



## COMITÉ SCIENTIFIQUE DE L'AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE

### AVIS 05-2007

**Objet: Evaluation de propositions de mesures de lutte contre la fièvre catarrhale ovine (FCO, Bluetongue) au moyen des insecticides (dossier Sci Com 2007/05)**

Le Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire,

Vu la loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la chaîne alimentaire, en particulier l'article 8 ;

Vu l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Considérant le règlement d'ordre intérieur visé en article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 27 mars 2006 ;

Vu la demande au Comité scientifique d'évaluer des propositions de mesures de lutte contre la fièvre catarrhale ovine (FCO, Bluetongue), notamment concernant l'utilisation des insecticides ;

Considérant les discussions menées lors des réunions de groupe de travail des 29 janvier et 6 février 2007, et des séances plénières des 9 février et 9 mars 2007;

**donne l'avis suivant :**

#### **1. Termes de référence**

Au vu de la menace que constitue la fièvre catarrhale ovine (FCO) pour la santé animale et des répercussions sur les échanges communautaires engendrées par la découverte de cas positifs en Belgique, il convient de prendre les mesures les plus adaptées à l'épidémiologie particulière de la souche du virus de la FCO qui sévit en Belgique depuis le mois d'août 2006.

Depuis l'apparition du virus en Belgique en 2006, des mesures de lutte contre cette maladie sont en vigueur dans les zones concernées. Ces mesures sont prises en application de l'arrêté ministériel du 20 novembre 2001, basé sur la Directive 2000/75/CE et des Décisions européennes publiées à intervalles réguliers (Décision 2005/393/CE, Décision 2006/577/CE, Décision 2006/591/CE, Décision 2006/633/CE, Décision 2006/650/CE, Décision 2006/693/CE, Décision 2006/761/CE, Décision 2006/858/CE).

La DG Politique de Contrôle a soumis au Comité scientifique une demande d'évaluation de propositions de mesures de lutte pour la FCO pour l'année 2007, concernant notamment l'utilisation des insecticides :

1. La poursuite de l'utilisation de traitements insecticides dans le cadre de la lutte contre le vecteur de la FCO est elle justifiée?

Dans l'affirmative, est-il possible de définir des recommandations quant:

2. au type d'insecticide à utiliser ;

3. à la fréquence d'application du produit ;

4. à la période durant laquelle ce traitement devrait être appliqué ;

5. à l'envergure du traitement (animaux / bâtiments / environs de l'exploitation / moyens de transport) .

D'autres questions ont été adressées au Comité scientifique, concernant (1) la possibilité de persistance du virus pendant l'hiver 2006-2007, (2) la problématique des cervidés, ainsi que (3) l'évaluation d'autres mesures de lutte, dont la vaccination. Le développement de la réponse à ces questions fera l'objet d'un deuxième avis.

En fonction des conclusions formulées par le Comité scientifique et des recommandations contenues dans l'avis de l'EFSA (à paraître à la fin du mois de mars 2007), les mesures applicables en cas de réapparition de la fièvre catarrhale du mouton pourraient être réajustées.

## **2. Introduction**

### ***2.1. Epidémiologie de la fièvre catarrhale ovine***

La FCO est une infection virale (virus de la Bluetongue, genre des *Orbivirus*, famille des *Reoviridae*) qui se transmet par des culicoïdes, qui sont des moucherons piqueurs. Elle se manifeste surtout chez les moutons, mais peut également affecter les bovins, les chèvres et les ruminants sauvages. Un ruminant infecté par le virus de la FCO constitue un risque épidémiologique très important pour la dissémination de l'infection car il peut transmettre le virus au vecteur Culicoïdes compétent durant un repas de sang. L'infection ne touche que les ruminants. Elle n'affecte pas l'homme et n'a aucune incidence sur la sécurité des denrées alimentaires.

Plusieurs centaines de cas de FCO ont été mis en évidence en Europe du Nord à partir du 17 août 2006, liés à l'émergence du sérotype viral 8, jusqu'alors inconnu en Europe. Les trois Etats membres les plus touchés sont la Belgique, l'Allemagne et les Pays-Bas. Le nord de la France et le Grand-Duché de Luxembourg sont aussi touchés.

Recensés à partir du 18 août 2006 en Belgique, le nombre de cas de FCO a considérablement augmenté à la fin du mois de septembre 2006, pour connaître une diminution à partir de la mi-novembre 2006. L'identification des cas belges de FCO les plus récents date des 3, 9 et 15 janvier 2007 ; il s'agit vraisemblablement de cas ayant débuté en décembre 2006 (diagnostics sérologiques tardifs).

En date du 12 janvier 2007, 695 foyers étaient confirmés en Belgique, dont 399 concernaient des ovins, et 296 des bovins.

En 2006, une des mesures préconisées en Belgique suite à la confirmation de nouveaux foyers était un traitement aux insecticides des animaux et des étables appartenant à la zone à risque (20 km) entourant ces foyers.

## **2.2. Considérations générales**

### Domaines d'application des traitements insecticides contre les culicoïdes

Il existe deux types de produits :

- les insecticides (y compris les « Insect growth regulators »), parmi lesquels sont distingués les larvicides et les adulticides ;
- les répulsifs.

L'efficacité de ces produits doit être évaluée sur cinq sites de traitement différents :

- l'animal. Selon l'objectif poursuivi, cette évaluation porte
  - soit sur plusieurs espèces réceptives du virus : ruminants domestiques (bovins, ovins et caprins) et ruminants sauvages, afin d'interrompre le cycle de transmission du virus ;
  - soit sur plusieurs espèces hôtes du vecteur Culicoïdes : ruminants domestiques (bovins, ovins et caprins), ruminants sauvages, équidés, suidés, etc., afin de limiter la population de vecteurs ;
- les gîtes larvaires ;
- les bâtiments ;
- les environs de l'exploitation. L'exploitation est définie comme l'ensemble des bâtiments, des terrains annexes, des pâtures, des pâtures situées à distance et des abords des bâtiments, c'est à dire les structures qui ont un lien épidémiologique avec l'exploitation ;
- les moyens de transport.

### Manque de connaissances rendant l'évaluation de l'efficacité des produits difficile

- L'efficacité des produits doit être évaluée sur les espèces de culicoïdes vecteurs de la FCO en Belgique. Or, cette (ces) espèce(s) n'est (ne sont) pas identifiée(s). En effet, 18 espèces sont recensées, dont quatre sont des espèces potentiellement vectrices de la maladie : les culicoïdes du groupe *obsoletus*, *C. dewulfi*, *C. pulicaris* et *C. scoticus*, sans exclure encore la capacité vectorielle d'autres espèces. L'espèce en cause est présente en Belgique et dans plusieurs pays européens, ce qui laisse penser qu'elle est adaptée aux conditions météorologiques de notre pays ;

- La biologie des espèces vectrices en Belgique est moins connue que celle du vecteur classique, *C. imicola*. On peut cependant dire que *C. dewulfi* est moins dépendant des zones humides et est moins crépusculaire que *C. imicola*. En ce qui concerne la propension des espèces de vecteur à entrer à l'intérieur des étables, *C. obsoletus* et *C. scoticus* ont pu être piégés à l'intérieur des étables en Belgique (entre le 24 novembre 2006 et le 1 février 2007) alors que l'on n'y a pas trouvé *C. dewulfi*. Un autre exemple d'incertitude relative à la biologie des vecteurs concerne le choix du type d'insecticides à éventuellement utiliser : s'il y a des preuves qu'un adulticide est actif aux doses préconisées envers une espèce de Culicoïdes, il est supposé qu'il sera également actif sur les autres espèces de Culicoïdes ; par contre, l'efficacité des larvicides varie selon l'espèce, en fonction de sa biologie (profondeur des larves au niveau des gîtes larvaires, etc.) ;

- Concernant l'épidémiologie de la FCO en Belgique, on ne connaît pas la durée exacte de la virémie du sérotype 8 chez les différentes espèces animales sensibles, et on ne sait pas si la maladie va persister pendant l'hiver et réapparaître en 2007, et si oui, dans quelles proportions ;

- Concernant la météorologie, on ne sait pas si des périodes de gel suffisantes pour tuer le vecteur seront atteintes durant l'hiver 2006-2007.

## **2.3. Traitement des animaux**

### 2.3.1. Traitement des animaux avec les insecticides

Le traitement des animaux avec les insecticides présente des inconvénients mais peut être justifié par plusieurs éléments.

#### 2.3.1.1. Inconvénients

- le traitement systématique d'une zone endémique au moyen d'insecticides seuls n'est pas recommandé car il ne procure qu'une efficacité limitée et ne donne que des résultats transitoires (Kettle, 1962 ; Baldet *et al.*, 2003; Lefèvre, 2003). Il ne peut de ce fait pas mener à l'éradication de la maladie. La Belgique serait considérée comme zone endémique si le virus persistait pendant l'hiver et si l'année 2007 connaissait une incidence relativement constante de nouveaux foyers de FCO au cours du temps.
- les traitements aux insecticides provoquent des résistances, dont l'un des mécanismes est, en ce qui concerne par exemple les pyréthrinoïdes, une augmentation de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) du vecteur (Abdallah *et al.*, 2000). Cette enzyme conjugue et métabolise les pyréthrinoïdes, diminuant leur durée d'action. Ce mécanisme de résistance est déjà connu chez les moustiques. Il est même possible que de tels mécanismes de résistance existent déjà chez les culicoïdes car les insecticides sont utilisés depuis longtemps chez les bovins. Des alternatives possibles au problème de résistance sont soit l'utilisation successive de plusieurs produits différents, soit l'utilisation simultanée de deux produits différents pouvant procurer une action synergique.
- l'efficacité d'un traitement insecticide dépend en premier lieu de son activité contre l'espèce de Culicoïdes concernée, mais aussi d'un protocole d'application correct du produit sur l'animal. Par exemple :
  - o le choix du lieu d'application du produit sur l'animal par rapport au site de piqûre de l'espèce de Culicoïdes en cause est important : si ces sites sont différents, il y a un risque de non obtention d'une concentration en produit suffisante au niveau du site de piqûre de l'insecte pour pouvoir avoir un effet optimal du traitement (mort de l'insecte);
  - o l'efficacité du traitement dépend de l'espèce animale : la diffusion est plus grande s'il s'agit de bovins ou de caprins, que s'il s'agit, par exemple, d'ovins (présence de laine, type de laine, présence de lanoline (suin), etc.) ;
  - o elle dépend aussi de la bonne collaboration des éleveurs.

L'efficacité du traitement sur animaux par plusieurs produits insecticides a été évaluée sur plusieurs espèces de Culicoïdes. Par exemple, l'efficacité de la perméthrine (pyréthrinoïde) est de 80% envers *C. sonorensis* (Mullens *et al.*, 2000), et de 98% envers *C. variipennis* (Mullens *et al.*, 1993), tandis que l'efficacité de l'insecticide systémique ivermectine (avermectine) est de 99% envers *C. brevitarsis* (Standfast *et al.*, 1985).

- il y a la problématique des limites maximales de résidus (LMR) et des délais d'attente : aucun animal ne peut être abattu endéans la période d'attente. Il est également nécessaire d'envisager la problématique des LMR au niveau du lait.
- l'impact sur l'environnement de l'utilisation massive d'insecticides sur les animaux devrait être évalué.

- comme mentionné plus haut, il existe des difficultés liées à l'absence de connaissance de l'espèce de Culicoïdes en cause, et aux différences dans la biologie de ces différentes espèces. Par exemple, il y aura difficulté de choisir l'endroit de l'animal où appliquer le produit, qui doit correspondre, comme mentionné plus haut, à l'endroit de la piqûre par le vecteur au niveau de cet animal, qui peut différer selon l'espèce en cause.
- il a eu en 2006 des exploitations où un traitement aux insecticides a été instauré et au niveau desquelles une deuxième vague de FCO n'a pas pu être évitée.
- des mesures alternatives (moustiquaires, confinement, etc.) devront être envisagées pour les élevages biologiques, qui n'ont droit qu'à deux interventions de type thérapeutique au sens large par an.

#### 2.3.1.2. Justifications d'un éventuel traitement des animaux aux insecticides

Le traitement aux insecticides des animaux pourrait être utilisé dans deux buts :

- pour tenter d'éviter une éventuelle résurgence de la maladie au printemps 2007 (traitement préventif) ;
- si cette dernière ne peut être évitée au printemps, pour éviter la dispersion à partir d'éventuels foyers (traitement des animaux des zones situées autour des foyers) :

##### 2.3.1.2.1. Traitement préventif

Le manque de connaissance sur l'infection par le sérotype 8 en Europe du Nord fait qu'il n'est pas possible d'évaluer de manière quantitative le risque de réapparition de la maladie au printemps 2007.

Les transmissions trans-ovarienne et transstadiale du virus au sein du vecteur Culicoïdes peuvent représenter des facteurs importants de persistance de l'infection durant l'hiver. La littérature scientifique indique l'absence de transmissions trans-ovarienne et transstadiale chez les culicoïdes (Mellor, 2001 ; Mullen, 2002). Cette absence a notamment été démontrée expérimentalement pour *C. variipennis* (Nunamaker *et al.*, 1990). Comme ce phénomène peut être considéré comme une propriété biologique fondamentale partagée par l'ensemble des espèces d'un groupe, il est très peu probable qu'une transmission verticale existe chez les espèces de Culicoïdes vectrices présentes en Belgique.

Il est cependant probable que des ruminants en phase de virémie puissent encore être présents au moment de la reprise de l'activité des culicoïdes au printemps (période variable dépendant de conditions de température propices, mais pouvant débuter théoriquement dès le début du mois de mars). En effet, cette hypothèse tient compte :

(1) de la date des derniers cas chez les ruminants en Belgique et en Allemagne (fin décembre 2006, voire début 2007) (EFSA, bulletin 15 du 2 février 2007), ce qui signifie que des virémies ont débuté tardivement au cours de l'hiver ;

(2) et d'une durée de virémie allant de 50 jours chez les ovins (Katz *et al.*, 1993) à 100 jours chez les bovins (Luedke *et al.*, 1977).

Dans cette hypothèse, il y a une chance d'éviter le retour de la maladie chez les animaux au printemps 2007 par l'application d'un traitement préventif des animaux aux insecticides juste avant la période de reprise, lorsque les températures le permettront, de l'activité des culicoïdes. Ce traitement pourrait enrayer la première vague de reprise de l'activité des culicoïdes, éviter le contact entre ces vecteurs et les animaux en phase finale de virémie, faire passer outre cette période de durée maximale de la virémie et interrompre le cycle de transmission du virus.

Un insecticide possédant une durée de rémanence de 15 à 20 jours serait suffisant pour allonger l'intervalle de temps nécessaire pour la disparition de la virémie chez les derniers animaux.

L'évaluation de la période propice pour ce traitement préventif peut se faire sur base de seuils :

- un nombre de 10 culicoïdes par piège extérieur (la reprise d'activité se déroule à l'extérieur : éclosion des larves et formation des imagos, qui vont seulement ensuite dans les étables). En effet, sur base de l'expérience des experts en Italie du Nord, il est postulé que, tant qu'il y a moins de 10 culicoïdes par piège (activité diminuée), il n'y a pas de risque de dispersion de ceux-ci ni de transmission du virus; et
- une température extérieure de 10°C durant plusieurs jours (il y a une corrélation entre les données de température et le nombre de culicoïdes au niveau des pièges).

Les hypothèses basées sur les experts en Italie du nord sur le lien entre la température extérieure et la transmission du virus devront être confirmées par des études menées spécifiquement en Belgique. En effet, durant l'hiver 2006-2007 caractérisé par des températures anormalement élevées, il est possible de capturer à certains moments, et temporairement, plusieurs dizaines de Culicoïdes par piège, alors qu'habituellement les captures en hiver donnent des résultats négatifs ou très faibles.

#### 2.3.1.2.2. Traitement des animaux des zones situées autour de nouveaux foyers en 2007 (même stratégie qu'en 2006)

Les mesures préconisées en 2006 étaient les suivantes : avant l'hiver 2006, il était obligatoire de traiter les animaux (et les étables) appartenant à la zone à risque (zone de 20 km autour d'un foyer). L'ensemble de ces zones comprend à l'heure actuelle une grande partie du territoire national.

Les justifications d'un traitement des zones situées autour des éventuels nouveaux foyers sont les suivantes :

- le virus n'infecte qu'un petit nombre de vecteurs. Pour pouvoir parvenir à une transmission locale entre exploitations, la pression d'infection au niveau des culicoïdes doit donc être suffisamment haute. Le traitement aux insecticides peut permettre de contrôler le vecteur en faisant passer sa population en-dessous d'un certain seuil pour éviter la dissémination entre exploitations. Les concentrations locales de cas tels qu'on les a observées en 2006 autour de Maastricht et de Gent, pourraient être évitées par une telle stratégie ;
- la sous-déclaration et les infections sub-cliniques sont fréquentes. Limiter le traitement aux seules exploitations où des cas ont été déclarés risque de ne pas mener à une diminution de la pression d'infection suffisante pour interrompre le cycle de transmission du virus. Il est donc nécessaire de rendre obligatoire le traitement de toutes les exploitations de la zone.

Le traitement de ces zones ne peut être optimal que s'il est appliqué dès que et tant que la zone est déclarée zone à risque, ceci pendant la saison d'activité vectorielle (de mars à novembre). Les agrégations concernant les insecticides n'autorisent l'emploi des insecticides qu'à deux reprises annuelles afin d'éviter les problèmes de résidus. Les traitements devraient donc se faire stratégiquement à des moments précis, déterminés en fonction de la biologie des espèces de Culicoïdes en cause :

- un traitement devrait être appliqué dès la confirmation d'un foyer afin d'essayer d'interrompre le cycle de transmission du virus entre exploitations ; ce traitement peut être considéré comme le deuxième traitement appliqué aux animaux, le premier étant le traitement préventif au printemps (voir point 2.3.1.2.1) ;

- si plus de deux traitements sont autorisés, un traitement supplémentaire peut être envisagé (on reconnaît, en théorie, pour *C. obsoletus*, 2 générations par an dans nos régions) :
  - o une fois en mai pour réduire la descendance de la première génération,
  - o et/ou une deuxième fois en automne, au moment où les culicoïdes de deuxième génération sont très actifs (hautes températures) et où la capacité vectorielle augmente.

Vu que ce calendrier est théorique et ne s'applique qu'à *C. obsoletus*, une autre stratégie consiste à traiter aux périodes où l'activité vectorielle est maximale en fonction des résultats des pièges.

### 2.3.1.3. Espèces animales à traiter

Le choix des espèces animales à traiter (espèces réceptives du virus versus espèces hôtes du vecteur) dépend de l'objectif poursuivi par la lutte au moyen des insecticides :

- si le but est d'interrompre le cycle de transmission du virus, le traitement peut se limiter aux espèces réceptives ;
- si le but est de limiter la population de vecteurs, le traitement doit englober toutes les espèces hôtes du vecteur. Cependant, la pertinence de cette stratégie est mal documentée scientifiquement et peut être limitée par plusieurs facteurs tels que :
  - o la présence de la faune sauvage éventuellement réservoir de vecteur et impossible à gérer dans sa totalité ;
  - o la rémanence limitée (15 à 20 jours) des insecticides qui nécessiterait des traitements répétés (avec la problématique des résistances et des résidus, etc.), sans garantie de pouvoir contrôler la population de vecteurs.

Le traitement des ruminants sauvages présente des difficultés pratiques de terrain qui rend son application très difficile. Il ne permettrait donc pas l'interruption du cycle de transmission du virus.

Parmi les ruminants domestiques, l'espèce bovine serait privilégiée, pour les raisons suivantes :

- la durée de la virémie est plus longue chez cette espèce ( $\pm$  100 jours) que chez par exemple les ovins ( $\pm$  50 jours). Cette espèce est donc plus à risque de dissémination de l'infection ;
- le traitement est plus efficace chez cette espèce que par exemple chez les ovins (longueur des poils, laine, lanoline, etc.) ;
- la population bovine belge est environ 10 fois plus importante que la population ovine ;
- la plupart des biocides sont agréés pour une utilisation chez les bovins uniquement.

Il est cependant nécessaire de traiter également les ovins. En effet, il y a une possibilité de résistance comportementale des Culicoïdes envers certains insecticides, notamment les pyréthrinoïdes utilisés en « pour-on » depuis plusieurs années dans nos régions (voir point 2.8.1). Si les ovins ne sont pas traités, le vecteur risquerait de se détourner vers ceux-ci.

### 2.3.2. Traitement des animaux avec des répulsifs

Les répulsifs, molécules volatiles dont le mécanisme d'action consiste en l'induction d'une modification du comportement des insectes, présentent plusieurs inconvénients :

- l'utilisation de répulsifs n'induit pas de résistance, mais déplace le site de piqûre d'un animal vers un autre moins bien protégé par le répulsif ;
- certains répulsifs (« push and pull ») (par exemple, l'octane-3-ol) ont une action répulsive pour certaines espèces de Culicoïdes, mais une action attractive pour d'autres ;

- la rémanence des répulsifs est très courte (quelques heures) ;
- il n'y a pas de répulsifs agréés pour l'instant.

#### **2.4. Traitement des gîtes larvaires**

Comme les transmissions trans-ovarienne et transstadiale du virus sont très peu probables, le traitement des gîtes larvaires ne peut avoir comme objectif d'interrompre le cycle du virus, mais uniquement de limiter la population de vecteurs.

Le traitement des gîtes larvaires pourrait s'avérer difficile et inefficace actuellement, pour les raisons suivantes :

- la localisation et la biologie des gîtes larvaires sont spécifiques de l'espèce de Culicoïdes. Or, comme déjà mentionné plusieurs fois, la ou les espèces de Culicoïdes en cause, ainsi que la biologie de leurs larves, sont encore inconnues actuellement ;
- les gîtes larvaires sont très diversifiés (boue, matières organiques, matières fécales des animaux, etc), semi-aquatiques voire aquatiques (Kettle *et al.*, 1977 ; Blackwell, 1999), ce qui a plusieurs conséquences :
  - o d'une part, de les protéger du traitement aux insecticides, et
  - o d'autre part, de leur conférer un caractère « ubiquitaire » rendant leur ciblage et leur traitement exhaustif très difficile, voire impossible, à moins de désinsectiser toute une zone ;
- l'impact négatif d'un tel traitement sur les organismes non visés et sur l'environnement serait très grand.

#### **2.5. Traitement des bâtiments/étables**

Le traitement des bâtiments et des étables peut également présenter divers inconvénients :

- il y a une méconnaissance de l'espèce du vecteur concerné, et donc de sa biologie et de sa propension à rentrer dans les étables ;
- la plupart des biocides agréés pour le traitement des locaux doivent être appliqués en dehors de la présence des animaux. Il faut donc sortir les animaux, ce qui n'est pas toujours possible en pratique. De plus, en été, les animaux sont souvent en pâture, et il est superflu de traiter des bâtiments vides, d'autant plus que ce sont les animaux-mêmes qui agissent comme pièges ambulatoires de par leur pouvoir attractif sur les insectes ;
- les molécules agréées pour le traitement des locaux sont principalement des pyréthriinoïdes, et sont donc les mêmes molécules que celles qui sont agréées pour le traitement des animaux. Il est donc superflu de traiter les animaux et les locaux avec les mêmes biocides. En effet, seule l'utilisation de deux types de produits à mécanismes d'action différents pourraient être bénéfique en ayant une action synergique ;
- s'il est maintenant établi que les culicoïdes peuplent les étables pendant les périodes froides, on ignore si cela se passe dans nos régions à grande échelle pendant l'été ;
- par ailleurs, dans beaucoup d'exploitations, les murs des étables où séjournent les animaux sont souvent déjà aspergés par des insecticides rémanents pour lutter contre les mouches pendant les mois d'été.

#### **2.6. Traitement des environs de l'exploitation**

Le traitement des environs des exploitations est également difficile, pour les mêmes raisons que celles invoquées pour les gîtes larvaires. En effet, les environs de l'exploitation peuvent être assimilés à un biotope propice à la localisation de ces gîtes larvaires.



## 2.7. Traitement des moyens de transport

Le traitement des moyens de transport peut avoir comme avantage d'éviter la création de nouvelles zones infectées via le commerce et le transport. Dans ce cadre, le traitement des animaux devant être transportés, avant leur rassemblement, doit également être envisagé.

## 2.8. Les différents types d'insecticides et leur rémanence

A l'heure actuelle, les pyréthrinoïdes sont les seuls biocides agréés en Belgique pour une utilisation sur les animaux. Ils figurent aussi parmi les biocides agréés en Belgique pour le traitement des locaux et des moyens de transport .

Ceux-ci sont agréés contre les mouches (ordre des diptères, insectes à deux ailes) et les poux des ruminants, ainsi que pour les mélophages du mouton. Ils ne sont agréés ni pour une utilisation contre les moustiques, ni pour une utilisation contre les culicoïdes.

Les culicoïdes appartiennent, comme les mouches et les moustiques, à l'ordre des diptères, mais font partie de la famille des Cératopogonidés. Ils sont par ailleurs beaucoup plus proches des moustiques (car tous deux appartiennent, au sein de l'ordre des diptères, au sous-ordre des *Nematocera*), que des mouches (qui appartiennent, au sein de l'ordre des diptères, au sous-ordre des *Brachycera*).

Il est difficile d'extrapoler en théorie l'activité d'un insecticide actif contre des mouches ou des moustiques, vers une activité contre des culicoïdes. Il y a déjà, parmi les insecticides actifs contre les insectes volants, des différences entre les espèces d'insectes concernant leur résistance naturelle vis à vis des insecticides. On ne connaît donc pas *a priori* l'activité de ces produits sur les culicoïdes.

Il n'y a pas de littérature décrivant l'activité des insecticides sur *C. dewulfi*. Les familles d'insecticides pouvant avoir une activité sur certaines espèces de Culicoïdes adultes sont, principalement, les suivantes :

- les avermectines, sur *C. variipennis* (Holbrook *et al.*, 1994, Holbrook et Mullens, 1994) et sur *C. brevitarsis* (Standfast *et al.*, 1984, Standfast *et al.*, 1985),
- les pyréthrinoïdes de synthèse, sur *C. imicola* (Braverman *et al.*, 1995, Braverman *et al.*, 2004, Satta *et al.*, 2004), sur *C. sonorensis* (Mullens *et al.*, 2000, Mullens *et al.*, 2001), sur *C. variipennis* (Holbrook *et al.*, 1986a, Holbrook *et al.*, 1986b, Mullens *et al.*, 1993), sur *C. subimmaculatus* (Standfast *et al.*, 2003), et
- les organophosphorés, sur *C. furens* (Linley *et al.*, 1992).

### 2.8.1. Les insecticides à utiliser sur les animaux

- L'utilisation d'ivermectine présente divers désavantages :
  - il s'agit d'un produit injectable et non d'un insecticide de contact. Il agit donc sur l'insecte uniquement par ingestion via une piqûre. L'insecte infecté doit piquer l'animal traité avant de mourir, ce qui a pour conséquence que le cycle de transmission du virus n'est pas nécessairement bloqué ;
  - son impact négatif sur l'environnement.
- L'utilisation de pyréthrinoïdes à longue durée d'action (cyfluthrine, deltaméthrine, lambda-cyhalothrine) présente plusieurs avantages :
  - cette famille d'insecticides est agréée à l'heure actuelle en Belgique ;
  - il s'agit d'insecticides de contact (effet « knock down ») qui tuent le culicoïde en le paralysant avant que celui-ci ne pique l'animal. Ce mécanisme d'action ne nécessite donc pas la piqûre de l'animal par l'insecte et il y a interruption du cycle de transmission du virus ;

- ces produits sont agréés pour les ruminants. Ils ne sont pas agréés pour les chevaux (hôtes préférés des vecteurs), mais, comme expliqué plus haut, cette espèce n'est pas prise en considération dans la stratégie actuelle recommandée ;
- ces molécules sont peu toxiques pour les animaux à sang chaud.

Elle présente cependant plusieurs désavantages :

- les pyréthrinoïdes provoquent rapidement des résistances parce qu'ils sélectionnent un mécanisme appelé « knock down resistance » chez les insectes, mécanisme déjà observé antérieurement dans nos régions pour le DDT ;
  - ils provoquent également chez beaucoup de diptères (dont les moustiques) assez rapidement des comportements de résistance : l'insecte quitte ou évite l'animal traité et, par conséquent, ne prend pas une dose mortelle d'insecticide (dans ce cas, le produit agit seulement comme répulsif et la population n'est pas décimée) ;
  - ils sont, contrairement à d'autres groupes d'insecticides, moins actifs lors de hautes températures.
- L'utilisation de produits à base de pyréthrine présente le désavantage suivant : la molécule est inactivée par les rayons UV, ce qui lui procure une rémanence très courte en cas d'application externe.

Une bonne formulation du produit selon l'espèce animale, ainsi que le site de son application sur l'animal, jouent un grand rôle dans l'efficacité du traitement. Par exemple, chez les ovins, le type de laine a une influence sur l'efficacité de la deltaméthrine (Kok *et al.*, 1996). Le site d'application doit coïncider avec le site de piqûre par l'insecte qui prend son repas de sang de préférence sur les parties glabres de leur hôte. Il faut en effet éviter que, comme déjà mentionné plus haut, si ces sites sont éloignés l'un de l'autre, une concentration insuffisante au site de piqûre rende le traitement paralysant inefficace. Des formulations « pour-on », pour lesquelles une dose plus importante est prescrite, semblent avoir un effet dispersant prononcé. Verser le produit le long du dos en commençant immédiatement derrière les cornes permettrait également d'obtenir une meilleure concentration au niveau du muffle. Par ailleurs, seule une posologie validée par rapport à un type d'insecte donné permet d'apporter une garantie d'efficacité, sous réserve de résistance.

### 2.8.2. Les insecticides à utiliser dans les moyens de transport

L'utilisation des pyréthrinoïdes est envisageable, pour les raisons évoquées au point précédent.

### 2.8.3. Rémanence

Les pyréthrinoïdes possèdent une rémanence de plusieurs jours (3 à 7 jours pour la perméthrine, 6 à 8 semaines pour la deltaméthrine) associée à une activité répulsive de quelques heures. Ces périodes de rémanence sont d'ailleurs proportionnelles aux délais d'attente pour ces produits (14 jours pour la deltaméthrine, par exemple).

Il est également nécessaire d'évaluer si la concentration du produit au niveau de l'animal, qui décroît au cours du temps, reste suffisante pour son activité contre les culicoïdes, ce qui crée une nouvelle incertitude.

Le problème de la rémanence doit être envisagé en parallèle avec la problématique des LMRs et des délais d'attente: il n'est pas recommandable de prescrire une fréquence d'application incompatible avec l'abattage ou la récolte de lait.

### **3. Avis (réponse aux questions)**

#### **3.1. La poursuite de l'utilisation de traitements insecticides dans le cadre de la lutte contre le vecteur de la FCO est elle justifiée?**

La réponse à cette question, ainsi que les modalités de ces traitements éventuels, doivent être envisagés selon les lieux possibles d'application du traitement (animaux, bâtiments, environs de l'exploitation, gîtes larvaires et moyens de transport), ce qui rejoint la question 5 (envergure du traitement). Ces deux questions seront donc traitées conjointement, sous ce point 3.1.

##### **3.1.1. Traitement des animaux**

Le Comité scientifique recommande le traitement aux insecticides des espèces animales sensibles en 2007 en Belgique, même s'il présente divers inconvénients, car il s'agit du seul moyen de lutte contre la FCO actuellement disponible, en l'absence de vaccins adéquats en 2007 et en ne retenant pas une politique d'abattage systématique des cas de FCO.

En ce qui concerne les espèces animales à traiter, le Comité scientifique recommande de se limiter aux espèces sensibles, dans le seul but d'interrompre le cycle de transmission du virus. Parmi les espèces sensibles, seul le traitement des ruminants domestiques et des parcs zoologiques est recommandé, et non le traitement des ruminants sauvages qui présente des difficultés pratiques. Parmi les ruminants domestiques, le traitement des bovins et des ovins est recommandé pour les raisons mentionnées dans l'introduction (point 2.3.1.3.).

Le traitement des ruminants domestiques et des parcs zoologiques aux insecticides est recommandé, comme expliqué dans l'introduction, selon la stratégie suivante :

(1) un traitement préventif appliqué dans un premier temps avec l'objectif d'éviter une éventuelle résurgence de la maladie au printemps 2007 (voir point 2.3.1.2.1.). Ce traitement devrait être appliqué selon les modalités suivantes :

- à un moment où les animaux sont encore à l'étable (avant la période de mise en pâture) ;
- de manière obligatoire, simultanée et à large échelle sur tout le territoire national ;
- dès le moment où un nombre de 10 culicoïdes par piège est recensé et où la température extérieure atteint 10°C pendant plusieurs jours.

Cette stratégie n'est envisageable que si des stocks de biocides sont suffisants.

(2) le traitement des animaux dans les zones à risque (20 km) situées autour de nouveaux foyers, pour éviter la dispersion de l'infection entre exploitations si la résurgence ne peut être évitée au printemps. Ce traitement sera appliqué selon les modalités suivantes :

- dès la confirmation d'un foyer pour essayer d'interrompre le cycle de transmission du virus ;
- si plus de deux traitements sont autorisés, tant que la zone est déclarée à risque, soit selon les périodes théoriques d'activité des culicoïdes, soit selon les résultats des pièges (voir point 2.3.1.2.2.);
- et obligatoirement pour toutes les exploitations de la zone.

Il est également recommandé de rentrer les animaux dans l'étable dès que ceux-ci sont positifs.

Le Comité scientifique insiste sur le fait que, si l'application d'un traitement aux insecticides est décidé, celui-ci ne doit pas se faire sur une base volontaire de la part des éleveurs, ce qui n'aurait pas d'impact (Mullens *et al.*, 2001), mais doit être obligatoire et à large échelle, afin de pouvoir diminuer suffisamment la pression d'infection au sein de la population des

culicoïdes pour bloquer la transmission de l'infection entre les exploitations. Dans le même ordre d'idées, l'application d'un traitement préventif aux insecticides devrait s'appliquer à un niveau communautaire et impliquer les zones de surveillance de FCO dans les Etats membres infectés (c'est à dire dans l'ensemble de la zone où les culicoïdes en cause sont présents).

Le Comité scientifique ne recommande pas l'utilisation de répulsifs, du moins tant que des études complémentaires ne sont pas réalisées concernant leur activité et efficacité contre l' (les) espèce(s) de Culicoïdes qui auront été identifiée(s) comme vecteur.

### 3.1.2. Traitement des moyens de transport

Selon le Comité scientifique, il est nécessaire de nettoyer les moyens de transport après chaque utilisation et de les traiter aux insecticides avant chaque utilisation, ainsi que de traiter les animaux devant être transportés, afin d'éviter de créer de nouvelles zones infectées via le commerce et le transport. Il recommande la rédaction d'instructions de service pour les raisons suivantes : seuls deux traitements à base d'insecticides sont autorisés ; selon les produits, des intervalles entre traitements successifs sont imposés (voir problématique des LMRs) ; il convient de gérer les situations où les animaux doivent être transportés à plusieurs reprises, ou successivement. Ces instructions doivent documenter l'utilisation de biocides sur l'animal, afin d'éviter des applications supplémentaires non autorisées (utilisation d'un insecticide de moindre rémanence, traçabilité, etc.).

Ces recommandations ne sont valables que dans le cadre du transport au sein d'une zone endémique, le transport d'une zone à haut risque (20 km) vers une zone à risque plus faible (100-150 km) n'étant autorisé, d'après l'arrêté ministériel du 20 novembre 2001, que sous des conditions strictes, selon la situation épidémiologique.

### 3.1.3. Traitement des gîtes larvaires

Selon le Comité scientifique, le traitement des gîtes larvaires n'est pas recommandé actuellement. En effet, les transmissions trans-ovarienne et transstadiale du virus sont très peu probables chez le vecteur Culicoïdes. La destruction des larves n'est donc pas de nature à interrompre le cycle de transmission du virus mais serait destinée à limiter la population de vecteurs, ce qui n'est pas l'objectif principal recommandé dans cet avis.

### 3.1.4. Traitement des bâtiments et étables

Selon le Comité scientifique, le traitement des bâtiments et des étables n'est pas recommandé actuellement, principalement pour une raison de méconnaissance de la biologie du ou des vecteur(s) impliqué(s) et de leur propension à entrer dans les étables (voir point 2.5.).

Cependant, cette recommandation actuelle peut être adaptée en fonction de l'évolution des connaissances concernant les espèces de Culicoïdes vecteurs : s'il est montré que le vecteur en cause persiste à l'intérieur des étables en hiver (la température est en effet rarement négative dans les étables, ce qui entretient la survie des culicoïdes), une bonne stratégie de lutte qui peut être ponctuelle et se dérouler pendant l'hiver serait de traiter les étables/bâtiments ainsi que les animaux, tant que ceux-ci sont à l'intérieur des étables. Cette stratégie a comme objectif d'interrompre le cycle de transmission du virus en hiver et d'éviter sa réapparition au printemps.

### 3.1.5. Traitement des environs de l'exploitation

Selon le Comité scientifique, le traitement des environs des exploitations n'est pas recommandé, pour les mêmes raisons que celles mentionnées pour le traitement des gîtes larvaires.

### **3.2. Dans l'affirmative, est-il possible de définir des recommandations quant au type d'insecticide à utiliser ?**

Malgré les difficultés d'extrapolation de leur spectre d'activité, le Comité scientifique recommande, pour le traitement des animaux, l'utilisation des pyréthriinoïdes, principalement pour leur effet de contact et parce qu'ils sont les seuls biocides agréés à l'heure actuelle en Belgique (voir points 2.8. et 2.8.1.).

Il recommande l'utilisation de pyréthriinoïdes appartenant à la classe de rémanence la plus élevée, en particulier pour le traitement préventif, dont le but est d'offrir une période de protection la plus longue possible.

Il recommande une bonne formulation du produit selon l'espèce animale, un site d'application sur l'animal qui soit fonction de la biologie du vecteur (site de piqûre), et une posologie adaptée à l'insecte, pour une efficacité optimale.

Pour le traitement des moyens de transport, il recommande également l'utilisation de pyréthriinoïdes.

### **3.3. Dans l'affirmative, est-il possible de définir des recommandations quant à la fréquence d'application du produit ?**

Comme mentionné dans l'introduction, l'agrément des insecticides ne prévoit en principe la possibilité que de deux traitements des animaux.

De manière générale, le Comité scientifique recommande donc l'utilisation de produits les plus rémanents possible, et de tenir compte des délais (abattage et livraison du lait) prescrits dans la notice du produit.

Concernant le traitement des moyens de transport, ceux-ci doivent être traités avant chaque chargement. Les animaux doivent être traités avant d'être rassemblés, selon des modalités à prévoir dans une instruction de service (voir point 3.1.2.).

### **3.4. Dans l'affirmative, est-il possible de définir des recommandations quant à la période durant laquelle ce traitement devrait être appliqué ?**

Le traitement des animaux doit être, de manière générale, appliqué au cours de la saison d'activité vectorielle (de mars à novembre).

Pour le traitement préventif, le Comité propose un seul traitement dès le dépassement des seuils d'activité des vecteurs Culicoïdes proposés, comme discuté dans l'introduction (point 2.3.1.2.1.).

Pour le traitement des zones situées autour des foyers, il propose un traitement de la zone dès l'apparition du foyer, avec une éventuelle répétition, si plus de deux traitements étaient autorisés, à un moment de grande activité du vecteur, selon les résultats des pièges (voir point 2.3.1.2.2.).

Le traitement des moyens de transport doit également être envisagé au cours de la saison d'activité vectorielle (de mars à novembre) selon des instructions de service précises (voir point 3.1.2.).

### **3.5. Dans l'affirmative, est-il possible de définir des recommandations quant à l'envergure du traitement (animaux/bâtiments/environs de l'exploitation/moyens de transport) ?**

La réponse à cette question a été traitée en parallèle avec la question 1.1., au point 3.1.

### **3.6. Recommandations diverses**

Si un traitement des animaux aux insecticides est instauré, le Comité scientifique recommande :

- concernant la problématique des résistances, l'établissement d'un monitoring des populations de vecteurs (sur l'animal et dans les pièges) dès avant le commencement d'une campagne de traitement aux insecticides, ainsi qu'après, afin de comparer la situation avant et après les traitements. La même stratégie peut être utilisée pour vérifier l'efficacité des mesures recommandées. En effet, si le contrôle de l'efficacité de ces types de stratégies n'est pas effectué, celles-ci ne pourront pas être recommandées à nouveau lors d'éventuels épisodes ultérieurs de la maladie ;
- concernant la problématique des résidus, de veiller, via des contrôles, à ce que les avantages obtenus à l'aide des insecticides ne soient pas contrebalancés par des problèmes de résidus des insecticides au niveau de la chaîne alimentaire ;
- de prévoir une extension d'agrément des biocides pour une utilisation contre les culicoïdes, ce qui nécessite une procédure d'homologation ;
- de prévoir l'agrément de nouvelles molécules pour les stratégies futures (par exemple, pour éviter les problèmes de résistance) ;
- de prévoir des recherches supplémentaires sur l'activité et l'efficacité des répulsifs envers les culicoïdes. Leur utilisation pourrait en effet être considérée comme une stratégie alternative pour l'avenir ;
- d'identifier l'(les) espèce(s) de Culicoïdes vectrice(s) de la FCO en Belgique et, lorsque celle(s)-ci sera(ont) connue(s), prévoir l'utilisation de molécules pour lesquelles une efficacité contre l' (les) espèce(s) de Culicoïdes en cause aura été prouvée ; ensuite, de prévoir l'agrément de ces molécules, et l'instauration un monitoring de la résistance.

## **4. Conclusion**

Le Comité scientifique recommande, pour l'année 2007, le traitement des ruminants domestiques et des parcs zoologiques, principalement les bovins et les ovins, et des moyens de transport avec des insecticides de type pyréthrianoïde. Il recommande de traiter les animaux de manière préventive au moment de la reprise de l'activité des culicoïdes au printemps sur l'ensemble du territoire belge, ainsi que de manière systématique dans les zones à risque situées autour des nouveaux foyers.

Le Comité scientifique est conscient du fait que l'efficacité de l'utilisation d'insecticides à large échelle, telle que proposée pour le traitement préventif, n'a pas encore été démontrée expérimentalement. Cependant, il justifie une telle proposition novatrice par la volonté de tenter d'interrompre, par un traitement unique ('one shot'), le cycle de transmission du virus avant la reprise d'activité des culicoïdes, en l'absence de disponibilité actuelle de tout autre moyen de lutte. Si, malgré l'instauration de ce traitement, une épidémie de fièvre catarrhale ovine de sérotype 8 devait se produire à nouveau en 2007, l'efficacité du traitement préventif devrait être réévaluée avant de le proposer ultérieurement. De plus, le développement d'un vaccin inactivé spécifique permettrait de contrôler l'infection par un moyen de lutte spécifique et validé.

Le Comité scientifique attire également l'attention sur la problématique des résistances envers les insecticides et des résidus, et fournit à ce titre des recommandations.

Ces propositions devront être adaptées en fonction de l'évolution des connaissances concernant, entre autre, les espèces de Culicoïdes vecteurs et leur biologie.

Au nom du Comité scientifique,  
Le Président,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert

Bruxelles, le 9 mars 2007

### **Bibliographie**

Abdallah M.A., Pollenz R.S., Droog F.N., Nunamaker R.A., Tabachnick W.J., and Murphy K.E. Isolation and characterisation of a cDNA clone coding for a glutathione S-transferase class delta enzyme from the biting midge *Culicoides variipennis sonorensis* Wirth and Jones. *Biochem. Genet.*, 38, **2000**, 377-90.

Baldet T., Mathieu B., et Delécolle J.C. Emergence de la fièvre catarrhale ovine. *Insectes*, 28, **2003**, 28-30.

Blackwell A., Lock K.A., Marshall B., Boag B., and Gordon S.C. The spatial distribution of larvae of *Culicoides impunctatus* biting midges. *Med. Vet. Entomol.*, 13, **1999**, 362-71.

Braverman Y., Wilamowsky A., and Chizov-Ginzburg A. Susceptibility of *Culicoides imicola* to cyalothrin. *Med. Vet. Entomol.*, 9, **1995**, 443-4.

Braverman Y., Chizov-Ginzburg A., Pener H., and Wilamowski A. Susceptibility and repellency of *Culicoides imicola* and *Culex pipiens* to lambda-cyhalothrin. *Veterinaria Italiana*, 40, **2004**, 336-9.

EFSA, Bluetongue Serotype 8 Epidemic Bulletin, by EFSA BTV Epidemiology Working Group. Bulletin 15 of 2 februari **2007** (period until 1 februari 2007).

Holbrook F.R. Wind tunnel evaluations of insecticides applied to colonized *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae). *Journal of the Florida Anti-Mosquito Association*, 57, **1986a**, 1-3.

Holbrook F.R. Exposure of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) to hair clippings to evaluate insecticide-impregnated ear tags in cattle. *Journal of Economic Entomology*, 79, **1986b**, 1127-9.

Holbrook F.R., and Mullens B.A. Effects of ivermectin on survival, fecundity, and egg fertility in *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae). *J. Am. Mosq. Control. Assoc.*, 10, **1994**, 70-3.

Holbrook F.R. Survival, fecundity, and egg fertility of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) fed on calves inoculated with ivermectin. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 10, **1994**, 7-9.

Katz J.B., Gustafson G.A., Alstad A.D., Adler K.A., and Moser K.M. Colorimetric diagnosis of prolonged bluetongue viremia in sheep, using an enzyme-linked oligonucleotide sorbent assay of amplified viral nucleic acids. *Am. J. Vet. Res.*, 54, **1993**, 2021-6.

- Kettle D.S. The bionomics and control of *Culicoides* and *Leptoconops* (Diptera, Ceratopogonidae = Heleidae). *Annual Review of Entomology*, 7, **1962**, 401-18.
- Kettle D.S. Biology and bionomics of bloodsucking ceratopogonids. *Annu. Rev. Entomol.*, 22, **1977**, 33-51.
- Kok D.J., Fourie L.J., Loomes M.D., and Oberem P.T. Interbreed differences in the efficacy of 1% deltamethrin pour-on to protect small livestock against infestation with *Ixodes rubicundus* (Acari: Ixodidae). *Vet. Parasitol.*, 63, **1996**, 109-17.
- Lefevre P.C. Chapitre 55. Fièvre catarrhale du mouton. *In Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes. Tome 1. Généralité et maladies virales.* Lavoisier (éditeur), Paris, France, **2003**, 667-86.
- Linley J.R., and Jordan S. Effects of ultra-low volume and thermal fog malathion, Scourge and naled applied against caged adult *Culicoides furens* and *Culex quiquefasciatus* in open vegetated terrain. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 8, **1992**, 69-76.
- Luedke A.J., Jochim M.M., and Jones R.H. Bluetongue in cattle: Effects of *Culicoides variipennis*-transmitted bluetongue virus on pregnant heifers and their calves. *Am. J. Vet. Res.*, 38, **1977**, 1687-95.
- Mellor P.S. Bluetongue virus. *In: The Encyclopedia of arthropod-transmitted infections.* Ed. M.W. Service, CABI Publishing, London, **2001**, pp. 78-83.
- Mullen G.R. Biting midges (Ceratopogonidae). *In: Medical and Veterinary Entomology.* Edrs. G. Mullen et L. Durden, Academic Press London, **2002**, p.163.
- Mullens B.A. In vitro assay for permethrin persistence and interference with bloodfeeding of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) on animals. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 9, **1993**, 256-9.
- Mullens B.A., Velten R.K., Gerry A.C., Braverman Y., and Endris R.G. Feeding and survival of *Culicoides sonorensis* on cattle treated with permethrin or pirimiphos-methyl. *Med. Vet. Entomol.*, 14, **2000**, 313-20.
- Mullens B.A., Gerry A.C., and Velten R.K. Failure of a permethrin treatment regime to protect cattle against bluetongue virus. *J. Med. Entomol.*, 38, **2001**, 760-2.
- Nunamaker R.A., Sieburth P.J., Dean V.C., Wigington J.G., Nunamker C.E., and Mecham J.O. Absence of transovarial transmission of bluetongue virus in *Culicoides variipennis*: immunogold labelling of bluetongue virus antigen in developing oocytes from *Culicoides variipennis* (Coquillett). *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 96, **1990**, 19-31.
- Satta G., Goffredo M., Sanna S., Vento L., Cubeddu G.P., and Mascherpa E. Proceedings of the Third International Symposium on Bluetongue, Taormina, Italy. *Veterinaria Italiana*, **2004**.
- Standfast H.A., Muller M.J., and Wilson D.D. Mortality of *Culicoides brevitarsis* (Diptera: Ceratopogonidae) fed on cattle treated with ivermectin. *J. Econ. Entomol.*, 77, **1984**, 419-21.
- Standfast H.A., Muller M.J., and Wilson D.D. Mortality of *Culicoides brevitarsis* fed on cattle treated with ivermectin. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 178, **1985**, 611-6.
- Standfast H., Fanning I., Maloney L., et al. Field evaluation of Bistar 80SC as an effective insecticide harbourage treatment for biting midges (*Culicoides*) and mosquitoes infesting peridomestic situations in an urban environment. *Bulletin of the Mosquito Control Association of Australia*, 15, **2003**, 19-33.