

Etude histologique, chez *Mansonia uniformis* Theobald
et *Anopheles gambiae* B Giles,
de l'évolution de
Wuchereria bancrofti Cobbold
et des interactions entre
la filaire et ces deux hôtes

M. J. BRUNHES
J. BRUNHES

Entomologistes médicaux de l'O.R.S.T.O.M.,
Tananarive (Madagascar).

RÉSUMÉ.

Dans le cadre de l'étude de l'épidémiologie de la filariose de Bancroft à Madagascar, des infestations expérimentales d'*Anopheles gambiae* B Giles et de *Mansonia uniformis* Theobald par *Wuchereria bancrofti* Cobbold ont été effectuées; elles ont permis de faire après une brève étude histologique du développement de *W. bancrofti* chez *A. gambiae* qui en est bon vecteur, une observation détaillée de l'évolution de cette filaire chez *M. uniformis* où elle n'atteint pas la forme infectante.

Ces observations montrent que *W. bancrofti* ingérée par *M. uniformis* évolue normalement jusqu'au début de la phase intramusculaire; puis son développement se trouve interrompu et la filaire dégénère lentement dans les muscles thoraciques du moustique. Ses dimensions évoluent anormalement de sorte qu'au bout de 20 jours, ses proportions correspondent approximativement à celles d'une forme saucisse ou présaucisse; après la désorganisation de sa morphologie interne, la filaire, sous l'effet d'une rétraction progressive, se vacuolise vers le 12^e jour et finit par se ratatiner vers le 17^e jour.

Quelques aspects des interactions entre *W. bancrofti* et ces 2 hôtes sont ensuite abordés. Chez *M. uniformis* comme chez *A. gambiae*, la filaire détruit par hystolyse le muscle qu'elle parasite; ces lésions musculaires s'étendent au fur et à mesure du développement intramusculaire de la filaire; d'un point de vue épidémiologique, ces lésions provoquent donc un handicap

de vol grave pour le moustique vecteur; les lésions musculaires provoquées par *W. bancrofti* chez le moustique réfractaire, *M. uniformis*, sont beaucoup plus limitées à cause de l'évolution abortive de la filaire.

D'autre part, les encapsulations de filaires sont observées, qui traduisent une réaction de défense de la part de l'hôte; ces réactions se sont produites lorsque les filaires se sont logées dans un tissu autre que celui qui leur est spécifiquement réceptif, indépendamment de la capacité vectrice de l'hôte, ou bien encore lorsque les filaires ont parasité *M. uniformis*, le moustique non-vecteur, indépendamment de la nature du tissu parasité.

ABSTRACT.

In the process of the epidemiological study of bancroftian filariasis in Madagascar, experimental infestations were carried out; they allowed, after a brief histological survey of the good development of *W. bancrofti* within *A. gambiae*, to do a detailed study of this evolution within *M. uniformis*, where infectant stages were never obtained in Madagascar.

These observations show that *W. bancrofti* ingested by *M. uniformis* evolves normally until the intramuscular phase begins; then, its normal developments is stopped and the worm degenerates slowly within the thoracic muscles; its dimensions evolve anormally so that, about 20 days later, its measures approximatively correspond to these of presausage or sausage form; after an important internal morphological desorganisa-

tion, the filaria, by a progressive retraction, is vacuolating and ends shrivelling around the 17th day.

Some aspects of the interactions between *W. bancrofti* and these two hosts are then approached; within the both hosts, the larva destroys the parasitized muscle; these muscular injuries are spreading gradually as intramuscular filarial development goes on; from the epidemiological point of view, these lesions instigate a flying handicap more important for a susceptible mosquito as *A. gambiae*, than for a refractory one as *M. uniformis*, in which bancroftian filaria evolution fails.

On another hand, filarial encapsulations are observed, traducing defence reactions from the host; these occurred either when filariae invaded a tissue different from the specifically receptive one, independently of the vectory efficiency of the host, or when filariae parasited the refractory mosquito, independently of the nature of the parasitized tissue.

1. INTRODUCTION.

Dans le cadre de l'étude de la transmission de la filariose de Bancroft à Madagascar, de nombreuses infestations expérimentales ont été effectuées dans le but d'évaluer la capacité de transmission de diverses espèces culicidiennes malgaches vis-à-vis de *Wuchereria bancrofti* Cobbold.

Au cours de nos expérimentations, *Anopheles gambiae* Giles, A et B, s'est montré excellent vecteur de cette filaire (BRUNHES, 1968). Par contre, *Mansonia uniformis* Theobald, n'a jamais permis le développement de stades III de *W. bancrofti*, alors qu'il avait été mentionné par GJREBINE en 1955 comme vecteur naturel probable de la filariose de Bancroft à Madagascar; d'autre part, De ROOK (1957) signale qu'en Nouvelle-Guinée *M. uniformis* transmet *W. bancrofti*.

Or, il ressort des nombreux travaux de transmission expérimentale de filarioses que le sort des microfilaires ingérées par un moustique peut être très différent suivant les espèces culicidiennes envisagées; elles peuvent se développer normalement, être éliminées immédiatement ou au terme de processus divers; d'autre part, les interactions entre l'hôte et la filaire parasite sont également très différentes suivant que le moustique se comporte en bon ou en mauvais hôte pour cette filaire.

Il nous a donc semblé intéressant de préciser les résultats de nos expériences en effectuant, après une brève étude du développement de *W. bancrofti* chez un bon hôte comme *A. gambiae* B, une analyse 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 éliminé ou son développement in-

terrompu; ces observations nous permettront également de mettre en évidence, dans un second chapitre, quelques aspects des interactions entre la filaire et *A. gambiae* ou *M. uniformis*.

2. METHODES 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 développement de *W. bancrofti* chez *A. gambiae* B qui est à Madagascar un des meilleurs vecteurs.

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 (Côte Est), ont été admis à se gorger sur un filarien malgache dont la microfilariémie s'élevait environ à 100 microfilaires/mm³ de sang à 20 heures.

Les 2 séries de moustiques gorgés ont été placées à 25° C et 90 % d'hygrométrie dans 2 cages où de l'eau miellée leur était proposée.

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 des populations, soit vers le 23^e jour. Nous avons ainsi pu sacrifier 50 *A. gambiae* et 30 *M. uniformis*; les moustiques morts au cours de la période d'observation n'ont pas été utilisés.

Fixé pendant 1 h dans le mélange de Carnoy puis déshydraté par plusieurs bains d'alcool butylique, chaque moustique a été inclus dans la paraffine à 56°-58°.

Les coupes sériées, sagittales et parfois transversales, épaisses de 5 µ, ont été colorées à l'hémalum acide de Masson.

Les coupes les plus intéressantes ont fait l'objet de microphotographies (Laboratoire de Physiologie des Insectes du Professeur POSSOMPES, Paris).

3. ETUDE HISTOLOGIQUE SOMMAIRE DU DEVELOPPEMENT DE *W. BANCROFTI* CHEZ *A. GAMBIAE*.

Quelques minutes après leur arrivée dans l'estomac, les microfilaires commencent à se répartir à la périphérie du volume sanguin stomacal.

Environ 30 minutes à 1 heure après leur ingestion, on peut les observer traversant l'épithélium stomacal, de préférence dans sa portion postéroventrale; dépourvues de leur gaine, elles commencent alors à migrer dans la cavité générale, souvent à travers le mésentère, vers les muscles thoraciques; les premières microfilaires attei-

gnent ces muscles 6 heures après le repas de sang (photo 1).

Cette migration s'étale jusqu'à la fin du 1^{er} jour environ ; ensuite on n'observe plus de microfaires vivantes circulant dans le mésentère abdominal ou thoracique (voir tableau 1).

Les muscles thoraciques entre les fibres desquels s'introduisent les jeunes stades I sont les muscles indirects du vol, constitués de muscles longitudinaux, dépresseurs des ailes (appelés n° 39 dans la classification de CHRISTOPHERS) et de 2 paires de muscles verticaux, élévateurs des ailes (n° 41 et n° 42 de CHRISTOPHERS).

Les premiers stades larvaires observés dans ces muscles 6 heures après le repas sont, comme les microfaires, très longs et minces ; ils mesurent approximativement 220 μ sur 5,3 μ . Un jour après le repas (voir tableau 1), ils sont déjà plus courts et plus larges et, le jour suivant, ce sont en majorité des formes présaucisses (photo 2). Vers le 3^e ou 4^e jour, les filaires se trouvent au maximum de leur raccourcissement (130 à 150 μ) et ont nettement épaissi (10 à 12 μ) ; elles présentent une petite queue en virgule, courte et sans noyaux ; il s'agit de formes saucisses. Vers le 6^e ou 7^e jour, fin du stade I, elles commencent à croître, en longueur surtout (photo 3).

Ces premiers stades larvaires ont d'autre part été le siège d'une importante organisation interne ; les principaux éléments du tube digestif s'y trouvent déjà différenciés ainsi que la couche des cellules musculaires située sous la cuticule.

Les filaires observées le 8^e jour étaient des 2^e stades larvaires déjà repliés à l'intérieur de leur loge.

Durant ce second stade, qui dure du 8^e au 15^e jour environ, la filaire ne cesse de s'accroître (photo 4) tandis que les éléments de son tube digestif acquièrent des dimensions proportionnellement différentes (accroissement de la longueur de l'intestin moyen) et que se développe le système nerveux. Nous avons ainsi pu observer, vers le 13^e ou 14^e jour, des 2^e stades larvaires larges de 25 à 30 μ et longs de 700 μ environ ; ils occupent une grande partie de la longueur du faisceau musculaire qui les loge (photos 5 et 6).

Enfin, vers le 17^e jour, les stades III circulent dans la cavité abdominale ou dans la tête.

Remarquons que le développement de *W. bancrofti*, tel que nous l'avons observé ici dans ses grandes lignes chez *A. gambiae*, se déroule tout à fait comme chez *Culex pipiens fatigans* Wiedemann (souche Calcutta) où IYENGAR (1956) l'a minutieusement décrit ; il répond également à la description du développement de *W. bancrofti* chez *C. p. fatigans* faite par KOBAYASHI (1940).

4. ETUDE HISTOLOGIQUE DE L'EVOLUTION ABORTIVE DE *W. BANCROFTI* CHEZ *M. UNIFORMIS*.

4.1. Evolution de la filaire depuis son ingestion jusqu'à son entrée dans les muscles.

Nous avons observé que la microfaire, chez *M. uniformis*, semble franchir la barrière digestive sans plus de difficulté que chez *A. gambiae* ; après avoir traversé l'épithélium stomacal dans sa portion postéro-ventrale, elle migre dans la cavité générale, souvent à travers le mésentère, et s'installe à l'intérieur des muscles indirects du vol (muscles n° 39, 41 et 42 de CHRISTOPHERS).

La microfaire de *W. bancrofti* se comporte donc chez *M. uniformis*, depuis son ingestion jusqu'à son entrée dans les muscles, de la même manière que chez *A. gambiae*.

— Remarquons cependant que, tandis que chez *A. gambiae* la migration des microfaires semble achevée avant le 2^e jour, chez *M. uniformis* il est possible d'observer, jusqu'au 4^e jour après le repas, un nombre non négligeable de microfaires saines circulant dans la cavité abdominale ou thoracique, à travers le réseau lâche du mésentère, ou bien en cours de pénétration dans les muscles thoraciques (voir tableau I). Ainsi, dans 3 individus gorgés respectivement depuis 2, 3 et 4 jours, nous avons compté respectivement 5, 5 et 13 microfaires libres dans la cavité générale ou en cours d'installation dans les muscles, sur 48, 78 et 80 microfaires ayant traversé la barrière stomacale.

Nous avons d'autre part observé que les 1^{er} stades larvaires logés dans les muscles du vol étaient nettement plus nombreux chez *M. uniformis* que chez *A. gambiae* : soit une moyenne de 8 filaires par moustique dans les muscles thoraciques de *A. gambiae*, pour une moyenne de 31 filaires par moustique dans les muscles de *M. uniformis* ; le nombre de filaires observées variait entre 10 et 78 filaires par *Mansonia* et entre 3 et 20 filaires chez *A. gambiae*.

4.2. Evolution intramusculaire de la filaire.

Pour plus de clarté nous exposerons d'abord nos observations sur l'évolution de la taille de la filaire au cours des 22 jours, puis nos observations sur son évolution morphologique durant cette même période.

4.2.1. EVOLUTION DE LA TAILLE : (voir tableau 2 et photos 7 à 13).

Longueur : 1 jour après le repas, soit quelques heures après leur installation dans les muscles, les 1^{er} stades larvaires mesurent environ 220 μ . Leur évolution en longueur du 2^e au 22^e jour est exposée dans le tableau 2.



PLANCHE 1. — Développement de *Wuchereria bancrofti* chez *Anopheles gambiae*.

1) Microfilarie dans un muscle thoracique, 6 heures après son injection ($\times 320$); 2) Forme présauvresse, 3 jours après le repas de sang ($\times 320$); 3) stade I - fin, 7 jours après le repas de sang; observer la différenciation du tube digestif et de la couche de cellules sous-cuticulaire ($\times 320$); 4) Stade II - 10 jours après le repas de sang, se développant au détriment du muscle qui l'héberge ($\times 320$); 5) Stade II - fin, 14 jours après le repas de sang; observer les 3 parties du tube digestif de la filaire et les lésions provoquées dans le muscle par la filaire: agrégats de mitochondries à une extrémité de la loge et disparition de myofibrilles au profit de l'agrandissement de la loge ($\times 320$); 6) Lésions musculaires produites par *W. bancrofti* chez *A. gambiae*: coupe transversale d'un muscle d'*A. gambiae* parasité par un stade II - fin, 14 jours après le repas; observer l'aspect de la loge, découpée à l'emporte-pièce dans le tissu musculaire ($\times 800$).

TABLEAU 1

Observations sur la migration des microfilaries et sur le nombre de filaires logées dans les muscles par moustique

Espèce du moustique	Temps * auxquels ont été observés des microfilaries en cours de migration			Nbre de filaires (par moustique) observées dans les muscles		
	1 ^{res} microfilaries	majorité des microfilaries	dernières microfilaries	Nombre minimum	Nombre moyen	Nombre maximum
<i>A. gambiae</i>	1 h	6 h	20 h	3	8	20
<i>M. uniformis</i>	1 h-2 h	36 h-48 h	4 ^e j.	10	31	78

(1) Temps compté à partir de l'ingestion.

TABLEAU 2

Evolution de la taille des filaires de *W. bancrofti* chez *A. gambiae* et *M. uniformis*

Nombre de jours après le repas	Longueur moyenne de <i>W. b.</i> en μ chez <i>A. gambiae</i>	Longueur moyenne de <i>W. b.</i> en μ chez <i>M. uniformis</i>	Largeur moyenne de <i>W. b.</i> en μ chez <i>A. gambiae</i>	Largeur moyenne de <i>W. b.</i> en μ chez <i>M. uniformis</i>
1	175	220/1	6	5,2/3
2	150	193/7 *	8	5,3/29
4	135	178/4	12	5,5/16
6	200	165/1	15,5	6,5/34
8	291	156/5	18	6,7/21
10	453	155/1	23	8,1/44
12	530	140/10	26	8,5/43
14	662	133/12	27	8,5/39
16		130/3		8,4/45
20		128/18		7,3/20
22		130/7		7,5/19

(*) 193/7, par exemple : 7 est le nombre d'observations à partir duquel a été calculée la moyenne.

Nous voyons que, dès qu'il est logé dans les muscles du *Mansonia*, le jeune stade I amorce un raccourcissement ; cependant ce raccourcissement est beaucoup plus lent, et donc moindre, que chez *A. gambiae* puisque, vers le 4^e ou 5^e jour, la filaire mesure encore 178 μ chez *M. uniformis*, alors que chez *A. gambiae* elle est en saucisse et a atteint sa taille minimum, soit environ 130 μ ; remarquons aussi que ce raccourcissement continue très progressivement et lentement de telle sorte que la filaire observée vers le 22^e jour ne mesure plus que 130 μ environ, ce qui correspond à la longueur de la forme saucisse de 4 jours chez *A. gambiae*.

Largeur : 1 jour après le repas, les 1^{er} stades larvaires ont une largeur un peu supérieure à 5 μ . L'évolution de leur largeur chez *M. uniformis* au cours des 22 jours de l'observation est exposée dans le tableau 2.

Nous y remarquons que le jeune stade I commence

à s'épaissir dès son arrivée dans les muscles du *M. uniformis* ; cependant cet épaississement est beaucoup plus faible que chez *A. gambiae*, puisque la filaire du *Mansonia* a une largeur de 5,5 μ puis de 5,9 μ au bout de 4 puis 5 jours, tandis que la forme saucisse du 4^e jour a une largeur de 10 à 12 μ chez *A. gambiae*. Ce lent épaississement atteint entre le 12^e et le 16^e jour, un maximum de 8,5 μ environ, qui correspond approximativement chez *A. gambiae* à la largeur de la forme présaucisse du 3^e jour ; puis, au-delà du 16^e jour, la filaire semble perdre de sa largeur, ce qui correspond à une rétraction, liée à d'importants bouleversements morphologiques, comme nous le verrons ci-dessous.

— Nous pouvons brièvement résumer ces résultats : le 1^{er} stade larvaire de *W. bancrofti* logé dans les muscles thoraciques de *M. uniformis* présente une lente évolution anormale ; il se raccourcit lentement de sorte

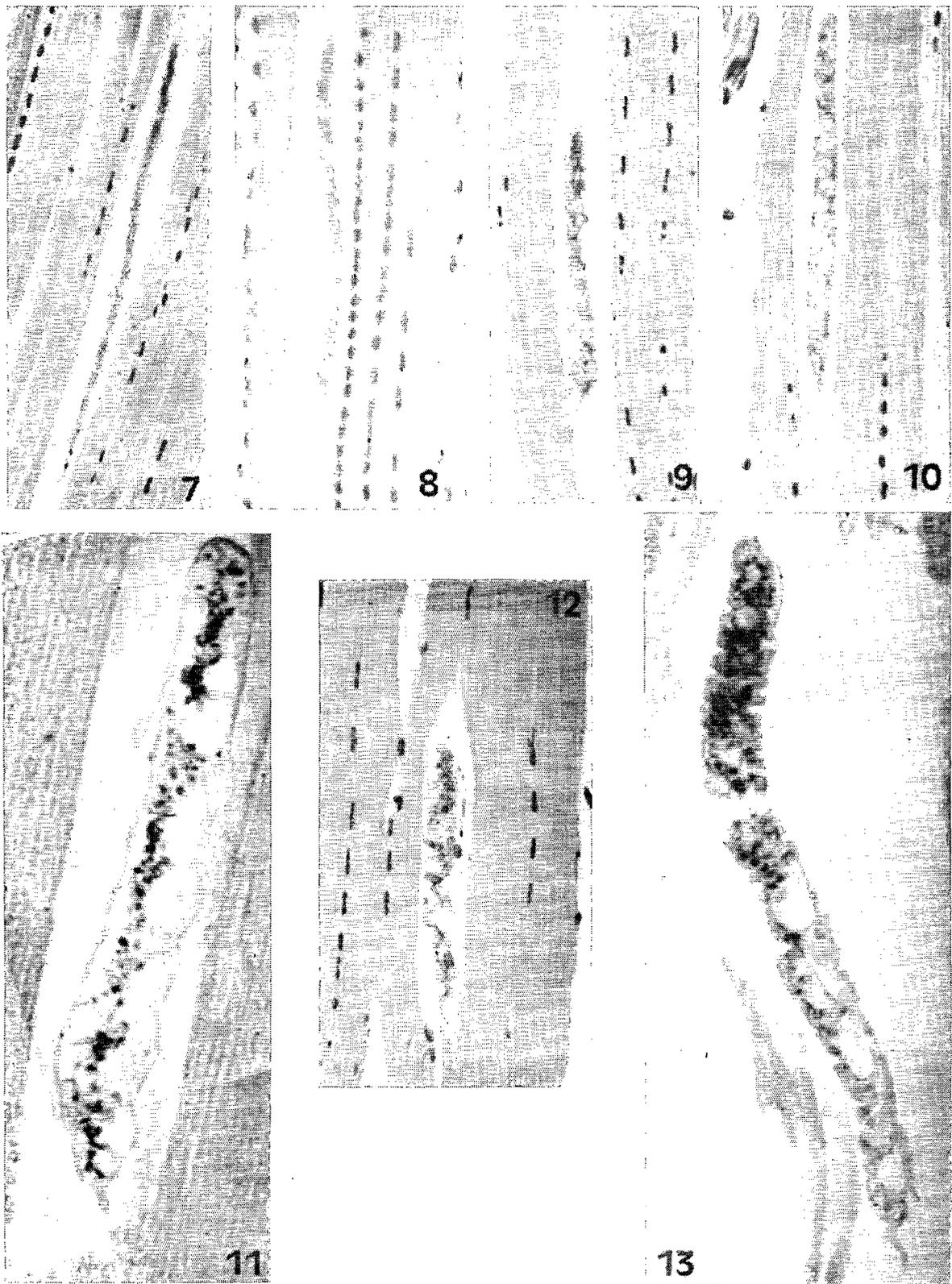


PLANCHE 2. — Evolution abortive de *Wuchereria bancrofti* chez *Mansonia uniformis*.

7) Jeune stade I, 2 jours après le repas de sang ($\times 320$); 8) Stade I, 8 jours après le repas de sang; observer son épaissement et le léger raccourcissement, la morphologie encore typique de la microfilarie, les agrégats de mitochondries à une extrémité de la loge ($\times 320$); 9) Filaire dégénéralant 10 jours après le repas de sang; remarquer l'évolution des proportions et la désorganisation interne de la filaire ($\times 320$); 10) Filaire dégénéralant, 12 jours après le repas de sang; observer la vacuolisation de la structure interne de la filaire ($\times 320$); 11) Filaire vacuolisée dégénéralant, 14 jours après le repas; remarquer la queue typique du stade I ($\times 800$); 12) Filaire vacuolisée dégénéralée, 17 jours après le repas; observer le début de ratatinement à l'extrémité supérieure ($\times 320$); 13) Filaire dégénéralée, crénelée et ratatinée, 20 jours après le repas; queue du 1^{er} stade très nette ($\times 800$).

stades III de *Setaria labiatopapillosa* chez des *Aedes aegypti* infectés depuis plus de 13 jours.

— Dans le second processus (photo 16), qui était plus fréquent, une membrane semblant chitineuse, d'abord fine et transparente, drapait partiellement puis complètement la filaire qui, dans un premier temps, demeurait visible au-dessous; puis cette enveloppe s'épaississait et s'assombrissait jusqu'au noir, cachant alors la filaire.

Ces 2 processus aboutissent à la formation d'une capsule brun foncé ou noire, plus ou moins épaisse, cassante, rigide, et très résistante, à l'intérieur de laquelle le parasite, mort de toute évidence, finit souvent par se trouver lui-même imprégné de la substance encapsulante.

Remarquons cependant que les filaires recouvertes d'une capsule très mince ou incomplète ne semblent ni plus ni moins dégénérées que leurs voisines non encapsulées.

— Précisons enfin qu'au cours de ces observations nous n'avons pas remarqué les importantes réactions hémocytaires décrites par SALT (1955, 1956 et 1963) et par lesquelles les hémocytes de l'hôte se massent pour encapsuler les œufs d'un ichneumon, *Nemeritis canescens*, introduits artificiellement à l'intérieur de larves de microlépidoptères ou du phasme *Carausius morosus*.

5.2.2. ENCAPSULATIONS DE FILAIRES HORS DES MUSCLES THORACIQUES.

Nous avons observé, chez *A. gambiae* comme chez *M. uniformis*, que les microfilières de *W. bancrofti* se trouvent encapsulées lorsqu'elles se logent dans un tissu autre que les muscles thoraciques de ces moustiques.

Nous en avons compté 4 en tout pour *A. gambiae*, sur les 17 jours d'observation suivant le repas, toutes situées dans l'abdomen, dont 3 partiellement fichées dans l'épithélium stomacal ou contiguës. Mais ces encapsulations ont été plus nombreuses chez *M. uniformis*; nous en avons relevé 8, soit 4 microfilières encapsulées prises dans l'épithélium stomacal (photo 18) et généralement proches d'une trachéole, 2 microfilières encapsulées contre une trachée dans le thorax et 2 autres dans l'épithélium stomacal ou contiguës. Mais ces encapsulations (dont une proche d'un petit muscle et d'une trachée).

Les microfilières encapsulées à l'intérieur de l'épithélium stomacal sont probablement demeurées prisonnières de cet épithélium dans les heures suivant le repas et ont été encapsulées à cette place; nous avons fréquemment remarqué à leur proximité la présence de trachéoles par lesquelles pourrait être assuré l'apport d'oxygène nécessaire aux phénomènes de chitinisation ou de mélanisation.

Ces capsules ressemblent à celles observées dans les muscles thoraciques du *Mansonia* mais elles sont

plus petites, probablement car il s'agit de microfilières. Dans un premier temps, la microfilaire demeure visible avec ses noyaux à l'intérieur de la fine capsule, puis elle se trouve peu à peu enveloppée d'un manchon plus épais, noir et cassant; elle finit même par être imprégnée de cette substance, ce qui la transforme en un cordonnet lui aussi noir et cassant à l'intérieur de la capsule.

ESSLINGER (1962) avec *B. pahangi* chez *A. quadrimaculatus*, et BURTON (1963) avec *W. bancrofti* chez plusieurs moustiques de Guyane Britannique ont aussi observé de fréquentes encapsulations de microfilières dans l'hémocèle ou l'estomac de ces moustiques; KARTMAN (1953 et 1956) précisait en outre que ces encapsulations se localisent de préférence dans les zones de l'hémocèle riches en trachéoles; enfin SALT (1963) remarquait que ces capsules peuvent inclure trachées ou trachéoles. Signalons d'autre part que la mélanisation de microfilières est un phénomène assez fréquent, notamment, chez des microfilières de *D. viteae* qui se trouvent dans les caeca digestifs ou la cavité générale de l'ornithodore (BAIN, 1967).

5.2.3. SIGNIFICATION DES ENCAPSULATIONS.

Au terme de ces quelques observations sur les encapsulations de *W. bancrofti* chez *M. uniformis* et *A. gambiae*, nous pouvons donc remarquer que :

— toutes les encapsulations observées expriment des réactions de défense du moustique vis-à-vis de la filaire parasite.

— l'encapsulation de *W. bancrofti* logée hors des muscles thoraciques du moustique représente de la part de l'hôte une réaction qui est indépendante de sa capacité vectrice à l'égard de ce parasite, mais qui est provoquée par la présence de cette filaire dans un autre tissu que celui qui lui est spécifiquement réceptif.

— le moustique bon vecteur, *A. gambiae*, n'encapsule pas la filaire lorsque celle-ci est logée dans le tissu qui lui convient, soit les muscles thoraciques pour *W. bancrofti*; au contraire, le moustique non-vecteur, *M. uniformis*, encapsule avec une fréquence significative la filaire logée dans le tissu qui cependant devrait lui convenir.

— par conséquent l'encapsulation de filaires de *W. bancrofti* logées dans le tissu musculaire qui devrait leur être spécifiquement réceptif représente une réaction dépendant de la réceptivité du moustique hôte à l'égard de cette filaire.

— chez un moustique non-vecteur de *W. bancrofti*, comme *M. uniformis*, les réactions d'encapsulation représentent, outre le processus de dégénérescence des filaires à l'intérieur de l'hôte, un processus d'appoint au terme duquel la filaire incompatible se trouve également éliminée.

6. DISCUSSION.

— Nos observations nous ont conduits à comparer l'évolution de *W. bancrofti* chez 2 espèces culicidiennes et à déterminer les processus d'avortement de la filaire et de blocage de l'hôte rendant compte de l'impossibilité pour cette filaire d'accomplir un cycle parasitaire chez l'espèce non vectrice.

Remarquons d'abord que *M. uniformis* ne se comporte pas en mauvais vecteur de *W. bancrofti* dans les heures qui suivent l'ingestion des microfaires puisque nous n'observons pas de barrière immédiate infranchissable pour les filaires au niveau de l'appareil digestif, comme c'est le cas pour *B. malayi* qu'*Ae. aegypti* retient prisonnière du caillot stomacal (RAMACHANDRAN, JIMENEZ et EDESON, 1961). Au contraire, nombreuses sont les filaires qui, comme chez *A. gambiae*, franchissent la paroi stomacale, migrant à travers le mésentère dans la cavité générale et parviennent à se loger dans les muscles qui leur conviennent.

Mais c'est précisément à partir du début de la phase intramusculaire que le développement de la filaire se trouve entravé. Différents processus d'avortement de filaires chez des espèces culicidiennes non vectrices ont déjà été mis en évidence ; nous allons donc les examiner et essaierons ensuite de confronter le processus observé chez *M. uniformis* à ces derniers.

● Un processus d'avortement fréquent réside dans le blocage de la filaire au stade microfilaire, donc avant toute évolution. C'est le cas des microfaires de *W. bancrofti* auxquelles *Aedes serratus* Theobald ne permet généralement aucun changement, à l'exception de quelques-unes qui atteignent le stade II (BURTON, 1963) ; de même, *Aë. aegypti* bloque le développement des microfaires de *D. immitis* qui restent en majorité sans changement durant 20 jours d'expérience (KARTMAN, 1956) ; enfin, chez *Aë. aegypti* (souche Lagos), les microfaires de *W. bancrofti* demeurent inchangées dans les muscles du moustique (BHATTACHARYA, ROZEBOOM et CHOWDHURY, 1966).

● Il arrive aussi que le moustique réfractaire permette un début de développement de la filaire puis qu'il bloque son évolution à un stade déterminé. C'est le cas d'*Aedes albopictus* Skuse et d'*Aedes sollicitans* Walker parasités par *Brugia pahangi* qui s'y développe jusqu'à la forme présaucisse et s'y trouve ensuite bloquée ; la même filaire peut évoluer jusqu'à la forme saucisse chez *Aë. aegypti* et *Culex quinquefasciatus*, de rares stades III étant cependant obtenus (EWERT, 1963). Enfin, *Aë. aegypti* (souche CALCUTTA) provoque l'avortement de la filaire de *W. bancrofti* en bloquant son développement au stade I - fin (BHATTACHARYA, ROZEBOOM et CHOWDHURY, 1966).

● Par contre, le phénomène de dégénérescence de la filaire à différents stades de son développement, chez

le moustique non vecteur, est un processus d'avortement assez différent. Il a été observé chez *Brugia malayi* Brug parasitant une souche réfractaire d'*Aë. aegypti* : 30 heures après leur ingestion les jeunes stades I commencent à dégénérer et ils meurent au bout de 2 jours (MAC DONALD, 1963). Chez *Anopheles hyrcanus sinensis* Wiedemann, les filaires de *W. bancrofti* dégénèrent au début ou au cours du stade I, puis elles meurent et sont chitinisées, un petit nombre d'entre elles atteignant cependant le stade II (FUJISAKI, 1959). D'autre part, *D. immitis* arrive fréquemment au stade II chez *A. quadrimaculatus*, mais elle dégénère ensuite dans les tubes de Malpighi à partir du 15^e jour, tandis que sa structure interne se vacuolise (KARTMAN, 1953 a).

● Chez d'autres moustiques réfractaires, un développement dit « retardé », auquel s'ajoute souvent une dégénérescence plus ou moins nette, empêche la filaire d'achever efficacement son cycle parasitaire. Ainsi, chez *Anopheles hyrcanus nigerrimus* Giles, la majorité des filaires de *W. bancrofti* sont au bout de 10 jours des filaires « de 5 jours » et elles manifestent facilement des signes de dégénérescence (RAO et IYENGAR, 1932).

● Enfin, le processus d'encapsulation de la filaire à différents stades de son développement, par le moustique non vecteur, est non seulement un processus direct de défense de l'hôte mais il peut aussi être considéré comme un processus d'avortement de la filaire. C'est le cas des filaires de *W. bancrofti* chez *C. p. fatigans* (souche Calcutta), ou de celles de *W. malayi* chez *Mansonia annulifera* Theobald (souche Calcutta), qui sont encapsulées aux stades I et II (IYENGAR 1956). Rappelons aussi que *W. bancrofti* parasitant 7 espèces de moustiques de Guyane Britannique est éliminée par encapsulation, dans des proportions variables suivant les espèces, au stade microfilaire, à la forme saucisse ou au stade II (BURTON, 1963).

Nous allons essayer de dégager l'originalité du processus observé dans ce travail.

● Chez *M. uniformis*, la filaire de *W. bancrofti* ne demeure pas figée au stade microfilaire après s'être installée dans les muscles du moustique ; elle continue à évoluer.

Cependant, en dépit de l'évolution de ses dimensions, la filaire ne progresse pas à l'intérieur du stade I, puisqu'aucune organogenèse ne se produit ; de ce fait, son évolution dans les muscles de cet hôte ne consiste pas en un développement qui serait bloqué à un stade ultérieur ; et il ne s'agit pas davantage d'un simple retard dans le développement, comme tendrait à le faire croire l'évolution de ses dimensions.

● L'évolution de la filaire consiste essentiellement en une dégénérescence qui commence, dès la phase intramusculaire, tout au début du stade I, sans qu'aucune filaire n'esquisse le moindre développement.

En ceci son évolution serait plutôt à rapprocher du processus d'avortement observé chez *B. malayi* parasitant une souche réfractaire d'*Aë. aegypti* où les filaires dégénèrent en 2 jours ; il en diffère cependant car les parasites ébauchent un développement durant les 30 premières heures. On pourrait également la rapprocher du processus observé chez *A. hyrcanus sinensis* parasité par *W. bancrofti* ; les filaires dégénèrent au début ou au cours du stade I puis meurent et sont ensuite souvent chitinisées ; mais un petit nombre de filaires atteint le stade II, ce que nous n'avons jamais observé.

• Enfin on peut considérer comme un caractère original du mode d'avortement de *W. bancrofti* chez *M. uniformis* le fait qu'au processus essentiel de dégénérescence de la majorité des filaires, s'ajoute un processus d'encapsulation qui en élimine 5 % environ.

— D'autre part nos observations soulèvent le problème des causes profondes de l'évolution abortive de *W. bancrofti* chez *M. uniformis*. Comme l'ont dit KARTMANN en 1953 à propos de *D. immitis*, puis DESOWITZ et CHELLAPAH en 1965 à propos de *B. pahangi*, les microfaires et les stades I montrent, vis-à-vis de leurs hôtes, une étroite dépendance de spécificité dont la base est certainement génétique. Mais comment cette incompatibilité se matérialise-t-elle au niveau de la physiologie de l'hôte et du parasite et au niveau de leurs interactions ? Quelle est la nature exacte et le rôle précis de ce « facteur d'incompatibilité » ? La résolution de ces problèmes revient aux généticiens et aux biochimistes.

Cependant nous pouvons faire quelques remarques à ce propos. Nous pensons que la cause primordiale de l'avortement de *W. bancrofti* chez ce *Mansonia* pourrait résider en l'impossibilité pour la filaire d'organiser sa structure interne ; il en résulterait pour elle l'incapacité de se nourrir du tissu musculaire qui l'héberge et ce pourrait être une cause directe de l'échec de son développement.

On peut en effet remarquer que le processus d'histolyse du muscle est accompli aussi bien par le tout jeune stade I encore dépourvu de structure digestive bien différenciée chez *A. gambiae*, que par la filaire logée dans les muscles du *M. uniformis* ; tous deux détruisent effectivement le tissu musculaire, comme le prouvent la présence d'aggrégats de mitochondries aux extrémités des loges et l'agrandissement de ces mêmes loges. Cette destruction semblerait donc ne faire appel à aucune structure digestive de la filaire et par conséquent pourrait se produire par l'intermédiaire d'une substance lysante telle qu'un enzyme, diffusée par la filaire ; elle pourrait donc être considérée comme une sorte de digestion externe, qui représenterait la première phase de la nutrition de la filaire. Ces observations diffèrent de celles qui concernent la destruction

des muscles par *D. viteae* chez l'ornithodore (BAIN, 1967) puisque dans ce cas une petite vacuole précéphalique semble indiquer que les enzymes protéolytiques sont émis par la région buccale.

Il serait ensuite possible d'envisager que, chez *M. uniformis*, la filaire qui demeure dépourvue de structure digestive, soit alors incapable d'utiliser une partie du matériel musculaire libéré par la substance digestive lysante. Il pourrait s'agir en l'occurrence des mitochondries du muscle, ou encore de la matière même des fibrilles musculaires liquéfiée par cette substance, comme l'ont suggéré SALT, puis BECKETT et BOOTHROYD (loc. cit.) ; ces derniers ont en effet montré que l'ingestion des mitochondries se fait par l'intermédiaire du tube digestif de la filaire au cours du dernier tiers de son développement intramusculaire ; d'autre part, l'ingestion, par diffusion, d'un éventuel matériel fibrillaire liquéfié serait rendue difficile chez une filaire dont la cuticule, épaissie par le vieillissement et l'absence de mue, aurait perdu de sa perméabilité, comme on l'a observé ci-dessus.

— Notons à ce propos la divergence des théories sur les dommages provoqués dans les muscles des insectes par les filaires. NOE (1901) avec *D. immitis* et STEWARD (1933) avec *Onchocerca cervicalis* parlent d'une destruction partielle du tissu hébergeant les filaires tandis que LEBIED (1950) avance au contraire l'hypothèse surprenante de la phagocytose des microfaires d'*Onchocerca volvulus* par les fibres musculaires de la simule. CHABAUD (1954) considère que *Dipetalonema viteae* creuse « de véritables galeries dans les muscles » ; mais, plus récemment, BECKETT et BOOTHROYD (1969) affirment que les lésions produites ne consistent qu'en de « minimes changements histologiques » tels qu'un certain agrandissement des noyaux du muscle et l'aggrégation de mitochondries musculaires ; ils ajoutent que la formation du « tunnel » est due à une « simple disjonction de myofibrilles adjacentes » et non à la « digestion de quelque élément de la structure musculaire ». Cependant remarquons qu'ils ont observé, vers 8 à 9 jours après le repas, autour des amas de mitochondries, un liquide qui pourrait être, selon eux, soit un produit de sécrétion du tube digestif de la filaire, soit un produit de la dissolution de la matière même des fibrilles musculaires. Nous pensons que, s'il y a augmentation de la taille des noyaux et écartement de myofibrilles, il y a surtout disparition de nombreuses myofibrilles ainsi que des lésions importantes et probablement irréversibles dans le muscle parasité.

En cela nos observations rejoignent celles qui ont été faites chez *O. tartakowskyi* (BAIN, 1967) parasité par *D. viteae*. Il faut cependant souligner que, dès le stade I, la filaire de *W. bancrofti* détruit en les histolysant les fibres musculaires de l'*A. gambiae* tandis

que, chez l'ornithodore infesté par les premiers stades de *D. viteae*, les muscles parasités ne se distinguent pas, histologiquement, des muscles sains.

Précisons enfin que, lorsqu'une filaire de *W. bancrofti* arrive à la fin de son développement intramusculaire chez *A. gambiae*, la portion du muscle qu'elle a détruite représente une fraction non négligeable du volume total de ce muscle ; les lésions s'étendent sur une grande partie de la longueur du muscle et, en largeur, elles portent sur un grand nombre de myofibrilles, tandis que chez l'ornithodore seuls les petits muscles sont détruits par *D. viteae*, les grands muscles ne subissant que des destructions localisées et minimes.

— Quant aux encapsulations, si toutes les opinions s'accordent pour les considérer comme des réactions de défense de l'hôte à l'égard de la filaire, il semble que la question de l'origine, de la matière et de la formation de la capsule ne soit pas bien éclaircie ; quelle est la nature chimique de la substance encapsulante ? Comment se forme-t-elle et d'où provient-elle ?

Certains auteurs parlent aussi bien de « mélanisation », qui est une pigmentation, et que de « chitinisation » à propos des encapsulations, ainsi SCHACHER et KHALIL (1968) pour les encapsulations des différents stades de *F. philistinae* ; d'autre part, ESSLINGER (1962) parle de « l'encapsulation pigmentée » des microfilaries de *B. pahangi* chez *A. quadrimaculatus* ; mais IYENGAR (1956), par contre, assimile encapsulation à chitinisation dans ses observations sur les stades I et II de *W. bancrofti* chez *C. p. fatigans* et *Mansonia annulifera* Theobald ; FUJISAKI (1959) emploie le terme de chitinisation pour les stades I de *W. bancrofti* chez *A. hyrcanus* ; enfin EWERT (1963) distingue la pigmentation des microfilaries de *B. pahangi* de l'encapsulation proprement dite des stades jeunes de cette filaire.

Reportons-nous aux 2 processus d'encapsulation que nos observations nous ont fait distinguer. Dans le cas où la filaire se trouve partiellement entourée d'un capuchon ou d'un manchon noir qui la recouvre ensuite complètement, l'encapsulation ressemble davantage au dépôt d'un pigment sur la filaire et dans ce cas il pourrait s'agir de mélanine. Par contre, lorsque la filaire se trouve enveloppée d'une membrane, d'abord fine et transparente puis épaisse et colorée, la matière de la capsule pourrait être de la chitine ; cette chitine s'imprégnerait peut-être de mélanine, comme c'est le cas dans l'exocuticule de l'insecte. Rappelons le rôle indispensable de l'oxygène dans ces phénomènes de mélanisation et de chitinisation ; or nous avons vu que l'apport d'oxygène est assuré par les trachées et trachéoles que nous avons fréquemment remarquées au voisinage des encapsulations.

Après de nombreuses et précises observations et expérimentations, SALT (1963) distingue, dans le processus global d'une encapsulation, deux phénomènes

successifs : tout d'abord une réaction hémocytaire massive à la suite de laquelle la filaire est enveloppée d'une mince capsule transparente, sorte de tissu syncytial, puis une réaction pigmentaire, indépendante de l'encapsulation proprement dite, au terme de laquelle la capsule se trouve pigmentée par de la mélanine provenant de l'oxydation de la tyrosine par la tyrosinase de l'insecte. Il nous faut préciser que, si parfois nous avons remarqué des hémocytes au voisinage ou autour de quelques filaires en cours d'encapsulation, cependant nous n'avons pas pu observer ces importantes réactions hémocytaires ; notons de plus que SCHACHER et KHALIL leur attribuent un rôle phagocytaire lors de l'encapsulation des filaires de *F. philistinae* logées en un point anormal du moustique *C. p. molestus*.

— D'autre part nos résultats confirment qu'il existe, entre les exigences métaboliques de la filaire qui se développe et le type de tissu qu'elle choisit de parasiter, une étroite association qui se manifeste par une spécificité tissulaire de la filaire (LAVOPIERRE, 1958).

— Ajoutons enfin que, si un très bon vecteur de *W. bancrofti* comme *A. gambiae* n'a pas encapsulé une seule des 166 filaires observées ici, par contre OMORI (1966) a remarqué des chitinisations et quelques phénomènes de dégénérescence chez des filaires de *W. bancrofti* hébergées par leur meilleur vecteur japonais, *C. p. pallens* ; EWERT (1963) considère même que, les encapsulations de *B. pahangi* existant aussi bien chez les espèces bonnes vectrices que mauvaises vectrices, ces phénomènes ne peuvent servir à apprécier les potentialités vectrices d'un moustique. Cependant nous nous rangeons à l'avis de KARTMANN (1953) selon lequel ces encapsulations et la dégénérescence des filaires doivent être considérées comme des signes caractéristiques de la non-capacité vectrice d'un moustique et sont probablement déterminées en partie par la constitution génétique de l'hôte.

Nous concluons avec SALT (1963) en disant que les réactions de défense vis-à-vis d'une filaire sont très fréquentes chez les hôtes réfractaires mais que, chez les bons vecteurs, ces réactions peuvent se produire ou bien être inexistantes, comme cela fut le cas lors de nos expérimentations sur *A. gambiae* et *W. bancrofti*.

— Rappelons enfin que les potentialités vectrices d'une espèce culicidienne sont sujettes à d'importantes variations en fonction de conditions extérieures comme la température (NAKAMURA 1964, BRUNHES 1969).

— Les résultats de cette étude histologique permettent également d'apporter quelques éclaircissements sur la transmission de la filariose de Bancroft à Madagascar :

- *M. uniformis* avait été soupçonné de jouer un rôle dans la transmission de la filariose humaine ; nous avons vu ici qu'il ne permet pas le développement de

W. bancrofti. Ce résultat de laboratoire est confirmé par nos études de terrain ; en effet, sur 4 865 *M. uniformis* capturés dans un foyer filarien malgache, 45 moustiques étaient porteurs de stades III, dont 42 du genre *Setaria*, 1 du genre *Dirofilaria* et 2 de genres inconnus.

- d'autre part, les lésions observées dans les muscles du vol d'*A. gambiae* sont très importantes et affectent vraisemblablement la puissance du vol des femelles parasitées.

- ces lésions musculaires rendent probablement les femelles les plus infestées moins aptes à survivre et contribueraient ainsi à provoquer la disparition des femelles les plus dangereuses.

7. CONCLUSIONS.

— Des infestations expérimentales de plusieurs espèces culicidiennes avaient montré qu'à Madagascar *A. gambiae* est très bon vecteur de la filaire *W. bancrofti*, tandis que le cycle parasitaire de cette filaire ne peut s'effectuer chez *M. uniformis*.

— Nous avons pu voir, grâce à l'histologie, que *M. uniformis* ne peut transmettre la filariose de Bancroft à Madagascar car la filaire avorte au cours de son évolution chez ce moustique selon un processus dont nous avons essayé de mettre en évidence la nature et de dégager les caractères les plus originaux :

- Dans les heures qui suivent le repas infestant, les microfilaries ingérées par *M. uniformis* suivent la même évolution que chez *A. gambiae* et se logent normalement à l'intérieur de ses muscles thoraciques.

- Nous considérons que l'évolution des parasites diverge alors : tandis que chez l'anophèle la filaire continue à se développer, chez le *Mansonia* la phase intramusculaire marque le début de son évolution abortive. Le processus de cet avortement consiste en une lente dégénérescence intramusculaire de toute filaire du début du stade I.

- Cette dégénérescence se manifeste d'abord par une désorganisation interne, puis par une vacuolisation et elle semble s'achever par un ratatinement de la filaire. De plus, l'absence de toute organogenèse ainsi que l'évolution continue de ses proportions et de sa taille vers celles de la forme saucisse ou présaucisse constituent 2 phénomènes remarquables de cet avortement.

— D'autre part, premier aspect des interactions entre le parasite et l'hôte, nous avons vu que la filaire de *W. bancrofti* détruit les fibres musculaires des 2 moustiques considérés. Il est remarquable que cette histolyse puisse se produire chez *M. uniformis* durant les premiers jours de l'évolution abortive de la filaire

alors qu'aucune organogenèse ne s'est effectuée, mais, par suite de sa dégénérescence, elle ne provoque que des lésions musculaires restreintes chez le moustique non-vecteur. Par contre, le développement de la filaire chez *A. gambiae* entraîne des lésions musculaires considérables qui handicapent probablement le vol des femelles très infestées.

— Les réactions du moustique hôte vis-à-vis de la filaire constituent l'autre aspect des interactions que nous avons observées. Le moustique réagit au parasite en l'encapsulant et nous pensons que toutes ces encapsulations expriment des réactions de défense vis-à-vis du parasite. Elles se produisent lorsque les filaires se logent dans un tissu autre que celui qui leur est spécifiquement réceptif, indépendamment de la capacité vectrice de l'hôte, ou bien lorsque les filaires parasitent un moustique réfractaire, indépendamment de la nature du tissu parasité.

De plus, nous considérons les encapsulations à l'intérieur des muscles thoraciques du *Mansonia* comme un processus d'appoint par lequel 5 % environ des filaires sont éliminées.

— Enfin, les résultats de ce travail confirment et complètent ceux des études de terrain relatives à la transmission de la filariose de Bancroft, notamment en ce qui concerne l'impossibilité de transmission de la filariose humaine par *M. uniformis* à Madagascar ainsi que la réduction de la puissance de vol et de la capacité de survie des femelles parasitées d'*A. gambiae*.

Manuscrit reçu au S.C.D. le 4 mars 1972.

REMERCIEMENTS.

Le Professeur POSSOMPES, qui dirige le laboratoire de Physiologie des Insectes à la Faculté des Sciences de Paris, a bien voulu mettre à notre disposition son photomicroscope et son laboratoire photographique. Qu'il nous permette de lui manifester une fois encore toute notre reconnaissance.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAIN (O.), 1967. — Biologie larvaire et mécanisme de transmission de la filaire *Dipetalonema viteae*. *Ann. Parasit.*, **42** (2), 211-267.
- BAIN (O.) et PHILIPPON (B.), 1969. — Mécanisme de la traversée de la paroi stomacale par les microfilaries chez *Anopheles stephensi* et *Simulium damnosum*. *Ann. Parasit.*, **45** (3), 295-320.
- BECKETT (E. B.) and BOOTHROYD (B.), 1969. — Mode of nutrition of the larvae of the filarial nematode *Brugia pahangi*. *Parasitology*, **60** (1), 21-26.

- BHATTACHARYA (N. C.) and CHOWDHURY (A. B.), 1964. — Preliminary observations on the development of microfilariae of *Wuchereria bancrofti* in vitro. *Bull. Calcutta School trop. Med.*, **12** (2), 54-55.
- BHATTACHARYA (N. C.), ROOZEBOOM (L. E.) and CHOWDHURY (A. B.), 1966. — Susceptibility of *Aedes aegypti*, Lagos strain, to infection with *Wuchereria bancrofti*. *Bull. Calcutta School trop. Med.*, **14** (3), 78-9.
- BRYGOO (E. R.), 1963. — Contribution à la connaissance de la parasitologie des caméléons malgaches. *Ann. Parasit. hum. comp.*, **38** (2), 149-336; **38** (4), 525-739.
- BRUNHES (J.), 1969. — Epidémiologie de la filariose de Bancroft à Madagascar. Influence des conditions climatiques sur la transmission de la maladie. *Annales de l'Univ. de Madagascar (Médecine)*, **2**.
- BRUNHES (J.), 1969. — Nouvelles données sur les vecteurs de *Wuchereria bancrofti* à Madagascar. Influence de la température sur la vitesse de développement du parasite et sur le taux d'infestation du moustique. *Bull. Org. mond. Santé*, **40**, 763-769.
- BRUNHES (J.), RABENIRAINY (L.) et RAVAONJANAHARY (C.), 1969. — Transmission expérimentale de la filariose de Bancroft : comparaison de la capacité vectrice d'*Anopheles gambiae* A et B. *C.R. Soc. Biol.*, **163**, 1009-1011.
- BRUNHES (J.), RAJAONARIVELO (E.) et NELSON (G. S.), 1972. — Epidémiologie de la filariose de Bancroft à Madagascar. II. Recherches sur *Wuchereria vaucei*, Galliard, 1959 et étude morphologique comparée des souches malgache et comorienne de *Wuchereria bancrofti*, Cobbold, 1877. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, **X**, (3), 191-203.
- BURTON (G. J.), 1963. — Encapsulation of *Wuchereria bancrofti* in seven species of mosquitoes in British Guiana. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, **12** (6), 870-876.
- CHABAUD (A. G.), 1954. — Sur le cycle évolutif des Spiruidés et de nématodes ayant une biologie comparable : valeur systématique des caractères biologiques. *Ann. Parasit. hum. comp.*, **29** (42), 206-358.
- CHRISTOPHERS (S. R.), 1960. — *Aedes aegypti*, the yellow fever mosquito. Its life history, bionomics and structure. Cambridge, at the university press.
- DESOWITZ (R. S.) and CHELLAPAH (W. T.), 1965. — Fate of transplanted thirdstage *Brugia pahangi* larvae in normally susceptible and non-susceptible mosquito hosts. *J. Parasit.*, **51** (2), 195-199.
- ESSLINGER (J. H.), 1962. — Behaviour of microfilariae of *Brugia pahangi* in *Anopheles quadrimaculatus*. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, **11**, 749-58.
- EWERT (A.), 1963. — Studies on host-parasites interactions influencing the capacity of mosquitoes to transmit filarial infection. *Ph. D., Thesis*, Tulane University, order n° 64-5921, 109 p.
- FUJISAKI (T.), 1959. — Supplement to the finding on the susceptibility of Japanese mosquitoes to *Wuchereria bancrofti* — II. — On the susceptibility of *Anopheles hyrcanus sinensis* and *Culex tritaeniorhynchus*. *Endem. Dis. Bull. Nagasaki Univ.*, **1**, 278-287.
- GRJEBINE (A.) et BRYGOO (E. R.), 1958. — Contribution à l'étude des moustiques de la région filarienne de la côte sud-est de Madagascar. *Mémoires de l'Inst. Scient. de Madagascar*. Série E, **9**.
- IYENGAR (M. O. T.), 1956. — Développement de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold) et de *Wuchereria malayi* (Brugia) — 1^{re} partie. *Ann. Parasit. hum. comparée*, **31** (1-2), 99-138.
- IYENGAR (M. O. T.), 1959. — Stades de développement des filaires chez les moustiques. *Commission du Pacifique Sud. Doc. Techn.*, Nouméa, **104**.
- KARTMAN (L.), 1953. — Factors influencing infection of the mosquito with *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856). *Exp. Parasit.*, **2**, 27.
- KARTMAN (L.), 1956. — Notes on the encapsulation of *Dirofilaria immitis* in the mosquito *Aedes aegypti*. *Am. J. vet. Res.*, **17**, 65, 810-12.
- KOBAYASHI (H.), 1940. — On the development of *Microfilaria bancrofti* in the body of the mosquito (*Culex fatigans*). *Acta jap. med. trop.*, **2**, 63-85.
- LAVOPIERRE (M. M. J.), 1958 b. — Studies on the host-parasite relationship of filarial nematodes and their arthropod hosts — II. The arthropod as a host to the nematode : a brief appraisal of our present knowledge, based on a study of the more important literature from 1878 to 1957. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **52**, 326-345.
- MACDONALD (W. W.), 1963. — Development of *B. malayi* in the thorax of susceptible and refractory *Aedes aegypti*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **57** (1), 3.
- NAKAMURA (Y.), 1964. — Experimental studies on the role of *Aedes togoi* in the transmission of bancroftian filariasis. — 2 — On the development of filariae in *Aedes togoi* and effects of their parasitism on the mosquito. *End. Dis. Bull. Nagasaki Univ.*, **6** (2), 113-124.
- OMORI (N.), 1957. — Experimental studies on the role of the house mosquito, *Culex pipiens pallens*, in the transmission of bancroftian filariasis. 1. —

- Development, distribution and longevity of filariae in mosquitoes kept at 27° C and 25° C. *Nagasaki Igakkai Zasshi. Univ.*, **32** (11), 1434-1445.
- OMORI (N.), 1958 a. — Experimental studies on the role of the house mosquito, *Culex pipiens pallens*, in the transmission of bancroftian filariasis. 2 — On the pattern of spatial distribution of microfilariae in the peripheral blood stream of the carrier. *Nagasaki Igakkai Zasshi. Univ.*, **33** (8), 1045-53.
- OMORI (N.), 1965. — On the familial infection of bancroftian filariasis due to the house mosquitoes. *Endem. Diss. Bull. Nagasaki Univ.*, **7** (1), 29-37.
- OMORI (N.), 1966. — On the role of Japanese mosquitoes, especially *Culex pipiens pallens*, in the transmission of bancroftian filariasis. *Progress of medical Parasitology in Japan*, **3**, 471-507.
- RAMACHANDRAN (C. P.), JIMENEZ (F.) and EDESON (F. F. B.), 1961. — Early stages in the development of *Brugia malayi* in different species of mosquitoes. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **55** (1), 2.
- RAO (S. S.) and IYENGAR (M. O. T.), 1932. — Experimental infection of some Indian mosquitoes with *Wuchereria bancrofti*. *Indian J. Med. Res.*, **20**, 25-34.
- LEBIED (B.), 1961. — Introduction à la théorie de l'évolution intrasyncytiale des filariata. I. Sur la phagocytose des microfilaires d'*Onchocerca volvulus* par les fibres musculaires thoraciques chez *Simulium*. *Riv. di Parassit.*, **92** (2), 107-136.
- ROOK (H. DE), 1957. — An investigation on filariasis in the Beran region. *South Pacific Comm. Techn. Paper*, **105**, 19 pp.
- SALT (G.), 1955. — Experimental studies in insect parasitism. VIII — Host reactions following artificial parasitization. *Proc. Roy. Soc. London, B.*, **144**, 380-398.
- SALT (G.), 1956. — Experimental studies in insect parasitism. IX — The reactions of a stick insect to an alien parasite. *Proc. Roy. Soc. London, B.*, **146**, 93-108.
- SALT (G.), 1963. — The defence reactions of insects to metazoan parasites. *Parasitology*, **53**, 527-642.
- SCHACHER (J. F.) and KHALIL (G. M.), 1968. — Development of *Foleyella philistinae* Schacher et Khalil, 1967 (Nematoda: Filarioidea) in *Culex pipiens molestus* with notes on pathology in the arthropod. *The Journal of Parasit.*, **54** (5), 869-878.