

a 61589



WHO/Ma1/246
16 novembre 1959

ORIGINAL : FRANCAIS

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

par

J. Hamon,¹ G. Chauvet,¹ et L. Thélin²

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 aspersions 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 gonotrophique

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 ovaires, 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 ovaricoles 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,

¹ Laboratoire d'Entomologie du Centre Mraz, CRSTOM, zone pilote de lutte antipaludique de Bobo Dioulasso, République Voltaïque

² Entomologiste, Organisation mondiale de la Santé

pour la distinction des femelles pères, les changements qualitatifs des ampoules et des oviductes pairs (Detinova, 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, Polovodova). Les ovaires étaient extraits avec soin par un de nous (Chauvet), identifiés comme pères ou nullipares, puis l'un des ovaires était transféré dans de l'eau distillée, et les trachéoles examinées à sec par un autre membre de l'équipe (Thélin), tandis que l'autre ovaire était dilacéré dans du sérum physiologique et examiné à l'état frais par le troisième (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 pères 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 pères d'après l'aspect des trachéoles sont presque toujours considérées comme pères 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 diffèrent 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 père se sont avérés être nullipares chez un spécimen et pères chez un autre, aussi bien d'après les trachées que d'après les funicules des ovarioles. La distinction des femelles pères 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 âgé, 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 1, 2j, 2m 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 (4 h.30), 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 pères, 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 père. 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 pères selon que l'on ne tenait compte que des "trachéoles" (femelles avec les ovaires au stade 1, 2j, 2m et 2a in part) ou des "trachéoles" plus les "dilacérations" (femelles stade 3 et 2a in part). Il est très net (tableau 1) que les "dilacérations" donnent un pourcentage de femelles pères beaucoup plus élevé que les "trachéoles", mais le pourcentage des femelles à un stade ovarien avancé étant faible dans notre matériel (femelles prises attaquant l'homme pendant la nuit), les "trachéoles" seules donnent un pourcentage de femelles pères peu différent de celui donné par la population totale.

Tableau 1

POURCENTAGE DE FEMELLES PARES OBSERVE LORS DES CAPTURES DE NUIT
EN FONCTION DU STADE DE DEVELOPPEMENT OVARIEN

Espèce et zone	Technique d'examen et stade ovarien	Nombre de femelles examinées	Nombre de femelles paires	Pourcentage de femelles paires	Intervalle de confiance à 95 %
<u>A. gambiae</u> villages témoins	dilacérations st. 2a et +	15	12	80	58-100
	trachéoles st. 1 à 2a	58	49	84,5	75-94
	dilacérations et trachéoles	73	61	83,6	75-92
<u>A. funestus</u> villages témoins	dilacérations st. 2a et +	42	38	90,5	75-100
	trachéoles st. 1 à 2a	196	119	60,7	54-68
	dilacérations et trachéoles	238	157	66,0	60-72
<u>A. nili</u> villages traités au DDT	dilacérations st. 2a et +	221	97	44	37-51
	trachéoles st. 1 à 2a	446	147	33	29-37
	dilacérations et trachéoles	667	244	37	35-41
<u>A. coustani</u> villages traités au DDT	dilacérations st. 2a et +	56	43	77	66-88
	trachéoles st. 1 à 2a	411	201	49	44-54
	dilacérations et trachéoles	467	244	52	47-57

Nos évaluations du pourcentage de 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 d'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 pas 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.

Tableau 2

POURCENTAGE DE FEMELLES PARES OBSERVE DANS LES VILLAGES TRAITES AU DDT DE LA ZONE
PILOTE DE BOBO DIOLASSO EN FONCTION DU MODE DE CAPTURE (OCTOBRE 1959)

Espèce	Mode de capture et stade de réplétion	Nombre de femelles examinées	Nombre de femelles paires	Pourcentage de femelles paires	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	54,0-80,9

Tableau 3

INDICES SPOROZOITIQUES COMPARES DES FEMELLES DES CAPTURES DE NUIT ET DE CELLES DES
ABRIS ARTIFICIELS DANS LES VILLAGES DDT DE LA ZONE PULVÉE DE BOBO DIOLASSO,
DE JUIN 1958 à OCTOBRE 1959

Espèce	Mode de capture	Nombre de femelles disséquées	Nombre de femelles infectées	Indice sporozoïtique	Intervalle de confiance à 95 %
<u>A. gambiae</u>	Abris artificiels	1 186	3	0,252	0,052-0,739
	Captures de nuit*	922	4	0,434	0,118-1,111
<u>A. funestus</u>	Abris artificiels	16 721	9	0,054	0,024-0,102
	Captures de nuit	1 055	7	0,664	0,266-1,366

* Le village de Sinorosso étant exclu car trop voisin des villages traités à la dieldrine où les A. gambiae infectés sont très abondants.

Tableau 4

REPARTITION DES STADES OVARIENS, ET CHEZ LES FEMELLES PARES DES "SACS" ET DES "DILATATIONS", CHEZ LES ANOPHELES CAPTURES SUR APPAT HUMAIN, PENDANT LA NUIT, DE JUIN A SEPTEMBRE 1959

Stades ovariens "parité", etc.	Nombre de femelles présentant ces caractéristiques			
	<u>A. gambiae</u>	<u>A. funestus</u>	<u>A. nili</u>	<u>A. coustani</u>
PARES avec dilatations				
3	3	1	14	3
2a	4	5	7	13
2m	0	0	5	12
PARES avec sacs				
3	4	5	5	1
2a	11	13	7	8
2m	9	11	6	11
2j	1	0	0	2
NULLIPARES				
3	3	5	15	4
2a	6	2	16	5
2m	8	5	40	19
2j	5	4	3	12
1	2	3	3	2
Total des pares avec sacs	25	29	16	22
Total des pares avec dilatations	7	6	26	28
TOTAL DES PARES	32	35	42	50
TOTAL DES NULLIPARES	24	19	77	42

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. nili 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 des 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 gonotrophique.

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.

Tableau 5

REPARTITION DES FEMELLES PARES DANS LES DIFFERENTES HEURES DE LA NUIT, LORS DES
CAPTURES SUR APPAT HUMAIN, DE JUIN A OCTOBRE 1959,
DANS LA ZONE PILOTE DE BOBO DIOULASSO

Tranche- horaire	Nombre de femelles examinées et pourcentage de paires					
	<u>A. funestus</u>		<u>A. nili</u>		<u>A. coustani</u>	
	Nombre	% paires	Nombre	% paires	Nombre	% paires
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

N.B. A. funestus : villages témoins. A. nili et A. coustani : zone DDT

Tableau 6

POURCENTAGES DE FEMELLES PARES OBSERVES DANS LES REGIONS TRAITÉES AU DDT ET DANS
LES VILLAGES TÉMOINS DE LA ZONE PILOTE DE BOBO DIOUASSO,
DE JUIN A OCTOBRE 1959

Espèce	Zone de capture	Nombre de femelles disséquées	Pourcentage de femelles paires	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

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'échantillonnages 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 aspersions 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.