

Étude du cycle gonotrophique d'*Anopheles gambiae* (Diptera, Culicidae) (Giles, 1902) en zone de forêt dégradée d'Afrique Centrale (1)

Pierre CARNEVALE*

Marie-France BOSSENO**

Michel MOLINIER*

Jeannick LANCIEN**

François LE PONT**

Albert ZOULANI***

RÉSUMÉ

L'étude du cycle gonotrophique d'Anopheles gambiae (s.s.) a été réalisée en fin de saison des pluies, dans le village de Djoumouna (Congo). Une phase prégravide obligatoire a été mise en évidence chez 70-75 % des femelles nullipares qui ont une forte mortalité avant le deuxième repas (40 %) et peuvent se nourrir sur hommes, quel que soit l'état de remplissage de leur spermathèque.

En règle générale la première ponte doit avoir lieu 4 à 5 jours après l'émergence et elle semblerait être quantitativement moins importante que celle effectuée par les femelles pares.

L'examen des reliques folliculaires des femelles pares, prises au moment du repas de sang, a confirmé l'existence d'une corrélation entre la disposition des maisons et la proximité des bassins de pisciculture qui servent de gîtes larvaires permanents.

En effet, selon le lieu de capture, de 85 à 55 % des femelles s'alimentent au cours de la même nuit où elles ont pondu, tandis que 12 à 40 % ne s'alimentent que la nuit d'après.

La digestion du sang et la maturation ovarienne se déroulent normalement en quelque 35-40 heures. Le follicule qui était au stade 2 moyen-2 fin, au moment du repas de sang, passe par huit stades de développement qui ont été définis et quantifiés en fonction de l'importance du vitellus. Le « degré de remplissage » ainsi calculé traduit correctement l'oogenèse et la vitellogenèse des femelles nullipares et pares, sur les plans mathématique et physiologique.

Des marquages-lâchers-recaptures de femelles sauvages ont montré que deux jours séparent deux repas de sang chez la grande majorité des femelles pares mais qu'une rétention de ponte de 24 heures peut affecter les femelles gravides et le cycle gonotrophique dure alors trois jours.

En fonction de ces comportements et de la topographie du biotope, on peut estimer, qu'à Djoumouna, le cycle gonotrophique des femelles pares d'Anopheles gambiae dure, en moyenne, quelque 2,4 jours.

MOTS-CLÉS : *Anopheles* - Cycle gonotrophique - Age physiologique - Marquage - Analyse mathématique - Congo.

(1) Ce travail a bénéficié d'une participation financière de l'Organisation Mondiale de la Santé.

* Chercheurs O.R.S.T.O.M. (B.P. 181), Brazzaville, République Populaire du Congo.

** Techniciens O.R.S.T.O.M., B.P. 181, Brazzaville.

*** Aide entomologiste O.R.S.T.O.M., B.P. 181, Brazzaville.



CYCLE GONOTROPHIQUE D'*ANOPHELES GAMBIAE* EN AFRIQUE CENTRALE

ABSTRACT

STUDY OF THE GONOTROPHIC CYCLE OF *ANOPHELES GAMBIAE* (GILES, 1902) (DIPTERA : CULICIDAE) IN A DEGRADED FOREST AREA OF CENTRAL AFRICA

The study of the gonotrophic cycle of Anopheles gambiae was done during the last months of the rainy season in Djoumouna (R.P. Congo) which acts as the usual control village of our epidemiological analysis of human malaria transmission in the degraded forest area which lies on the southern part of Brazzaville.

A pregravid stage was noticed in most of nulliparous females (70-75 %) which, therefore, laid usually the first batch of eggs about 4 days after their emergence.

Before their second blood meal the nulliparous females suffered from an overmortality which affected about 40 % of them.

The extent of contraction of follicular stalk of parous females, caught on human baits during the night, showed that most of them have their blood meal soon after they deposited eggs. Such a behaviour appeared to be related to the accessibility of human houses from breeding sites, the farther the houses are from the sites, the longer the return.

The maturation of follicles was studied in maintaining wild well blood fed females in laboratory, under constant conditions (temperature, relative humidity, complete darkness...). Complete maturation was thus achieved in 35-40 hours.

According to the relative importance of vitellus and of follicle we characterised 8 developmental stages and we formulated the maturation of the follicle according to its « degree of filling » by the vitellus and to the time elapsing from blood ingestion.

Seven mark-release-recaptures were made and they showed that an usual 2 days delay lasts between two successive blood meals on men and the sac-like stage of follicular relics of marked females recaptured during the second night showed that the oviposition is usually made soon after eggs are completely matured (88 %).

But some females (12 %) had an usually 24 hours retention of eggs and therefore a three days gonotrophic cycle.

According to these behaviour before and after egg laying we elaborated a new formula which allowed an estimation of the daily biting rate of anopheline (« L »).

*In Djoumouna this parameter was calculated ($L = 0,40$) and its inverse gave the average gonotrophic cycle of *A. gambiae* parous female which was estimated to last about 2,4 days.*

KEY WORDS : *Anopheles* - Gonotrophic cycle - Physiological age - Marking - Mathematical analysis - Congo.

Le cycle gonotrophique des insectes vecteurs d'affections parasitaires conditionne la fréquence de leurs contacts avec les hôtes vertébrés et sa connaissance constitue un élément fondamental de l'analyse épidémiologique d'une maladie transmissible.

La fréquence de ces contacts est, en effet, tributaire de nombreux facteurs mais elle dépend essentiellement du temps nécessaire à la digestion du repas de sang qui s'accompagne de la maturation des ovaires puis de l'oviposition, laquelle sera suivie de la prise d'un nouveau repas de sang.

Mais les premières études consacrées au cycle gonotrophique d'*Anopheles gambiae* (s.l.) ont procuré des informations contradictoires dues au fait, qu'à l'époque, le problème du complexe *gambiae* n'était pas résolu et que les interprétations du cycle étaient différentes.

Pour Covell *et al.* (1953), puis Gillies *et al.* (1961), le cycle correspond au laps de temps s'écoulant entre le repas de sang et la ponte. Dans ces conditions, Muirhead-Thomson (1948) note qu'au Nigéria les femelles pondent la seconde nuit après l'alimentation sanguine, tandis que pour Hocking et Mac Inness (1948), au Kenya, l'intervalle entre le repas et la ponte serait de 4,75 jours.

Gillies (1953), en Tanzanie, remarque que le cycle peut varier de 2 à 3 jours selon la température. Mais cet auteur reconnaît introduire une source potentielle d'erreur dans son expérimentation car le maintien en captivité des femelles gravides supprime la nécessité du vol à la recherche des lieux de ponte.

Ce problème du comportement de vol avait été envisagé par Lumsden (1951) qui, en Ouganda, estimait qu'environ 24 heures devaient s'écouler entre le repas et la ponte mais qu'un nouveau délai de 24 heures séparait cette ponte du repas suivant.

Cette conception est très intéressante car elle prend pour définition du cycle le temps séparant deux repas et cette idée a, ensuite, été adoptée par Detinova (1963, p. 14).

Toutefois, c'est la définition proposée par Beklemishev (1940) qui est actuellement la plus généralement admise (Le Berre, 1966; Subra, 1972; Bregues et Coz, 1973; Germain *et al.*, 1974; Carnevale *et al.*, 1978 a).

Pour Beklemishev, le cycle gonotrophique définirait le délai séparant l'émergence de la première ponte dans le cas des femelles nullipares, puis deux ovipositions successives dans le cas des femelles pares.

Le cycle se composerait alors de trois phases bien distinctes :

1) la recherche de l'hôte par la femelle néonate ou la femelle à jeun venant de pondre;

2) la digestion du sang ingéré et la maturation ovarienne;

3) la recherche d'un gîte de ponte favorable par la femelle gravide et le dépôt des œufs.

C'est la conception que nous avons adoptée pour la présente étude du cycle gonotrophique d'*Anopheles gambiae* (s.s.) le vecteur majeur du paludisme humain dans le village de Djoumouna (R.P. Congo) (Carnevale *et al.*, 1978 c). (carte 1).

1. LE CYCLE GONOTROPHIQUE DES FEMELLES NULLIPARES : DE L'ÉMERGENCE À LA PONTE

1.1. Rappels

Les études de la physiologie de l'appareil reproducteur des femelles de moustique (Clements, 1963; Detinova, 1963; Fill, 1976) ont montré qu'après l'éclosion imaginale la croissance normale des follicules de la jeune femelle peut être divisée en deux périodes.

D'abord un développement jusqu'à un stade de repos (« resting stage ») qui peut être considéré comme une diapause ovarienne selon Clements (*loc. cit.*).

Le follicule est alors au stade « 2 » pour Macan (1950), « IIb » pour Clements et « 2 moyen » dans notre classification habituelle. Ensuite, après l'ingestion du repas de sang, un développement complet jusqu'à la formation de l'œuf mûr.

Cette vitellogénèse initiale peut se faire aux dépens des réserves nutritives accumulées pendant la vie larvaire; elle peut également résulter de la digestion de substance hydrocarbonée ou d'une première alimentation sanguine (Mer, 1936; Detinova, 1944; Gillies, 1954 a, 1955).

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce besoin d'un repas de sang supplémentaire pour stimuler le début de l'ovogénèse.

Il est généralement admis que les imagos provenant de larves sous-alimentées ne formeraient pas, ou pas assez, de vitellus pour que les follicules atteignent le stade 2 moyen.

On pense aussi que les femelles néonates s'alimentant très tôt après leur émergence auraient encore leurs follicules aux stades 1-2 début et devraient alors prendre deux repas de sang pour mûrir leurs œufs.

Par contre, les femelles s'alimentant 2 à 3 jours après leur éclosion auraient des follicules au stade 2 moyen et un seul repas leur suffirait alors pour que la maturation ovarienne soit complète.

Selon Gillies (1954 b), les follicules d'*Anopheles gambiae* seraient au stade 1 au cours des 36 heures suivant l'émergence et les stades 2 début et 2 moyen seraient observés chez les femelles âgées de deux jours au moins.

Il existe donc deux comportements gonotrophiques possibles :

a) si les follicules sont aux stades 1 ou 2 début au moment du premier repas (« femelles nullipares 1 »), celui-ci sera quantitativement peu important et pourra être digéré en 24 heures.

Il sera néanmoins suffisant pour que les ovaires de ces femelles, dites « prégravides » atteignent « le stade de repos ».

Un jour après cette « alimentation stimulatrice », un deuxième repas d'un volume « normal », pourra être ingéré par les femelles « nullipares 2 », qui deviendront alors « primigravides ». Ce sang est digéré en 48 h et la maturation ovarienne ira généralement à terme, de sorte que la première ponte pourra être effectuée deux jours après le deuxième repas, c'est-à-dire trois jours après la première ingestion de sang.

b) si les follicules ont atteint le stade 2 moyen au moment de la première alimentation sanguine, celle-ci sera d'un volume suffisant pour que le développement ovarien des femelles « primigravides » arrive à terme en 48 heures et que la première oviposition puisse avoir lieu deux jours après le premier repas.

On peut donc distinguer deux catégories de femelles nullipares : celles qui n'ont besoin que d'un seul repas de sang et celles qui doivent piquer au moins deux fois avant de déposer leur première série d'œufs.

D'un point de vue épidémiologique, il était important de préciser les proportions de femelles ayant un tel stade prégravide au cours de leur premier cycle gonotrophique.

1.2. Méthodes d'études

Nous avons étudié les ovaires des femelles nullipares sauvages, prises de nuit sur sujets humains et disséquées, soit peu après leur capture, soit dans le cas des spécimens apparemment « bien gorgés », plusieurs heures après ce repas.

Un ovaire a été conservé intact pour l'examen ultérieur des pelotons trachéolaires (Detinova, 1963), tandis que l'autre a été délicatement dilacéré pour individualiser les ovarioles et examiner les funicules ce qui permet d'estimer également l'âge physiologique (Lewis, 1958).

Pour analyser le mode de développement des follicules, deux types de mesures ont été prises :

- « H » : la hauteur totale du follicule considéré selon son grand axe,
- « V » : la hauteur du vitellus à l'intérieur du follicule.

CYCLE GONOTROPHIQUE D'ANOPHELES GAMBIAE EN AFRIQUE CENTRALE

TABLEAU I

Classification des stades de maturation des follicules ovariens des femelles paires en fonction du « Degré de Remplissage » :

$$DR = \frac{V}{H} \times 100$$

	Limites choisies du DR	Critères classiques(*)
Stade 1	DR < 20 %	
Stade 2 Début	20 % < DR < 30 %	La vitellus occupe moins de la moitié du follicule.
Stade 2 Moyen	30 % < DR < 40 %	
Stade 2 Fin	40 % < DR < 50 %	
Stade 3 Début	50 % < DR < 60 %	Le vitellus occupe des 2/3 (st. 3 M) aux 3/4 (st. 3 F) du follicule.
Stade 3 Moyen	60 % < DR < 70 %	
Stade 3 Fin	70 % < DR < 80 %	
Stade 4 Début	80 % < DR < 90 %	Le follicule s'ovalise, Le vitellus occupe les 9/10.
Stade 4 Fin	DR > 90 %	
Stade 5	DR ≈ 100 %	Apparition des flotteurs.

(*) Christophers (1911); Mer (1936); Macan (1950); Clements (1963); Detinova (1963).

Le rapport de ces deux mesures sert à caractériser les stades de maturation des follicules en fonction du « Degré de Remplissage » (DR = V/H × 100) (tabl. I). (Carnevale et al., 1978 b).

Nous avons également étudié l'évolution des femelles d'élevage, écloses et maintenues en insectarium dans des conditions relativement permanentes (t° = 24-25 °C; HR > 90 %).

Ces femelles ont été isolées en compagnie de quel-

ques mâles de la même génération et ont eu la possibilité de prendre chaque jour un repas de sang sur homme.

Elles ont été quotidiennement examinées macroscopiquement et disséquées soit peu après leur mort, soit lorsque la maturation paraissait « bloquée » depuis environ 24 heures.

1.3. Résultats et observations

1.3.1. OBSERVATIONS DES FEMELLES SAUVAGES

1.3.1.1. État des follicules au moment de la piqure

Les dissections immédiates des 132 femelles nullipares, prises en chasses de nuit (tabl. II), ont montré que :

- 95 femelles (≈ 72 %) ont été prélevées au moment de leur premier repas de sang qui a eu lieu :
 - 36 heures après l'émergence pour 65,3 % d'entre elles (follicule stade 1),
 - 48 heures après l'émergence pour 34,7 % d'entre elles (follicule stade 2 début).

Ces « femelles nullipares 1 » auraient eu besoin de deux repas pour accomplir leur premier cycle.

- 37 femelles (≈ 28 %) avaient des follicules aux stades 2 moyen (26 femelles) et plus (tabl. II, colonne 2).

Pour la plupart, il devait s'agir de femelles venant prendre leur deuxième repas bien que la possibilité d'un premier repas avec des follicules au stade 2 moyen ne doit pas être écartée.

Entre le premier repas et les suivants, la population de femelles nullipares est apparue fortement réduite (- 61 %), ce qui posera un problème d'interprétation de ces résultats (§ discussion).

TABLEAU II

Dissections immédiates (D.I.) et retardées des femelles nullipares sauvages d'A. gambiae prises à Djoumouna, de nuit, sur sujets humains, puis maintenues en laboratoire.

Stades	Heures						Σ DR	Σ D.
	D.I.	4 h	8 h	12 h	16 h	20 h		
4							1	1
3 F	1						1	2
3 M	2		1	1			5	9
3 D	3		1		1	1	3	9
2 F	5	2	4		9	7	11	38
2 M	26	11	21	19	70	43	29	219
2 D	33*	6	14	12	19	6	16	106
1	62*						1	63
Total	132	19	41	32	99	57	67	447

* = ♀ NPI = ♀ prises au moment du premier repas de sang.

1.3.1.2. *Evolution des follicules au cours de la digestion du sang*

Maturation des follicules

L'examen des 124 femelles disséquées, entre 16 et 28 heures après leur repas, a montré que :

- chez 95 femelles (76,6 %) les follicules n'avaient pas dépassé le stade de repos et un deuxième repas de sang leur aurait été nécessaire;

- chez 29 femelles (23,4 %) les follicules avaient poursuivi leur évolution qui, sans notre intervention, leur aurait permis d'atteindre leur maturité sans repas supplémentaire.

Si on ne prend en compte que les femelles ayant atteint, ou dépassé, le stade 2 moyen un jour après leur repas, on constate que 72 femelles (71,3 %) sont restées « bloquées » et 29 femelles (28,7 %) ont poursuivi leur maturation.

En outre, les stades 3 fin et 4 début ont été observés 20 à 28 heures après le repas; ceci est tout à fait comparable à ce qui a été vu chez les femelles pares (fig. 3 et 4) et laisse prévoir une maturation complète en quelque 35-40 heures, soit une ponte normale deux jours après le repas de sang.

Dans ces échantillons on retrouve donc, approximativement, la même proportion de femelles ayant besoin de deux repas pour mûrir leurs œufs que dans l'effectif observé au moment des piqûres sur hommes.

Cette similitude montre que les conditions de maintien en captivité des femelles sauvages n'ont guère altéré leur évolution ovarienne normale. Ceci va procurer un important élément permettant l'analyse du premier cycle gonotrophique d'*Anopheles gambiae* (§ discussion).

Croissance des follicules

Au cours de ces dissections retardées, nous avons mesuré 125 follicules intacts qui ont été regroupés en fonction de leur Degré de Remplissage (tabl. III).

L'évolution de la taille moyenne (\bar{H}) des follicules, à chacun des sept stades évolutifs étudiés, se fait selon une

fonction exponentielle du stade de maturation (« S ») de forme (fig. 1) :

$$\bar{H} = 114,19 \cdot e^{0,0784 \cdot S} \quad (r = 0,9598) \quad (1)$$

Cette fonction traduit l'accélération de la croissance du follicule au cours des derniers stades, ce qui est confirmé par deux observations :

- le point correspondant au stade 4 est au-dessus de la courbe d'ajustement établie d'après la formule (1);

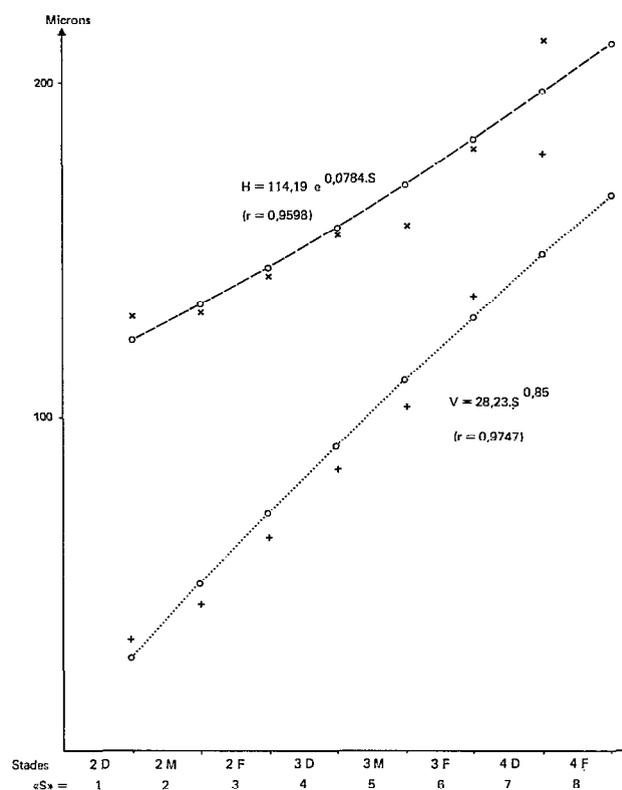


FIG. 1. - Croissances du follicule (« H ») et du vitellus (« V ») des femelles nullipares et sauvages d'*A. gambiae*. (x et + = valeurs observées; o = valeurs calculées)

TABLEAU III

La croissance des follicules ovariens des femelles sauvages nullipares d'*A. gambiae* gorgées de nuit sur sujets humains.

Stade de maturation	S =	D.R. observé (en %)	Effectifs	\bar{V} = (en μ)	\bar{H} = (en μ)
2 début	1	25,80	7	33,57 ± 8,02	130,14 ± 7,56
2 moyen	2	33,45	21	44,05 ± 0,42	131,67 ± 3,94
2 fin	3	45,10	8	64,45 ± 1,30	142,90 ± 4,11
3 début	4	54,92	22	84,95 ± 7,31	154,69 ± 18,07
3 moyen	5	65,96	28	103,30 ± 9,47	156,60 ± 12,65
3 fin	6	75,56	18	136,11 ± 28,60	180,14 ± 39,28
4	7	83,83	21	178,52 ± 50,87	212,96 ± 60,67

CYCLE GONOTROPHIQUE D'*ANOPHELES GAMBIAE* EN AFRIQUE CENTRALE

- 20-28 heures après le repas de sang, il n'y a qu'une femelle au stade 3 fin et une femelle au stade 4 début.

Il y aura donc une accélération de la maturation au cours des 15-20 heures suivantes pour que les follicules atteignent le stade 5.

Les analyses précédentes (Carnevale *et al.*, 1978 b) ont montré qu'à ce stade 5 le follicule mesurait environ 400 μ soit, approximativement, le double de la taille du follicule au stade 4 début chez les femelles nullipares.

Ceci confirme l'accélération du rythme d'accroissement des follicules pendant les derniers stades de maturation.

Au cours de cette maturation ovarienne, la taille du vitellus (V) a régulièrement augmenté selon une fonction puissance de formule :

$$V = 28,23.S^{0,85} \quad (\text{avec } r = 0,9746) \quad (2)$$

La valeur de l'exposant, proche de 1, traduit une croissance relativement isométrique entre le follicule et son vitellus, ce qui est tout à fait logique.

Mais, contrairement aux femelles pures, les évolutions du follicule et du vitellus ne se sont pas faites selon les mêmes modalités mathématiques, ce qui est également compréhensible dans la mesure où un stade prégravidé est venu « ralentir » la croissance du follicule au début de son développement.

1.3.2. OBSERVATIONS DES FEMELLES D'ÉLEVAGE

Sur les 138 femelles isolées et quotidiennement examinées (tabl. IV), 86 n'ont pas évolué au-delà du stade 2 fin, tandis que 52 femelles sont normalement devenues gravides :

- après un seul repas pour 14 femelles, soit 26,9 %

- après deux repas pour 33 femelles, soit 63,5 %
 - après trois repas pour 4 femelles, soit 7,7 %
 - après quatre repas pour 1 femelle, soit 1,9 %.

Cette expérience a donc montré qu'un seul repas ne suffisait à induire une maturation complète que chez 27 % des femelles nullipares, tandis que dans 73 % des cas plusieurs repas devaient être pris pour que les follicules atteignent le stade 5.

Ainsi, malgré le biaisage bien connu de toute étude ne concernant que les spécimens d'élevage, les pourcentages de femelles devant prendre deux, ou plusieurs repas de sang, sont apparus comparables à ceux évalués à partir des dissections immédiates et retardées des femelles sauvages.

En outre, ni le comportement de piqûre, ni le passage par une phase prégravidé ne paraissent avoir été influencés par la fécondation puisque :

- parmi l'ensemble des femelles qui sont restées bloquées, 38 étaient fécondées et 48 étaient toujours vierges,

- parmi l'ensemble des femelles qui ont pris deux repas de sang, 30 étaient fécondées, 30 ne l'étaient pas.

Au cours de cette expérimentation 3, voire 4 repas, ont pu être pris par les femelles nullipares, qu'elles soient fécondées ou non.

1.4. Discussion

L'effectif des femelles nullipares prises sur hommes comprenait 2,6 fois plus de spécimens venant s'alimenter pour la première fois que d'adultes venant, semble-t-il, prendre leur deuxième repas (respectivement 95 femelles « NP 1 » et 37 femelles « NP 2 »).

TABLEAU IV

Premier cycle gonotrophique d'*A. gambiae*. Observation en laboratoire des femelles d'élevage isolées.
 Spermathèque + = Présence spermatozoïdes dans la spermathèque
 Spermathèque - = Femelle non fécondée

173 femelles nullipares :

- 35 femelles non étudiées : 18 femelles desséchées, 17 femelles échappées.

- 138 femelles suivies quotidiennement :

52 ♀ → stade 5	{	+ 14 ♀ après 1 repas de sang 3 ♀ spermathèque + (1 ♀ → 17 œufs) 11 ♀ spermathèque -	86 ♀ n'ont pas dépassé le stade 2 fin et ont été disséquées peu après leur mort	{	+ 50 ♀ ont pris 1 seul repas de sang 24 ♀ spermathèque + 26 ♀ spermathèque -
		+ 33 ♀ après 2 repas de sang 18 ♀ spermathèque + (2 ♀ → 89 et 110 œufs) 10 ♀ spermathèque -			+ 32 ♀ ont pris 2 repas de sang 12 ♀ spermathèque + 20 ♀ spermathèque -
		+ 4 ♀ après 3 repas de sang			+ 4 ♀ ont pris 3 repas de sang 2 ♀ spermathèque + 2 ♀ spermathèque -
		+ 1 ♀ après 4 repas de sang			

Or, si l'on admet que la mortalité quotidienne des femelles nullipares est semblable à celle des pares (où $p = 0,91$, Carnevale et Molinier, 1978) et qu'un jour sépare les deux repas, nous aurions dû observer :

$$95 \times 0,91 = 86,45 \text{ femelles « NP 2 ».}$$

Cette disparité pose un important problème qui peut admettre deux solutions :

- la présence des 37 femelles NP 2 signifierait que $37/86,45 = 42,80 \%$ seulement des femelles nullipares auraient eu besoin de deux repas pour mûrir leurs œufs.

Ce pourcentage est retrouvé par la formule de Brengues et Coz (1973) : pourcentage de femelles faisant un stade prégravidé =

$$\frac{\text{Nombre de femelles IIM} - \text{IIF} \times 100}{\text{Nombre de femelles I. IId} \times p}$$

En considérant l'ensemble des femelles ayant atteint ou dépassé le stade 2 moyen, au moment du repas de sang, on obtient :

$$\frac{37 \times 100}{95 \times 0,91} = 42,80$$

Dans cette option, la faiblesse de l'effectif observé de femelles NP2 proviendrait du fait que, dans 57 % des cas, le premier repas de sang aurait suffi pour que la maturation ovarienne soit complète;

- mais, si l'on admet que toutes les femelles nullipares ont besoin de deux repas de sang, la faiblesse de l'effectif en nullipares 2 proviendrait d'une forte mortalité avant le deuxième repas.

En effet, dans ces conditions, le taux quotidien de survie serait de

$$p = \frac{\text{NP 2}}{\text{NP 1}} = 0,3895$$

autrement dit : 61,05 % des femelles nullipares décèderaient entre les deux repas.

Les deux hypothèses paraissant également plausibles sur le vu des dissections immédiates des femelles sauvages, ce sont les deux expériences réalisées en laboratoire qui vont permettre d'opter pour l'une ou pour l'autre.

Les femelles sauvages, gorgées de nuit, puis conservées un jour en laboratoire, se sont réparties en deux lots :

- 71 % avec des ovaires bloqués et nécessitant un deuxième repas de sang,
- 29 % avec des ovaires évoluant au-delà du stade 2 moyen et destinés à mûrir sans repas supplémentaire.

Ces pourcentages ne correspondent pas à ceux attendus d'après la première hypothèse qui prévoyait respectivement 43 et 57 %.

Par contre, ils correspondent à ceux estimés directement en captures de nuit (respectivement 72 % de femelles NP 1 et 28 % de femelles NP 2).

Ils correspondent également à ceux observés en élevage où un repas a suffi à la maturation chez 27 % des femelles, les autres (73 % des femelles) devant s'alimenter à plusieurs reprises avant de devenir gravides.

Cette concordance des proportions permet d'accepter la deuxième hypothèse et d'envisager la présence d'un stade prégravidé obligatoire chez quelque 70-75 % des femelles nullipares.

Il est alors possible de calculer leur taux quotidien de mortalité (tableau V) qui s'avère être de l'ordre de 0,44 à 0,48, au lieu de 0,10 généralement estimé chez les femelles pares.

Il faudrait préciser la période exacte de cette surmortalité (avant le stade 1 ou entre le stade 1 et 2 début) qui affecte les femelles nullipares avant leur deuxième repas de sang.

Néanmoins, ces deux phénomènes (phase prégravidé obligatoire + surmortalité des ♀ NP 1) constituent un point essentiel à retenir pour l'analyse de la dynamique des populations imaginales.

D'ailleurs, le comportement des femelles nullipares a été largement étudié et le stade prégravidé a été considéré comme obligatoire par Gillies (1954 b), en Tanzanie, par Coz *et al.*, (1961) puis par Chauvet *et al.*, (1964) à Madagascar.

En Haute-Volta, Brengues et Coz (1973) ont calculé un pourcentage de 42 % de femelles faisant un stade

TABLEAU V

Calculs du taux quotidien de survie « p » et du taux quotidien de mortalité « q » des femelles nullipares d'*A. gambiae*.

Nombre de femelles nullipares 1 observées	Pourcentage de femelles faisant un stade prégravidé	Nombre de femelles nullipares 2 calculées	Nombre de femelles nullipares 2 observées	$p = \frac{\text{NP}_2 \text{ observées}}{\text{NP}_2 \text{ calculées}}$	$q = 1 - p$
95	70	66,50	37	$\frac{37}{66,50} = 0,5564$	0,4436
95	75	71,25	37	$\frac{37}{71,25} = 0,5193$	0,4807

CYCLE GONOTROPHIQUE D'*ANOPHELES GAMBIAE* EN AFRIQUE CENTRALE

prégravide tandis qu'Adam *et al.*, (1960), à Pala (Haute-Volta), ont estimé ce pourcentage à 8 %.

Le fait qu'en laboratoire 27 % seulement des femelles soient devenues gravides après un seul repas de sang, remet en question la théorie de l'influence exclusive des réserves nutritives larvaires sur le déclenchement de l'oogénèse chez les femelles nullipares.

Un élément d'origine endogène doit probablement intervenir, lui aussi, et son étude permettra une meilleure compréhension de ces phénomènes de discordance gonotrophique survenant chez les femelles nullipares d'*Anopheles gambiae*.

Il faut noter que ce phénomène physiologique a été observé au plan biologique et correctement perçu au plan mathématique.

Enfin, on peut noter que trois pontes ont été obtenues en laboratoire à partir de femelles d'élevage : 17 œufs ont été émis par une femelle n'ayant pris qu'un repas ; 89 et 110 œufs ont été déposés par des femelles s'étant nourries deux fois.

Au cours d'expériences précédentes de maintien en captivité de femelles sauvages, gorgées sur hommes, nous avons observé des pontes moyennes normales de 140 œufs, pouvant diminuer environ à 95 en cas de rétention de 24 heures (Carnevale et Le Pont, obs. non pub.).

Ceci n'est qu'une première indication et l'étude devra être amplifiée avant de tirer des conclusions définitives sur l'éventuelle fertilité différentielle des femelles d'*Anopheles gambiae*, selon leur âge physiologique.

2. LE CYCLE GONOTROPHIQUE DES FEMELLES PARES

Les comportements des femelles sauvages et pares d'*Anopheles gambiae*, dans le village de Djoumouna, ont fait l'objet d'une série d'études détaillées qui ont permis de préciser les durées moyennes de chacune des trois phases du cycle gonotrophique (Carnevale *et al.*, 1975, 1977 a et b) et d'en déduire un modèle général de leur rythme quotidien de piqûre (Carnevale et Molinier, 1978).

2.1. La recherche de l'hôte après la ponte : Phase 1

2.1.1. MÉTHODES D'ÉTUDE

14 captures de nuit sur sujets humains ont été effectuées en saison des pluies, dans sept maisons du village (deux captures/maison) choisies en fonction de leur dis-

TABLEAU VI

État des reliques folliculaires des femelles pares d'*A. gambiae* prises de nuit au moment de leur repas de sang sur sujet humain.

Lieux de capture (*)	Sacs folliculaires		Sacs ouverts "A"		Sacs en cours de rétraction "B"			Sacs fermés "C"		Sacs ouverts + Sacs fermés	
	NB	%	NB	%	NB	%	i	NB	%	NB	%
Maison 1 10 m	53	80,3	3	4,5				8	12,1	2	3,0
Maison 2 100 m	60	78,9	1	1,3				15	19,7	—	—
Maison 3 300 m	78	75,0	2	1,9				22	21,2	2	1,9
Maison 4 300 m	55	70,5	4	5,1				18	23,1	1	1,3
Maison 5 300 m	70	59,8	6	5,1				36	30,7	5	4,2
Maison 6 500 m	41	58,5	13	18,5				15	21,4	1	1,4
Maison 7 700 m	16	26,6	17	28,3				25	41,6	2	3,3
Total	373	65,32	46	8,06				139	24,34	13	2,28

(*) Par rapport aux étangs.

position par rapport aux bassins de pisciculture qui constituent d'excellents gîtes larvaires permanents (carte 1).

Les femelles d'*Anopheles gambiae*, ainsi prises, ont été immédiatement disséquées et le temps écoulé depuis la ponte a été estimé par l'examen des reliques folliculaires.

On sait que l'intima demeure distendue après le passage de l'œuf et va progressivement se rétracter pour former une dilatation locale complètement fermée; ces dilatations successives traduisent le nombre de pontes effectuées par la femelle (Polovodova, 1949).

La durée de la rétraction est variable selon les conditions climatiques et les espèces mais, en règle générale, elle est de l'ordre d'une journée pour les anophèles de la région tropicale.

Selon le degré de contraction du pédicelle, les femelles ont été classées en l'un des trois stades de Corbet (1964) :

- stade A : sac complètement ouvert = ponte récente,
- stade B : sac à demi rétracté = ponte 8-14 heures auparavant (Shallaby, 1971),
- stade C : sac complètement fermé = ponte 24 heures (au moins) auparavant.

L'examen du pédicelle est généralement rendu difficile par l'extrême fragilité des funicules qui se rompent au moment de l'individualisation des ovarioles. Ce problème a été résolu par l'emploi du Mercryl Laurylé comme milieu de dissection et du Carnoy comme fixateur (Bos-séno et Carnevale, 1974).

2.1.2. RÉSULTATS ET OBSERVATIONS

Nous avons pu préciser l'état des reliques de 571 femelles prises au moment de leur piqûre sur sujets humains (tabl. VI).

Chez 13 femelles, nous avons observé la présence simultanée de sacs ouverts et de sacs fermés confirmant ainsi l'existence de pontes interrompues et reprises 24 heures après (Brun, 1973).

La majorité des femelles (70-80 %) prises dans les maisons proches des gîtes (maisons 1 et 2) ou facilement accessibles (maisons 3 et 4), avaient des sacs ouverts, témoins d'une ponte récente (fig. 2).

Le pourcentage de femelles avec des sacs fermés a nettement augmenté :

- dans la maison 5 (stade C = 30 %) qui est séparée des gîtes par 30 m de broussailles denses;
- et surtout dans la maison 7 (stade C = 40 %) qui appartient au village voisin de Yaka-Yaka. Celui-ci est séparé des étangs de pisciculture par environ 700 m de savane arbustive ainsi que par la rivière Djoumouna et sa forêt-galerie qui peut servir d'écran « retardant » les mouvements des femelles d'anophèles (Gillies et Wilkes, 1978).

Le fait que les conditions topographiques peuvent « retarder » l'alimentation sanguine chez les femelles

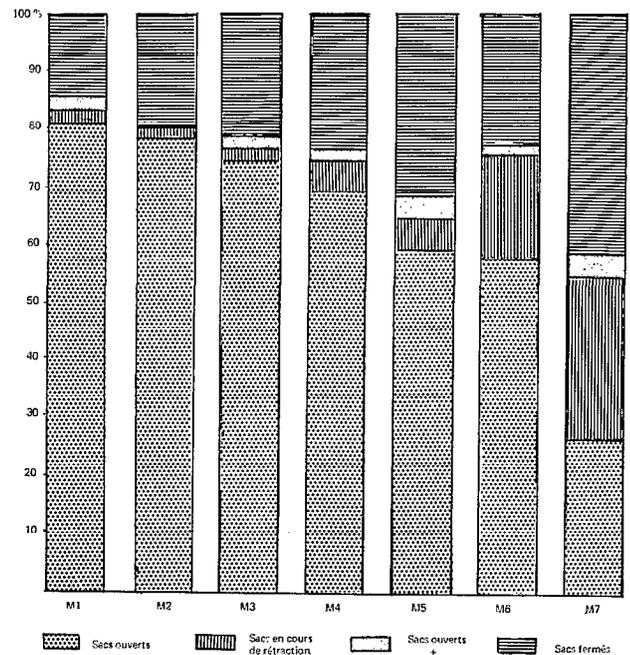


FIG. 2. — Composition de la population agressive d'*Anopheles gambiae* en fonction de la situation des habitations humaines.

« post gravides », à jeun, est confirmé par le pourcentage élevé des femelles avec des sacs en cours de rétraction (stade B) parmi celles prises dans les maisons 7 (stade B = 30 %) et 6 (stade B = 20 %). Celle-ci est située, avec de nombreuses autres maisons, de l'autre côté de la route, à environ 500 m des étangs.

Là aussi on peut penser que les différentes maisons séparant le point de capture des gîtes larvaires ont dû servir d'écran, freinant, ou déviant, les femelles à la recherche d'un repas de sang.

2.1.3. DISCUSSION

Ces observations rejoignent celles de Krafsur (1970) quant à l'existence d'une corrélation certaine entre la disposition des habitations humaines et le temps que mettent les anophèles pour revenir s'alimenter après l'oviposition.

Ceci est évidemment logique et a un certain nombre de conséquences. La durée du cycle gonotrophique pourra varier d'un emplacement à l'autre, suivant sa position par rapport aux gîtes.

A Yaka-Yaka, par exemple, les femelles ont un cycle allongé par rapport aux femelles prises dans les maisons plus facilement accessibles. Dans celles-ci on pourra trouver un fort pourcentage de femelles ayant normalement pondu au crépuscule et revenant s'alimenter peu après,

CYCLE GONOTROPHIQUE D'*ANOPHELES GAMBIAE* EN AFRIQUE CENTRALE

ainsi que les femelles qui ont pondu plus tard, au cours de la nuit mais qui peuvent aussi se nourrir peu après puisque ces maisons sont proches du lieu de ponte.

La réduction des temps de vol des gîtes de ponte au site d'alimentation, et vice versa, va donc augmenter la fréquence des « rotations » donc le rythme des piqûres dans les maisons isolées proches des bassins. Ceci représente un important facteur épidémiologique dont il faut tenir compte lors d'aménagement hydrauliques à usages agricoles (Waddy, 1975; Philippon et Mouchet, 1976).

Par contre, la multiplicité des sources d'alimentation et l'éloignement des maisons, par rapport aux gîtes larvaires, augmentent les temps de vol de la femelle à jeun et réduisent la proportion de femelles pouvant se gorger la même nuit que la ponte.

Ces variations sont à prendre en considération pour les calculs des taux quotidiens de piqûres et de la probabilité journalière de survie des anophèles (Carnevale et Molinier, 1978), ainsi que pour le choix des lieux de capture.

2.2. La digestion du sang et la maturation ovarienne : Phase 2

2.2.1. RAPPELS

Les analyses mathématiques des croissances du folli-

cule et du vitellus, chez les femelles sauvages et pares, gorgées de nuit sur sujet humains et maintenues en captivité (Carnevale *et al.*, 1978b), ont montré que :

- la maturation ovarienne se fait généralement en 35-40 heures;
- la croissance du follicule et celle du vitellus sont des fonctions puissance du temps écoulé depuis l'ingestion du sang, du degré de remplissage du follicule par le vitellus;
- ce degré de remplissage varie de façon exponentielle avec le délai séparant l'alimentation de l'examen (fig. 3);
- il existe une relation linéaire entre les rythmes d'accroissement du follicule et du vitellus lorsque le degré de remplissage est compris entre 30 % et 100 %, c'est-à-dire du stade 2 moyen au stade 5.

Ces formules ont démontré que, dans nos conditions expérimentales, la vitellogenèse et l'oogenèse des femelles pares se sont déroulées de façon régulière, sans stress physiologique notable.

2.2.2. MÉTHODES D'ÉTUDES

La présente étude a concerné les femelles d'*Anopheles gambiae* piquant la nuit les sujets humains et disséquées, soit immédiatement à Djoumouna, soit ultérieurement à Brazzaville.

En outre, les femelles prises de jour, pendant leur phase de repos dans les habitations humaines, ont été

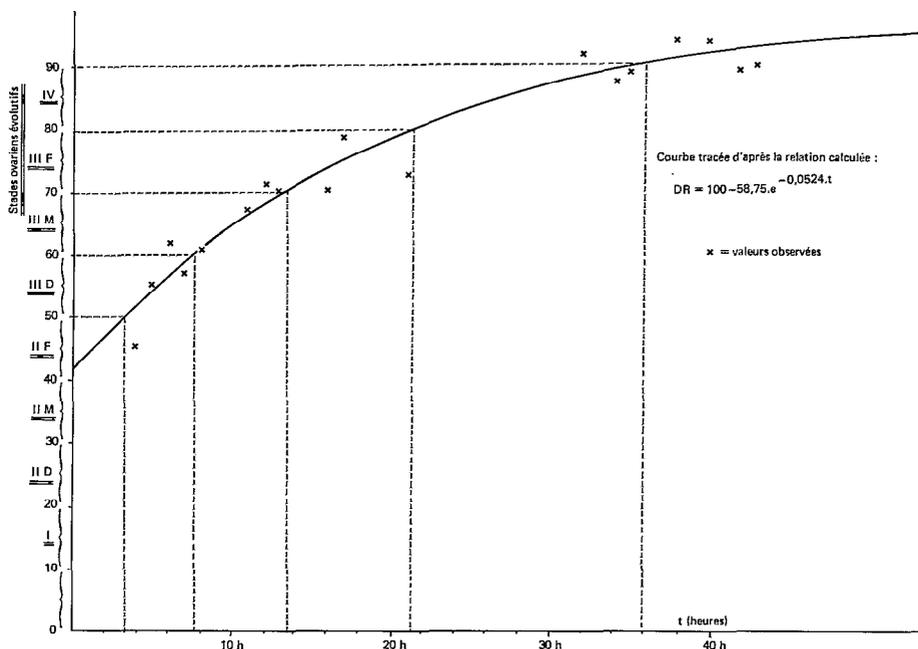


FIG. 3. - Variations du degré de remplissage des follicules des femelles sauvages et pares en fonction du temps écoulé depuis l'ingestion du sang (t).

triées selon leur état physiologique et celles considérées comme bien gorgées ont été immédiatement disséquées pour l'examen de leurs follicules.

2.2.3 RÉSULTATS ET OBSERVATIONS

2.2.3.1. *Etat des follicules des femelles paires au moment de leur repas de sang*

Les dissections immédiates des 703 femelles prélevées en chasse de nuit (tabl. VII) ont montré que :

- 681 femelles (96,8 %) avaient des follicules aux stades 2 moyen-2 fin;
- 16 femelles (2,3 %) avaient des follicules aux stades 3 début-3 moyen-3 fin;
- 6 femelles (0,8 %) étaient gravides;
- aucune femelle n'avait des follicules au stade 4.

Ces observations sont tout à fait classiques et corroborent parfaitement celles réalisées par ailleurs (Cavalié et Mouchet, 1962; Hamon, 1963; Brengues et Coz, 1973; Brun, 1973; Brengues, 1975).

2.2.3.2. *Etat des follicules des femelles paires sauvages, gorgées sur hommes*

Les dissections retardées de 785 femelles « bien gorgées » (tabl. VII) ont montré que :

- 30 heures après le repas, 63,6 % des femelles examinées avaient atteint, ou dépassé, le stade 4, tandis que près de 20 % avaient déjà des œufs pratiquement mûrs;
- tout au long de cette phase de maturation ovarienne l'importance relative de chaque stade évolutif s'est régulièrement modifiée selon la séquence suivante (fig. 4):
 - entre 10 et 15 heures après le repas : prépondérance du stade 3 moyen,
 - entre 15 et 20 heures après le repas : prépondérance du stade 3 fin,
 - entre 20 et 25 heures après le repas : prépondérance du stade 3 fin-4 début,
 - entre 25 et 30 heures après le repas : prépondérance du stade 4 fin,
 - entre 30 et 35 heures après le repas : prépondérance du stade 4 fin-5.

TABLEAU VII

Maturation ovarienne des femelles d'*A. gambiae*, sauvages et paires, prises de nuit sur sujets humains. Les femelles ont été classées en fonction du stade de maturité présentée par la majorité des follicules.

Les % calculés ont été établis d'après la formule où H est exprimé en heures.

$$P = \frac{250}{H^{3/4}}$$

Stades	Heures	Dissections immédiates		Dissections retardées des femelles gorgées														Total	
				5 h		10 h		15 h		20 h		25 h		30 h		35h			
		Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%		
5		6	0,85										2	2,04	14	10,61	17	19,32	39
4 F								1	0,83	1	1,02	39	29,55	27	30,68			68	
4 D				1	0,71	4	4,76	2	1,67	20	20,41	22	16,67	12	13,64			61	
				2	1,63					10	10,20	5	3,79	1	1,14			18	
3 F		4	0,57	2	1,63	6	4,29	11	13,10	53	44,17	18	18,37	12	9,09	3	3,41	109	
				1	0,81			11	13,10	15	12,50	6	6,12	5	3,79	3	3,41	41	
3 M		4	0,57	14	11,38	42	30,00	25	29,76	15	12,50	6	6,12	4	3,04	3	3,41	113	
				3	2,44	9	6,43					7	7,14	1	0,76	4	4,55	24	
3 D		8	1,14	11	8,94	18	12,86	6	7,14	4	3,33	7	7,14	5	3,79	3	3,41	62	
2 F		164	23,33	42	34,15	50	35,71	14	16,67	18	15,00	15	15,31	20	15,15	12	13,64	335	
		86	12,23	11	8,94					5	4,17	3	3,06					105	
2 M		431	61,31	37	30,08	14	10,00	13	15,48	7	5,83	3	3,06	5	3,79	3	3,41	513	
Total		703		123		140		84		120		98		132		88		1488	
Nb. st. 2		681		90		64		27		30		21		25		15			
% st. 2		96,87		73,17		45,71		32,14		25,00		21,43		18,94		17,05			
% calculés				74,77		44,46		32,80		26,43		22,36		19,50		17,37			

CYCLE GONOTROPHIQUE D'ANOPHELES GAMBIAE EN AFRIQUE CENTRALE

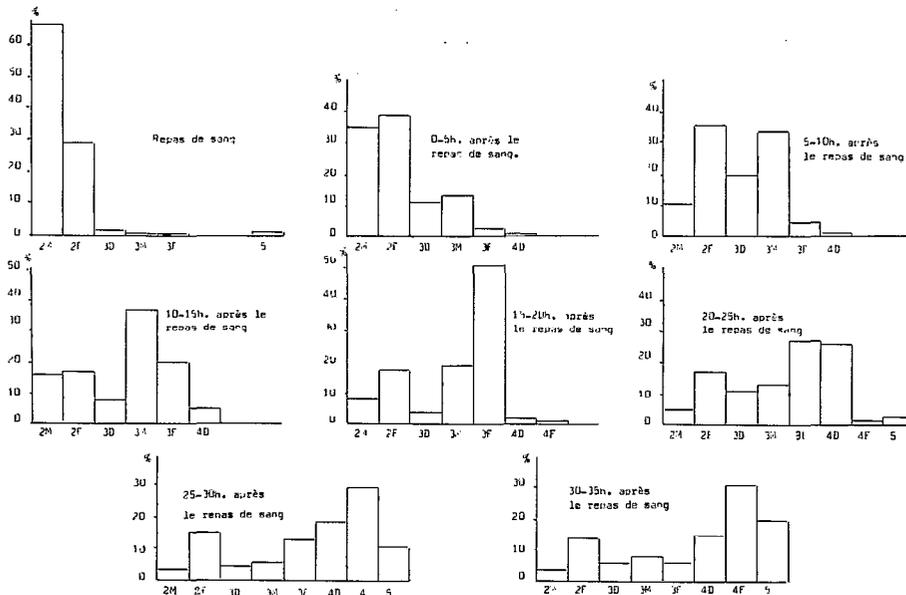


FIG. 4. — Evolution des follicules d'Anopheles gambiae. Fréquences relatives des différents stades évolutifs au cours de la maturation ovarienne.

Cette évolution corrobore les observations de Brun (1973, p. 85, fig. 14) et peut être utilisée pour estimer l'heure approximative du repas de sang à partir des proportions des stades ovariens décelées dans un échantillon de femelles examinées à un moment quelconque de la journée. Dans cette optique, nous avons cherché un critère plus facilement utilisable pour estimer cette « période » de l'ingestion du sang.

Dans ces dissections retardées, on remarque que le pourcentage de femelles, avec des follicules encore aux stades 2 moyen-2 fin (c'est-à-dire avec un degré de remplissage inférieur ou égal à 50 %) a régulièrement diminué selon un rythme traduit par la fonction puissance

$$P = 250 \cdot H^{-0.75} \quad (3)$$

où H représente le nombre d'heures écoulées depuis le repas sanguin.

2.2.3.3. Etat des follicules des femelles paires prises de jour dans les habitations humaines

La formule précédente a été calculée à partir d'un échantillon de femelles sauvages conservées en laboratoire.

Il était intéressant de tester sa validité en l'appliquant aux femelles gorgées prises dans leurs conditions habituelles de maturation ovarienne.

L'échantillon de 795 femelles prélevées dans les maisons entre 08 et 15 heures, se composait de 157 ♀ nullipares et 638 ♀ paires dont 345 ont été considérées

comme « bien gorgées » et ont donc été disséquées au fur et à mesure de leur capture.

Nous avons ainsi obtenu sept « effectifs horaires » dont la composition a été précisée en fonction des stades évolutifs ovariens caractérisés par les degrés de remplissage (tabl. VIII). Dans chaque effectif, nous avons alors calculé le pourcentage de femelles ayant des follicules avec un DR ≤ 50 % et ce pourcentage a été utilisé pour calculer l'heure du repas de sang à partir de la formule (3) modifiée qui devient :

$$H = \frac{250^{4/3}}{P} \quad (4)$$

Les quatre échantillons pris entre 08 et 12 heures permettent de situer l'alimentation sanguine aux environs de 02-03 heures, c'est-à-dire un rythme d'agressivité d'Anopheles gambiae qui est classiquement observé à Djoumouna, comme ailleurs.

Les informations procurées par les effectifs pris après midi ne concordent pas avec les captures de la faune résiduelle matinale et le « décalage » tend même à s'accroître.

En effet, avec les récoltes faites entre 12-13 heures, 13-14 heures et 14-15 heures, on peut calculer des délais de 11 heures, puis 18 et 20 heures. Dans le premier cas, cela situerait l'heure du repas vers les 01-02 heures, ce qui est compatible avec les informations précédentes. Par contre, les deux derniers échantillons situent le repas vers 19-20 heures la veille. Ce décalage serait peut-être dû à certains mouvements d'entrée dans les maisons des femelles

TABLEAU VIII

Examen des follicules ovariens des femelles paires prises gorgées le matin dans les habitations humaines.

Stades	Heures	8 h	9 h	10 h	11 h	12 h	13 h	14 h	15 h	Total	%
2 M		8	11	9	10	12	5	4		59	17,10
2 F		17	19	23	17	16	9	2		103	29,86
3 D		8	16	19	10	12	7	1		73	21,16
3 M		4	3	7	13	15	16	1		59	17,10
3 F		1	1	2	5	8	6	8		31	8,99
4 D					1	4	3	1		9	2,61
4 F					1	1	1	4		7	2,03
5							2	2		4	1,16
Total		38	50	60	57	68	49	23		345	
Nb. st. 2		25	30	32	27	28	14	6		162	
% observé		65,79	60	53,33	47,37	41,18	28,57	26,09			
H ^{3/4}		3,80	4,17	4,69	5,28	6,07	8,75	9,58			
H		5,93	6,70	7,85	9,19	11,08	18,03	20,36			
Délai entre la piqûre et l'examen		6 h	7 h	≈ 8 h	≈ 9 h	≈ 11 h	≈ 18 h	20-21 h			

les normalement au repos à l'extérieur et fuyant les heures chaudes de la journée qui s'accompagnent d'une chute de l'humidité relative (Coz, com. pers.).

Au sujet des mouvements d'entrée et de sortie des femelles, Brengues et Coz (1973) ont établi une formule permettant de calculer le pourcentage de femelles sortant des maisons dans les 24 heures suivant le repas. Appliquée aux effectifs d'*Anopheles gambiae* pris de jour, dans les maisons, cette formule indique une sortie en moins de 24 heures de 85,4 % des femelles gorgées la nuit sur sujets humains.

Ce résultat appelle deux commentaires :

- l'évolution de la maturation ovarienne (fig. 3 et 4) montre que cette sortie intéresse essentiellement les femelles avec des follicules aux stades 3 fin voire 4 début. Ceci pourrait expliquer l'allongement de la durée de ces stades (notamment le stade 4) remarquée dans l'analyse mathématique du degré de remplissage;
- ces pourcentages de femelles, à tendance exophile, sont un élément à considérer dans le cadre d'une éventuelle campagne antipalustre par aspersion intradomiciliaire.

2.2.4. DISCUSSION

La courbe théorique reliant le Degré de Remplissage au temps écoulé depuis le repas de sang, ainsi que les dissections immédiates des femelles prises sur hommes montrent, qu'au moment de leur piqûre, les femelles paires d'*Anopheles gambiae* ont généralement des follicules aux stades 2 moyen-2 fin.

Les conditions climatiques moyennes régnant à Djoumouna (Trouillet *et al.*, 1976) et les observations faites en laboratoire, montrent que la digestion, accompagnée de la maturation ovarienne, se fait en quelque 35-40 heures.

La première partie de cette phase (environ 20 heures) se déroule à l'intérieur des maisons mais un important mouvement de sortie intéresse environ 85 % des femelles semi-gravides (stades 3 fin-4 début) et a lieu dans la soirée, ou la nuit, suivant le repas de sang.

La fin de la maturation (stades 4 et 5) se déroule à l'extérieur et il n'est pas possible de préciser le comportement des femelles semi-gravides :

- repos aux alentours des maisons jusqu'au stade gravide, puis vol vers les lieux de ponte;
- ou vols immédiats, ou progressifs, des femelles semi-gravides vers les gîtes larvaires.

De toute façon, le point essentiel qui apparaît de nos diverses observations, est, qu'en règle générale, moins de deux jours après s'être gorgées de sang humain, les femelles paires d'*Anopheles gambiae* pourront déposer leurs œufs.

Cette durée de maturation des ovaires est tout à fait similaire aux observations réalisées par ailleurs (Mouchet et Gariou, 1957; Coz *et al.*, 1961; Brengues et Coz, 1973; Brengues *et al.*, 1968; Gilies et De Meillon, 1968) et il sera alors intéressant de tester la formule

$$H = \frac{250^{4/3}}{P}$$

dans les différentes situations écologiques d'Afrique Occidentale et Orientale.

2.3. La recherche du gîte de ponte par la femelle gravide : Phase 3

2.3.1. MÉTHODES D'ÉTUDES

Pour estimer le laps de temps séparant la fin de la maturation ovarienne du dépôt des œufs, nous avons déterminé le délai séparant habituellement deux repas de sang successifs.

Ceci a pu être déduit d'une série de marquages-lâchers-recaptures des femelles sauvages, prises de nuit et gorgées sur sujets humains (Carnevale *et al.*, 1977b).

L'expérimentation a été faite dans les deux maisons les plus proches des bassins (maison 1 et sa voisine) qui présentent aussi l'avantage d'être bien isolées des autres habitations.

Le marquage a été réalisé aux environs de 06 heures, selon la technique classique de saupoudrage des femelles par une poudre micronisée fluorescente.

Pour limiter les risques de confusion, quatre couleurs ont été alternativement utilisées.

Les cages regroupant les femelles marquées ont été placées à l'abri, dans une maison en ruines, toute proche, et ont été ouvertes à 8 heures du matin puis définitivement fermées deux heures plus tard.

Les femelles restées prisonnières, ou toujours posées aux environs immédiats (sols, murs...) ont été reprises et, ainsi, n'ont été comptabilisées que les femelles « vigoureuses » ayant pu s'envoler librement.

Ces lâchers ont eu lieu chaque lundi, ou mardi, et une séance de capture de nuit a été organisée chaque nuit suivante, pendant toute la semaine.

Pour amplifier les effectifs de moustiques capturés, nous avons placé un piège lumineux « CDC Miniature Light Trap » dans les chambres à coucher de chaque maison, tandis que deux équipes de cinq captureurs, installés à l'intérieur et à l'extérieur, ont pris les anophèles sur eux-mêmes, au moment de la piqûre.

Tous les moustiques ainsi prélevés ont été immédiatement examinés à l'aide d'une lampe à ultraviolets pour trier les femelles marquées. Celles-ci ont alors fait l'objet d'une dissection complète pour un examen détaillé de tous les organes internes.

2.3.2. RÉSULTATS ET OBSERVATIONS

Sur les 1162 femelles lâchées au cours des sept séances (fig. 5), 44 (soit 3,79 %) ont été recapturées : 38 par les captureurs et 6 par les pièges lumineux (tabl. IX).

A l'époque de l'expérience, la population sauvage d'*Anopheles gambiae* comprenait environ 30 % de femelles nullipares, d'où nous pouvons déduire la composition

de l'effectif lâché, soit approximativement 348 femelles nullipares pour 814 pares.

Les huit femelles nullipares recapturées au cours de leur deuxième repas, ont présenté un stade prégravidique typique.

Sept femelles avaient normalement leurs follicules au stade 2 moyen et 2 n'avaient toujours pas été fécondées au moment de ce deuxième repas.

Les onze femelles pares, reprises sur hommes, la nuit même de leur lâcher, avaient dû être marquées et lâchées, pour la plupart, après un repas insuffisant et elles venaient prendre un repas complémentaire pour finir leur cycle.

Les deux femelles pares prises par les pièges lumineux, pendant la nuit, au moment de leur sortie des maisons, 24 heures après leur lâcher, avaient leurs ovaires aux stades 3 moyen-3 fin.

Ceci confirme les conclusions précédentes quant au comportement exophile des femelles semi-gravidiques d'*Anopheles gambiae*, à Djoumouna, ainsi que leur rythme de maturation des follicules.

Ce rythme est également confirmé par l'observation d'une femelle semi-gravide (n° 16), capturée sur homme 24 heures après son lâcher et d'une femelle gravide (n° 3) également prise sur homme 48 heures après son lâcher et venant s'alimenter peu avant la ponte. Ce comportement est peu fréquent mais bien connu.

Les 14 femelles pares reprises au cours de la seconde nuit, après le lâcher, avaient toutes des sacs folliculaires bien ouverts et avaient donc pondé peu de temps auparavant. Elles avaient des follicules au stade 2 moyen-2 fin mais deux spécimens avaient des follicules déjà au stade 3 moyen.

Ces femelles ont donc accompli leur cycle complet, du repas au repas, en deux jours.

Deux femelles ont été reprises au moment de leur repas sur sujets humains, la troisième nuit après leur lâcher.

Ce retard de 24 heures doit être imputé à une rétention de ponte par la femelle gravide plutôt qu'à un allongement de la période de recherche de l'hôte puisque les sacs folliculaires étaient bien ouverts (femelle n° 11).

Cinq autres femelles ont été reprises les 4^e nuit (femelles n° 24 et 29), 6^e nuit (femelle n° 41) et 7^e nuit (femelles n° 22 et 23), après le lâcher.

Les trois spécimens qui ont pu être disséqués ont montré des follicules aux stades 2 moyen-2 fin et 3 début).

Il est difficile de statuer sur le comportement que ces spécimens ont pu avoir entre leur lâcher et leur recapture mais on peut noter que ceux, pris sur hommes la 7^e nuit, avaient des sacs folliculaires bien fermés et des follicules normalement développés (2 moyen-2 fin-3 début).

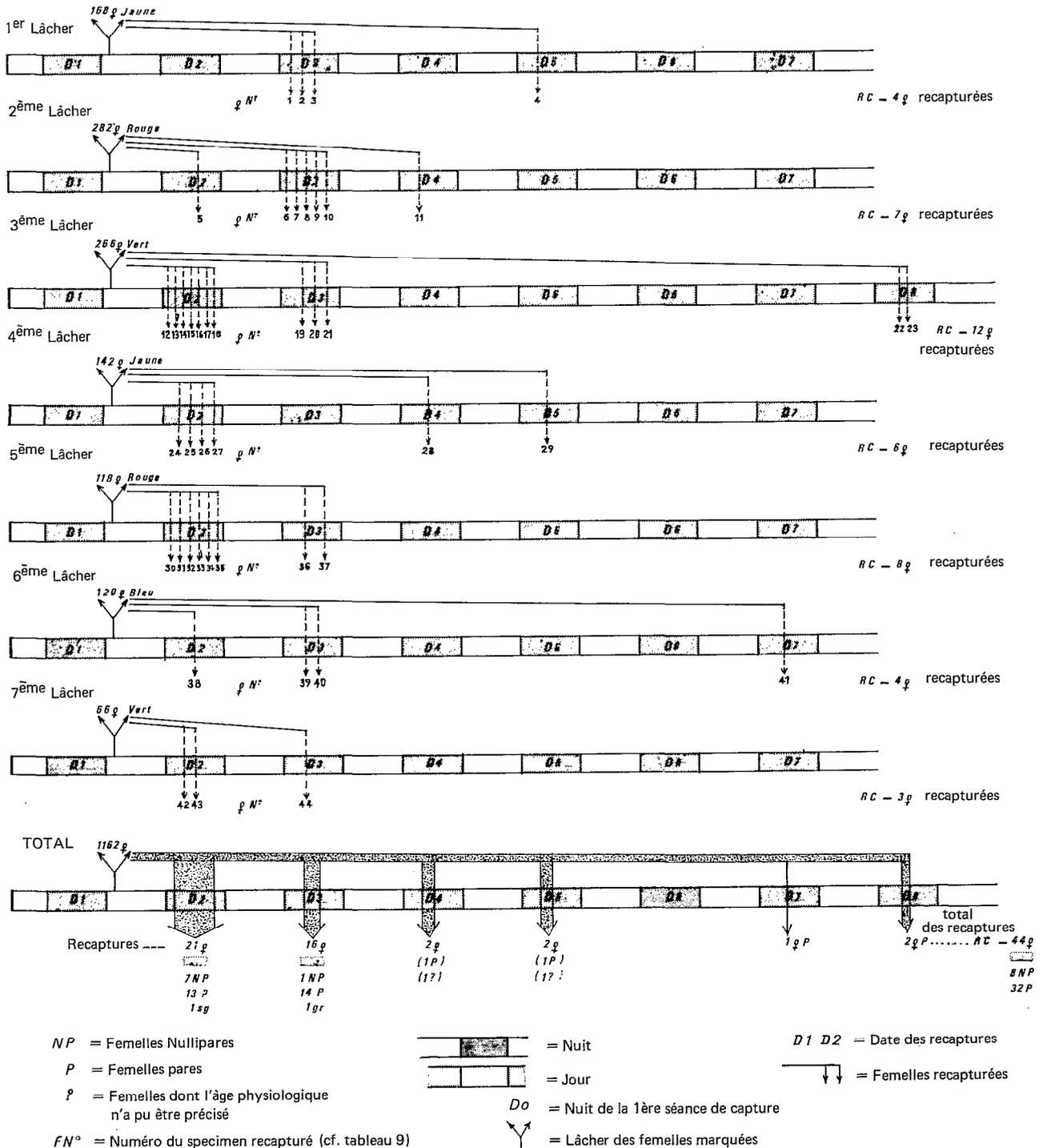


FIG. 5. — Marquages, lâchers, recaptures des femelles sauvages d'*A. gambiae* à Djoumouna.

TABLEAU IX

♀ N°	Recapturées le jour	Méthode RC	Etat physiologique	Follicules	Sacs Follicules	Ovaires	Sperma-thèque	Estomac	Intestins	
5	1	H.i.	A j	2 M		NP	+	+	+	1
30	1	H.i.	gg	2 D - 2 M		NP	+	+	+	1
32	1	H.i.	A j	2 D - 2 M		NP	+	+	+	1
17	1	H. ext.	A j	2 M		NP	+	+	+	1
31	1	H. ext.	gg	2 D		NP	+	±	+	1
33	1	H. ext.	A j	2 D - 2 M		NP	+	+	+	1
43	1	CDC	A j	2 M		NP	+	+	+	1
12	1	H.i.	F gg	2 F	A	P	+	S.N.	±	2
14	1	H.i.	gg	3 F	B	P	+	S.R.	+	3
18	1	H.i.	F gg	2 M	A	P	+	S.R.	+	2
34	1	H.i.	F gg	3 M	C	P	+	+	+	4
35	1	H.i.	F gg	3 M	C	P	+	+	+	4
15	1	H. ext.	A j	2 F	A	P	+	±	+	2
27	1	H.i.	A j	2 F - 3 D	C	P	+	±	±	5
42	1	H.i.	A j	2 F	C	P	+	S.N.	+	5
24	1	H. ext.	F gg	2 M	C	P	+	S.N.	+	5
25	1	H. ext.	gg	2 M	C	P	+	S.N. + R	+	5
26	1	H. ext.	A j	2 F	C	P	+	±	±	5
16	1	H. ext.	A j	4	C	P				6
13	1	CDC	A j	3 F	C	P	+	±	±	7
38	1	CDC	F gg	3 D - 3 M	C	P	+	S.N. + N	++	7
8	2	H.i.	A j	2 M		NP	+	±	+	8
1	2	H.i.	A j	2 F	A	P	+	+	+	9
2	2	H.i.	A j	2 F	A	P	+	+	+	9
19	2	H.i.	F gg	2 M - 2 F	A	P	+	S.R.	+	9
20	2	H.i.	A j	2 M - 2 F	A	P	+	±	+	9
36	2	H.i.	gg	2 F - 3 D	A	P	+	S.N.	++	9
39	2	H.i.	A j	2 M - 2 F	A	P	+	±	+	9
6	2	H. ext.	gg	3 M	A	P	+	S.R.	+	9
7	2	H. ext.	A j	2 M - 2 F	A	P	+	±	+	9
9	2	H. ext.	A j	3 M	A	P	+	S.N.	+	9
10	2	H. ext.	A j	2 M - 2 F	A	P	+	±	++	9
21	2	H. ext.	A j	2 M - 2 F	A	P	+	±	+	9
37	2	H. ext.	A j	2 F	A	P	+	S.N.	++	9
40	2	H. ext.	A j	2 M	A	P	+	±	+	9
44	2	H. ext.	A j	2 M - 2 F	A	P	+	S.R. + N	+	9
3	2	H. ext.		5						10
11	3	H.i.	gg	2 M - 2 F	A	P	+	S.R. + N	+	11
28	3	H. ext.	A j	perdue						11
4	4	CDC	A j	2 F	A	P	+		+	12
29	4	CDC	A j	perdue						12
41	6	CDC	?	?	?	?	?	?	?	
23	7	H.i.	F gg	3 D	C	P	+	±	+	
22	7	H. ext.	F gg	2 M - 2 F	C	P	+	S.N.	+	

1) ♀ prégravides prises au moment du deuxième repas de sang du premier cycle.

2) ♀ prises au moment de leur repas de sang normal, peu après la ponte (sacs ouverts) mais colorées sans doute après le deuxième repas du cycle précédent.

(♀ prégravides nullipares ou pares au moment du marquage ?)

H.i. = ♀ capturées sur homme à l'intérieur des maisons.

H. ext. = ♀ capturées sur homme à l'extérieur des maisons.

3) Deuxième repas d'une femelle prégravide pare.

4) ♀ pares faisant un stade prégravide.

5) Repas complémentaires des femelles colorées et lâchées alors qu'elles n'avaient dû prendre qu'un repas, insuffisant pour stimuler le processus de maturation ovarienne.

6) ♀ semi gravides assoiffées.

7) ♀ en cours de digestion, prises par les pièges lors de leur sortie « normale » des maisons.

8) Deuxième repas de sang d'une femelle prégravide nullipare.

9) ♀ ayant présenté un délai de 48 heures entre deux repas successifs et venant se gorger sur hommes peu après avoir déposé leurs œufs (sacs folliculaires ouverts).

10) ♀ « assoiffées ».

11) ♀ ayant présenté un cycle de trois jours entre deux repas.

12) ♀ prises peu après la ponte, au cours de leurs vols à la recherche d'un repas de sang.

2.3.3. DISCUSSION

Par rapport aux autres expériences du même type (Gillies, 1961; Chauvet, 1969; Brengues et Coz, 1973), il apparaît que le pourcentage de femelles recapturées est élevé (3,8 %).

Ceci est dû à l'emploi de moustiques sauvages, lâchés dans leur biotope naturel et dans un site particulièrement propice (maisons relativement bien isolées, proches des gîtes; population humaine groupée et ne pratiquant pas d'élevage...).

Par ailleurs, la poudre micronisée ne paraît guère altérer les potentialités physiologiques habituelles des femelles puisque deux d'entre elles ont été reprises une semaine après leur lâcher.

L'analyse des dissections des individus recapturés montre que :

- les femelles nullipares ont eu une phase prégravidique typique avec la prise d'un deuxième repas de sang lorsque les ovaires sont au stade 2 moyen;
- certaines femelles pères peuvent également prendre deux repas au cours du même cycle mais ce phénomène ne paraît concerner qu'une très faible proportion de la population;
- la concordance gonotropique a été de règle chez la majorité des femelles pères qui se sont généralement alimentées tous les deux jours avec des ovaires normalement aux stades 2 moyen ou plus. Dans ce cas, il apparaît que la femelle gravide doit déposer ses œufs peu après qu'ils aient atteint leur maturité complète;
- un rythme de trois jours a été décelé et a intéressé un faible pourcentage de femelles (12,5 %).

Dans notre expérience, cet allongement du cycle a été dû à une rétention des œufs par la femelle gravide et non à un retard pris par la femelle, à jeun, à la recherche d'un repas de sang puisque les sacs étaient encore ouverts.

Il faut remarquer que dans cette maison 1 le pourcentage de femelles à jeun, présentant un retard de 24 heures après la ponte avant de venir piquer (12,1 % de femelles, stade C), est comparable à celui des femelles gravides déposant leurs œufs 24 heures après qu'ils soient mûrs. Et ceci est tout à fait logique puisque, dans un cas comme dans l'autre, il s'agit d'un comportement de vol conditionné par un facteur physiologique et dépendant des mêmes conditions topographiques.

3. CONCLUSION

A partir des informations recueillies dans la présente étude et des nombreuses observations réalisées par ailleurs, on peut estimer les durées des différentes phases des cycles gonotropiques d'*Anopheles gambiae* à Djoumouna (fig. 6).

Après l'éclosion imaginale, généralement éocrepuscu-

laire (Goma, 1959; Jones et Reiter, 1975; Reiter et Jones, 1975), on peut envisager trois séquences :

- (a) Pour les 70-75 % des femelles destinées à avoir une phase prégravidique, le premier repas de sang est pris :
 - la première nuit suivant l'émergence (environ 36 heures) pour 65 % d'entre elles; elles ont alors des follicules au stade 1 début;
 - la seconde nuit après l'émergence (environ 48 heures) pour 35 % d'entre elles; elles ont alors des follicules au stade 2 début.

Ce premier repas est digéré en 24 heures et permet aux follicules des femelles « prégravides » d'atteindre le stade 2 moyen.

Le deuxième repas, quantitativement normal, peut être pris au cours de la deuxième ou troisième nuit suivant l'émergence. Il est digéré en moins de 48 heures et permet la maturation complète des ovaires. Ces femelles « primigravides » pourront effectuer leur première ponte la 4^e ou 5^e soirée, après leur éclosion imaginale.

Si ce deuxième repas n'était pas suffisant, un troisième, voire un quatrième, pourrait être pris avec, au moins, 24 heures d'intervalle entre chacun.

Cette alimentation sanguine ne paraît pas être influencée par la fécondation.

- (b) Pour les 25-30 % des femelles ne passant pas par un stade prégravidique (réserves larvaires suffisantes, repas glucosé, facteur hormonal endogène...), le premier repas sanguin ne doit être pris qu'au cours de la seconde nuit, lorsque les follicules ont atteint le stade de repos (2 moyen).

La digestion de ce repas complet et la maturation des ovaires se fera en 48 heures, de telle sorte que la première ponte aura lieu, au plus tôt, au cours de la 4^e soirée suivant l'émergence.

- (c) Toutefois, le premier repas, pris lorsque les ovaires n'ont pas encore atteint le stade de repos, pourrait, exceptionnellement, permettre une maturation ovarienne complète mais celle-ci (du stade 1 au stade 5) serait alors rallongée et durerait trois jours (Gillies, 1954a). Auquel cas la première ponte se ferait le quatrième soir après l'émergence.

Après cette oviposition, qui a lieu généralement au crépuscule (Haddow et Ssenkubuge, 1962), ou au cours des deux premières heures suivant le coucher du soleil (Brun, 1973), les femelles pères « post gravides » et à jeun peuvent avoir deux comportements : pour la plupart, elles reviennent s'alimenter peu après la ponte mais certaines attendent 24 heures, au moins, avant de se nourrir à nouveau de sang humain.

Ce comportement varie en fonction de la disposition des maisons par rapport aux gîtes larvaires et le « retour » est normalement plus rapide dans les maisons proches des lieux de ponte.

CYCLE GONOTROPHIQUE D'ANOPHELES GAMBIAE EN AFRIQUE CENTRALE

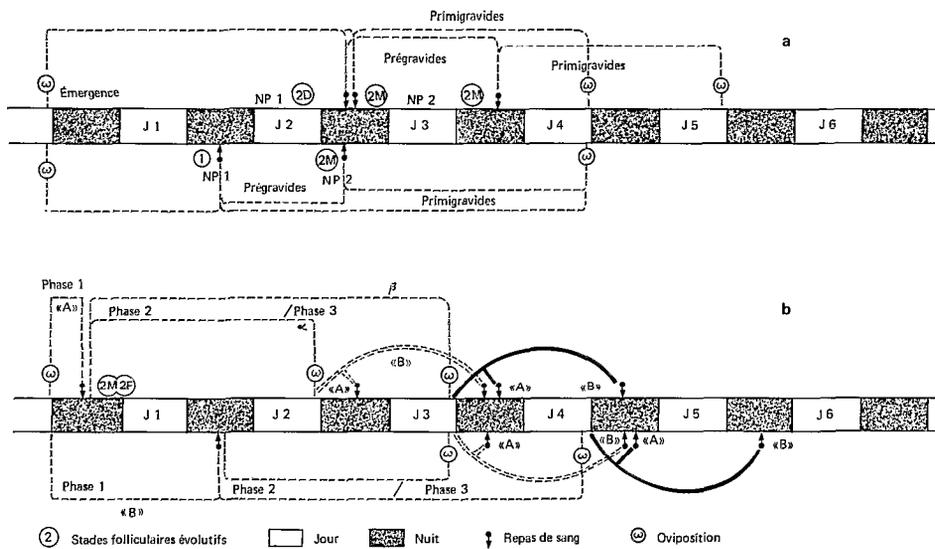


FIG. 6. - a : le cycle gonotrophique des femelles nullipares d'*Anopheles gambiae*

- ⊙ NP1 : femelle nullipare au premier repas de sang
- ⊙ NP2 : femelle nullipare au deuxième repas de sang
- 2D : stade folliculaire 2 début
- 2M : stade folliculaire 2 moyen

b : le cycle gonotrophique des femelles pares d'*Anopheles gambiae*

- Phase 1 : recherche de l'hôte après la ponte
 - A = alimentation la même nuit que la ponte
 - B = alimentation 24 h après la ponte
- Phase 2 : digestion du repas de sang accompagné de la maturation ovarienne
- Phase 3 : recherche d'un gîte de ponte favorable :
 - = ponte peu après la fin de la maturation
 - = rétention de ponte par la femelle gravide.

Environ 75 % des femelles d'*Anopheles gambiae*, capturées sur hommes dans les maisons de l'agglomération Djoumouna-Yaka-Yaka, avaient pondu puis étaient venues s'alimenter la même nuit.

Au moment de ce repas, toutes les femelles pares ont leurs ovaires aux stades 2 moyen-2 fin (ou plus) et leur maturation se fait en 35-40 heures ainsi que les conditions climatiques le laissent prévoir (Gillies, 1953).

La régularité de l'ovogénèse a permis de quantifier les différents stades évolutifs, en fonction de l'importance du vitellus qui a servi à définir le « degré de remplissage ».

Ce nouveau critère a confirmé sa validité sur les plans biologique et mathématique (Carnevale *et al.*, 1978b), aussi bien chez les femelles nullipares que chez les pares.

La régularité de l'ovogénèse a aussi permis d'établir une nouvelle formule permettant d'évaluer les heures d'agressivité nocturne maximale à partir de la composition d'échantillon de la faune résiduelle matinale.

Cette méthode de capture et les examens de l'évolution des ovaires des femelles sauvages, a démontré la

nette tendance à l'exophilie qui intéresse 85 % des femelles semigravides.

Cette tendance à quitter les maisons au cours de la seconde moitié du cycle gonotrophique est bien connue (Gillies, 1954c) et doit être analysée dans chaque situation épidémiologique.

Les expériences de marquages-lâchers-recaptures des femelles sauvages ont montré que 87,5 % des femelles pares se nourrissaient tous les deux jours, dans les maisons proches des gîtes, et que les œufs étaient pondus peu après leur maturation complète.

Toutefois un cycle de trois jours a pu être remarqué chez 12,5 % des femelles pares et cet allongement était dû à la rétention des œufs par la femelle gravide.

Il semble toutefois que ce phénomène de rétention affecte à peu près le même pourcentage de femelles que le phénomène de « retard » après la ponte.

Ceci est logique puisque, dans les deux cas, il s'agit d'un comportement de vol qui dépend du trajet : site d'alimentation-gîte de ponte.

Toutes ces composantes du cycle gonotrophique des femelles pares ont été intégrées dans une formule générale permettant de calculer le rythme quotidien de piqûre « L » (Carnevale et Molinier, 1978) en fonction :

- du pourcentage de femelles s'alimentant peu après la ponte : α ;
- du pourcentage de femelles déposant leurs œufs peu après leur maturité : A

$$L = \frac{1}{4 - A - \alpha}$$

En appliquant cette formule aux observations réalisées dans la maison la plus proche des bassins piscicoles (n° 1), on obtient :

$$L = \frac{1}{4 - 0,878 - 0,875} = 0,445$$

d'où un cycle gonotrophique de $1/L = 2,247$ jours.

En prenant les valeurs moyennes des différents paramètres pour l'ensemble de la population d'*Anopheles gambiae* piquant l'homme à Djoumouna, on calcule :

$$L = \frac{1}{4 - 0,75 - 0,75} = 0,40$$

soit un cycle gonotrophique moyen de $1/L = 2,4$ jours.

C'est la valeur qui sera désormais adoptée pour la durée moyenne du cycle gonotrophique des femelles pares d'*Anopheles gambiae* dans ce village.

Manuscrit reçu au Service des Publications de l'O.R.S.T.O.M., le 20 juin 1979.

REFERENCES

- ADAM (J.P.), HAMON (J.) et BAILLY-CHOUMARA (H.). - Observations sur la biologie et le pouvoir vecteur d'une population d'*Anopheles gambiae* résistante à la dieldrine en Haute-Volta. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 53 : 1043-1053.
- BEKLEMISHEV (W.N.), 1940. - Le cycle gonotrophique, principe de base de la biologie d'*Anopheles*. *Yop. Fiziol. Ekol. Malar. Komara*, 1, 3.
- BOSSENSO (M.F.) et CARNEVALE (P.), 1974. - Une technique simple de mise en évidence des sacs folliculaires. *Rapp. ronéo., ORSTOM/BRAZZA/EMP/MFB/74-159*.
- BRENGUES (J.), 1975. - La filariose de Bancroft en Afrique de l'Ouest. *Mém. O.R.S.T.O.M.*, n° 79, 299 p.
- BRENGUES (J.) et COZ (J.), 1973. - Quelques aspects fondamentaux de la biologie d'*Anopheles gambiae* Giles, (Sp.A) et d'*Anopheles funestus* Giles, en zone de savane humide d'Afrique de l'Ouest. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XI, n° 2; 107-126.
- BRENGUES (J.), SUBRA (R.), MOUCHET (J.) et NELSON (G.S.), 1968. - La transmission de *Wuchereria bancrofti* Cobbold en Afrique Occidentale. Étude préliminaire d'un foyer de savane nord-guinéenne. *Bull. Org. Mond. Santé*, 38; 595-608.
- BRUN (L.O.), 1973. - Contribution à l'étude biologique et écologique des vecteurs majeurs de paludisme en Afrique de l'Ouest. Thèse Doct.-ing. Rennes, sér. C, n° 36, 223 pp.
- CARNEVALE (P.), BOSSENSO (M.F.), LANCIEN (J.) et LE PONT (F.), 1975. - Studies on the gonotrophic cycle of *Anopheles gambiae* A (Diptera : Culicidae). I. - Time elapsing between oviposition and feeding. *Rapp. ronéo., O.R.S.T.O.M./BRAZZA/EMP/PC/75-174*.
- CARNEVALE (P.), MOLINIER (M.) et BOSSENSO (M.F.), 1977 a. - Étude du cycle gonotrophique d'*Anopheles gambiae* A (Diptera : Culicidae). Phase II : la croissance du follicule au cours de la maturation ovarienne. *Rapp. ronéo., O.R.S.T.O.M./BRAZZA/EMP/PC/77-189*.
- CARNEVALE (P.), BOSSENSO (M.F.), LANCIEN (J.), LE PONT (F.) et MOLINIER (M.), 1977 b. - Studies on the gonotrophic cycle of *Anopheles gambiae* A (Diptera : Culicidae). Phase III : Breeding site seeking phase by gravid females. *Rapp. dactylo., O.R.S.T.O.M./BRAZZA/EMP/PC/77-192*.
- CARNEVALE (P.) et MOLINIER (M.), 1978. - Le cycle gonotrophique et le rythme quotidien des piqûres d'*Anopheles gambiae* (Giles), 1902 et *Anopheles nili* (Theobald), 1904. *Rapp. dactylo. O.R.S.T.O.M./BRAZZA/EMP/PC/78-193*.
- CARNEVALE (P.), BOSSENSO (M.F.) et ZOULANI (A.), 1978 a. - Étude du cycle gonotrophique d'*Anopheles nili* (Theo.), 1904. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XVI, n° 1 : 43-52.
- CARNEVALE (P.), MOLINIER (M.) et BOSSENSO (M.F.), 1978 b. - Relations mathématiques dans le développement des follicules ovariens d'*Anopheles gambiae* (Diptera : Culicidae). *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XVI, n° 2 : 121-127.
- CARNEVALE (P.), FREZIL (J.L.), BOSSENSO (M.F.), LE PONT (F.) et LANCIEN (J.), 1978 c. - Étude de l'agressivité d'*Anopheles gambiae* A en fonction de l'âge et du sexe des sujets humains. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 56, 1 : 147-154.
- CAVALIE (P.) et MOUCHET (J.), 1962. - Les campagnes expérimentales d'éradication du paludisme dans le nord de la République du Cameroun. Première partie : Les vecteurs et l'épidémiologie du paludisme dans le Nord Cameroun. *Méd. trop.*, 21, 847-870.
- CHAUVET (G.), 1969. - Étude, en particulier au moyen de radioisotopes, sur l'éthologie et la physiologie comparée des espèces A et B du complexe *Anopheles gambiae* dans une zone de sympatrie à Madagascar. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. VII, n° 1 : 61-91.
- CHAUVET (G.), COZ (J.), GRUCHET (H.) et GRJEBINE (A.), 1964. - Contribution à l'étude biologique des vecteurs du paludisme à Madagascar, résultats de 5 années d'étude (1958-1962). *Méd. trop.*, 24, 1 : 27-44.
- CHRISTOPHERS (S.R.), 1911. - The development of the egg follicle in anopheline. *Paludism*, 2 : 73-88.
- CLEMENTS (A.N.), 1963. - The Physiology of Mosquitoes. *Pergamon Press Book*, 393 pp.
- CORBET (P.S.), 1964. - The time elapsing between oviposition and biting in the mosquito *Mansonia (Coquillettidia) fuscopennata* (Theo.). *Proc. R. ent. Soc. Lond. (A)*, 39, 7-9 : 108-110.
- COVELL (G.), RUSSELL (P.F.) et SWELLENGREBEL (N.H.), 1953. - Malaria Terminology. *Wld. Hlth. Org., Monogr. Ser.* 13, 82 pp.
- COZ (J.), GRUCHET (H.), CHAUVET (G.) et COZ (M.), 1961. - Estimation du taux de survie chez les Anophèles. *Bull. Soc. Path. exot.*, 54, 6 : 1353-1358.

CYCLE GONOTROPHIQUE D'*ANOPHELES GAMBIAE* EN AFRIQUE CENTRALE

- DETINOVA (T.S.), 1944. — Détermination de l'âge physiologique d'*Anopheles* femelle d'après les modifications du réseau trachéen des ovaires. *Méd. Parazit., Moscou*, 14, 45.
- DETINOVA (T.S.), 1963. — Méthodes à appliquer pour classer par groupes d'âge les Diptères présentant une importance médicale. *Org. Mond. Santé. sér. Monogr.* n° 47, 220 pp.
- FILL (A.), 1976. — Oogenesis in the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Cell Tiss. Res.*, 167 : 23-35.
- GERMAIN (M.), HERVÉ (J.P.) et GEOFFROY (B.), 1974. — Evaluation de la durée du cycle gonotrophique d'*Aedes africanus* (Theobald) vecteur potentiel de fièvre jaune dans une galerie forestière du Sud de la République Centrafricaine. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XII, n° 2 : 127-134.
- GILLIES (M.T.), 1953. — The duration of the gonotrophic cycle in *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus*, with a note on the efficiency of hand catching. *East Afr. Med. J.*, 30, 4 : 129-135.
- GILLIES (M.T.), 1954 a. — The recognition of age-group within populations of *Anopheles gambiae* by the pregravid rate and the sporozoite rate. *Ann. trop. med. Parasit.*, 48 : 58-74.
- GILLIES (M.T.), 1954 b. — Ovarian development in wild populations of *Anopheles gambiae*. *Proc. 5th Int. Cong. Med. Trop. Paludisme, Istanbul 1954*.
- GILLIES (M.T.), 1954 c. — Studies in house leaving and outside resting of *Anopheles gambiae* Giles and *Anopheles funestus* Giles in East Africa. II The exodus from houses and the house resting population. *Bull. Ent. Res.*, 45, 375-387.
- GILLIES (M.T.), 1955. — The pregravid phase of ovarian development in *Anopheles funestus*. *Ibid.*, 49 : 320-325.
- GILLIES (M.T.), 1961. — Studies on the dispersion and survival of *Anopheles gambiae* Giles in East Africa, by means of marking and release experiments. *Bull. ent. Res.*, 52, 1 : 99-127.
- GILLIES (M.T.) et DE MEILLON (B.), 1968. — The Anopheline of Africa South of the Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). Second Edition. *Publ. South Afr. Inst. Med. Res.*, 54, 343 p.
- GILLIES (M.T.) et WILKES (T.J.), 1978. — The effect of high fences on the dispersal of some West African mosquitoes (Diptera : Culicidae). *Bull. ent. Res.*, 68, 401-408.
- GILLIES (M.T.), HAMON (J.), DAVIDSON (G.), DE MEILLON (B.) et MATTINGLY (P.F.), 1961. — Guide d'Entomologie appliquée à la lutte anti-paludique dans la région africaine de l'O.M.S. *Org. Mond. Santé, Bureau régional, Brazzaville*.
- GOMA (L.K.H.), 1959. — Periodic pupation in *Anopheles gambiae* Giles. *J. ent. Soc. Sth. Afr.*, 22 : 275-276.
- HADDOW (A.J.) et SSENKUBUGE (Y.), 1962. — Laboratory observations on the oviposition cycle in the mosquito *Anopheles (Cellia) gambiae*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 56 : 352-355.
- HAMON (J.), 1963. — Étude de l'âge physiologique des femelles d'anophèles dans les zones traitées au D.D.T., et non traitées, de la région de Bobo-Dioulasso, Haute-Volta. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 28 : 83-109.
- HOCKING (K.S.) et MAC INNESS (D.G.), 1948. — Notes on the bionomics of *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus* in East Africa. *Bull. ent. Res.*, 39, 453-465.
- KRAFSUR (E.S.), 1970. — Estimation on the theoretical daily survival rate in some malaria vectors in a lowland region of Ethiopia. *Parassitologia*, 12, 1 ; 47-61.
- JONES (M.D.R.) et REITER (P.), 1975. — Entrainment of the pupation and adult activity rhythms during development in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Nature, London*, 254 ; 242-244.
- LE BERRE (R.), 1966. — Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mém. O.R.S.T.O.M., Paris*, n° 17, 204 p.
- LEWIS (D.J.), 1958. — The recognition of nulliparous and parous *Anopheles gambiae* by examining the ovarioles. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 52 : 456-461.
- LUMSDEN (W.H.R.), 1951. — Probable vectors of yellow fever virus, from monkey to man, in Bwamba County, Uganda. *Bull. ent. Res.*, 42 : 317-330.
- MACAN (T.T.), 1950. — The anopheline mosquitoes of Iraq and North Persia. *Mem. Lond. School Hyg. Trop. Med.*, 7 : 109-223.
- MAC DONALD (G.), 1957. — The epidemiology and control of malaria. *London, Oxford University Press*.
- MER (G.G.), 1936. — Experimental study on the development of the ovary in *Anopheles elutus*, Edw. (Dipt. Culicidae). *Bull. ent. Res.*, 27 : 351-359.
- MOUCHET (J.) et GARIOU (J.), 1957. — Exophilie et exophagie d'*Anopheles gambiae* Giles, 1902, dans le Sud Cameroun. *Bull. Soc. Path. exot.*, 50 : 446-461.
- MUIRHEAD-THOMSON (R.C.), 1948. — Studies on *Anopheles gambiae* and *Anopheles melas* in and around Lagos. *Bull. ent. Res.*, 38 : 527-558.
- PHILIPPON (B.) et MOUCHET (J.), 1976. — Répercussion des aménagements hydrauliques à usage agricole sur l'épidémiologie des maladies à vecteurs en Afrique Intertropicale. *Colloque International : l'eau et les activités agricoles, Paris 3-5 mars 1976, Cahiers du C.E.N.E.C.A.*, 3213.
- POLOVODOVA (V.P.), 1949. — The determination of the physiological age of female *Anopheles*, by the number of gonotrophic cycles completed. *Med. Parasit., Moscou*, 18 : 352-355.
- REITER (P.) et JONES (M.D.R.), 1975. — An eclosion timing mechanism in the mosquito *Anopheles gambiae*. *J. Ent. (A)*, 50, 3 : 161-168.
- SHALABY (A.M.), 1971. — Changes in the ovaries of *Anopheles multicolor* and *Anopheles pharoensis* (Diptera : Culicidae) following oviposition. *Sonderbruch aus Bd*, 69, H.2, S : 187-197.
- SUBRA (R.), 1972. — Études écologiques sur *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, 1828 (Diptera : Culicidae) dans une zone urbaine de savane soudanienne Ouest Africaine. Longévité et déplacements d'adultes marqués avec des poudres fluorescentes. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér., Ent. méd. et Parasitol.*, vol. X, n° 1 : 3-36.
- TROUILLET (J.), MAKANY (L.), CROS (B.) et GRILLOT (J.P.), 1976. — Recherches bioécologiques dans la région de Yaka-Yaka (Congo). 1 — Présentation du milieu. *Annl. Univ. Brazzaville*, 12, série C.
- WADDY (B.B.), 1975. — Mosquitoes, malaria and man. *Man Made Lakes and Human Health; Stanley N.F. et Arpers M.P. Edit.* : 7-20.