

DÉVELOPPEMENT DE LA FILAIRE *LITOMOSOIDES GALIZAI* CHEZ L'ACARIEN VECTEUR¹

M. DIAGNE*, G. PETIT*, C. SEUREAU**, G. BAIN*

RÉSUMÉ. *L. galizai* se développe chez le Gamaside *Bdellonyssus bacoti* en 11 jours à 28° ; les mues I et II ont lieu 5 et 7 jours après le repas. L'analyse du développement effectuée chez les acariens femelles montre que, comme pour la filaire de laboratoire, *L. sigmodontis*, le tissu interstitiel est le principal organe parasité ; les microfilaires pénètrent dans les deux types de cellules qui le constituent : cellules adipeuses et cellules sécrétrices (ces dernières non décrites jusqu'à présent). Les filaires se développent aussi dans les glandes salivaires, la paroi digestive, les enveloppes fibreuses de l'appareil génital et, exceptionnellement, les glandes coxales et les glandes vaginales. Les filaires provoquent la formation de syncytiums ; les larves qui restent dans l'hémocèle n'évoluent pas.

Mots-clés : Onchocercidae. Cycle. Morphogenèse. *Bdellonyssus bacoti*. Histopathologie.

Development of the filaria *Litomosoides galizai* in the acarian vector.

SUMMARY. *L. galizai* develops in the gamasid *B. bacoti* in 11 days at 28° C. Molts I and II take place respectively 5 and 7 days after feeding. The development is studied in the adult female mites; as for the laboratory filaria *L. sigmodontis*, the interstitial tissue is the main parasitized organ ; microfilariae penetrate in the two cell types which constitute it: adipose cells and secretory cells (these secretory cells are described here for the first time). The filariae develop also in the salivary glands, the digestive wall, the genital envelopes and exceptionally in the coxal and vaginal glands. The filariae produce the formation of syncytia. Larvae which stay in the haemocoel do not develop.

Key-words : Onchocercidae. Cycle. Morphogenesis. *Bdellonyssus bacoti*. Histopathology.

Introduction

Litomosoides galizai Bain, Petit, Diagne, 1989, parasite d'un Cricetidae du Brésil, est maintenu au laboratoire chez 2 hôtes : le mérion et, fait beaucoup plus intéressant, la souris blanche (Diagne et coll., 1989).

1. Ce travail a été effectué grâce à une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé, contrat F3/181/18 (A).

* Laboratoire des Vers, associé au C. N. R. S., Muséum National d'Histoire Naturelle, 61, rue Buffon, F75231 Paris Cedex 05.

** Laboratoire d'Histophysiologie fondamentale et appliquée, Université P.-et-M.-Curie, 12, rue Cuvier, F 75005 Paris.

Accepté le 25 août 1989.

Comme pour les autres *Litomosoides* (Bertram et coll., 1946 ; Bain et coll., 1980) le développement larvaire s'effectue expérimentalement chez l'acarien Gamasidae *Bdellonyssus bacoti* (Hirst, 1913).

Matériel et méthode

ÉLEVAGE DE *B. bacoti*

Bertram et coll. (1946) ont étudié le cycle biologique de *B. bacoti*. Les stades sont les suivants : larve hexapode, protonympe, deutonympe, adulte ; les protonymphes et les adultes seuls prennent du sang ; pour que la protonympe mue, un repas suffit si l'hôte est un rongeur adulte mais non si c'est un nouveau-né.

Au laboratoire, l'élevage a lieu à une température de 27-28° C et une humidité relative de 80-90 %. Deux fois par semaine, les acariens sont gorgés pendant la nuit sur des souriceaux sains âgés de 10 jours. Les œufs sont pondus en 24 h, les protonymphes se nourrissent au 4^e jour — puis au 7^e jour si le repas est incomplet — et les adultes sont formés 2 jours plus tard ; ceux-ci sont susceptibles de prendre plusieurs repas sanguins espacés de 3 jours.

Les *B. bacoti* sont maintenus à l'obscurité dans des erlenmeyers contenant de la sciure. Celle-ci a été traitée auparavant 2 h à 80° pour éliminer les acariens du bois et les micro-organismes, puis réhumidifiée pendant 24 h avant d'être utilisée.

Chaque semaine, des lots de 300 femelles qui viennent d'être gorgées sont triés et placés dans des erlenmeyers nouveaux.

INFESTATION DE *B. bacoti*

Pour l'infestation, ces lots sont utilisés après deux repas suivis d'une attente de 7 jours ; ainsi les adultes sont jeunes en majorité et se gorgent bien. Après le repas, les *B. bacoti* femelles, seules utilisées pour la transmission, sont triées et placées par groupe de 20 dans de très petits tubes de survie.

Le repas infectant est fait sur mérion ayant 50 000 microfilaires/10 µl de sang. Les femelles ingèrent en moyenne 550 microfilaires. 11 jours plus tard, une fraction des acariens est négative (1/5) ; les autres hébergent 1 à 17 larves, avec une moyenne de 4 larves infestantes/femelle.

Un lot témoin est gorgé sur mérion sain.

FIXATIONS

Elles sont effectuées au Carnoy pour l'histologie classique et pour les coupes semi-fines au glutaraldéhyde-osmium (voir technique in Petit et Spitalier-Kaveh, 1979). Les temps de fixation sont les suivants : 24 h, 48 h, 72 h, 5-7 jours et 9 jours après le repas.

Quelques femelles d'acariens à jeun sont aussi fixées.

Morphogenèse larvaire

La microfilaire est longue en moyenne de 77 μm et large de 5,2 μm (Bain et coll., 1989).

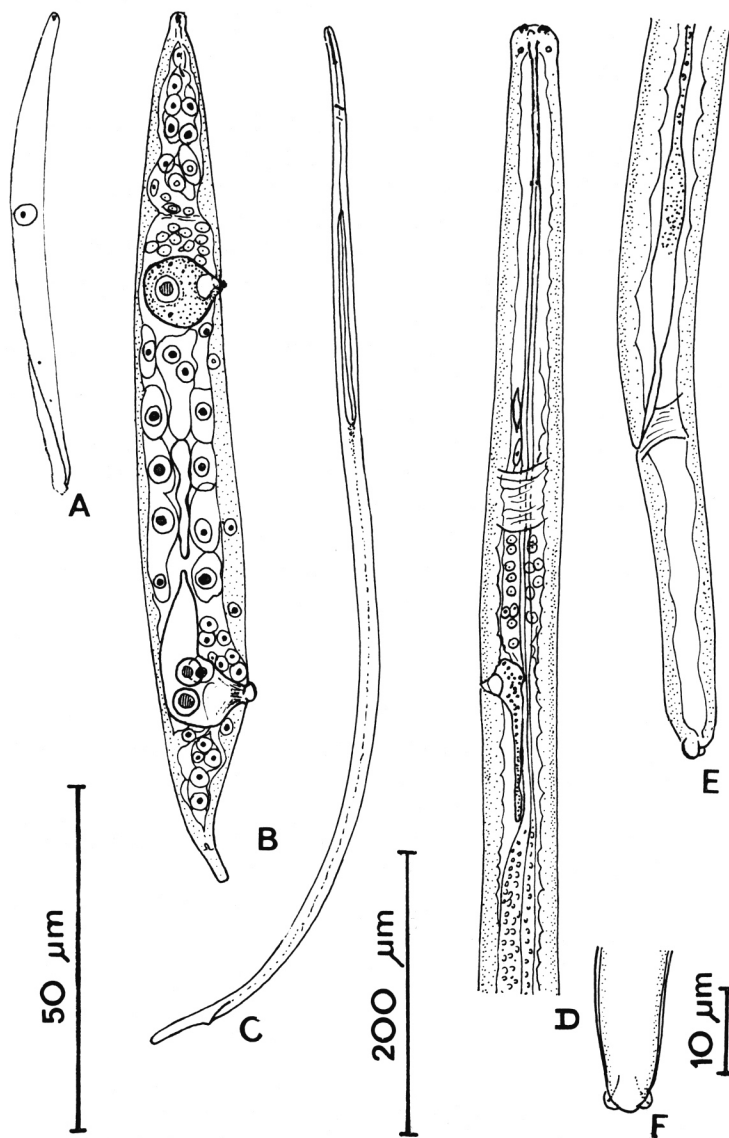


FIG. 1. — *Litomosoides galizai*; A : microfilaire sanguine, en coloration vitale; B : stade I, vue latérale droite, 4^e jour; C : larve infestante, silhouette; D : *idem*, région antérieure, vue latérale gauche; E : *idem*, région caudale, vue latérale gauche; F : *idem*, extrémité caudale, vue médiane (A, B, D, E, éch. 50 μm ; C, éch. 200 μm ; F, éch. 10 μm).

Deux jours après le repas, elle est à peine modifiée : le corps est un peu épaissi (6,5-7 μm de large) ; les noyaux de la cellule excrétrice et de la cellule R1 sont bien visibles, situés respectivement à 35 et 55 μm de l'apex.

Au 4^e jour, les ébauches du tube digestif sont individualisées, mais non encore fusionnées (*fig. 1B*) ; une des larves est longue de 138 μm et large de 15 μm ; l'anneau nerveux, le pore excréteur et l'extrémité postérieure de l'œsophage sont respectivement à 30, 42 et 68 μm de l'apex ; la queue est longue de 30 μm .

La mue I s'effectue le 5^e jour, chez des larves longues de 150-160 μm et larges de 20 μm .

La mue II s'effectue deux jours plus tard (*fig. 2A à D*) ; la larve figurée est longue de 530 μm , large de 21 μm ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 50 et 70 μm de l'apex ; capsule buccale haute de 13 μm ; œsophage long de 240 μm ; queue longue de 35 μm . L'intestin est constitué de 8-9 cellules disposées sur une seule file.

Les larves sont infestantes à partir du 9^e jour (*fig. 1C à F*) ; elles ont une constriction postcéphalique, qui n'existe pas chez le tout jeune stade III (*fig. 2E, F*), et une extrémité caudale avec 2 languettes cuticulaires arrondies où débouchent les phasmides. Leurs dimensions sont les suivantes : corps long de 755 μm (690-920 μm) et large de 17 μm (15-18 μm) ; capsule buccale haute de 24 μm (20-27 μm) ; anneau nerveux à 69 μm (64-73 μm) de l'apex ; œsophage long de 342 μm (310-398 μm) ; queue longue de 46 μm (38-58 μm).

Les développements ne sont pas tous aussi rapides et beaucoup de larves ne deviennent infestantes que le 11^e jour.

Analyse du développement chez *B. bacoti*

Une trentaine d'acariens ont été débités en coupes sériées pour étudier les tissus parasités.

Vingt-quatre heures après le repas, la grande majorité des microfilaires est en cours de digestion dans la lumière des cæca ; quelques-unes ont pénétré dans les organes mais ce n'est qu'à la 48^e h qu'elles sont presque toutes intratissulaires.

Différents organes sont parasités ; ce sont par ordre de fréquence décroissante, — le tissu interstitiel qui forme un revêtement sous-épidermique continu, plus épais dans la moitié antérieure du corps, — les glandes salivaires, — les cellules digestives, — le tissu périovarien, et beaucoup plus rarement, la glande vaginale et la glande coxale (*tableau I*).

Du fait du choix des organes et de leur position anatomique, les larves se trouvent concentrées dans la moitié antérieure du corps (*fig. 3*).

a — Développement dans le tissu interstitiel (*fig. 4*)

Le tissu interstitiel est constitué par un mélange de deux principaux types de cellules (*fig. 4A*), les unes acidophiles et claires, qui sont des cellules de réserves, les autres très basophiles, qui sont des cellules sécrétrices.

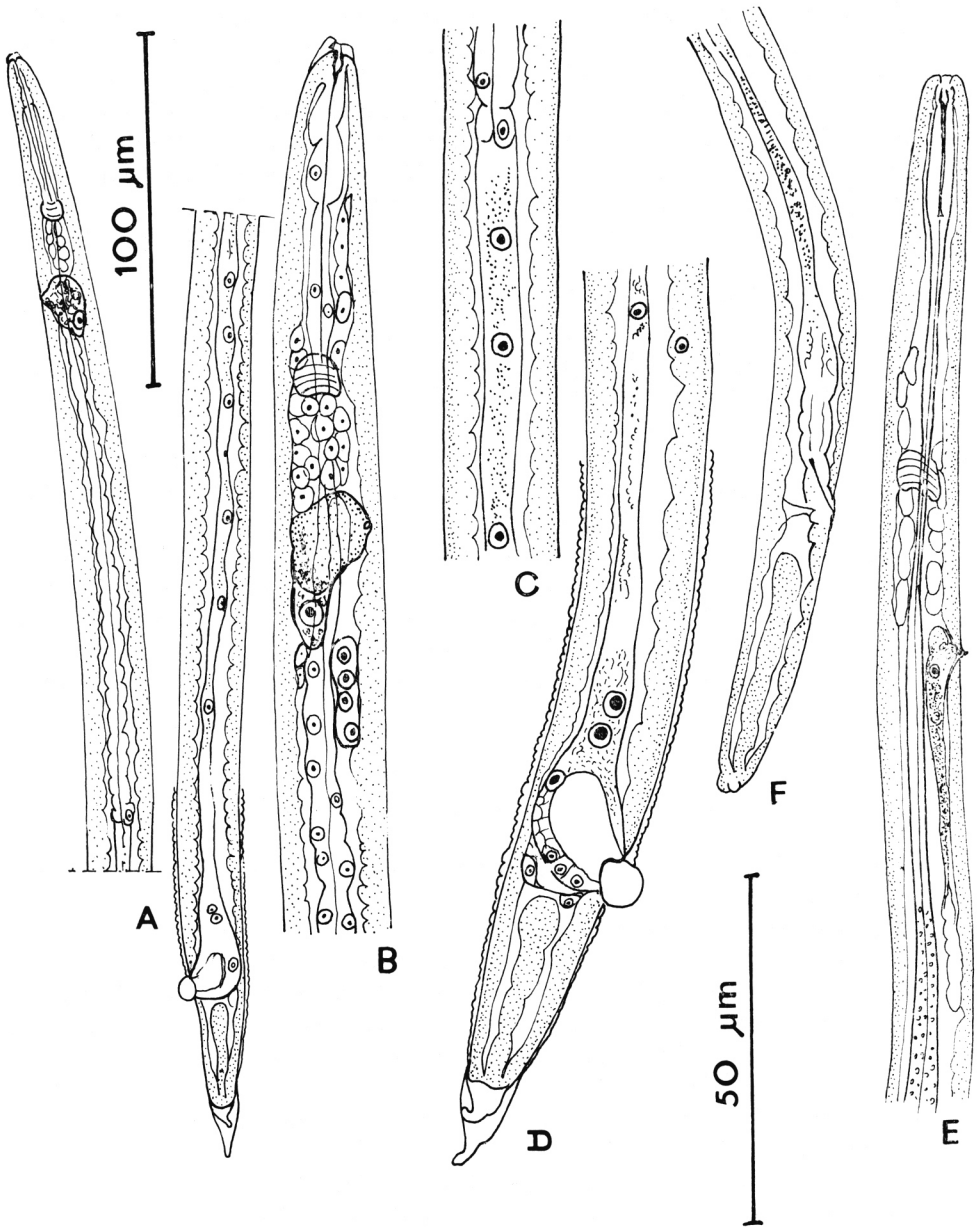


FIG. 2. — *Litomosoides galizai*; A à D : larve en mue II, 7^e jour ; A : vue d'ensemble ; B : région antérieure, vue médiane ; C : région moyenne, jonction œsophage-intestin ; D : région caudale, vue latérale droite ; E et F : larve subinfestante, 9^e jour ; E : région antérieure, vue latérale ; F : région caudale, vue latérale droite (A, éch. 100 μ m ; B, C, D, E, F, éch. 50 μ m).

TABLEAU I. — Répartition des larves de *L. galizai* dans les différents organes de *B. bacoti*. Pour chaque organe, la fréquence des larves est indiquée en % du nombre total observé chez les n acariens fixés respectivement à J1, J2 etc. Symboles : * = larves à développement anormal ; J = nombre de jours écoulés depuis le repas ; n Acar. = nombre de *B. bacoti* observés ; Hémoc. = hémocèle ; T. inters. = tissu interstitiel ; G. saliv. = glandes salivaires ; C. digest. = cellules digestives ; Env. o. l = enveloppes fibreuses des ovaires et de l'organe lyriforme ; G. vagin = glandes vaginales ; G. coxale = glandes coxales.

J	n Acar.	Hémoc.	T.inters	G.saliv	C.digest	Env.o.l.	G.vagin	G.coxale	Vitellus
J1	6	65±10	16±8	0	11±6	6±5	1±2	0	1±2
J2	8	6±6	42±12	36±11	11±7	*4±5	1±2	0	0
J3	6	*13±10	59±14	4±6	15±11	*2±4	4±6	*2±4	0
J5-7	8	*11±10	54±16	19±13	11±10	3±6	0	3±6	0
J9	3	*7±14	57±26	7±14	21±22	7±14	0	0	0

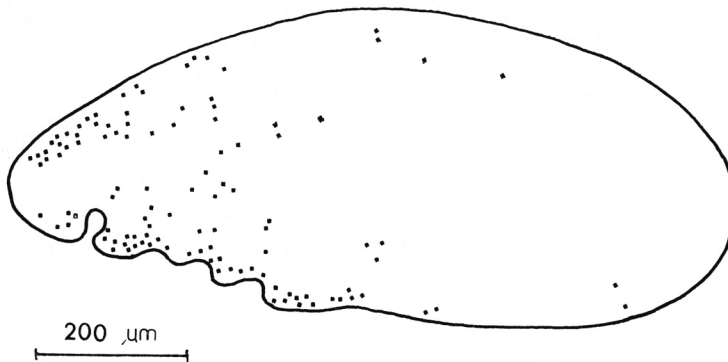


FIG. 3. — Schéma d'une coupe sagittale de *B. bacoti* indiquant la localisation des larves de *L. galizai*. Sur ce schéma sont situées toutes les larves en développement observées 24 h à 9 jours après le repas sur l'ensemble des acariens analysés (les microfilaries de la lumière du tube digestif sont exclues).

-- Chez l'acarien sain, les cellules de réserves renferment des vacuoles de taille très variable, lipidiques ou non lipidiques ; les limites cellulaires sont peu nettes ; le noyau est petit, à contour irrégulier, avec un petit nucléole souvent excentrique et un nucléospasme clair. L'effet du repas sanguin est peu sensible sur la morphologie cellulaire et se manifeste seulement à 48 h par une légère basophilie du cytoplasme.

Les cellules sécrétrices présentent un rapport nucléoplasmique élevé, un cytoplasme dense ; le noyau a un gros nucléole uniforme ; la chromatine est condensée en mottes, près du nucléole et près de l'enveloppe nucléaire. 24 h après le repas sanguin, ces cellules doublent de taille ; le cytoplasme, toujours très basophile, renferme maintenant de petites vacuoles ; le nucléoplasme est moins dense et le nucléole a un centre clair. A 48 h, ces cellules diminuent de taille pour atteindre, à 72 h, l'aspect initial des cellules de l'acarien à jeun.

— Les microfilaries pénètrent dans les deux types de cellules, mais plus

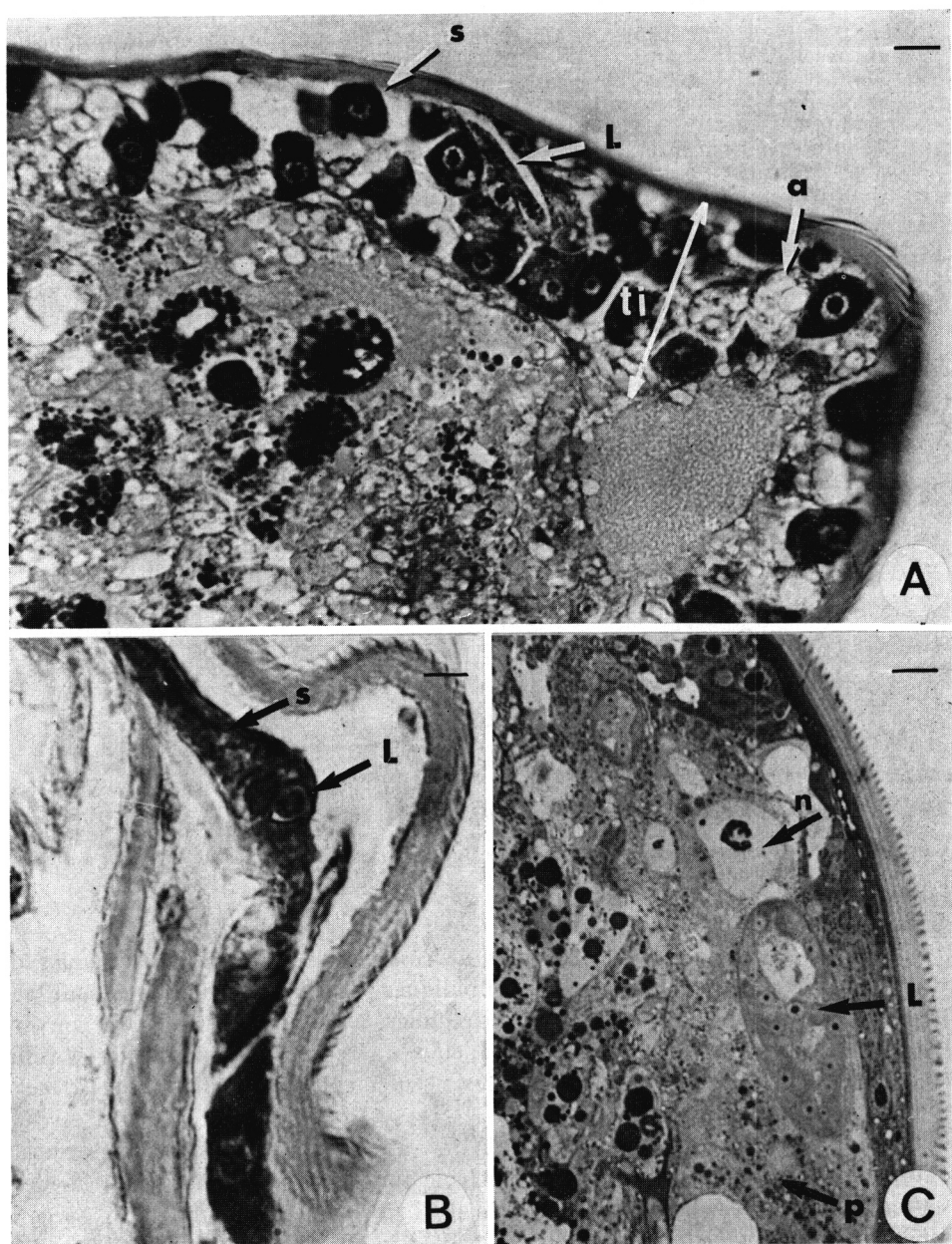


FIG. 4. — *Litomosoides galizai* dans le tissu interstitiel (ti) de *Bdeleonyssus bacoti*; A : vue d'ensemble de ce tissu, parasité par une larve (L) de 2 jours, montrant les 2 types de cellules, sécrétrices (s) et adipeuses (a); B : larve de 2 jours dans une cellule sécrétrice; C : larve de 5 jours dans le syncytium parasité (p) contenant des noyaux hypertrophiés (n) (une barre = 10 μ m).

souvent dans les cellules de réserves. Dès le troisième jour, le tissu qui entoure la larve est modifié et il devient difficile de reconnaître le type de cellules parasité et les limites cellulaires ; 4 à 12 gros noyaux sont groupés au voisinage de la larve dans une structure de type syncytial ; le cytoplasme se charge de granulations basophiles de différentes tailles, bien visibles sur coupes semi-fines (fig. 4C).

b — *Développement dans les glandes salivaires (fig. 5A)*

— Les acini salivaires sont constitués de grandes cellules renfermant de nombreux granules acidophiles qui compriment le noyau lui donnant ainsi un aspect étoilé ; le nucléole est énorme ; le nucléoplasme est très basophile chez l'acarien à jeun et devient clair 24 h après la prise du repas.

— Les modifications du tissu parasité sont tardives (9^e jour) ; quelques noyaux (4) sont groupés près de la filaire ; ils sont légèrement hypertrophiés, avec un nucléoplasme très clair, un gros nucléole à centre clair, une enveloppe nucléaire formant des replis ; le hyaloplasme est finement granuleux et basophile près de la larve.

c — *Développement dans le tube digestif (fig. 5B)*

— L'épithélium digestif subit des modifications importantes à la suite du repas sanguin ; une partie des cellules phagocyte les hématies, augmente de volume et finit par tomber dans la lumière cæcale (Reichenow, 1920 ; Hughes, 1952).

— A peu près une larve par acarien parasite la paroi digestive 24 h après le repas et ce chiffre se maintient les jours suivants ; quelques rares larves ont un développement retardé. Au troisième jour, le tissu parasité est détaché du reste de la paroi digestive et contient 3 à 9 noyaux associés à la filaire. A J9, le syncytium parasité est complètement dégénéré et la larve devient libre dans la lumière du tube digestif, même si le développement ne paraît pas terminé.

Aucune larve n'a été vue dans le mycétome, cellules stomacales spécialisées, chargées de bactéries.

d — *Développement dans les glandes coxales*

Ce sont deux glandes allongées, qui s'étendent ventralement de la base des pattes postérieures à l'arrière de l'ovaire ; chacune d'elle est un tube à lumière étroite et à paroi épaisse ; les noyaux sont rares, le cytoplasme est acidophile et très finement grenu.

A 72 h, le tissu parasité n'est pas modifié, mais dans l'unique cas d'une larve de 5-7 jours, on trouve près du parasite deux noyaux dilatés, au nucléoplasme très clair.

e — *Développement dans les enveloppes fibreuses de l'appareil génital et dans les glandes vaginales (fig. 5C et D).*

L'ovaire et l'organe lyriforme, annexe génitale qui pourrait avoir un rôle dans la vitellogenèse (Michael, 1892), sont entourés d'une enveloppe fibreuse dans

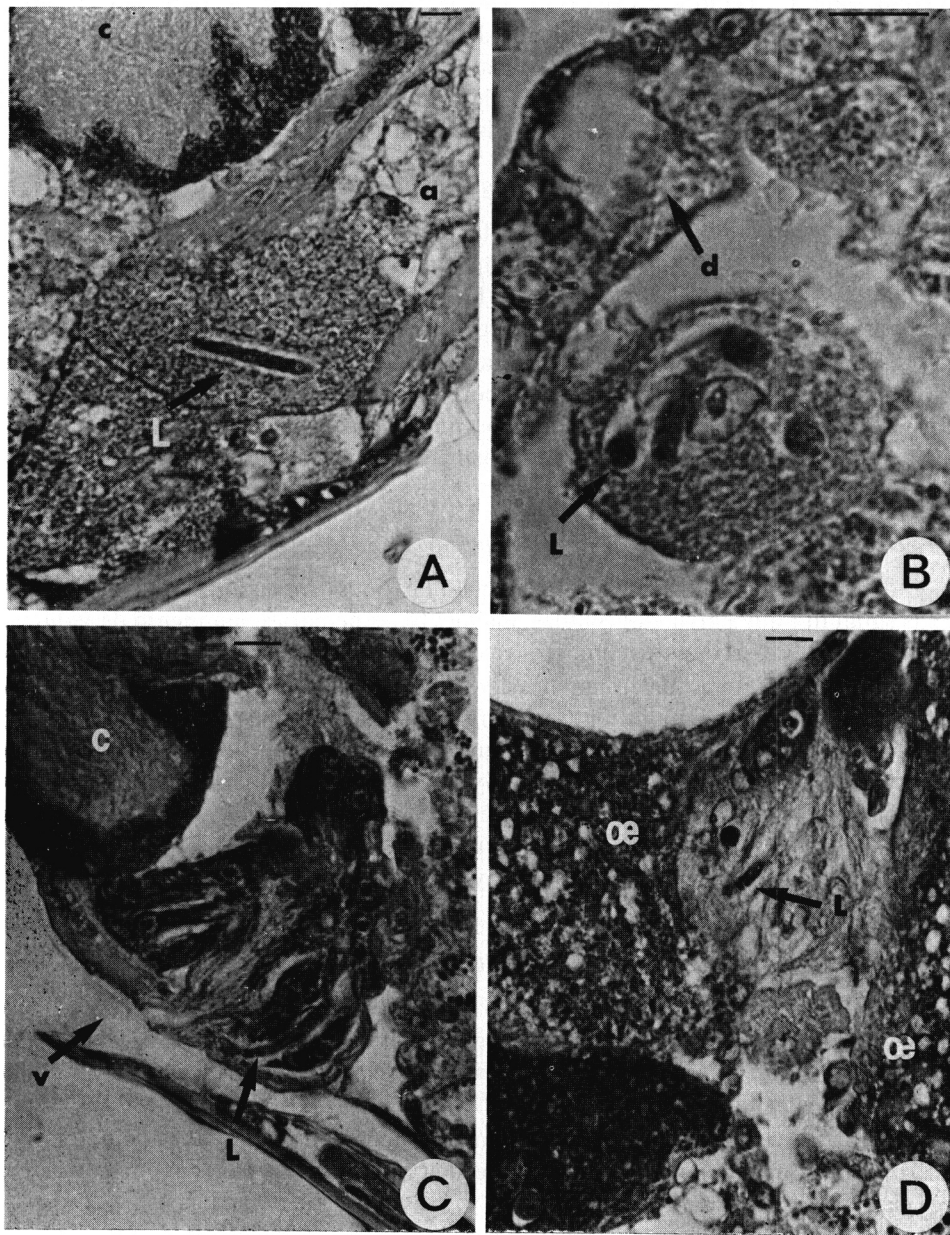


FIG. 5. — *Litomosoides galizai* dans différents organes de *Bdellonyssus bacoti*. A : glandes salivaires ; B : paroi digestive ; C : paroi de la glande vaginale ; D : enveloppe périovarienne. A, C, D, à J2 ; B, à J3. Symboles : a, cellules adipeuses ; c, cerveau ; d, cæcum digestif ; L, larve ; œ, œuf ; v, vagin (une barre = 10 μ m).

laquelle on observe des noyaux de différentes tailles. Le développement de la larve dans cette zone n'entraîne aucune modification histologique, même à 9 jours.

La glande vaginale est constituée par une paroi cellulaire fortement basophile entourant une lumière qui débouche dans le vagin ; quelques larves se développent dans cette paroi. Une microfilaire a été observée dans le vitellus d'un œuf à 24 h.

f — *Développement dans l'hémocèle*

Les larves trouvées dans l'hémocèle n'évoluent pas.

Discussion et conclusion

Dans le genre *Litomosoides*, les cycles sont maintenant connus chez quatre espèces : *L. sigmodontis* Chandler, 1931 (= *L. carinii* Travassos, 1919 *sensu* Vaz, 1934, voir Bain et coll., 1989) parasite de Cricetidae nord-américain, étudié par Bertram et coll. (1946), Williams (1948), Hughes (1950), Scott et coll. (1951), Renz et Wenk (1981) ; *L. legerae* Bain, Petit, Berteaux, 1980, parasite de Cricetidae sud-américain et *L. petteri* Bain, Petit, Berteaux, 1980, parasite de Marsupial sud-américain, tous deux étudiés par Bain et coll., 1980 ; enfin *L. galizai*, parasite de Cricetidae sud-américain. Dans tous les cas le développement est obtenu chez *Bdellonyssus bacoti* et les stades infestants ont le même caractère morphologique primitif : une capsule très longue (20 μ m en moyenne).

Au cours du développement larvaire, les modifications induites par *L. galizai* sont la formation d'un syncytium (sauf dans le tissu périovarien), dont les noyaux agrandis et à gros nucléole traduisent la forte activité.

Ce phénomène est général tant pour les filaires que pour les autres nématodes à développement intratissulaire, les spirurides (Seureau, 1973 ; Seureau et Quentin, 1981 ; Petit et Spitalier-Kaveh, 1979 ; Bartlett, 1984).

Le caractère intéressant du développement de *L. galizai* est la diversité des organes où il peut se développer : tissu interstitiel, glandes salivaires, coxales, vaginales, cellules digestives ; dans ce dernier cas, les larves finissent par être libres dans la lumière des cæca et de tels stades infestants ne peuvent vraisemblablement pas être inoculés à un nouvel hôte. Par contre l'hémocèle, où se rencontrent environ 10 % des larves, ne permet pas un développement complet.

Une diversité analogue des organes parasités s'observe chez l'espèce proche, *L. sigmodontis*.

La seule autre filaire qui, à notre connaissance, n'a pas non plus une spécificité étroite vis-à-vis de l'organe parasité est *Acanthocheilonema viteae* (Krepkogorskaya, 1953), qui se développe dans les muscles, les acini venimeuses et les tubes de Malpighi de l'ornithodore (Bain, 1967).

A l'opposé, *Monanema martini* (Bain, Bartlett, Petit, 1986a) et *Cercopithifilaria roussilhoni* (Bain, Petit, Chabaud, 1986b), qui se développent aussi chez

les acariens, parasitent exclusivement l'épiderme (Petit et coll., 1988, *a* et *b*). Or, ces deux espèces sont morphologiquement évoluées et s'opposent aux formes primitives que sont les *Acanthocheilonema* et les *Litomosoides* (Chabaud et Bain, 1976).

REMERCIEMENTS. — Nous exprimons toute notre gratitude à ceux qui nous ont aidés dans l'interprétation des structures anatomiques de *B. bacoti*, les Docteurs J. J. Kovoov, Laboratoire Zoologie-Arthropodes M. N. H. N., Paris ; F. A. Binche, Laboratoire Arago, Banyuls ; N. Partiaoglou et M. Mesnier, Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris.

RÉFÉRENCES

- BAIN O. : Biologie larvaire et mécanisme de transmission de la Filaire *Dipetalonema vitae*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1967, **42**, 211-267.
- BAIN O., PETIT G., BERTEAUX S. : Description de deux nouvelles Filaires du genre *Litomosoides* et de leurs stades infestants. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1980, **55**, 225-237.
- BAIN O., BARTLETT C., PETIT G. : Une filaire de muridés africains dans la paroi du côlon, *Monanema martini* n. sp. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1986a, **61**, 465-472.
- BAIN O., PETIT G., CHABAUD A. G. : Une nouvelle filaire, *Cercopithifilaria roussilhonii* n. sp., parasite de l'Athérure au Gabon, transmise par tiques ; hypothèse sur l'évolution du genre. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1986b, **61**, 81-93.
- BAIN O., PETIT G., DIAGNE M. : Étude de quelques *Litomosoides* parasites de rongeurs ; conséquences taxonomiques. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1989, **64**, 268-289.
- BARTLETT C. M. : Development of *Dirofilaria scapiceps* (Leidy, 1886) (Nematoda: Filarioidea) in *Aedes* spp. and *Mansonia pertrubans* (Walker) and responses of mosquitoes to infection. *Can. J. Zool.*, 1984, **62**, 112-129.
- BERTRAM D. S., UNSWORTH K., GORDON R. M. : The biology and maintenance of *Liponyssus bacoti* (Hirst, 1913) and an investigation into its role as a vector of *Litomosoides carinii* to cotton rats, together with some observations on the infection in white rats. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1946, **40**, 228.
- CHABAUD A. G., BAIN O. : La lignée *Dipetalonema*. Nouvel essai de classification. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1976, **51**, 365-397.
- DIAGNE M., PETIT G., BAIN O. : Maintien d'une filaire chez la souris. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1989, **309**, sér. III, 25-28.
- FREER P. M. : Observations on the early fate of the microfilariae of *L. carinii* (Travassos, 1919), filarial parasite of the cotton rat, after their ingestion by the vector, *B. bacoti* (Hirst, 1913). *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1953, **47**, 13-25.
- HUGHES T. E. : Some stages of *Litomosoides carinii* in *Liponyssus bacoti*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1950, **44**, 285-290.
- HUGHES T. E. : The morphology of the gut of *Bdellonyssus bacoti*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1952, **46**, 54-60.
- PETIT G., SPITALIER-KAVEH H. : La filaire *Breintia booliati* dans le tissu adipeux d'*Aedes togoi* ; comparaison avec le couple *Dipetalonema dessetae*-*Aedes aegypti*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1979, **54**, 653-663.
- PETIT G., BAIN O., CARRAT C., F. DE MARVAL : Développement de la Filaire *Monanema martini* dans l'épiderme des Tiques Ixodidae. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1988a, **63**, 54-63.
- PETIT G., BAIN O., CASSONE J., SEUREAU C. : La Filaire *Cercopithifilaria roussilhonii* chez la Tique vectrice. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1988b, **63**, 296-302.
- MICHAEL A. D. : On the variation in internal anatomy of the gamasinae, especially in that of the genital organs and their mode of coition. *Trans. Linn. Soc. London*, 1892, **5**, 281-324.
- REICHENOW E. : Los Hemococcidios de los Lacertidos. *Trabajos del Museo Nacional de Ciencias Naturales. Madrid. Serie Zoologica*, 1920, **40**, 153 pp.
- RENZ A., WENK P. : Intracellular development of the cotton-rat filaria *Litomosoides carinii* in the vector mite *Ornithonyssus bacoti*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1981, **75**, 166-168.
- SCOTT J. A., MAC DONALD E. M., TERMAN B. : A description of the stages in the life cycle of the filarial worm *Litomosoides carinii*. *J. Parasitol.*, 1951, **37**, 425-432.
- SEUREAU C. : Réactions cellulaires provoquées par les Nématodes Subulures et Spirurides chez *Locusta migratoria* (Orthoptère) : localisation et structure des capsules. *Z. Parasitenk.*, 1973, **41**, 119-138.
- SEUREAU C., QUENTIN J. C. : Évolution de l'adaptation des Nématodes hétéroxènes à leur hôte intermédiaire : passage progressif d'un parasitisme extracellulaire à un parasitisme intracellulaire. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1981, **292**, Série III, 421-425.
- WILLIAMS R. W. : Studies on the life cycle of *Litomosoides carinii*, filariid parasite of the cotton rat, *Sigmodontis hispidus littoralis*. *J. Parasitol.*, 1948, **34**, 24-43.