

WHO/Mal/194
14 novembre 1957

ORIGINAL : ANGLAIS



OBSERVATIONS CONCERNANT L'INFLUENCE DU NOMBRE DES MOUSTIQUES
ET DE LEUR AGE SUR LA SENSIBILITE AU DDT

par

G. Raffaele,¹ A. Coluzzi¹ et J. de Zulueta²

L'influence que peuvent exercer sur les résultats des épreuves de sensibilité des facteurs tels que l'âge des moustiques, leurs conditions d'alimentation et la saison de l'année est bien connue (Busvine, 1956a). De même, la manière dont les moustiques sont manipulés par l'expérimentateur a inévitablement un effet. Des travaux récents de Hadaway & Barlow (1956) sur Anopheles stephensi et Aedes aegypti ont clairement montré que, dans le cas de ces deux espèces et en employant la méthode d'application topique de l'insecticide, la concentration létale médiane de DDT double 24 heures après un repas de sang, puis revient à la normale 48 heures après ce repas. L'âge du moustique n'a pas semblé avoir d'influence sur les résultats de ces expériences, mais on notera que les moustiques utilisés étaient âgés de dix jours au maximum. Récemment, l'importance de la saison a été mise en évidence par Zulueta et ses collaborateurs (1957) : ces auteurs ont observé, lors d'une enquête sur la sensibilité des anophèles en Iran, que la CL_{50} de DDT augmentait d'environ 3 fois chez A. maculipennis au début de l'hibernation, époque à laquelle les femelles de cette espèce ont déjà formé le corps adipeux.

¹ Institut de Paludologie "Ettore Marchiafava", Rome

² Section du Paludisme, OMS, Genève

Les observations résumées dans la présente note mettent en lumière l'importante influence de l'âge des moustiques et de leur nombre sur les résultats des épreuves de sensibilité. Ces observations - faites tout d'abord sur A. atroparvus, puis sur A. stephensi - montrent que les moustiques âgés de quelques jours sont beaucoup moins sensibles au DDT que ceux de plus de 20 jours. Il ressort d'une autre série d'observations sur A. atroparvus que les moustiques de cette espèce soumis isolément à l'expérience peuvent résister à des doses plus fortes de DDT que si plusieurs moustiques sont présents dans chaque flacon d'épreuve. Il est ainsi démontré que deux facteurs - l'un inhérent à l'état des moustiques, l'autre relatif à la manière dont ils sont manipulés par l'expérimentateur - exercent une influence considérable sur les résultats.

Les épreuves de sensibilité relatées dans la présente note et dont les résultats sont résumés dans les trois tableaux donnés en annexe ont été exécutées suivant deux méthodes : l'une est la technique ordinaire de Busvine & Nash (1953, 1954), l'autre la technique utilisée par deux d'entre nous est récemment décrite en détail (Raffaele & Coluzzi, 1956). Il suffira d'expliquer ici que, dans cette dernière méthode, les moustiques sont capturés un par un dans de petits flacons de 2 x 1 pouces (env. 5 x 2,5 cm) laissés isolés pendant une heure dans une chambre d'exposition de 3 x 1 pouces (env. 7,5 x 2,5 cm) garnie de papier filtre imprégné d'insecticide et, finalement, relâchés dans des flacons 2 x 1 pouces pourvus d'un morceau de papier buvard humide et fermés par un bouchon de liège, ces derniers flacons servant à conserver les moustiques pendant les 24 heures qui suivent l'exposition. Cette méthode réduit au minimum le traumatisme dû à la manipulation des moustiques et présente en outre l'avantage d'assurer le maintien des moustiques dans des conditions d'humidité uniforme pendant les 24 heures qui suivent l'exposition. La mortalité nulle observée tant en laboratoire que sur le terrain chez les moustiques témoins d'un grand nombre d'espèces (Raffaele & Coluzzi, 1956) montre combien les moustiques souffrent peu des manipulations effectuées par cette méthode.

Dans les expériences ici décrites qui ont été exécutées suivant cette technique, les papiers-filtre ont été imprégnés soit par une solution de DDT à 2 % dans le xylène (expériences résumées dans le tableau I), soit par diverses solutions de DDT dans de l'huile Risella (expériences mentionnées dans le tableau II); l'imprégnation était alors effectuée suivant la technique de Busvine (1954),

Dans une autre série d'expériences, la méthode de Busvine a été appliquée pour tous les essais (expériences présentées dans le tableau III). Dans tous les cas où le papier-filtre destiné à tapisser les chambres d'exposition était traité avec des solutions de DDT dans l'huile Risella, ce traitement a eu lieu la veille de l'essai. Les papiers-filtre traités étaient jetés après trois jours; le nombre maximum des essais exécutés sur un même papier était de cinq. Dans les expériences faites suivant la méthode ordinaire de Busvine, les moustiques ont été conservés, après exposition, dans des gobelets de carton 4 x 3 pouces qui furent jetés après avoir été utilisés un petit nombre de fois. Les gobelets étaient recouverts d'un morceau de gaze maintenu en place par un élastique. Un trou était pratiqué dans ce couvercle afin que les moustiques puissent passer de la chambre d'exposition dans le gobelet de carton; le transfert opéré, le trou était obturé par un tampon de coton hydrophile imprégné d'une solution de glucose. L'emploi de ces gobelets de carton nous avait été recommandé par M. G. Davidson (communication personnelle, 1957); nous les avons trouvés plus pratiques que les cages ordinaires en mousseline ordinairement employées pour conserver les moustiques pendant la période de 24 heures suivant l'exposition. Comme la présente note a trait principalement à l'effet du nombre des moustiques, il convient de signaler que nous n'avons observé aucune différence entre les résultats, que les gobelets de carton aient contenu cinq, dix ou vingt moustiques pendant la période de 24 heures. La constatation importante que nous avons faite concerne l'influence du nombre des moustiques présents dans les chambres d'exposition.

Les moustiques soumis aux épreuves étaient toujours gorgés de sang et nous avons soigneusement noté l'âge du moustique, facteur qui, on le verra plus loin, a un effet considérable sur les résultats. Toutes les expériences dont il est question dans la présente note ont été exécutées dans l'insectarium de l'Istituto de Malariologia, à une température d'environ 27°C et à une humidité relative d'environ 80 %. La lumière artificielle a été utilisée pendant toute la durée de l'exposition, mais les moustiques sont demeurés dans l'obscurité complète durant la majeure partie des 24 heures suivantes.

Trois colonies de moustiques ont été employées. La colonie de A. atroparvus provenait d'une souche anglaise entretenue sans interruption depuis 1933 dans le laboratoire de M. P.G. Shute. La colonie A. stephensi, d'origine indienne, a également été entretenue dans le laboratoire de M. P.G. Shute; de même que la colonie d'atroparvus, elle a été amenée voici quelques années, à Rome. La colonie de A. aegypti provient d'une souche française entretenue depuis de nombreuses années dans le laboratoire de feu le Professeur E. Brumpt.

Les résultats présentés dans les tableaux I et II montrent clairement dans quelle mesure l'âge du moustique peut influencer les résultats des expériences de sensibilité. Pour les essais résumés dans le tableau I, nous avons employé une solution de DDT dans le xylène, mais ce solvant étant volatil, il était évaporé au moment où les moustiques entraient en contact avec l'insecticide : seul un dépôt de DDT demeurait alors sur le papier-filtre. Les effets de l'âge sur les résultats ont ainsi été observés à la fois avec des dépôts secs de DDT (tableau I) et avec l'insecticide en solution huileuse (tableau II).

Les résultats résumés dans le tableau III montrent l'influence du nombre des moustiques sur l'issue des expériences de sensibilité. Bien que l'âge des atroparvus n'ait pas été le même dans tous les essais, il était néanmoins suffisamment uniforme pour permettre d'exclure l'influence du facteur âge. Aucune différence significative n'a été observée entre les résultats obtenus selon qu'on mettait un ou deux moustiques dans la chambre d'exposition. C'est seulement quand cinq moustiques étaient présents dans le flacon qu'une différence significative a été constatée. L'augmentation de la mortalité consécutive à un accroissement du nombre des moustiques soumis à l'épreuve peut être due à plusieurs facteurs. Quand cinq moustiques se trouvent confinés dans un petit flacon de 3 x 1 pouces servant de chambre d'exposition, ils manifestent une activité plus grande que lorsque chacun est seul dans un même flacon. Plus un moustique se pose fréquemment sur une surface imprégnée d'insecticide, et entre en contact avec elle, plus il ramasse une quantité élevée d'insecticide; ainsi, en augmentant le nombre des moustiques enfermés dans une chambre d'exposition, on accroît l'activité de ces moustiques et sans doute la quantité d'insecticide absorbée. La multiplication du nombre des moustiques peut également avoir un effet d'un autre ordre : quand les moustiques commencent à ressentir

l'action toxique de l'insecticide, ils perdent la coordination de leurs mouvements, se heurtent mutuellement et heurtent aussi les parois du récipient. Souvent, ils tombent et marchent les uns sur les autres, et doivent souffrir de ce fait d'assez importants dommages; les moustiques perdent fréquemment leurs pattes dans les flacons servant de chambres d'exposition, ce que l'on constate rarement dans les flacons témoins. Nous avons observé que ces mutilations sont courantes quand plusieurs moustiques sont soumis à l'épreuve dans un même flacon, mais rares quand la chambre d'exposition contient un seul moustique. Il apparaît donc que mettre plusieurs moustiques dans un petit flacon et les exposer à un produit toxique tel que le DDT a des conséquences particulièrement nuisibles; il en résulte une mortalité qui, en toute probabilité, n'est pas due seulement à l'action du produit toxique mais aussi aux traumatismes résultant du confinement dans l'espace restreint de la chambre d'exposition.

Par la publication de ces observations, nous cherchons surtout à montrer à ceux qui travaillent sur le terrain que les résultats de leurs expériences peuvent être influencés par le nombre des moustiques qu'ils soumettent simultanément à l'exposition. C'est là un point d'importance pratique, notamment dans les régions traitées au moyen d'insecticides à action rémanente, où les anophèles peuvent être difficiles à trouver et où les essais de sensibilité risquent d'être, et sont en fait, exécutés avec un seul moustique par chambre d'exposition. De telles expériences donneront des mortalités plus faibles et, par conséquent, indiqueront une CL_{50} plus élevée que si l'expérimentateur avait utilisé plusieurs moustiques par flacon. L'âge du moustique peut également influencer les résultats des expériences sur le terrain, en particulier lorsqu'elles sont effectuées sur des moustiques âgés, mais l'expérimentateur en campagne éprouvera toujours des difficultés à déterminer l'âge exact des moustiques qu'il soumet à l'épreuve.

Avant de conclure, nous désirons insister sur le fait que les mortalités observées chez A. atroparvus ont été nettement inférieures aux chiffres considérés comme normaux pour des anophèles (Busvine 1956b; Section du Paludisme, OMS, 1957). Il est difficile de dire si la tolérance au DDT ainsi constatée était propre à la souche utilisée ou si elle était due au milieu artificiel du laboratoire. Davidson (1957) a observé une tolérance accrue au DDT dans une colonie de A. stephensi élevée

en laboratoire (sans avoir été soumise à une pression sélective par élevage en présence d'insecticide); et il a attribué ce phénomène à l'effet des techniques améliorées d'élevage en laboratoire. Nous croyons que, dans le cas présent, on ne saurait exclure la possibilité d'un effet imputable au milieu artificiel du laboratoire où la souche a été conservée pendant plus de vingt ans.

BIBLIOGRAPHIE

- Busvine, J.R. (1954) Org. mond. Santé : Sér. Rapp. techn., 80, 34
- Busvine, J.R. (1956a) Bull. Org. mond. Santé, 15, 389-401
- Busvine, J.R. (1956b) Bull. Org. mond. Santé, 15, 787-791
- Busvine, J.R. & Nash, R. (1953) Bull. ent. Res., 44, 371-376
- Davidson, G. (1957) Bull. Org. mond. Santé (sous presse)
- Hadaway, A.B. & Barlow, F. (1956) Ann. Trop. Med. Parasit., 50, 438-443
- Section du Paludisme, OMS (1957) Bull. Org. mond. Santé (sous presse)
- Raffaele, G. & Coluzzi, M. (1956) Riv. Malariol., 35, 177-198
- Zulueta, J. de, Jolivet, P., Thymakis, K. & Caprari, P. (1957) Bull. Org. mond. Santé, 16, 475-479

Tableau I

Résultats d'épreuves de sensibilité sur trois espèces de moustiques, *
montrant l'influence de l'âge du moustique.
Epreuves exécutées avec une solution de DDT à 2 % dans le xylène

Espèces	Age des moustiques (en jours)	Nombre de moustiques soumis à l'épreuve	Nombre de moustiques morts	Mortalité (%)
<u>A. stephensi</u>	< 20	100	90	90
	4-6	100	36	36
<u>A. atroparvus</u>	< 20	393	177	45
	4-6	199	16	8
<u>Aedes aegypti</u>	< 20	100	46	46
	4-6	100	10	10

* Moustiques recueillis dans un petit flacon et laissés isolés pendant toute la durée de l'épreuve

Tableau II

Résultats d'épreuves de sensibilité sur A. atroparvus, *
montrant l'influence de l'âge du moustique.
Epreuves exécutées avec une solution de DDT dans de l'huile Risella

Concentration de DDT dans l'huile (non volatile) (%)	Age du moustique (en jours)	Nombre de moustiques soumis à l'épreuve	Nombre de moustiques morts	Mortalité (%)
0,5	3-5	-	-	-
	< 20	40	2	5
1	3-5	30	0	0
	< 20	40	3	7,5
2	3-5	30	0	0
	< 20	40	6	15
4	3-5	30	3	10
	< 20	40	11	27,5

* Moustiques recueillis dans un petit flacon et laissés isolés pendant toute la durée de l'épreuve

Tableau III

Résultats d'épreuves de sensibilité sur A. atroparvus,
montrant l'influence du nombre des moustiques.
Epreuves exécutées d'après la méthode de Busvine

Nombre de moustiques par chambre d'exposition	Age du moustique (en jours)	Concentration du DDT dans de l'huile (non volatile) (%)	Nombre total de moustiques soumis à l'épreuve	Nombre de moustiques morts	Mortalité (%)
1	5 à 12	0,5	80	7	8,8
1	5 à 12	1	80	4	5
1	5 à 12	2	80	4	5
1	5 à 12	4	80	12	15
1	5 à 12	0 (témoin)	20	1	5
2	4 à 9	0,5	60	3	5
2	4 à 9	1	60	2	3,3
2	4 à 9	2	60	3	5
2	4 à 9	4	40	1	2,5
2	4 à 9	0 (témoin)	-	-	-
5	3 à 8	0,5	100	6	6
5	3 à 8	1	140	0	0
5	3 à 8	2	140	3	2,1
5	3 à 8	4	140	32	22,8
5	3 à 8	0 (témoin)	130	1	0,8