

Ent. 1101

Imprimé avec le périodique *Bulletin de la Société de Pathologie exotique*.
Extrait du tome 49, n° 5, Septembre-Octobre 1956 (pages 831 à 837).

**MICROÉLECTROPHORÈSE DE L'HÉMOLYMPHE DU POU
(*PEDICULUS HUMANUS*)**

Par CH. SÉRIÉ, M. OVAZZA et R. GUTFREUND (*)

L'étude de l'hémolymphe de poux (*Pediculus humanus*) par la méthode de microélectrophorèse sur papier nous a permis de mettre en évidence plusieurs fractions protéiniques et d'étudier leurs variations en fonction du sexe et de l'infection à *Rickettsia prowazeki*.

La bibliographie mise à notre disposition ne nous a fourni aucune donnée sur l'hémolymphe de cette espèce.

I. — TECHNIQUE UTILISÉE

A. — Appareillage.

- une aiguille montée à pointe aiguisée,
- des tubes à hémolyse,
- une micropipette Seive n° 3140,
- une micropipette préparée extemporanément par effilage d'une pipette Pasteur. Cette micropipette doit être étalonnée de la façon suivante : 7 mm³ 5 de solution tampon mesurée avec la pipette Seive, sont déposés dans un verre de montre. Après avoir vérifié que le diamètre de la micropipette est inférieur à celui d'une goutte d'hémolymphe de poux, on plonge cette micropipette dans la solution tampon et on marque un repère à l'encre de chine à l'endroit où s'arrête l'ascension de la solution par capillarité. Cette opération est répétée autant de fois qu'il est nécessaire pour épuiser les 7 mm³ 5. Si au cours de la dernière aspiration, l'hémolyse n'atteint pas le repère un second trait est inscrit au niveau atteint.

b) *Méthode de prélèvement* :

Les poux sont lavés par agitation durant deux minutes dans un petit Erlenmeyer contenant 20 cm³ d'eau physiologique. Le contenu de l'Erlenmeyer (poux et eau physiologique) est versé sur un filtre en papier. Les poux sont prélevés et mis dans une boîte de Petri dont le fond est garni par une rondelle de papier Joseph. La boîte de Petri est laissée 10 minutes à 37°.

Chaque pou est prélevé à la pince, maintenu sur le verre de montre et ponctionné avec l'aiguille montée au niveau du bord externe d'un des trois derniers anneaux de l'abdomen. L'aiguille retirée, la goutte qui sourd est déposée sur le verre de montre et aspirée par capillarité avec la micropipette.

On ponctionne autant de poux qu'il est nécessaire pour que l'hémolymphe atteigne le repère de la micropipette. Ce liquide est alors rejeté dans un tube à hémolyse où l'on a auparavant déposé 20 mm³ de solution tampon. Cette opération est répétée jusqu'à ce que l'on obtienne 7 mm³ 5 d'hémolymphe. Le mélange contenu dans le tube représente donc 27 mm³ 5. Il est déposé sur la bande de papier Arches 20 mm³ de la solution qui représentent 5 mm³ 5 d'hémolymphe, quantité optima pour avoir des tracés électrophorétiques lisibles.

Il faut noter que toutes les fois, par suite d'erreurs de manipulation, la goutte d'hémolymphe est troublée par les fèces ou le sang de l'intestin, elle est rejetée.

II. — HÉMOLYMPHE DE POUX ADULTES D'ÉLEVAGE

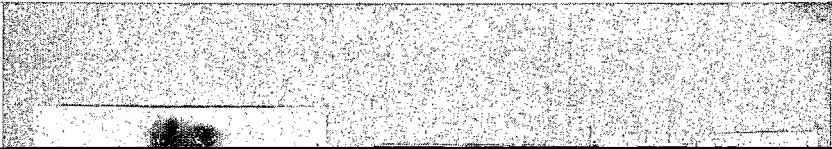
La microélectrophorèse, pratiquée selon la méthode qui a été décrite dans le chapitre précédent, a donné, avec 20 lots de poux adultes prélevés dans un élevage sain 2 heures environ après le repas, les résultats suivants :

1) La constitution protéinique de l'hémolymphe de poux semble constante dans les conditions expérimentales décrites.

2) Il existe une différence très importante entre le mâle et la femelle (fig. 1 et 2).

Chez la femelle, on note 3 fractions distinctes que nous avons appelées α , β et γ .

Chez le mâle, on note une seule fraction que nous avons appelée γ ; cette fraction ayant sensiblement le même déplacement que la

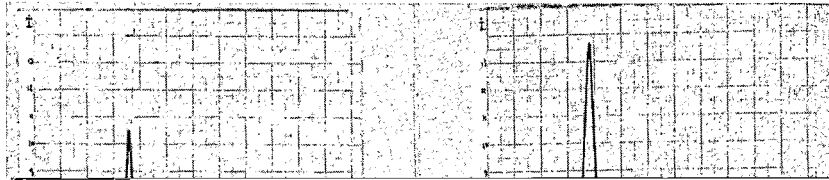


Nous avons voulu préciser si ces caractères pouvaient varier en fonction de différents facteurs du jeûne d'abord, des conditions de vie ensuite.

Un jeûne de 24 heures à la température du laboratoire (19° le jour et 11° la nuit en moyenne) ne semble pas modifier les tracés électrophorétiques (fig. 3 pour mâles, fig. 4 pour femelles). Tout au plus peut-on noter une légère accentuation de l'ensemble des taches, augmentation qui dénote, peut-être, une concentration des protéines dans l'hémolymphe.

III. — HÉMOLYPHE DE POUX
INFECTÉS AVEC « RICKETTSIA PROWAZECKI »

Des poux d'élevage ont été infectés avec trois souches de *Rickettsia prowazecki* (souches ASG, LI, CA de l'Institut Pasteur d'Ethiopie) et des examens électrophorétiques d'hémolymphe ont été pratiqués aux 4^e, 5^e, 6^e et 8^e jours de l'infection.



ont été broyés, dilués en eau physiologique et centrifugés. Le liquide surnageant a été inoculé selon la méthode de Weigl.

L'expérimentation a porté uniquement sur des poux femelles. Ils ont, en effet une quantité d'hémolymphe supérieure à celle des mâles.

L'infection a été de deux types :

— une infestation avec multiplication lente des rickettsies réalisée en nourrissant immédiatement les insectes après l'inoculation. Ainsi une grande partie des rickettsies est rejetée avec les fèces ;

— une infestation avec multiplication rapide et importante des rickettsies réalisée en gardant à jeun les insectes pendant 12 heures à la température du laboratoire ce qui permet une imprégnation massive de la muqueuse intestinale.

De plus, il est à préciser que tous les poux dont l'hémolymphe a été prélevée pour examen électrophorétique ont eu leur intestin contrôlé microscopiquement (coloration de Macchiavèllo) et leur richesse en rickettsies, notée.

2) Résultats.

Les examens électrophorétiques de l'hémolymphe des poux infectés ont été différents suivant l'évolution de l'affection rickettsienne.

Une infection lente dont le contrôle a montré 40 à 60 0/0 d'insectes fortement positifs s'est traduite par une légère diminution des fractions protéiniques α et β et une augmentation marquée de la fraction γ .

Une infection rapide dont le contrôle a montré 95 à 99 0/0 d'insectes fortement positifs s'est traduite par une diminution globale des trois fractions protéiniques.

CONCLUSION

a) Les tracés obtenus avec l'appareil de Machebœuf-Rebeyrotte permettent de mettre en évidence dans l'hémolymphe de poux trois fractions protéiniques chez la femelle et une seule fraction chez le mâle.

b) La constitution protéinique d'hémolymphe semble constante dans les conditions expérimentales décrites.

c) Il existe une nette différence entre l'hémolymphe des poux mâles et femelles.

d) L'infestation rickettsienne à *Rickettsia prowazeki* de poux femelles entraîne dans le cas d'une infection lente, une diminution des fractions protéiniques α et β et une augmentation de la fraction γ ; dans le cas d'une infection rapide, une diminution globale de toutes les fractions protéiniques.

Institut Pasteur d'Ethiopie.