

Transmission de l'onchocercose humaine  
en zone de savane d'Afrique Occidentale,  
Passage des microfilaries d'*Onchocerca volvulus* Leuck.  
dans l'hémocèle de la  
femelle de *Simulium damnosum* Th.

B. PHILIPPON

*Entomologiste médical de l'O.R.S.T.O.M.,  
Bobo-Dioulasso, Hte-Volta.*

O. BAIN

*Chargée de Recherches au C.N.R.S.*

RÉSUMÉ.

*En région de savane ouest-africaine, l'étude directe du passage des microfilaries d'Onchocerca volvulus dans l'hémocèle de la femelle de Simulium damnosum a révélé une réduction considérable du nombre de microfilaries ingérées au cours des premières heures du cycle parasitaire; cette réduction est beaucoup plus intense que dans les foyers forestiers africains d'onchocercose.*

*Le passage dans l'hémocèle des microfilaries qui échappent à l'emprisonnement par la membrane péritrophique s'étale pendant douze heures au moins, mais n'apparaît pas comme un mouvement continu et régulier.*

ABSTRACT.

*In a West African savanna area, the direct study of the passage of Onchocerca volvulus microfilariae in the haemocoel of the female of Simulium damnosum has shown a strong reduction of the numbers of ingested microfilariae during the first hours of the development of the parasite; this reduction is far more intense than that observed in forest African onchocerciasis foci.*

*The migration from stomach to haemocoel of microfilariae which avoid confinement by the peritrophic membrane is prolonged during at least twelve hours, but does not seem to be regular and continuous.*

1. INTRODUCTION.

L'onchocercose humaine, de par ses répercussions sanitaires et économiques, constitue à l'heure actuelle l'un des problèmes majeurs de santé publique dans plusieurs régions du continent africain.

Elle a de ce fait été l'objet de nombreuses recherches tant sur les vecteurs, — en particulier *Simulium damnosum* Theobald, 1903, seule espèce vectrice en Afrique Occidentale —, que sur l'agent pathogène, *Onchocerca volvulus* Leuckart, 1893.

En ce qui concerne la transmission de cette maladie et, plus particulièrement, la partie du cycle que le parasite effectue chez l'insecte, le rôle vecteur de *S. damnosum* a été découvert par BLACKLOCK (1926). Depuis, de nombreuses recherches tant qualitatives (LEWIS, 1953) que quantitatives (LEWIS, 1960; DUKE et LEWIS, 1964; LAURENCE, 1966) ont précisé l'importance des facteurs limitants qui interviennent lors du cycle parasitaire, notamment le rôle de la membrane péritrophique, qui constitue une véritable barrière s'opposant au développement des microfilaries d'*O. volvulus* chez le vecteur.

L'ensemble des recherches quantitatives a été réalisé en zone forestière. Or il est connu (BUDDEN, 1963; LE BERRE *et al.*, 1964; LE BERRE, 1966; DUKE *et al.*, 1966) que, en Afrique, l'épidémiologie de l'onchocercose humaine n'est pas identique dans les régions forestières

et dans celles de savane, le maximum de gravité de la maladie se rencontrant dans les zones de savane.

Nous avons donc été amenés à étudier, dans une zone de savane considérée comme représentative de l'ensemble des régions de savanes ouest-africaines, les modalités et l'intensité de l'infection des femelles de *S. damnosum* par *O. volvulus*.

Le présent article ne traite que du début du cycle parasitaire chez l'insecte vecteur. Nos travaux actuels se poursuivent dans deux directions :

— Dans cette même zone de savane, continuation de l'étude approfondie du cycle parasitaire et des paramètres de tous ordres (entomologiques, parasitologiques, épidémiologiques) qui en rendent compte ;

— étude similaire dans d'autres régions bioclimatiques d'Afrique où l'Onchocercose présente un faciès épidémiologique différent.

Ce n'est qu'à l'issue de ce programme de recherches et compte tenu des résultats globaux obtenus qu'il nous sera possible d'aborder une discussion d'ensemble concernant les répercussions parasitologiques et épidémiologiques des phénomènes observés.

## 2. CONDITIONS DE L'ETUDE.

### 2.1. Présentation de la zone d'étude.

Nos expérimentations ont été réalisées en saison sèche sur la rivière Léraba, principal affluent de la haute Comoé, au gîte à *S. damnosum* du pont frontière entre la Haute Volta et la Côte d'Ivoire (10°10' Nord, 5° Ouest, 150 kilomètres au sud-ouest de la ville de Bobo-Dioulasso).

Cette région est située à la limite septentrionale de la savane guinéenne ; elle constitue un foyer d'hyperendémie onchocerquienne axé sur la rivière Léraba, qui présente aux basses eaux d'importants gîtes préimaginaux à *S. damnosum* très productifs en saison sèche (LE BERRE, 1966).

Dagouindougou, le village le plus proche du site de notre enquête, est distant de 7 kilomètres. Le tableau clinique de l'onchocercose s'y établit comme suit (DEGA-BRIEL, 1969) :

- 72,8 % d'onchocerquiens ;
- 71,5 % de porteurs de biopsies positives ;
- 50,0 % de porteurs de kystes onchocerquiens ;
- 20,8 % de porteurs de lésions oculaires ;
- 3,5 % de cécités onchocerquiennes ;
- 16,7 % de cécités onchocerquiennes chez les adultes de plus de 40 ans (tous onchocerquiens).

### 2.2. Le réservoir de virus.

Les expérimentations ont été effectuées à partir de deux donneurs onchocerquiens de Dagouindougou n'ayant jamais quitté leur région d'origine.

L'onchocerquien n° 1, âgé de 40 ans, est porteur de kystes onchocerquiens et souffre d'atteintes oculaires graves ; il ne présente aucune pachydermie au niveau des jambes mais une atrophie dermique caractéristique (peau mince, « sénile », luisante). La quantité moyenne de microfilaries d'*O. volvulus* prélevée sur lui a chaque repas sanguin par les femelles de *S. damnosum* est de 117 (601 numérations).

L'onchocerquien n° 2, âgé de 39 ans, porteur de kystes, est atteint de cécité onchocerquienne depuis trois ans au moins ; il montre une nette pachydermie au niveau des jambes. Chaque femelle de *S. damnosum* gorgée sur lui prélève en moyenne 35 microfilaries par repas sanguin (135 numérations).

Aucune étude directe de la densité des microfilaries d'*O. volvulus* dans le derme n'a été effectuée chez les deux patients.

### 2.3. Le vecteur.

Les populations imaginales de *S. damnosum* du pont de la Léraba, étudiées en détail par LE BERRE (1966) sont, en saison sèche, issues de ce gîte et des gîtes immédiatement voisins situés en amont et en aval. Les femelles appartiennent à la classe C de LEWIS et DUKE (1966).

L'âge moyen de la population simulidienne a montré peu de variations journalières au cours de nos enquêtes (60 à 70 % de femelles pares) ; comme l'a signalé LE BERRE (1966), les femelles pares piqueuses sont plus nombreuses à la mi-journée et en matinée, les femelles nullipares venant piquer en majorité en fin d'après-midi ; un net ralentissement de l'activité de piqûre intervient aux heures chaudes de la mi-journée.

La proportion de femelles gorgées qui ingèrent des microfilaries est la même avec les deux onchocerquiens : 96,3 %.

La quantité de microfilaries ingérées par femelle varie de 0 à 810 (moyenne arithmétique de 117) avec l'onchocerquien n° 1 et de 0 à 320 (moyenne arithmétique de 35) avec l'onchocerquien n° 2 (fig. 1). Contrairement à ce que d'autres auteurs (DUKE et LEWIS, 1964 ; LAURENCE, 1966) ont mis en évidence, la distribution des quantités de microfilaries ingérées par repas sanguin n'est pas log-normale (fig. 2).

Les quantités moyennes de microfilaries ingérées par repas par les femelles pares et par les femelles nullipares ne sont pas significativement différentes (respectivement 123 et 111 avec l'onchocerquien n° 1).

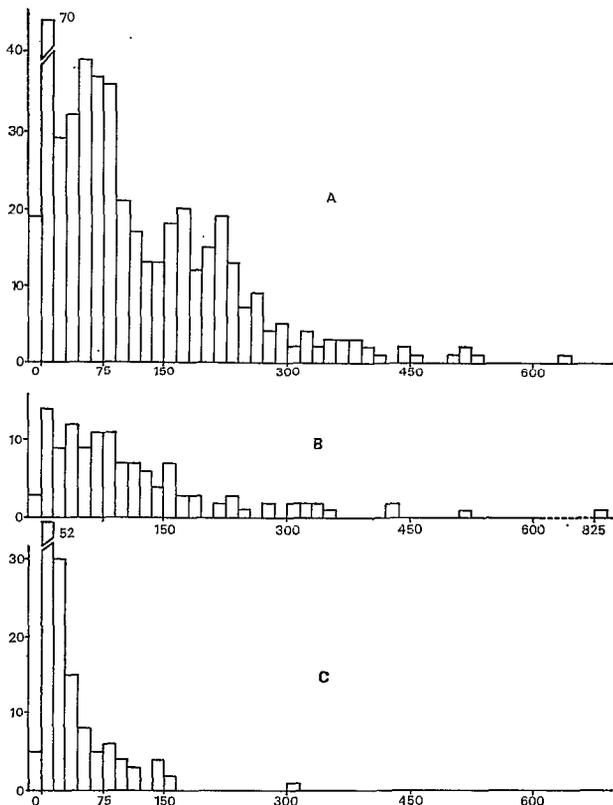


Fig. 1. — Histogrammes de distribution des femelles gorgées selon la quantité de microfilaires ingérées par repas sanguin. A : Onchocerquien n° 1 (Etude I) ; B : Onchocerquien n° 1 (Etude III) ; C : Onchocerquien n° 2 (Etude II). (Abcisses : nombre de microfilaires ingérées par repas ; ordonnées : nombre de femelles gorgées).

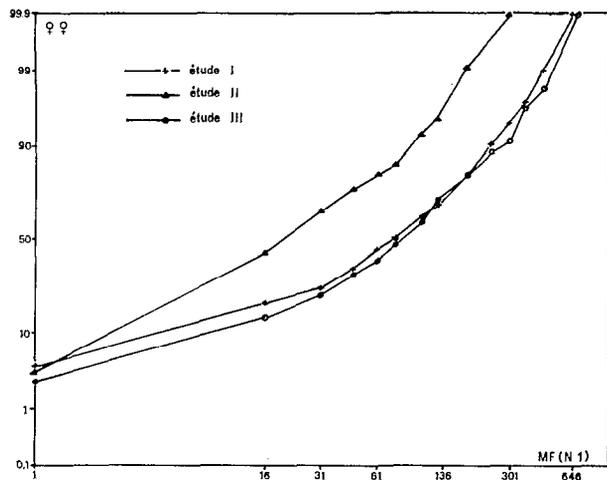


Fig. 2. — Répartition des simules gorgées selon la quantité de microfilaires ingérées par repas sanguin. Abcisses : quantité de microfilaires ingérées par femelle gorgée (échelle logarithmique) ; ordonnées : quantité de femelles gorgées (pourcentages cumulés, échelle gaussienne).

La durée moyenne du repas est de 3,65 minutes (1) sur l'onchocerquien n° 1 (290 chronométrages, durées extrêmes de 1 à 13 minutes). Cette durée est significativement plus longue chez les pares (3,81 minutes) que chez les nullipares (3,54 minutes). Il n'existe pas de proportionnalité entre la durée du repas et la quantité de microfilaires ingérées (fig. 3).

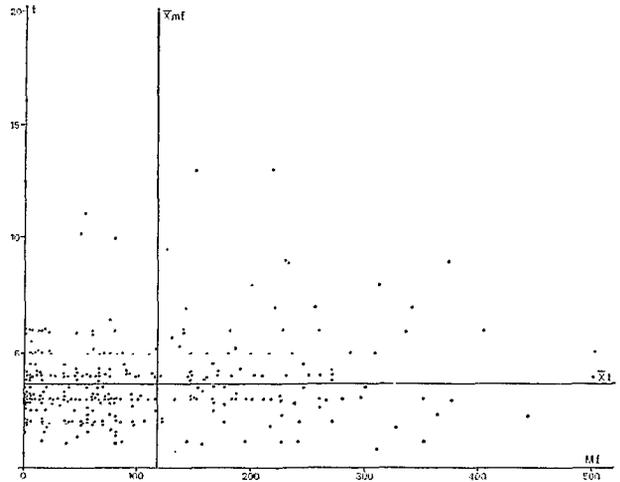


Fig. 3. — Diagramme des quantités de microfilaires ingérées par repas sanguin en fonction de la durée de celui-ci (onchocerquien n° 1). Abcisses : nombre de microfilaires ingérées par repas ; Ordonnées : durée du repas sanguin en minutes.  $\bar{x}_{mf}$  : quantité moyenne de microfilaires ingérées par repas ;  $\bar{x}_t$  : durée moyenne du repas sanguin.

D'une journée à l'autre ou entre les diverses heures d'une même journée, les quantités moyennes de microfilaires ingérées ne sont pas significativement différentes (tabl. 1) ; ces résultats sont en contradiction avec ceux de LARTIGUE (1966) et de DUKE *et al.* (1967), ces auteurs concluant à la présence de plus grandes densités de microfilaires dans le derme au cours de l'après-midi, après étude de biopsies cutanées.

TABLEAU 1. — Variations des quantités moyennes de microfilaires ingérées par femelle en fonction de l'heure de la journée (onchocerquien n° 1, 13 jours consécutifs de mesures).

Heures	Nombre de numérations	Nombre moyen de microfilaires ingérées par femelle
7- 9	34	154
9-11	52	118
11-13	29	113
13-15	149	113
15-17	226	120
17-18	206	102

(1) Cette durée moyenne est inférieure à celle donnée par CROSSKEY (1962) : 4,42 minutes. Cette différence peut être attribuée au fait que notre onchocerquien ne présente pas d'altérations de la peau, facteur d'allongement de la durée du repas sanguin signalé par CROSSKEY.

### 3. METHODES.

#### 3.1. Capture et conservation des simulies.

Les femelles de *S. damnosum* sont capturées gorgées sur les jambes des onchocerquiens, de 7 heures à 18 heures ; l'heure de la piqûre et la durée du repas sanguin sont notées.

Les femelles gorgées sont conservées dans leurs tubes individuels de capture, à l'obscurité, en atmosphère quasiment saturée d'humidité et à température comprise entre 24 et 29° C selon la technique de DUKE (1962 a).

#### 3.2. Dissection des simulies.

Les femelles gorgées sont tuées au chloroforme après une durée déterminée de survie, et immédiatement disséquées dans une goutte d'eau physiologique.

Le tube digestif entier et intact est prélevé, isolé et examiné (observation de l'état des organes et du repas sanguin, recherche des microfilaires dans ses différentes parties) ; la masse sanguine enveloppée par la membrane péritrophique est ensuite séparée de l'estomac. Le thorax et l'abdomen préalablement séparés et isolés sont dilacérés.

Les différents organes ainsi isolés sont ensuite l'objet d'un examen microscopique destiné à la recherche et au décompte des microfilaires dans différentes parties du corps : masse sanguine, espace péritrophique, cardia, proctodeum, tubes de Malpighi, cavité générale du thorax et de l'abdomen. L'âge physiologique et l'infection naturelle éventuelle par *O. volvulus* ou d'autres parasites sont également notés.

Près de 1.500 femelles ont été ainsi disséquées au cours de 24 journées d'observations.

#### 3.3. Echantillonnage des séries.

L'essentiel du travail a été effectué en mai et juin 1968 (fin de saison sèche) à partir de l'onchocerquien n° 1 : étude I ; toutefois, à cette même époque, et par nécessité (indisponibilité de l'onchocerquien n° 1), certains résultats ont été obtenus avec l'onchocerquien n° 2 : étude II ; des résultats complémentaires ont été établis en novembre 1968 (début de saison sèche) avec l'onchocerquien n° 1 : étude III.

Les simulies gorgées sont disséquées 1 minute, 15 minutes, 1 heure, 3 heures, 6 heures, 12 heures ou 24 heures après leur repas sanguin ; cette série complète ne pouvant être réalisée quotidiennement (1), la série journalière comprend systématiquement un lot de simu-

lies disséquées après 24 heures de survie [lot témoin : (2)] et deux ou trois lots de femelles disséquées à des moments plus proches du repas.

Dans la mesure du possible, les différents lots correspondant aux différentes durées de survie sont constitués de façon comparable au sein d'une même journée de capture, tant du point de vue des effectifs que de celui des heures de repas.

### 4. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.

BLACKLOCK (1926 a et b), qui décrit pour la première fois le cycle parasitaire d'*O. volvulus* chez la femelle de *S. damnosum*, signale que, au Sierra Leone, 82 % des femelles gorgées sur un onchocerquien ingèrent des microfilaires ; parmi deux lots de femelles gorgées sur onchocerquien, les proportions de femelles infectées le sixième jour après le repas sanguin sont respectivement de 71 et 72 %.

L'étude détaillée du début du cycle d'*O. volvulus* chez son vecteur est reprise par LEWIS (1953) qui, au Soudan, décrit avec précision la structure et la formation de la membrane péritrophique en insistant sur la rapidité de son apparition. Il met le premier en évidence le rôle de barrière que joue cette membrane en emprisonnant une part notable des microfilaires ingérées. LEWIS note par ailleurs l'absence de membrane péritrophique et la présence de microfilaires dans l'intestin postérieur et dans les tubes de Malpighi chez certaines femelles ayant ingéré de grandes quantités de microfilaires, ainsi que la mort rapide de ces femelles. Il considère que les microfilaires capables de poursuivre leur développement sont celles qui séjournent dans le cardia, échappent ainsi à l'emprisonnement par la membrane péritrophique, passent dans l'espace péritrophique et traversent l'épithélium stomacal distendu, donc mince et fragile. LEWIS signale la première apparition des microfilaires dans l'espace péritrophique 10 minutes après le repas sanguin et l'arrivée des premières microfilaires dans les muscles thoraciques au bout de deux heures.

LEWIS (1960) aborde l'aspect quantitatif du barrage péritrophique et signale que 43 % environ des microfilaires absorbées par des femelles gorgées sur onchocerquien échappent à la membrane péritrophique et traversent la paroi stomacale ; il remarque toutefois qu'un tel barrage est insuffisant pour expliquer les petits nombres de larves infectantes d'*O. volvulus* rencontrées chez les femelles de *S. damnosum*.

DUKE (1962 a), en région forestière du Cameroun, met en évidence une réduction de la durée de vie des femelles ayant ingéré des quantités moyennes élevées

(1) Il est difficile de disposer, à tout moment de la journée, d'un matériel assez abondant pour être fragmenté en 7 lots équivalents ; il est de même impossible, faute de temps, de disséquer en une journée 7 lots d'effectifs suffisamment élevés.

(2) Les résultats de 24 heures sont choisis comme référence car les microfilaires de l'estomac sont alors mortes ou présentent une activité extrêmement réduite.

de microfilaries d'*O. volvulus* (moyennes géométriques égales ou supérieures à 20 microfilaries par femelle, cas que l'auteur considère comme rares).

Dans une étude quantitative du cycle d'*O. volvulus* chez son vecteur, effectuée dans la même région, DUKE (1962 *b*) signale que 35 % en moyenne des microfilaries ingérées par une population de femelles de *S. damnosum* sont capables de poursuivre un développement complet jusqu'à la larve infectante ; cette proportion est cependant très variable (de 0 à 65 %) et n'est en relation ni avec l'âge de l'hôte, ni avec son infestation, ni avec le nombre moyen de microfilaries ingérées.

DUKE et LEWIS (1964), toujours en région forestière du Cameroun, précisent que 44 % des microfilaries ingérées par une population de femelles gorgées sur un onchocerquien considéré comme fortement infecté (moyenne géométrique de 17,37 microfilaries par repas sanguin) sont capables d'échapper à la membrane péritrophique et de poursuivre leur développement. Il n'existe pas de relation entre la quantité de microfilaries ingérées et la proportion de celles qui réussissent à passer dans l'hémocèle. A l'issue de la formation de la membrane péritrophique, chaque femelle gorgée renferme 7,10 microfilaries (moyenne géométrique) dans l'hémocèle.

LAURENCE (1966), à partir de matériel fixé et coloré en provenance du Cameroun, conclut que, malgré d'importantes variations d'une femelle à l'autre, 75 % des microfilaries ingérées traversent la paroi stomacale et gagnent les muscles thoraciques, de 20 minutes à 6 heures après le repas sanguin.

Enfin, l'examen histologique de femelles de *S. damnosum* gorgées sur onchocerquien, puis tuées et fixées après différentes durées de survie (matériel récolté au cours de la présente étude) nous a permis de préciser le processus de formation de la membrane péritrophique et le mécanisme d'emprisonnement des microfilaries, ainsi que d'observer des microfilaries intra-épithéliales ayant échappé à la membrane péritrophique mais n'ayant pas encore traversé la paroi stomacale (BAIN et PHILIPPON, 1969, 1970).

## 5. RESULTATS.

### 5.1. Evolution du sang ingéré et de la membrane péritrophique.

Le sang ingéré se solidifie environ un quart d'heure après le repas ; il n'occupe généralement que la portion stomacale du tube digestif mais, pendant la première heure qui suit le repas, il peut exceptionnellement être présent dans le cardia ou le proctodeum. Dans certains cas rares et anormaux, les simules peuvent expulser du sang et des microfilaries ; ces femelles ne survivent pas.

La membrane péritrophique est secrétée très rapidement : juste après le repas, elle est déjà visible sous la forme d'une pellicule souvent épaissie aux extrémités de l'estomac ; cette ébauche est déjà assez résistante pour être séparée de la paroi stomacale en même temps que le repas sanguin.

Cette membrane s'épaissit durant les six premières heures qui suivent le repas ; de une à trois heures, sa couche externe se dissout rapidement dans le liquide de dissection, mais la membrane est entièrement solidifiée à la sixième heure et commence alors à brunir ; à la vingt-quatrième heure, elle est noire et subit un début de digestion.

Dans quelques rares cas, la membrane péritrophique est anormale et reste gluante ou très mince.

### 5.2. Localisation et comportement des microfilaries dans le tube digestif et dans l'hémocèle.

Les microfilaries restent longtemps actives dans le sang (12 heures environ), mais vers la vingt-quatrième heure elles sont peu mobiles ou mortes.

Un certain nombre d'entre elles est rapidement emprisonné dans la membrane péritrophique, où elles restent mobiles pendant plusieurs heures.

D'autres, ayant échappé à cet emprisonnement, sont libérées en séparant la masse sanguine et la membrane péritrophique de la paroi stomacale ; leur situation exacte est difficile à préciser : pendant les trois premières heures de survie, leur nombre augmente pendant la dissection au fur et à mesure de la dissolution de la couche externe de la membrane péritrophique ; il s'agit donc principalement de microfilaries libérées artificiellement par la lésion de celle-ci ; mais à partir de la sixième heure la membrane péritrophique est résistante et les rares microfilaries observées entre elle et la paroi stomacale semblent être réellement libres dans l'espace péritrophique.

La proportion des femelles qui présentent des microfilaries dans l'espace péritrophique, réellement ou apparemment, est élevée pendant la première heure (78,6 % à une heure) et décroît régulièrement ensuite (46,1 % à 3 heures ; 16,0 % à 6 heures ; 6,2 % à 12 heures ; 2,2 % à 24 heures).

Dans chacune de ces femelles, le nombre moyen de ces microfilaries diminue également de façon régulière en fonction de la durée de survie (25,7 à 1 heure ; 20,5 à 3 heures ; 11,5 à 6 heures ; 1 à 12 et 24 heures).

Les tubes de Malpighi peuvent renfermer des microfilaries (30 au maximum) jusqu'à la vingt-quatrième heure. Ces observations sont rares (1,1 % des femelles disséquées de 15 minutes à une heure ; 0 % à 3 heures ; 2 % à 6 heures ; 3,8 % à 12 heures ; 0,5 % à 24 heures) ; durant la première heure, elles sont généralement associées à la présence de sang dans le proctodeum, et à toutes les heures elles coïncident presque

toujours avec un nombre très élevé de microfilaries dans l'hémocèle. Ces microfilaries sont très actives et capables de perforer les tubes de Malpighi.

Les microfilaries de l'hémocèle sont bien mobiles, sauf vers la vingt-quatrième heure, quand elles commencent à se développer ; aucune microfilarie mélanisée n'a été observée. Les premières microfilaries thoraciques sont visibles une heure après le repas ; elles représentent 87 % des microfilaries de l'hémocèle au bout de 24 heures.

Les femelles fortement infectées (1) sont toujours rares (4 cas sur 102 observations à une heure ; 1 sur 167 à 3 heures ; 2 sur 162 à 6 heures ; 3 sur 84 à 12 heures ; 2 sur 437 à 24 heures). Au-delà de 6 heures,

(1) Nous considérons comme fortement infectées les femelles renfermant plus de 16 microfilaries dans l'hémocèle. Le nombre 16 a été choisi car il correspond au nombre maximum de larves évolutives d'*O. volvulus* observées chez une même femelle au cours de plus de 1 400 dissections de femelles naturellement infectées du pont de la Léraba.

ces fortes infections sont très souvent associées à des membranes péritrophiques anormales. Chez les femelles normalement infectées, c'est-à-dire renfermant un nombre plus restreint de microfilaries dans l'hémocèle, la membrane péritrophique est toujours normale.

### 5.3. Infection des femelles de *S. damnosum* 24 heures après leur repas sanguin.

A la vingt-quatrième heure, les résultats sont les suivants :

— la proportion des femelles infectées atteint au maximum près de 50 % des femelles gorgées (tabl. 2) ;

— la proportion de microfilaries ingérées capables de commencer leur cycle parasitaire est de 1,13 % avec l'onchocerquien n° 1 et de 1,89 % avec l'onchocerquien n° 2 (tabl. 2) ;

— l'infection moyenne (moyenne arithmétique) est de 2,66 (onchocerquien n° 1) et 2,24 (onchocerquien n° 2) microfilaries par femelle infectée ; les moyennes

TABLEAU 2

Variations des taux d'infection des femelles de *S. damnosum* en fonction de la durée de survie

Durée de survie		Nombre de femelles observées	Nombre de femelles infectées	Pourcentage de femelles infectées	Pourcentage de microfilaries observées dans l'hémocèle	Nombre moyen de microfilaries observées dans l'hémocèle	Nombre moyen corrigé de microfilaries observées dans l'hémocèle
		(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)	(VI)
ETUDE I	1 mn ...	104	6	5,77	0,05	1	1
	15 mn ...	66	8	12,03	0,19	1,75	1,75
	1 h .....	102	30	29,41	1,52	6,80	2,57
	3 h .....	112	13	11,60	0,91	8,54	2
	6 h .....	74	20	27,03	1,58	7,25	2,50
	12 h .....	20	14	70	2,22	4,57	1,38
	24 h .....	307	150	48,86	1,13	2,66	2,33
ETUDE II	6 h .....	88	20	22,73	0,89	1,30	1,30
	12 h .....	64	32	50	2,97	1,87	1,51
	24 h .....	105 (*) (104) (**)	30 (*) (29) (**)	28,57 (*) (27,88) (**)	7,38 (*) (1,89) (**)	8,40 (*)	2,24 (**)
ETUDE III	1 h .....	58	9	15,52	0,62	4,66	1,50
	3 h .....	55	8	14,55	0,12	1	1
	24 h ...	25	10	40	0,62	1,70	1,70

(\*) Y compris une femelle anormale renfermant 185 microfilaries dans l'hémocèle.

(\*\*) Non compris une femelle anormale renfermant 185 microfilaries dans l'hémocèle.

géométriques correspondantes sont respectivement de 1,72 et 1,32 ;

— les infections considérées comme fortes ne représente que 1 cas sur 160 femelles positives avec l'onchocerquien n° 1 (1) ;

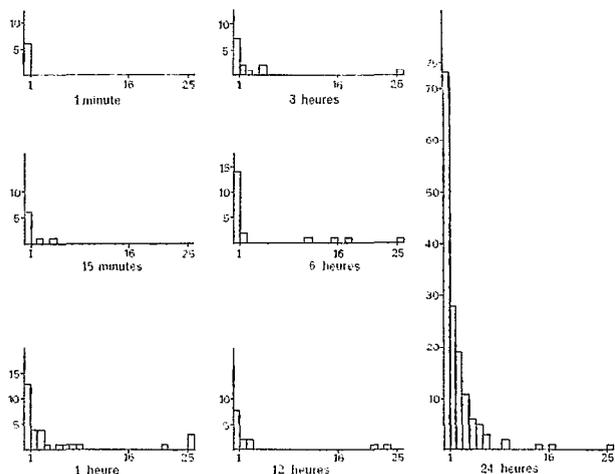


FIG. 4. — Histogrammes de distribution des quantités de microfilaries observées dans l'hémocèle (étude I). Abcisses : nombre de microfilaries observées dans l'hémocèle, par femelle infectée ; ordonnées : nombre de femelles infectées ; les densités microfilarieuses supérieures à 25 sont groupées.

— avec un même onchocerquien, il n'apparaît pas de corrélation entre la quantité de microfilaries ingérées et la quantité de microfilaries passées dans l'hémocèle (fig. 5) ; il n'existe pas non plus de proportionnalité entre la fréquence des passages et la durée du repas sanguin ;

— on observe au bout de 24 heures une positivité des femelles pères (55,13 %) très significativement supérieure à celle des nullipares (34,89 %) ; cette positivité plus grande n'est pas significative de une minute à une heure après le repas sanguin.

**5.4. Chronologie du passage des microfilaries dans l'hémocèle.**

Pour chaque durée de survie, les résultats quantitatifs des séries journalières ont été groupés (tabl. 2, fig. 6, 7 et 8). Cette présentation ne laisse pas apparaître les fortes différences qui existent entre les séries journalières. Cependant, pour toutes les durées de survie présentant des effectifs journaliers assez élevés (6 heures, 12 heures, 24 heures), les tests d'homogénéité n'ont

(1) Avec l'onchocerquien n° 2, cette proportion est de 1 cas sur 30, mais il s'agit d'une femelle manifestement anormale montrant 185 microfilaries dans l'hémocèle, une membrane péri-trophique presque inexistante et des microfilaries dans les tubes de Malpighi.

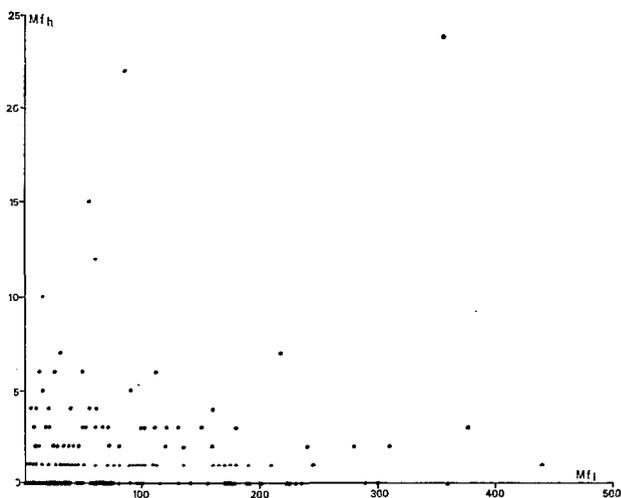


FIG. 5. — Relations entre la quantité de microfilaries ingérées par femelle (Mfi) et la quantité correspondante de microfilaries passées dans l'hémocèle (Mfh) : étude I, 12<sup>e</sup> et 24<sup>e</sup> heures.

révélé aucune hétérogénéité de la positivité des femelles entre les différentes séries journalières.

Les résultats sont exprimés de trois manières différentes :

— en pourcentages de femelles infectées, c'est-à-dire de femelles présentant des microfilaries dans l'hémocèle, par rapport à l'ensemble des femelles gorgées observées (tabl. 2, colonne III et fig. 6) ;

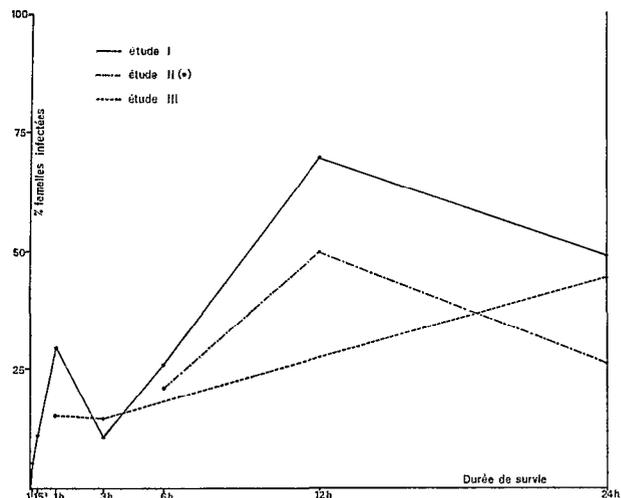


FIG. 6. — Variations de la proportion de femelles infectées en fonction de la durée de survie. (\*) non comptée : une femelle anormale de 24 heures renfermant 185 microfilaries dans l'hémocèle.

— en pourcentages de microfilaries présentes dans l'hémocèle, par rapport à la totalité des microfilaries ingérées par les femelles observées (tabl. 2, colonne IV et fig. 7) ;

— en nombres moyens de microfilaries observées dans l'hémocèle, par femelle infectée (tabl. 2, colonne V et fig. 8).

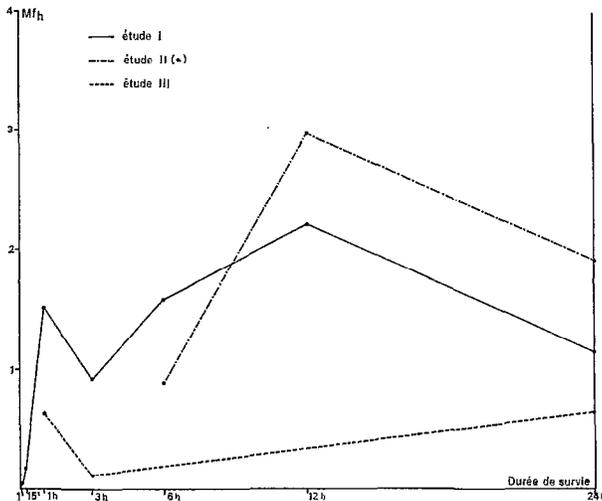


FIG. 7. — Variations du pourcentage (par rapport aux microfilaries ingérées) de microfilaries passées dans l'hémocèle ( $Mf_h$ ) en fonction de la durée de survie. (\*) non comptée : une femelle anormale de 24 heures renfermant 185 microfilaries dans l'hémocèle.

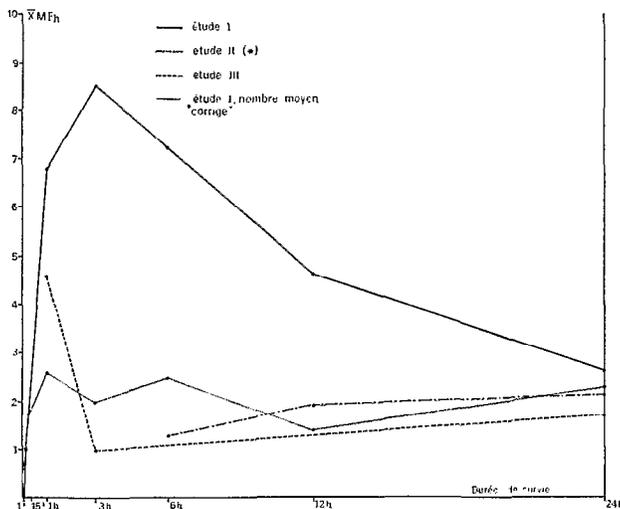


FIG. 8. — Variations du taux moyen individuel d'infection des femelles infectées en fonction de la durée de survie. (\*) non comptée : une femelle anormale de 24 heures renfermant 185 microfilaries dans l'hémocèle.  $\bar{x} Mf_h$  : nombre moyen de microfilaries observées dans l'hémocèle, par femelle infectée.

La colonne VI du tableau 2 correspond à la même moyenne que la colonne V, déduction faite des femelles renfermant plus de 16 microfilaries dans l'hémocèle.

## 6. DISCUSSION DES RESULTATS.

### 6.1. Intensité de l'infection des simulies 24 heures après leur repas sanguin.

— Le barrage pérित्रophique a été total et il ne s'est produit aucun passage de microfilaries dans l'hémocèle chez plus de la moitié des femelles (cf. tableau 2 et § 5.3.).

— Les quantités moyennes de microfilaries par femelle infectée (2,66 et 2,24) sont voisines entre elles et très faibles comparativement aux quantités moyennes de microfilaries ingérées par repas (117 et 35) ; il semble donc que le nombre de microfilaries capables de commencer un cycle parasitaire ne dépend pas de la quantité moyenne de microfilaries fournie par le donneur, du moins lorsque celle-ci est très élevée.

Ces quantités moyennes de microfilaries capables de se développer sont très inférieures aux valeurs obtenues par DUKE et LEWIS (1964) en région forestière (cf. § 4).

— La proportion de microfilaries passées dans l'hémocèle est naturellement plus élevée avec l'onchocerquien n° 2, du fait de la plus faible quantité moyenne de microfilaire ingérées par les femelles gorgées sur celui-ci.

Ces proportions (1,13 et 1,89 %) sont remarquablement plus faibles que celles obtenues par d'autres auteurs en région forestière d'Afrique (environ 43 % : LEWIS, 1960 ; 44 % : DUKE et LEWIS, 1964 ; 75 % : LAURENCE, 1966) (1). Nos résultats, exprimés en rapports de moyennes géométriques pour être comparés à ceux de DUKE et LEWIS (1964) indiquent que 2,96 % (onchocerquien n° 1) et 6,24 % (onchocerquien n° 2) des microfilaries ingérées sont passées dans l'hémocèle à l'issue de la formation de la membrane pérित्रophique.

### 6.2. Chronologie du passage des microfilaries dans l'hémocèle.

L'établissement de cette chronologie au cours des premières heures qui suivent le repas sanguin est rendu difficile par la très faible intensité du passage et la grande variabilité des résultats d'une série journalière à l'autre.

(1) Les onchocerquiens de forêt utilisées par ces auteurs et considérés par eux comme très infectés procurent tous des densités moyennes de microfilaries par repas sanguin très inférieures à celles obtenues avec notre onchocerquien n° 1 et légèrement plus faibles que celles obtenues avec notre onchocerquien n° 2.

## 6.2.1. ÉTALEMENT DES PASSAGES DANS LE TEMPS.

Les courbes des figures 6 et 7 indiquent que le passage des microfilaries se prolonge jusqu'à la douzième heure (1), alors que toutes les observations montrent que l'apparition de la membrane péritrophique est très précoce et que sa formation est terminée à la sixième heure.

Comme il n'y a apparemment pas de franchissement de la membrane, il faut supposer qu'il existe pour les microfilaries une possibilité d'éviter l'emprisonnement par cette membrane, de séjourner à l'extérieur de celle-ci, puis de passer ultérieurement dans l'hémocèle, jusqu'à la douzième heure au moins.

Si la présence dans le cardia de microfilaries peut permettre à celles-ci d'échapper à l'emprisonnement par la membrane péritrophique (LEWIS, 1953), la rareté de tels cas (moins de 6 %, limités à la première heure) ne peut expliquer ni la totalité des passages ni leur étalement dans le temps. Il en est de même des cas de femelles renfermant des microfilaries dans les tubes de Malpighi, cas rares à tout moment de la survie (3,8 % au maximum) et le plus souvent associés à des anomalies.

Paradoxalement, des microfilaries bien mobiles sont encore apparemment libres dans l'espace péritrophique après l'achèvement de la formation de la membrane. Le nombre de ces microfilaries et la proportion des femelles qui en renferment diminuent de 6 à 12 heures. Nous attribuons donc l'étalement des passages à la sortie dans l'hémocèle de ces microfilaries de l'espace péritrophique de la sixième à la douzième heure (2).

Ces microfilaries de l'espace péritrophique sont en réalité, à notre avis, des microfilaries intra-épithéliales qui ont pénétré très tôt dans l'épithélium stomacal, dont la sortie a été retardée par la résistance de la membrane basale, et qui ont été libérées lors de la dissection. L'existence de telles microfilaries intra-épithéliales a par ailleurs été mise en évidence par étude histologique (cf. § 4).

## 6.2.2. IRRÉGULARITÉS DES PASSAGES DANS LE TEMPS.

Aucune des courbes des figures 6 et 7 ne suggère un accroissement régulier de la quantité de microfilaries passées dans l'hémocèle en fonction de la durée de

(1) La présence chez 2,2 % des femelles de 24 heures de quelques microfilaries encore mobiles dans l'espace péritrophique pourrait même indiquer que de rares passages ne sont pas à exclure au-delà de 24 heures.

(2) En fait, la diminution de 6 à 12 heures de la proportion de femelles présentant des microfilaries dans l'espace péritrophique ne suffit pas à expliquer l'augmentation correspondante de la proportion de femelles infectées; mais nous considérons que, du fait des effectifs très réduits des lots de 12 heures, les résultats relatifs à cette durée de survie sont excessifs.

survie (3); ces courbes montrent au contraire une alternance de maxima (1 heure et 12 heures) et de minima (3 heures et 24 heures). Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour l'interprétation de ces minima :

— Mortalité des femelles les plus infectées.

La mortalité des femelles ayant ingéré les plus fortes densités de microfilaries a été signalée par DUKE (1962 a); une telle mortalité est de nature à abaisser les taux d'infection des femelles.

Les figures 4 et 8 montrent que la proportion des femelles hyper-infectées, bien que toujours très basse, est cependant beaucoup plus faible à 24 heures (environ 0,3 %) que pendant les premières heures qui suivent le repas sanguin (environ 4 % à une heure). Dans la majorité des cas (10 sur 12), ces fortes infections sont associées à des anomalies (membrane péritrophique incomplète ou d'aspect juvénile, voire inapparente, présence de microfilaries dans les tubes de Malpighi, expulsion précoce de sang et de microfilaries).

L'observation directe de la survie des femelles n'a révélé aucune mortalité entre une et trois heures. Les seuls cas de mortalité ont été relevés vers la dix-septième heure (4 % des femelles). Bien que l'interprétation des dissections de femelles mortes soit délicate, il apparaît que ces femelles sont pour la plupart hyperinfectées et présentent le plus souvent une membrane péritrophique anormale.

Une surmortalité affectant les femelles hyperinfectées intervient donc durant les premières 24 heures; elle influe fortement sur les taux individuels moyens d'infection des femelles (fig 8), mais elle ne peut suffire à expliquer les importantes chutes de la proportion des femelles infectées de 12 à 24 heures, et surtout de 1 à 3 heures.

— Mortalité des microfilaries dans l'hémocèle.

Cette mortalité n'a pas été mise en évidence, et il semble probable que des microfilaries mortes puissent être, en quelques heures, complètement lysées au point de devenir parfaitement inapparentes à l'observation microscopique.

— Migration de microfilaries dans la tête et les pattes, où elles ne sont pas comptées.

LAURENCE (1966) a observé, dans le cas de sorties relativement abondantes de microfilaries hors de l'estomac, que 6 % des microfilaries passées dans l'hémocèle se rencontrent dans la tête de la simule au bout d'une heure. Ce phénomène pourrait constituer une explication à la chute des taux d'infection que nous observons au niveau de trois heures: compte tenu

(3) Pour chaque courbe de chaque étude des figures 6 et 7, chaque valeur correspondant à une durée de survie donnée est significativement différente des valeurs correspondant aux durées de survie immédiatement voisines, à l'exception des pourcentages de femelles infectées de 1 minute et de 15 minutes pour l'étude I et de 1 heure et 3 heures pour l'étude III.

du temps nécessaire à la migration, toutes les microfilières auraient été comptées au cours de notre étude après une heure de survie, mais celles ayant migré dans la tête et les pattes auraient échappé aux numérations au bout de 3 heures.

Cependant, pour expliquer ainsi la totalité des courbes des figures 6 et 7, il faut admettre qu'il se produit deux phases au cours desquelles la sortie des microfilières hors de l'estomac est plus intense que le phénomène de déperdition (durant la première heure et de la troisième à la douzième heure), ou bien que de la troisième à la douzième heure les microfilières égarées dans des organes où leur développement est impossible regagnent les muscles thoraciques.

Par ailleurs, si cette migration dans des organes non observés peut abaisser la proportion des femelles infectées, elle ne suffit vraisemblablement pas à expliquer les minima de 3 et de 24 heures. Il faudrait en effet supposer que 37,5 % des microfilières passées dans l'hémocèle migrent dans la tête et les pattes de une à 3 heures, et 16,6 % de 12 à 24 heures.

Il apparaît donc qu'aucun des trois phénomènes envisagés ci-dessus n'est suffisant à lui seul pour expliquer les irrégularités dans le temps du passage des microfilières dans l'hémocèle.

Il faut sans doute considérer que les courbes des figures 6, 7 et 8 sont en fait les résultantes du mouvement de passage qui peut se prolonger jusqu'à la douzième heure au moins, et de facteurs antagonistes tels que la mortalité des femelles hyperinfectées et la migration de microfilières dans toutes les parties du corps de la femelle.

## 7. CONCLUSIONS.

— Dans la région de savane ouest-africaine considérée, les quantités de microfilières prélevées par une population de femelles de *S. damnosum* sur des onchocerciens très infectés subissent une réduction considérable au cours des 24 heures qui suivent le repas sanguin.

— Moins de la moitié des femelles gorgées restent infectées au bout de 24 heures ; moins de 2 % des microfilières ingérées peuvent poursuivre leur cycle parasitaire ; le taux individuel moyen d'infection des femelles parasitées n'est que légèrement supérieur à 2 microfilières.

— Cette importante réduction, essentiellement due à la formation d'une membrane péritrophique infranchissable par les microfilières, est beaucoup plus intense que dans les régions forestières africaines.

— Les quantités de microfilières passant dans l'hémocèle ne sont proportionnelles ni aux quantités de microfilières ingérées ni à la durée du repas ; la fré-

quence des passages est plus élevée chez les femelles pares.

— Les quantités élevées de microfilières passées dans l'hémocèle sont exceptionnelles ; elles sont le plus souvent associées à des anomalies et leur fréquence diminue de une à 24 heures ; les autres cas de passages ne sont associés à aucune anomalie de la membrane péritrophique.

— Les passages de microfilières sont beaucoup plus étalés dans le temps (jusqu'à la douzième heure au moins) que ne le laisse prévoir la formation très précoce d'une membrane péritrophique aussi hermétique ; différentes hypothèses peuvent expliquer cet étalement ; celle des sorties tardives de microfilières séjournant dans l'épithélium stomacal est retenue.

— Un dernier élément reste plus obscur : la chronologie des passages est irrégulière et comporte des maxima à une heure et 12 heures et des minima à 3 heures et 24 heures. Plusieurs phénomènes peuvent concourir à l'explication de ces irrégularités ; mortalité des femelles les plus infectées, mortalité des microfilières et migration anormale de microfilières.

## REMERCIEMENTS.

Nous tenons à remercier l'Organisation Mondiale de la Santé (Service des Maladies Parasitaires, Division des Maladies Transmissibles), sans l'assistance financière de laquelle le présent travail n'aurait pas pu être entrepris.

Nous sommes reconnaissants à M. J. DEJARDIN, Statisticien de l'O.R.S.T.O.M. ; et à M. J.-P. JARDEL, Professeur à l'École de Santé publique de Rennes, qui ont bien voulu interpréter les données numériques de nos expérimentations.

Nos remerciements s'adressent enfin aux deux patients du village de Dagouindougou qui ont accepté de participer comme donneurs à cette étude.

## BIBLIOGRAPHIE

- BAIN (O.) et PHILIPPON (B.), 1969. — Mécanisme du passage des microfilières à travers la paroi stomacale du vecteur ; son importance dans la transmission de l'onchocercose. *C.R. Acad. Sc. Paris*, **269**, 1081-83.
- BAIN (O.) et PHILIPPON (B.), 1970. — Mécanisme de la traversée de la paroi stomacale par les microfilières chez *Anopheles stephensi* et *Simulium damnosum* : mise en évidence d'un séjour des microfilières dans l'épithélium digestif. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, **45** (3), 295-320.
- BLACKLOCK (D. B.), 1926 a. — The development of *Onchocerca volvulus* in *Simulium damnosum*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **20** (1), 1-48.
- BLACKLOCK (D. B.), 1926 b. — The further development of *Onchocerca volvulus* Leuckart in *Simulium dam-*

- nosum* Theob. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **20** (2), 203-218.
- BUDDEN (F. H.), 1963. — Comparative study of ocular onchocerciasis in savannah and rain forest. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **57** (1), 64-70.
- CROSSKEY (R. W.), 1962. — Observations on the uptake of human blood by *Simulium damnosum*: The engorgement time and size of the blood-meal. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **56** (2), 141-148.
- DEGABRIEL (J.), 1969. — Note préliminaire sur un essai thérapeutique de l'onchocercose par le moranyl dans le cercle de Banfora. *Rapport final 9<sup>e</sup> Conférence technique O.C.C.G.E.*, **1**, 256-261.
- DUKE (B. O. L.), 1962 a. — Studies on factors influencing the transmission of onchocerciasis. I: the survival rate of *Simulium damnosum* under laboratory conditions and the effect upon it of *Onchocerca volvulus*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **56** (2), 130-135.
- DUKE (B. O. L.), 1962 b. — Studies on factors influencing the transmission of onchocerciasis. II: the intake of *Onchocerca volvulus* microfilariae by *Simulium damnosum* and the survival of the parasite in the fly under laboratory conditions. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **56** (3), 255-263.
- DUKE (B. O. L.) and LEWIS (D. J.), 1964. — Studies on factors influencing the transmission of onchocerciasis. III: observations on the effect of the peritrophic membrane in limiting the development of *Onchocerca volvulus* in *Simulium damnosum*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **58** (1), 83-88.
- DUKE (B. O. L.), LEWIS (D. J.) and MOORE (P. J.), 1966. — *Onchocerca-Simulium* complexes. I: transmission of forest and Sudan savannah strains of *Onchocerca volvulus* from Cameroon by *Simulium damnosum* from various West african zones. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **60** (3), 319-336.
- DUKE (B. O. L.), SCHEFFEL (P. D.), GUYON (J.) and MOORE (P. J.), 1967. — The concentration of *Onchocerca volvulus* microfilariae in skin snips taken over twenty-four hours. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **61** (2), 206-219.
- LARTIGUE (J.-J.), 1966. — Variations du nombre de microfilaries d'*Onchocerca volvulus* contenues dans des biopsies cutanées pratiquées à différentes heures de la journée. *W.H.O./Oncho./66/49*, 7 p.
- LAURENCE (B. R.), 1966. — Intake and migration of the microfilariae of *Onchocerca volvulus* Leuckart in *Simulium damnosum* Theobald. *J. Helm.*, **40** (3-4), 337-342.
- Le BERRE (R.), 1966. — Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mémoires O.R.S.T.O.M.*, **17**, 204 p.
- Le BERRE (R.), BALAY (G.), BRENGUES (J.) et COZ (J.), 1964. — Biologie et écologie de la femelle de *Simulium damnosum* Theobald, 1903, en fonction des zones bioclimatiques d'Afrique occidentale. Influence sur l'épidémiologie de l'onchocercose. *Bull. Org. Mond. Santé*, **31**, 843-855.
- LEWIS (D. J.), 1953. — *Simulium damnosum* and its relation to onchocerciasis in the anglo-egyptian Sudan. *Bull. ent. Res.*, **43** (4), 597-644.
- LEWIS (D. J.), 1960. — Observations on *Simulium damnosum* in the Southern Cameroons and Liberia. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **54**, 208-223.
- LEWIS (D. J.) and DUKE (B. O. L.), 1966. — *Onchocerca-Simulium* complexes. II: variations in West african female *Simulium damnosum*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **60** (3), 337-346.