

**ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DU MALI**

Année 1983

**ETUDE EXPERIMENTALE DE LA TOXICITE
DE DIVERS EXTRAITS
D'AMBROSIA MARITIMA LINN
VIS A VIS DE GASTEROPODES PULMONES
D'EAU DOUCE**

**(LEUR UTILISATION DANS LA LUTTE CONTRE LA SCHISTOSOMIASE HUMAINE
ET LA DISTOMATOSE BOVINE AU MALI)**

THESE :

Présentée et soutenue publiquement le Février 1984 devant l'Ecole Nationale
de Médecine et de Pharmacie du Mali.

Par : Famory FOFANA

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

(DIPLOME D'ETAT)

EXAMINATEURS

PRESIDENT: Professeur Michel QUILICI

Professeur Ag. Philippe
RANQUE

MEMBRES :

Docteur Boubacar CISSE
Mr. Abdoulaye SOW

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI

ANNEE ACADEMIQUE : 1982 - 1983

Directeur Général	: Professeur Aliou BA
Directeur Général Adjoint	: Professeur Bocar SALL
Secrétaire Général	: Monsieur Demba DOUGOURE
Econome	: Monsieur Philippe SAYE
Conseiller Technique	: Professeur Philippe RANQUE

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur Oumar SYLLA	: Pharmacie Chimique
-"- Francis MIRANDA	: Biochimie
-"- Michel QUILICI	: Immunologie
-"- Humbert GIONO-BARBER	: Pharmacodynamie
-"- Jacques JOSSELIN	: Biochimie
-"- Alain GERAULT	: Biochimie
-"- Jean Pierre BISSET	: Biophysique
Docteurs MAGNAN	: O.R.L.
-"- Alain DURAND	: Pharmacie Chimique
-"- Jean Pierre REYNIER	: Galénique
-"- Paula GIONO-BARBER	: Anatomie-Physiologie Humaine
Monsieur Mackthar WADE	: Bibliographie

.../.....

PROFESSEURS RESIDANT A BAMAKO

Professeur	Aliou BA	: Ophtalmologie
-	Bocar SALL	: Orthopédie-Traumatologie-Secourisme
-	Mamadou DEMBELE	: Chirurgie générale
-	Mohamed TOURE	: Pédiatrie
-	Souleymane SANGARE	: Pneumo-Phtisiologie
-	Mamadou KOUMARE	: Pharmacologie-Matière Médicale
-	Mamadou Lamine TRAORE	: Obstétrique-Médecine Légale
-	Aly GUINDO	: Gastro-Entérologie
-	Abdoulaye Ag RHALY	: Médecine Interne
-	Sidi Yaya SIMAGA	: Santé Publique
-	Sinè BAYO	: Histo-Embryo-Anatomie Pathologie
-	Abdel Karim KOUMARE	: Anatomie-Chirurgie Générale
-	Bréhima KOUMARE	: Bactériologie
-	Mamadou Koréissi TOURE	: Cardiologie
-	Yaya FOFANA	: Hématologie
-	Philippe RANQUE	: Parasitologie
-	Bernard DUFLO	: Patho.Méd. Thérapeut. Physiologie Hématologie
-	Marc JARRAUD	: Gynécologie-Obstétrique
-	Bouba DIARRA	: Microbiologie
-	Sélikou SANOGO	: Physique
-	Niamanto DIARRA	: Mathématiques
-	Oumar COULIBALY	: Chimie Organique
-	Yéya TOURE	: Biologie Génétique
-	Amadou DIALLO	: Zoologie-Biologie
-	Moussa HARAMA	: Chimie Minérale

ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur	Abderhamane Sidèye MAIGA	: Parasitologie
-	Sory Ibrahima KABA	: Santé Publique
-	Moctar DIOP	: Sémiologie Chirurgicale
-	Balla COULIB LY	: Pédiatrie-Médecine du Travail
-	Bénitiéni FOFANA	: Obstétrique
-	Boubacar CISSE	: Dermatologie
-	Boubacar CISSE	: Toxicologie-Hydrologie
-	Souleymane DIA	: Pharmacie Chimique
-	Sanoussi KONATE	: Santé Publique
-	Issa TRAORE	: Radiologie
-	Claude FERRACCI	: Dermatologie-Vénérologie-Léprologie
-	Mme SY Aïssata SOW	: Gynécologie
-	Jean Pierre COUDRAY	: Psychiatrie
-	Mahamane MAIGA	: Néphrologie
-	Abdoul Alassane TOUNE	: Chirurgie Orthopédique Traumatologie
-	Baba KOUMARE	: Psychiatrie
-	Kalilou OUATTARA	: Urologie
-	Amadou DOLO	: Gynéco-Obstétrique
-	Aly DIALLO	: Médecine Interne
-	Mamadou Marouf KEITA	: Pédiatrie
-	Moussa TRAORE	: Neurologie
-	Salif DIAKITE	: Gynécologie

CHARGES DE COURS

Docteur Gérard GAUCHOT	: Microbiologie
- Gérard TRUSCHEL	: Anatomie-Sémiologie Chirurgicale
- Boulkassoum HAIDARA	: Galénique-Diététique
- Saïbou MAIGA	: Galénique
- Jacqueline CISSE	: Biologie
Professeur N'Golo DIARRA	: Botanique-Cryptogamie-Biologie Végétale
- Souleymane TRAORE	: Physiologie générale
Monsieur Cheick Tidiani TANDIA	: Hygiène du Milieu.
Docteur Hamma CISSE	: Chimie Générale
- M.L. DIOMBANA	: Stom-atologie
- Zekaria MAIGA	: Gynécologie
- Mamadou K. SARR	: Médecine du Travail
- SAMAKIE	: Gynéco-Obstétrique
- Djibril SANGARE	: Chirurgie
- Toumani SIDIBE	: Pédiatrie

JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL :

A mon Père Famakan (K.) FOFANA

Ce travail est le fruit de tes multiples privations.
Trouve ici l'expression de mes sentiments de reconnaissance.

A ma Mère Sira SAKILIBA

Ta tendresse infinie m'a encouragé dans ce travail.
Je ne saurai comment te remercier.

A mes Frères défunts, Boli-Mady et Kani-Mady FOFANA

Vous m'avez quitté trop tôt.
Ce travail est le vôtre
Que la terre vous soit légère.

A mon Frère Famoussa FOFANA

Trouve ici l'expression d'une profonde reconnaissance
du service que tu me rends dans l'entretien de notre
famille.

A mes Soeurs : Niata, Koumba, Boli et Dialafan FOFANA

Vous n'avez jamais cessé de me prouver notre sympathie
et la fraternité qui nous lie.
Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

A Mon Oncle Fassayon FOFANA et à mes Tantes

C'est à travers vos actes que notre grande famille
reste solidaire. Que vos efforts soient couronnés de
succès.

A Mesdemoiselles Diénebou KONE

Aminata SISSOKO

Merci des soutiens matériel et moral que vous m'avez
apporté durant ce travail. Mes sincères remerciements.

A Jean-Baptiste HOOGMARTEMS

L'aide documentaire dont tu as fait preuve m'a été d'un grand secours. Trouve ici l'expression d'une profonde amitié.

Au Révérend Père Henri CAVROIS

Tes concours matériel et moral ne m'a jamais fait défaut. Trouve ici l'expression d'une profonde reconnaissance. Je te souhaite un grand succès et une bonne santé dans ta Mission.

Aux Pères Olivier GAIGNET et Serges BERTHON

Mes sincères remerciements.

A M'Baha-Mady KEITA Infirmier d'Etat à l'Energie du Mali

Tu as logé et nourri gratuitement plus d'un ressortissant malinké à Bamako. Ce geste va au-delà d'un amour fraternel. Ce travail est le tien, je te souhaite un avenir prospère.

A Mady DABO et sa femme (ma soeur) Mady FOFANA

Dès mon arrivée à Bamako en Septembre 1975 vous m'avez considéré comme un membre de votre famille. Soyez assurés de ma très sincère satisfaction.

A Facourou MAKANERA et M'Bamalou

Mes sincères remerciements.

A mes Amis

Goulou TIGANA

Awa SAMAKE

Paul-Bamba KEITA

Vous avez montré que c'est dans l'unité d'action que la réussite est possible. Que cette unité grandisse en nous.

A Sounkalo KEITA

Tu as beaucoup marqué ma vie. Merci de tes efforts de médiations.

A Fily SISSOKO Infirmier d'Etat à Sibi

Trouve ici l'expression d'un profond amour.

Aux Docteurs Le Du, Georges SOULA, Amadou DIALLO,

Yeya TOURE, Godefroy COULIBALY et Ousmane TRAORE
et tout le personnel du Laboratoire d'Epidémiologie
des Affections Parasitaires de l'Ecole de Médecine,
merci de tous vos conseils pour la réussite de ce
travail.

A mes Condisciples

Minamba KEITA

Mamourou DIAKITE

Yoro DIAKITE

Mlle Fatoumata NAFO

Je souhaite à vous tous plein succès dans vos
futures carrières.

A Madame KAMANO Fatoumata CAMARA

Secrétaire au Bureau des Soldes au Point-"G"
mes sincères remerciements.

Au Directeur du Laboratoire Central Vétérinaire de Sotuba

merci de tous vos efforts pour la réussite de la
collaboration entre votre Laboratoire et celui de
l'Ecole de Médecine du Point-"G".

Au Doyen de l'Ecole de Médecine, le Professeur Aliou BA

Ma profonde admiration.

Au Docteur K.E. Mott Chef de l'Unité de la Schistosomiase,

Division des maladies parasitaires O.M.S. Genève.

Votre concours Bibliographique m'a été d'un grand
secours. Acceptez mes sincères remerciements.

Au Président de notre Jury : Professeur Michel QUILICI
Professeur de Parasitologie à la Faculté de
Médecine de Marseille.

Il nous est très agréable de vous voir présider
cette Thèse. Vous avez accepté un long voyage mal-
gré vos multiples occupations.

Trouvez ici l'expression d'une profonde gratitude.

A nos Membres de Jury :

- Notre maître le Professeur Agrégé Philippe
RANQUE.

Votre courage au travail, votre goût du travail
bien fait, vos conseils utiles et la clarté de
votre enseignement feront sans doute de vos
élèves des cadres exemplaires.

Nous sollicitons votre présence permanente
auprès de nous.

- Au Docteur Boubacar CISSE

Docteur en Pharmacie, nos condisciples ont
beaucoup appris de votre enseignement de
toxicologie et d'Hydrologie. Nous sommes très
satisfaits de vous avoir comme membre de ce
Jury.

- A Monsieur Abdoulaye SOW.

Ingénieur Agro-Stologue du Laboratoire Central
Vétérinaire de Sotuba.

Vous avez dirigé ce travail grâce à votre
rigueur scientifique et votre culture pluri-
disciplinaire. Votre disponibilité inlassable
m'a beaucoup éprouvé. Acceptez mes sincères
remerciements.

LISTE DES ABREVIATIONS

O.M.S.	: Organisation Mondiale de la Santé
G.T.Z.	: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (Office allemand de la Coopération technique).
E.N.M.P.	: Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie
<u>B.pf.</u>	: <u>Biomphalaria pfeifferi</u>
<u>L.n.</u>	: <u>Lymnaea natalensis</u>
n. <u>B.pf.</u>	: nombre de <u>Biomphalaria pfeifferi</u>
n. <u>L.n.</u>	: nombre de <u>Lymnaea natalensis</u>
Durée Expo.	: Durée d'Exposition
T.	: Témoin
Poids g.	: Poids en gramme
c.mg/l	: concentration en milligramme par litre équivalent à partie pour million
DL 100	: Dose Létale à 100 pour cent
id	: idem
21 j	: 21 jours
MSa	: Matière Sèche active
pH	: potentiel Hydrogène.

S O M M A I R E

	<u>Pages</u>
<u>I N T R O D U C T I O N</u>	1
<u>I E T A T A C T U E L D E N O S C O N N A I S S A N C E S S U R L E S M O L -</u> <u>L U S C I C I D E S</u>	2
1.1. <u>Perspective de lutte contre les helminthiases</u> <u>transmises par l'intermédiaire de gastéropodes</u> <u>d'eau douce</u>	2
1.2. <u>Utilisation des molluscicides dans les program-</u> <u>mes de lutte</u>	3
1.3. <u>Molluscicides de synthèse</u>	3
1.3.1. Molluscicides dont l'utilisation a été abandonnée	3
1.3.2. Molluscicides disponibles	4
1.3.2.1. Niclosamide (Bayer AG)	4
1.3.2.2. Molluscicide B-2 (Nippon Chemical)	5
1.3.2.3. Cuivre	5
1.3.3. <u>Molluscicides en cours de mise au point</u>	6
1.3.3.1. Organostaniques	6
1.3.3.2. Nicotinanilides	7
1.3.3.3. Amides	7
1.3.3.4. Métaldéhyde	7
1.3.4. <u>Mode d'action des molluscicides</u>	8
1.3.4.1. Epreuves de toxicité, de mutagénicité et de cancérogénicité	10
1.3.4.2. Sélection des molluscicides en laboratoire	10
1.3.4.3. Essais sur le terrain et évaluation	11
1.3.4.4. Modes d'application (avec tableau)	12
1.3.4.5. Traitements par les molluscicides dans le cadre des opérations de lutte	15
- Où faut-il épandre ?	16
- Quand procéder à l'épandage ?	18
- Comment faut-il procéder à l'épandage ?	19

	<u>Pages</u>
1.3.5. <u>Rôle futur des molluscicides</u>	20
1.4. <u>Plantes et extraits végétaux</u>	22
1.4.1. Rôle des plantes molluscicides dans le contrôle de la Schistosomiase et de la distomatose	22
1.4.2. Inventaire des plantes toxiques vis-à-vis des mollusques	22
1.4.3. Répartition géographique et identification des écosystèmes favorables aux plantes molluscicides	23
1.4.4. Composés molluscicides isolés des plantes	23
1.4.5. Mode d'action des molluscicides végétaux	24
1.4.6. Toxicologie	24
1.4.7. Evaluations au laboratoire et sur le terrain	25
1.4.8. Culture	26
1.5. <u>Approche expérimentale de l'utilisation d'<u>Ambrosia maritima</u> Linn. comme plante mollusci- cicide au Mali</u>	27
<u>II. TRAVAIL PERSONNEL</u>	29
2.1. <u>Souche malienne d'<u>Ambrosia maritima</u> L.</u>	29
2.1.1. Description d'après Berhaut (J.) 1974	29
2.1.2. Biotopes de la souche malienne	30
2.1.3. Cycle annuel	31
2.1.4. Origine géographique	31
2.1.5. Utilisation en médecine traditionnelle	31
2.2. <u>Préparation d'<u>Ambrosia maritima</u> L. en vue de l'expérimentation</u>	32
2.2.1. Collecte du matériel végétal	32
2.2.2. <u>Traitement d'<u>Ambrosia</u></u>	32
2.2.2.1. Obtention de la poudre d' <u>Ambrosia</u>	33
2.2.2.2. Obtention des extraits aqueux	33
2.2.2.3. Récolte des graines d' <u>Ambrosia</u>	34

2.2.3. <u>Détermination du taux de matière sèche active (MSa) des différents extraits aqueux</u>	37
2.3. <u>Essais de toxicité d'<i>Ambrosia</i> sur <i>Biomphalaria pfeifferi</i> (B.pf) et <i>Lymnaea natalensis</i> (L.n.)</u>	39
2.3.1. Choix des mollusques et conditions expérimentales	39
2.3.2. <u>Essais de toxicité de la plante entière (racines, tiges, feuilles et inflorescences)</u>	40
2.3.2.1. Essais de la poudre (T. 4 et 5)	40
2.3.2.2. Extrait aqueux non fermenté (T. 6 et 7)	42
2.3.2.3. Extrait aqueux fermenté (T. 8 et 9)	44
2.3.3. <u>Essais de toxicité des racines</u>	45
2.3.3.1. Extrait aqueux non fermenté (T.10 et 11)	45
2.3.3.2. Extrait aqueux fermenté (T.12 et 13)	46
2.3.4. <u>Essais de toxicité de la tige</u>	47
2.3.4.1. Extrait aqueux non fermenté (T. 14 et 15)	47
2.3.4.2. Extrait aqueux fermenté (T. 16 et 17)	48
2.3.5. <u>Essais de toxicité des feuilles</u>	49
2.3.5.1. Extrait aqueux non fermenté (T.18 et 19)	49
2.3.5.2. Extrait aqueux fermenté (T. 20 et 21)	51
2.3.6. <u>Essais de toxicité des inflorescences</u>	52
2.3.6.1. Poudre d'inflorescence (T. 22 et 23)	52
2.3.6.2. Extrait aqueux non fermenté (T. 24 et 25)	54
2.3.6.3. Extrait aqueux fermenté (T. 26 et 27)	56
2.4. <u>Essais de toxicité d'<i>Ambrosia</i> sur la faune non-cible</u>	58
2-5. <u>DISCUSSIONS</u>	58
2.5.1. Toxicité	58
2.5.2. Approvisionnement	60
2.5.3. Production	61
2.5.4. Type de plante	61

	Pages
2.5.5. Parties actives de la plante	62
2.5.6. Stockage	63
2.5.7. Extraction	63
2.5.8. Stabilité physico-chimique	64
2.5.9. Connaissance des plantes de la zone étudiée	64
2.5.10. Impact psycho-social	64
2.5.11. Usage annexe	65
2.6. <u>Proposition de recherche sur <i>Ambrosia maritima</i></u>	65
2.6.1. Répartition géographique	65
2.6.2. Essai de culture artisanale	65
2.6.3. Détermination du pouvoir molluscicide et de la toxicité sur la faune non-cible	65
2.6.3.1. Amélioration des conditions expérimentales	65
2.6.3.2. Amélioration de l'obtention du produit actif	66
2.6.3.3. Identification chimique des principes actifs	66
2.6.3.4. Essais en vraie grandeur	66
III . <u>CONCLUSIONS</u>	70

I N T R O D U C T I O N

INTRODUCTION

Au Mali, les Schistosomiasés à Schistosoma haematobium et Schistosoma mansoni posent un sérieux problème de

Santé Publique car elles risquent de prendre des proportions catastrophiques avec la multiplication des aménagements hydrauliques et l'extension des périmètres irrigués.

Parallèlement, la distomatose bovine à Fasciola

hepatica cause un grave préjudice à l'élevage des bovins, une des ressources principales du Mali, dont l'économie est essentiellement agro-pastorale.

Les mollusques gastéropodes pulmonés d'eau douce

hôtes des Schistosoma et Fasciola ont un mode de vie très semblable et se trouvent souvent associés dans les mêmes biotopes. Aussi peut-on envisager une stratégie commune de contrôle des mollusques visant à la fois à réduire l'impact des Schistosomiasés et de la Fasciolase.

C'est dans cet esprit qu'est née l'excellente collaboration qui unit le Laboratoire Central Vétérinaire de Sotuba-Bamako et le Laboratoire d'Epidémiologie des Affections Parasitaires de l'École Nationale de Médecine et Pharmacie du Mali.

L'objet du présent travail est la poursuite des recherches sur l'action molluscicide d'une souche locale d'Ambrosia maritima, dont les premiers résultats ont été exposés dans la Thèse de doctorat de notre aîné, le Docteur Fodé DOUMBIA.

Nous avons expérimenté le pouvoir toxique des diverses parties de la plante : racines, tiges, feuilles, inflorescences vis à vis de Biomphalaria pfeifferi (Hôte Intermédiaire) et de Lymnaea natalensis (Hôte Intermédiaire de Fasciola hepatica).

Ces recherches ont été menées au Laboratoire Central Vétérinaire de Sotuba pendant l'hivernage 1983, sous la direction de Mr. Abdoulaye SOU, Botаниste-Agronome.

I. ETAT ACTUEL DE NOS CONNAISSANCES SUR LES MOLLUSCICIDES

Ce chapitre sera presque entièrement traité à partir de deux documents élaborés par l'Organisation Mondiale de la Santé :

- Rôle des Molluscicides dans la lutte contre la Schistosomiase par Fergus S. McCullough et Kenneth E. Mott (WHO/VBC/83.879.WHO/SCH./83-72 Genève 13-14 juin 1983.)

- Report of the scientific working group on plant molluscicide (TDR/SCH-SWG(4) 83.3 Geneva, 31 January- 2 february 1983).

Il sera complété par un résumé de la Thèse de Fodé DOUMBIA "Approche expérimentale de l'utilisation d'Ambrosia maritima Linn. comme plante molluscicide dans la lutte contre la Schistosomiase du Mali". Bamako 1982.

1.1. Perspectives de lutte contre les helminthiases transmises par l'intermédiaire de gastéropodes d'eau douce.

Durant ces dernières années la mise au point de techniques de diagnostic parasitologiques simples, peu onéreuses et fiables ont permis une bien meilleure connaissance de l'épidémiologie des helminthiases transmises par l'intermédiaire de gastéropodes d'eau douce (Schistosomiase et Fasciolase en Afrique de l'Ouest).

Parallèlement, la mise au point de médicaments nouveaux, sûrs, efficaces, pouvant s'administrer par voie orale en une seule prise, ont fait progresser considérablement la chimiothérapie de masse.

La lutte contre les mollusques-hôtes, par contre, n'a pas évolué de manière aussi satisfaisante.

Certes de gros progrès ont été réalisés dans le domaine de l'éducation pour la Santé et dans l'aménagement du milieu visant à réduire le contact Homme/Mollusque, cependant on ne dispose actuellement pratiquement que d'un seul molluscicide de synthèse. Ce produit est malheureusement ^{d'un} coût élevé et l'usage en est limité aux pays d'endémie dont les moyens financiers et l'organisation sont suffisants.

Quant aux autres moyens de destruction des mollusques tels les molluscicides d'origine végétale ou les méthodes biologiques, ils n'ont pas été expérimenté sur le terrain à grande échelle ou en sont encore aux premiers stades de l'évaluation.

1.2. Utilisation des molluscicides dans les programmes de lutte

Au cours de la dernière décennie, de nombreux projets de lutte réalisés au Brésil, au Congo, en Egypte, au Ghana, en Israël, en Jordanie, à Madagascar, aux Philippines en Tanzanie, au Vénézuéla, au Zimbabwe, au Mali etc... ont montré que la destruction des mollusques au moyens de molluscicides, en général en association avec d'autres méthodes pouvait réduire, voire supprimer la transmission.

Les procédés de lutte contre les mollusques, y compris l'application de molluscicides, doivent continuer à figurer parmi les méthodes de choix pour combattre la Schistosomiase et la Fasciolase.

Elle doit être associée à la chimiothérapie sélective au sein d'une stratégie de lutte intégrée.

1.3. Molluscicides de synthèse

1.3.1. Molluscicides dont l'utilisation a été abandonnée

Nombreux sont les produits dotés de propriétés molluscicides. Parmi ceux qui avaient été utilisés au début et qui sont abandonnés depuis longtemps déjà figurent plusieurs dérivés du calcium et du cuivre.

Entre 1946 et 1955, on a trié plus de 7000 produits chimiques à la recherche d'une activité molluscicide intéressante (Ritchie, 1973). Le pentachlorophénate de sodium (NaPCP), dont on avait considéré alors qu'il présentait d'intéressantes possibilités, a été abandonné par la suite en raison de sa trop forte toxicité. De même, plusieurs dérivés du plomb et de l'étain qui présentaient une forte activité molluscicide tant au laboratoire qu'à l'occasion d'essais limités sur le terrain n'ont pas connu d'utilisation généralisée en raison des graves réserves exprimées quant à leur toxicité. En Extrême-Orient, la Yurimine -(dibromo-3,5 hydroxy-4 nitro-4' azobenzène) a remplacé le NaPCP, en particulier au Japon, mais après quelques années d'utilisation on a cessé de la fabriquer. Le Frescon ^(R) (N-tritylmorpholine) a connu le même sort ; il s'agissait d'un des molluscicides les plus actifs (mais non mortel pour les œufs de mollusques) et qui pourtant ne s'est pas révélé à la hauteur des espoirs qu'il avait suscités au début ; il est difficile désormais de s'en procurer.

1.3.2. Molluscicides disponibles

1.3.2.1. Niclosamide (Bayer AG)

Au cours de la dernière décennie, les quatre composés (niclosamide, N-tritylmorpholine, pentachlorophénate de sodium et Yurimine) qui figuraient dans le rapport de la réunion du Comité OMS d'experts de la Lutte contre la Schistosomiase en 1972, se sont réduits en fait à un seul, le niclosamide. Ce dernier est à l'évidence actuellement le molluscicide de choix ; il a été commercialisé sous le nom de Bayluscide ^(R) et son succès commercial est indéniable. En Egypte, on en épand chaque année plusieurs centaines de tonnes. Son grand inconvénient tient à son coût qui est en augmentation du fait de la montée en flèche des prix du pétrole.

Les formulations habituelles (poudre mouillable à 70 % ou concentré émulsifiable à 25 %) sont toutes deux d'une grande efficacité. On a appliqué également des granulés ainsi que des formulations sur sable ou gélatine avec un certain succès dans certaines situations particulières. En Egypte, on produit également du niclosamide en formulations commerciales sous forme de poudre mouillable à 60 % sous le nom de Mollutox ^(R) que l'on utilise dans des petits programmes locaux de destruction des mollusques.

1.3.2.2. Molluscicide B-2 (Nippon Chemical)

Au Japon on a procédé avec succès à des essais sur le terrain d'un nouveau composé appelé B-2 (dichloro-2,5 bromo-4 phénate de sodium) sous la forme de formulations liquides ou de poudres mouillables contre un mollusque amphibie Oncomelania nosophora (Kajihara et al., 1979). Sa concentration résiduelle dans le sol diminue rapidement et il ne se fixe pas dans le riz à plus de 0,03 mg/l. Il conviendrait de vérifier l'efficacité de ce composé contre les mollusques aquatiques des genres Biomphalaria et Bulinus ainsi que contre Lymnaea spp.

1.3.2.3. Cuivre

Les sels de cuivre sont pratiquement abandonnés dans la plupart des programmes de lutte contre les mollusques toutefois ITT finance quelques travaux en vue d'améliorer leur efficacité sur le terrain grâce à des formulations à libération contrôlée utilisant une matrice en verre. Malgré tout, il semble que l'activité molluscicide du cuivre, quel que soit le mode d'application (en matrice à libération lente dans des barrages chimiques, sous la forme de composés de nature anionique différente, etc...) ne soit guère satisfaisante. En outre, le sulfate de cuivre, malgré un prix d'achat faible, est très loin de soutenir la comparaison sur le plan économique avec le niclosamide.

1.3.3. Molluscicides en cours de mise au point

1.3.3.1. Organostanniques

On connaît depuis longtemps la forte activité molluscicide d'un certain nombre de dérivés organiques de l'étain. Il semble que cette activité soit limitée aux dérivés trisubstitués comme on a pu le constater vis-à-vis de Bulinus spp., Biomphalaria spp. et contre certains mollusques operculés dulçaquicoles. Les organostanniques ne se sont pas montrés très efficaces vis-à-vis des oncomélaniidés amphibies, peut-être en raison de l'absence de formulations adéquates et de la relative insolubilité de ces composés dans l'eau. Certains organostanniques ont été incorporés dans des formations caoutchoutées à libération lente qui permettent de délivrer la dose sur une longue période; il se peut que cela entraîne une action sélective et une réduction du coût d'application comme des risques pour l'environnement. Toutefois les données actuelles sont insuffisantes pour permettre d'évaluer la toxicité chronique vis-à-vis de l'homme et des animaux domestiques de l'eau traitée de cette manière. Une étude sur la toxicologie, la pharmacologie et d'autres aspects intéressants de ces dérivés a été récemment publiée (Duncan, 1980).

Des données de toxicité chronique sur l'oxyde de bis (tri-n-butylétain) (TBTO) sont en cours de rassemblement. Ce produit semble très efficace comme molluscicide dans certains sites de transmission lorsqu'il est présenté en formulations à libération lente. Toutefois, on ne peut pas en préciser l'utilisation sur le terrain tant qu'on n'aura pas de résultats définitifs sur sa toxicité à long terme, c'est-à-dire vraisemblablement pas avant la fin de 1984. Toujours est-il qu'on peut d'ores et déjà noter que les premiers essais sur le terrain du Biomet SRM ^(R), formulation commerciale à 6 % de TBTO, se sont révélés prometteurs (Shiff, 1974; Shiff et Evans, 1977 et d'autres auteurs).

1.3.3.2. Nicotinanilides

Il y a une dizaine d'années, l'attention s'est portée sur l'activité molluscicide du nicotinanilide. Des études quantitatives structure-activité portant sur une série de nicotinanilides substitués ont montré que le composé de départ était l'élément le plus actif de la série ($CL_{50}=0,16\text{mg/l}$ contre B.glabrata). Des travaux plus récents ont montré que le nicotinanilide avait une action ovicide en applications continues à raison de $0,01\text{ mg/l}$ pendant environ deux semaines et qu'à la dose de $0,005\text{ mg/l}$, il ralentissait considérablement la maturation et l'éclosion des oeufs de B.glabrata. Le grand intérêt du nicotinanilide tient à sa spécificité. La souris supporte des doses de 2 mg/kg de poids corporel administrées par la voie parentérale et les lapins ne présentent qu'une réaction minimale lors d'épreuves d'irritation cutanée et oculaire. La mise au point de cet éventuel molluscicide se poursuit, et porte notamment sur ses dérivés substitués, avec des essais en laboratoire et sur le terrain d'une formulation à libération lente, la mise au point d'une méthode d'analyse des résidus et le développement de voies de synthèse industrielle.

1.3.3.3. Amides

En République populaire de Chine, on procède à la recherche de molluscicides nouveaux et plus efficaces d'origine chimique ou végétale. C'est ainsi qu'on a étudié l'activité du fluoracétamide et ses analogues (bromoacétamide, et chloroacétamide) contre les mollusques amphibies. Ces composés sont très actifs, peu toxiques pour le poisson, ils sont solubles dans l'eau, stables et faciles à épandre. Les résultats d'essais sur le terrain à petite échelle montrent qu'ils conviennent particulièrement bien aux viviers.

1.3.3.4. Métaldéhyde

A Hong Kong, un mollusque hôte potentiel (Biomphalaria straminea) de Schistosoma mansoni a envahi les pêcheries en eau douce. Le seul molluscicide chimique autorisé à Hong Kong est le métaldéhyde qui est le composé de choix pour la destruction des limaces (Frain, 1982). On procède actuellement à l'évaluation de son efficacité.

1.3.4. Mode d'action des molluscicides

Les recherches sur le mode d'action des molluscicides ont emprunté deux voies principales. Tout d'abord, on a étudié la biochimie et la physiologie des gastéropodes en vue d'expliquer l'activité molluscicide et de mettre en évidence les caractères inhabituels du métabolisme ou de l'organisation des mollusques, dont on pourrait tirer parti pour combattre ces derniers. Si ces approches, qui semblent logiques, n'ont pas encore conduit à l'identification d'un nouvel agent, elles ont révélé d'autres relations dignes d'intérêt. Secondement, on a entrepris l'essai biologique de groupes de composés apparentés afin d'élucider les relations entre structure chimique et activité biologique. On a ainsi reconnu certaines des propriétés que doivent posséder les molécules molluscicides, ce qui a conduit, par exemple, à la découverte et à la mise au point du niclosamide et du nicotinanilide.

On trouvera ci-après une brève mention de certaines des corrélations intéressantes révélées par les études biochimiques. A faible concentration, le pentachlorophénate provoque le découplage de la phosphorylation oxydative dans des fractions cellulaires de Lymnaea stagnalis. En outre, si de très faibles concentrations de niclosamide ou de pentachlorophénate, ajoutées à des homogénats de Biomphalaria alexandrina, stimulent l'oxydation de substrats tels que succinate, citrate, glutamate et tétraméthylparaphénylène-diamine réduite, des concentrations plus élevées inhibent l'oxydation; quant au sulfate de cuivre, il entraîne une inhibition à toutes les concentrations. D'après les résultats d'études plus récentes sur l'oxydation du succinate, l'inhibition due au pentachlorophénate pourrait être causée par l'accumulation d'oxaloacétate, alors que l'inhibition due au niclosamide ne serait que partiellement expliquée par cette activité.

L'inhibition par le sulfate de cuivre a été attribuée à l'effet de ce dernier sur des groupements sulfhydryle enzymatiques l'inhibition étant plus faible en présence de cystéine.

Il y a longtemps qu'on a observé que l'empoisonnement par les molluscicides produit une des deux réactions ci-après chez le mollusque : ou bien il se rétracte dans sa coquille et rejette de l'hémolymphe ou bien il gonfle et reste en extension hors de l'ouverture de la coquille. Cette dernière réponse se voit particulièrement avec les composés organiques de l'étain et certains carbamates et elle évoque la perte du contrôle de l'équilibre hydrique. On pense que, chez les gastéropodes, cet équilibre est sous contrôle neurosécrétoire. Il a été prouvé que le triphenmorphe réduit l'activité neurosécrétoire chez B. truncatus; l'exposition à long terme du pulmoné, Indoplanorbis exustus, au chlorure de baryum et au sulfate de cuivre conduit aussi à une diminution de l'activité neurosécrétoire. En outre, il a été montré que le débit de l'eau qui traverse B. glabrata s'abaisse en présence d'un certain nombre de molluscicides à des concentrations voisines de leur CL_{50} . Il se peut donc bien que les molluscicides perturbent la régulation de l'équilibre hydrique et que cette propriété, à elle seule, entraîne la mort du mollusque ou bien encore que la réduction du débit normal de l'eau qui ^{le} traverse provoque d'autres perturbations du métabolisme ou de fonctions physiologiques similaires à celles qui ont été décrites ci-dessus. Il est intéressant de noter que l'activité de certains insecticides a été attribuée à une intoxication multifactorielle de cette sorte, causée par libération de neurohormones.

De définitive, si le mode d'action des molluscicides synthétiques a été étudié dans une certaine mesure, ce lui des molluscicides végétaux a été à peine exploré jusqu'ici.

1.3.4.1. Épreuves de toxicité, de mutagénicité et de cancéro-génicité

Alors que tous les molluscicides en usage et presque tous ceux qui sont à l'étude ont fait l'objet d'épreuves de toxicité à court et à moyen terme (90 jours), rares sont ceux qui ont été soumis à des études toxicologiques à long terme. Il n'y a pas de corrélation stricte entre la toxicité aiguë et la cancérogénicité (par exemple une substance chimique ayant une haute toxicité aiguë peut être faiblement cancérogène ou vice-versa); en outre, autant que l'on sache, le niclosamide est le seul molluscicide qui ait subi jusqu'ici des épreuves de cancérogénicité (Andrews et al., 1963).

En ce qui concerne les épreuves de mutagénicité, la relation empirique de plus en plus nette entre mutagénicité et cancérogénicité n'implique pas que les deux processus soient identiques, mais les épreuves de mutagénicité pourraient constituer une méthode rapide de dépistage préliminaire pour la cancérogénicité. Compte tenu de cette réserve, il est intéressant de noter que l'on a récemment recherché les propriétés mutagènes de la N-tritylmorpholine, du sulfate de cuivre et du pentachlorophénate de sodium dans un système bactérien, et qu'aucun de ces produits n'a présenté de signe d'une activité mutagène.

1.3.4.2. Sélection des molluscicides en laboratoire

En 1965, des directives concernant la sélection et l'évaluation des molluscicides ont été préparées et publiées sous l'égide de l'Organisation mondiale de la Santé (1965b). Les méthodes et les recommandations établies à cette époque restent valables aujourd'hui. Ultérieurement, en 1970, l'Organisation a organisé une réunion en vue d'étudier en profondeur les problèmes d'essai et d'évaluation des molluscicides (OMS 1971).

Le rapport de cette réunion décrit, entre autres, avec beaucoup de détails les méthodes de sélection préliminaire, définitive et générale concernant tant les mollusques-hôtes aquatiques que les mollusques amphibies. Ces deux documents peuvent être obtenus sur demande adressée aux auteurs. Duncan et Sturrock (1983) ont également décrit un système de sélection en laboratoire des molluscicides végétaux.

L'Organisation a récemment désigné deux laboratoires, l'un au Japon pour ce qui concerne les mollusques amphibies et l'autre au Etats-Unis d'Amérique pour ce qui concerne les mollusques aquatiques, en tant que centres collaborateurs pour les études sur les molluscicides qui comprennent notamment la sélection par criblage des composés prometteurs.

1.3.4.3. Essais sur le terrain et évaluation

Dans un rapport ronéotypé (OMS 1971), on peut trouver des renseignements intéressants sur les points suivants: sites d'expérimentation; objectifs; principaux paramètres régissant les essais sur le terrain; mode d'action et formulation des molluscicides; facteurs qui influent sur la transmission; modalités de dispersion chimique dans les différents sites de transmission; utilisation de l'évaluation chimique; méthodes d'essai biologique; méthodes auxiliaires (colorants et traceurs); interprétation de la réinfestation par les mollusques après un traitement molluscicide. Des essais sur le terrain de molluscicides végétaux ont récemment fait l'objet d'une étude par Sturrock et Duncan (1983).

1.3.4.4. Modos d'application

En dehors des moyens classiques d'application des molluscicides, à l'aide de pulvérisateurs à main ou à pression préalable, d'applicateurs automatiques ou semi-automatiques, etc., deux nouvelles méthodes ont été essayées au cours des dernières années. Tout d'abord, l'application aérienne de N-tritylmorpholine a été récemment étudiée en détail dans le projet d'irrigation de la Gézireh (Soudan), et elle a été considérée comme "la technique d'application la plus efficace, la plus commode, la plus rapide et la moins coûteuse". Cependant, si on a obtenu ainsi une létalité élevée parmi les mollusques, les résultats ont été équivoques en ce qui concerne la baisse d'incidence de l'infection humaine à S. mansoni, ce qui a conduit à examiner d'autres stratégies de lutte associées, fondées sur le caractère focal de la plupart des lieux de transmission dans la Gézireh.

Deuxièmement, l'application de formulations à libération lente, contrôlée, a été largement étudiée au cours des récentes années. Cette approche a notamment les avantages suivants :

- une réduction substantielle du coût
- une simplicité accrue des opérations
- une nocivité moindre pour l'environnement
- la destruction des stades larvaires libres du parasite
- son intérêt particulier dans la lutte contre la transmission focale dans les plans d'eau stagnante.

Parmi les composés introduits dans les matrices à libération lente, qui ont été étudiés au cours des dernières années, on peut citer les dérivés organiques de l'étain et ceux du plomb, les sels de cuivre, le triphenmorphe et le niclosamide.

En général, les résultats ont été des plus encourageants, mais il est souhaitable de poursuivre les études, particulièrement pour tirer profit des progrès rapides des techniques de libération contrôlée, dont ne bénéficient pas encore les molluscicides et qui sont susceptibles d'avoir des applications commerciales intéressantes. Toutefois, les systèmes à libération lente, surtout s'ils sont appliqués sur de vastes étendues pendant des périodes prolongées, seraient capables de favoriser l'apparition d'une résistance aux molluscicides; ce dernier point est sujet à controverses.

RECAPITULATION DU MATERIEL UTILISABLE POUR APPLIQUER LES MOLLUSCICIDES ET DU MATERIEL D'ETRE MIS A L'ESSAI

Appareils utilisés jusqu'ici	Autres appareils proposés
<p>Habitat (1) : <u>Zone à sol alternativement sec et humide</u></p> <p>Arroseur Pompe à étrier Pulvérisateur porté sur le dos</p> <p>Poudreuse portée sur le dos Motopompe à forte pression Pompes portatives (a) actionnées à la main (b) actionnées par un moteur</p>	<p>Pulvérisateur à pression préalable du type OMS utilisé dans le programme d'éradication du paludisme Brumisateur à moteur porté sur le dos Pulvérisateur monté sur tracteur pour applications au sol ou sur les rangs de culture Distributeur de granules Distributeur de pastilles</p>
<p>Habitat (2) : <u>Zone recouverte d'eaux peu profondes</u></p> <p>Pompe à étrier Motopompe à forte pression</p>	<p>Pulvérisateur porté sur le dos Distributeur à dispositif doseur porté sur le dos Pompes portatives (a) actionnées à la main (b) actionnées par un moteur Pulvérisateur monté sur tracteur pour applications au sol ou sur les rangs de culture Distributeur de granules Distributeur de pastilles Appareils pour application par voie aérienne</p>
<p>Habitat (3) : <u>Eaux dormantes d'étendue de profondeur et de forme variables</u></p> <p>Pompe à étrier Motopompe à forte pression Pompes portatives (a) actionnées à la main (b) actionnées par un moteur Briquettes et sac de jute ou de toile grossière Poudreuse</p>	<p>Pulvérisateur porté sur le dos Distributeur à dispositif doseur porté sur le dos Distributeur de granules Distributeur de pastilles Réservoir poreux</p> <p>Appareils pour application par voie aérienne</p>

à suivre...

Suite du Tableau de la page 14

<p>Habitat (4) : <u>Eaux courantes d'étendue, de profondeur et de forme variables</u></p> <p>Distribution de solutions de divers types</p> <p>Briquettes et billes de plâtre</p> <p>Sac de jute ou de toile grossière</p> <p>Boîtes métalliques contenant des sacs ou boîtes de molluscicide</p>	<p>Distributeur de produits solides</p> <p>Pompe volumétrique à dispositif doseur</p> <p>Réservoir poreux</p>
--	---

Source : Ansari, N., Ed. (1973) Epidemiology and Control of Schistosomiasis (Bilharziasis). S. Karger, Basel, Paris, London, New York, pp. 751.

1.3.4.5. Les traitements par les molluscicides dans le cadre des opérations de lutte

Une chimiothérapie portant sur la population et s'appuyant sur des opérations judicieuses d'épandage de molluscicides ainsi que sur une bonne éducation sanitaire, avec participation permanente de la collectivité, c'est là le fer de lance des opérations actuelles de lutte antischistosomienne dans les zones prioritaires.

Parmi les avantages des traitements molluscicides, on peut noter les suivants :

- possibilité d'interrompre rapidement la transmission;
- la participation communautaire n'est pas essentielle;
- le matériel d'épandage est généralement simple et bon marché et peut être utilisé pour détruire d'autres vecteurs;
- le rapport coût/efficacité peut être très favorable;
- les méthodes d'épandage sont en principe simples, ne nécessitent pas de compétences particulières et sont faciles à prendre (un bon encadrement des opérateurs est naturellement nécessaire);

- la sélection des sites de transmission importants où il est nécessaire d'épandre des molluscicides est généralement simple et basée sur les modes d'utilisation de l'eau;

- la marge de sécurité pour l'homme, les animaux domestiques et les plantes est généralement importante (la toxicité vis-à-vis de la faune et de la flore non visées est temporaire et n'est guère préoccupante puisque les applications sont généralement focales et périodiques);

- ces opérations ont pour résultat de renforcer les programmes d'éducation pour la santé;

- les opérations peuvent être facilement intégrées aux autres programmes de lutte utilisant des pesticides.

Pour toute opération d'épandage de molluscicides il faut en premier lieu se demander si elle est souhaitable, et dans l'affirmative, si elle est réalisable. Si les deux conditions sont remplies on prendra en compte les critères suivants pour organiser et mettre en oeuvre les opérations (McCullough 1980).

. Où faut-il épandre ?

On préconise actuellement deux grandes stratégies pour la destruction des mollusques-hôtes, à savoir l'épandage focal et saisonnier et la couverture d'une zone entière. Cette dernière approche est peut-être la plus économique dans les réseaux d'irrigation perfectionnés où la gestion des eaux est excellente et où la transmission est intense et générale. Cette méthode peut être également valable, par exemple dans certains cours d'eau naturels. D'un autre côté, les opérations focales ou saisonnières ont tendance à devenir la règle plutôt que l'exception étant donné que dans la plupart des zones d'endémie la transmission des Trématodoses s'effectue selon un mode spatio-temporel.

Pour ce qui concerne cette dernière méthode, les applications doivent être en général limitées aux secteurs très utilisés par la population à des fins telles que natation, bain, ablutions, etc. ainsi qu'aux biotopes voisins où les mollusques pourraient se réfugier. Ces sites sont généralement connus de tous et les traces laissées par une fréquentation assidue permettent de les identifier aisément. On préparera des cartes simples - et soigneusement mises à jour - indiquant la position des sites de transmission. Ces cartes devront également indiquer les taux de prévalence schistosomienne au sein de la population locale étant donné que l'épandage ne doit pas en principe être effectué lorsque l'infection est peu importante. Des points de ravitaillement en eau potable sont généralement bien distincts et ne constituent pas en principe d'importants sites de transmission. Nombre de grands cours d'eau comme le Congo, la Gambie et le Zambèze, ne constituent pas en eux-mêmes d'importants points de transmission mais la construction de barrages tant sur les grands cours d'eau que sur les petits, modifie généralement l'environnement et favorise la transmission. La plupart des mollusques-hôtes se retrouvent sur certains végétaux pour lesquels ils ont une prédilection marquée, par exemple, les nénuphars, en particulier lorsque cette végétation n'est pas trop dense, de sorte que ces micro-habitats doivent faire l'objet d'une attention particulière.

Dans les étendues d'eau stagnantes on appliquera le molluscicide de façon générale sur un rayon d'eau moins 15 mètres autour du point de transmission. Dans les eaux courantes, l'épandage est un peu plus complexe. Dans ce cas il peut être nécessaire d'installer des distributeurs de solution molluscicide, de conception simple, susceptibles d'être produits sur place. Ces distributeurs devront être posés en amont juste avant les principaux lieux de contact.

On voit bien que le calendrier des épandages devra être déterminé en fonction des conditions locales de pluviosité, d'utilisation de l'eau, de la densité de la population de mollusques et également des programmes de chimiothérapie menés au sein de la population ce qui n'est pas le moindre élément à prendre en considération. Les décisions sont faciles à prendre car elles reposent sur la simple observation et le bon-sens: la spéculation théorique de haut niveau n'est pas de mise en pareil cas.

• Comment faut-il procéder à l'épandage ?

On trouvera une description détaillée de cette question dans le manuel OMS de lutte contre les mollusques (OMS 1965b). Les fabricants fournissent également des instructions sur demande.

Du point de vue pratique, la méthodologie n'est guère difficile. Pour tous les habitats de mollusques, on se livrera à un calcul simple pour déterminer le volume d'eau ainsi que le débit du cours d'eau, le cas échéant, afin d'évaluer la dose (concentration x temps ou produit ct). Sauf dans le cas d'opérations à grande échelle et de haute technicité, qui nécessitent de grandes quantités de molluscicides, il n'est pas nécessaire d'avoir une très grande précision dans la plupart des habitats des mollusques.

Sur le plan de l'équipement il faut essentiellement:

- des produits molluscicides;
- des pulvérisateurs et des seaux;
- des appareils de pesage simple;
- un mètre à ruban d'arpenteur et une ligne de sonde;
- des formules d'enregistrement;
- des tenues de campagne avec notamment des bottes en caoutchouc;
- des véhicules et du carburant;

L'équipe d'épandage se compose généralement de trois hommes : un technicien/chef d'équipe et deux ouvriers. Les petits travaux, notamment d'entretien du matériel, peuvent être confiés aux chauffeurs. Ce personnel doit être bien formé et bénéficier de primes pour travaux durs .

1.3.5. Rôle futur des molluscicides dans la stratégie de la lutte contre les trématodoses

Le rôle futur des molluscicides dans la lutte contre les trématodoses dépendra du type de stratégie adopté pour cette lutte, lequel à son tour sera déterminé par les conditions écologiques et socio-économiques locales, mais tout le monde s'accorde pour penser que l'application judicieuse de molluscicides doit garder sa place parmi les méthodes de choix dans tout programme complet de lutte contre les trématodoses. De surcroît dans certaines circonstances, la destruction des mollusques hôtes, que ce soit par des moyens chimiques ou environnementaux, peut à elle seule assurer une protection notable; mais il est rare qu'une méthode unique de lutte puisse être préconisée sans réserve.

Dans l'avenir prévisible, le traitement chimiothérapeutique axé sur la population, en même temps que l'application focale et saisonnière de molluscicides constitueront très probablement le fer de lance des opérations de lutte contre les trématodoses dans les foyers qui doivent bénéficier d'une haute priorité. Du fait que l'éradication des mollusques hôtes est rarement un but réaliste, et que les Planorbidés (mais non les Hydrobiidés) ont un taux d'accroissement naturel intrinsèque très élevé, l'application de molluscicides doit être minutieusement planifiée afin de tirer profit des modes de transmission focaux et saisonniers; en particulier, il sera absolument indispensable de poursuivre des efforts soutenus, d'exercer une gestion efficace, de disposer d'un personnel qualifié et motivé et de ressources régulières suffisantes pour financer toutes les fournitures et activités essentielles.

Dans les prochaines années, il sera nécessaire d'améliorer les stratégies et les systèmes d'application afin d'optimiser le rapport coût-efficacité du traitement molluscicide.

Par exemple, il faut explorer les qualités potentielles de nouvelles formulations de composés existants, telles que formulations à libération lente ou appâts, et étudier la mise au point de molluscicides végétaux dans les pays d'endemie, si une production locale suffisante peut être assurée et si la nocivité pour l'environnement reste dans les limites acceptables. En particulier il est absolument nécessaire désormais de mettre au point des molluscicides de synthèse efficaces et bon marché du fait, qu'il n'existe actuellement qu'un seul et unique produit en vente sur le marché; pour résoudre ce problème il faudra nécessairement rechercher l'appui de l'industrie. En outre, il importe maintenant d'examiner avec soin, dans une grande variété de situations socio-économiques, le rôle de la collectivité locale ainsi que son efficacité dans l'application périodique des molluscicides, en tenant bien compte du fait que le salaire du personnel et les frais logistiques sont de loin les composantes les plus coûteuses des opérations focales et saisonnières de traitement molluscicide appuyées par les institutions.

En conclusion, il est nécessaire d'attirer une fois de plus l'attention sur la pénurie de personnel de toute catégorie et de tout niveau (médical, scientifique, et auxiliaire), doté d'une formation et d'une expérience satisfaisantes en matière de transmission des trématodoses et de lutte contre cette parasitose, y compris tous les aspects de l'application des molluscicides. Aussi longtemps qu'on n'aura pas remédié à cette situation, il faut craindre que les trématodoses ne continuent à avancer, au lieu de reculer, tant en ce qui concerne leur répartition que leur intensité, dans la plupart des régions où l'infection est effectivement ou potentiellement endémique. Le Laboratoire danois de la bilharziose procède de concert avec l'OMS, à l'organisation de cours en liaison directe avec les autorités nationales concernées. C'est un secteur où l'effort de l'industrie pourrait se révéler important dans l'avenir.

1.4. Plantes et extraits végétaux

1.4.1. Rôle des plantes molluscicides dans le contrôle de la Schistosomiase et de la distomatose

. L'emploi de plantes et extraits végétaux est motivé essentiellement par le coût élevé des composés synthétiques.

Le seul composé molluscicide de synthèse utilisable actuellement dans la plupart des programmes de lutte contre la Schistosomiase (le niclosamide) a vu son prix de vente majoré par la hausse du prix du pétrole. Il est cependant illusoire de penser un jour, remplacer entièrement les molluscicides de synthèse par les plantes à action molluscicide.

. Le rôle des plantes molluscicides doit être limité au contrôle de foyers localisés. Ce contrôle devra être l'une des composantes d'un programme intégré de soins de santé primaire au sein d'une communauté villageoise.

. La destruction des mollusques sur une plus vaste échelle devra faire appel aux molluscicides de synthèse.

1.4.2. Inventaire des plantes toxiques vis-à-vis des mollusques

Depuis 1930, plus de 1000 espèces végétales (dont 600 en Chine) ont été identifiées pour leur pouvoir plus ou moins toxique vis-à-vis des mollusques. Il s'agit essentiellement de plantes appartenant aux familles des : Légumineuses, Euphorbiacées, Rubiacées, Polygonacées, Composées et Phytolaccacées.

. En Ethiopie, Phytolacca dodecandra (endod) dont les fruits présentent une forte toxicité vis-à-vis des mollusques-hôtes de la Schistosomiase, a fait l'objet d'études approfondies. Au cours des années 1970 des essais de contrôle de mollusques au niveau de communautés villageoises ont été couronnés de succès en utilisant des extraits aqueux simples à préparer.

. Au Soudan ce sont les graines de Croton macrostachys qui sont préconisées comme molluscicide.

. Au Mozambique, les coques de noix de Cajou Anacardium occidentale sont employées localement dans les programmes de lutte intégrés contre la Schistosomiase.

. En Egypte, l'immersion d'Ambrosia maritima a montré un effet toxique vis-à-vis des populations de mollusque.

1.4.3. Répartition géographique et identification des écosystèmes favorables aux plantes molluscicides

Un excellent travail de classification a été effectué en 1981 par Kloos et McCullough. Ces auteurs recommandent pour l'avenir la constitution d'herbiers nationaux et mieux internationaux, et l'informatisation de toutes les données concernant la localisation géographique des plantes recueillies, leur biotope, la période de la cueillette etc..

1.4.4. Composés molluscicides isolés des plantes

Jusqu'à présent 42 composés molluscicides ont été isolés des plantes il s'agit de :

- saponines
- flavines
- alcaloïdes
- terpènes

. Chez les Composées, ce sont essentiellement les sesquiterpènes lactones qui ont une action toxique.

. Il est très important d'analyser le pouvoir toxique des différentes parties de la plante.

. Chez les Phytolaccées, ce sont les fruits qui possèdent la plus grande toxicité, les feuilles ont une faible toxicité quant aux racines elles sont entièrement dépourvues de toxicité. Cette toxicité est liée à la plus ou moins grande abondance d'alcaloïdes et de saponines.

• Chez les Euphorbiacées, les principes actifs sont concentrés essentiellement dans les graines.

• Chez les Solanacées ce sont les feuilles et les fruits qui présentent le maximum de toxicité.

1.4.5. Mode d'action des molluscicides végétaux

Le mode d'action des molluscicides végétaux est très mal connu.

Tout d'abord, les données de base sur la physiologie et le métabolisme des gastéropodes présentent de nombreuses inconnues et ne permettent pas d'étudier finement l'action des toxiques.

- Les extraits solubles agissent sur la membrane limitante externe.

- Lors des expérimentations on note souvent un phénomène du tout ou rien lorsqu'on utilise des substances à concentrations croissantes. La dose/réponse varie avec une marge très étroite.

- Comme on l'observe chez la plupart des insecticides l'action des molluscicides ne peut être conçue que comme un processus multifactoriel, touchant plusieurs systèmes à la fois.

- Plusieurs modes d'action sont rapportés dans la littérature comme par exemple, l'affaiblissement de la fonction cardiaque et un déséquilibre de la balance hydrique avec apparition d'oedème.

1.4.6. Toxicologie

- Seules les plantes présentant une activité molluscicide reconnue et pouvant être cultivées doivent être retenues.

- Les plantes ayant des effets toxiques directs pour l'homme doivent être éliminées d'office.

La toxicité vis-à-vis de la faune non-cible, en particulier les poissons, ne doit pas être trop élevée.

On doit déterminer la rémanence de toxicité des extraits aqueux dans l'environnement aquatique et noter si ces extraits sont biodégradables.

Lorsqu'il s'agit d'extraits de nature lipophile il faut étudier leur possibilité de s'accumuler (à l'image du DDT) dans la chaîne alimentaire.

1.4.7. Evaluations au laboratoire et sur le terrain

- Evaluation de la toxicité au laboratoire

. La plante, à l'état brut, doit avoir une action molluscicide à 100mg/l ou moins et tuer 90% des mollusques exposés 24h à une température déterminée.

. L'extrait aqueux (produit à chaud ou à froid) doit être actif à 20mg/l ou moins et tuer 90% des mollusques exposés 24h à une température déterminée.

. Les extraits alcooliques (Méthanol) ou lipophiliques doivent être actifs à 20mg/l ou moins et tuer 90% des mollusques exposés 24h à une température déterminée.

. Si le principe molluscicide est trouvé seulement dans les fractions solubles dans l'alcool ou les solvants lipidiques, il faudra noter que cela constitue un handicap, matériel et financier, pour une utilisation à grande échelle en zone d'endémie.

Biomphalaria glabrata ou d'autres escargots exotiques pouvant être hôte intermédiaires de Schistosoma ou Fasciola ne doivent pas être introduits pour expérimentation dans un laboratoire situé dans une zone d'endémie ou d'endémie potentielle de trématodose.

Lorsque les recherches de laboratoire ont établi :

- une activité molluscicide définie,
- un niveau de toxicité acceptable,
- des potentialités de culture,

il est souhaitable qu'une collaboration s'établisse avec des laboratoires de pharmacologie équipés pour déterminer les structures chimiques des composés et préciser leur mode d'action.

Une description complète des caractéristiques chimiques du produit végétal est souhaitable mais n'est pas indispensable pour débiter les essais sur le terrain et la culture d'une plante molluscicide.

- Essais de la plante sur le terrain

Pour démontrer l'efficacité de la plante, l'évaluation sur le terrain doit être conduite en zone d'endémie, avec l'autorisation des autorités locales. Diverses étapes doivent être franchies :

- Le molluscicide doit être appliqué par une ou plusieurs techniques dans les différents biotopes à mollusque selon un protocole standardisé, avec une évaluation quantitative des effets sur la population des mollusques.

- Après le succès de cette première évaluation, la plante doit être testée dans une zone endémique épidémiologiquement définie en association avec une chimiothérapie.

Les résultats doivent être comparés à ceux d'une zone similaire où le molluscicide employé est le niclosamide en association avec une chimiothérapie.

Une troisième zone sera uniquement soumise à une chimiothérapie.

- La deuxième évaluation doit être basée sur une comparaison longitudinale de paramètres déterminant, chez l'homme, l'évolution de la prévalence, de l'intensité parasitaire et, si possible, de l'incidence.

1.4.8. Culture

Les succès obtenus en 1970 avec Phytolacca dodecandra montrent que, tout au moins en Éthiopie, une culture de plante molluscicide est parfaitement réalisable au niveau du village.

La rentabilité d'une culture extensive de plante molluscicide reste à démontrer.

Pour obtenir une forte production et des souches à haute efficacité molluscicide, il faudra effectuer une soigneuse sélection en tenant compte de l'adaptation aux conditions de l'environnement.

Des différences d'activité molluscicide ont été observées chez les mêmes plantes lorsque l'environnement était différent.

Il est recommandé d'effectuer la sélection des plantes dans des stations de recherches agronomiques spécialisées.

Les méthodes de semence et de culture doivent être particulièrement bien mises au point et un échange de documentation, avec d'autres institutions travaillant sur le même sujet, est souhaitable.

Dans l'avenir, les techniques de culture de cellules joueront un rôle important dans la sélection.

Dans les conditions idéales, la plante doit pouvoir être cultivée par les cultivateurs locaux, sous une bonne supervision agronomique afin de lutter contre les plantes parasites, les pestes et les maladies.

Le matériel végétal ne possède souvent pas une action molluscicide suffisante à l'état naturel. Pour obtenir une plus grande efficacité il faudra effectuer un minimum d'interventions tels une mouture ou un broyage.

Les cultures à grande échelle semblent peu réalisables dans de nombreux pays endémiques car elles nécessitent l'utilisation fort coûteuse de machines, d'engrais et de pesticides.

1.5. Approche expérimentale de l'utilisation d'Ambrosia maritima L. comme plante molluscicide au Mali

Ce paragraphe résume la thèse de médecine de Fodé DOUMBIA soutenue à Bamako en mars 1983.

L'expérimentation porte sur le pouvoir molluscicide d'une souche malienne d'Ambrosia maritima découverte par A. SOW sur les rives du Niger dans l'agglomération de Bamako.

L'action toxique est évaluée sur Biomphalaria pfeifferi, hôte intermédiaire de Schistosoma mansoni et sur Bulinus truncatus, hôte intermédiaire de Schistosoma haematobium.

- La poudre d'Ambrosia contenant un mélange de tiges, feuilles et inflorescences provoque une mortalité à 100% en 24h à la dose de 250 mg/l pour les deux espèces de mollusques.

- Un extrait aqueux, confectionné par A.SOW, à partir de broyat de plante fraîche (à l'exception des racines) montre une très forte toxicité car il tue les Biomphalaria et les Bulinus en 24h à la dose de 12,5 mg/l.

- Plusieurs questions se posent à l'interprétation des résultats :

1- Quelles sont les parties de la plante qui possèdent la plus forte concentration de toxique ?

2- La très forte toxicité de l'extrait aqueux ne provient-elle pas d'un processus de fermentation qui aurait démasqué des principes actifs ?

C'est essentiellement pour répondre à ces deux questions que nous avons choisi ce thème de recherche. Nous avons également voulu élargir le sujet en abordant l'action d'Ambrosia sur Lymnaea natalensis, agent de la fasciolose bovine (F. hepatica).

II - TRAVAIL PERSONNEL

2-1- Souche malienne d'*Ambrosia maritima* L.

G. Coulibaly, malacologiste au Laboratoire d'Epidémiologie des Affections Parasitaires poursuit, depuis 1981, des recherches sur la bio-écologie des mollusques-hôtes des schistosomes. Ces travaux ont pour but de proposer une lutte molluscicide adaptée aux différents biotopes rencontrés au Mali.

Sur les conseils de F. Mc Cullough, G. Coulibaly a recherché des plantes autochtones toxiques pour les mollusques. Pour ce faire, il s'est adressé à un des meilleurs spécialistes maliens des peuplements végétaux des environs de Bamako : A. SOW Botaniste-Agrostologue au Laboratoire Central Vétérinaire.

En juillet 1982, A. SOW nous a indiqué les biotopes où l'on pouvait trouver des peuplements d'*Ambrosia maritima*.

2-1-1- Description d'après Berhaut (J.) 1974 :

Ambrosia maritima Linn. de la famille des composées, est une plante herbacée vivace haute de 30 cm à 1m., à feuilles alternes. Feuilles 2 fois pennatilobées, de forme générale triangulaire, longues de 5 à 10 cm., et presque aussi larges à la base. Lobes primaires séparés jusqu'au rachis et formant folioles, les lobes secondaires profondément et irrégulièrement séparés, souvent décurrents le long du rachis. Cinq à six lobes primaires, les 2 ou 3 premiers seuls étant bien séparés. Surfaces blanc argenté. Pubescence rase.

Pétiole long de 1 à 6 cm.

Fleurs vert jaunâtre, toutes tubulaires, en capitules très petits, groupés en panicule spiciforme dense au sommet des rameaux. Chaque capitule est soutenu par une bractée en forme de calotte.

Akènes très petits, obovoïdes et lisses, sans aigrette

Cette plante qui, de loin, rappelle l'absinthe d'Europe; se rencontre dans la presqu'île du Cap-Vert, à Tiaroye, dans les dépressions des Niayes, et autour des mares à Palmarin et dans les Iles du Saloum : toujours dans des lieux humides qui se ressentent des infiltrations marines.

Aire géographique : A. maritima a été décrite au Sénégal, Mali, Guinée, Ghana, Nigéria, Niger, Tchad, République Centrafricaine, Afrique Australe, Sudan, Afrique Orientale, Madagascar, Région Méditerranéenne de l'Afrique du Nord.

Noms vernaculaires

- . Bambara : Nbagèlèni
- . Peul (Sénégal) : Nginé
- . Sérère : Nit niti, niniti, nonan a mbèl.
- . Volof : Ngandal nak.

2.1-2- Biotopes de la souche malienne

Ambrosia maritima a été trouvé sur les bords du Niger dans des formations ripicoles caractérisées par Salix coutoïdes et Ficus capraefolia.

Ambrosia est une plante annuelle qui pousse sur des sols sablo-argilo-limoneux à inondation périodique. Les 2 sites de cueillette ont été la rive gauche du fleuve, en pleine agglomération urbaine, au niveau de l'École Normale Supérieure et, plus en aval, au niveau de Sotuba.

Un nouveau peuplement d'Ambrosia a été découvert en juin 1983 sur la rive droite du Niger, en pleine agglomération de Ségou, non loin du marché à poteries. A cette époque, les plants d'Ambrosia dépassaient 70 cm. de hauteur et les inflorescences étaient en formation. Il s'agissait d'un peuplement constitué uniquement par cette espèce sans aucune autre association.

A cet endroit, les berges du Niger constituent un talus escarpé sur lequel est construit une route en corniche, cette route est bordée de caillécédrats (Khaya senegalensis).

2-1-3- Cycle annuel

Ambrosia germe au retrait des eaux pendant la décrue (octobre-novembre) et croît pendant la saison sèche. La floraison survient en fin de saison sèche début d'hivernage (mai-juin). La maturation et fructification ont lieu en juillet, le semis se produit en Août avant la montée complète des eaux. Selon A. SOW, les graines resteraient dans la boue sous une lame d'eau plus ou moins importante pendant la période de dormance qui s'étend de septembre à novembre.

2-1-4- Origine géographique

L'aire de répartition d'A. maritima semble très vaste. Ce qui ressort des descriptions des auteurs Egyptiens et Sénégalais est que cette plante affectionne les sols imprégnés de sel, au voisinage de la mer.

La question se pose de savoir si la souche locale que nous étudions est réellement limicole et adaptée depuis longtemps à son biotope ou, s'il s'agit d'une adaptation récente, les graines ayant été transportées par les oiseaux migrateurs ? S'il s'agit d'une plante autochtone peut-être serait-il nécessaire de créer une sous-espèce sudanica ?

2-1-5- Utilisation en médecine traditionnelle

Ambrosia maritima est une plante abondamment utilisée par l'homme, soit comme condiment soit comme médicament.

Définition d'Ambrosia Linn. donné par Berhaut : "Nom poétique venant de la mythologie; l'ambrosie était la nourriture et le parfum des dieux; allusion au parfum de diverses espèces".

• En Egypte, Ambrosia maritima est connue sous le nom de dansissa et est utilisée sous forme de décoctions et infusions comme antispasmodique, diurétique et même contre les hématuries bilharziennes.

. Au Sénégal, Berhaut signale son utilisation comme condiment et sous forme de cataplasme pour soigner les panaris. Kerharo (J.) et Adam (J.G.) 1974 indiquent qu'Ambrosia est utilisée, en association avec d'autres plantes, comme stimulant et "anti-syphilitique". (Il faut être prudent sur l'interprétation des "lésions syphilitiques" qui, en fait, recouvrent toutes les lésions dermatologiques chroniques..).

. Mali, le "Nbagèlèni" est utilisé sous forme d'infusions dans le traitement des douleurs abdominales et sous forme d'onguents dans les dermatoses prurigineuses.

. C.Ferracci, Dermatologiste à l'Institut Marchoux (communication orale) nous a indiqué qu'Ambrosia était connue des allergologues comme plante responsable d'allergies diverses.

2-2- Préparation d'Ambrosia maritima en vue de l'expérimentation

2-2-1- Collecte du matériel végétal

- Du 8 au 13 juillet 1983, nous récoltons une grande quantité de plantes entières (avec les racines). A cette période, les inflorescences sont parfaitement formées. Ces plantes sont transportées au Laboratoire de Sotuba en vue de leur traitement.

2-2-2- Traitement d'Ambrosia maritima

- La première manipulation consiste à séparer les différentes parties de la plante à savoir :

- les inflorescences
- les feuilles
- les tiges
- les racines

- Une certaine quantité de plante est laissée telle quelle et sera utilisée pour confectionner l'extrait de plante entière.

- Le matériel est traité selon deux méthodes.

2-2-2-1- Obtention de la poudre d'Ambrosia.

- Séchage à l'étuve à 40°C du matériel frais pendant 72h. (plante entière). Nous avons traité 3.317g. de matériel frais.

- Au bout de 72h. le matériel desséché ne pèse plus que 1.232g.

- Le matériel sec est réduit en poudre à l'aide d'un moulin à café électrique et entreposé à la température du laboratoire dans des bocaux en verre fermés hermétiquement.

- Nous avons traité de la même manière des plantes entières, non plus séchées à l'étuve à 40°C en 72h., mais séchées au laboratoire à la température et hygrométrie ambiantes pendant 3 semaines. Nous avons obtenu 2.300g. de poudre.

- Nous avons également obtenu, par dessiccation à l'étuve puis broyage, 150g. de poudre d'inflorescences.

2-2-2-2- Obtention des extraits aqueux

Les extraits aqueux sont obtenus à partir de la plante fraîche.

Nous avons confectionné 5 types d'extraits :

- Extrait de plante entière (avec racines)
- Extrait de racine
- Extrait de tiges
- Extrait de feuilles
- Extrait d'inflorescences

Le matériel frais est concassé au mortier traditionnel (taillé dans du bois de caïlcédrat) puis broyé finement au mortier en porcelaine. Ces opérations se font manuellement.

Le broyat est pesé puis entreposé dans des bocaux en verre et recouvert d'eau distillée de manière à obtenir un volume de 2.000 ml.

Les bocaux, hermétiquement fermés sont entreposés à la chambre froide à 4°C.

. Nous avons ainsi traité :

- . 400g. de broyat de feuilles
- . 420g. de broyat de tiges
- . 420g. de broyat d'inflorescences
- . 200g. de broyat de racines
- . 8250g. de broyat de plante entière (cette dernière préparation a été répartie à raison de 2.750g. dans 3 bonbonnes de 10 litres).

Au cours de l'expérimentation nous avons utilisé les extraits aqueux de la façon suivante :

- Extrait frais

Au moment de l'expérimentation, nous filtrons à la seringue dans une chambre de filtration "Swinnex 25" millipore l'extrait brut entreposé à + 4°C. ; tout d'abord avec un simple préfiltre, le premier filtrat est repris avec un préfiltre et un filtre à 5 microns, le deuxième filtrat est repris avec un préfiltre et un filtre à 1,2 microns. C'est ce deuxième filtrat, limpide et bactériologiquement pur qui, dilué en eau distillée aux concentrations désirées, sera versé dans les bacs "réactions".

- Extrait fermenté

Une semaine avant l'expérimentation, l'extrait brut est maintenu à la température du laboratoire de manière à provoquer une fermentation.

Nous supposons que le processus de fermentation favorise la libération de substances toxiques.

Au bout d'une semaine l'extrait fermenté est filtré de la même manière que l'extrait frais.

2-2-2-3- Récolte des graines d'Ambrosia

Du 9 au 22 Août 1983, nous récoltons des graines d'A. maritima au niveau de l'École Normale Supérieure.

Pour ce faire, nous coupons à l'aide de ciseaux les branchettes qui portent les nombreuses graines groupées en grappes.

Un examen à la loupe binoculaire montre que les graines sont saines. Il n'est déposé ni Rhizopus nigricans ni Aspergillus sp.

Nous laissons sécher à la température du laboratoire pendant une semaine. Les graines se détachent par simple frottement. Nous procédons ensuite au vannage selon la méthode traditionnelle. Les graines mélangées aux débris de feuilles et branchettes sont versées d'une hauteur d'un mètre, dans un endroit bien aéré, dans un récipient disposé sur le sol. Le courant d'air entraîne les impuretés alors que les graines, de densité plus élevée, tombent verticalement.

Nous avons ainsi récolté 796g. de graines qui seront utilisées l'an prochain pour des essais de cultures expérimentales.

Tableau n°1 Matériel récolté en juillet-Août 1983

Nature	Date récolte	Poids g.	Présentation
Plante entière séchée 72h à 40°C	8 au 13.07.83	1.232	Poudre
Plante entière séchée 21j au Labo.	id	2.300	Poudre
Inflorescences séchées	id	150	Poudre
Broyat de feuilles fraîches	id	400	Extrait aqueux 2.000 ml
Broyat de tiges fraîches	id	420	Extrait aqueux 2.000 ml
Broyat de racines fraîches	id	200	Extrait aqueux 2.000 ml
Broyat d'inflorescences fraîches	id	420	Extrait aqueux 2.000 ml
Broyat de plantes entières fraîches	id	8.750	Extrait aqueux 30.000 ml
Graines	9 au 22.08.83	796	

2.2.3. Détermination du taux de matière sèche active (MSa)
des différents extraits aqueux

• Matériel :

- 5 fioles d'Erlenmeyer de 125 ml,
- une étuve à vide,
- une fiole jaugée à 10 ml
- un filtre
- une balance électronique pesant au 1/10 mg.
- un dispositif de mesure de pH (méthode colorimétrique Mach)
- L'extrait à analyser : broyat végétal frais ayant macéré dans de l'eau distillée pendant plusieurs semaines à la température de + 4°C.

• Méthode

- Les 5 fioles d'Erlenmeyer, la fiole jaugée, sont soigneusement lavées, rincées à l'eau distillée et séchées à l'étuve.
- Les 5 fioles sont pesées au 1/10^e de mg (détermination de la tare).
- Après agitation une centaine de ml d'extrait aqueux brut est filtrée.
- Nous mesurons le pH du filtrat à 20°C puis répartissons très précisément 10 ml du filtrat dans chacune des 5 fioles.
- Les fioles sont mises à l'étuve à 100°C sous vide. L'opération dure quelques minutes jusqu'à ce que l'aiguille du manomètre s'immobilise.
- Après refroidissement, les 5 fioles sont pesées.
- Le taux de matière sèche est calculé de la façon suivante :
 - le poids de matière sèche de chaque fiole est déterminé en retranchant la tare du poids de la fiole contenant la matière sèche.
 - la moyenne des 5 mesures représente le taux de matière sèche.

Tableau n°2 Extrait de feuilles d'Ambrosia

N° fioles	Tare g.	Poids des fioles + MSa	Poids MSa g.
1	73,5590	73,6750	0,116
2	72,9640	73,0760	0,112
3	75,7580	75,8750	0,117
4	74,5560	74,6650	0,109
5	77,1940	77,3090	0,115
T	-	-	0,569

Taux de matière sèche = $0,569/5 = 0,1138$
soit 11,38g/l

• Résultats

Nous avons ainsi déterminé :

Tableau n°3 Différents types d'extraits aqueux

Type d'extrait	pH	Taux de matière sèche
feuilles	8	11,380g/l
tiges	5	8,660g/l
racines	6	3,578g/l
inflorescences	7	10,354g/l

2.3. Essais de toxicité d'*Ambrosia* sur *Biomphalaria pfeifferi* (*B.pf.*) et *Lymnaea natalensis* (*L.n.*)

2.3.1. Les mollusques ont été choisis en raison de leur importance en médecine humaine et vétérinaire :

- *B. pfeifferi* représente l'hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni*, agent de la Schistosomiase intestinale.
- *L. natalensis* représente l'hôte intermédiaire de *Fasciola hepatica*, agent de la fasciolose ou distomatose bovine.

Notre expérimentation pêche par deux défauts indépendants de notre volonté :

- Faute d'installations appropriées nous n'avons pu réaliser d'élevage de mollusques au laboratoire. Les essais de toxicité ont été effectués sur des mollusques capturés dans le Dounfing, petit affluent de la rive gauche du Niger au lieu dit "Pont Richard".
- La pluviométrie, particulièrement déficitaire pendant l'hivernage 1983, a eu pour conséquence une réduction de la densité des mollusques. De plus; la taille des mollusques est inférieure à la moyenne habituellement observée au niveau de ce biotope.
 - Le diamètre des coquilles de *B.pf.* mesure entre 8 et 9 mm. Dans l'expérimentation menée par F. Doumbia l'an dernier tous les *B.pf.* mesuraient plus de 9 mm.
 - La hauteur des coquilles de *L.n.* (axe de la columelle) varie entre 11 et 13 mm.

Les mollusques sont entreposés dans des bacs en macrolon (matière plastique transparente) d'une capacité de 3 litres remplis à 1 l d'eau provenant d'un petit affluent du Niger, le Farakoba. Ce ruisseau temporaire a une eau très limpide et passe à proximité du laboratoire de Sotuba.

Les bacs sont maintenus en pièce climatisée à des températures ambiantes variant entre 23°C et 27°C.

La température de l'eau varie entre 21°C et 24°C.

Le pH varie entre 7,8 et 7,9.

Les mollusques sont nourris avec des feuilles de salade.

Les mollusques ne sont jamais gardés plus d'une semaine au laboratoire.

Après chaque expérimentation, les mollusques survivants et les témoins sont éliminés; toutes les expérimentations (lot témoin et lot réaction) sont réalisées à partir de mollusques récemment capturés.

2.3.2. Essais de toxicité de la plante entière (racines + tiges + feuilles + inflorescences)

2.3.2.1. Essais de la poudre (Tableaux 4 et 5)

Tableau n° 4

Lots	n.B.pf.	c.mg/l	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	188,6	"	24	6	20
2	30	350	"	21	9	30
3	30	367	"	17	13	43,3
4	30	377,25	"	0	30	100

Tableau n° 5

Lots	n.L.n.	c.mg/1	Durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	188	"	12	18	60
2	30	350	"	6	24	30
3	30	367	"	0	30	100
4	30	377	"	0	30	100

- Les bacs sont remplis de 1 l d'eau
- Dans les bacs "réactions" nous saupoudrons la surface de l'eau avec de la poudre d'Ambrosia plante entière (cf. 2221)
- Au cours d'essais réalisés les 31/10, 1 et 2/11/83 nous avons obtenu les résultats suivants :
 - Pour B.pf.
La DL 100 est de 377 mg/1 en 24h à 367 mg/1 on note 43,3 pour cent de mortalité.
 - Pour L.n.
La DL 100 est de 367 mg/1 en 24h, à 350 mg/1 on note 80,0 pour cent de mortalité.
à 188 mg/1 on note 60,0 pour cent.
 - L.n. semble plus sensible que B.pf. à la poudre d'Ambrosia.
 - Pour B.pf. si nous comparons nos résultats avec ceux obtenus l'an dernier par Fodé Doumbia nous constatons que la DL 100 pour B.pf. était atteinte avec de la poudre d'Ambrosia à la dose de 250 mg/1. Il faut noter que la poudre utilisée par F. Doumbia comprenait les inflorescences, feuilles et tiges mais non les racines. Comme nous le verrons ultérieurement, les racines ne possèdent que très peu de principe actif. Il est donc normal que notre poudre de plante entière soit moins active.

2.3.2.2. Extrait aqueux non fermenté (tableau 6 et 7)

Tableau n°6

Lots	n. <u>B.pf.</u>	c.mg/1	Durée Expo.	vivants	morts	morts%	morts% corrigée
T	30	0	24h	29	1	3,3	
1	30	200	"	21	9	30	26
2	30	250	"	6	24	80	76
3	30	300	"	0	30	100	

Tableau n°7

Lots	n. <u>L.n.</u>	C.mg/1	Durée Expo.	vivants	morts	morts%	morts% corrigée
T	30	0	24h	27	3	10	
1	30	200	"	12	18	60	50
2	30	250	"	6	24	80	70
3	30	300	"	0	30	100	

- Les bacs sont remplis à 1 l d'eau.
- L'extrait est utilisé aux concentrations 300, 250, et 200 mg/1
- La durée d'exposition est de 24h.
- Les essais ont été réalisés du 31/10 au 1/11/83 et du 1 au 2/11/83.
- Pour B.pf.
 - On constate qu'il y a 1/30 morts dans le lot témoin soit 3,3 pour cent.

- A la concentration de 300 mg/l on note une mortalité de 100 pour cent en 24h (30/30).
- A la concentration de 250 mg/l on note 24 morts sur 30 ce qui donne un taux de mortalité corrigée* de 76 pour cent.
- A la concentration de 200 mg/l on note 9 morts sur 30. Taux de mortalité corrigée = 25 pour cent.
- Pour L.n.
 - On constate qu'il y a 3/30 morts dans le lot témoin soit 10 pour cent.
 - A la concentration de 300 mg/l on note une mortalité de 100 pour cent en 24h (30/30).
 - A la concentration de 250 mg/l le taux de mortalité corrigée est de 70 pour cent.
 - A la concentration de 200 mg/l le taux de mortalité corrigée* est de 50 pour cent.

* Calcul du taux de mortalité corrigée :

$$\frac{\text{mortalité réaction} - \text{mortalité témoin}}{100 - \text{mortalité témoin}} \times 100$$

Nous constatons que l'extrait aqueux de plante entière fraîche se montre très peu toxique vis-à-vis de B.pf. et L.n.

2.3.2.3. Extrait aqueux fermenté (tableaux 8 et 9)

Tableau N°8

Lots	n. <u>B.pf.</u>	c.mg/1	Durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	25	"	29	1	3,3
2	30	30	"	18	12	40
3	30	35	"	0	30	100

Tableau n°9

Lots	n. <u>L.n.</u>	c.mg/1	Durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	25	"	26	4	13
2	30	30	"	3	27	90
3	30	35	"	0	30	100

- L'extrait fermenté est utilisé aux concentrations 35, 30 et 25 mg/l.
- La durée d'exposition est de 24h.
- Les essais ont été réalisés du 6 au 7/11/83.
- Pour B.pf.
 - On ne constate aucun mort parmi les 30 témoins.
 - A la concentration de 35 mg/l la mortalité est de 100 pour cent (30/30) en 24h. A 30 mg/l la mortalité est de 40 pour cent (12/30) à 25 mg/l elle est de 3,3 pour cent (1/30).

. Pour L.n.

- Aucun mort dans le groupe témoin.
- A la concentration de 35 mg/l la mortalité est de 100 pour cent (30/30) en 24h. A 30mg/l la mortalité est de 90 pour cent (27/30), à 25mg/l elle est de 13 pour cent (4/30).

Nous constatons que pour B.pf. et L.n. la dose létale à 100 pour cent est de 35 mg/l.

L.n. semble plus sensible que B.pf., car on note à 30mg/l 90 pour cent de mortalité contre 40 pour cent pour B.pf.

- . L'extrait fermenté se montre environ huit fois plus toxique que l'extrait frais (expérimenté une semaine auparavant).

2.3.3. Essais de toxicité des racines

2.3.3.1. Extrait aqueux non fermenté (Tableaux: 10 et 11)

Tableau n°10

Lots	n. <u>B.pf.</u>	c.mg/l	Durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	2000	"	30	0	-
2	30	2500	"	30	0	-
3	30	3000	"	30	0	-

Tableau n° 11

Lots	n. <u>L.n.</u>	c.mg/l	Durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	2000	"	30	0	-
2	30	2500	"	30	0	-
3	30	3000	"	30	0	-

L'extrait frais de racines ne montre aucune toxicité ni pour B.pf. ni pour L.n. à la concentration de 3000 mg/l en 24h.

2.3.3.2. Extrait aqueux fermenté (Tableaux 12 et 13)

Tableau n°12

Lots	n. <u>E.pf.</u>	c.mg/1	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	3000	"	12	18	60
2	30	6000	"	0	30	100

Tableau n°13

Lots	n. <u>L.n.</u>	c.mg/1	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	3000	"	6	24	80
2	30	6000	"	0	30	100

L'extrait fermenté de racines tue 100 pour cent des E.pf (30/30) et des L.n. (30/30) à la concentration de 6000 mg/1 en 24h.

A la concentration de 3000mg/1 la mortalité en 24h tombe à 80 pour cent (24/30) pour L.n. et 60 pour cent (18/30) pour E.pf.

La fermentation libère bien quelques principes actifs, mais en quantité si faible que nous recommandons d'abandonner l'utilisation des racines dans la confection des extraits de plante entière.

2.3.4. Essais de toxicité de la tige.

2.3.4.1. Extrait aqueux non fermenté (Tableaux 14 et 15)

Tableau n°14

Lots	n.B.pf.	C.mg/l	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	2000	"	6	24	80
2	30	2500	"	0	30	100

Tableau n°15

Lots	n.L.n.	c.mg/l	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	108,25	"	18	12	40
2	30	216,5	"	12	18	60
3	30	433	"	6	24	80
4	30	500	"	0	30	100
5	30	1000	"	0	30	100

Au cours des essais réalisés les 15-16/10/83 et 31/10-1/11/83 nous avons observé :

. E.pf. présente une mortalité de 100 pour cent (30/30) en 24h s'il est mis en contact avec une solution à 2500 mg/l d'extrait de tiges frais. A 2000mg/l la mortalité tombe à 80 pour cent (24/30). Nous avons dû arrêter les essais à cette concentration car nous ne possédions plus de produit..

. L.n. est beaucoup plus sensible à l'extrait de tiges frais. 100 pour cent de mortalité (30/30) sont observés à la concentration de 500 mg/l. La DL 50 est située entre 216,5 mg/l (où l'on observe 60 pour cent de mortalité (18/30)) et 108,25 mg/l (où l'on observe 40 pour cent de mortalité (12/30)).

. L'extrait frais de tiges montre plus de toxicité que l'extrait frais de racines, surtout vis-à-vis de L.n. ; cependant, cette toxicité reste faible et inférieure à la toxicité de l'extrait frais de plante entière.

2.3.4.2. Extrait aqueux fermenté (Tableaux 16 et 17)

Tableau n°16

Lots	n.B.pf.	c.mg/l	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	1250	"	29	1	3,3
2	30	2500	"	0	30	100

Tableau n°17

Lots	n. <u>L.n.</u>	c.mg/l	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	1250	"	0	30	100
2	30	2500	"	0	30	100

Au cours des essais réalisés du 1 au 3/11/83 nous avons observé :

. E.pf. présente une mortalité à 100 pour cent en 24h (30/30) s'il est mis en contact avec une solution à 2500mg/l. La mortalité tombe à 3,3 pour cent (1/30) lorsqu'on utilise la concentration de 1250 mg/l. Le manque d'extrait ne nous a pas permis d'expérimenter l'action des concentrations intermédiaires sur E.pf.

. L.n. est plus sensible à l'extrait de tige fermenté que E.pf. car à la concentration de 1250 mg/l on observe 100 pour cent de mortalité en 24h (30/30). Le manque d'extrait ne nous a pas permis d'expérimenter l'action de concentrations plus faibles sur L.n.

2.3.5. Essais de toxicité des feuilles

2.3.5.1. Extrait aqueux non fermenté (Tableaux 18 et 19)

Tableau n°18

Lots	n. <u>E.pf.</u>	c.mg/l	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	48h	30	0	-
1	30	56,9	24h	30	0	-
		56,9	48h	18	12	40
2	30	66	24h	30	0	-
3	30	68,28	"	0	30	100

Tableau n° 19

Lots	n. <u>L.n.</u>	c.mg/1	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	48h	30	0	-
1	30	56,9	24h	28	2	6,6
		56,9	48h	14	16	53,3
2	30	66	24h	18	12	40
3	30	68,28	"	0	30	100

Au cours des essais réalisés du 19 au 20/10/83 et 31/10 au 2/11/83, nous avons observé :

. B.pf. présente une mortalité de 100 pour cent en 24h (30/30) s'il est mis en contact avec une solution à 68,28mg/1. Parcontre il n'y a aucun effet en 24h à la concentration de 66mg/1 (0/30). A la concentration de 56,9mg/1 la mortalité est nulle en 24h et de 40 pour cent (12/30) au bout de 48h.

. L.n. semble plus sensible que B.pf. .

La mortalité à 100 pour cent (30/30) en 24h est également obtenue à la concentration de 68,28mg/1 mais à 66mg/1 on note 40 pour cent de mortalité (12/30).

. A la concentration de 56,9 pour cent, la mortalité est de 6,6 pour cent (2/30) en 24h et de 53,3 pour cent (16/30) en 48h.

. L'extrait aqueux non fermenté de feuilles se révèle plus actif que l'extrait non fermenté de plante totale et que les extraits de racines et tiges.

2.3.5.2. Extrait aqueux fermenté (Tableaux 20 et 21)

Tableau n° 20

Lots	n. <u>B.pf.</u>	c.mg/l	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	34	"	0	30	100
2	30	68	"	0	30	100

Tableau n° 21

Lots	n. <u>L.n.</u>	c.mg/l	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	24h	30	0	-
1	30	34	"	0	30	100
2	30	68	"	0	30	100

Au cours des essais réalisés du 1 au 2/11/83 nous avons observé :

B.pf. et L.n. présentent une mortalité à 100 pour cent (30/30), (30/30) , lorsqu'ils sont exposés à une solution à 34mg/l d'extrait fermenté de feuilles pendant 24h.

Faute d'extrait nous n'avons pu poursuivre les dilutions. Nous notons cependant que la concentration létale à 100 pour cent d'extrait fermenté est la moitié de celle de l'extrait non fermenté.

L'extrait de feuilles fermenté présente une forte toxicité vis-à-vis des 2 espèces de mollusque.

2.3.6. Essais de toxicité des inflorescences

2.3.6.1. Poudre d'inflorescences (Tableaux 22 et 23)

Tableau n° 22

Lots	n.E.pf.	c.mg/1	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	48h	30	0	-
1	30	60	24h	30	0	-
		60	48h	6	24	80
2	30	62,12	24h	0	30	100
3	30	124,24	6h	0	30	100

Tableau n° 23

Lots	n.L.n.	c.mg/1	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	48h	30	0	-
1	30	60	24h	30	0	-
		60	48h	0	30	100
2	30	62,12	24h	0	30	100
3	30	124,24	6h	0	30	100

Au cours des essais réalisés les 15, 18 et 19, 22 et 23/10/83 nous avons observé :

. B.pf. Nous notons qu'à la concentration de 124,24mg/l, il y a 100 pour cent de mortalité (30/30) en seulement 6h.

. A la concentration de 62,1mg/l les 100 pour cent de mortalité (30/30) sont atteints en 24h.

. A la concentration de 60mg/l, la mortalité est nulle en 24h (0/30) et atteint 80 pour cent (24/30) en 48h.

. L.n. Nous notons, comme pour B.pf., qu'à la concentration de 124,24mg/l, il y a 100 pour cent de mortalité (30/30) en 6h.

. A la concentration de 62,1mg/l les 100 pour cent de mortalité (30/30) sont atteints en 24h.

. A la concentration de 60mg/l la mortalité est nulle en 24h (0/30) et atteint 100 pour cent (30/30) en 48h.

. Nous sommes frappés par le très faible écart de dilution qui sépare les doses non mortelles (60mg/l) des doses mortelles à 100 pour cent (62,1mg/l) en 24h et ceci pour les 2 mollusques.

. Nous notons que la poudre d'inflorescences est environ 6 fois plus toxique que la poudre de plante entière pour B.pf. (377mg/l contre 62,1mg/l) et pour L.n. (367mg/l contre 62,1mg/l).

2.3.6.2. Extrait aqueux non fermenté (Tableaux 24 et 25)

Tableau n°24

Lots	n.B.pf.	c.mg/l	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	48h	30	0	-
1	30	60	24h	24	6	20
		60	48h	6	24	80
2	30	62,124	24h	0	30	100
3	30	124,24	6h	0	30	100

Tableau n°25

Lots	n.L.n.	c.mg/l	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	48h	30	0	-
1	30	60	24h	30	0	-
		60	48h	0	30	100
2	30	62,124	24h	0	30	100
3	30	124,24	6h	0	30	100

Au cours des essais réalisés les 13, 18 et 19, 22 et 23/11/83 nous avons observé :

B.pf. Nous notons qu'à la concentration de 124,24mg/l il y a 100 pour cent de mortalité (30/30) en 6h.

A la concentration de 62,12mg/l les 100 pour cent de mortalité (30/30) sont atteints en 24h.

A la concentration de 60mg/l on note 20 pour cent de mortalité (6/30) en 24h et 80 pour cent (24/30) en 48h.

Ces résultats sont presque superposables à ceux obtenus avec la poudre d'inflorescences.

L.n. Nous observons les mêmes résultats que pour B.pf. aux concentrations 124,24mg/l et 62,12mg/l.

A 60mg/l aucune mortalité en 24h (0/30) et 100 pour cent en 48h (30/30).

Comme pour B.pf. les résultats obtenus avec l'extrait aqueux frais sont pratiquement superposables à ceux obtenus avec la poudre d'inflorescences.

Nous notons également le très faible écart de dilution observé entre la dose mortelle à 100 pour cent en 24h (62,12mg/l) et la dose inactive en 24h (60mg/l).

2.3.6.3. Extrait aqueux fermenté (Tableaux 26 et 27)Tableau n°26

Lots	n.B.pf.	c.mg/1	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	48h	29	1	3,3
1	30	3,37	24h	30	0	-
		3,37	48h	30	0	-
2	30	7,75	24h	25	5	16,6
		7,75	48h	0	30	100
3	30	15,5	24h	0	30	100
4	30	31	"	0	30	100
5	30	62	"	0	30	100

Tableau n°27

Lots	n.L.n.	c.mg/1	durée Expo.	vivants	morts	morts %
T	30	0	48h	30	0	-
1	30	3,37	24h	30	0	-
		3,37	48h	29	1	3,3
2	30	7,75	24h	18	12	40
		7,75	48h	0	30	100
3	30	15,5	24h	0	30	100
4	30	31	"	0	30	100
5	30	62	"	0	30	100

Au cours des essais réalisés du 1 au 3/11/83 et du 14 au 16/11/83 nous avons observé :

B.p.f. Nous notons 1 mort dans le lot témoin (1/30) en 48h. Etant donné que dans le lot réaction à 3,37 mg/l nous n'observons aucune mortalité (0/30) en 48h nous estimons qu'il n'y a pas lieu d'effectuer une correction du taux de mortalité.

A la concentration de 15,5mg/l nous observons 100 pour cent de mortalité en 24h (30/30).

A 7,75 mg/l ^{on} note 16,6 pour cent de mortalité (5/30) en 24h et 100 pour cent en 48h (25/25).

L.n. A la concentration de 3,37 mg/l nous notons 3,3 pour cent de mortalité (1/30) en 48h.

A 7,75 mg/l la mortalité est de 40 pour cent en 24h (12/30) et de 100 pour cent en 48h (18/18).

A 15,5 mg/l la mortalité est de 100 pour cent en 24h (30/30).

L'extrait aqueux fermenté d'inflorescences se montre encore plus toxique que l'extrait fermenté de feuilles, car il provoque une mortalité à 100 pour cent des B.p.f. et L.n. en 24h à la concentration de 15,5 mg/l.

Une analyse toxicologique de cet extrait mériterait d'être entreprise.

Sur le plan pratique, la production d'extrait d'inflorescences représente un travail fastidieux. Par contre, on pourrait concevoir un extrait mixte de feuilles et inflorescences plus facile à produire et dont la toxicité demeurerait satisfaisante.

2.4. Essais de toxicité d'Ambrosia sur la faune non-cible

Nous avons tenté d'apprécier la toxicité de l'extrait aqueux fermenté d'inflorescences ainsi que celle de la poudre de plante entière sur des Tilapia sp. Nous avons utilisé des concentrations 4 fois supérieures aux doses létales pour les mollusques.

Ces essais n'ont pas été concluants car nous avons observé une très forte mortalité dans le groupe témoin.

Dans la suite de l'expérimentation, il s'avère indispensable d'avoir un élevage de Tilapia ainsi qu'un élevage de mollusques.

2.5. Discussion

Dans leur très complète revue, Kloos (H.) et Mc Cullough (F.) 1981, nous donnent, en page 33, les qualités idéales d'une plante molluscicide.

Nous allons suivre point par point ces caractéristiques et les comparer à celles que nous avons observées chez notre souche locale d'Ambrosia maritima.

2.5.1. Toxicité

La toxicité de la souche locale d'Ambrosia vis - à - vis des mollusques-hôtes de la Schistosomiase et de la Fasciolase varie considérablement selon les différentes parties de la plante.

- Si l'on considère la poudre de plante entière (racines, tiges, feuilles, et inflorescences) on note qu'il faut une concentration de :

- 377 mg/3 pendant 24h pour tuer 100 pour cent de B.pf.
- 367 mg/1 pendant 24h pour tuer 100 pour cent de L.n.

Si l'on compare nos résultats avec ceux de :

- Doumbia (F.) 1982 nous constatons que la poudre de la plante entière que nous avons confectionnée est moins toxique que celle obtenue par Doumbia qui notait une mortalité à 100 pour cent en 24h chez B.pf. avec une concentration de 250 mg/l ;
Ceci s'explique aisément car la poudre réalisée par Doumbia comprenait les inflorescences, les feuilles et la tige mais non les racines . Or nous avons constaté que les racines ne contenaient pratiquement pas de toxique.
- Vassiliades (G.) et Diaw (O.T.) 1980 notent une toxicité très voisine de la nôtre avec une souche sénégalaise d'Ambrosia (DL 100 = 375 mg/l contre L.n. et Bulinus guernei) il n'est pas précisé si la poudre comprend les racines.
- El-Sawy (M.F.) et col. 1981 en Egypte obtiennent de bons résultats sur le terrain en immergeant entièrement A. maritima dans les canaux. La concentration active serait de 70 mg/l, le temps de contact n'est pas précisé.
- A notre avis, la poudre de plante entière d'A.maritima n'est pas suffisamment toxique pour être retenue comme molluscicide. On peut améliorer sa toxicité en supprimant tiges et racines.

Extrait aqueux non fermenté de la plante entière

L'extrait aqueux frais ne présente pas une beaucoup plus grande toxicité que la poudre car il tue à 100 pour cent B.pf. et L.n. en 24h à la concentration de 300 mg/l.

Extrait aqueux fermenté de la plante entière

L'extrait aqueux fermenté est environ huit fois plus toxique que l'extrait frais car la DL 100 en 24h est de 35 mg/l pour B.pf. et L.n.

L.n. semble présenter une plus grande sensibilité que B.pf. car, à la dose de 30 mg/l on obtient, en 24h 90 pour cent de mortalité contre 40 pour cent pour B.pf.

La comparaison de toxicité entre extraits aqueux frais et fermenté est très importante à noter. Cela confirme les travaux effectués sur Phytolacca dodecandra par Lema (T.) et Lema (A.) 1979. Ces deux auteurs avaient réussi à extraire des principes actifs par simple fermentation en milieu aqueux.

Le processus de fermentation ne demande aucune installation spéciale et peut être aisément réalisé de manière artisanale au niveau du village. Il reste à préciser la température optimale et la durée de la fermentation.

La non-toxicité de la souche malienne d'Ambrosia n'a pu être démontrée vis-à-vis des poissons faute d'installations adéquates.

2.5.2. Approvisionnement

Un des principaux intérêts de ce travail a été la découverte d'une souche autochtone d'Ambrosia maritima possédant une bonne toxicité contre les mollusques. On sait, en effet, que les espèces végétales transplantées sur des sols de nature différentes, peuvent perdre leurs propriétés toxiques.

A côté des 2 peuplements naturels à Ambrosia situés dans Bamako, sur les rives du Niger, au niveau de l'Ecole Normale Supérieure et à Sotuba, nous avons découvert un nouveau peuplement naturel dans l'agglomération de Ségou. Nous n'avons pas encore eu l'occasion de prospecter systématiquement les cours d'eau et zones inondables pour déterminer une répartition géographique d'A. maritima au Mali.

2.5.3. Production

A l'état sauvage, Ambrosia semble être une plante très vivace. Etant localisée sur les bords du Niger, elle peut cependant être piétinée par les troupeaux ou détruite par les maraîchers qui aménagent leurs jardins potagers sur le même biotope.

Au cours du mois d'août 83 nous avons récolté 796 g de graines à partir d'Ambrosia cueillis au niveau de l'E.H.S. Nous comptons effectuer des semis puis des cultures durant l'année 1984.

2.5.4. Type de plante

- Ambrosia est une plante annuelle (bien que nous ayons observé quelques plants qui ont résisté à l'hivernage 1983).
- Elle se reproduit par l'intermédiaire de graines.
- Le fait qu'à l'état sauvage, elle soit immergée en période de montée des eaux (Août) peut présenter un énorme avantage. Août représente le début de la période de développement des mollusques. Si l'on arrivait à détruire cette première génération d'escargots on retarderait la période de transmission des trématodes. Dans les gîtes aquatiques temporaires où l'eau ne persiste que quelques semaines, on pourrait peut être complètement interrompre le cycle de transmission.
- Actuellement, les canaux de l'Office du Niger sont emblavés de Typha afin que les racines de ces plantes aquatiques consolident les berges et évitent les éboulements.

Ces Typha ont tendance à proliférer et finissent par constituer une gêne au bon écoulement des eaux de plus, ils doivent représenter de bons supports végétaux favorables au développement des mollusques.

En remplaçant les Typha par Ambrosia on pourrait, peut être, obtenir les mêmes effets de consolidation des berges par les racines tout en constituant des biotopes très défavorables au développement des mollusques. Nous pensons qu'après avoir emblavé une première fois les berges, il n'y aurait plus besoin d'intervenir, le réensemencement s'effectuant naturellement d'une année à l'autre.

- Nous ne pensons pas qu'Ambrosia soit particulièrement sensible aux insectes nuisibles, aux parasites et aux pestes. Les graines récoltés étaient dépourvues de Rhizopus nigricans et d'Aspergillus sp.

2.5.5. Parties actives de la plante

L'objet principal de notre travail a été de déterminer la localisation des principes actifs au niveau de la plante. Nous avons pu montrer que :

- Les racines sont pratiquement dépourvues de toxique
- Les tiges possèdent de faibles quantités de toxique
- Les feuilles, par contre, présentent une forte toxicité, surtout s'il s'agit d'extraits aqueux fermentés. Nous avons obtenu 100 pour cent de mortalité en 24h pour B.pf. et L.n. en utilisant un extrait aqueux de feuilles fermenté à la concentration de 34 mg/l.
- Les inflorescences contiennent le maximum de substances toxiques.
 - Sous forme de poudre on obtient 100 pour cent de mortalité en 24h pour B.pf. et L.n. à la dose de 62,1 mg/l.

Nous avons été frappés par le très faible écart de dilution qui sépare les doses non toxiques (60mg/l) des doses mortelles à 100 pour cent (62,1mg/l) en 24h.

S'agit-il du phénomène du tout ou rien évoqué par le comité d'experts ? (TDR/SCH-SWG (4) Genève 1983. cf. 1.4.5).

fermentés

- Les extraits aqueux/d'inflorescences sont, de loin, les plus toxiques.

A la concentration de 15,5 mg/l, ils provoquent la mort à 100 pour cent de B.pf. et L.n. en 24h.

A la concentration de 7,75 mg/l on note, en 24h, 16 pour cent de mortalité chez B.pf. et 40 pour cent de mortalité chez L.n.. A la même concentration en 48h. B.pf. et L.n. sont tués à 100 pour cent.

La toxicité de l'extrait fermenté d'inflorescences est comparable à celle de l'extrait expérimenté par DOUMBIA (F.) 1982 ; DL 100 en 24h. pour B.pf. et Bulinus truncatus 12,5 mg/l.

Nous avons dès maintenant précisé que la concentration maximale de principe actif est observée chez A. maritima:

- au niveau des feuilles et surtout des inflorescences.
- la cueillette doit s'effectuer en début de saison des pluies (juillet).

2.5.6. Stockage

L'extrait aqueux brut (broyat de plante fraîche plus eau distillée) se conserve plusieurs mois dans des bocaux étanches à +4°C.

2.5.7. Extraction

Le broyage de la plante fraîche en milieu aqueux suivi d'une fermentation est très réalisable de manière artisanale, cela ne nécessite aucune installation particulière ni aucun solvant ~~volatils~~. Il reste à déterminer la durée et la température optimales de fermentation pour obtenir la plus forte concentration de principe actif.

2.5.8. Stabilité physico-chimique

A notre avis, la stabilité physico-chimique envisagée sous l'angle d'une longue conservation ne présente pas beaucoup d'intérêt car dans un programme de lutte intégrée au niveau d'une communauté villageoise; nous estimons que l'extrait aqueux fermenté devrait être utilisé peu de temps après sa fabrication.

Ce qui est beaucoup plus important est la stabilité de l'extrait dans le milieu naturel. Conservera-t-il sa toxicité vis-à-vis des mollusques lorsqu'il sera exposé au soleil, lorsque les eaux seront boueuses ?...

A l'opposé, il faudra étudier la dégradation de l'extrait toxique en composés dénués de toxicité. Il est évident qu'un molluscicide non biodégradable, ayant des effets toxiques à long terme (pénétration dans la chaîne alimentaire, effets mutagènes et/ou cancérogènes) sera à rejeter.

2.5.9. Connaissance des plantes de la zone étudiée

Le Mali est particulièrement bien placé en ce qui concerne la connaissance des plantes. Au Laboratoire Central Vétérinaire, le service dirigé par A. Sow étudie particulièrement les peuplements végétaux et l'adaptation d'espèces sauvages à la culture.

De plus il existe un Institut National de Recherches sur la Pharmacopée et la Médecine Traditionnelles (INRPMT) dirigé par le Professeur M. Koumaré.

2.5.10. Impact psycho-social

Nbagèlèni, nom Bambara d'Ambrosia maritima, est utilisé traditionnellement dans la région de Bamako, contre les douleurs abdominales sous forme d'infusion. A notre connaissance, cette plante ne souffre d'aucun interdit.

2.5.11. Usage annexe

En dehors de son utilisation en médecine traditionnelle Nbagèlèni est consommée, pendant la saison sèche, par les ovins et bovins.

2.6. Proposition de recherche sur *Ambrosia maritima*

A la lumière des résultats obtenus par notre aîné, le Docteur F. Doumbia (en 1982) et par nous même (en 1983), nous proposons les thèmes de recherche suivants qui, peut être, permettront l'utilisation de Nbagèlèni comme plante molluscicide au Mali.

2.6.1. Répartition géographique

Actuellement 3 peuplements d'*Ambrosia* ont été identifiés: 2 à Bamako et 1 à Ségou. Il serait souhaitable de prospecter les rives des principaux cours d'eau, des lacs et surtout le delta intérieur.

2.6.2. Essais de culture artisanale

A partir des graines récoltées en Août 1983, il faudra effectuer des semis et repiquer les jeunes plants dans un champ expérimental. Ce n'est qu'à la suite des observations recueillies que l'on pourra proposer une culture artisanale au niveau d'un village.

2.6.3. Détermination du pouvoir molluscicide et de la toxicité sur la faune non-cible

2.6.3.1. Amélioration des conditions d'expérimentation

Il s'avère indispensable de disposer d'une pièce climatisée, claire et bien aérée avec un nombre d'aquarium suffisant pour entretenir un élevage de mollusques, avec au minimum, une souche locale des 3 espèces : *Lymnaea natalensis*, *Eulinus truncatus* et *Biomphalaria pfeifferi*.

Parallèlement un élevage de poissons (*Tilapia*) sera entrepris.

2.6.3.2. Amélioration de l'obtention du produit actif

Nous avons trouvé que c'était au niveau des feuilles et des inflorescences que la concentration en principe actif était la plus forte.

Nous proposons de préparer des extraits aqueux à partir des feuilles et des inflorescences récoltées au mois de juillet.

Il reste à définir la durée et la température optimales de fermentation qui permettra d'obtenir la plus forte concentration de toxique.

2.6.3.3. Identification chimique des principes actifs

Une analyse toxicologique de l'extrait aqueux fermenté s'avère maintenant nécessaire pour déterminer les composés ayant une action molluscicide.

2.6.3.4. Essais en vraie grandeur

* Au niveau d'un village

Choix d'un village

La première intervention est la réalisation d'une enquête épidémiologique qui permettra de situer le niveau d'endémie bilharzienne du village à choisir avec :

- établissement des indices parasitaires de la population selon les méthodes standardisées utilisées couramment à l'E.N.M.P.,
- identification des mollusques-hôtes et détermination des indices cercariens aux diverses époques de l'année.

Les critères de sélection du village seront les suivants :

- prévalence élevée d'une, ou mieux, des deux schistosomiases surtout chez les enfants de moins de 15 ans (Foyer de transmission actif).
- transmission saisonnière
- gîte des mollusques bien limité
- village où l'on pratique des cultures maraîchères
- 200 à 300 habitants, au plus
- accessibilité en toute période de l'année
- ne pas être situé en zone urbaine ou péri-urbaine.

L'Arrondissement de Nossombougou (Cercle de Kolokani) pour lequel nous effectuons un dépistage de la Schistosomiase dans les 49 villages (Thèse de M. KEITA 1983) nous indiquera, peut-être, une agglomération présentant tous les critères énumérés ci-dessus.

* Culture artisanale d'Ambrosia

On effectuera, dans le village sélectionné, une information très complète de la population, en langue vernaculaire. Ce n'est qu'après une acceptation totale de participation que sera réalisé, par les villageois eux-mêmes, le champ expérimental d'Ambrosia.

Dans un premier temps, nous pensons que les semis seront réalisés en laboratoire et que les villageois n'auront qu'à repiquer les jeunes plants que nous leur fournirons.

Après la récolte, le gîte à mollusques sera traité, à la période la plus efficace, soit avec des Ambrosia entière, soit avec des extraits aqueux.

* Traitement des Bilharziens

Après destruction des mollusques, tous les sujets parasités seront traités par une dose unique de Praziquantel (Biltricide Bayer) à raison de 40 mg/kg par voie orale.

* Suivi de l'expérience en vraie grandeur et généralisation

Un suivi épidémiologique très strict sera réalisé pendant plusieurs années :

. Un contrôle parasitologique des urines et des selles sera effectué tous les 6 mois. Tout sujet parasité sera immédiatement traité.

. Le contrôle malacologique sera poursuivi mensuellement. Dans le mois qui suivra l'apparition de nouveaux mollusques, un nouveau traitement à l'aide d'Ambrosia sera effectué.

Dans la pratique, nous estimons qu'un traitement annuel 1 mois après le remplissage du marigot devrait, en principe, suffire. Dans les marigots plus longs à s'assécher des traitements espacés de 3 à 4 mois seront peut-être nécessaires.

En cas de succès de l'expérimentation, les villageois les plus dynamiques ayant participé à cette réalisation seront invités à se joindre à l'équipe de sensibilisation pour informer les villages voisins. Le laboratoire devra faciliter l'extension d'Ambrosia en fournissant pendant quelques années, soit les graines, soit les plants.

Bien entendu, au stade de la vulgarisation, ce projet, ne pourra avoir de chance de succès que s'il s'intègre parfaitement au sein d'un programme de lutte contre les endémies prédominantes dans le cadre des Soins de Santé Primaires.

* Autres perspectives

Un champ d'expérimentation idéal s'ouvre avec l'extension des périmètres irrigués.

Les canaux d'irrigation et les lacs de retenue des barrages à visée agricole constituent en effet des gîtes artificiels favorisant la prolifération des mollusques-hôtes des trématodes.

Au Mali, l'exemple des barrages du Pays Dogon et les zones irriguées de l'Office du Nigâr illustrent parfaitement cette situation.

Dans la zone de Sélingué où l'endémie bilharzienne reste très faible parmi les populations autochtones riveraines du lac (Thèse Pléa B.1982) nous appréhendons une flambée de bilharziose dans le périmètre irrigué, situé en aval du barrage, mis en eau en juillet 1983.

Jusqu'à présent, le Dr. Ogobara Doumbo a contrôlé de manière très stricte les 200 ouvriers qui travaillent sur le chantier; grâce au Praziquantel fourni par le Programme National de Lutte contre la Schistosomiase/ GTZ, tous les sujets bilharziens ont été traités.

Nous souhaiterions pouvoir disposer de quelques dizaines de mètres de canaux, lorsque ceux-ci seront en eaux, pour tenter la culture d'Ambrosia sur leurs rives, comme le préconise El-Sawy et al.

III - C O N C L U S I O N S

Le développement des aménagements hydrauliques et l'extension des périmètres irrigués sont indispensables à la survie des pays situés en zone Sahélo-Soudanienne, au Sud du Sahara.

Malheureusement, en transformant l'environnement, on favorise le développement intense des mollusques-hôtes de la Schistosomiase et de la fasciolase. Ces deux trématodoses qui sévissaient à un niveau tolérable prennent alors une ampleur catastrophique.

Pour lutter contre ces helminthiases on possède actuellement des moyens efficaces. Au cours de ces 10 dernières années on a mis au point :

- Des techniques de diagnostic parasitologique simples, peu coûteuses et fiables, permettant de mieux cerner l'épidémiologie.
- Des médicaments actifs, utilisables en dose unique par voie orale donc parfaitement adaptés à la chimiothérapie de masse.
- Des mesures prophylactiques appropriées basées sur la promotion de l'hygiène fécale et urinaire, l'aménagement de l'environnement, l'éducation pour la santé.

Dans le domaine de la lutte contre les mollusques, très peu de progrès ont été réalisés. A l'heure actuelle il ne reste qu'un seul composé molluscicide couramment employé : le niclosamide (Baylusoide Bayer). Malgré sa forte toxicité pour les poissons, et son prix d'achat élevé, ce produit est largement utilisé avec succès dans le monde entier.

A ces mesures classiques, nous estimons que les pays en voie de Développement doivent mettre au point une technologie intermédiaire, plus économique et essentiellement basée sur les ressources locales.

C'est dans ce cadre que nous poursuivons, en collaboration avec le Laboratoire Central Vétérinaire, l'expérimentation d'Ambrosia maritima comme plante mollusciocide. A la suite des travaux de F. DOUMBIA, nous avons précisé :

- Que le maximum de principe actif était contenu au niveau des feuilles et des inflorescences
- Qu'une fermentation de l'extrait aqueux permettait la libération d'une plus grande quantité de principe actif donc augmentait le pouvoir mollusciocide. Nous avons déterminé ainsi que l'extrait aqueux fermenté d'inflorescences provoquait 100 pour cent de mortalité en 24h. chez Biomphalaria pfeifferi et Lymnaea natalensis à la concentration de 15,5mg/l.

Au cours de la discussion, nous avons passé en revue toutes les caractéristiques que Kloos (H) et Mc Cullough (F.) 1981 exigent d'une plante mollusciocide : le bilan est nettement positif.

La principale contrainte qu'a rencontré, en Egypte, la culture massive d'Ambrosia, est l'exiguité des terres cultivables due à une très forte pression démographique. Tel n'est pas le cas du Mali où de vastes étendues de terres inondables restent encore disponibles.

Nous souhaitons que l'expérimentation d'Ambrosia comme plante mollusciocide se poursuive et qu'après :

- avoir codifié son mode de culture artisanale ;
- avoir réalisé des essais de traitement mollusciocide en vraie grandeur, sur le terrain, avec la participation des populations; nous puissions espérer que dans l'avenir, Ambrosia soit utilisée comme l'un des composants d'une lutte intégrée contre les trématodoses, dans le cadre d'activités de Santé et Développement au niveau des villages.

B I B L I O G R A P H I E

- Andrews, P., et al, 1983. The biology and toxicology of molluscicides, Bayluscide^(R). Pharmacological Therapeutics, 19, 245-295.
- Ansari, N., Ed. (1973) Epidemiology and control of Schistosomiasis (Bilharziasis). S.Karger, Basel, Paris, London, New-York, pp.751.
- Berhaut (J.) 1974 Flore illustrée du Sénégal, 2, 434-436.
- DOUMBIA (F.) 1982 Approche expérimentale de l'utilisation d'Ambrosia maritima Linn. comme plante molluscicide dans la lutte contre la Schistosomiasis au Mali. Thèse Méd., Bamako, n°30.
- Duncan, J. et Sturrock, R.F.(1983). Methodology and design of laboratory evaluation of potential plant molluscicides. (In press.).
- Duncan, (J.) 1980. The toxicology of molluscicides. The organotins. Pharmacological Therapeutics, Pergamon Press, Ed. G. Webbe, 10, 40.
- El-Sawy, (M.F.); Bassiouny, (K.) and El-Magdoub, (A.I.) 1981-Biological control of Schistosomiasis Ambrosia maritima (damsissa) for snail control. Journal of the Egyptian Society of Parasitology 11; 99-117.
- Frain, (J.)(1982). Chemical control of molluscs using metaldehyde. Int. Pest Control, 24, 150-151.
- Kajihara, (N.) et al 1979. Field assessment of B-2 as a new molluscicide for the control of Oncomelania nosophora Jap. J. Med. Sci. Biol., 32, 225-228.
- Kerharo, (J.) et Adam, (J.G.) 1974. la Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle - Plantes médicinales et toxiques - Paris Vigot Frères pp. 1011. + fig.

Kloos, (H.) and Mc Cullough, (F.S.)-1981- Plant molluscicides : A review; doc. non publié W.H.O./V.B.C. 81. 834 - W.H.O./SCHISTO/81-59,1-33.

Lemma, (A.) et al 1979. Studies on molluscicidal and other properties of the endod plant, Phytolacca dodecandra. Compiled and edited by the authors, Department of Epidemiology and International Health, University of California, San Francisco, California 94143, U.S.A. pp. 522.

Mc Cullough (F.S.) et Mott (K.E.) 1983. Rôle des molluscicides dans la lutte contre la Schistosomiase. WHO/VBC/83.879. WHO/SCH/83.72 Genève 13-14 juin 1983.

Mc Cullough, F.S. (1980). Organisation de la lutte contre la Schistosomiase dans la région africaine de l'OMS. Rapport non publié, WHO/SCHISTO/80.48pp.13.

O.M.S. (1965 b). Molluscicide screening and evaluation. Bull. Org. Mond. Santé, 33, 567-581.

O.M.S. (1971). Meeting of directors of collaborating laboratories on molluscicide testing and evaluation. Rapport non publié, WHO/SCHISTO/ 71.6, pp. 33.

O.M.S. 1983. Report of the Scientific Working group on plant molluscicide TDR/SCH- SWG (4)83.3 Geneva, 31 january-2 february 1983.

- Richie, (L.S.) 1973. Chemical control of snails. In :
Epidemiology and control of Schistosomiasis. Ed.N.
Ansari, S.Krager, Basel, pp. 485-532.
- Shiff, C.J. et Evans, A.C. (1977). The role of slow release molluscicides in snail control. Cent. Afr. J. Med. 23, 6-11.
- Shiff, C.J. (1974). Focal control of Schistosome bearing snails using slow release molluscicides. In :
Molluscicides in Schistosomiasis Control. Ed.
Cheng, C.T., Academic Press, London.
- Sturrock, R.F. et Duncan, J. (1983). Methodology and design of field evaluation of plant molluscicides.
(In press.).
- Vassiliades, (G.) et Diaw, (O.T.) 1980- Action molluscicide d'une souche Sénégalaise d'Ambrosia maritima. Essai en laboratoire. Rev.Elev. vét. Pays. Trop., 33, (4), 401-406.

-- S E R M E N T --
=====

En présence des maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes frères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la Médecine ou recourir à mes soins, je les instruirai et les soignerai sans salire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'en-freindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je parjure, puissé-je avoir un sort contraire.
