



**HAL**  
open science

## Lignes directrices pour les essais en laboratoire et sur le terrain de molluscicides destinés à la lutte contre la schistosomiase

I. Ayi, Fabrice Chandre, M.J. Chimbari, P.M.Z. Coelho, M.A. El-Emam, A.K. El-Harawy, K. Gachuhi, A. Garba, Jinjiang Guo, D. Jian-Rong, et al.

### ► To cite this version:

I. Ayi, Fabrice Chandre, M.J. Chimbari, P.M.Z. Coelho, M.A. El-Emam, et al.. Lignes directrices pour les essais en laboratoire et sur le terrain de molluscicides destinés à la lutte contre la schistosomiase. WHO/Department of control of neglected tropical diseases, A paraître, 978-92-4-000046-9. hal-03001009

**HAL Id: hal-03001009**

**<https://hal.science/hal-03001009v1>**

Submitted on 12 Nov 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# **LIGNES DIRECTRICES POUR LES ESSAIS EN LABORATOIRE ET SUR LE TERRAIN DE MOLLUSCICIDES DESTINÉS À LA LUTTE CONTRE LA SCHISTOSOMIASE**



**Organisation  
mondiale de la Santé**



**LIGNES DIRECTRICES  
POUR LES ESSAIS EN LABORATOIRE ET  
SUR LE TERRAIN DE MOLLUSCICIDES  
DESTINÉS À LA LUTTE CONTRE LA  
SCHISTOSOMIASE**



**Organisation  
mondiale de la Santé**

Lignes directrices pour les essais en laboratoire et sur le terrain de molluscicides destinés à la lutte contre la schistosomiase [Guidelines for laboratory and field testing of molluscicides for control of schistosomiasis]

ISBN 978-92-4-000046-9 (version électronique)

ISBN 978-92-4-000844-1 (version imprimée)

© **Organisation mondiale de la Santé 2020**

Certains droits réservés. La présente publication est disponible sous la licence Creative Commons Attribution – Pas d'utilisation commerciale – Partage dans les mêmes conditions 3.0 IGO (CC BY NC-SA 3.0 IGO ; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo/deed.fr>).

Aux termes de cette licence, vous pouvez copier, distribuer et adapter l'oeuvre à des fins non commerciales, pour autant que l'oeuvre soit citée de manière appropriée, comme il est indiqué ci dessous. Dans l'utilisation qui sera faite de l'oeuvre, quelle qu'elle soit, il ne devra pas être suggéré que l'OMS approuve une organisation, des produits ou des services particuliers. L'utilisation de l'emblème de l'OMS est interdite. Si vous adaptez cette oeuvre, vous êtes tenu de diffuser toute nouvelle oeuvre sous la même licence Creative Commons ou sous une licence équivalente. Si vous traduisez cette oeuvre, il vous est demandé d'ajouter la clause de non responsabilité suivante à la citation suggérée : « La présente traduction n'a pas été établie par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). L'OMS ne saurait être tenue pour responsable du contenu ou de l'exactitude de la présente traduction. L'édition originale anglaise est l'édition authentique qui fait foi ».

Toute médiation relative à un différend survenu dans le cadre de la licence sera menée conformément au Règlement de médiation de l'Organisation mondiale de la propriété intellectuelle.

**Citation suggérée.** Lignes directrices pour les essais en laboratoire et sur le terrain de molluscicides destinés à la lutte contre la schistosomiase [Guidelines for laboratory and field testing of molluscicides for control of schistosomiasis]. Genève : Organisation mondiale de la Santé ; 2020. Licence : CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

**Catalogage à la source.** Disponible à l'adresse <http://apps.who.int/iris>.

**Ventes, droits et licences.** Pour acheter les publications de l'OMS, voir <http://apps.who.int/bookorders>. Pour soumettre une demande en vue d'un usage commercial ou une demande concernant les droits et licences, voir <http://www.who.int/about/licensing>.

**Matériel attribué à des tiers.** Si vous souhaitez réutiliser du matériel figurant dans la présente oeuvre qui est attribué à un tiers, tel que des tableaux, figures ou images, il vous appartient de déterminer si une permission doit être obtenue pour un tel usage et d'obtenir cette permission du titulaire du droit d'auteur. L'utilisateur s'expose seul au risque de plaintes résultant d'une infraction au droit d'auteur dont est titulaire un tiers sur un élément de la présente oeuvre.

**Clause générale de non responsabilité.** Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'OMS aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les traits discontinus formés d'une succession de points ou de tirets sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux ne signifie pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'OMS, de préférence à d'autres de nature analogue. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

L'Organisation mondiale de la Santé a pris toutes les précautions raisonnables pour vérifier les informations contenues dans la présente publication. Toutefois, le matériel publié est diffusé sans aucune garantie, expresse ou implicite. La responsabilité de l'interprétation et de l'utilisation dudit matériel incombe au lecteur. En aucun cas, l'OMS ne saurait être tenue responsable des préjudices subis du fait de son utilisation.

# TABLE DES MATIÈRES

Remerciements .....	iv
Abréviations.....	v
<b>1. Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Études en laboratoire (PHASE I) .....</b>	<b>3</b>
2.1 Objectifs .....	3
2.2 Matériel, espèces testées et conditions d'essai .....	3
2.3 Détermination de l'activité biologique.....	6
2.3.1 Activité molluscicide intrinsèque .....	6
2.3.2 Efficacité et activité résiduelle.....	8
2.4 Détermination de la concentration discriminante.....	9
2.5 Évaluation des résistances croisées .....	9
<b>3. Essais de terrain à petite échelle (PHASE II).....</b>	<b>10</b>
3.1 Objectifs .....	10
3.2 Méthodologie .....	10
3.3 Efficacité et décompte de l'activité résiduelle.....	12
3.4 Collecte et analyse des données .....	12
3.5 Sélection de la dose optimale à appliquer sur le terrain.....	13
3.6 Critères d'efficacité pour les études de Phase II .....	13
<b>4. Essais de terrain à grande échelle (Phase III) .....</b>	<b>14</b>
4.1 Objectifs .....	14
4.2 Méthodologie.....	14
4.3 Collecte et analyse des données .....	18
4.4 Critères d'efficacité pour l'étude de Phase III .....	18
<b>5. Considérations réglementaires et éthiques.....</b>	<b>19</b>
<b>6. Consentement de la communauté.....</b>	<b>19</b>
Références .....	20
Annexe 1. Mesures et conversions .....	22
Annexe 2. Dilutions et concentrations .....	23
Annexe 3. Formulaires d'enregistrement des données .....	24
Annexe 4. Lignes directrices pour la rédaction du formulaire de consentement éclairé.....	26
Annexe 5. Exemples d'essais de terrain à grande échelle.....	30

# Remerciements

La première version de ces lignes directrices a été élaborée par le Dr Henry Madsen et modifiée par le Dr Richard Oxborough. Elle a ensuite fait l'objet d'un examen par des pairs experts et d'une discussion dans le cadre d'une consultation de l'OMS, organisée à l'Institut national des maladies parasitaires, à Shangai (Chine), du 7 au 10 octobre 2015.

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) exprime sa sincère reconnaissance pour leur contribution à l'élaboration, à l'examen et à la finalisation de ces lignes directrices aux personnes suivantes :

Dr I. Ayi (Department of Parasitology, Noguchi Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana, Accra, Ghana) ; Dr F. Chandre (IRD MiVEGEC, Montpellier, France) ; Professeur M. J. Chimbari (College of Health Sciences, University of KwaZulu-Natal, Afrique du Sud) ; P. M. Z. Coelho (Reference Laboratory for Schistosomiasis, Centro de Pesquisas, Rene Rachou Research Center, The Oswaldo Cruz Foundation, Minas Gerais State, Brésil) ; Professeur A.K. El-Harawy et Dr M. A. El-emam (Theodor Bilharzia Research Institute, Giza, Égypte) ; Dr K. Gachuhi (Centre for Biotechnology Research and Development, Kenya) ; Medical Research Institute, Nairobi, Kenya) ; Dr D. Jian-Rong [Anhui Institute of Parasitic Diseases, Anhui Province, Chine) ; Dr C. Kariuki (Kenya Methodist University, Nairobi, Kenya) ; Dr H. Madsen (Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Danemark) ; Dr H. Moné (Interactions Hôtes-Pathogènes-Environnements, Université de Perpignan Via Domitia, Perpignan Cedex France) ; M. S. J. Mohammed (Neglected Tropical Diseases, Pemba Island, Zanzibar) ; Dr P. Muller (Department of Epidemiology and Public Health, Swiss Tropical and Public Health Institute, Bâle, Suisse) ; Dr K.E. N'Goran (UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire) ; Dr W. Tian-Ping (Anhui Institute of Parasitic Diseases, Anhui Province, Chine) ; Dr R.M. Oxborough (Medical Entomology Consultant, Londres, Royaume-Uni) ; Dr D. Rollinson, Wolfson Wellcome Biomedical Laboratories, Life Sciences Division of Life Sciences, The Natural History Museum, Londres, Royaume-Uni) ; Dr Z. Yi et Professeur Xiao-Nong Zhou (National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Shanghai, Chine).

Les membres suivants du personnel technique du Département Maladies tropicales négligées de l'OMS ont dirigé l'élaboration des lignes directrices : Dr Rajpal Yadav, Dr Amadou Garba Djirmay et Dr Jiagang Guo.

## Sigles et abréviations

CE	concentré émulsionnable
CL <sub>50</sub>	concentration entraînant la mort de 50 % des sujets
CL <sub>95</sub>	concentration entraînant la mort de 95 % des sujets
CS	concentré en suspension
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
OMS	Organisation mondiale de la Santé
PA	principe actif
PM	poudre mouillable
USEPA	Agence de protection de l'environnement des États-Unis





# 1. Introduction

L'objectif de ces lignes directrices est de fournir des procédures et des critères spécifiques et standardisés pour tester l'efficacité de molluscicides et évaluer leur utilité dans la lutte contre la schistosomiase. Ces lignes directrices visent à harmoniser les procédures d'essai appliquées dans les différents laboratoires et établissements en vue de générer des données d'essai d'efficacité comparables, comparabilité nécessaire à l'homologation et à l'étiquetage de ces produits par les autorités nationales de réglementation.

La schistosomiase, également appelée bilharziose, est une maladie causée par des vers trématodes parasites du genre *Schistosoma*. Le cycle de vie de ces parasites comprend des hôtes mammifères, dont l'Homme, et des mollusques d'eau douce comme hôtes intermédiaires.

Les molluscicides sont des produits de synthèse ou d'origine biologique, utilisés principalement pour tuer diverses espèces de mollusques, dont les hôtes intermédiaires participant au cycle de vie des schistosomes. Dans le passé, de nombreux molluscicides ont été employés dans le cadre des programmes de lutte contre la schistosomiase (OMS, 1992). Toutefois, c'est le composé niclosamide qui a été le plus largement utilisé sur les 35 dernières années. L'emploi de formulations à base de niclosamide se heurte néanmoins à certains obstacles, notamment les restrictions portant sur l'utilisation de l'eau potable immédiatement après son application et sa forte toxicité temporaire à l'égard d'organismes aquatiques non ciblés, tels que certains poissons, amphibiens et invertébrés (USEPA, 1999 ; OMS, 2002).

Il est donc nécessaire de disposer de nouveaux composés moins dangereux pouvant servir de molluscicides, compte-tenu en particulier du regain d'intérêt pour la lutte contre la schistosomiase et son élimination, qui s'exprime notamment dans les recommandations de la résolution WHA65.21, adoptée par la Soixante-Cinquième Assemblée mondiale de la Santé en 2012. Bien qu'il n'existe actuellement que peu de preuves d'une résistance chimique des populations de mollusques, il faut néanmoins rechercher d'autres composés chimiques pour remplacer ceux devenant potentiellement moins efficaces après des applications sur le terrain sur plusieurs générations, ou mettre au point de nouveaux principes actifs plus spécifiques des mollusques hôtes des schistosomes.

En 1961, l'OMS a publié le document *Guidance on laboratory screening and field efficacy testing of molluscicides* (en anglais, OMS, 1961), qui a été actualisé dans un mémorandum élaboré lors de la réunion informelle d'enquêteurs sur la sélection et l'évaluation des molluscicides en 1964 (Anon, 1965). Par la suite, l'OMS a publié une revue systématique consacrée à la lutte contre les mollusques pour combattre la schistosomiase ainsi que des méthodologies détaillées pour étudier tous les aspects relatifs aux hôtes intermédiaires, y compris les détails pratiques de l'application des molluscicides (OMS, 1965). D'autres recommandations ont été émises et les besoins en matière de recherche ont été recensés en 1970 (OMS, 1971). En 1992, l'OMS a publié un manuel pratique sur l'utilisation des molluscicides dans la lutte contre la schistosomiase (OMS, 1992). L'Organisation a aussi récemment publié un manuel opérationnel pour l'utilisation sur le terrain de ces produits à l'intention des administrateurs des programmes de lutte contre la schistosomiase (*Utilisation sur le terrain de molluscicides dans les programmes de lutte contre la schistosomiase : manuel à l'usage des gestionnaires de programme*, OMS, 2020).

Le présent document fournit des conseils actualisés pour réaliser les études en laboratoire et les études terrain à petite échelle ou à grande échelle visant à évaluer l'efficacité et déterminer les taux d'application in situ des nouveaux produits molluscicides destinés à combattre la schistosomiase. Le *Tableau 1* récapitule les phases d'évaluation et les objectifs de ces études.

Avant de commencer à tester de nouveaux molluscicides candidats, les fabricants doivent établir des profils écotoxicologiques utilisables pour évaluer les dangers et les expositions humaines. L'OMS est chargée de définir des spécifications conformément au Manuel sur l'élaboration et l'utilisation des spécifications FAO/OMS pour les pesticides, (FAO/OMS, 2016). L'Organisation a aussi pour mission d'évaluer le risque humain associé à l'utilisation des nouvelles formulations de molluscicides, conformément au modèle générique d'évaluation des risques (OMS, 2018). Les procédures présentées dans ce guide fournissent des informations qualitatives supplémentaires sur l'innocuité et la toxicité des molluscicides pour les organismes non visés.

**Tableau 1.** Objectifs des diverses étapes de l'évaluation des molluscicides

Phase	Type d'étude	Objectif
I	Études en laboratoire	• Établissement de la courbe dose-réponse (déterminer les $CL_{50}$ et $CL_{95}$ ).
		• Efficacité biologique à l'égard des œufs et des mollusques adultes (détermination de la concentration efficace et de l'activité résiduelle).
		• Concentration discriminante <sup>1</sup> pour le suivi de la résistance.
		• Évaluation des résistances croisées.
		• Évaluation des risques pour l'Homme <sup>2</sup> .
II	Essais sur le terrain à petite échelle	• Efficacités initiale et résiduelle contre les mollusques en conditions de semi-terrain et dans des milieux écologiques limités.
		• Détermination des méthodes et des doses d'application optimales.
III	Essais sur le terrain à grande échelle	• Efficacités initiale et résiduelle des doses d'application optimales contre les mollusques dans des zones à grande échelle, comprenant des étendues d'eau naturelles.
		• Observation de l'acceptabilité opérationnelle et communautaire.
		• Enregistrement des effets sur les organismes non-cibles.

1. La concentration discriminante est déterminée comme deux fois la concentration minimale produisant une mortalité de 99,9 ou 100 % dans les essais biologiques en laboratoire testant des doses incrémentales de molluscicide, avec une durée d'exposition de 24 heures.

2. L'évaluation des risques pour l'Homme des formulations du seul produit de référence doit être réalisée conformément au modèle générique d'évaluation des risques (disponible à l'adresse : <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/276706/9789241515047-eng.pdf>) et n'est pas traitée dans ce document.

## 2. Études en laboratoire (PHASE I)

### 2.1 Objectifs

Les objectifs premiers des essais en laboratoire sont d'évaluer l'efficacité et de déterminer la toxicité intrinsèque de nouveaux composés de grade technique présentant une activité molluscicide, en établissant une courbe dose-réponse.

Les essais de phase I ont pour principaux buts et objectifs :

- d'établir une ou des courbes dose – réponse vis à vis d'une ou plusieurs espèces de mollusques servant d'hôtes intermédiaires en vue de déterminer les concentrations létales (CL) de molluscicide produisant une mortalité de 50 % (CL<sub>50</sub>) et de 95 % (CL<sub>95</sub>) chez les adultes ;
- de déterminer la concentration efficace minimale, capable de tuer 100 % d'une espèce de mollusques ainsi que l'activité résiduelle ;
- d'établir une concentration discriminante pour le suivi de la résistance au molluscicide parmi les populations naturelles de mollusques hôtes intermédiaires ; et
- d'évaluer les résistances croisées à l'égard d'autres composés.

Lorsque l'on teste pour la première fois une nouvelle formulation de molluscicide, les données relatives aux dangers associés à son principe actif et les données d'évaluation des risques devront être présentées par le fabricant. Le produit ne devra être soumis aux tests de Phase II qu'après approbation de l'évaluation des risques pour l'Homme.

### 2.2 Matériel, espèces testées et conditions d'essai

Matériel requis pour les essais

Pour l'essentiel, le matériel utilisé comprend des ustensiles de laboratoire tels que des béchers en verre de 100, 500 et 1000 ml (ne pas employer de récipient en plastique pour contenir l'eau traitée), des micropipettes, des pipettes, des embouts jetables, des compte-gouttes, des burettes graduées, des gants, des morceaux de moustiquaires ou de voilages, un seau contenant de l'eau déchlorée, un minuteur et des formulaires d'enregistrement des données. L'eau déchlorée destinée aux essais doit provenir de la même source que l'eau habituellement employée pour l'élevage des mollusques.

Organismes soumis aux essais – mollusques adultes

Pour évaluer l'activité biologique d'un molluscicide, des mollusques, de préférence issus d'un élevage de laboratoire, sont exposés à de l'eau traitée avec le molluscicide candidat à diverses concentrations situées dans sa plage d'activité, puis leur mortalité est enregistrée. Pour les espèces difficiles à élever en laboratoire, il est nécessaire de collecter les mollusques dans des milieux naturels ou le contact avec l'Homme est limité puis, au laboratoire, de contrôler régulièrement sur 1 à 2 semaines, l'absence d'infection visible par des trématodes avec la méthode de recherche d'émission de cercaires.

---

<sup>1</sup> Inclure des intervalles de confiance à 95 % autour des estimations.

Les mollusques présentant une infection visible par des trématodes (quelle qu'en soit l'espèce) devront être éliminés.

Les lots de mollusques exposés sont comparés à des lots non exposés (i.e. témoins non traités). Les mollusques amphibiens sont testés de la même manière en les exposant à de l'eau traitée.

Les mollusques adultes élevés en laboratoire qui pondent des œufs devraient être utilisés pour les essais de phase 1. En principe, les espèces de mollusques qui sont testées sont celles qui ont une importance majeure d'hôte intermédiaire dans la région (Figure 2.1). Seules certaines espèces appartenant principalement aux genres *Bulinus*, *Biomphalaria*, *Oncomelania* et *Neotricula*, jouent un rôle dans la transmission de la schistosomiase (OMS, 2020). Il importe d'utiliser des populations de mollusques homogènes, au même stade de développement et de taille uniforme. Il faut enregistrer la hauteur moyenne de la coquille (avec un intervalle de confiance à 95 %) des espèces *Oncomelania* et *Bulinus* ou le diamètre de la coquille des espèces *Biomphalaria*. Tout mollusque inactif doit être exclu. Selon les indications du fabricant, des essais supplémentaires peuvent être menés sur des mollusques juvéniles.

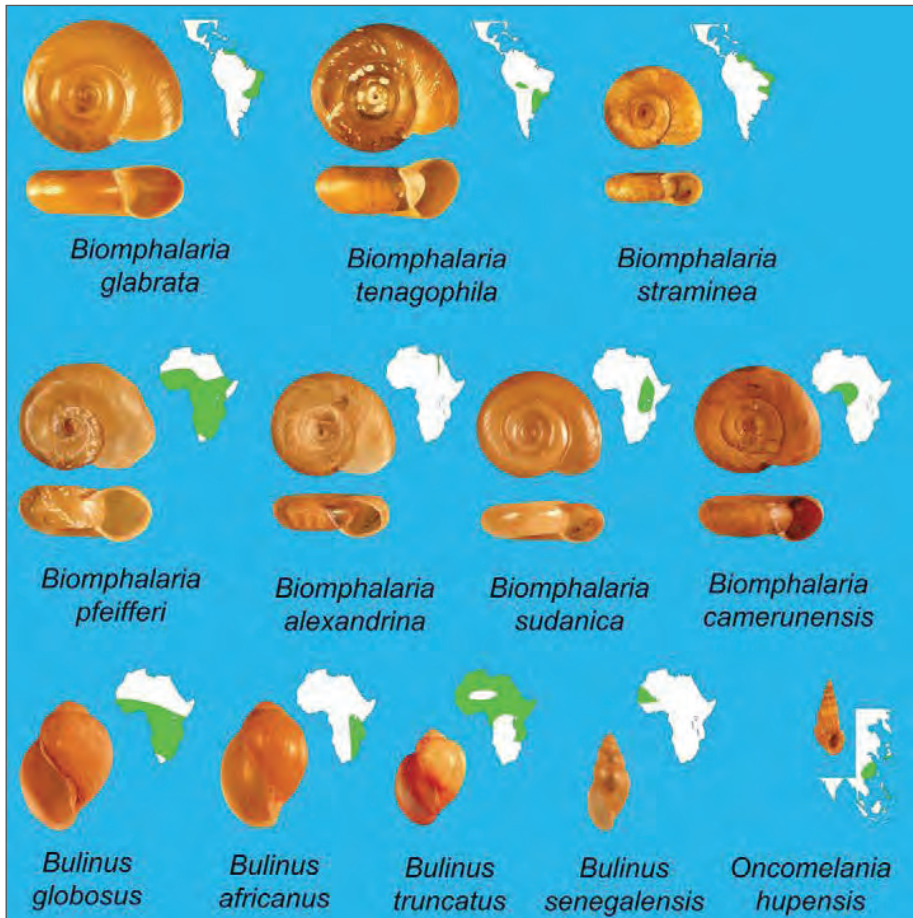
#### Organismes testés – œufs de mollusques

Selon les revendications du fabricant, il est possible de réaliser des essais sur des œufs en utilisant la concentration minimale ayant détruit 100 % des mollusques adultes. Les œufs âgés de 3 à 5 jours devront être exposés à la concentration de test selon la méthodologie standard pour les essais en immersion, décrite ci-après (section 2.3.1). On déterminera ensuite la mortalité des œufs en observant le taux d'éclosion jusqu'à une semaine après l'exposition. On exposera dix pontes par répliques de l'essai, avec un nombre identique pour les témoins (négatifs) non traités. On calcule la mortalité d'après la proportion d'œufs non éclos dans chaque ponte.

#### Conditions d'essai

Les effets molluscicides sont influencés par plusieurs facteurs tels que l'espèce de mollusque, son stade de développement (œufs ou mollusques adultes), les facteurs environnementaux tels que la dureté de l'eau, son pH et d'autres paramètres chimiques. Il est essentiel de standardiser ces variables d'essai pour garantir la reproductibilité des résultats. Il est également important de disposer d'informations sur la vitesse d'action du principe actif, car elles peuvent justifier la mise en observation sur des périodes plus longues pour un enregistrement de la mortalité différée dans le cas des molluscicides à action lente.

Pour les essais biologiques en immersion, les conditions d'essai sont les suivantes : température de l'eau  $25 \pm 1$  °C, pH de l'eau :  $7,0 \pm 0,5$ , et photopériodicité de 12:12 h (alternance lumière: obscurité). La température et le pH doivent être enregistrés au début et la fin de la période d'exposition. Il ne faut pas utiliser de dispositif d'aération de l'eau pendant l'exposition. Les béciers doivent être couverts avec des morceaux de voilages ou de moustiquaires et remplis d'eau jusqu'en haut pour empêcher aux mollusques de s'échapper de la solution d'essai.



**Figure 2.1** Répartition des principales espèces de mollusques hôtes intermédiaires ayant une importance majeure dans le monde (adapté par le Dr H. Madsen d'après le jeu de diapositives de l'Organisation mondiale de la Santé (1989) : *The intermediate snail hosts of African schistosomiasis. Taxonomy, ecology and control*)

#### Préparation des solutions mères et des concentrations d'essai\*

Les matières techniques de nombreuses molécules molluscicides ne sont pas solubles dans l'eau. Ces matières techniques doivent donc être dissoutes au préalable dans des solvants organiques appropriés tels que l'acétone ou l'éthanol (selon les conseils du fabricant) pour préparer les solutions diluées qui serviront aux essais. Quant aux produits formulés, ils sont miscibles dans l'eau. La mise en suspension ou le mélange de ces formulations avec de l'eau ne nécessite pas d'équipement spécial : on peut obtenir une suspension homogène en secouant ou en agitant doucement l'eau contenant le produit. Les solutions à tester devront être préparées peu de temps avant la réalisation des essais.

Des exemples de mesures et de conversions sont donnés à l'annexe 1 et les dilutions et les concentrations sont indiquées à l'annexe 2.

## 2.3 Détermination de l'activité biologique

### 2.3.1 Activité molluscicide intrinsèque

L'objectif est de déterminer la toxicité intrinsèque (efficacité biologique) d'une matière technique (principe actif) ayant des propriétés molluscicides. Cela consiste à établir la courbe dose-réponse en réalisant des essais biologiques par immersion vis-à-vis d'espèces de mollusques aquatiques (*Biomphalaria* et *Bulinus* spp.) et/ou amphibiens (*Oncomelania* spp.). Les essais de nouveaux molluscicides candidats peuvent faire appel à un témoin positif comme le niclosamide et doivent toujours inclure un témoin négatif constitué d'eau non traitée. Il convient d'utiliser une série de dilutions de la matière technique pour déterminer la gamme de concentrations où le molluscicide est actif. On utilise de l'eau déchlorée, telle que celle servant à l'élevage des mollusques, pour les dilutions et l'immersion lors des essais biologiques.

Un essai biologique initial est réalisé en préparant 3 à 5 répliques de 10 mollusques chacune, pour chaque concentration à tester (en fonction du nombre d'individus disponibles, le nombre de répliques peut être réduit de 5 à 3). Les mollusques sont répartis aléatoirement entre lots traités et lots témoins. Les résultats de chaque traitement sont analysés statistiquement. Le *Tableau 2* présente un exemple de plan d'essai qui prévoit de tester toutes les concentrations en même temps pour minimiser les variations expérimentales d'un jour à l'autre. Les mollusques *Oncomelania* spp. sont exposés dans des bécchers de 100 ml contenant 100 ml d'eau. Les espèces *Biomphalaria* et *Bulinus* spp. sont exposées dans des bécchers de 500 ml contenant 500 ml d'eau, c'est-à-dire que les bécchers doivent être remplis jusqu'au bord et recouverts d'un morceau de voile ou de moustiquaire pour empêcher aux mollusques de s'échapper. Le temps d'exposition standard au laboratoire est de 24 heures, mais il est possible de prolonger le suivi de 24 heures en 24 heures jusqu'à cinq jours au total. Aucun aliment ne doit être fourni pendant la période d'exposition de 24 heures, mais l'alimentation peut reprendre après.

Après un essai préliminaire avec une plage étendue de concentrations, on testera une gamme plus étroite de concentrations du molluscicide, comprenant 2 à 3 concentrations entraînant <50 % de mortalité et 2 à 3 concentrations entraînant >50-100 % de mortalité, en vue d'établir une courbe dose-réponse. Les lots renfermant chacun 10 mollusques sont exposés dans des bécchers en verre à de l'eau traitée ou non traitée sur une durée de 24 heures.

Comme indiqué précédemment, la température et le pH de l'eau doivent être enregistrés au début et à la fin de la période d'exposition et il faut s'abstenir d'utiliser un dispositif d'aération de l'eau pendant cette période.

**Tableau 2.** Plan d'essai équilibré, prévoyant six concentrations d'essai, deux témoins et trois répétitions de l'essai sur trois jours, à raison d'une par jour. Pour chaque répétition, toutes les concentrations d'essai/témoins seront testées en même temps, le même jour, pour minimiser les variations avec le temps des résultats du test et de l'état des mollusques

Concentrations d'essai/ témoins (mg/ml)	Répétitions de l'essai*		
	R1	R2	R3
Concentration 1	Jour 1	Jour 2	Jour 3
Concentration 2	Jour 1	Jour 2	Jour 3
Concentration 3	Jour 1	Jour 2	Jour 3
Concentration 4	Jour 1	Jour 2	Jour 3
Concentration 5	Jour 1	Jour 2	Jour 3
Concentration 6	Jour 1	Jour 2	Jour 3
Untreated control	Jour 1	Jour 2	Jour 3
Témoin positif (niclosamide, par ex.)	Jour 1	Jour 2	Jour 3

\* Chaque réplique utilise 10 mollusques.

### Observations de la mortalité

À la fin de la période d'exposition de 24 heures, les mollusques sont retirés de l'eau traitée ou de l'eau témoin ; ils sont rincés et transférés dans des récipients contenant de l'eau habituellement employée pour leur conservation ; après une période de récupération de 24 heures, on enregistre la mortalité. Les mollusques qui restent complètement rétractés dans leur coquille et ne présentent aucun mouvement sont suspectés d'être morts. Les mollusques vivants au bout de 24 heures devront être placés dans de l'eau fraîche avec des aliments et faire l'objet d'un suivi pendant 48 heures supplémentaires (72 heures au total) voire plus longtemps, le cas échéant. Les mollusques suspectés d'être morts devront être transférés dans des récipients séparés car leur décomposition éventuelle peut influencer sur la mortalité des survivants.

À la fin de la période de récupération, la mort ou la suspicion de mort des mollusques devra être confirmée. Pour confirmer le décès des espèces de *Bulinus* et *Biomphalaria* spp., on stimule les tissus mous avec une aiguille pour vérifier la réponse contractile. Dans le cas des espèces d'*Oncomelania* spp., il faut placer le mollusque entre deux lames de verre épaisses et écraser doucement la coquille avant d'évaluer la réponse contractile (Chinese Ministry of Health, 2000). En l'absence de réponse contractile, le mollusque est considéré comme mort.

Si la mortalité est >10 % chez les témoins non traités, les résultats de la réplique en cours doivent être éliminés et la réplique doit être recommencée. S'il apparaît une mortalité quelconque chez les témoins non traités, il faut corriger les résultats à l'aide de la formule d'Abbott ci-après (Abbott, 1987).



$$\text{Mortalité corrigée (\%)} = \frac{X - Y}{100 - Y} \times 100$$

où,

X = mortalité en pourcentage parmi les mollusques traités

Y = mortalité en pourcentage parmi les témoins non traités (négatifs)

Les résultats sont reportés dans un formulaire standard d'enregistrement des données. La relation entre dose et mortalité est analysée à l'aide d'un modèle log-probit (Finney, 1971) ou d'une régression logistique. La courbe dose-réponse permet de déterminer les valeurs de la CL<sub>50</sub> et de la CL<sub>95</sub>.

### Formulations spéciales de molluscicide

Les formulations de type appâts ou à libération lente nécessitent une méthodologie d'essai particulière ; même si, en principe, une courbe dose-réponse peut aussi être élaborée, la méthode précise dépend du molluscicide utilisé, de la matrice dans laquelle il est incorporé et de sa vitesse de libération (pour les formulations à libération lente) ou de la capacité d'ingestion des mollusques (formulations de type appât).

En principe, une formulation de type appât se compose d'une matrice comestible dans laquelle des produits chimiques sont incorporés, c'est-à-dire une substance attractive qui sera lentement libérée dans l'eau pour attirer les mollusques et une toxine qui, après ingestion agira comme poison systémique. Pour les essais de toxicité, on pourra tester différentes concentrations de la toxine comme pour une exposition directe, mais il sera nécessaire de mesurer la quantité de produits chimiques absorbée en moyenne par le groupe de mollusques (ou par les mollusques testés individuellement). Il faudra inclure davantage de témoins dans l'essai pour vérifier si la mortalité observée ne résulte pas juste de la libération passive de la toxine dans l'eau, si la toxine n'a pas un effet répulsif sur les mollusques et dans quelle mesure cette libération participe à la réduction du poids de la formulation.

Les formulations à libération lente sont constituées d'une matrice inerte (verre ou caoutchouc, par exemple) qui diffuse lentement un molluscicide dans l'eau. Pour analyser l'effet dose – réponse, on teste des formulations ayant différentes vitesses de libération sur une longue période, dans des conditions similaires à celles utilisées pour l'élevage des mollusques, avec éventuellement un remplacement régulier de l'eau et en alimentant les animaux pendant les essais. On pourra employer comme indicateurs d'effet molluscicide l'impact sur les pontes, la croissance et les taux de survie des mollusques traités par rapport à des mollusques témoins non exposés au molluscicide, mais exposés à la matrice ne contenant pas le principe actif.

### 2.3.2 Efficacité et activité résiduelle

Pour les nouveaux composés molluscicides candidats (principe actif de qualité technique) et pour les nouvelles formulations de composés molluscicides existants, la dose efficace optimale devrait être déterminée sur la base de la courbe dose réponse.

Les revendications figurant sur l'étiquette du fabricant peuvent aussi être prises en compte pour décider de la dose optimale à tester. L'efficacité (mortalité enregistrée après une exposition de 24 heures voire plus pour les composés à action lente) dans le cadre des essais en immersion et l'activité résiduelle pour cette dose efficace sont ensuite déterminées conformément au protocole d'essai biologique décrit dans la section 2.3.1. Le seuil d'efficacité correspond à un taux de mortalité de 80 % et l'action résiduelle effective se mesure par la durée pendant laquelle la mortalité dans les groupes traités reste  $\geq 80$  %.

## 2.4 Détermination de la concentration discriminante

La concentration discriminante d'un molluscicide est utilisée pour détecter la présence d'une résistance à ce molluscicide dans une population de mollusques sauvages. Le protocole d'essai biologique est décrit en détail dans la section 2.3.1. À partir de ces résultats, on détermine une concentration discriminante. La concentration discriminante est censée tuer 100 % des individus sensibles au molluscicide dans une population de terrain après 24 heures d'exposition. Pour tenir compte d'une marge de sécurité et éviter de surestimer la résistance des populations de terrain, la concentration discriminante est définie comme le double de la concentration minimale donnant une mortalité de 100 % dans les essais biologiques en laboratoire.

## 2.5 Évaluation des résistances croisées

Les nouveaux composés molluscicides candidats sont testés simultanément contre des espèces de mollusques ayant présenté une résistance aux classes de molluscicides déjà disponibles conformément au protocole d'essai biologique en immersion décrit précédemment. Les études de résistances croisées pourront porter notamment sur le niclosamide, qui a été largement utilisé sur le terrain dans la lutte contre les mollusques, même s'il n'existe actuellement aucune preuve d'une résistance à ce composé chez ces animaux.

## 3. Essais de terrain à petite échelle (PHASE II)

### 3.1 Objectifs

Les molluscicides candidats ou les composés se révélant prometteurs dans les études en laboratoire (Phase I) peuvent être soumis à des essais à petite échelle (Phase II). En Phase II, on pratique des essais sur le terrain à petite échelle des formulations de molluscicides contre les espèces de mollusques cibles, de préférence sur des sites de reproduction naturels représentatifs, ou lorsque ce n'est pas possible dans des conditions de terrain simulées. On teste la formulation candidate avec une gamme de concentrations conformément aux recommandations du fabricant mentionnées sur l'étiquette ou à la dose efficace déterminée en Phase I. Les concentrations de traitement sont calculées à partir de la quantité de principe actif par volume d'eau (si elle est connue ou mesurable) ou en fonction de la surface de l'habitat à traiter.

Les essais à petite échelle ont pour objectifs :

- de déterminer l'efficacité du composé contre différentes espèces de mollusques dans divers milieux aquatiques et écologiques ; et
- de déterminer la méthode et le taux d'application optimaux.

### 3.2 Méthodologie

Dans les essais de Phase II, les formulations sont testées à petite échelle dans des parcelles aquatiques/bassins artificiels ou dans des conditions de terrain simulées.

#### Équipements

Des lignes directrices opérationnelles de l'OMS font des recommandations concernant les équipements nécessaires, y compris les équipements de protection individuelle, devant être utilisés dans les essais sur le terrain (OMS, 2020).

#### Parcelles aquatiques d'essai

Les essais peuvent être menés en conditions contrôlées dans des bassins ou des canaux artificiels construits spécialement à cet effet pour les mollusques pulmonés et dans des marais pour *Oncomelania* spp. (dans des zones où l'on n'utilise ni molluscicide, ni autre biocide). Les bassins artificiels indépendants sont construits avec du béton ou creusés dans la terre, avec un revêtement constitué d'une bâche en matière plastique, une surface d'environ 1 m X 1 m et une profondeur de 1 m. On ajoutera une couche de sol local de 0,1 m d'épaisseur avant de transférer de l'eau et de la végétation provenant des habitats naturels ainsi que d'ensemencer les bassins avec les espèces locales de mollusque. Les habitats simulés seront constitués bien avant les essais chimiques et l'eau sera transférée après une filtration grossière à partir des habitats naturels.

Pour les essais portant sur des espèces amphibiens, on peut utiliser des bassins, des mares naturelles de petite dimension ou des parcelles de bassins ou de marais de 1 m x 1 m, protégés par des clôtures métalliques. Ces clôtures sont nécessaires pour limiter les risques de noyade pour les enfants. Le grillage métallique fin doit être fermement scellé à une base en béton pour empêcher que des animaux ne détériorent les parcelles d'essai. Une distance d'environ 2-3 m entre les parcelles expérimentales doit être maintenue pour éviter les risques de contaminations croisées.

Chacun des habitats artificiels ou naturels confinés est considéré comme une parcelle indépendante ou une réplique. L'essai doit prévoir un nombre suffisant de répliques de parcelles traitées, de parcelles témoins non traitées (négatifs) et de parcelles témoins<sup>1</sup> positives.

### Application de molluscicide

Une gamme de concentrations du molluscicide candidat et du témoin positif est appliquée dans les bassins artificiels/naturels conformément aux recommandations du fabricant. Les produits testés doivent également être appliqués selon la méthode recommandée par le fabricant. Normalement, pour un essai à petite échelle, l'application de la dose d'essai s'effectue de façon strictement contrôlée en utilisant un pulvérisateur manuel ou mieux en diluant la quantité exacte de formulation rapportée au volume d'eau avant de l'appliquer avec un pulvérisateur manuel. En fonction des conditions artificielles régnant dans les habitats simulés, on ajoute des aliments avant l'application du molluscicide, comme on le ferait pour l'élevage habituel des mollusques.

### Introduction des mollusques et décompte des sujets morts

Les mollusques devront être introduits dans chaque parcelle/bassin expérimental. Les nombres de bassins et de mollusques par bassin devront être déterminés sur la base d'un calcul statistique de la taille d'échantillon après consultation d'un statisticien.

On utilise des mollusques adultes provenant de générations élevées en laboratoire (à condition qu'elles soient obtenues à partir de souches locales pour éviter tout risque d'introduction de nouvelles souches de mollusques) ou provenant de populations sauvages locales. On mesurera la taille des coquilles (à savoir leur diamètre pour *Biomphalaria* spp. ou leur hauteur pour *Bulinus* et *Oncomelania* spp.). Les mollusques sont placés dans des cages recouvertes d'un grillage de polyéthylène (30 cm x 30 cm x 30 cm) qui sont immergées dans le bassin d'essai expérimental à une hauteur de 20 cm au-dessus du fond. Les cages sont retirées au bout de 24 heures et la mortalité des mollusques est déterminée à l'aide de la méthode présentée dans la section 2.1.

---

1 Exemples de doses d'application standard de niclosamide 70 WP, ou d'une formulation EC, pour les témoins positifs : 1 ppm de niclosamide (i.e. 1 mg PA/L) pour une application aquatique destinée à lutter contre des mollusques pulmonés ou amphibiens McCullough, F. S. (1992). "The role of mollusciciding in schistosomiasis control. WHO/SCHISTO/ 92.107", Kariuki, H. C., H. Madsen, J. H. Ouma, A. E. Butterworth, D. W. Dunne, M. Booth, G. Kimani, J. K. Mwatha, E. Muchiri and B. J. Vennervald (2013). "Long term study on the effect of mollusciciding with niclosamide in stream habitats on the transmission of schistosomiasis mansoni after community-based chemotherapy in Makueni District, Kenya." Parasit Vectors 6: 107. ; et 1 g de PA niclosamide/m<sup>2</sup> pour le traitement des marais contre des mollusques amphibiens Yang, G. J., W. Li, L. P. Sun, F. Wu, K. Yang, Y. X. Huang and X. N. Zhou (2010). "Molluscicidal efficacies of different formulations of niclosamide: result of meta-analysis of Chinese literature." Ibid. 3: 84.. Le témoin positif permet de s'assurer que le protocole d'essai a été appliqué correctement avec l'objectif que ce témoin positif entraîne un contrôle raisonnable des mollusques adultes (par exemple, mortalité ≥80 %).

### 3.3 Efficacité et décompte de l'activité résiduelle

Les essais sur le terrain à petite échelle sur des mollusques encagés sont particulièrement utiles pour démontrer l'efficacité des molluscicides. Ils incluent des observations visant à déterminer :

- la mortalité au bout de 24 heures d'exposition (ou plus pour les composés à action lente), et
- l'efficacité résiduelle lorsque de nouveaux lots de mollusques encagés sont exposés quotidiennement ou à intervalles de temps plus espacés dans les bassins traités. La mortalité à 72 heures ou plus après l'exposition est évaluée jusqu'à ce que la mortalité des mollusques passe au-dessous du seuil de 80 %.

### 3.4 Collecte et analyse des données

Toutes les données de terrain sont reportées dans des formulaires standard (*Annexe 3*). On estime la baisse du nombre de mollusques pour chaque réplique du traitement en utilisant la formule de Mulla (Mulla, M.S., Majori, G. and H. A. Darwazeh 1975), comme indiqué ci-après :

$$\% \text{ de réduction} = 100 - [(C1/T1) \times (T2/C2)] \times 100$$

où,

- C1 = mesure avant traitement de l'abondance des mollusques dans la parcelle témoin non traitée (négative)
- C2 = mesure après traitement de l'abondance des mollusques dans la parcelle témoin non traitée
- T1 = mesure avant traitement de l'abondance des mollusques dans la parcelle traitée
- T2 = mesure après traitement de l'abondance des mollusques dans la parcelle traitée.

Les différences entre les traitements peuvent être comparées par une analyse de variance à deux facteurs (ANOVA) en considérant le traitement et le nombre de points de prélèvement comme variables indépendantes. L'analyse ANOVA peut être faite après transformation du pourcentage de réduction en valeur arc-sinus. Le nombre de jours post-traitement pour lequel on observe une réduction de 80 % ou plus est déterminé pour chaque traitement ou dose et sert de comparatif pour évaluer l'effet résiduel et la dose optimale à appliquer. On procédera à une comparaison statistique avec le témoin positif.

### 3.5 Sélection de la dose optimale à appliquer sur le terrain

A partir des doses testées contre une espèce cible dans le cadre des essais à petite échelle ou en conditions de terrain simulées, les doses minimales efficaces (mortalité et effet résiduel) obtenues devront être choisies comme doses optimales à appliquer sur le terrain pour chaque type d'habitat. La fréquence du traitement molluscicide est déterminée à partir de la durée de l'action résiduelle.

### 3.6 Critères d'efficacité pour les études de Phase II

Le seuil OMS d'efficacité d'une formulation de molluscicide contre des mollusques adultes est une mortalité  $\geq 80$  % au bout de 24 heures (ou jusqu'à 72 heures après l'exposition pour les molluscicides à action lente). L'efficacité résiduelle des molluscicides est calculée comme la durée (en jours) pendant laquelle la mortalité chez les mollusques reste  $\geq 80$  %.

Il n'est pas nécessaire qu'un molluscicide candidat soit équivalent ou supérieur au témoin positif car son efficacité est déterminée d'après ses propres performances selon les critères de l'OMS ci-après.

## 4. Essais de terrain à grande échelle (PHASE III)

Si l'on constate dans le cadre d'essais de terrain à petite échelle (Phase II) que certains molluscicides ont une efficacité satisfaisante, il convient de valider cette efficacité dans des essais de terrain à grande échelle contre des populations sauvages de mollusques dans leur habitat naturel.

### 4.1 Objectifs

Ces essais ont les objectifs suivants :

- déterminer l'efficacité du molluscicide au taux d'application sur le terrain sélectionné contre la population de mollusques cible dans des habitats naturels lorsqu'il est appliqué à grande échelle ;
- déterminer l'efficacité résiduelle dans des habitats naturels traités et les intervalles d'application ;
- observer les modalités pratiques d'application du produit testé ;
- observer l'acceptabilité par la communauté ;
- enregistrer tout effet indésirable perçu sur les opérateurs ; et
- observer les effets du traitement sur des organismes non visés dans les habitats naturels.

### 4.2 Méthodologie

Pour les essais sur le terrain, il convient d'obtenir l'autorisation des autorités en charge de la réglementation et des questions éthiques ainsi que le consentement de la communauté, conformément aux exigences nationales ou locales.

#### Sélection des habitats

Les caractéristiques des sites d'essai dépendront des espèces locales de mollusques hôtes intermédiaires et de leurs habitats préférés. Il faut veiller à inclure dans l'essai des habitats représentatifs du mollusque hôte intermédiaire visé. Des habitats plus réduits tels que des petites mares peuvent être considérés comme une parcelle unique et plusieurs de ces mares sont alors nécessaires pour l'essai. Tout comme pour les essais à petite échelle, chaque habitat confiné est considéré comme une réplique indépendante. Dans un même habitat confiné de grande étendue, tels que les mares (*Figure 4.1*), les étangs, les lacs, les champs irrigués et les marais, on peut considérer plusieurs parcelles de tests indépendantes à condition d'avoir une distance suffisante entre elles (environ 2-3 m) pour éviter toute contamination croisée entre les traitements.

On détermine le nombre de parcelles de chaque type d'habitat en utilisant une méthode statistique de calcul de la taille de l'échantillon. Habituellement, on sélectionne au minimum 25 à 30 répliques ou parcelles de chaque type d'habitat des mollusques cibles pour les témoins et les traitements.



**Figure 4.1** Prélèvement de mollusques aquatiques dans une mare (ci-dessus) et prélèvement en quadrats de mollusques amphibiens à l'aide d'un cadre en métal (ci-dessous – photo publiée avec l'aimable autorisation du Dr R. M. Oxborough)

Lorsque les espèces cibles sont amphibiens, on délimite des parcelles de marais de 100 m<sup>2</sup> (10 m x 10 m). Chaque parcelle doit être entourée de pieux et de fil de fer pour empêcher les mollusques de s'échapper des parcelles d'essai.

On inclura dans l'essai un nombre suffisant de répliques traitées, témoins négatives et témoins positives<sup>1</sup>. Les parcelles témoins et les parcelles qui seront traitées devront être tirées au sort de façon aléatoire.

---

<sup>1</sup> Exemples de doses d'application standard de niclosamide 70 WP, ou d'une formulation EC, pour les témoins positifs : 1 ppm de niclosamide (i.e. 1 mg PA/L) pour une application aquatique destinée à lutter contre des mollusques pulmonés ou amphibiens et 1 g de PA niclosamide/m<sup>2</sup> pour le traitement des marais contre des mollusques. Le témoin positif permet de s'assurer que le protocole d'essai a été appliqué correctement avec l'objectif que ce témoin positif entraîne un contrôle raisonnable des mollusques adultes (par exemple, mortalité ≥80 %).



Le lecteur trouvera à l'annexe 5 des exemples d'habitats naturels utilisés avec succès par le passé pour tester des molluscicides à grande échelle.

### Évaluation de la densité avant traitement

La densité des populations de mollusques matures et immatures sera déterminée avant traitement au moins une fois, le même jour, puis on remettra les mollusques au point initial de prélèvement, après échantillonnage, mais avant traitement. La méthode de prélèvement dépendra du type d'habitat et de l'espèce amphibie ou aquatique de mollusques.

#### *Mollusques aquatiques*

Pour les mollusques pulmonés d'eau douce tels que *Biomphalaria* spp. et *Bulinus* spp., on emploiera des épuisettes fabriquées à cet effet et/ou des tamis manuels<sup>1</sup> pour les prélèvements transversaux. Les prélèvements devront être effectués sur une surface spécifique de l'habitat aquatique étudié en faisant appel à deux techniciens pendant 15 min chacun. Pendant cette période, une série de prélèvements transversaux devra être effectuée en passant le tamis dans l'eau et la végétation présente le long du fond. Dans les étendues d'eau de grande ampleur et de grande profondeur, on peut réaliser des prélèvements le long du bord jusqu'à une distance de 5 m à l'intérieur de l'étendue ou jusqu'à 20 m du bord en utilisant un bateau. On trouve souvent les mollusques sur la végétation, notamment sur les feuilles en décomposition, les branches, les nénuphars et les déchets en matière plastique. Il faut les transférer dans un bocal et les manipuler à l'aide de pinces en plastique à extrémités arrondies pour identifier les espèces. Pour assurer l'uniformité des prélèvements, ils devront être réalisés systématiquement par les mêmes techniciens dans les parcelles témoins et les parcelles traitées.

#### *Mollusques amphibies*

On utilisera un cadre métallique carré ou rond pour prélever des mollusques sur des sites de collecte dont le sol ou la surface boueuse est facilement accessible pour être inspectée visuellement (le même cadre doit être utilisé pour tous les prélèvements). Au total, 20 à 50 cadres devront être échantillonnés à intervalles réguliers le long d'une section transversale de l'habitat considéré. Tous les mollusques à l'intérieur du cadre sont collectés avec une pince, placés dans des tubes de collecte et décomptés comme morts ou vivants. Pour assurer l'uniformité des prélèvements, ils devront être effectués systématiquement par les mêmes techniciens dans les parcelles témoins et les parcelles traitées.

### Application des molluscicides

Les molluscicides sont appliqués dans les habitats naturels de la population cible de mollusque au taux d'application optimal déterminé par les essais de terrain à petite échelle ou selon les recommandations figurant sur l'étiquette. Ils sont appliqués en utilisant les méthodes appropriées et des équipements de protection individuelle, qui dépendent des formulations utilisées et du type d'habitat traité. Le taux d'application déterminé pour l'habitat principal ou le plus important de l'espèce cible dans la zone

---

<sup>1</sup> Des filets à immersion peuvent facilement être fabriqués à l'aide d'un tamis en métal, avec des vides de maille d'environ 2-3 mm de diamètre, fixés à un manche en bois d'environ 1-2 m de long.

peut être utilisé pour tous les habitats à traiter. Des habitats témoins positifs et négatifs sont inclus dans l'essai. Il est indispensable d'établir et de conserver la description précise de la méthode d'application du molluscicide et les calculs effectués relatifs au taux d'application.

#### Évaluation de la densité post-traitement

L'impact du traitement par un molluscicide sur la population cible est évalué en prélevant des mollusques 72 heures après l'application selon la même procédure que les enquêtes avant traitement. On peut poursuivre le suivi pour évaluer l'activité résiduelle au 7<sup>e</sup>, 15<sup>e</sup> et 30<sup>e</sup> jours après l'application à différents endroits des mêmes habitats traités. L'efficacité résiduelle peut aussi être évaluée dans des étendues d'eau traitées en menant des essais biologiques en cage sur des mollusques élevés au laboratoire ou en prélevant de l'eau dans les habitats traités et les habitats témoins et en effectuant des essais biologiques au laboratoire à intervalles réguliers en fonction des indications figurant sur l'étiquette. On enregistre ensuite les données sur des formulaires standards.

#### État de l'eau

On mesure la température, le pH, la salinité et la conductivité de l'eau et on enregistre ces paramètres pour le site d'essai chaque jour de prélèvements. Dans la mesure du possible, les coordonnées GPS de chaque site doivent être enregistrées pour permettre sa localisation.

#### Acceptabilité opérationnelle et par les communautés

L'étude d'acceptabilité opérationnelle a pour objectifs de déterminer la facilité du stockage, de la manipulation et de l'application de la formulation de molluscicide sur le terrain ainsi que les effets de cette formulation sur le bon fonctionnement des appareils de traitements comme la buse et les joints et la faisabilité de l'élimination des conteneurs de déchets pour empêcher les contaminations de l'environnement.

L'évaluation est réalisée à l'aide d'un questionnaire d'observation qualitative sur les perceptions par les communautés des traitements molluscicide basé sur des discussions avec les responsables locaux, ainsi que les personnes chargées de l'application de ces produits, une fois les essais terminés.

#### Effets sur les organismes non visés

Au cours de l'essai à grande échelle, des observations qualitatives de la mortalité de la faune aquatique non cible tels que les poissons, les grenouilles, les crustacés et les insectes devront aussi être rapportées. Le but n'est pas d'évaluer l'écotoxicité des molluscicides, mais de recueillir des informations à l'intention des opérateurs de la lutte contre les mollusques et de mieux communiquer avec les communautés vivant dans les environs des zones traitées.

### 4.3 Collecte et analyse des données

Le nombre moyen de mollusques collectés par prise au filet/carré pour chaque réplique de chaque traitement et son témoin est calculé pour chaque site de prélèvement. Les données pourront être analysées à l'aide de modèles linéaires mixtes généralisés (GLMM) ou d'autres outils statistiques prenant en compte les mesures répétées.

### 4.4 Critères d'efficacité pour les études de phase III

L'efficacité biologique d'une formulation de molluscicide est déterminée par la mortalité et par la réduction relative de la densité de mollusques dans leur habitat naturel. La valeur seuil de l'OMS pour l'efficacité d'une formulation de molluscicide contre des mollusques adultes est définie par une mortalité  $\geq 80$  % après une exposition de 24 heures. L'efficacité résiduelle d'un molluscicide est calculée comme la durée (jours) pendant laquelle la mortalité des mollusques reste  $\geq 80$  %.

Un molluscicide candidat ne doit pas nécessairement être équivalent ou supérieur au témoin positif car son efficacité est déterminée d'après ses propres performances en fonction des critères OMS mentionnés ci-dessus.

## 5. Considérations réglementaires et éthiques

Pour tester des molluscicides chimiques destinés à être commercialisés, il convient d'obtenir à l'avance une autorisation réglementaire auprès du comité/de l'autorité nationale d'homologation des pesticides. L'établissement responsable de la réalisation des essais sur le terrain devra aussi obtenir une autorisation éthique nationale ou institutionnelle et fournir une fiche d'informations sur les produits testés et les précautions à respecter aux pulvérisateurs pratiquant l'application. Si l'essai est mené dans des zones considérées comme des propriétés privées, il faudra obtenir le consentement écrit des propriétaires du terrain où le molluscicide sera appliqué. Un formulaire de consentement éclairé, qui devra être adapté et traduit dans la langue locale, est proposé à l'*annexe 4*.

Les établissements responsables des essais devront fournir des équipements de protection individuelle appropriés aux applicateurs de molluscicide et une formation aux méthodes d'application conformes aux recommandations du fabricant. Il est nécessaire de prendre des dispositions pour être en mesure d'administrer rapidement et gratuitement des soins médicaux en cas d'intoxication aiguë associée à la manipulation et à l'application du produit testé. On conseillera aux applicateurs et aux membres des communautés locales exposés à de l'eau traitée avec un molluscicide de se rendre pour consultation dans l'établissement de soins le plus proche s'ils observent un signe ou un symptôme quelconque d'effet indésirable.

## 6. Consentement de la communauté

Dans le cadre de la planification de l'essai, il faudra obtenir le consentement des responsables communautaires locaux pour s'assurer de leur accord avec les opérations prévues. Ils devront être informés de la finalité de l'essai, de la méthodologie appliquée, des résultats attendus et de leur pertinence pour eux et leur communauté. Dans la mesure du possible, des notifications locales devront être apposées sur les tableaux d'affichage communautaires proches des sites de traitement ou des annonces orales pourront être faites dans la communauté. Il faudra conseiller aux agriculteurs ou aux autres personnes vivant à proximité de restreindre l'utilisation des habitats traités pendant une journée ou plus après le traitement molluscicide (se référer au document OMS, 2017, pour avoir un exemple de notification communautaire). À l'achèvement de l'essai, ces personnes devront être informées des résultats obtenus pour permettre la clôture de l'essai.

# Références

- Abbott WS (1987). A method of computing the effectiveness of an insecticide. 1925. J Am Mosq Control Assoc. 3(2) : 302-3.
- Anon (1965). Sélection et évaluation des molluscicides. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé. 33(4) : 567-81.
- Chimbari MJ (2012). Enhancing schistosomiasis control strategy for Zimbabwe : building on past experiences. J Parasitol Res. 2012 : 353768.
- Chimbari MJ, Makoni P, Madsen H (2007). Impact of *Sergochromis codringtonii* (Teleostei : Cichlidae) on pulmonate snails in irrigation ponds in Zimbabwe. Afr J Aquat Sci. 32(2) : 197-200.
- Chinese Ministry of Health (2000). Handbook of schistosomiasis control. Shanghai : Shanghai Scientific and Technological Literature Publishing House.
- Crossland NO (1963). Essai de molluscicide effectué sur une grande échelle, dans une exploitation sucrière de la Région Nord du Tanganyika pour juger de son efficacité contre les mollusques aquatiques. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé. 29 : 515-24.
- FAO/OMS (2016). Manuel sur l'élaboration et l'utilisation des spécifications FAO/OMS pour les pesticides, troisième révision de la première édition. Rome : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture et Genève : Organisation mondiale de la Santé (<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246192/WHO-HTML-NTD-WHOPES-2016.4-fre.pdf>, consulté le 18 janvier 2019).
- Fenwick A (1970). Mise au point de méthodes de lutte contre les mollusques dans une plantation de cannes à sucre pourvue de systèmes d'irrigation en Tanzanie septentrionale. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé. 42(4) :589-96.
- Finney DJ (1971). Probit Analysis, 3rd ed. Cambridge University Press. New York.
- Gilbert B, Castleton C, Bulhoes MS (1973). Activité molluscicide du triphenmorphe lors d'essais sur le terrain. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé. 49(4) : 377-9.
- Kariuki HC, Madsen H, Ouma JH, Butterworth AE, Dunne DW, Booth M, Kimani G, Mwatha JK, Muchiri E, Vennervald BJ (2013). Long-term study on the effect of mollusciciding with niclosamide in stream habitats on the transmission of *Schistosomiasis mansoni* after community-based chemotherapy in Makueni District, Kenya. Parasit Vectors. 6 :107.
- Komiya Y (1961). Étude et application de molluscicides au Japon. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé. 25 : 573-9.
- Mulla MS, Majori G, Darwazeh HA (1975). Effect of insect growth regulator Dimilin® or TH-6040 on mosquitoes and non-target organisms. Mosq News. 35 : 211-216.

Ndlela B, Chimbari MJ, Madsen H (2007). Interactions between *Bulinus globosus* and *B. tropicus* (Gastropoda : Planorbidae) in a pond experiment in Zimbabwe. *Afr J Aquat Sc.* 32(1) : 13–16.

Yang GJ, Li W, Sun L-P, Wu F, Yang K, Huang Y-X, Zhou X-N (2010). Molluscicidal efficacies of different formulations of niclosamide : result of meta-analysis of Chinese literature. *Parasit Vectors.* 3 : 84. doi :10.1186/1756-3305-3-84.

Yang GJ, Sun LP, Hong QB, Zhu HR, Yang K, Gao Q, Zhou XN (2012). Optimizing molluscicide treatment strategies in different control stages of schistosomiasis in the People's Republic of China. *Parasit Vectors* 5 : 260. doi :10.1186/1756-3305-5-260.

USEPA (1999). Niclosamide pesticide reregistration. Washington (DC) : United States Environmental Protection Agency (<https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/2455fact.pdf>, consulté le 18 janvier 2019).

OMS (1961). Les molluscicides : deuxième rapport du Comité d'experts de la bilharziose (réuni à Genève du 26 septembre au 1er octobre 1960). (Série de rapports techniques N° 214).

OMS (2020). Utilisation sur le terrain de molluscicides dans les programmes de lutte contre la schistosomiase : manuel à l'usage des gestionnaires de programme. Genève : Organisation mondiale de la Santé ; 2020.

WHO (1965). Snail control in the prevention of bilharziasis. Geneva : World Health Organization (Monograph Series, No. 50, pas disponible en français).

WHO (1971). Report of the meeting of directors of collaborating laboratories on molluscicide testing and evaluation, 31 August–4 September 1970, Washington, D.C., USA. Geneva : World Health Organization (WHO/SCHISTO/71.6, en anglais).

WHO (1989). The intermediate snail hosts of African schistosomiasis. Taxonomy, ecology and control. Geneva : World Health Organization

WHO (1992). The role of mollusciciding in schistosomiasis control (en anglais à. Geneva : World Health Organization. <http://www.who.int/iris/handle/10665/62295>.

WHO (2002). WHO specifications and evaluations for public health pesticides: niclosamide. Geneva: World Health Organization (<http://www.who.int/whopes/quality/en/Niclosamide.pdf>).

WHO (2017). Field use of molluscicide in schistosomiasis control programmes : an operational manual for programme managers (en anglais). Geneva : World Health Organization (<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254641/9789241511995-eng.pdf>, accessed 18 January 2019).

WHO (2018). Generic risk assessment model for insecticides used for larviciding and mollusciciding, 2nd edition (en anglais). Geneva : World Health Organization (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/276706/9789241515047-eng.pdf>, consulté le 18 janvier 2019).

# Annexe 1. Mesures et conversions

## Volume

1 l = 1000 ml

1 ml = 1000  $\mu$ l

1 pied cube = 7,5 gallons = 28 l

1 gallon = 4 quarts = 8 pintes = 128 onces = 3785 ml

## Surface

1 ha = 10 000 m<sup>2</sup> = 2,2 acres

1 acre = 43 560 pieds carrés

1 pied carré = 0,11 yard carré = 0,105 m<sup>2</sup>

## Longueur

1 km = 0,62 mile = 1093 yards

1 m = 39,7 pouces

1 pouce = 2,54 cm = 0,0254 m

1 pied = 0,333 yard = 0,3048 m

1 yard = 91,44 cm = 0,9144 m

1 mile (terrestre) = 1760 yards = 5280 pieds = 1609,3 m

## Poids

1 livre = 0,454 kg

1 kg = 2,2 livres

1 g = 0,035 onces

## Facteurs de conversion

Pour passer des pouces carrés aux centimètres carrés, multiplier par 6,5.

Pour passer des yards carrés aux mètres carrés, multiplier par 0,8.

Pour passer des pieds carrés aux mètres, multiplier par 0,09.

Pour passer des acres aux hectares, multiplier par 0,4.

Pour passer des miles carrés aux kilomètres carrés, multiplier par 2,6.

## Annexe 2. Dilutions et concentrations

On ajoute des fractions aliquotes de solutions à des concentrations diverses dans 99 ml d'eau pour obtenir la concentration finale

Solution initiale		Aliquote (ml) pour 100 ml d'eau <sup>a</sup>	Concentration finale (ppm) dans 100 ml <sup>a</sup>
%	ppm		
1	10000	1	100
		0,5	50
		0,1	10
0,1	1000	1	10
		0,5	5
		0,1	1
0,01	100	1	1
		0,5	0,5
		0,1	0,1
0,001	10	1	0,1
		0,5	0,05
		0,1	0,01
0,0001	1	1	0,01
		0,5	0,005
		0,1	0,001
0,00001	0,1	1	0,001
		0,5	0,0005
		0,1	0,0001

ppm : parties par million

a. Pour un volume de 200 ml, double de celui des aliquots..



## Annexe 3. Formulaire d'enregistrement des données

Phase I (évaluation en laboratoire) : fiche individuelle d'enregistrement de l'essai

Expérience N° :

Enquêteur :

Date (jj/mm/aa) :

Formulation : eau

Espèce(s) :

Âge :

Alimentation (oui/non) :

(du robinet/distillée/naturelle) :

Volume d'eau (ml) :

Température (°C) :

Concentration d'essai :

Réplication (Choisir : de 3 à 5)	Nbre de mollusques morts à l'issue de l'exposition*										Observations	
	Témoin		Témoin positif				Traitement					
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h			
1												
2												
3												
4												
5												
Total												
Moyenne												
% mortalité												

\* La mortalité est habituellement enregistrée 24 heures après l'exposition et jusqu'à 72 heures après au total pour les molluscicides à action lente.

## Phase II/III Formulaire d'enregistrement des données

Enquêteur :

Site étudié (région/district/village) :

Date (jj/mm/aa) :

Type d'habitat et dimensions de la parcelle sondée :

Espèce(s) de mollusque présente(s)

Coordonnées GPS :

Témoign négatif ou positif / traitement :

Formulation et dose d'application (pour le traitement) :

Heures du traitement (hh/mm) :

Équipement utilisé :

Température de l'eau (°C)/pH :

Observations :

Habitat N°/code	Heures de la collecte	Densité et mortalité des mollusques						Taux de mortalité moyen ( %)	
		Prélèvement transversal N°1	Prélèvement transversal N°2	Prélèvement transversal N°3	Prélèvement transversal N°4	Prélèvement transversal N°5	Prélèvement transversal N°6		
		Nombre collecté	Nombre collecté	Nombre collecté	Nombre collecté	Nombre collecté	Nombre collecté		Nbre de morts
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
--									
25									

## Annexe 4. Lignes directrices pour la rédaction du formulaire de consentement éclairé

Notes : Cette fiche constitue une suggestion ou un exemple susceptible d'être modifié en fonction des règles et des lignes directrices nationales. Il convient d'obtenir un consentement éclairé séparé de la part des opérateurs de pulvérisation et des dirigeants communautaires des zones de traitement. Ce document devra être imprimé dans la langue locale.

Pour : [nom du groupe de personnes pour lesquelles ce consentement est rédigé]

Nom de l'enquêteur principal :

Nom de l'organisation :

Nom du sponsor :

Nom de l'étude/du projet :

### PARTIE I : Fiche d'information

#### 1. Introduction

Présentez-vous brièvement, expliquez que vous les invitez à participer à un travail de recherche que vous menez et indiquez que le comité d'éthique a autorisé l'étude.

#### 2. But de ce travail de recherche

Expliquez en termes non techniques pourquoi vous réalisez ce travail.

#### 3. Type d'intervention de recherche – Informations sur la formulation de molluscicide [nom de la formulation]

Indiquez brièvement le type d'intervention qui sera mis en œuvre. Expliquez au participant pourquoi vous testez la formulation de molluscicide.

Fournissez autant d'informations que nécessaire au sujet de la formulation, comme l'indication du fabricant ou le lieu de fabrication et les raisons de sa mise au point. Indiquez l'expérience acquise avec cette formulation. Décrivez, de manière exhaustive, les effets secondaires/la toxicité éventuels observés avec ce produit.

#### 4. Description du processus, des procédures et du protocole

Décrivez ou expliquez au participant les procédures exactes qui seront suivies, étapes par étapes, et les essais qui seront effectués.

#### 5. Durée

Inclure une indication du temps que le participant s'engage à consacrer au travail de recherche, y compris le suivi.

## **6. Sélection des participants**

Indiquez au participant pour quelles raisons il a été choisi pour ce travail de recherche, quel processus de recrutement a été utilisé pour s'assurer que des opportunités égales soient offertes à chaque participant potentiel et si un critère d'exclusion a été employé, comme pourrait l'exiger le type d'étude.

## **7. Participation volontaire**

Mentionnez clairement que les volontaires peuvent à tout moment choisir de renoncer à participer à l'étude, sans que cela ait pour eux des conséquences négatives ou un coût. Indiquez qu'ils continueront de recevoir tous les services médicaux dont ils bénéficient habituellement, qu'ils choisissent ou non de participer.

## **8. Droit au refus ou au retrait**

Ce droit confirme que la participation est volontaire et prévoit la possibilité de se rétracter.

## **9. Protection des participants contre des effets secondaires potentiels**

Expliquez à chaque participant les moyens de protection qui lui seront fournis (équipements de protection individuelle, formation si nécessaire, par exemple). Il convient d'indiquer aux participants potentiels s'il existe des effets secondaires connus ou attendus de la formulation de molluscicide. Indiquez aussi le niveau de soins disponible en cas d'apparition d'un effet nocif, la personne qui dispensera les soins et celle à qui incomberont les coûts associés.

## **10. Bénéfices**

Ne mentionnez que les activités qui apporteront des bénéfices réels (en tant que protection supplémentaire contre une éventuelle maladie) et non celles auxquelles ils peuvent participer qu'ils soient ou non sujets de l'étude.

## **11. Incitations**

Indiquez clairement ce que vous fournirez aux participants s'ils prennent part à l'étude. L'OMS n'encourage pas les incitations. Néanmoins, elle recommande de rembourser les dépenses résultant de la participation au travail de recherche.

## **12. Confidentialité**

Expliquez comment l'équipe de recherche préservera la confidentialité des données, notamment pour les informations relatives au participant qui autrement ne seraient connues que d'un médecin, mais qui, dans la réalisation de l'essai, seront à la disposition de toute l'équipe. Expliquez aussi que les données seront anonymisées avant d'être analysées et comment elles seront stockées et archivées.

## **13. Diffusion des résultats**

Le cas échéant, votre plan de partage des résultats avec les participants doit être fourni.

#### 14. Qui contacter

Le cas échéant, indiquez aux participants le plan de communication des résultats prévu. Fournissez le nom et les coordonnées d'une personne impliquée dans l'étude, informée et accessible (une personne locale pouvant réellement être contactée). Indiquez aussi que la proposition a été approuvée et comment. Par exemple :

« Cette proposition a été examinée et approuvée par [nom du comité d'éthique local], chargé de s'assurer que les participants au travail de recherche sont protégés des effets préjudiciables potentiels. Pour en savoir plus sur le comité d'éthique local, veuillez prendre contact avec [nom, adresse et numéro de téléphone]. »

## PARTIE II : Certificat de consentement

Notes:

1. Dans le cas des opérateurs de pulvérisation, s'ils sont employés et formés par l'établissement responsable de l'essai ou si la pulvérisation de molluscicide fait partie de leurs missions professionnelles, il suffira de leur confier la fiche d'information proposée plus haut et il ne sera pas nécessaire de recueillir leur consentement écrit.

2. Cette section peut être écrite à la première personne. Elle devra comprendre une courte déclaration à propos du travail de recherche et être suivie d'une déclaration similaire à celle figurant **ci-dessous en gras**. Si le participant est illettré et donne un consentement oral, un témoin devra signer à sa place. Un chercheur ou la personne chargée d'examiner le consentement éclairé doit contresigner chaque consentement.

**J'ai lu les informations qui précèdent ou elles m'ont été lues dans la langue que j'ai choisie. J'ai eu la possibilité de poser des questions à leur sujet et chaque question que j'ai posée a reçu une réponse satisfaisante selon moi. Je consens volontairement à prendre part en tant que participant à ce travail et comprends que j'ai le droit de me retirer de l'étude à tout moment, sans que cela réduise mes droits. J'ai reçu un exemplaire du formulaire de consentement éclairé.**

Nom imprimé du participant : \_\_\_\_\_

Signature du participant : \_\_\_\_\_

Date: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

(Jour/mois /année)

En cas d'illettrisme du participant

Un témoin sachant lire et écrire doit signer le consentement (dans la mesure du possible, cette personne doit être choisie par le participant et ne doit pas avoir de lien avec l'équipe de recherche).

J'ai été témoin de la lecture avec exactitude du formulaire de consentement au participant potentiel. Cette lecture a été faite de façon posée et précise et le futur participant a eu la possibilité de poser des questions. Je confirme qu'il a donné son consentement librement.

Nom imprimé du témoin : \_\_\_\_\_ ET

Impression du pouce du participant :

Signature du témoin : \_\_\_\_\_

Date : \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

(Jour/mois /année)

J'ai lu avec attention ou assisté à une lecture exacte du formulaire de consentement au participant potentiel et celui-ci a eu la possibilité de poser des questions. Je confirme qu'il a donné librement son consentement.

Nom imprimé du chercheur : \_\_\_\_\_

Signature du chercheur : \_\_\_\_\_

Date : \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

(Jour/mois /année)

Un exemplaire de ce formulaire de consentement éclairé a été fourni au participant \_\_\_\_\_ [avec l'initiale du chercheur/de son assistant(e)].

## Annexe 5. Exemples d'essais de terrain à grande échelle

On trouvera ci-après quelques exemples des habitats naturels utilisés pour les essais de terrain à grande échelle de molluscicides.

### 1. Essai réalisé dans des canaux d'irrigation en République-Unie de Tanzanie

Un essai de molluscicide à grande échelle a été mené dans une plantation de cannes à sucre, près de Moshi (République-Unie de Tanzanie) dans l'objectif de lutter contre les mollusques aquatiques *Biomphalaria pfeifferi* et *Bulinus* spp. (Crossland 1963). Le site d'essai était constitué de cinq canaux d'irrigation parallèles (Figure A6.1) d'environ 1 m de large et 500 m de long, équipés de dispositifs de contrôle du flux d'eau (Fenwick 1970).



**Figure A6.1.** Un drain (haut de la figure) et un canal d'irrigation (en bas) à proximité de Moshi (République-Unie de Tanzanie, photo publiée avec l'aimable autorisation du Dr R. M. Oxborough).

## **2. Bassins pour essais en semi-terrain, Hippo Valley (Zimbabwe)**

Le Zimbabwe a un long passé de lutte contre la schistosomiase, incluant la mise en œuvre sur des durées prolongées de molluscicides dans les zones focales (Chimbari 2012). Du niclosamide a été pulvérisé dans l'Hippo Valley entre 1986 et 1998, ce qui a contribué à la réduction de la prévalence de cette maladie. Un certain nombre d'essais en laboratoire et de Phase II (semi-terrain), portant sur des molluscicides à base de plantes, ont aussi été réalisés dans cette zone (Chimbari, Makoni et al. 2007, Ndlela, Chimbari et al. 2007).

## **3. Bassins temporaires, État d'Espírito Santo (Brésil)**

Plusieurs études à petite échelle de molluscicides ont été menées au Brésil, en utilisant notamment des bassins temporaires mesurant chacun approximativement 450 m<sup>2</sup> de surface dans l'État d'Espírito Santo pour combattre *Biomphalaria tenagophila*, des canaux de drainage d'une plantation de cannes à sucre dans le Rio Grande do Norte et des potagers à proximité de Belo Horizonte pour des essais contre *B. glabrata* (Gilbert, Castleton et al. 1973).

## **4. Fossés d'irrigation, Préfecture de Yamanashi (Japon)**

Des fossés d'irrigation ont été utilisés pour tester des molluscicides contre *Oncomelania nosophora*. Les parcelles d'essai étaient constituées de parties d'un canal d'irrigation de 50 à 60 cm de profondeur et de 1 m de largeur, doté d'un revêtement argileux et subdivisé temporairement en 5 sections de 5 m de long par des murets d'argile (Komiya 1961).

## **5. Marais du fleuve Yangtze, Province du Jiangsu (Chine)**

En Chine, des essais sur le terrain ont été menés avec du niclosamide contre l'espèce de mollusque amphibie, *Oncomelania hupensis*. Une zone de marais a été divisée le long du fleuve Yangtze au niveau de Yangzhou, dans la Province du Jiangsu, en parcelles de 100 m<sup>2</sup> (Figure A6.2). Le nombre de mollusques prélevés dans les parcelles expérimentales a été enregistré avant et après la pulvérisation avec le molluscicide (Yang, Sun et al. 2012).





**Figure A6.2.** Un marais divisé en parcelles de 100 m<sup>2</sup> en vue de tester un molluscicide contre des mollusques amphibiens *Oncomelania* spp. (Photo publiée avec l'autorisation du Dr G.-J. Yang).





Groupe Maladies transmissibles  
Département Lutte Contre les Maladies tropicales négligées  
Unités Écologie et gestion des vecteurs  
&  
Chimioprévention et lutte contre la transmission

ISBN: 978-92-4-000046-9

