



ENTRETIEN EN LABORATOIRE, PAR COPULATION ARTIFICIELLE,
D'UNE COLONIE D'ANOPHELES MACULATUS THEOBALD¹

par

C. K. Ow Yang, F. L. Sta Maria et R. H. Wharton
Institut de Recherche médicale, Kuala Lumpur
Fédération de Malaisie

Au cours de recherches sur la sensibilité des anophèles de Malaisie à Plasmodium cynomolgi bastianellii, agent du paludisme simien, A. maculatus a été sélectionné comme moustique témoin en raison de sa très grande sensibilité. Pour commencer, des adultes indemnes nés d'oeufs de femelles sauvages capturées ont été élevés au laboratoire. Cette méthode s'est avérée fastidieuse, trop longue et trop fatigante; le besoin d'une méthode de culture en laboratoire se faisait sentir.

Des tentatives d'élevage de A. maculatus faites à diverses reprises en Malaisie et ailleurs avaient échoué. Lors de tentatives récentes, les moustiques refusaient de s'accoupler dans des cages cubiques de 30, 60 ou 180 cm de côté. Cependant la technique de la copulation provoquée, mise au point par McDaniel & Horsfall (1957) pour les aédinés, a pu être appliquée avec succès à certains anophélinés. Les rapports de Caravaglios (1961) sur la copulation provoquée de A. labranchiae et ceux de Baker et al. (1962) sur la copulation provoquée de A. punctipennis, A. quadrimaculatus, A. freeborni et A. albimanus ont permis de penser que nos problèmes pouvaient être résolus de façon analogue.

¹ Cet étude doit être publiée dans "Mosquito News". L'éditeur de WHO/Mal remercie l'auteur d'en avoir permis la publication anticipée dans la présente série de documents de l'OMS.

La technique a été simplifiée par rapport à celle qui avait été utilisée précédemment. Les mâles et les femelles naissent dans des cages cubiques distinctes de 30 cm de côté, sont nourris d'une solution glucosée à 5 % placée dans l'insecterie qui est maintenue à une température de 27°C et à une humidité relative de 70-90 %. A l'état de pupes, les sujets sont séparés de façon assez précise selon la taille, car plus de 95 % des plus grands donnent naissance à des femelles. Deux jours après l'éclosion des femelles la solution de glucose est enlevée dans la matinée, puis remplacée le soir du même jour par un cobaye qui reste dans la cage pendant la nuit. Le lendemain matin, les femelles gorgées sont recueillies dans des tubes individuels. Les mâles sont prélevés au bout de 3 à 6 jours à l'aide d'une pipette de petit calibre à parois noires,¹ fixée à un appareil à succion douce. Ils ne sont pas anesthésiés mais épinglés latéralement à travers le thorax à l'aide d'une très fine épingle fixée à l'extrémité d'un bâtonnet de bois tendre, long d'une quinzaine de centimètres. On prépare simultanément plusieurs mâles et, après ablation de la tête et des pattes, on les aligne pour qu'ils soient prêts à être utilisés. Les femelles sont anesthésiées à l'aide d'un tampon de coton imbibé d'éther placé à l'extrémité supérieure du tube contenant la femelle gorgée. Une fois complètement anesthésiée, la femelle est extraite de son tube, posée sur le dos, sur une plaque blanche, lisse et propre. La copulation est effectuée en approchant le mâle de la femelle sous un angle de 45° environ de telle façon que mâle et femelle soient ventre à ventre, les extrémités de l'abdomen étant en contact. Les mâles qui réagissent ouvrent largement leurs pinces tout en inclinant l'extrémité de l'abdomen vers l'appareil génital de la femelle. Après la copulation, si l'union est complète, on peut sans difficulté soulever ensemble les deux insectes, la femelle étant fortement agrippée par le mâle. On les place ensuite dans un petit gobelet de carton près de la base duquel a été découpé un petit volet carré d'environ 1,2 cm de côté et on libère le mâle de l'épingle sur le bord du volet. La paire accouplée tombe dans le gobelet; on ferme alors le volet par un élastique. Mâle et femelle restent généralement accouplés pendant une ou deux minutes. Chaque gobelet reçoit dix paires de moustiques. Deux jours plus tard, les femelles sont prélevées pour la ponte et gardées dans des tubes

¹ On utilise une pipette hématologique étalonnée. /Editeur/

individuels ou dans des gobelets au fond desquels a été placé du papier-filtre humide. L'ensemble des opérations est effectué sans loupe à une température ambiante d'environ 26 à 28°C.

Par cette technique de copulation, la proportion de femelles fécondées au cours des cinq premières générations a été respectivement de 85, 100, 83, 71 et 82 %, soit en moyenne 85 %. Ces chiffres correspondent au dénombrement des femelles qui ont vécu assez longtemps pour pondre des oeufs viables, et des quelques femelles trouvées moribondes et qui n'ont pas pondu mais dans la spermathèque desquelles on a trouvé du sperme.

Chaque femelle pond environ 80 à 100 oeufs. Ainsi, si dix femelles environ étaient accouplées chaque jour, elles pondraient assez d'oeufs pour une production journalière d'environ 300 femelles adultes. La colonie en est maintenant à la quinzième génération et rien ne semble s'opposer à son entretien indéfini. Bien organisées, les opérations nécessaires pour accoupler 50 femelles prennent de 60 à 75 minutes, y compris la capture des femelles gorgées et la préparation des mâles. Elles sont donc beaucoup plus rapides que par les techniques précédemment décrites. Il est maintenant beaucoup plus facile de faire gorger des femelles vierges sur des cobayes et la taille de la colonie n'est limitée que par le temps nécessaire à l'accouplement et par les problèmes que pose l'évolution larvaire ultérieure.

Des tentatives d'accouplement d'autres espèces d'anophèles ont également réussi. En particulier, des spécimens de A. letifer qui avaient été capturés sauvages à jeun et qui avaient survécu à une exposition à de fortes doses de DDT, ont pu être nourris; leurs oeufs ont permis d'obtenir des adultes dont quelques-uns ont pu être accouplés. Bien que nous n'ayons pas pu établir une colonie, ce petit succès permet de penser que la technique d'accouplement artificiel pourrait rendre service au cours d'études sur la résistance aux insecticides.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Baker, R. H., French, W. L. & Kitzmiller, J. B. (1962) Induced copulation in Anopheles mosquitos. Mosquito News, 22, 16
- Caravaglios, N. (1961) Accompiamento artificiale senza decapitazione del maschio in Anopheles labranchiae Fall. Riv. Parassit., 22, 149
- McDaniel, I. N. & Horsfall, W. R. (1957) Induced copulation of Aedine mosquitoes. Science, 125, 745

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.