

O.R.S.T.O.M.Entomologie médicale5.5.1969

RAPPORT TECHNIQUE SUR UNE MISSION A WINCHES FARM, LABORATOIRE  
DE CAMPAGNE DU SERVICE D'HELMINTHOLOGIE DE LA LONDON SCHOOL OF  
HYGIENE AND TROPICAL MEDICINE  
(Prof G.S.NELSON)

---

par M.OVAZZA

Entomologiste médical ORSTOM

Je n'ai pu passer que deux jours en Angleterre. Ma mission avait pour but de me renseigner sur les techniques utilisées par l'équipe de Mr. J.P.McMahon pour nourrir sur sang en laboratoire des Simulies. A côté de ce chercheur se trouvent entre autres deux jeunes étudiants actuellement en préparation de Thèse dont les sujets sont proches: l'un Mr.Eicher qui travaille plus particulièrement avec McMahon, s'occupe de la transmission d'Onchocerca gutturosa; l'autre s'occupe de la transmission de filaires par des Culicoides.

I. But des études de McMahon:

Possibilités de nourrir sur sang en laboratoire des Simulies en vue d'une part d'augmenter les chances de réussir des élevages, d'autre part et surtout d'étudier les modalités des transmissions de filaires par ces vecteurs.

25 JUIL. 1969

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 3295 ex1

## II. Principes de la méthode.

Ils sont en général assez curieux car il me semble difficile de les relier tous à ce qui est connu du comportement des Simulies dans la nature. Je relève les points suivants:

- la température de la membrane et du sang doit être constante et semble bien déterminée pour S.ornatum et apparemment aussi pour S.damnosum: 31°C

- l'éclairage tant en ce qui concerne la couleur que l'intensité.

Pour S.ornatum il semble nécessaire d'opérer dans une chambre noire dont la seule lumière est fournie par une lampe bleue (verre bleui dans la masse, des lampes peintes en bleu ont amené un échec). L'intensité lumineuse au niveau de l'appareil doit être de 20 lumens par pied carré (environ 2,2 lumens pour 100 cm<sup>2</sup>). Mais ceci peut être réglé en jouant sur la distance de la lampe à l'appareil, cette distance ne semblant pas importer.

- le type de membrane est capital: aucune membrane artificielle n'a donné d'aussi bons résultats que celles naturelles. Les peaux ou aponévroses ou membranes internes de rats, souris et cobayes ont toujours fourni des échecs. La meilleure membrane a été la peau du ventre de poussin de 2 à 3 jours. Le poussin peut être sacrifié au moment de l'opération. Mais si le poussin ou le sang doivent être conservés, il faut qu'ils le soient à -30°C au moins et non au simple réfrigérateur.

- le nombre de femelles par tube: dans des tubes de 2,5 cm de diamètre et 8 cm environ de long il ne faut pas mettre plus de 10 à 15 ♀♀.

- certains points semblent accessoires: d'après les essais faits tant à Winches Farm qu'au Kenya le sang de rongeurs, en particulier celui des rats, souris, cobayes est très mal accepté, tout au moins par les espèces utilisées. Il semble aussi que l'on augmente le nombre de ♀♀ prenant leur repas si l'on envoie dans le tube, grâce à un tuyau, soit simplement le souffle d'expiration normal, soit de l'air ayant barboté dans une dilution de bouse de vache. Il semble aussi utile de garnir le tube d'un papier filtre de même largeur dont l'extrémité supérieure est coupée en lanière afin que les ♀♀ marchent au lieu de voler vers la source de sang. Le sang comme on le verra est à l'extrémité supérieure du tube. Mais toutes les espèces utilisées piquent normalement le bétail; il est possible que pour

certaines espèces purement ornithophiles, telles que celles étudiées par Fallis, il faille renverser le dispositif.

### III. Dispositif et matériel. Mode opératoire.

Le matériel comprend :

- a) Un Bécher de 4 à 500 cc modifié comme suit (cf dessins): le fond a été soufflé en son milieu de façon à y créer une bulle cylindrique d'environ 2 cm de diamètre en son milieu. Cette bulle est elle-même déprimée en cupule pour recevoir le sang. Le sang, retiré du deep-freeze, est réchauffé au bain marie à 25°C environ. 3 cc environ sont alors pris; on les dépose dans la dépression inférieure du Bécher (celui-ci étant évidemment alors le fond en haut).
- b) le poussin, réchauffé au bain marie s'il sort du deep-freeze, a alors sa tête et ses membres coupés; on incise la peau sur le dos et on le dépouille sans déchirer la peau (plumé bien sûr). S'il est assez gros on peut couper la peau pour faire 2 membranes. C'est uniquement la partie ventrale de la peau qui va servir de membrane de piqûre. Il est important de dégraisser l'intérieur de la peau avec un scalpel mousse. La peau est fixée à la cupule grâce à un fil de coton l'entourant plusieurs fois.
- c) mise en place. Le Bécher est alors remis en position normale et placé sur un portoir métallique de laboratoire pour bunsen. Rempli d'eau il reçoit une résistance et un thermostat réglable accouplé à elle, ainsi qu'un thermomètre. Dans de telles conditions si l'eau est réchauffée à 45° ± 1° C. l'expérience a montré à McMahon que le sang et la membrane seront à 31°C.
- d) nourrissage des ♀♀: Le tube, 2,5 cm de diamètre, ouvert aux deux bouts et fermé par du tulle fin, contient une douzaine de ♀♀ et a été maintenu jusque là à 28°C et 80% d'hygrométrie. Il est rapidement décoiffé d'une des fermetures en tulle et placé sur la membrane (maintenu par une pince fixée au pied de l'appareil). C'est à ce moment que l'on souffle dans la base du tube. La lampe bleue est approchée jusqu'à ce qu'on obtienne la lumière et l'intensité désirée (mesurée en lumière incidente) au niveau du tube. Les ♀♀ se nourrissent en 15 à 20 minutes. J'ai vu 70 à 80% de femelles prenant un repas complet.

Commentaires.

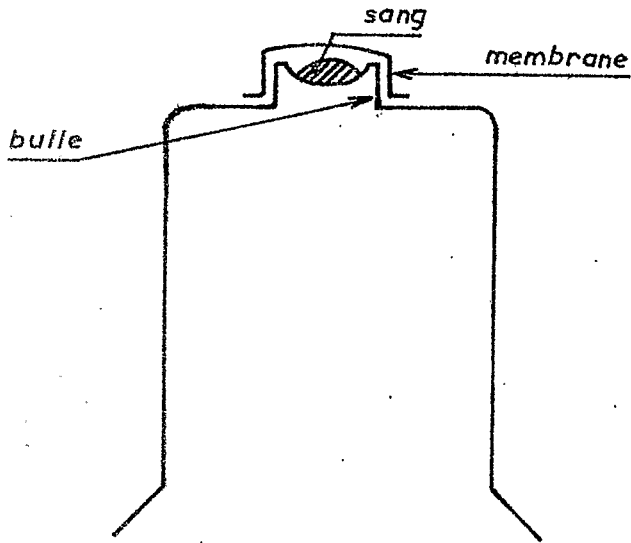
A l'heure actuelle l'opération se pratique surtout avec S.ornatum. Les ♀♀ sont obtenues par éclosions de nymphes de gîtes voisins de Winches Farm et ne<sup>se</sup> sont donc pas accouplées. McMahon m'a précisé que les ♀♀ recevaient un repas de jus sucré (obligatoire) 3 jours après l'éclosion et le repas de sang un jour plus tard. Il n'a pu faire piquer de ♀♀ avant le 4ème jour en ce qui concerne cette espèce. Il n'obtient pas non plus une survie assez longue ensuite (2 semaines et plus) s'il ne leur fournit pas de repas de jus sucré tous les 2 ou 3 jours. L'eau pure ne suffit pas.

Je soulignerai: d'une part que S.ornatum semble se nourrir en laboratoire sur : homme, bétail, oiseau, singe, bien qu'en moins grand pourcentage et avec moins de facilité que sur membrane. Même nourries sur animal vivant il semble nécessaire de respecter la condition de lumière (bleue). Cette même condition semble vraie pour S.damnosum. D'autre part il est possible qu'il soit nécessaire d'adapter les conditions de température et de lumière si l'on change d'espèce. On ne peut je crois prévoir les conditions nécessaires pour chacune étant donné que l'environnement utilisé à Winches Farm n'a aucun rapport avec les conditions naturelles. L'approche technique sera donc empirique. Cependant l'empirisme a peut-être été poussé un peu loin à Winches Farm. Par exemple la question de lumière: le choix semble avoir été fait en utilisant des ampoules du commerce telles qu'elles se rencontraient. Il a bien été essayé de modifier l'éclairage par des filtres. Mais dans ces cas la source de lumière était une simple lampe opaline. Or de telles ampoules ne donnent pas un spectre solaire complet. Je serais partisan de reprendre l'expérience des filtres mais en utilisant une source lumineuse fournissant un spectre aussi complet que possible (lampe à "lumière solaire" par exemple).

De même il est possible que les repas de jus sucrés après le repas de sang ne soient pas nécessaires pour toutes les espèces. Cette condition est peut-être aussi modifiée au cas où les ♀♀ ont été fécondées.

Par ailleurs l'accouplement n'a jamais été réussi par l'équipe de Winches Farm. Ce point demeure donc un des gros problèmes.

En résumé l'acquisition principale semble être l'importance de la température au niveau de la membrane et du type <sup>et</sup> de l'intensité de lumière. La technique permet certainement de faire des études sur le cycle des parasites chez les simules; il écarte en particulier les difficultés d'interprétations de l'infection obtenue chez des ♀♀ sauvages en pays d'endémie.



Bécher (en position pour y mettre le sang)

