

9 JUL. 1963



**OBSERVATIONS SUR LA BIOLOGIE
 ET LA SENSIBILITÉ AUX INSECTICIDES
 D'ANOPHELES MELANOON SUBALPINUS
 HACKETT ET LEWIS, 1935 EN CAMARGUE**

Par J. MOUCHET, J. RAGEAU, J. BRENGUES et R. SUBRA (*) (**)

INTRODUCTION

Le complexe *maculipennis* est représenté en Camargue par la sous-espèce *Anopheles melanoon subalpinus* Hackett et Lewis, que nous avons capturée en abondance aux environs des Salins-de-Badon au cours des mois de juin et juillet (***) .

RIoux et ARNOLD (1955) ont bien décrit les biotopes larvaires de ce moustique en Camargue : rizières évoluées, canaux dormants d'eau douce, etc. Par contre, la littérature relate peu d'observations sur sa biologie imaginaire. La sensibilité aux insecticides des anophèles français a été également fort peu étudiée, à l'exception d'un travail d'HAMON et coll. (1959). Aussi croyons-nous intéressant de rapporter les observations que nous avons faites sur ces deux derniers points.

(*) Ont également participé aux prospections Mme H. BAILLY-CHOUMARA et M. A. RICKENBACH de l'O. R. S. T. O. M.

(**) Séance du 12 décembre 1962.

(***) La nomenclature utilisée ici est conforme à celle proposée par M. BATES (1940) et dans le traité de BOYD et coll. (1949), confirmée ultérieurement par les études caryologiques de FRIZZI (1951). Celle-ci permet d'éviter l'emploi de catégories anciennement très imprécises telles que biotypes, variétés, races, reprises par BUONOMI et MARIANI (1945) et respecte la loi de priorité qui, seule, assure quelque stabilité à la taxonomie (P. GRENIER).

O. R. S. T. O. M.

10 JANV 1968

Collection de Référence

n° 1972 Ex 1

I. — BIOLOGIE DES ANOPHÈLES ADULTES

1) *Préférences trophiques.*

En Camargue, *An. m. subalpinus* se nourrit surtout sur les animaux et, particulièrement, dans les écuries sur les chevaux. Il pique même en plein jour et il est facile d'observer les femelles se gorgeant en grand nombre sur ces hôtes mais lorsqu'un homme pénètre dans les mêmes lieux, il est lui-même attaqué.

Les anophèles séjournent également dans les habitations, en particulier dans la maison du garde des Salins-de-Badon où, malgré les grillages moustiquaires ils ne sont pas rares dans les chambres à coucher. Il est facile de nourrir les femelles en captivité avec du sang humain. Cet anophèle n'a donc pas de tendance trophique exclusive ; son régime alimentaire dépend essentiellement de l'hôte qui se trouve à sa portée. Suivant l'expression de ROUBAUD (1920) il est *amphophile*.

Il serait intéressant de pouvoir analyser le contenu stomacal des spécimens qui cohabitent dans la citerne désaffectée des Salins-de-Badon avec une colonie de chauves-souris (*Rhinolophus* sp.).

2) *Cycle gonotrophique.*

Chez les anophèles, comme chez la plupart des insectes hémato-phages, l'ingestion du repas de sang conditionne le développement ovarien. Dans le cas le plus simple le phénomène se présente suivant le schéma suivant. La femelle à jeun, dont les ovaires sont peu développés, absorbe un repas de sang puis commence à le digérer, ce qui durera au moins 48 heures ; pendant ce temps, à mesure que le sang est absorbé par l'organisme, les ovaires se développent et, à la fin de la digestion, l'ovocyte est arrivé à maturité. Après quoi la femelle pond, prend un nouveau repas et le cycle recommence. Ce cycle de développement ovarien corrélatif à une assimilation du sang est appelé le *cycle gonotrophique*. Ces phénomènes physiologiques ont été bien étudiés, étant donné l'intérêt médical des anophèles vecteurs de paludisme. CHRISTOPHERS et MISSIROLI (1934) ont défini cinq stades dans l'évolution des ovocytes. Les critères qui différencient ces stades sont basés sur le groupement et la densité des grains de vitellus, la forme et la taille des ovocytes. Le stade I correspond à un ovocyte très jeune où les grains de vitellus, diffus, ne sont visibles qu'au microscope. Il ne se rencontre que chez les femelles qui viennent d'éclore.

Au stade V terminal, l'œuf est au contraire formé, déjà muni de ses flotteurs et prêt à être pondu. Les autres stades sont intermédiaires. Il arrive quelquefois qu'à la suite du premier repas de sang, les ovocytes n'évoluent que jusqu'au stade II ; il s'agit alors d'une phase prégravide et le moustique doit prendre un second repas de sang au cours de ce premier cycle pour achever sa maturation ovarienne. En Camargue, un certain nombre d'*A. m. subalpinus* présentent justement une phase prégravide au mois de juin, mais il n'est pas possible de dire si le phénomène se produit chez tous les individus.

La durée du cycle gonotrophique dépend, pour une espèce donnée de la température du milieu ambiant, le froid ralentissant ces processus physiologiques. En Camargue, en juin-juillet, la température variait de 20°4 C la nuit (moyenne des minima) à 29°6 C le jour (moyenne des maxima).

Des observations faites sur 60 femelles d'*A. m. subalpinus*, placées dans des conditions aussi voisines que possible du milieu ambiant ont montré que 10 heures après le repas de sang, les ovocytes ont atteint la fin du stade II ; l'emplacement occupé par les ovaires peut se voir, à travers la paroi abdominale, sous forme d'une tache blanchâtre qui occupe les 3 derniers segments de l'abdomen. Au bout de 20 heures cette tache intéresse les 5 derniers segments alors que les ovocytes ont atteint le stade III. Après 48 heures la digestion est pratiquement achevée; tout l'abdomen est blanchâtre et les ovocytes sont au stade IV ou V (œufs prêts à être pondus). Le cycle gonotrophique est alors achevé. Il a duré de 48 à 72 heures suivant les spécimens. Pratiquement les femelles d'*A. m. subalpinus* peuvent donc prendre un repas de sang tous les trois jours à cette époque de l'année. Il serait nécessaire de faire des observations complémentaires pour vérifier si ce rythme est réalisé dans les conditions naturelles ; nous ne possédons pas d'information sur le temps qui s'écoule, d'une part entre le moment où les ovocytes sont mûrs et la ponte et, d'autre part, entre celle-ci et le repas de sang suivant.

3) *Endophilie et lieux de repos.*

L'étude du cycle gonotrophique permet de déterminer le temps écoulé depuis le dernier repas de sang. Cette étude appliquée à 116 spécimens capturés dans une écurie à la Tour du Vallat montrait que 58 d'entre eux se trouvaient aux stades II et III, c'est-à-dire avaient piqué dans les 24 heures précédentes ; 58 individus également avaient atteint les stades IV ou V ; ils s'étaient donc gorgés de 48 à 72 heures plus tôt. Ainsi la plupart de ces anophèles accomplissent la totalité de leur cycle gonotrophique dans les bâtiments (en l'oc-

currence une écurie) où ils ont pris leur repas de sang (sur cheval). En effet, s'ils avaient tendance à quitter les lieux où ils ont commencé leur digestion, on trouverait une proportion beaucoup plus importante des premiers stades (II et III) que des derniers (IV et V).

Cette forte endophilie d'*A. m. subalpinus* en Camargue se traduit par le choix des lieux de repos des femelles gorgées. Dans les écuries et les maisons se rencontrent tous les stades (à jeun, gorgés et gravides); la densité des femelles généralement très élevée dans les écuries (plusieurs milliers dans l'écurie des Salins-de-Badon) est, au contraire, plus faible dans les maisons dont les issues sont protégées par du grillage moustiquaire. Par contre, les refuges extérieurs des anophèles sont rares; nous n'en avons trouvé que sous des ponceaux et, seuls, des mâles et des femelles à jeun étaient présents.

L'étude des lieux de repos des anophèles adultes et de leur endophilie a pris une grande importance au cours de ces dernières années où se sont développées des campagnes antipaludiques basées sur la destruction des imagos par des pulvérisations intradomestiques d'insecticides à effet rémanent (DDT, HCH, dieldrine).

Ces campagnes s'étendent actuellement sur une grande partie des régions impaludées du globe où les hygiénistes tentent d'éradiquer cette affection. En France métropolitaine, la lutte antipaludique moderne a été limitée à la Corse. De telles opérations n'ont pas été nécessaires en Camargue où le paludisme a régressé spontanément.

Néanmoins, il est possible qu'un jour soient envisagées des opérations de lutte contre les moustiques dans le delta du Rhône. A ce propos, il nous a semblé intéressant de mesurer la sensibilité d'*A. m. subalpinus* vis-à-vis du DDT et de la Dieldrine, deux des insecticides les plus employés dans les travaux d'hygiène.

II. — SENSIBILITÉ AUX INSECTICIDES DES FEMELLES ADULTES

1) *Les résultats des tests de sensibilité.*

La sensibilité des adultes au DDT et à la Dieldrine a été mesurée suivant la méthode de BUSVINE, actuellement standardisée par l'Organisation Mondiale de la Santé (*) (10^e Rapport du Comité des Experts des Insecticides 1960). Les femelles gorgées sont exposées, par lots de 20 spécimens, à différents dosages d'insecticides pendant une heure, puis elles sont mises en observation pendant 24 heures,

(*) Nous remercions très vivement la Division d'Assainissement de l'O. M. S. qui nous a procuré les trousseaux standard pour l'exécution de ce travail.

temps au bout duquel est notée la mortalité (*). Les tests effectués en juin 1961, sur plus de 800 *A. m. subalpinus* provenant de l'écurie des Salins-de-Badon sont résumés dans le tableau suivant.

RÉSULTATS DES TESTS DE SENSIBILITÉ AUX INSECTICIDES EFFECTUÉS SUR *A. melanoon subalpinus* EN CAMARGUE

Concentration DDT (o/o)	Nombre anophèles testés	Nombre de morts	Pourcentage de mortalité	Concentration Dieldrine	Nombre anophèles testés	Nombre de morts	Pourcentage de mortalité
0,25	11	1	9	0,05	34	3	9
0,50	34	5	15	0,1	81	8	10
1	57	5	8,7	0,2	79	55	69
2	87	31	35,6	0,4	69	60	86
4	107	89	83	0,8	44	44	100
				4	95	95	100
Témoins	78	1	1,2	Témoins	90	4	4,4

2) *Interprétation des résultats.*

Les concentrations létales 50 (CL 50) (dose qui entraîne la mortalité de 50 o/o de spécimens) sont de 2,3 o/o pour le DDT et de 0,18 o/o pour la Dieldrine ; ces données se calculent facilement d'après les lignes de régression (fig. 1). Ces lignes sont des représentations graphiques des résultats sur papier gaussien-logarithmique. Même avec une concentration de 4 o/o de DDT, il n'est pas possible d'obtenir la mort de tous les spécimens.

Cette CL 50 élevée (2,3 o/o) pour le DDT est l'indication chez les *A. m. subalpinus* de Camargue d'une faible sensibilité à cet insecticide dont il est difficile actuellement de discerner nettement les causes. On peut toutefois émettre 3 hypothèses différentes susceptibles d'expliquer ce phénomène.

1° *Début d'une résistance.* — Ce fait pourrait expliquer l'abaissement de la sensibilité, ainsi que la survivance de spécimens à des doses très élevées de DDT, mais on sait que la résistance à un insecticide n'apparaît qu'à la suite d'une pression sélective exercée par ce même produit (ou des composés apparentés) sur une population d'insectes. Or, en Camargue, le DDT n'a pas eu d'utilisation généralisée ni en hygiène publique ni en agriculture. Il semble donc difficile

(*) La méthode standard de mesure de la sensibilité est décrite en détail dans le 10^e Rapport du Comité d'Experts des Insecticides.

de retenir cette hypothèse, d'autant plus que la ligne de régression (graphique A) ne présente pas le « plateau » caractéristique des populations résistantes.

2° *Tolérance naturelle* au DDT de la population étudiée. Les anophèles du groupe *maculipennis*, même lorsqu'ils ne sont pas considérés comme résistants, ont en général une sensibilité assez faible au DDT, comparativement aux autres espèces du genre. Des CL 50 voisines de celles de Camargue sont citées de Roumanie et de Turquie-

LIGNES DE RÉGRESSION DE LA SENSIBILITÉ AUX INSECTICIDES D'*A. m. subalpinus*

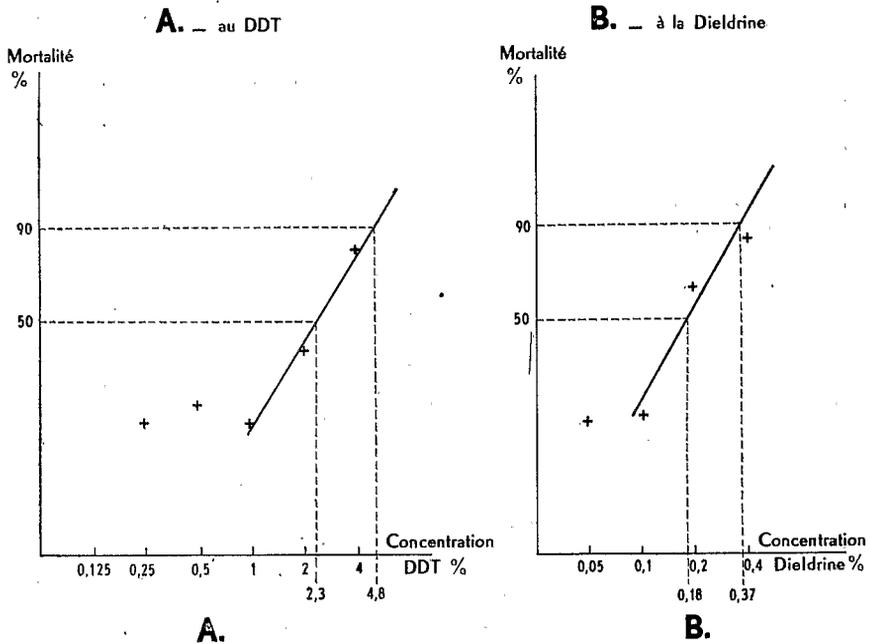


Fig. 1.

(Rapports O. M. S., Genève) ; ce sont là des arguments favorables à cette hypothèse. Par contre celle-ci ne saurait expliquer la baisse de sensibilité survenue depuis 1959, où HAMON et coll. signalaient, dans la même localité, une CL 50 de 1,55 0/0 avec le DDT et 0,086 0/0 avec la Dieldrine.

3° *Tolérance de vigueur*. — Très souvent une pression sélective des insecticides provoque une augmentation sensible des CL 50 d'une génération à l'autre, sans que la courbe de régression ait tendance à s'aplatir. Cette diminution de sensibilité se manifeste non seulement vis-à-vis de l'insecticide qui a provoqué la sélection mais aussi vis-à-vis de produits appartenant à des groupes chimiques différents.

Ce phénomène différent de la résistance, connu sous le nom de « tolérance de vigueur » (« vigor tolerance » des auteurs anglo-saxons), disparaît rapidement lorsque cesse la pression insecticide. Il est possible qu'en Camargue l'utilisation du HCH par les hygiénistes et des insecticides organo-phosphorés par les riziculteurs ait créé une « tolérance de vigueur » qui, chez les anophèles du groupe *maculipennis*, expliquerait l'abaissement de leur sensibilité au DDT et, à degré moindre, à la Dieldrine.

Bien que la dernière de ces hypothèses ait notre faveur, il est toutefois impossible actuellement de l'adopter sans restrictions. Seuls des travaux ultérieurs sur l'évolution de la sensibilité aux insecticides des anophèles de Camargue permettraient d'étayer une interprétation définitive. Le problème reste fort intéressant, tant sur le plan théorique que pratique, l'apparition d'une résistance étant toujours l'épée de Damoclès qui menace tous les utilisateurs d'insecticides.

3) Autotomie des pattes.

Par contre, la survie des spécimens placés en présence de fortes concentrations de DDT est grandement favorisée par l'autotomie des pattes. UNGUREANU et coll. (1959) ont, en effet, montré, que des lots d'anophèles amputés des pattes postérieures et placés sur des papiers imprégnés de DDT, présentaient une mortalité beaucoup moins élevée que des lots de moustiques de la même espèce possédant toutes leurs pattes. Le contact entre insecte et insecticide se faisant essentiellement par les tarsi, l'amputation de ceux-ci diminuait la surface de contact, donc la quantité d'insecticide absorbé. Or, en Camargue, tous les moustiques survivants à une concentration de 4 0/0 de DDT avaient perdu un certain nombre de pattes. Sur 14 spécimens ainsi observés, 3 avaient perdu 1 patte postérieure, 9 les 2 pattes postérieures et 2 les pattes postérieures et moyennes. Ces phénomènes d'autotomie, au cours de l'exposition aux fortes concentrations de DDT, paraissent assez généraux et avaient déjà été signalés entre autres par DAVIDSON (1958) avec *Anopheles stephensi* Liston. Il est incontestable que cette perte d'un certain nombre de pattes diminue les chances d'intoxication des anophèles. Les stimuli qui déclenchent l'autotomie ne sont pas définis jusqu'à maintenant, mais il est logique de penser qu'ils sont, au moins partiellement constitués par l'effet irritant du DDT. En effet, avec les insecticides non irritants comme la Dieldrine, ce phénomène est fort peu accusé, au moins au cours des expériences faites en Camargue.

Il est évident que, si cette autotomie permet à de nombreux individus de survivre au cours de ces tests, dans les conditions naturelles,

elle ne leur procurerait pas un aussi net avantage. Ces insectes amputés auraient sans doute beaucoup de difficultés à subsister et ne pourraient plus piquer. Ils ne joueraient donc plus de rôle vecteur.

CONCLUSIONS

En Camargue, aux environs des Salins-de-Badon, les femelles d'*Anopheles melanoon subalpinus* Hackett et Lewis, 1935, sont très endophiles mais lorsque l'accès des maisons leur est interdit par des grillages moustiquaires, elles sont surtout abondantes dans les écuries. Elles piquent indifféremment hommes ou animaux domestiques, suivant l'hôte à leur portée. Le développement des ovocytes s'effectue en 2 ou 3 jours, parallèlement à la digestion du repas de sang ; au cours du premier cycle, on observe fréquemment un stade pré-gravide.

A. m. subalpinus présente, en Camargue, une assez grande tolérance au DDT (CL 50 : 2,3 0/0) dont il n'est pas aisé de déceler les causes. Au cours des essais de sensibilité aux insecticides, la survie des spécimens est favorisée par l'autotomie des pattes.

SUMMARY

Observations on the bionomics and the susceptibility to insecticides of « *Anopheles melanoon subalpinus* » Hackett et Lewis, 1935 in the Camargue.

In the surroundings of Salins-de-Badon (Camargue, Bouches-du-Rhône) the females of *Anopheles melanoon subalpinus* Hackett et Lewis, 1935 are very frequent indoors, in houses and chiefly in horse-stables. They bite equally well man and cattle, horses, etc. The ovocytes undergo complete development in two or three days, following the digestion of the blood meal; during the first cycle a pregravid stage occurs frequently.

An. m. subalpinus presents in the Camargue a rather high tolerance to DDT (LD 50 = 2.3 0/0), the reason why is not easy to detect. In the susceptibility tests to insecticides, the survival of the mosquitoes was favoured by the autotomy of the legs.

*Office de la Recherche scientifique
et technique Outre-Mer, Paris.*

BIBLIOGRAPHIE

- BATES (M.). — The nomenclature and taxonomic status of the mosquitoes of the *Anopheles maculipennis* complex. *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 1940, 33, 343-356.
- BOYD (M. F.) et coll. — Malariology. W. B. Saunders Co., Philadelphia and London (2 vol.), 1949.
- CHRISTOPHERS (S. R.). — The development of the egg follicle in Anopheline. In *Paludism*, n° 2 (Transactions of the Committee for the study of Malaria in India), Simla, 1911.
- CHRISTOPHERS (S. R.) et MISSIROLI (A.). — Report on housing and malaria. *Quart. Bull. Health Org. League of Nations*, 1934, 2, 355-482.
- CHRISTOPHERS (S. R.), SINTON (J. A.) et COVELL (G.). — How to do a malaria survey. *Health Bull. Delhi*, 1939, 14 (4^e éd.).
- DAVIDSON (G.). — Studies on insecticide resistance in Anopheline mosquitoes. *Bull. O. M. S.*, 1958, 18, 579-621.
- HACKETT (L. W.) et LEWIS (D. J.). — A new variety of *Anopheles maculipennis* in Southern Europe. *Riv. Malariol.*, 1935, 14, 377-483.
- HACKETT (L. W.) et MISSIROLI (A.). — The varieties of *Anopheles maculipennis* and their relation to the distribution of malaria in Europe. *Riv. Malariol.*, 1935, 14, 45-109.
- HAMON (J.), GRJEBINE (A.), COZ (J.), KLEIN (J. M.) et MICHEL (R.). — Observations sur le niveau de sensibilité de quelques moustiques du littoral méditerranéen. Présence d'une souche de *Culex pipiens* L. résistante au dieldrin. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1959, 52, 199-208.
- RIOUX (J. A.). — Les Culicidés du Midi méditerranéen. *Encyclop. ent.* (Lechevalier), 1958, 35, 303.
- RIOUX (J. A.) et ARNOLD (M.). — Les Culicidés de Camargue. *La Terre et la Vie*, 1955, 244-286.
- RIOUX (J. A.), ATTISIO (M.) et RUFFIÉ (J.). — Les Anophèles de Camargue (mise au point systématique et écologique). *83^e Congrès Soc. savantes*, 1958, 541-554.
- ROUBAUD (E.). — Les conditions de nutrition des Anophèles en France (*A. maculipennis*) et le rôle du bétail dans la prophylaxie du paludisme. *Ann. Inst. Pasteur*, 1920, 34, 181-228.
- UNGUREANU (E.), CRISMARU (V.) et BURGHELE (E.). — Investigations on the contacts of the legs of mosquitoes with resting surfaces and its relationship with DDT and Dieltrin intoxication. *WHO Mal*, 23 octobre 1959, 243, O. M. S. Genève.