

Observations sur les méthodes d'évaluation de l'âge physiologique des femelles d'anophèles

J. HAMON¹, G. CHAUVET² & L. THÉLIN³

L'estimation de l'âge physiologique des femelles d'anophèles est un élément important de l'étude de la transmission du paludisme et de l'évaluation de l'efficacité des traitements insecticides. Car il importe de détruire le plus grand nombre possible de femelles en âge d'héberger des sporozoïtes dans leurs glandes salivaires. Le nombre des cycles gonotrophiques est l'expression de cet âge physiologique. Leur numération par dissection et observation microscopique peut se faire par diverses méthodes.

Plusieurs d'entre elles ont été comparées et les plus adéquates ont été utilisées pour établir l'âge des femelles capturées sur appât humain et sous abris artificiels, dans la zone pilote de lutte antipaludique de Bobo Dioulasso et les zones témoins avoisinantes. Ces recherches ont fait surgir des problèmes que des études ultérieures devront résoudre, avant que l'on puisse recommander une technique sûre d'évaluation.

Différentes méthodes ont été proposées par Mer (1932), Polovodova (1941, 1949), Detinova (1945, 1949), Lewis (1958) et Gillies (1958), pour distinguer les femelles pares des femelles nullipares, et éventuellement, chez les femelles pares, le nombre de cycles gonotrophiques.

Pour être utilisable de façon systématique dans le contrôle entomologique d'une zone pilote de lutte antipaludique, une méthode d'estimation de l'âge physiologique doit être simple, assez rapide, et donner les mêmes résultats avec différents observateurs. Elle doit en outre réserver la possibilité de disséquer les glandes salivaires et éventuellement l'estomac, pour permettre d'établir sur le même matériel le taux d'infection des anophèles (Beklemishev et al., 1959).

AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS DES DIVERSES MÉTHODES

La détermination exacte du nombre de cycles gonotrophiques, par comptage du nombre des dilatactions situées sur les funicules des ovarioles demande trop de temps et de dextérité pour être effectuée de façon régulière sur le terrain, au moins dans les

conditions régnant en Afrique. Nous avons donc essayé simultanément, dans la zone pilote de Bobo Dioulasso, de reconnaître les femelles pares par trois méthodes:

- a) les changements qualitatifs des ampoules et des oviductes pairs (Mer, 1932 et Polovodova, 1941);
- b) la structure du funicule de l'ovariole après dilacération de l'ovaire (Lewis, 1958);
- c) la forme des trachéoles à l'intérieur de l'ovaire (Detinova, 1945).

Les ovaires étaient extraits avec soin par l'un d'entre nous (G. C.) dans du soluté physiologique et identifiés comme pares ou nullipares par la méthode a); puis l'un des ovaires était transféré dans de l'eau distillée, et les trachéoles examinées après évaporation de l'eau distillée (méthode c) par le second membre de l'équipe (L. T.), tandis que l'autre ovaire était dilacéré dans du soluté physiologique et examiné à l'état frais (méthode b) par le troisième (J. H.). Chaque femelle portait un numéro d'ordre permettant de comparer les résultats après chaque séance de dissection. Voici les résultats de cette comparaison:

Les pourcentages de femelles pares obtenus par les trois méthodes sur le même lot d'anophèles ne sont pas très différents. Mais si on examine les diagnostics un à un, on constate que les femelles considérées comme pares d'après l'aspect des trachéoles le sont presque toujours aussi d'après la

¹ Entomologiste médical, Office de la Recherche Scientifique et technique Outre-Mer (ORSTOM), Chef de la Section d'Entomologie du Centre Muraz, Bobo Dioulasso, République de Haute-Volta.

² Entomologiste médical ORSTOM, Institut de Recherche scientifique de Madagascar, Tananarive.

³ Entomologiste, Organisation mondiale de la Santé.

TABLEAU 1
POURCENTAGE DE FEMELLES PARES OBSERVÉ LORS DE 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 à 95 % |
|---|-------------------------------------|------------------------------|--------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| <i>A. gambiae</i> Villages témoins | dilacérations stades 2 a * et 3 | 15 | 12 | 80 | 58-100 |
| | trachéoles stades 1-2 a | 58 | 49 | 84 | 75-94 |
| | dilacérations et trachéoles | 73 | 61 | 84 | 75-92 |
| <i>A. funestus</i> Villages témoins | dilacérations stades 2 a et 3 | 42 | 38 | 90 | 75-100 |
| | trachéoles stades 1-2 a | 196 | 119 | 61 | 54-68 |
| | dilacérations et trachéoles | 238 | 157 | 66 | 60-72 |
| <i>A. nili</i> Villages traités au DDT | dilacérations stades 2 a et 3 | 221 | 97 | 44 | 37-51 |
| | trachéoles stades 1-2 a | 446 | 147 | 33 | 29-37 |
| | dilacérations et trachéoles | 667 | 244 | 37 | 33-40 |
| <i>A. coustani</i> Villages traités au DDT | dilacérations stades 2 a et 3 | 56 | 43 | 77 | 66-88 |
| | trachéoles stades 1-2 a | 411 | 201 | 49 | 44-54 |
| | dilacérations et trachéoles | 467 | 244 | 52 | 47-57 |

* a = âgé

structure du funicule des ovarioles, et que celles considérées comme nullipares d'après l'aspect des trachéoles sont toujours considérées comme nullipares d'après la structure du funicule des ovarioles. 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 5%-10% des cas. A plusieurs reprises, des ovaires présentant toutes les caractéristiques qualitatives d'une femelle pare se sont avérés correspondre à une nullipare chez une femelle et à une pare chez une autre, aussi bien d'après les trachées que d'après les funicules des ovarioles. La morphologie des ampoules et des oviductes communs n'est donc pas un critère très satisfaisant pour distinguer les femelles pares des nullipares. 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).

TECHNIQUE ADOPTÉE ET DISCUSSION DES RÉSULTATS

A la suite de cette étude nous avons adopté la technique suivante dans la zone pilote de Bobo Dioulasso:

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 soluté physiologique. Après un bref examen à la loupe binoculaire les ovaires jusqu'au stade 2 moyen, et pour certains jusqu'au 2 âgé sont transférés dans une goutte d'eau distillée pour être examinés après dessiccation. La majorité des ovaires 2 âgé et tous les ovaires 3 sont examinés par dilacération sous loupe binoculaire et la structure des funicules des ovarioles est étudiée au microscope. Comme nous étudions l'âge physiologique des anophèles sur les femelles prises la nuit sur appât humain, les stades 2 âgé et 3 sont la minorité, et l'on peut examiner par cette technique 150 à 300 femelles par matinée (4 ½ heures), la lecture des trachéoles étant faite éventuellement l'après-midi. Le point délicat est la distinction des ovaires que l'on doit dilacérer de ceux que l'on peut examiner à sec. Chez certaines

femelles paires, contenant encore quelques œufs de la ponte précédente, les trachéoles présentent parfois quelques traces des pelotons caractéristiques des femelles nullipares. Il faut donc rechercher 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 au milieu du stade 2 âgé. Il semble que les femelles des espèces anophéliennes de grande dimension, telles *A. gambiae*, *A. pharoensis* et *A. coustani*, aient des trachéoles ovariennes très abondantes, dont les pelotons se déroulent plus lentement que chez les espèces de petite taille, ce qui permet l'identification des nullipares par la méthode des trachéoles à un stade ovarien plus avancé.

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 des femelles paires, selon que l'on ne tenait compte que des « trachéoles » (femelles avec les ovaires au stade 1 — 2 jeune — 2 moyen et 2 âgé, partiellement), ou des « trachéoles » plus les « dilacérations » (femelles stade 3 et 2 âgé, partiellement). Le tableau 1 montre nettement que les « dilacérations » donnent un pourcentage de femelles paires nettement plus élevé que les « trachéoles », mais comme la fréquence des femelles à un stade ovarien avancé est faible dans notre matériel, les « trachéoles » seules donnent un pourcentage de femelles paires peu différent de celui obtenu sur la population totale.

Nos évaluations du pourcentage des femelles paires sont faites sur les femelles provenant des captures de nuit sur appât humain, parce que cela nous donne un bon échantillonnage de la population anophélienne en rapport avec l'homme, aussi bien dans les villages traités au DDT que dans les agglomérations non traitées, ce qui n'est pas le cas des captures de moustiques faites le jour dans les habitations (Hamon et al. (ORSTOM), 1959). C'est cependant un procédé coûteux et souvent de faible rendement, et nous avons essayé d'appliquer la même technique d'évaluation de l'âge physiologique 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). 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 paires obtenus respectivement sur les femelles des captures de nuit et sur celles à jeun ou fraîchement gorgées prises le matin dans des abris artificiels, tous les spécimens provenant des mêmes villages de la zone traitée. Il y a une nette discordance 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* provenant des abris artificiels sont moins élevés que ceux des femelles

TABLEAU 2
POURCENTAGE DE FEMELLES PAIRES OBSERVÉ DANS LES VILLAGES TRAITÉS AU DDT
EN FONCTION DU MODE DE CAPTURE (OCTOBRE ET DÉCEMBRE 1959)

| Espèce anophélienne | Mode de capture et stade de réplétion | Nombre de femelles examinées | Nombre de femelles paires | Pourcentage de femelles paires | Intervalle de confiance à 95 % |
|----------------------|---|------------------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| <i>A. funestus</i> | captures de nuit, femelles à jeun | 98 | 58 | 59 | 49-69 |
| | abris artificiels, femelles à jeun | 212 | 37 | 17 | 12-23 |
| | abris artificiels, femelles gorgées | 25 | 12 | 48 | 28-68 |
| | abris artificiels, ensemble des femelles non gravides | 237 | 49 | 21 | 16-26 |
| <i>A. flavicosta</i> | captures de nuit, femelles à jeun | 53 | 37 | 70 | 57-82 |
| | abris artificiels, femelles à jeun | 38 | 24 | 63 | 48-79 |
| | abris artificiels, femelles gorgées | 17 | 14 | 82 | 64-100 |
| | abris artificiels, ensemble des femelles non gravides | 55 | 38 | 69 | 57-81 |

TABLEAU 3

INDICES SPOROZOÏTIQUES COMPARÉS DES FEMELLES D'ANOPHÈLES PROVENANT DES CAPTURES DE NUIT SUR APPÂT HUMAIN, ET DES RÉCOLTES SOUS ABRIS ARTIFICIELS, DANS LES VILLAGES TRAITÉS AU DDT (JUN 1958 A OCTOBRE 1959)

| Espèce | Mode de capture | Nombre de femelles disséquées | Nombre de femelles infectées | Indice sporozoïtique | Intervalle de confiance à 95 % |
|--------------------|-------------------|-------------------------------|------------------------------|----------------------|--------------------------------|
| <i>A. gambiae</i> | Abris artificiels | 1186 | 3 | 0,25 | 0,05-0,74 |
| | Captures de nuit | 922 | 4 | 0,43 | 0,12-1,11 |
| <i>A. funestus</i> | Abris artificiels | 16721 | 9 | 0,05 | 0,02-0,10 |
| | Captures de nuit | 1055 | 7 | 0,66 | 0,27-1,37 |

de la même espèce provenant des captures de nuit, alors que ce phénomène ne se manifeste pratiquement pas chez *A. gambiae*, comme l'indique le tableau 3. Comme nous avons vérifié qu'il s'agissait

bien d'*A. funestus sensu stricto* nous sommes obligés de conclure que le pourcentage de femelles pares dans une population ne peut pas être évalué sur des femelles capturées par n'importe quelle méthode.

TABLEAU 4

RÉPARTITION DES STADES OVARIENS ET, CHEZ LES FEMELLES PARES, DES « SACS » ET « DILATATIONS », CHEZ LES ANOPHÈLES CAPTURÉS DE NUIT SUR APPÂT HUMAIN (JUN A SEPTEMBRE 1959)

| Parité, sacs, dilatations et stades ovariens | Nombre de femelles | | | |
|--|--------------------|--------------------|----------------|--------------------|
| | <i>A. gambiae</i> | <i>A. funestus</i> | <i>A. nlli</i> | <i>A. coustani</i> |
| Pares avec dilatations | | | | |
| 3 | 3 | 1 | 14 | 3 |
| 2 a | 4 | 5 | 7 | 13 |
| 2 m * | 0 | 0 | 5 | 12 |
| Pares avec sacs | | | | |
| 3 | 4 | 5 | 5 | 1 |
| 2 a | 11 | 13 | 7 | 8 |
| 2 m | 9 | 11 | 6 | 11 |
| 2 j ** | 1 | 0 | 0 | 2 |
| Nullipares | | | | |
| 3 | 3 | 5 | 15 | 4 |
| 2 a | 6 | 2 | 16 | 5 |
| 2 m | 8 | 5 | 40 | 19 |
| 2 j | 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 général des pares | 32 | 35 | 42 | 50 |
| Total des nullipares | 24 | 19 | 77 | 42 |

* m = moyen ** j = jeune

Il s'ensuit que les indices sporozoïtiques peuvent donc varier dans certains cas selon 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 de femelles paires, 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 nettement, bien qu'il n'y ait pas de règle stricte, qu'une grande proportion des *A. gambiae* et des *A. funestus* prennent leur repas de sang la nuit même de la ponte, alors que la majorité des *A. nili* et des *A. coustani* ne prennent pas de repas de sang la nuit de la ponte. On peut noter également

qu'une proportion appréciable des femelles qui viennent piquer sont au stade 2 âgé, ou à un stade plus avancé. Or nous avons constaté au laboratoire que les femelles qui pondent dès que leurs œufs sont mûrs ont des ovaires presque invariablement au stade 2 moyen, tandis que celles qui pondent 24 heures ou plus après que leurs œufs sont mûrs présentent souvent des ovaires au stade 2 âgé. Il est donc probable que dans la nature un certain nombre de femelles ne pondent que 24 ou 48 heures après la maturation des œufs. 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 de juin à octobre 1959, nous avons étudié le pourcentage des femelles paires en fonction de l'heure d'attaque. Le tableau 5 résume nos observations pour *A. funestus*, *A. nili* et *A.*

TABLEAU 5
RÉPARTITION DES FEMELLES PARES AUX DIFFÉRENTES HEURES DE LA NUIT LORS DE CAPTURE
SUR APPÂT HUMAIN (JUIN A OCTOBRE 1959) *

| Tranche horaire | Nombre de femelles examinées et pourcentage de paires | | | | | |
|-----------------|---|----------|----------------|----------|--------------------|----------|
| | <i>A. funestus</i> | | <i>A. nili</i> | | <i>A. coustani</i> | |
| | 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 | 9 | 44,4 | 108 | 31,5 | 142 | 49,3 |
| 21-24 | 33 | 57,6 | 288 | 35,8 | 202 | 51,5 |
| 00-03 | 104 | 70,2 | 247 | 41,3 | 170 | 59,4 |
| 03-06 | 153 | 67,3 | 214 | 41,6 | 121 | 67,8 |
| 18-06 | 299 | 66,6 | 857 | 38,3 | 635 | 56,2 |

* Les *A. funestus* proviennent des villages témoins, les *A. nili* et *A. coustani* de la zone traitée au DDT.

TABLEAU 6
POURCENTAGES DE FEMELLES PARES OBSERVÉS DANS LES RÉGIONS TRAITÉES AU DDT
ET DANS LES VILLAGES TÉMOINS, LORS DE CAPTURES DE NUIT
(JUIN 1959 A AVRIL 1960)

| Espèce | Zone de capture | Nombre de femelles disséquées | Pourcentage de femelles pares | Intervalle de confiance à 95 % |
|----------------------|------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| <i>A. gambiae</i> | Villages témoins | 203 | 75 | 69-81 |
| | Zone DDT | 207 | 42 | 36-48 |
| <i>A. funestus</i> | Villages témoins | 732 | 79 | 76-82 |
| | Zone DDT | 354 | 52 | 47-57 |
| <i>A. nili</i> | Villages témoins | 136 | 54 | 45-63 |
| | Zone DDT | 1126 | 42 | 39-45 |
| <i>A. coustani</i> | Villages témoins | 26 | 73 | 55-91 |
| | Zone DDT | 683 | 56 | 52-60 |
| <i>A. flavicosta</i> | Villages témoins | 20 | 60 | 38-82 |
| | Zone DDT | 85 | 64 | 54-74 |
| <i>A. pharoensis</i> | Villages témoins | 26 | 54 | 34-74 |
| | Zone DDT | 514 | 59 | 55-63 |

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, et 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. Des captures de nuit « partielles » ne constituent peut-être pas un échantillonnage satisfaisant de la population anophélienne dans son ensemble. Toutefois l'analyse des résultats par la méthode du χ^2 n'élimine pas l'hypothèse que cette fluctuation soit due simplement au hasard de l'échantillonnage.

Nous avons déterminé, sur les femelles récoltées dans les captures de nuit, de juin 1959 à avril 1960, le pourcentage de femelles pares en fonction de la zone de capture: villages témoins, ou villages et hameaux de la zone traitée au DDT (situés à une distance suffisante des villages non traités). Les résultats, groupés dans le tableau 6, montrent une nette diminution de la proportion de femelles pares dans la zone traitée par rapport à la zone témoin, chez *A. gambiae* et *A. funestus*, alors que cette pro-

portion ne varie guère chez les autres espèces, exception faite de *A. coustani*, ce qui peut s'expliquer par le petit nombre de dissections provenant des villages témoins. Un fait frappant est la proportion plus élevée de femelles pares chez *A. funestus* que chez *A. gambiae*, aussi bien en zone traitée que dans les villages témoins. Dans la région de Bobo Dioulasso au contraire, les indices sporozoïtiques d'*A. funestus* sont toujours plus faibles, sur une longue période, que ceux d'*A. gambiae*, alors qu'il ne semble pas y avoir de différences dans le degré d'anthropophilie ni dans la durée du cycle gonotrophique. Cet écart tient peut-être au fait que *A. funestus* étant plus petit qu'*A. gambiae*, absorbe une quantité plus faible de sang, et a donc proportionnellement moins de chances d'absorber des gamètes de *Plasmodium*.

Les différentes études mentionnées ci-dessus ne sont pas terminées. Les résultats sont présentés pour mettre en évidence les divers problèmes qui se posent. Il conviendrait de les résoudre de façon aussi complète que possible, avant que l'on puisse recommander une technique d'évaluation de l'âge physiologique des femelles d'anophèles, pour apprécier l'efficacité des aspersions insecticides dans le cadre des campagnes d'éradication du paludisme.

SUMMARY

This article describes the method used in the Bobo Dioulasso area, Upper Volta, for the differentiation of parous and nulliparous female anophelines captured on human bait. Differentiation is based, for females at or before the late substage of the second ovarian stage, on the appearance of the tracheoles of the ovaries, and for females at or after that substage on the presence or absence of dilatation or of a residual egg-sac on the interfollicular stalk. By this method several hundred anophelines may be classified daily, if need be.

From a number of observations made in DDT-treated and untreated parts of the Bobo Dioulasso malaria control pilot zone, it would appear that artificial shelters

do not provide a representative sample of the total population of *Anopheles funestus*. Examinations of the ovaries of mosquitos taken on human bait also suggest that the interval between two successive ovipositions is longer than the gonotrophic cycle, at least for *A. funestus*, *A. gambiae*, *A. nili* and *A. coustani*.

Study of the variations in the percentages of parous females according to biting time, based on examinations of *A. funestus*, *A. nili* and *A. coustani* taken on human bait, has not produced definite evidence to show whether such variations are due to sampling error or whether females of different physiological age have different rhythms of activity.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Beklemishev, W. N., Detinova, T. S. & Polovodova, V. P. (1959) *Bull. Org. mond. Santé*, **21**, 223
- Christophers, S.R. (1911) *Paludism*, N° 2, p. 73
- Detinova, T.S. (1945) *Med. Parazit. (Mosk.)*, **14**, 45
- Detinova, T.S. (1949) *Med. Parazit. (Mosk.)*, **18**, 410
- Gillies, M. T. (1958) *Ann. trop. Med. Parasit.*, **52**, 261
- Lewis, D. J. (1958) *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **52**, 456
- Mer, G. G. (1932) *Bull. ent. Res.*, **23**, 563
- Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer (1959) *Le paludisme dans la zone pilote de Bobo Dioulasso, Haute Volta ; étude faite au Centre Muraz, Paris, (Cahiers de l'ORSTOM, N° 1)*
- Polovodova, V. P. (1941) *Med. Parazit. (Mosk.)*, **10**, 387
- Polovodova, V. P. (1949) *Med. Parazit. (Mosk.)*, **18**, 352