'exposition. Ainsi les CL₅₀ et CL₉₀ pour *Biomphalaria* d'étang sont seulement 9-10 fois moindres lorsque l'exposition est de 24 heures au lieu d'une heure, ce rapport étant plus faible encore pour les autres espèces de mollusques testées. Par contre, en ce qui concerne le produit ICI, cette réduction est beaucoup plus marquée car pour la même *Biomphalaria* d'étang, le rapport entre les CL₅₀ (contact 1 heure et contact 24 heures) est de 80 (contre une valeur de 9 pour le Bayer 73).

Des considérations qui précèdent il semblerait que l'action du Bayer 73 serait rapide, et celle de ICI 24223 plus lente. On peut ainsi se demander si lors d'une application sur le terrain il ne serait pas plus économique d'utiliser le Bayer 73 durant quelques heures seulement et à doses efficaces — compte tenu des essais en laboratoire — tandis que ICI 24223 devrait être appliqué à faibles doses pendant un temps prolongé. Ceci demande évidemment confirmation sur le terrain.

Influence des rayons ultraviolets (UV)

Nous avons également recherché l'influence des rayons ultraviolets sur les deux molluscicides étudiés. Compte tenu des résultats antérieurs nous avons utilisé deux concentrations, 0,5 et 0,25 p.p.m., pour Bayer 73, 20 et 15 p.p.m. pour ICI 24223, les suspensions étant faites dans l'eau du robinet. Ces suspensions sont mises dans des bassins émaillés blancs, la profondeur du liquide étant de 1 cm. L'irradiation est réalisée dans une hotte hermétique, au plafond de laquelle est fixé un tube Philips de 30 W générateur de rayons ultraviolets, la distance entre la lampe et la surface de la suspension étant de 104 cm; la température à l'intérieur de cette hotte, enregistrée au thermographe varie entre 21° et 26°C. Les bassins contenant les suspensions de comparaison et l'eau pure non irradiée sont évidemment placés hors de la hotte et à l'abri des rayons solaires. Après l'irradiation, la mise en contact des mollusques se fait suivant la technique habituelle, la durée d'exposition étant d'une heure. Afin d'obtenir une meilleure suspension du produit ICI 24223 et comme nous l'avons exposé plus haut, nous avons utilisé comme liquide de dilution une

¹ Litchfield, J. T. & Wilcoxon, F. (1949) *J. Pharmacol. exp. Ther.* 96, 99.

TABLEAU 3
EFFICACITÉ COMPARÉE ET RAPPORT D'EFFICACITÉ DU BAYER 73 ET DE L'ICI 24223 SUR DIVERS MOLLUSQUES,
D'APRÈS LA CL₅₀ ET LA CL₉₀ EXPRIMÉES EN p.p.m.

Contact (heures)	CL	<i>Biomphalaria</i> — Lac Kivu		<i>Biomphalaria</i> — Etang			<i>Physopsis</i> — Etang			Limnées — Etang		
		Bayer 73	ICI 24223	Bayer 73	ICI 24223	RE ^a	Bayer 73	ICI 24223	RE ^a	Bayer 73	ICI 24223	RE ^a
1	CL ₅₀	1,98 (1,72-2,27)	—	0,27 (0,23-0,31)	11 (9,9-12,2)	40	0,60 (0,5-0,7)	15,3 (13,42-17,4)	25	0,23 (0,19-0,27)	7,5 (6,6-8,4)	32
	CL ₉₀	3,5 (2,91-4,20)	—	0,44 (0,36-0,53)	20,5 (17,6-23,7)	46	1,4 (1,12-1,75)	35 (26,9-44,5)	25	0,36 (0,28-0,45)	14,5 (11,8-17,6)	40
2	CL ₅₀	1,58 (1,32-1,88)	—	0,18 (0,15-0,20)	4,2 (3,2-5,46)	23	0,26 (0,20-0,32)	7,1 (6,45-7,8)	27	0,17 (0,14-0,2)	0,7 (0,59-0,82)	4
	CL ₉₀	2,6 (2,08-3,25)	—	0,30 (0,24-0,36)	9,2 (5,97-14,1)	30	0,54 (0,45-0,65)	13 (11,3-14,95)	24	0,28 (0,23-0,35)	1,39 (1,14-1,58)	4,6
6	CL ₅₀	0,72 (0,63-0,82)	—	0,05 (0,04-0,06)	1 (0,82-1,21)	20	0,22 (0,18-0,27)	1 (0,78-1,27)	4	0,16 (0,14-0,18)	0,39 (0,3-0,49)	2
	CL ₉₀	1,1 (0,98-1,25)	—	0,1 (0,07-0,13)	2,65 (1,86-3,76)	26	0,52 (0,4-0,61)	2,27 (1,59-3,2)	4	0,25 (0,21-0,28)	1,15 (0,83-1,58)	4,6
24	CL ₅₀	0,36 (0,31-0,41)	—	0,03 (0,02-0,04)	0,14 (0,12-0,15)	4	0,17 (0,15-0,19)	0,27 (0,23-0,31)	1,6	0,14 (0,12-0,15)	0,11 (0,08-0,14)	0,8
	CL ₉₀	0,53 (0,45-0,62)	—	0,04 (0,025-0,08)	0,22 (0,19-0,24)	5	0,28 (0,23-0,33)	0,45 (0,37-0,54)	1,6	0,22 (0,2-0,24)	0,4 (0,23-0,68)	1,8

^a RE = Rapport d'efficacité, obtenu en divisant la CL₅₀ ou la CL₉₀ de l'ICI 24223 par la CL₅₀ ou la CL₉₀ du Bayer 73, pour une même durée de contact et pour le même mollusque; le chiffre 40, p. ex. indique que le Bayer 73 est 40 fois plus actif que le ICI 24223, dans les conditions données. Les chiffres entre parenthèses représentent les limites de confiance pour P = 0,95.

TABLEAU 4
INFLUENCE DES RAYONS ULTRAVIOLETS
SUR L'EFFICACITÉ DU BAYER 73
A L'ÉGARD DE *BIOMPHALARIA* D'ÉTANG APRÈS
UNE HEURE DE CONTACT

Concentration (p.p.m.)	Taux de mortalité (%)		
	Irradiation (heures)		
	6	12	24
0,5	80 (98) ^a	96 (corrige) (100)	8 (93,8)
0,25	42 (56)	60,5 (87)	6 (62)
0 (témoin)	0 (0)	8,3 (8,3)	0 (0)

^a Les chiffres entre parenthèses indiquent les taux de mortalité observés dans des suspensions non irradiées, mais vieilles de 6, 12 et 24 heures respectivement.

solution de Tween 80 à 1‰. Nous donnons dans les tableaux 4 et 5 les résultats obtenus respectivement avec Bayer 73 et ICI 24223.

Dans les conditions d'expérimentation et pour Bayer 73, il n'y eut pas d'effet indiscutable après une irradiation de 6 et 12 heures. Cependant après une irradiation de 24 heures, l'efficacité de la suspension à 0,5 p.p.m. est réduite à 1/11^e tandis que celle de la suspension 0,25 p.p.m. tombe à 1/6^e. Le fabricant note également une réduction nette de l'efficacité du produit par l'action des rayons ultraviolets.

Quant au produit ICI 24223, une irradiation d'une durée de 6 heures ne semble guère influencer l'efficacité du molluscicide. Après une irradiation de 12 heures l'influence inactivante des UV est nette à la concentration de 20 p.p.m. où nous obtenons 32,6% de mortalité avec la suspension irradiée, contre 99% dans la suspension non irradiée (réduction à 1/3). Cette influence est moins marquée avec 15 p.p.m.: 73,2% contre 99% chez le témoin (réduction aux 3/4). Enfin après 24 heures d'irradiation, l'inactivation est pratiquement complète à la concentration de 20 p.p.m. (4% contre 100% chez le témoin) et la concentration de 15 p.p.m. voit son efficacité réduite à 1/5^e après irradiation. Il est à noter que l'action inactivante des UV est plus marquée pour la plus forte concentration; ce phénomène, pour lequel nous n'avons pas d'explication, n'est certainement pas dû au hasard, car nous avons recommencé les essais trois fois avec un résultat identique.

On peut constater que Bayer 73 résiste mieux aux rayons ultraviolets que ICI 24223.

TABLEAU 5
INFLUENCE DES RAYONS ULTRAVIOLETS
SUR L'EFFICACITÉ DU ICI 24223
A L'ÉGARD DE *BIOMPHALARIA* D'ÉTANG APRÈS
UNE HEURE DE CONTACT

Concentration (p.p.m.)	Taux de mortalité (%)		
	Irradiation (heures)		
	6	12	24
20 + Tween	98 (98) ^a	32,6 (corr.) (99)	4 (100)
15 + Tween	78,8 (100)	73,2 (corr.) (99,3)	21,2 (100)
Sol. Tween 80 1‰ (témoin)	0 (4)	3 (corr.) (2,1)	2 (0)
Eau pure irradiée	0 (0)	2 (0)	0 (0)

^a Voir note a, tableau 4.

Influence du vieillissement

Nous n'avons pas spécialement étudié l'influence du vieillissement sur les suspensions de Bayer 73. Nous avons cependant constaté durant les essais sur l'action des UV qu'une suspension vieille de 24 heures n'a rien perdu de son efficacité. En revanche, l'influence du vieillissement sur ICI 24223 a été précisée. Une suspension-mère à concentration de 100 p.p.m. sans Tween est préparée et laissée à vieillir dans le local conditionné à 25°C. Après un délai déterminé (24 heures, 3, 7 et 15 jours) on prépare, à partir de cette suspension-mère, les concentrations à tester dans de l'eau additionnée de Tween 80 dans la proportion de 1‰. Les résultats de ces essais sont consignés dans le tableau 6.

La suspension garde toute son efficacité 24 heures après sa préparation et se dégrade ensuite lentement pour atteindre 10% environ de son efficacité initiale après 15 jours de vieillissement. Il est à noter qu'après 24 heures l'activité semble même supérieure à celle d'une suspension fraîche; ceci est vraisemblablement dû à l'effet de l'évaporation.

ACTION SUR LES ŒUFS DE MOLLUSQUES

Ces essais ont été effectués uniquement avec des œufs de limnée récoltés en étangs (*Lymnaea natalensis* Krauss) car il était aisé de s'en procurer en grand nombre. L'enrobage gélatineux entourant ces œufs est d'ailleurs plus épais que celui des pontes de *Physopsis* et de *Biomphalaria*. Pour cette raison, il est possible que ces derniers œufs soient plus sensibles à un produit toxique. Les quelques œufs de

TABLEAU 6
EFFET DU VIEILLISSEMENT SUR L'EFFICACITÉ
DE SUSPENSIONS DE ICI 24223
A L'ÉGARD DE *BIOMPHALARIA* D'ÉTANG (3-6 mm) APRÈS
UNE HEURE DE CONTACT

Concentration (p.p.m.)	Mortalité corrigée (%)				
	Suspension fraîche	Viellissement (jours)			
		1	3	7	15
20	100	100	96	30,8	12,5
15	76	100	34	19,1	3,8
10	37,5	—	6	0	4
5	6,2	—	0	—	2
Témoin Tween 80 (1%)	4	0	0	2	0

Physopsis et de *Biomphalaria* testés ont réagi au Bayer 73 comme les œufs de limnée.

Le jour même de la récolte, les pontes sont détachées soigneusement du support et mises en boîtes de Petri contenant de l'eau du robinet, dans un local conditionné à 25°C. Le lendemain, les œufs sont examinés sous stéréoscope binoculaire ou — ce qui nous semble plus précis — sous microscope à faible grossissement: objectif 2 ou 3, oculaire 6×. Les œufs vivants contiennent suivant le stade de développement soit une masse embryonnaire mobile et transparente, soit un jeune mollusque formé, mobile et assez transparent. Pour être admise aux essais, une ponte ne doit contenir que des œufs vivants; un œuf mort suffit à faire rejeter toute une ponte. Le taux de mortalité est évidemment calculé en tenant compte non du nombre de pontes mais du nombre d'œufs; le nombre de ceux-ci peut en effet varier beaucoup d'une ponte à l'autre. Après le temps de contact les pontes sont rincées, remises en eau pure pendant 24 heures et enfin examinées sous stéréoscope ou sous microscope. Des pontes servant de témoin restent en eau pure durant toute la durée de l'expérience. Pour chaque test avec une concentration donnée et une durée déterminée on utilisa 50-100 œufs à divers stades d'évolution.

Les propriétés ovicides du ICI 24223 furent recherchées en utilisant les concentrations suivantes du produit: 10; 5; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,1; 0,05; 0,03 et 0,01 p.p.m. A ces diverses concentrations, il ne fut pas constaté d'effet ovicide pour des durées de contact de 1,2 et 6 heures. Devant ces résultats des œufs de limnée âgés de 12 jours environ furent

placés pendant 24 heures dans une suspension à 100 p.p.m. fraîchement préparée; il n'y eut pas de mortalité. Le molluscicide ICI 24223 n'est donc pas ovicide.

Par contre Bayer 73 détruit les œufs de limnée comme on peut le constater dans le tableau ci-dessous; les concentrations efficaces sont faibles:

Concentrations de Bayer 73 (p.p.m.)	Mortalité des œufs de limnée (%)		
	Durée de contact		
	1 heure	2 heures	6 heures
0,5	100	100	100
0,25	3,3	16,4	100
0,1	0	0	100
0,05	0	0	100
0,03	0	—	0
0,01	—	0	0
Témoin	0	0	0

ACTION SUR LES CERCAIRES DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

Le molluscicide ICI 24223 ne possède pas de propriétés cercaricides comme on peut le constater dans le tableau ci-après:

Contact (heures)	Mortalité (%)		
	Concentration (p.p.m.)		
	200	100	0 (témoin)
1	17,8	0	0
2,5	14,4 (corr.)	18,5 (corr.)	7,2
4	34,7 (corr.)	29,5 (corr.)	21,1

Par contre, nos essais dans ce domaine avec le Bayer 73 ont donné de bons résultats.

Aux concentrations élevées (de 4 à 0,5 p.p.m.), l'action létale du produit est très rapide et il est nécessaire de procéder à une observation continue sous stéréoscope binoculaire et en boîte de Petri depuis le moment où les cercaires sont mises en contact avec le produit.

A 4 p.p.m. les cercaires accusent, dès le contact, des mouvements spasmodiques qui après 90 secondes sont à peine perceptibles. Toutes les cercaires sont mortes entre 100 et 120 secondes après le début du contact. A 2 p.p.m. l'observation est identique, la mort survient également après 2 minutes. A 1 p.p.m. il faut 2 minutes de contact pour que les mouvements se ralentissent au point de devenir à peine perceptibles. Toutes les cercaires sont mortes 2 minutes 45 secondes après le début de l'observation. A 0,5 p.p.m. l'action du Bayer 73 est encore bien rapide. Les mouvements sont à peine perceptibles après 3-4 minutes d'exposition et toutes les cercaires sont immobiles 4-5 minutes après le contact.

L'action des dilutions plus faibles est nettement moins marquée. Avec la concentration de 0,25 p.p.m. les mouvements restent normaux jusqu'à 11 minutes après le début de l'observation. Par la suite les périodes de repos s'allongent et les périodes de mobilité deviennent plus courtes, au fur et à mesure de la prolongation de l'expérience; de même, il faut des excitations (secousses) de plus en plus fortes pour mettre les cercaires en mouvement. Après 4 heures 20 minutes, 50% des cercaires sont mortes, la queue et la tête étant généralement séparées; les cercaires survivantes sont immobiles sur le fond et réagissent aux chocs par des mouvements extrêmement brefs. L'observation fut arrêtée car après ce temps on peut craindre que le vieillissement ne commence déjà à montrer son influence.

A 0,1 p.p.m., l'action du produit semble beaucoup moins nette. Il faut attendre environ 30 minutes pour constater des mouvements plus paresseux chez certaines larves; ce ralentissement paraît s'accroître avec l'allongement de l'observation. Après 2 heures, 2 cercaires sur 58 sont mortes. Après 4 heures 20 minutes, moins de 10% de cercaires sont mortes; les cercaires survivantes montrent encore des mouvements vifs, même non provoqués.

Il nous paraît intéressant de comparer l'activité du Bayer 73 dans ce domaine à l'action cercaricide bien connue de produits utilisés pour stériliser l'eau.

Le premier d'entre nous a recherché il y a plusieurs années le pouvoir cercaricide de l'ozone. Pour ces essais les cercaires étaient soit mises dans la colonne de contact où barbotaient des bulles d'air chargé d'ozone, soit versées dans l'eau ozonée après barbotage. Il fut vérifié au préalable que la viabilité des cercaires n'était pas affectée par les remous assez violents provoqués par ce barbotage de courte durée — maximum 5 minutes. En effet, les cercaires ayant subi les remous occasionnés par la diffusion d'air ordinaire restèrent bien vivantes et infectèrent des souris. Lorsque les cercaires furent maintenues pendant 1 minute dans la colonne de contact où un barbotage d'air ozoné maintenait une concentration de 0,384 p.p.m. d'ozone (soit 0,384 g/m³), toutes périrent. Des cercaires furent mises durant 10 minutes dans une eau calme venant de subir un barbotage et dont la concentration en ozone passa de 0,72 p.p.m. à 0,33 p.p.m. du début à la fin du contact de 10 minutes: toutes périrent. Un contact fut fait dans des conditions semblables mais la durée d'exposition fut de 5 minutes, durant lesquelles la concentration ozone tomba de 0,4 à 0,33 p.p.m., les cercaires furent tuées. Enfin un contact de 10 minutes en eau

ozonée calme dont la concentration de 0,43 p.p.m. au début et de 0,33 p.p.m. après 3 minutes fut indosable — moins que 0,2 p.p.m. — après 5 minutes, montra que la grande majorité des cercaires immobiles ou à mouvements ralentis avaient récupéré leur vitalité après une dizaine de minutes; elles infectèrent des souris blanches. De ces essais on peut conclure qu'en pratique un contact de 5 minutes avec une eau ozonée à une concentration de 0,33 à 0,5 p.p.m. tue les cercaires qui s'y trouvent. Dans la stérilisation industrielle de l'eau alimentaire par l'ozone, ce gaz est appliqué à la concentration de 0,3 à 1,5 p.p.m. (0,3 à 1,5 g/m³), la durée de contact étant de 6-10 minutes. On peut ainsi admettre que l'ozonisation élimine les cercaires qui ont résisté aux opérations d'épuration préalables à la stérilisation.

Gillet et Wolfs, en 1952, dans une note non publiée ont traité de l'action cercaricide du chlore libre; les résultats en sont résumés dans le tableau ci-dessous:

Concentration en chlore (p.p.m.)	Mortalité (%)			
	Temps de contact (minutes)			
	2	5	16	120
6,66	100			
3,33	100			
1,66	100			
0,83	—	100		
0,41			100	
0,20				100
0,10				mouvements ralentis
0,05				cercaires normales

On peut conclure que le Bayer 73 possède une action cercaricide comparable à celle de l'ozone et du chlore.

RÉSUMÉ ET CONCLUSION

L'action du Bayer 73 sur *Biomphalaria*, *Physopsis* et *Lymnaea* est rapide; celle de ICI 24223 est plus lente. Dans des conditions identiques, Bayer 73 agit généralement à plus faible concentration. D'autre part, Bayer 73 résiste mieux que ICI 24223 aux rayons ultraviolets. Il faut 24 heures d'irradiation intense pour réduire sérieusement l'action du Bayer 73 ou l'annihiler, tandis que pour ICI 24223, l'action inactivante des UV se fait sentir après 12 heures. L'influence du vieillissement a été recherchée pour ICI 24223, dont la suspension se dégrade lentement pour tomber à 10% de son efficacité initiale après 15 jours.

Enfin Bayer 73 a une action létale comparable à l'ozone et au chlore sur les cercaires de *Sch. mansoni* contre lesquelles ICI 24223 s'est révélé sans action.

Le produit Bayer 73 tue les œufs de *Lymnaea* à faible concentration; ICI 24223 n'eut pas d'effet sur les mêmes œufs.

SUMMARY

Comparative laboratory tests with the molluscicides Bayer 73 and ICI 24223 were carried out on African snails of the genera *Biomphalaria*, *Physopsis* and *Lymnaea* in the Congo (Léopoldville). Bayer 73 was shown to be considerably more rapid in molluscicidal action than ICI 24223 and was also generally effective at lower concentrations. Bayer 73 was also more resistant to ultraviolet light, needing 24 hours of intense ultraviolet irradiation for its effectiveness to be seriously reduced or nullified, whereas ICI 24223 was rendered ineffective after only 12 hours in the same conditions.

The effect of aging on ICI 24223 was also tested; it was found that this product showed slow degradation in suspension, reaching 10% of its original effectiveness after 15 days' aging. Similar tests were not performed on Bayer 73.

Eggs of *Lymnaea* are killed by Bayer 73 at low concentrations, but are not affected by ICI 24223. The latter product is also inactive against cercariae of *Schistosoma mansoni*, against which, however, Bayer 73 has a lethal action comparable with that of ozone or chlorine.