Printed in France.

## Etude histologique de l'évolution abortive de Wuchereria bancrofii Cobbold chez Mansonia uniformis Theobald,

par M. J. BRUNHES et J. BRUNHES.

Dans le cadre de l'étude de l'épidémiologie de la filariose de Bancroft à Madagascar, de nombreuses infestations expérimentales [Brunhes (1\*)] ont été effectuées dans le but d'évaluer la capacité de

(1\*) J. Brunhes, Bull. Org. mond. Santé, 1969, t. 40, p. 763.

2

-6 AVR. 1973 O. R. S. T. O. M. Collection de Référence 6026Ent m°

transmission de plusieurs espèces culicidiennes malgaches vis-à-vis de Wuchereria bancrofti Cobbold; tandis qu'au cours de ces expérimentations, Anopheles gambiae Giles s'en montrait excellent vecteur [Brunhes (2<sup>\*</sup>)], Mansonia uniformis Theobald, signalé en 1958 par Grjebine (3<sup>\*</sup>) comme vecteur naturel probable à Madagascar, n'a jamais permis le développement de stades III de W. bancrofti.

Il nous a donc semblé intéressant de préciser ces résultats en effectuant, après une brève étude du développement de W. bancrofti chez A. gambiae, une étude détaillée de l'évolution de la filaire chez M. uniformis afin d'essayer de déterminer à quel niveau et par quel processus W. bancrofti se trouve éliminée ou son développement interrompu.

Méthodes et Techniques. — Notre méthode a consisté à suivre par l'histologie l'évolution de W. bancrofti chez M. uniformis, le plus longtemps possible après le repas de sang, tout en prenant, comme base de référence, le bon développement de W. bancrofti chez A. gambiae qui est, à Madagascar, l'un de ses meilleurs vecteurs.

Nous avons fait se gorger, au laboratoire, entre 20 h et 22 h, un lot d'une soixantaine d'A. gambiae provenant d'élevages, et un second lot composé d'une cinquantaine de M. uniformis sauvages, sur un filarien malgache dont la microfilarémie s'élevait à 100 microfilaires/ml de sang à 20 h. Les 2 séries de moustiques ainsi gorgés ont été placées dans 2 cages où de l'eau miellée leur était proposée, dans les conditions atmosphériques de 25°C et 90 % d'hygrométrie environ.

Des moustiques de chaque espèce ont été sacrifiés aux intervalles de temps suivants : 5 mn, 30 mn, 1 h, 3 h, 6 h, 12 h, 24 h, puis chaque jour ou tous les 2 jours jusqu'à épuisement, soit vers le  $23^{\circ}$  jour. Nous avons pu ainsi sacrifier 50 A. gambiae et 30 M. uniformis; les mousti-

(2\*) J. Brunhes, L. Rabenirainy et C. Ravaonjanahary, C. R. Soc. Biol., 1969, t. 163, p. 1009.

(3<sup>\*</sup>) A. Grjebine et E. R. Brygoo, Mémoire de l'Inst. Scient. de Madagascar, 1958, série E, t. 9.

#### PLANCHE I.

#### Développement de Wuchereria bancrofti chez Anopheles gambiae.

- 1. Microfilaire dans un muscle thoracique, 6 h après son ingestion (imes 220).
- 2. Stade présaucisse, 3 jours après le repas de sang ( $\times$  220).
- 3. Stade I-fin, 7 jours après le repas de sang ; observer la différenciation du tube digestif et la couche de cellules musculaires sous-cuticulaire  $(\times 220)$ .
- 4. Vue partielle du thorax permettant d'observer, bien développés dans les muscles, 2 stades II-fin, l'un en coupe longitudinale, l'autre en coupe transversale, 14 jours après le repas (× 140).
- 5. Stade II-fin, 14 jours après le repas de sang ; observer les 3 parties du tube digestif de la filaire et les lésions musculaires provoquées par la filaire (× 220).
- 6. Coupe transversale d'un faisceau d'un muscle thoracique parasité par un stade II-fin, 15 jours après le repas ; observer la loge découpée à l'emporte-pièce dans le tissu musculaire (× 550).

# M. J. BRUNHES et J. BRUNHES.

Ĵ

.)



PLANCHE I.

Į.

ŧ.



PLANCHE II.

ques morts au cours de la période d'observation n'ont pas été utilisés. Fixé pendant 1 h dans le mélange de Carnoy, chaque moustique, déshydraté par plusieurs bains d'alcool butylique, a été inclus dans la paraffine à 56-58°C.

Les coupes sériées, épaisses de 5  $\mu$ , sagittales et parfois transversales, ont été colorées à l'hémalun acide de Masson. Les plus intéressantes ont été prises au photomicroscope (Laboratoire de Physiologie des Insectes — Professeur Possompès — Paris).

1. BRÈVE ÉTUDE HISTOLOGIQUE DU DÉVELOPPEMENT DE W. bancrofti CHEZ A. gambiae. — Quelques minutes après leur arrivée dans l'estomac, les microfilaires commencent à se répartir vers la périphérie du volume sanguin stomacal; 30 mn à 1 h après, elles traversent l'épithélium stomacal, dans sa partie postéro-ventrale de préférence, puis, dépourvues de leur gaine, elles migrent dans la cavité générale, à travers le mésentère, vers les muscles dépresseurs et élévateurs des ailes, entre les fibres desquels elles s'allongent; cette migration dure jusqu'à la fin du 1<sup>er</sup> jour environ.

Les premières filaires observées dans ces muscles, 6 h après le repas, très longues et minces, mesurent approximativement 220  $\mu$  sur 5,5  $\mu$ (Planche I, 1). Puis, déjà épaissies et raccourcies le 2° jour, elles atteignent le stade présaucisse le 3° jour (Planche I, 2); vers 4 jours, ces filaires, qui se trouvent au maximum de leur raccourcissement (130 à 150  $\mu$ ) et qui ont beaucoup épaissi (10 à 12  $\mu$ ), sont des stades saucisses. Vers le 6° ou le 7° jour, fin du stade I (Planche I, 3), elles commencent à croître, en longueur surtout.

Durant ce 1<sup>er</sup> stade, une importante organisation interne s'est effectuée à l'intérieur de la filaire ; les principaux éléments du tube digestif et la couche de cellules musculaires sous-cuticulaire s'y trouvent différenciés à la fin du stade I.

### PLANCHE II.

Evolution abortive de Wuchereria bancrofti chez Mansonia uniformis.

- 7. Jeune stade I logé dans un muscle thoracique, 2 jours après le repas de sang ( $\times$  220).
- 8. Stade I, 6 jours après le repas de sang ; observer le raccourcissement et l'épaississement de la filaire, et la morphologie encore typique d'une microfilaire ( $\times$  220).
- 9. Filaire començant à dégénérer, 9 jours après le repas de sang ; remarquer l'évolution des proportions et la désorganisation interne (× 220).
- 10. Filaire dégénérant, 11 jours après le repas sanguin ; observer le début de vacuolisation de la structure interne de la filaire ( $\times$  220).
- 11. 2 filaires en cours de vacuolisation interne, 14 jours après le repas de sang ; remarquer également l'évolution des proportions des filaires  $(\times 220)$ .
- 12. Détail d'une filaire dégénérant 14 jours après le repas de sang ; observer la vacuolisation de la filaire et la queue typique du 1<sup>er</sup> stade (× 550).
- 13. 2 filaires vacuolisées dégénérées, 16 jours après le repas sanguin ( $\times$  220).
- 14. 17 jours après le repas de sang ; détail d'une filaire encore vacuolisée dans sa partie postérieure et commençant à se ratatiner vers l'extrémité antérieure (× 550).
- 15. Détail d'une filaire dégénérée, crénelée et ratatinée, 20 jours après le repas ; queue du 1<sup>or</sup> stade très nette (× 550).

Vers le 8° jour, nous observons des stades II, déjà repliés à l'intérieur de leur loge. Durant tout ce 2° stade, du 8° au 15° jour environ, la filaire se développe énormément : elle ne cesse de s'accroître, tandis que les proportions des différentes parties de son tube digestif se modifient et que le système nerveux s'organise. Au 13° ou 14° jour, les stades II-fin (Planche I, 5), larges de 25 à 30  $\mu$ , longs de 700  $\mu$  environ, occupent une grande partie de la longueur des faisceaux musculaires qui les logent (Planche I, 4 et 6).

Enfin, quelque temps après la 2<sup>e</sup> mue, vers le 16<sup>e</sup> jour, on observe des stades III circulant dans la cavité abdominale, dans la tête ou s'engageant dans les pièces buccales du moustique, inoculables à la prochaine piqûre.

Ces observations sur le développement de W. bancrofti chez A. gambiae s'accordent tout à fait avec celles de Iyengar (4\*) sur le développement de W. bancrofti chez Culex pipiens fatigans Wiedemann (souche Calcutta).

II. ETUDE HISTOLOGIQUE DE L'ÉVOLUTION ABORTIVE DE W. bancrofti CHEZ M. uniformis. — La microfilaire de W. bancrofti ingérée par M. uniformis traverse l'épithélium stomacal et migre dans la cavité générale vers les muscles indirects du vol où elle s'installe (Planche II, 7), apparemment sans plus de difficulté que chez A. gambiae; son comportement chez M. uniformis, depuis son ingestion jusqu'à son entrée dans les muscles, paraît être le même que chez A. gambiae.

Remarquons toutefois que les filaires logées dans les muscles thoraciques sont nettement plus nombreuses chez *M. uniformis* : soit une moyenne de 8 filaires dans les muscles de l'*A. gambiae* pour une

Nombre de jours après le repas	Longueur moyenne de W.b. en µ	Nombre de filaires mesurées en longueur	Largeur moyenne de W.b. en µ	Nombre de filaires mesurées en largeur
1	220	1	5.2	3
2	193	7	5,3	39
4	178	4	5,5	16
6	165	1	6,5	34
8	156	5	6,7	21
10	155	1	8,1	44
12	140	10	· 8,5	43
14	133	12	8,5	39
16	130	3	8,4	45
20	128	18	7,3	20
22	130	7	7,5	19

moyenne de 31 filaires dans les muscles du M. uniformis, le nombre de filaires par moustique variant de 10 à 78 pour M. uniformis et de 3 à 20 pour A. gambiae.

*Evolution intramusculaire de* W. bancrofti *chez* M. uniformis. — Dès le début de la phase intramusculaire, l'évolution de la filaire devient anormale.

(4\*) M. O. T. Iyengar, Ann. Parasit. hum. comparée, 1956, t. 31, p. 99.

a. Evolution de la taille : (Planche II, 7 à 15). — Nous observons que le stade I de W. bancrofti dans les muscles du M. uniformis se raccourcit lentement et progressivement, de sorte que, vers 18 à 22 jours, sa longueur correspond à celle du stade saucisse (130  $\mu$  environ) par lequel passe, vers le 4° jour, la même filaire chez A. gambiae ; de même, il s'élargit beaucoup plus lentement que chez A. gambiae, jusqu'à un maximum de 8,5  $\mu$  environ, situé entre les 14° et 16° jours, qui correspond grossièrement à la largeur du stade présaucisse par lequel passe, vers le 3° jour, la même filaire logée chez A. gambiae ; puis, au-delà du 16° ou 17° jour, il semble que la filaire se rétracte en largeur.

Il s'agit donc là d'une lente évolution anormale.

b. Evolution de la morphologie interne. — Logé dans les muscles du *Mansonia*, le stade I conserve, environ jusqu'au 7° jour après le repas (Planche II, 8), sa morphologie de microfilaire : espace céphalique, anneau nerveux, cellule et pore excréteur, pore anal et queue y demeurent bien visibles, bien que les noyaux tendent à se disperser dans le nouveau volume de la filaire devenue légèrement plus courte et plus épaisse, sans toutefois s'organiser en vue de la différenciation d'organes.

Puis, généralement vers le 8° ou 9° jour (Planche II, 9), il se produit une dégradation progressive de la structure interne de la filaire ; cette désorganisation semble débuter par la moitié postérieure et elle atteint l'anneau nerveux vers le 10° ou 11° jour ; aucun élément de la morphologie interne n'est bientôt plus reconnaissable.

A partir du 10° ou 11° jour et jusqu'au 16° jour environ, la dégénérescence de la filaire se poursuit par une histolyse progressive (Planche II, 10 et 11) ; le cytoplasme se rétracte lentement, entraînant avec lui les noyaux ; à l'intérieur d'une paroi dont la rigidité assure, dans un premier temps, le maintien de la forme de la filaire (Planche II, 12), le contenu encore vivant du stade I va rapidement se limiter à un réseau grossièrement central, mais sinueux et irrégulier, de cytoplasme où se réfugient les noyaux, et que des trabécules relient fréquemment à la paroi, délimitant ainsi de nombreuses vacuoles, sans doute remplies du liquide provenant de la rétraction cytoplasmique. Par ailleurs, l'enveloppe de la filaire se trouve soumise à deux forces opposées : d'une part, les trabécules cytoplasmiques ont tendance à resserrer légèrement son diamètre au niveau des points de contact avec la paroi, d'autre part le liquide qui gonfle les vacuoles impose à la paroi une tension qui la boursoufle lègèrement.

La filaire apparaît donc, à ce stade, typiquement « vacuolisée » intérieurement, boudinée et boursouflée extérieurement (Planche II, 12 et 13).

Entre le 16° et le 20° jour, un nouveau phénomène traduit la progression de la dégénérescence de la filaire : les vacuoles disparaissent ; privée de la tension qu'elles lui assuraient, la paroi s'affaisse, ce qui entraîne une rétraction du volume de la filaire dans la largeur ; cette rétraction provoque un plissotement de la paroi de la filaire dont le contour se festonne et se parsème de nombreux créneaux tandis que, dans un volume moindre, son contenu apparaît plus dense. Au type « filaire vacuolisée » fait donc place, vers le  $18^{\circ}$  ou le  $20^{\circ}$  jour, une filaire « ratatinée », au contour irrégulièrement plissoté (Planche II, 15).

Ce recroquevillement en largeur peut ne pas se produire simultanément sur toute la longueur de la filaire qui prend alors momentanément un aspect mixte de filaire mi-vacuolisée, mi-ratatinée, fréquent chez les *Mansonia* gorgés depuis 16 à 18 jours (Planche II, 14).

Notons enfin que la paroi de la filaire s'épaissit et se durcit avec le temps ; il s'agit probablement, plus que d'un phénomène lié à sa dégénérescence, d'un vieillissement de la filaire privée de mue et dont la paroi s'imprègne d'une substance chitineuse.

Nous voyons donc que, loin d'être orientée vers la moindre différenciation organique, l'évolution morphologique interne de la filaire à l'intérieur des muscles de ce moustique est essentiellement dégénérative. Tout stade présaucisse ou saucisse se caractérisant non seulement par des proportions et une allure bien définie mais aussi par un début d'organogenèse, il n'est donc pas possible de considérer que la filaire évolue jusqu'à ces stades, bien que l'évolution de ses dimensions tendent à lui en donner les proportions au bout de 18 à 20 jours.

En résumé, les filaires de W. bancrofti ingérées par M. uniformis, après une évolution normale jusqu'à leur installation dans les muscles thoraciques de ce moustique, ne poursuivent pas leur développement au-delà; dès le début de la phase intramusculaire, un lent processus de dégénérescence de sa structure interne et une évolution anormalement lente de sa taille et de ses proportions, qui tendent cependant à devenir celles d'un stade présaucisse ou saucisse, conduisent à une évolution abortive du jeune stade I de W. bancrofti à l'intérieur des muscles thoraciques du moustique M. uniformis qui n'est donc pas vecteur de la filariose de Bancroft à Madagascar.

(Centre O.R.S.T.O.M., Tananarive).