

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
ET TECHNIQUE OUTRE-MER.

20, rue Monsieur  
PARIS VI°

COTE DE CLASSEMENT : 5236

ENTOMOLOGIE MEDICALE

OBSERVATIONS SUR LES METHODES D'EVALUATION DE  
L'AGE PHYSIOLOGIQUE DES FEMELLES D'ANOPHELES.

par

J. HAMON et G. CHAUVET

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : ~~28888 ex 1~~

Cote : B

OBSERVATIONS SUR LES METHODES D'EVALUATION DE  
L'AGE PHYSIOLOGIQUE DES FEMELLES D'ANOPHELES

par J. HAMON et G. CHAUVET

L'estimation de l'âge physiologique des femelles d'anophèles est une donnée importante dans l'étude de l'épidémiologie de la transmission comme dans l'évaluation de l'efficacité des aspersion d'insecticides.

Différentes méthodes ont été proposées par MER, POLOVODOVA, DETINOVA, GILLIES et LEWIS pour distinguer les femelles pares des femelles nullipares, une méthode permettant même de déterminer exactement le nombre de cycles gonotrophiques.

Pour pouvoir s'utiliser dans les conditions courantes d'une zone pilote de lutte antipaludique une méthode d'estimation de l'âge physiologique doit être simple, assez rapide, et pouvoir donner les mêmes résultats avec différents observateurs. Elle doit en outre permettre la dissection des glandes salivaires et éventuellement des estomacs pour permettre d'établir sur le même matériel le taux d'infection des anophèles.

La détermination exacte du nombre de cycles gonotrophiques par comptage du nombre de dilatations situées sur les funicules des ovarioles demande trop de temps et de dextérité pour pouvoir être employée comme travail de routine sur le terrain. Nous avons essayé simultanément, dans la zone pilote de Bobo-Dioulasso, pour la distinction des femelles pares, les changements qualitatifs des ampoules et des oviductes pairs, (DETINIVA - POLOVODOVA - GILLIES), la structure du funicule de l'ovariole après dilacération de l'ovaire (LEWIS), et la forme des trachéoles à l'intérieur de l'ovaire (DETINOVA - POLOVODAVA). Cette étude simultanée a été faite en profitant de la présence à Bobo-Dioulasso de Monsieur THELIN, Entomologiste OMS, et de Monsieur CHAUVET, Entomologiste ORSTOM. Les ovaires étaient extraits avec soin par Monsieur CHAUVET, identifiés comme pares ou nullipares, puis l'un des ovaires étaient transféré dans de l'eau distillée, et les trachéoles examinées à sec par Monsieur THELIN tandis que l'autre ovaire était dilacéré dans du sérum physiologique et examiné à l'état frais par Monsieur HAMON. Chaque femelle était affectée d'un numéro d'ordre permettant de comparer les résultats après chaque séance de dissection. Les résultats de cette comparaison peuvent se résumer ainsi :

Les pourcentages de pares obtenus ne sont pas très différents les uns des autres, mais si l'on examine les diagnostics un à un on constate que les femelles considérées comme pares d'après l'aspect de trachéoles sont presque toujours considérées comme pares d'après la structure du funicule de l'ovariole, et que celles considérées comme nullipares d'après l'aspect des trachéoles sont toujours considérées comme nullipares d'après la structure du funicule de l'ovariole; par contre les diagnostics posés d'après l'aspect des ampoules et des oviductes pairs différent de ceux faits d'après les

trachéoles ou les funicules des ovarioles dans environ 10% des cas. A plusieurs reprises des ovaires présentant toutes les caractéristiques d'une femelle pare se sont avérés être nullipares chez un spécimen et paires chez un autre, aussi bien d'après les trachées que d'après les funicules des ovarioles. La distinction des femelles paires des nullipares d'après la morphologie des ampoules et des oviductes communs ne semble donc pas une technique très sûre. Les deux autres techniques semblent aussi précises l'une que l'autre mais celle des trachéoles n'est pas applicable au delà du stade 2 âge, tandis que l'examen des funicules peut encore se faire dans d'assez bonnes conditions au stade 3. Par contre la dilacération des ovaires pour l'examen immédiat des funicules ne permet d'examiner que 12 à 15 spécimens à l'heure, surtout s'il y a beaucoup de nullipares, tandis que l'examen des trachéoles permet d'examiner 50 à 60 spécimens à l'heure (extraction des ovaires non comprise).

A la suite de cette étude la technique adoptée dans la zone pilote de Bobo-Dioulasso est la suivante : les femelles d'anophèles sont déterminées, on extrait les glandes salivaires pour la recherche des sporozoïtes, et les ovaires. Ces derniers sont fournis à l'entomologiste dans une goutte de sérum physiologique. Après un bref examen à la loupe binoculaire les ovaires aux stades I, 2j, 2m (x) et certains 2a sont transférés dans une goutte d'eau distillée pour un examen après dessiccation. La majorité des ovaires stade 2a et tous les stades 3 sont examinés par dilacération sous loupe binoculaire et étude de la structure du funicule des ovarioles au microscope. Le rendement de cette technique est de 150 à 300 femelles par matinée (4h30m), la lecture des trachéoles étant faite dans l'après-midi en une heure environ. Le point délicat est la distinction des ovaires que l'on doit dilacérer et de ceux que l'on peut laisser sécher. Chez certaines femelles paires, contenant encore quelques oeufs de la ponte précédente, les trachéoles présentent encore des traces des pelotons caractéristiques des femelles nullipares. Il est donc souhaitable de voir pour chaque espèce jusqu'à quel stade de développement ovarien on peut distinguer de façon certaine les trachéoles d'une femelle nullipare de celles d'une femelle paire. L'interprétation des trachéoles devient généralement douteuse dans le milieu du stade 2a.

Etant donné qu'il est plus long et plus difficile de faire et de lire les "dilacérations" que les "trachéoles" nous avons examiné sur une longue série de dissections quel était le pourcentage de femelles paires selon que l'on ne tenait compte que des "trachéoles" (femelles avec les ovaires au stade I, 2j, 2m in part) ou des "trachéoles" plus les "dilacérations" (femelles stade 3 et 2a in part). Il est très net (tableau I) que les "dilacérations" donnent un pourcentage de femelles paires beaucoup plus élevé que les "trachéoles", mais le pourcentage des femelles à un stade ovarien avancé étant fai-

x { 2 j = 2 jeune  
      { 2 m = 2 moyen  
      { 2 a = 2 âgé

TABIEAU I. - Pourcentage des femelles pares observées lors des captures de nuit en fonction du stade de développement ovarien.

Espèce et zone	Technique d'examen et stade ovarien	Nombre de femelles examinées	Nombre de femelles pares	Pourcentage de femelles pares	Intervalle de confiance
<u>A. gambiae</u> Villages témoins	Dilacérations st. 2a et + trachéoles	15	12	80	58 - 100
	st. 1 et 2 a dilacérations et trachéoles	58	49	84,5	75 - 94
		73	61	83,6	75 - 92
<u>A. funestus</u> Villages témoins	Dilacérations st. 2a et + trachéoles	42	38	90,5	75 - 100
	st. 1 à 2 a dilacérations et trachéoles	196	119	60,7	54 - 68
		238	157	66,0	60 - 72
<u>A. nili</u> Villages traités au DDT	Dilacérations st. 2 a et + trachéoles	221	97	44	37 - 51
	st. 1 à 2 a dilacérations et trachéoles	446	147	33	29 - 37
		667	244	37	35 - 41
<u>A. coustani</u> Villages traités au DDT	dilacérations st. 2 a et + trachéoles	56	43	77	66 - 88
	st. 1 à 2 a dilacérations et trachéoles	411	201	49	44 - 54
		467	244	52	47 - 57

ble dans notre matériel (femelles prises attaquant l'homme pendant la nuit), les "trachéoles" seules donnent un pourcentage de femelles pares peu différent de celui donné par la population totale.

Nos évaluations du pourcentage des femelles pares ont été faites sur les femelles provenant des captures de nuit parce que cela nous donnait à la fois un bon échantillonnage de la population anophélienne en rapport avec l'homme, et des femelles à des stades ovariens se prêtant bien aux techniques d'évaluation de l'âge physiologique, mais les captures de nuit étant un procédé coûteux et souvent de faible rendement nous avons essayé d'employer la même technique aux femelles provenant des abris artificiels de la zone traitée au DDT. Il n'est alors possible de travailler que sur les femelles à jeun ou fraîchement gorgées, les autres étant à un stade ovarien trop âgé (4 ou 5) et il se pose alors un problème d'échantillonnage : les spécimens à jeun et fraîchement gorgés sont-ils représentatifs de la population totale ? Le tableau 2 indique, dans le cas d'A. funestus et d'A. flavicosta, les pourcentages de femelles pares obtenus respectivement en Octobre 1959, sur les femelles des captures de nuit et sur celles à jeun ou fraîchement gorgées prises dans les abris artificiels, tous les spécimens provenant des mêmes villages de la zone DDT. Il y a une nette discordance des résultats dans le cas de A. funestus, les femelles provenant des abris artificiels contenant une proportion de nullipares beaucoup plus élevée que celles provenant des captures de nuit. Ce phénomène n'est probablement pas dû seulement au non examen des femelles gravides, car les indices sporozoïtiques des femelles d'A. funestus des captures de nuit sont plus élevés que ceux des A. funestus provenant des abris artificiels, alors que ce phénomène ne se manifeste pratiquement pas chez A. gambiae (tableau 3). L'évaluation du pourcentage de femelles pares ne peut donc se faire sur des femelles capturées par n'importe quelle méthode et il s'ensuit que les indices sporozoïtiques peuvent donc varier dans certains cas avec le mode de capture, ce qui a une grosse importance dans l'organisation du contrôle entomologique des campagnes d'éradication du paludisme.

Dans un certain nombre de captures de nuit le nombre de femelles à examiner étant très réduit toutes ont été dilacérées pour évaluer exactement à quel stade ovarien les femelles venaient prendre leur repas de sang, et dans le cas des femelles pares pour voir si elles avaient pondu la nuit même du repas (présence d'un sac résiduel) ou une des nuits précédentes (présence d'une dilatation). Les résultats de cette enquête sont présentés dans le tableau 4. On y voit très nettement que bien qu'il n'y ait pas de règle stricte il y a une grande proportion des A. gambiae et A. funestus qui prennent leur repas de sang la nuit même de la ponte, alors que la majorité des A. ni-  
li et A. coustani ne prennent pas de repas de sang la nuit où a lieu la ponte. On peut noter également qu'une proportion importante de femelles qui viennent piquer sont au stade 2a ou à un stade plus âgé. Or les femelles qui pondent dès que leurs oeufs sont mûrs ont des ovaires presque toujours au stade 2m, tandis que celles qui pondent 24 heures après que leurs oeufs soient mûrs ont un fort pourcentage d'ovaires au stade 2a. Il est donc probable que dans la nature un certain nombre de femelles ne pondent que 24 ou 48 heures après la maturation des oeufs. Ces deux phénomènes joints font que dans la nature le laps de temps séparant deux pontes successives est certainement en moyenne sensiblement plus long que la durée du cycle gono-

**TABLEAU 2** : Pourcentage des femelles pares observé dans les villages traités au DDT de la Zone pilote de Bobo-Dioulasso en fonction du mode de capture (Octobre 1959).

Espèce	Mode de capture et stade de réplétion	Nombre de femelles examinés	Nombre de femelles pares	Pourcentage de femelles pares	Intervalle de confiance à 95%
<u>A. funestus</u>	captures de nuit-femelles à jeun	30	14	47	28,4-65,6
	abris artificiels-femelles à jeun	162	24	14,8	9,2-20,4
	abris artificiels - femelles gorgées	21	11	52	30 -74
	abris artificiels - ensemble des femelles non gravides	183	35	19,1	13,3-24,9
<u>A. flavicosta</u>	captures de nuit - femelles à jeun	41	31	75,6	62,0-89,2
	abris artificiels - femelles à jeun	37	23	62	46 - 78
	abris artificiels - femelles gorgées	16	13	81	61 - 100
	abris artificiels - ensemble des femelles non gravides	53	36	67,9	54,9-80,9

TABLEAU 3. - Indices sporozoïtiques comparés des femelles des captures de nuit et de celles des abris artificiels dans les villages DDT de la zone pilote de Bobo-Dioulasso de Juin 1959 à Octobre 1959.

Espèces :	Mode de capture :	Nombre de femelles disséquées :	Nombre de femelles infectées :	Indice sporozoïtique :	Intervalle de confiance à 95 % :
A. gambiae	Abris artificiels :	1186	3	0,252	0,252 - 0,739
	Captures de nuit (x) :	922	4	0,434	0,118 - 1,111
A. funestus	Abris artificiels :	16.721	9	0,054	0,024 - 0,102
	Captures de nuit :	1055	7	0,664	0,266 - 1,366

(x) Le village de Sinorosso étant exclu, car trop voisin des villages traités au Dieldrin où les A. gambiae infectés sont très abondants.

TABLEAU 4 - Répartition des stades ovariens et chez les femelles pares des "sacs" et des "dilacérations" chez les anophèles capturées sur appât humain pendant la nuit, de Juin à Septembre 1959.

Stades ovariens "parité" etc...	NOMBRE DE FEMELLES PRESENTANT CES CARACTERISTIQUES			
	<u>A. gambiae</u>	<u>A. funestus</u>	<u>A. nili</u>	<u>A. coustani</u>
<b>PARES avec dilatations</b>				
3	3	1	14	3
2a	4	5	7	13
2m	0	0	5	12
<b>PARES avec sacs</b>				
3	4	5	5	1
2a	11	13	7	8
2m	9	11	6	11
2j	1	0	0	2
<b>NULLIPARES</b>				
3	3	5	15	4
2a	6	2	16	5
2m	8	5	40	19
2j	5	4	3	12
I	2	3	3	2
<b>TOTAL des pares avec sacs</b>	<b>25</b>	<b>29</b>	<b>16</b>	<b>22</b>
<b>TOTAL des pares avec dilatations</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>26</b>	<b>28</b>
<b>TOTAL des PARES</b>	<b>32</b>	<b>35</b>	<b>42</b>	<b>50</b>
<b>TOTAL des NULLIPARES</b>	<b>24</b>	<b>19</b>	<b>77</b>	<b>42</b>

TABLEAU 5 - Répartition des femelles pares dans les différentes heures de la nuit lors des captures sur appât humain, de Juin à Octobre 1959 dans la zone pilote de Bobo-Dioulasso.

Tranche horaire	NOMBRE DE FEMELLES EXAMINEES ET POURCENTAGE DE PARES					
	<u>A. funestus</u>		<u>A. nili</u>		<u>A. coustani</u>	
	Nombre	% Pares	Nombre	% Pares	Nombre	% Pares
18 - 19	3	0	14	0	51	47
19 - 20	3	67	26	31	55	51
20 - 21	3	67	68	38	36	50
21 - 22	10	30	95	34	68	54
22 - 23	6	83	99	33	78	47
23 - 24	17	65	94	40	56	54
00 - 01	18	72	95	34	44	55
01 - 02	45	73	97	53	75	57
02 - 03	41	66	55	35	51	67
03 - 04	50	70	81	42	50	68
04 - 05	70	70	79	43	39	72
05 - 06	33	58	54	39	32	63
18 - 21 écart type	•	•	108	31,5 4,5	142	49,3 4,2
21 - 24 écart type	•	•	288	35,8 2,8	202	51,5 3,5
18 - 24 écart type	42	54,8 7,8	•	•	•	•
00 - 03 écart type	104	70,2 4,5	247	41,3 3,1	170	59,4 3,6
03 - 06 écart type	153	67,3 3,8	214	41,6 3,4	121	67,8 4,3
18 - 06 écart type	299	66,6 2,7	857	38,3 1,7	635	56,2 2,0

NB. A. funestus : villages témoins - A. nili et A. coustani : Zone DDT

TABLEAU 6.- Pourcentages de femelles pares observées dans les régions traitées au DDT et dans les villages-témoins de la zone pilote de Bobo-Dioulasso, de Juin à Octobre 1959.

Espèce	Zone de capture	Nombre de femelles disséquées	Pourcentage femelles pares	Intervalle de confiance à 95 %
<u>A. gambiae</u>	Villages témoins	155	74,1	67,1 - 81,1
	Zone DDT	70	41,4	29,6 - 53,2
<u>A. funestus</u>	Villages témoins	300	66,7	61,3 - 72,1
	Zone DDT	89	48,3	37,7 - 58,9
<u>A. nili</u>	Villages témoins	135	53,3	44,7 - 61,9
	Zone DDT	858	38,3	34,7 - 41,9
<u>A. coustani</u>	Villages témoins	26	73,1	55,3 - 90,9
	Zone DDT	637	56,2	54,2 - 58,2

trophique.

Sur l'ensemble des femelles examinées provenant des captures de nuit nous avons étudié le pourcentage de femelles pares en fonction de l'heure d'attaque.

Le tableau 5 résume nos observations pour A. funestus, A. nili et A. coustani. Il y a des variations très marquées d'une heure à l'autre, dues dans bien des cas au petit nombre de spécimens examinés dans chaque tranche horaire. Le groupement des captures par tranches de 3 heures, du crépuscule à l'aube, diminue l'ampleur des variations. Bien que les écarts ne soient généralement pas significatifs (sauf dans le cas d'A. coustani) il semble ressortir assez clairement qu'il y a une plus forte proportion de femelles pares dans la seconde moitié de la nuit que dans la première. Il est donc possible que des captures de nuit "partielles" ne constituent pas un échantillonnage satisfaisant de la population anophélienne dans son ensemble.

Sur l'ensemble des femelles provenant des captures de nuit nous avons également étudié le pourcentage de femelles pares en fonction de la zone de capture : villages témoins ou zone traitée au DDT. Les résultats groupés dans le tableau 6, montrent une nette diminution de la proportion de femelles pares dans la zone traitée au DDT par rapport à la zone témoin, les écarts enregistrés étant presque toujours significatifs. Malheureusement le pourcentage de femelles pares d'A. coustani montre, entre les villages témoins et la zone DDT, une baisse à peu près aussi importante que A. funestus et A. nili. Or dans notre région A. coustani n'entre pratiquement pas dans les habitations et l'on conçoit mal que sa mortalité soit affectée dans de telles proportions par le traitement des habitations au DDT. Cela montre, encore une fois, que les questions d'échantillonnage sont primordiales et doivent être résolues de façon aussi complète que possible par des enquêtes approfondies avant que l'on puisse se fier complètement à cette technique pour l'évaluation de l'efficacité des aspersion insecticides sur la population anophélienne vectrice.

Les différentes études qui sont mentionnées ci-dessus ne sont pas terminées et les résultats n'en sont indiqués que pour montrer les différents problèmes qui se posent. Les conclusions sont donc temporaires.

J. HAMON, G. CHAUVET, Entomologistes médicaux  
O.R.S.T.O.M.  
et L. THELIN, Entomologiste O.M.S.

Laboratoire d'Entomologie du Centre MURAZ  
Zone pilote antipaludique de Bobo-Dioulasso

28 Octobre 1959

(WHO/Ma.1/246 du 16-11-59)

