



RAPPORT PRELIMINAIRE SUR LA POSSIBILITE DE DETERMINER L'AGE PHYSIOLOGIQUE  
CHEZ ANOPHELES GAMBIAE ET ANOPHELES FUNESTUS

par

T. S. Detinova

Institut Martsinovsky de Parasitologie médicale et de Médecine tropicale  
Ministère de la Santé, Moscou, URSS

et

M. T. Gillies

East African Institute of Malaria and Vector-Borne Diseases  
Amani, Tanganyika

INTRODUCTION

Bien que la méthode de Polovodova pour la détermination de l'âge physiologique des moustiques ait été très largement utilisée en URSS dans l'étude d'Anopheles maculipennis et d'autres espèces, elle n'a reçu que relativement peu d'applications dans les pays tropicaux. En Afrique, notamment, ses possibilités d'emploi pour l'étude des vecteurs importants du paludisme : Anopheles gambiae Giles et Anopheles funestus Giles n'ont fait l'objet que d'un petit nombre de travaux. Les résultats des études entreprises sont intéressants mais ne permettent pas de formuler des conclusions définitives en ce qui concerne les principaux vecteurs africains.

La présente communication donne les résultats d'études préliminaires entreprises au Tanganyika sur l'âge physiologique de ces deux vecteurs; elle indique également les difficultés rencontrées dans l'application de la méthode et suggère les moyens de les éviter. Les observations n'ont duré que peu de temps (octobre et les dix premiers jours de novembre 1962); elles ont été faites à Muheza, près de la côte, et à Gonja, dans le district de South Pare, à l'intérieur du pays. Aucune campagne de lutte contre les moustiques ne se déroulait alors dans ces deux secteurs. A Gonja, des pulvérisations d'insecticide à effet rémanent (dieldrine) avaient été effectuées de 1955

à 1959 et le dernier cycle de pulvérisation avait pris fin trois ans et demi avant la présente étude. A Muheza, il n'y a pratiquement pas d'animaux domestiques et l'on sait que les deux espèces de moustiques étudiées sont très anthropophiles. Mais il y a de nombreuses têtes de bétail à Gonja, dont la plupart passent la nuit en plein air à proximité des maisons.

#### DISCUSSIONS TECHNIQUES

En étudiant les modifications, avec l'âge, des ovaires des femelles de plusieurs espèces d'anophèles africains, on a constaté qu'il était possible d'appliquer la méthode de Polovodova. Il faut cependant noter qu'il est plus difficile de déterminer l'âge physiologique d'A. gambiae et A. funestus que d'A. maculipennis et de certaines autres espèces africaines comme A. coustani (s.l.) et A. machardyi.

Il a été particulièrement difficile d'apprécier l'âge de deux catégories de femelles pures :

1. Femelles qui se sont nourries et qui ont ovulé récemment (stades 2 et 3 de Sella). Chez les femelles d'A. gambiae et d'A. funestus, le développement des ovaires est plus rapide que chez A. maculipennis, alors que la vitesse de contraction des sacs ovariolaires semble être du même ordre pour les trois espèces. Les femelles des premières de ces espèces peuvent se trouver dans trois conditions différentes. Dans la première, l'intima de chaque ovariole est grande et forme un sac; dans ce cas, la détermination de l'âge est impossible s'il n'y a de follicules dégénérés dans aucun ovariole.

La deuxième condition correspond à une contraction partielle du sac, en raison du plus grand laps de temps qui s'est écoulé depuis l'ovulation. Jusqu'à ce que la contraction ait atteint un certain stade, les dilatations ne sont pas complètement séparées et l'âge ne peut être déterminé de façon exacte. Avec des femelles se trouvant dans cette condition, on peut avoir l'impression qu'il n'existe qu'une seule dilatation importante sans tige terminale libre. Il faut alors étirer avec

beaucoup de précaution les ovarioles et ne se prononcer sur l'âge du spécimen que si la tige terminale est visible et intacte et si les dilatations sont partiellement séparées - et donc faciles à distinguer - avant même que la contraction ne soit complète. Lorsqu'on étire fortement (trop fortement) les ovarioles, il arrive souvent qu'une dilatation du sac partiellement contracté demeure attachée au calice tandis que le reste est détaché et relié au follicule. On ne peut déterminer l'âge en pareil cas. Compte tenu de ces sources possibles d'erreurs, il faut souligner qu'en présence de sacs partiellement contractés ou d'ovarioles brisés, l'observateur devra rechercher des tubes comportant des follicules dégénérés; et il ne pourra se prononcer sur l'âge du moustique que s'il en trouve.

La troisième condition est commune à toutes les espèces : les sacs sont complètement contractés et les dilatations sont normales mais l'examen de ces spécimens peut être difficile car les tiges terminales des ovarioles se brisent facilement.

2. On a également observé sur toutes les espèces que d'autres difficultés peuvent apparaître quand on examine des femelles dont la gravidité est à terme et dont les ovaires, au stade V de Christophers, sont complètement développés. Tout d'abord, l'intima et la tige terminale des ovarioles sont très facilement déchirées, et si cela se produit, toute détermination de l'âge est impossible. En outre, le vitellus d'oeufs endommagés peut empêcher l'observation et on ne peut donc utiliser que les ovarioles où il y a des follicules dégénérés.

Il existe une autre différence entre A. maculipennis d'une part et A. gambiae et A. funestus d'autre part : le nombre relativement rare de follicules dégénérés constaté chez ces deux dernières espèces. Chez A. maculipennis, le nombre d'oeufs pondus diminue de façon marquée avec les pontes successives; il y a donc de nombreux follicules dégénérés chez les femelles vieilles. Chez les espèces africaines étudiées, et bien que l'observation n'ait porté que sur un petit

nombre de pontes, il semble que la diminution de la fécondité avec l'âge soit beaucoup moins marquée et que le nombre correspondant de follicules dégénérés soit peu important, ce qui ajoute aux difficultés rencontrées pour la détermination de l'âge des spécimens de ces espèces.

Compte tenu de certaines de ces difficultés, on a constaté que ce sont les femelles dont les ovaires se trouvent au stade IV de Christophers qui se prêtent le mieux à la dissection. Chez A. funestus et dans les conditions de température de la présente étude, les ovaires ont atteint ce stade durant la deuxième matinée qui suit le repas de sang. Les sacs ovarioles sont alors, en une large mesure, suffisamment contractés pour qu'on puisse observer des dilatations normales. De plus, l'allongement des follicules facilite la séparation des ovarioles et l'examen de chacun d'eux. Chez A. gambiae, le stade IV est généralement atteint pendant la nuit; cependant, la plus grande rapidité de contraction des sacs permet, pour cette espèce, d'utiliser des femelles dont les ovaires se trouvent vers la fin du stade III.

#### RESULTATS DES DISSECTIONS

Les moustiques ont été capturés dans les maisons en pulvérisant du pyrèthre. La dissection a été effectuée le jour même; sinon, les moustiques ont été gardés au réfrigérateur jusqu'au lendemain. A Gonja, on a aussi capturé des moustiques à la main dans les maisons et les abris pour les veaux. Les captures ont été faites pendant treize jours seulement à Muheza et six jours à Gonja. Les résultats donnés ici ne portent donc que sur un nombre très limité de jours et l'on ne peut parler d'une répartition par âge, de la population.

Les résultats des dissections figurent dans les tableaux 1 et 2 et montrent qu'il y avait des femelles d'A. funestus de tous les âges (jusqu'à neuf dilatations). Environ 25 % des moustiques présentaient trois dilatations ou davantage. Comme on sait que, dans les conditions locales, le cycle trophogonique dure trois jours et que la fécondation n'intervient qu'au bout d'un ou deux jours, il est clair que, chez

toutes les femelles étudiées, il avait dû s'écouler au moins 10 à 13 jours depuis le premier repas de sang. De plus, la période d'incubation extrinsèque de Plasmodium falciparum s'étendant sur 12 à 13 jours dans les conditions de température rencontrées, le groupe des femelles examinées doit être considéré comme épidémiologiquement dangereux. Il apparaît aussi que certaines femelles, tout au moins, (celles qui présentaient neuf dilatations) devaient être âgées d'un mois environ.

Le tableau 3 donne l'âge des femelles d'A. funestus chez lesquelles il y avait des sporozoïtes. Bien qu'un petit nombre seulement ait été disséqué, la plupart des spécimens infectants présentaient trois ou quatre dilatations. Etant donné que ces groupes d'âges sont bien représentés dans les captures, les résultats semblent indiquer que ces femelles pourraient être les plus importantes, du point de vue de la transmission du paludisme. Chez deux femelles présentant cinq dilatations, on a trouvé des larves de filaires (parvenues au terme de leur développement), chez deux autres présentant respectivement trois et cinq dilatations il y avait des formes thoraciques (oblongues) de ces larves.

Les résultats des dissections d'A. gambiae sont donnés dans le tableau 2. Dans les deux séries de captures, la proportion de nullipares était plus élevée que chez A. funestus, mais on a trouvé des individus présentant jusqu'à six dilatations. Le nombre des captures faites à Muheza était trop faible pour qu'on puisse ajouter d'autres commentaires à leur propos. Parmi celles qui provenaient de Gonja, et bien que la série d'observations ait également été très brève, la proportion des nullipares ne différait pas sensiblement de ce qui avait été constaté au cours des six mois précédents (voir tableau 4). On a trouvé des sporozoïtes chez deux spécimens capturés à Muheza et présentant respectivement trois et six dilatations.

#### RELATION ENTRE LA FECONDITE ET L'AGE

Comme il est indiqué plus haut, il n'y avait qu'un nombre relativement faible de follicules dégénérescents dans les ovaires d'A. gambiae et d'A. funestus et,

cela, même chez les femelles les plus vieilles. Pour déterminer l'influence (éventuelle) de l'âge sur la fécondité, il a été décidé de compter le nombre d'oeufs parvenus au terme de leur développement chez les femelles dont les ovaires avaient atteint les stades IV et V; les résultats de ces dénombrements figurent dans les tableaux 5 et 6. Il aurait fallu un nombre d'observations beaucoup plus important pour établir sur une base solide l'existence d'une éventuelle relation mais les tableaux montrent clairement que la fécondité ne diminue pas très nettement avec l'âge, comme c'est le cas chez A. maculipennis. Le nombre d'oeufs variait considérablement chez des individus ayant le même âge, mais des mesures (non encore analysées) de la dimension des ailes des insectes semblent indiquer que ces différences sont primordialement associées aux différences des dimensions des insectes.

#### IDENTIFICATION DE LA NATURE DES REPAS DE SANG PAR DES TESTS D'AGGLUTINATION

On a procédé à un essai restreint d'une technique permettant la détection rapide de sang non humain dans l'estomac des moustiques qui viennent de se nourrir. Cette technique a été adaptée, pour les études antipaludiques par Vlasenko en 1956. On mélange sur une lame de verre le contenu de l'estomac du moustique avec du sérum physiologique et on ajoute une goutte de sérum du groupe AB. Le sang humain ne provoque pas d'agglutination alors que les cellules sanguines qui ne proviennent pas de l'homme la provoquent. En utilisant ce test, on a constaté qu'à Gonja, sur 258 A. gambiae qui venaient d'absorber leur repas de sang, 44 % recélaient du sang non humain.

#### CONCLUSIONS

La méthode de Polovodova pour la détermination de l'âge physiologique peut s'appliquer pleinement à A. gambiae et A. funestus. Mais il y a lieu d'attirer l'attention sur plusieurs des obstacles rencontrés :

- a) Il est plus difficile de disséquer des moustiques de petites dimensions et dont les ovarioles sont petits.
- b) Il y a relativement moins de follicules dégénérescents chez A. gambiae et A. funestus que chez A. maculipennis.

c) Chez les femelles qui viennent de se nourrir (stades 2 et 3 de Sella), la présence de sacs rend difficile la détermination de l'âge notamment lorsqu'il se trouve peu de follicules dégénérés.

Compte tenu de ces difficultés, on a constaté que c'étaient les femelles dont les ovaires se trouvent au stade IV de développement qui convenaient le mieux pour les examens. Les déterminations étaient cependant possibles à tous les stades lorsqu'on pouvait trouver des follicules dégénérés ou lorsque la contraction complète des sacs ovariolaire s'était déjà produite.

TABLEAU 1. AGE PHYSIOLOGIQUE DES FEMELLES D'A. FUNESTUS  
CAPTUREES DANS DES MAISONS A MUHEZA

Période	Nombre de femelles disséquées	Nombre de femelles à jeun (Sella 1)	Nombre de femelles pré-gravides	Nombre de femelles nullipares	Nombre de dilatations									
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	?
2- 5.10.62	101	3	11	30	16	21	8	7	2	-	-	-	-	3
10-12.10.52	162	8	14	40	26	38	19	9	2	2	-	-	-	4
16-19.10.62	264	5	27	44	23	57	35	31	13	3	4	-	-	22
5- 8.11.62	320	17	57	52	53	52	37	31	6	2	1	1	3	8
Total	847	33	109	166	118	168	99	78	23	7	5	1	3	37

TABLEAU 2. AGE PHYSIOLOGIQUE DES FEMELLES D'A. GAMBIAE  
CAPTUREES DANS DES MAISONS

Région	Nombre de femelles disséquées	Nombre de femelles à jeun (Sella 1)	Nombre de femelles pré-gravides	Nombre de femelles nullipares	Nombre de dilatations						
					1	2	3	4	5	6	?
Muheza	142	4	23	43	26	22	6	5	2	1	10
Gonja	414	-	59	117	95	94	34	7	-	1	7

TABLEAU 3. RECHERCHE DES SPOROZOITES CHEZ DES FEMELLES D'A. FUNESTUS  
RESULTATS DES DISSECTIONS PAR GROUPES D'AGE

	Nombre de dilatations						
	3	4	5	6	7	8	9
Nombre de femelles positives	1	4	3*	1	1	-	-
Nombre de femelles disséquées	95	64	23	7	5	1	3
Pourcentage de femelles positives	1	6	9	14	20	-	-

\* Y inclus une femelle provenant de captures dont l'âge n'a pas été déterminé.

TABLEAU 4. PROPORTION DE FEMELLES D'A. GAMBIAE NULLIPARES  
DANS LE DISTRICT DE S. PARE, MAI-OCTOBRE 1962

Mois	Nombre de femelles disséquées	Pourcentage de femelles nullipares*
1962 :		
Mai	126	41,5
Juin	131	43,9
Juillet	100	38,5
Août	137	48,3
Septembre	310	34,9
1-18 octobre	123	35,7
Observations correspondant au présent rapport 22-29 octobre	414	32,8

\* A l'exclusion des femelles pré-gravides.

TABLEAU 5. A. FUNESTUS - NOMBRE D'OEUFS PONDUS  
EN FONCTION DE L'AGE PHYSIOLOGIQUE

Age	Nombre de femelles étudiées	Nombre moyen d'oeufs par ponte	Erreur type	Intervalle
Nullipares	42	114,2	$\pm 4,5$	54-163
1 génération	48	126,6	$\pm 2,9$	88-171
2 générations	56	114,2	$\pm 2,7$	71-166
3 générations	20	117	$\pm 3,9$	84-152
Au-dessus de 3 générations	16	116,1	$\pm 5,6$	77-163

TABLEAU 6. A. GAMBIAE - NOMBRE D'OEUFS PONDUS  
EN FONCTION DE L'AGE PHYSIOLOGIQUE

Age	Nombre de femelles étudiées	Nombre moyen d'oeufs par ponte	Erreur type	Intervalle
Nullipares	51	159,7	$\pm 6,2$	66-275
1 génération	21	152,9	$\pm 6,6$	107-210
2 et 3 générations	11	140,7	$\pm 7,8$	101-190

Le but des documents de la série WHO/Mal est le suivant :

- a) mettre le personnel de l'OMS, les instituts nationaux, les chercheurs et les travailleurs de la santé publique au courant de l'évolution des recherches sur le paludisme et des progrès de l'éradication du paludisme au moyen d'exposés succincts relatifs à quelques problèmes en cause;
- b) distribuer, aux catégories de lecteurs indiquées ci-dessus, les rapports d'opérations et autres communications qui présentent un intérêt particulier, mais qui ne sont pas normalement imprimés dans les publications de l'OMS;
- c) communiquer aux intéressés différents articles qui sont destinés à la publication mais qui, en raison de leur actualité, méritent d'être rapidement connus.

La parution d'un article dans cette série ne constitue donc pas une publication officielle et un tel article peut donc, avec l'accord de l'auteur et de l'OMS, être publié dans un périodique de l'OMS ou ailleurs.

Les articles signés n'engagent que leurs auteurs. La mention des manufactures et des produits commerciaux n'implique pas que ces maisons ou leurs produits soient recommandés ou approuvés par l'Organisation mondiale de la Santé de préférence à d'autres.