

ORGANISATION DE COORDINATION ET DE COOPERATION
POUR LA LUTTE CONTRE LES GRANDES ENDEMIES

Secrétariat Général

B.P. 153 - Bobo-Dioulasso - Haute-Volta

Tél.: 911-79 - 911-91

L'élevage des Aedes et des Anophèles
Réalisation et intérêt pratique

J.P. HERVY & COOSEMANS

XIXe CONFERENCE TECHNIQUE
BOBO-DIOULASSO DU 5 AU 8 JUIN 1979

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° : 28935, ex 1
Cote : B

N° 7.142/79.DOC.TECHN.OCCGE

L'ELEVAGE DES AEDES ET DES ANOPHELES
 REALISATION ET INTERET PRATIQUE

RESUME.

Les étapes successives de la réalisation d'un élevage de Culicidae - obtention des souches, élevage des larves, élevage des adultes, obtention et conservation des pontes - ainsi que le matériel indispensable, font l'objet d'une mise-au-point générale.

Sont ensuite précisées les conditions dans lesquelles peuvent être colonisés Aedes aegypti, Anopheles gambiae et quelques espèces proches.

Les auteurs rappellent ensuite les principales applications de l'élevage à l'étude des Culicidae en général, qui intéressent des domaines aussi divers que la systématique, la biologie, la physiologie, la détermination de la sensibilité aux insecticides, l'évaluation de traitements insecticides et la lutte biologique. Ils soulignent aussi le fait que cette technique est un précieux auxiliaire dans l'enseignement de l'entomologie médicale.

ABSTRACT.

The successive steps of mosquitoes colonization - wild individual collection, larvae and adults rearing, eggs obtaining and preservation - and the indispensable material, are reviewed.

This is followed by the description of the technical details permitting the laboratory maintenance of Aedes aegypti, Anopheles gambiae and related species strains.

The authors expose the main applications of colonization in the study of mosquitoes. These applications are of a great interest in many ways: systematic, biology, physiology, insecticide susceptibility tests, evaluation of insecticidal treatments, biological control and medical entomology training.

L'ELEVAGE DES AEDES ET DES ANOPHELES

REALISATION ET INTERET PRATIQUE

par

J.P. HERVY et M. COOSEMANS

avec la collaboration technique

de

M. SANOU et M. SANOU

1. INTRODUCTION

Les Aedes et les Anopheles constituent, en Afrique, la majorité des Culicidae vecteurs de graves maladies humaines : arboviroses (Aedes et Anopheles), paludisme et filarioses (Anopheles).

L'élevage de certaines espèces appartenant à ces deux genres autorise, en laboratoire, des études complémentaires de celles réalisées sur les vecteurs sauvages, dans les milieux naturels.

Nous décrirons les principales étapes de réalisation de l'élevage des Culicidae en général, préciserons les détails techniques essentiels à la colonisation des Aedes et des Anopheles tels que nous les mettons en oeuvre à l'insectarium du laboratoire d'Entomologie du Centre Muraz, puis discuterons des applications de l'élevage à l'étude des vecteurs.

2. REALISATION D'UN ELEVAGE DE CULICIDAE : GENERALITES

Quel que soit le genre de moustique à coloniser, il est des étapes obligatoires dans la réalisation de l'élevage : obtention de la souche sauvage, élevage des larves, élevage des adultes, obtention et conservation des pontes. Les exigences des moustiques en matière de température, d'humidité et de lumière conduisent aussi à définir les caractéristiques du local devant abriter le ou les élevages ainsi que celles de son équipement.

2.1. Obtention des souches sauvages.

La réalisation d'une colonie de Culicidae nécessite des individus sauvages que l'on peut obtenir sous trois formes différentes : oeufs, larves ou adultes.

2.1.1. Récolte des oeufs.

Cette méthode est pratiquement réservée aux Aedes dont les oeufs sont résistants à la dessiccation. Cette particularité autorise des récoltes d'oeufs par grattage des parois terreuses, rocheuses, ligneuses ou végétales de gîtes desséchés, ainsi que par tamisage ou flottage, après mise en suspension de la boue ou des matières organiques composant le fond de ces mêmes gîtes.

A ces techniques, un peu incertaines quant au nombre et à la qualité des oeufs recueillis, le pondoir-piège apporte une amélioration remarquable. Constitué essentiellement d'un récipient à moitié rempli d'eau dans lequel est plongé un support (feuille de papier-filtre, plaquette de bois ou d'isorel), le pondoir-piège permet de recueillir, au fur et à mesure de l'assèchement de son contenu, les oeufs déposés sur le substrat artificiel. En variant la nature du récipient ou du support destiné à recevoir les oeufs, il est possible d'obtenir la quasi-totalité des espèces d'Aedes appartenant aux sous-genres Stegomyia, Finlaya et Diceromyia.

Les oeufs, résistants à la dessiccation, peuvent être mis à éclore quelques semaines ou quelques mois plus tard.

2.1.2. Récolte des larves

Alors que la récolte des oeufs est pratiquement restreinte aux Aedes, celle des larves peut être utilisée pour tous les genres de moustiques, dès l'instant que l'on connaît leurs lieux de reproduction.

Dans les trous d'arbres, la récolte des larves nécessite souvent l'utilisation de tuyaux souples et de grosses poires en caoutchouc. Dans les mares et trous de rochers, un filet et un plateau émaillé suffisent. En milieu urbain, de nombreux gîtes d'origine péri-domestique ou domestique peuvent être vidés par simple retournement.

2.1.3. Récoltes des adultes

Plusieurs moyens sont disponibles pour obtenir des adultes de moustiques.

On peut capturer les moustiques au repos : dans les habitations on utilisera de petits tubes en verre ; dans la végétation l'emploi du filet sera le plus rentable.

On peut encore récolter les culicidés venant piquer l'homme ou les animaux, de manière, soit directe par capture sur l'appât, soit indirecte par utilisation d'une moustiquaire-piège.

2.2. Elevage des larves

L'élevage des larves est conditionné par différents facteurs qu'il importe de maîtriser. Ce sont principalement : la lumière, la température, la qualité de la nourriture et sa quantité, ainsi que la densité de larves par unité de surface ou de volume d'eau.

2.2.1. Influence de la lumière

Dans la nature, les Culicidae montrent des préférences pour certains types de milieux, en partie en fonction de la quantité de lumière reçue par ceux-ci. Selon le genre ou l'espèce de moustique, les gîtes sont caractérisés par un ensoleillement intense, une pénombre accentuée ou une obscurité complète.

Respecter ces exigences pourrait paraître de rigueur dans la réalisation d'un élevage. Cependant, le facteur lumière semble être peu important au niveau de l'élevage : Aedes aegypti, espèce traditionnellement rencontrée dans des gîtes obscurs, se développe très bien à la lumière ; Aedes vittatus, caractéristique des trous de rochers ensoleillés, est aisément coloniser dans l'obscurité.

La quantité et la qualité de la lumière régnant dans la salle d'élevage des larves est donc peu importante.

2.2.2. Influence de la température

La température est par contre un facteur majeur retentissant principalement sur la vitesse de développement. Il existe un optimum qui reste à déterminer selon le genre ou l'espèce à coloniser. A titre d'exemple, la température optimale du milieu pour Aedes aegypti et Anopheles gambiae se situe, dans nos élevages du Laboratoire d'Entomologie, entre 29° et 30°.

2.2.3. Influence de la qualité et de la quantité de nourriture

Qualité et quantité de nourriture sont facteurs qui interviennent surtout sur la vitesse de croissance et le rendement de l'élevage.

Les éléments nutritifs apportés aux stades préimaginaux doivent être divers : glucides, protides, éléments minéraux, etc... La recherche d'un aliment destiné aux larves de moustiques est empirique : biscuit de chien finement pulvérisé, aliments pour bébés, super-levure.

La quantité d'aliment est à déterminer expérimentalement car elle peut varier suivant la nature de cet aliment ou suivant l'espèce de moustique. Cependant, un apport conséquent dès le premier jour de développement des larves semble particulièrement souhaitable.

2.2.4. Influence de la densité des larves

Le nombre de larves par unité de surface ou de volume d'eau, dans des conditions de température et d'alimentation satisfaisantes, influe essentiellement sur la taille des adultes. Si l'on fait varier simultanément quantité de nourriture et densité de larves, de fortes différences peuvent être observées dans le poids des adultes issus de ces expériences. Ainsi, pour 1000 mg. de nourriture distribués à 500 Larves d'Aedes aegypti tous les 5 jours, obtiendra-t-on des femelles pesant en moyenne 2,198 mg., alors que, pour 500 mg. apportés à 1000 femelles, selon le même rythme, le poids moyen tombera à 0,645 mg. soit 3,4 fois moins.

Dans des conditions habituelles d'utilisation, on cherchera à obtenir des adultes vigoureux.

2.3. Elevage des adultes

Des cages de différents modèles peuvent être utilisées pour l'élevage des adultes de moustiques. L'important est que l'ouverture, habituellement un manchon de tulle, limite au maximum les risques d'échappée, et que la face supérieure permette aux femelles de piquer un animal à travers le tissu.

Les cages que nous employons ont pour dimensions : 30 x 30 x 30 cm et sont constituées d'une armature métallique soutenant des parois de tulle.

Certains facteurs doivent être pris en compte dans l'élevage des adultes de Culicidae : la température et l'hygrométrie ambiantes, la lumière, la nature des repas, qu'ils soient sanguins ou non.

2.3.1. Influence de la température

Les adultes de moustiques n'exigent pas des températures aussi élevées que les larves : l'optimum semble se situer, du moins dans les conditions qui sont celles de nos élevages, autour de 27°.

En Afrique tropicale, il est rarement nécessaire de réchauffer le local. Par contre, au cours de la saison sèche qui caractérise la savane soudanienne, un abaissement artificiel de la température peut être nécessaire.

2.3.2. Influence de l'hygrométrie

En l'absence d'une humidité atmosphérique satisfaisante, les adultes de Culicidae montrent une mortalité élevée. Aussi est-on obligé au cours de la saison sèche, de maintenir artificiellement un degré hygrométrique élevé, voisin de 75 %.

2.3.3. Influence de la lumière

Chez les moustiques, le rythme des différentes activités dépend en grande partie du niveau ou de la variation de l'éclairement. Ainsi la plupart se nourriront-ils ou pondront-ils préférentiellement dans l'obscurité ou la pénombre.

L'accouplement, dont dépend l'insémination des femelles nécessaire à la pérennité de l'élevage, peut parfois être difficile à obtenir en laboratoire. Pour améliorer cet état de fait, on peut être obligé, soit de disposer les cages contenant les adultes dans un endroit soumis aux variations naturelles de lumière qui caractérisent l'aube ou le crépuscule, soit de recourir à un appareillage permettant, par une mise-en-marche ou une extinction progressive de l'éclairage, la simulation du jour et de la nuit avec les lentes transitions qui caractérisent.

Cependant, dans certains cas, il est impossible d'obtenir des accouplements en nombre satisfaisant, quel que soit l'artifice utilisé. C'est l'une des principales causes d'échec d'un élevage.

2.3.4. Influence de la nature des repas

Les mâles n'ont besoin que d'une alimentation sucrée : une solution de glucose ou de miel à 10 % humidifiant un tampon de coton ou de gaze suffit.

Selon les genres ou les espèces, les femelles de Culicidae se nourrissant sur un éventail d'hôtes plus ou moins restreint : homme, primates, bovins, rongeurs, oiseaux, etc... Il est possible, en laboratoire de respecter, jusqu'à un certain point, ces exigences : le choix peut se porter sur le singe, le lapin, le cobaye, le poulet, par exemple. Mais, dans la plupart des cas, l'hôte forcé, qui ne correspond pas obligatoirement à la préférence trophique du moustique, est cependant accepté. On peut ainsi restreindre le nombre animales utilisées ; l'uniformisation qui en résulte simplifie d'autant les élevages des animaux hôtes. Ainsi, les souches d'A.aegypti et d'A.gambiae originellement anthropophiles s'adaptent-elles très bien au lapin.

Lors d'une première tentative d'élevage d'un vecteur, il convient toutefois d'expérimenter plusieurs hôtes différents et d'observer, pour chacun : la fréquence et la qualité du gorgement ainsi que la fécondité en résultant.

2.3.5. Obtention et conservation des pontes.

La nature des pondoirs disposés dans les cages est fonction du genre de moustique colonisé.

Pour les Aedes, un papier filtre disposé sur la face interne d'un cristalliseur à demi rempli d'eau convient dans la majorité des cas. Il peut être nécessaire d'y apporter quelques modifications comme, par exemple, de remplacer le papier disposé verticalement par une feuille baignante dans l'eau.

Les oeufs des Anophèles, qui sont déposés isolément à la surface de l'eau, peuvent être récoltés en filtrant l'eau contenue dans le cristalliseur. Une autre solution, celle que nous employons, consiste à recouvrir d'un papier filtre une couche de coton humide disposée au fond d'une boîte de Petri.

Les oeufs des Culex, juxtaposés en une "nacelle" flottant sur l'eau, sont aisément recueillis par un pinceau ou une pince fine.

Après dessiccation lente des papiers portant les pontes, les oeufs d'Aedes peuvent être conservés quelques mois avant d'être remis en eau.

Les oeufs des autres moustiques doivent être utilisés au maximum dans les 48 heures suivant leur dépôt par les femelles.

2.3.6. Caractéristiques essentielles des salles d'élevages.

Une bonne isolation des murs et des plafonds est nécessaire car elle réduit les variations de température et permet un ajustement rapide et durable de la température et du degré hygrométrique.

En ce qui concerne les salles devant abriter les stades larvaires, il est nécessaire de prévoir un chauffage d'appoint, par radiateur à bain d'huile, par exemple.

Dans la salle destinée aux adultes, c'est, au contraire, un refroidisseur d'air qui doit être installé. Il faut aussi lui adjoindre un humidificateur dont la puissance dépend du volume de la pièce et du taux d'hygrométrie minimum enregistré au cours de la saison sèche.

Si la salle d'élevage des adultes ne comporte pas de larges baies vitrées, il peut être nécessaire de mettre en place un appareil recréant un "crépuscule artificiel".

3. DETAILS PRATIQUES RELATIFS A L'ELEVAGE DES AEDES ET DES ANOPHELES

Les données techniques que nous allons brièvement exposer sont celles que nous avons mises au point à l'Insectarium du Laboratoire d'Entomologie.

Elles ont permis de maintenir en permanence des colonies d'Aedes aegypti, d'Aedes vittatus et d'Anopheles gambiae. Leur application à l'élevage d'autres vecteurs : Aedes luteocephalus, Aedes simpsoni et Anopheles funestus a eu des succès divers : obtention de la F2 (A. luteocephalus) excellent élevage des larves mais aucune reproduction des adultes (A. simpsoni, A. funestus). Ces demi-échecs sont, semble-t-il, à mettre au compte d'un défaut d'insémination des femelles.

3.1. Elevage des larves

Les larves sont élevées dans des plateaux émaillés pouvant contenir 1,5 litre d'eau. Ces plateaux sont rangés dans des étagères adaptées pour en accueillir une centaine

L'eau utilisée est celle du robinet.

La nourriture employée est un mélange de 75 % de superlevure et de 25 % de Blédine 1er âge. Une dose de 1 gramme est dispensée à 500 larves, le 2ème et le 5ème jour. L'eau est changée dès que se manifeste une pollution importante du milieu.

La température du local abritant les larves est stabilisée à 30° au moyen d'un radiateur muni d'un thermostat.

Les nymphes sont recueillies chaque matin et transférées dans les cages de la salle des adultes.

3.2. Elevage des adultes

Les cages de tulle sont gardées hors d'atteinte des fourmis car elles sont supportées par des étagères dont les pieds reposent dans des coupelles emplies d'eau.

Tous les moustiques sont nourris, chaque jour, grâce à des lapins disposés sur la face supérieure des cages, à raison d'environ ½ heure par cage.

Un tampon de gaze imbibé d'eau glucosée à 10 % est déposé dans chaque cage et renouvelé régulièrement avant qu'une fermentation n'apparaisse.

Un climatiseur permet d'abaisser la température, si nécessaire.

Un humidificateur, commandé par hygrostat, maintient le degré hygrométrique supérieur ou égal à 75 %.

3.3. Conservation des oeufs

Les papiers filtre portant les pontes d'Aedes sont recueillis quand le pondoir est presque sec puis mis à sécher dans la salle des adultes pendant un minimum de 4 jours. Passé ce délai, ils sont conservés dans des sachets de plastique scellés. Sont notés sur ces papiers-filtres : l'identité du moustique, l'origine de la souche et, éventuellement, le nombre de générations.

- Les pontes d'Anopheles sont recueillis chaque jour et conservées 24 heures à l'humidité avant d'être mises à éclore.
- La synchronisation d'éclosions massives d'Aedes peut être obtenue en ajoutant environ 50 mg d'acide ascorbique aux 1,5 litres d'eau où sont déposés les oeufs.
- Un comptage des larves de stade I, âgées d'environ un jour, permet leur regroupement par quantité de 500 dans les plateaux d'élevage.

4. APPLICATIONS PRATIQUES DE L'ELEVAGE DES AEDES ET DES ANOPHELES

La colonisation des vecteurs en général, et des Aedes et Anopheles en particulier, offre de nombreuses possibilités d'étude dans des domaines aussi divers que : systématique, la physiologie, l'éthologie, la détermination de la sensibilité aux insecticides, l'évaluation d'insecticides destinés à la lutte anti-vectorielle, la transmission expérimentale d'agents pathogènes, la lutte biologique. Elle se révèle aussi un auxiliaire d'enseignement précieux.

4.1. Application de l'élevage à l'étude de la systématique

Le grand nombre d'individus obtenus à partir de souches d'origine diverse ou bien, au contraire, la descendance de femelles élevées individuellement permet des observations morphologiques, cyto-taxonomiques ou bio-chimiques nécessaires à la compréhension des rapports entre espèces d'un même genre ou d'un même complexe.

4.2. Application de l'élevage à l'étude de la bio-physiologie

Le contrôle des facteurs majeurs influençant le développement des populations larvaires ou imaginaires autorise de nombreuses études sur la biologie et la physiologie du vecteur qui complète ou expliquent les observations faites sur le terrain. Il est ainsi possible d'apprécier la longévité du moustique étudié en fonction des facteurs qui la conditionnent, de déterminer la durée du cycle gonotrophique, d'analyser les différents mécanismes qui régissent les principales fonctions, digestive et reproductive par exemple.

4.3. Application de l'élevage à la détermination de la sensibilité d'une souche aux insecticides.

La détermination de la sensibilité d'un vecteur donné aux insecticides exige que soit disponible un nombre assez important d'individus. Lorsque ce nombre est insuffisant, l'élevage accroît les effectifs en quelques générations. Il importe cependant d'expérimenter sur des individus issus du nombre le plus restreint de générations, de telle sorte que les probabilités d'une modification importante de la sensibilité de la souche originelle soient les plus faibles possibles.

4.4. Application de l'élevage à l'évaluation des insecticides

L'évaluation d'insecticides demande une production élevée de moustiques dont les caractéristiques morphologiques, physiologiques et génétiques doivent être homogènes. L'élevage permet de répondre à cette demande dès l'instant que les conditions d'élevage sont rigoureusement stabilisées. A l'inverse de ce qui est recommandé pour la détermination de la sensibilité, le nombre de générations importe peu. Il suffit de procéder périodiquement au contrôle du niveau de sensibilité, aux insecticides usuels, de la colonie maintenue.

4.5. Application de l'élevage à l'étude de la transmission expérimentale d'agents pathogènes.

Les observations faites, dans la nature, sur la responsabilité de tel ou tel vecteur dans la transmission d'agents pathogènes pour l'homme ou les animaux, sont souvent fragmentaires et ne rendent que rarement compte du rôle réel joué par ces espèces dans les cycles épidémiologiques.

L'élevage des vecteur permet d'apprécier la capacité vectorielle d'une espèce donnée. Dans le cas de la fièvre jaune, par exemple, de nombreux Aedes ont transmis expérimentalement cette arbovirose bien avant que ne soit confirmé, sur le terrain, leur rôle de vecteur.

Outre la capacité vectorielle, le cycle intrinsèque de l'agent pathogène chez le moustique peut aussi être déterminé en laboratoire, ce qui améliore grandement la compréhension que l'on peut avoir des facteurs influents sur la transmission.

L'élevage du plus grand nombre possible d'espèce d'Aedes appartenant aux sous-genres Stegomyia et Diceromyia s'avère ainsi une nécessité pour une meilleure compréhension de la circulation du virus amaril en Afrique de l'Ouest.

4.6. Intérêt de l'élevage dans la lutte biologique

La lutte biologique contre les Culicidae peut faire appel à des agents entomo-pathogènes, à des prédateurs, à des incompatibilités génétiques ou cytoplasmique, à l'utilisation d mâles stériles.

Toutes ces techniques requièrent l'élevage de très grandes quantités de moustiques, que ce soit au stade de l'expérimentation ou à celui de la campagne de lutte. La mise au point de technique d'élevage rationnelles est alors une démarche préliminaire indispensable.

4.7. Intérêt de l'élevage d'Aedes et d'Anophèles pour l'enseignement

L'élevage de ces deux grands genres de vecteur que sont les Aedes et les Anopheles fournit, à tout moment de l'année, le matériel indispensable à l'illustration de l'enseignement de l'entomologie médicale.

Il rend possible un apprentissage des diverses dissections ou manipulations qui n'est pas toujours réalisable sur le précieux matériel d'étude récolté sur le terrain. L'élevage offre un condensé, très riche en enseignement, du monde parfois difficilement accessible des vecteurs sauvages.

5. CONCLUSION.

L'élevage d'Aedes aegypti et d'Anopheles gambiae peut être réalisé en laboratoire sans trop de difficulté. Celui d'autres espèces d'Aedes ou d'Anopheles pourra s'en inspirer.

Les précisions techniques que nous donnons n'ont pas la prétention d'être les seules à pouvoir donner satisfaction. Selon le lieu ou la souche de moustique à coloniser, il peut même être nécessaire de les modifier profondément. Ce ne sont que des indications de base permettant d'éviter, dès le départ, un certain nombre de faux pas.

Nous avons volontairement omis toute référence bibliographique, car le nombre d'articles consacrés à l'élevage des Culicidae, ailleurs qu'en Afrique, est très important et, peut-être, voisin du nombre d'espèces de moustiques recensées à ce jour.

Cependant, nous donnons en annexe la référence de notre travail personnel qui a servi à illustrer cette communication, ainsi que les références de deux ouvrages et d'un périodique dans lesquels celui qui désirerait procéder à des élevages de moustiques trouverait de nombreuses techniques pratiques de collecte de souches de base ou même d'élevage.

L'élevage de moustiques se révèle être un instrument d'investigation indispensable en entomologie médicale, en même temps qu'un auxiliaire précieux dans l'enseignement de cette discipline.

ANNEXE BIBLIOGRAPHIQUE

HERVY (J.P.) & COOSEMANS (M.), 1978.- Fonctionnement de l'Insectarium du Centre Muraz. Etude des facteurs majeurs conditionnant, en laboratoire, le développement larvaire d'Aedes aegypti L.
Doc. Santé, OCCGE - Centre Muraz, Bobo-Dioulasso,
 N° 6.721/DOC, TECHN.OCCGE.

CORDELLIER (R.), GERMAIN (M.), HERVY (J.P.) & MOUCHET (J.), 1977.-
 Guide pratique pour l'étude des vecteurs de fièvre jaune en
 Afrique et méthodes de lutte.
Doc. ORSTOM, sér. Initiations-Documentations techniques,
 N° 33.

SERVICE (M.W.), 1977.- Mosquito ecology. Field sampling methods.
Applied Science Publishers LTD, London, 1977, 583 p.

MOSQUITO NEWS, périodique de l'American Mosquito Control Association,
 contient régulièrement de nombreux articles ayant trait à
 l'élevage des Culicidae. Il pourra être consulté avec beau-
 coup de profit.

Mosq. News, William E. BICKLEY, Editor, Box 75, Riverdale,
Md. 20840.

oooooooooooooooooooo
 oooooooooooooooooo
 oooooooooo
 oooo
 oo
 oo