DÉVELOPPEMENT DE *WUCHERERIA BANCROFTI* (Cobbold) ET DE *WUCHERERIA MALAYI* (Brug) (1^{re} partie)

Par Ravi IYENGAR

AVANT-PROPOS

Lorsque je suis arrivé en France, M. le professeur P.-P. Grassé a bien voulu m'accueillir dans son laboratoire et m'a permis de travailler sur le développement de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold) et de *W. malayi* (Brug) chez le Moustique. Je tiens à lui exprimer ici toute ma gratitude pour ses directives et ses conseils. Il m'a offert dans son laboratoire une hospitalité que je n'oublierai jamais.

Que MM. les professeurs H. Galliard et L. Brumpt, de la Faculté de Médecine, trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance pour leurs aide et conseils. Mes remerciements vont également à MM. Panigel et Aubert, ainsi qu'à tous mes collègues du Laboratoire d'évolution, qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail.

J'ai pu poursuivre ces recherches grâce aux bourses que m'ont accordées le Service culturel de l'Ambassade de France aux Indes, ainsi que le Centre national de la Recherche scientifique. Mon séjour en France m'aura, non seulement permis de parfaire mes connaissances scientifiques, mais surtout d'apprendre à aimer et apprécier la culture française.

Introduction

Deux espèces de *Wuchereria*, infestant les régions tropicales, *W. bancrofti* (Cobbold) et *W. malayi* (Brug), parasitent l'Homme.

Chez *W. bancrofti*, on connaît deux formes d'infestation :

1° Dans le premier cas, les Microfilaires possèdent une périodicité nocturne. Elles circulent dans le sang périphérique pendant la nuit et en disparaissent presque complètement pendant la journée.

2° Dans le second cas, les Microfilaires ne présentent pas cette périodicité, et vivent dans le sang périphérique pendant le jour comme pendant la nuit. La première forme de *W. bancrofti* se rencontre dans presque toutes les régions tropicales du monde où sévit la filariose (excepté dans les îles Polynésiennes). La deuxième

forme, dépourvue de périodicité nocturne, est moins répandue que la précédente et ne se trouve guère que dans quelques îles du Pacifique Sud. Aucune différence morphologique ne permet de reconnaître ces deux types de *Microfilariae*. Néanmoins, Manson-Bahr (1941) a proposé pour la forme dépourvue de périodicité nocturne le nom de *Wuchereria pacifica*, en se basant exclusivement sur des considérations biologiques.

Les Moustiques sont responsables de la transmission de *Wuchereria*. Les *Microfilariae*, ingérées par un Moustique, passent dans la cavité périsvécérale, puis pénètrent dans les muscles thoraciques où elles poursuivent leur évolution et deviennent adultes 12 à 15 jours après. Alors, elles quittent les muscles thoraciques et gagnent la tête et le labium. A partir de ce moment, un Moustique peut transmettre par sa piqure l'infestation à un nouvel hôte.

Le but de notre travail était d'étudier en détail le développement des larves de *Wuchereria* chez le Moustique. Les *Microfilariae* de *W. bancrofti* (forme périodique) et de *W. malayi* vivant dans le sang humain ont tout d'abord retenu notre attention. Puis nous avons étudié l'évolution de ces deux espèces chez les Moustiques les plus favorables à leur développement. Notre travail met également en évidence certains aspects de la biologie des larves de Filaires chez le Moustique, leur nutrition, leur chitinisisation et le mode de pénétration des larves adultes dans l'hôte humain.

Nous avons pu éclaircir certains points concernant les cellules primordiales qui donnent naissance aux divers organes de la larve adulte, et la croissance de ces organes. Les divers stades et phases diffèrent les uns des autres par des caractères morphologiques et ne sont pas basés sur l'âge de la larve. Notre étude nous a également permis de différencier les deux espèces de parasites pendant leurs divers stades chez le Moustique.

Historique

En 1863, Demarquay a démontré la présence de *Microfilariae* de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold) dans le liquide laiteux d'une hydrocèle chyleuse. Au Brésil, Wucherer (1866) découvrit les mêmes organismes dans l'urine chylaire de l'Homme. Puis, Salisbury (1868), Lewis et Cobbold (1870) les ont observés dans l'urine hématochylurique.

C'est aux Indes, en 1872, que Lewis trouva pour la première fois des *Microfilariae* dans le sang périphérique d'un malade. L'adulte femelle fut découvert par Bancroft en 1876, et le mâle par Sibthorpe en 1888.

Patrick Manson (1878) observa le premier que les Microfilaries de *W. bancrofti* présentent une périodicité nocturne : en effet, elles vivent dans le sang périphérique pendant la nuit et le quittent pendant la journée. Le même auteur découvrit que le Moustique *Culex fatigans* Wied. est un hôte intermédiaire.

La forme non périodique de *W. bancrofti* a été observée pour la première fois par Thorpe (1896) aux îles Tonga, dans le Pacifique Sud. Ces Microfilaries circulent dans le sang périphérique pendant le jour et la nuit, en nombre plus ou moins élevé. Elles ne diffèrent pas morphologiquement de celles de la forme périodique. On les trouve dans la plupart des îles du Pacifique Sud, où elles sont transmises par le Moustique *Aedes pseudoscutellaris* (Bahr, 1912 ; O'Connor, 1923, et Buxton, 1928). Manson-Bahr (1941) a proposé le nom *Wuchereria pacifica* pour cette Microfilarie. Buckley (1952) a décrit la forme adulte de ce parasite.

En plus des deux espèces mentionnées ci-dessus, une troisième espèce de Filare peut transmettre la filariose : Lichtenstein (1927) a constaté qu'une Microfilarie infestant les Indigènes des îles Célèbes était incapable d'évoluer chez *Culex fatigans* Wied. Or, les recherches de Brug (1927) sur cette Microfilarie ont prouvé qu'il s'agissait d'une espèce nouvelle. Il l'a nommée *Wuchereria malayi*. Le ver adulte fut découvert en 1940 par Rao et Maplestone aux Indes, puis à Java, par Bonne, Lie Kian Joe, Molenkamp et Myeren (1941).

Distribution géographique

La Filare de Bancroft est répandue dans presque toutes les régions tropicales. Elle se trouve en Chine, au Japon, à Formose, en Indonésie, en Malaisie, au Siam, aux Indes, aux Philippines, dans les îles du Pacifique, en Afrique et en Amérique du Sud.

Par contre, *W. pacifica* ne se rencontre que dans les îles du Pacifique Sud, à l'est de l'île de Fidji.

W. malayi a été observée en Corée, en Chine, en Indochine, aux Indes, au Siam et en Malaisie.

Matériel et méthodes

Pour monter d'une façon durable et étudier les Microfilaries, nous avons employé la méthode suivante : une goutte de sang d'un porteur de Microfilaries est étalée sur une lame et desséchée. Puis, pour faire disparaître l'hémoglobine, la lame est immergée dans l'eau pendant à peu près vingt minutes, et ensuite fixée dans le fixateur de Bles, qui est composé de 90 cc. d'alcool à 70 %, 7 cc. de formol et 3 cc. d'acide acétique. Après la fixation, la préparation est lavée dans l'alcool à 70 %, puis à 50 %

et 30 %, et enfin dans l'eau. Puis, on colore une première fois avec de l'hématoxyline de Delafield, et une deuxième fois avec de l'éosine. Enfin, on la passe par le toluène et l'on monte au baume du Canada ou à l'euparal.

Les préparations de Microfilaires ont été aussi faites en les colorant avec une solution de Giemsa. Une goutte de sang ayant des Microfilaires est étalée et desséchée sur une lame. Puis elle est immergée dans l'eau pour dissoudre l'hémoglobine, et ensuite elle est fixée avec de l'alcool à 100 % pendant cinq minutes, et desséchée. Après la fixation, on la colore avec une solution de Giemsa (une goutte de Giemsa dans 1 cc. d'eau) pendant trente minutes. Enfin, la préparation est lavée dans l'eau et desséchée.

Pour déterminer la longueur et étudier les structures internes des Microfilaires, on les conserve dans une solution Azur II-formol. Cette solution est composée de 0,8 gr. de chlorure de sodium, 4 cc. de formol, 0,04 gr. d'Azur II et 96 cc. d'eau. Une goutte de sang d'un porteur de Microfilaires est agitée avec 3 cc. de cette solution dans un tube, et le sédiment au fond du tube est examiné trois ou quatre jours après. Les structures qui permettent de bien distinguer les deux espèces de Microfilaires, comme, par exemple, le pore excréteur, la cellule excrétrice, les cellules-G, le pore anal et la queue, s'observent le mieux quand le matériel est conservé dans une solution d'Azur II-formol.

L'étude du développement des Microfilaires dans leur hôte, le Moustique, a été faite après plusieurs examens de coupes sériées de Moustiques infestés expérimentalement. Pour cette étude, les Moustiques étaient élevés au laboratoire après capture des larves dans la nature. Pendant la nuit, ils étaient nourris avec du sang de personnes ayant des Microfilaires dans leur sang périphérique. Seuls ont été employés ceux qui, après plusieurs examens, montraient une infestation pure, soit par *W. bancrofti* (Cobbold), soit par *W. malayi* (Brug). Les adultes de *Culex fatigans* Wied. étaient infestés par les Microfilaires de *W. bancrofti* (Cobbold), et ceux de *Mansonia (Mansonioides) annulifera* Th. par *W. malayi* (Brug), parce qu'il est bien connu que ces deux espèces de Microfilaires ne se développent bien que dans leurs deux hôtes respectifs. Nous avons pris la précaution dans chaque cas de ne laisser prendre aux Moustiques qu'un seul repas de sang infesté de Microfilaires.

Nous avons observé que les Microfilaires subissent un développement très rapide chez le Moustique, surtout dans les premières heures qui suivent l'ingestion de sang. En raison de ce rapide développement, nous avons tué et fixé les Moustiques depuis la première heure suivant l'ingestion du sang contenant des Microfilaires jusqu'au moment où les larves sont devenues infectieuses. Chaque série

de coupes a été faite à des intervalles réguliers, quelquefois de 10 minutes. Les Moustiques ont été fixés dans une solution chaude de Bles, d'abord imprégnés de collodion, enfin inclus à la paraffine et débités à 5 et 6 μ . Les coupes sont colorées par l'hématoxyline et l'éosine.

En plus de l'étude des coupes sériées de larves de Filaires, nous avons disséqué des Moustiques infestés, afin de bien déterminer la longueur des larves, mais les résultats n'étaient pas toujours satisfaisants par suite de leur rétraction dans la solution isotonique.

L'infestation de *Culex fatigans* Wied. par les Microfilaires de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold), et celle de *Mansonia* (*Mansonioides*) *annulifera* Th. par *Wuchereria malayi* (Brug), ainsi que les préparations microscopiques, ont été effectuées à Calcutta (Inde) ; l'étude de ces préparations a été faite au Laboratoire de l'Evolution des Etres Organisés, Faculté des Sciences, Paris.

I. — Différenciation des microfilaires de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold) et de *Wuchereria malayi* (Brug)

Nous donnons ci-dessous une description des caractères permettant de distinguer les Microfilaires de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold) (fig. 1) et celles de *W. malayi* (Brug) (fig. 2).

a) Aspect général

Dans une préparation de frottis desséché, les Microfilaires de *W. bancrofti* présentent des courbes régulières (fig. 3), tandis que celles de *W. malayi* se rétractent ou sont sinueuses (fig. 4).

Une autre caractéristique des Microfilaires de *W. malayi* est qu'elles perdent leur gaine dans une préparation de frottis desséché. Nous avons observé que, dans une préparation qui s'est desséchée lentement, les Microfilaires de *W. malayi* ont tendance à perdre leur gaine. Chez les embryons de *W. bancrofti* traités de la même manière, quelques-uns perdent leur gaine, mais la plupart la conservent.

Un autre caractère qui différencie les Microfilaires de *W. malayi* et de *W. bancrofti* est la coloration de la gaine par le Giemsa. Par cette coloration, la gaine embryonnaire de *W. malayi* devient très rose et brillante, parsemée de taches roses. Chez *W. bancrofti*, la gaine ne prend pas cette couleur et ne présente pas de taches.

FIG. 1. — Microfilarie de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold)

FIG. 2. — Microfilarie de *Wuchereria malayi* (Brug). R.C., Région céphalique ; A.N., Anneaux nerveux ; P.Exc., Pore excréteur ; C.Exc., Cellule excrétrice ; G₁, G₂, G₃, G₄, Cellules G₁, G₂, G₃ et G₄ ; P.A., Pore anal.

b) Longueur et largeur

La longueur des Microfilaires de *W. bancrofti* est presque la même dans une préparation de frottis desséché que dans le sang frais. Elle varie de 250 μ à 320 μ (une moyenne de 287 μ). La longueur de l'embryon de *W. malayi* est plus grande dans le sang frais que dans un frottis desséché ; dans le sang frais, elle varie entre 230 μ et 290 μ (une moyenne de 263 μ), tandis que, dans un frottis, elle varie entre 135 μ et 230 μ (une moyenne de 190 μ). Ces différences montrent que les Microfilaires de *W. malayi* se rétrécissent pendant la préparation du frottis.

La largeur des Microfilaires de *W. bancrofti* est de 5,4 μ à 7,7 μ (soit en moyenne 6,2 μ) dans un frottis de sang. Par contre, la largeur d'un embryon de *W. malayi* est de 4,8 μ à 6,3 μ (en moyenne 5,8 μ) dans le sang frais, et de 6,2 μ à 8,7 μ (en moyenne 7,5 μ) dans un frottis de sang.

c) Région céphalique

La région la plus antérieure de l'embryon (région privée de noyaux) s'appelle « la région céphalique ». Chez *W. bancrofti*, elle est courte, sa longueur étant plus petite que sa largeur (fig. 1). Chez *W. malayi*, par contre, la région céphalique est de 1 1/2 à 2 1/2 fois plus longue que large (fig. 2).

d) L'anneau nerveux

L'anneau nerveux est situé presque dans la même position chez *W. bancrofti* et chez *W. malayi*. Chez *W. bancrofti*, il est situé (à partir de l'extrémité antérieure) à environ 19 % de la longueur totale de la Microfilarie, et, chez *W. malayi*, il se trouve en moyenne à 21 % de la longueur totale.

e) Pore excréteur

Le pore excréteur de l'embryon de *W. malayi* est plus grand que celui de *W. bancrofti*. Il est situé respectivement chez *W. bancrofti* et *W. malayi* à la distance de 28,5 et 29 % de la longueur totale de la Microfilarie.

f) Cellule excrétrice

La structure de la cellule excrétrice et sa position par rapport au pore excréteur diffèrent chez ces deux espèces. Chez *W. bancrofti*, la cellule excrétrice est placée près du pore excréteur (fig. 5). Elle

FIG. 3. — Microfilaires de *W. bancrofti* (Cobbold)
dans un frottis desséché

FIG. 4. — Microfilaires de *W. malayi* (Brug)
dans un frottis desséché

FIG. 5. — Pore excréteur et cellule excrétrice
de la Microfilarie de *W. bancrofti* (Cobbold)

FIG. 6. — Pore excréteur et cellule excrétrice
de la Microfilarie de *W. malayi* (Brug)

a un grand noyau et un court prolongement cytoplasmique qui la relie par son extrémité antérieure au pore excréteur. On trouve quelquefois une ou deux vacuoles dans ce prolongement cytoplasmique. De l'extrémité postérieure de la cellule excrétrice part un second filament, également cytoplasmique, mesurant $15\ \mu$ à $25\ \mu$.

Chez *W. malayi*, la cellule excrétrice est plus grande que chez *W. bancrofti*, et elle est éloignée du pore excréteur (fig. 6). Elle contient un grand noyau, un nucléole distinct et son cytoplasme contient une ou deux vacuoles. De l'extrémité antérieure de la cellule excrétrice part un filament cytoplasmique qui la réunit au pore excréteur. Il n'y a pas de filament cytoplasmique à l'extrémité postérieure de la cellule excrétrice chez *W. malayi*.

g) Corps central interne

Le corps central interne est situé dans l'axe longitudinal de l'embryon et s'étend de la cellule excrétrice à la cellule G_1 (voir ci-dessous). Sa taille étant variable, il est très difficile de lui assigner une limite précise à l'extrémité antérieure de la Microfilaire.

L'existence d'un corps central interne est connue chez plusieurs espèces de Filaires. Chez *W. bancrofti* et *W. malayi*, il apparaît comme une structure amorphe au milieu de la Microfilaire.

Comme nous le verrons plus tard, le corps central interne disparaît progressivement au cours du développement de la Microfilaire chez le Moustique.

h) Cellules G

A la partie postérieure du corps central interne sont situées les quatre cellules G. Ces cellules sont appelées « les cellules G » parce qu'on pensait autrefois qu'elles formaient l'organe génital du Ver adulte. Une de ces cellules, la cellule G_1 , est située à l'extrémité postérieure du corps central interne, tandis que les autres, c'est-à-dire les cel-

FIG. 7. — Cellules-G et pore anal de la Microfilaire de *W. bancrofti* (Cobbold).

TABLEAU I

Comparaison des Microfilaires de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold) et de *W. malayi* (Brug). (Les mesures sont en microns).

CARACTÈRES	<i>W. bancrofti</i>	<i>W. malayi</i>
Apparence générale.	Courbures régulières.	Paraît contractée et présente des courbures irrégulières.
Gaine	a) La majorité des embryons conservent leur gaine. b) La gaine n'est pas colorée en rose avec le Giemsa.	a) La plupart perdent leur gaine. b) La gaine prend une couleur rose avec le Giemsa et est parsemée de taches roses.
Longueur :		
a) dans le sang frais	a) 250 à 320.	a) 230 à 290.
b) dans un frottis desséché	b) 252 à 320.	b) 135 à 230.
Largeur :		
a) dans le sang frais	a) 5,4 à 7,7.	a) 4,8 à 6,3.
b) dans un frottis desséché	b) 6,3 à 8,5.	b) 6,2 à 8,7.
Région céphalique..	La longueur est plus petite que la largeur.	Longueur 1 1/2 à 2 1/2 fois plus grande que la largeur.
Pore excréteur	Plus petit que chez <i>W. malayi</i> .	Plus grand que chez <i>W. bancrofti</i> .
Cellule excrétrice ..	Placée près du pore excréteur.	Placée loin du pore excréteur.
Cellules G	Les 4 cellules G sont à peu près de la même taille, de contour angulaire, et contiennent peu de cytoplasme.	Plus grandes que celles de <i>W. bancrofti</i> . Contour ovale.
Cellule G ₁	De la même taille que les autres cellules G.	Deux fois plus grande que les autres cellules G.
Cellule G ₄	Située près du pore anal.	Située en avant du pore anal et séparée de lui.
Pore anal	Petit.	Grand.
Extrémité caudale..	Absence de noyaux après la fin de la colonne de noyaux.	Présence de deux noyaux après la fin de la colonne de noyaux.

lules G_2 à G_4 , sont placées près du pore anal. Ces cellules ont une structure différente chez les Microfilaires de *W. bancrofti* et celles de *W. malayi*.

Chez *W. bancrofti*, les quatre cellules G sont comparativement petites et à contour angulaire (fig. 7). La cellule G_1 est située en arrière du corps central interne et les cellules G_2 à G_4 sont placées près du pore anal. La cellule G_1 est bien séparée de la cellule G_2 . La position de la cellule G_4 par rapport au pore anal est variable. Celle-ci peut être placée antérieurement au pore anal, ou au même niveau.

Les cellules G de l'embryon de *W. malayi* diffèrent de celles de *W. bancrofti* par leur taille plus grande, leur contour ovale et leur noyau plus grand (fig. 8). La cellule G_1 , située en arrière du corps central interne comme chez *W. bancrofti*, est presque deux fois plus grande que les autres cellules G. La cellule G_2 est située à égale distance entre la cellule G_1 et le pore anal. La cellule G_4 est située en avant du pore anal dont elle est nettement séparée.

i) Pore anal

Le pore anal de la Microfilarie de *W. bancrofti* est plus petit que celui de *W. malayi*. Il est situé, par rapport à l'extrémité antérieure, à environ 81 % de la longueur totale de l'embryon. Chez *W. malayi*, le pore anal est plus grand, et pénètre presque jusqu'au milieu ou aux trois quarts de la largeur de la Microfilarie. Il est situé dans une région où la colonne de noyaux présente une solution de continuité, ce qui permet de le retrouver facilement.

FIG. 8. — Cellules-G et pore anal de la Microfilarie de *W. malayi* (Brug)

FIG. 9. — Extrémité caudale de la Microfilaire de *W. bancrofti* (Cobbold).

FIG. 10. — Extrémité caudale de la Microfilaire de *W. malayi* (Brug)

FIG. 11. — *W. bancrofti* (Cobbold) :
Larve de la phase I A.

j) L'extrémité caudale

L'extrémité caudale de l'embryon de *W. bancrofti* se termine par une pointe émoussée dépourvue de noyaux (fig. 9). Chez *W. malayi*, l'extrémité caudale est caractéristique. Après la colonne de noyaux, le corps se dilate, puis se rétrécit brusquement, et se dilate à nouveau en une vésicule terminale (fig. 10). Dans chacune de ces dilata-tions est situé un petit noyau. Ces noyaux sont séparés de ceux de la colonne, et diffèrent par leur taille et leur aspect général.

II. — Développement de la larve de filaire dans le thorax du moustique

Dans notre travail, nous avons distingué trois stades larvaires chez le Moustique ; ces stades correspondent aux deux mues subies par la larve (indépendamment de l'âge de cette dernière).

Les opinions des chercheurs diffèrent en ce qui concerne l'origine et la nature de la gaine de la Microfilarie. Kotcher (1941), Scott et all. (1951), qui ont étudié la Microfilarie *Litomosoides carinii*, pensent que la gaine de la Microfilarie dérive de la membrane vitelline de l'œuf fécondé. Ils ajoutent que la Microfilarie ne subit aucune mue chez l'hôte vertébré, et la considèrent comme une larve du premier stade.

Au contraire, Augustine (1937), Hégner et all. (1938) et Kershaw (1948) sont d'avis que la membrane vitelline est abandonnée soit lorsque la larve est encore dans l'utérus de la femelle, soit peu après la ponte. Kershaw (*loc. cit.*), étudiant la Filaire *Litomosoides carinii*, a découvert, près de la femelle adulte, des œufs contenant des larves sous-développées, pliées sur elles-mêmes, et encore incluses dans la membrane vitelline. Durant le stade suivant, les larves, bien formées et allongées, auraient perdu leur membrane vitelline. Il ajoute que les larves développent une nouvelle gaine au moment où elles atteignent le sang périphérique et considère donc la Microfilarie, parvenue dans le sang périphérique, comme une larve du deuxième stade.

Jusqu'à ce que l'origine de la gaine de la Microfilarie soit mieux connue, nous retenons l'hypothèse, très souvent admise, que la gaine serait dérivée de la membrane vitelline, la Microfilarie étant une larve de premier stade.

Premier stade

Les Microfilaires se trouvant dans le sang ingéré par le Moustique arrivent dans l'intestin moyen, dont elles traversent directement la paroi antérieure (ou cardia) pour atteindre la cavité générale, puis pénètrent dans les muscles thoraciques où elles poursuivent leur évolution.

La gaine de la Microfilarie est alors abandonnée dans le tube digestif, et la larve qui se trouve dans la cavité générale du thorax est toujours dépourvue de gaine (fig. 11) (1). Feng (1936) a prétendu que les larves de *W. malayi*, situées dans les muscles thoraciques du Moustique, sont encore recouvertes de leur gaine. Nous avons eu l'occasion d'en examiner un grand nombre dans nos coupes sériées, mais n'avons jamais observé de gaine.

Dans le thorax du Moustique, on trouve plusieurs faisceaux de muscles longitudinaux dans la partie dorsale de la cavité pérviscérale, et placés de chaque côté sont les deux séries de muscles verticaux. Après leur passage dans la cavité pérviscérale du thorax, les larves atteignent ces muscles, y pénètrent, et y demeurent, allongées, le long des fibres musculaires. Elles restent dans cette position jusqu'à la fin de la deuxième mue.

Quelques chercheurs ont observé que les larves de Filaires s'installent de préférence dans les muscles longitudinaux et non dans les muscles verticaux (Patton et Cragg, 1929). Nous ne pouvons pas confirmer ce point de vue, car, dans les coupes des Moustiques infestés que nous avons étudiées, les larves de Filaires se trouvaient aussi bien dans les muscles longitudinaux que dans les muscles verticaux.

Pour mieux comprendre le développement de la larve de Filaire dans le Moustique, nous avons divisé chaque stade en phases caractérisées par la taille de la larve. Chez la larve du premier stade, nous pouvons distinguer quatre phases : I A, I B, I C et I D (fig. 31).

I A : forme longue, étroite, pourvue d'une queue effilée et d'apparence similaire à celle de la Microfilarie (fig. 11) ;

I B : forme courte, avec un corps large et une queue qui s'amincit rapidement. Cette phase est souvent appelée phase « saucisse » ;

I C : forme courte et plus épaisse que la précédente, avec une queue brusquement amincie ;

(1) Nous l'avons appelé embryon lorsqu'il est pourvu de la gaine et qu'il se trouve dans le tube digestif du Moustique, comme « la Microfilarie » ; il est appelé « la larve », lorsqu'il a perdu sa gaine et est entré dans les muscles thoraciques.

1 D : forme plus allongée que les précédentes. Le contenu de la queue se retire partiellement dans le corps de la larve, annonçant le commencement de la mue qui se produit à la fin de cette phase. A partir de la phase I A jusqu'à la phase I B, il y a diminution progressive de la longueur de la larve, allant de pair avec une augmentation de sa largeur. Par contre, à la phase I D, nous observons une augmentation de longueur de la larve, mais aucun accroissement appréciable de sa largeur.

Deuxième stade

Après avoir mué, la larve entre dans son deuxième stade. Elle porte alors une queue courte et pointue (fig. 20). Deux phases sont reconnaissables dans ce stade : II A et II B.

Durant la phase II A, la larve est relativement courte. Par contre, pendant la phase II B, elle s'allonge et, souvent, se replie sur elle-même.

Troisième stade

Après avoir mué une seconde fois, la larve atteint le dernier stade de son développement chez le Moustique. Immédiatement après, la larve, qui jusqu'ici était presque immobile, devient active. Elle quitte les muscles thoraciques du Moustique et pénètre dans la cavité périsvécérale. A ce moment, elle est très allongée et mesure souvent plus de 1 mm. Elle est dépourvue de queue, et agitée de mouvements vifs et rapides.

On peut distinguer deux phases : III A et III B. A la phase III A, la larve, qui est plus courte qu'en III B, a des mouvements lents et son corps est plus épais. Puis, elle s'amincit et s'allonge progressivement. A la phase III B, elle est très active, effilée et d'une largeur presque uniforme sur toute sa longueur. Son activité s'accroît. C'est alors qu'elle pénètre la cavité périsvécérale du thorax et de l'abdomen, puis progresse dans la tête et le labium du Moustique. Nous l'avons observée parfois dans la partie postérieure de l'abdomen, correspondant aux derniers segments abdominaux, parfois dans les pattes ou les palpes ; de là, elle gagne les pièces buccales. La larve est maintenant devenue infectieuse ; elle est capable de sortir de son hôte et de pénétrer dans la peau de son hôte définitif, l'homme.

Bahr (1912) croyait qu'une seule larve pouvait se développer jusqu'à la phase infectieuse chez le Moustique. Dans notre travail, nous avons observé, au contraire, que 2 à 4 larves peuvent se développer en même temps et devenir infectieuses dans un même hôte.

Bertram (1947) a observé que les larves infectieuses de *Litomosoides carinii* se présentent sous deux formes, caractérisées par leur longueur ; d'après cet auteur, celles qui mesurent 800 μ deviennent femelles. Williams (1948) a remarqué les mêmes différences de taille chez les larves de *Litomosoides carinii*.

Chez *Dirofilaria immitis*, Kartman (1953) a observé que, vers le vingtième jour, certaines larves du troisième stade restaient de petite taille, tandis que la majorité dépassaient 900 μ . Il ajoute que cette différence de taille est peut-être en relation avec le sexe de la larve.

Nous n'avons observé ce phénomène ni chez *Wuchereria bancrofti* et ni chez *W. malayi*. Les larves de ces deux espèces ne peuvent être réparties en deux catégories. Elles varient de 1.300 μ à 1.700 μ en longueur, en passant par tous les intermédiaires. Nos observations sur ces deux espèces de *Wuchereria* ne confirment pas l'hypothèse de Bertram (1947).

Nutrition de la larve

Chez le Moustique, les larves de *Wuchereria bancrofti* et de *W. malayi* absorbent de la nourriture à travers leur cuticule. Certains chercheurs ont cru que les larves de Filaire se nourrissaient par voie buccale, aux dépens des tissus musculaires thoraciques du Moustique. Bahr (1912) a observé un long filament sortant de la bouche d'une larve, et pensa que c'était une fibre musculaire. Il en a conclu que les larves de Filaire se nourrissaient des muscles du Moustique. En réalité, le filament observé par Bahr était, très probablement, un fragment cuticulaire de la paroi œsophagienne rejeté par la larve au moment de la mue. Nous avons observé, dans plusieurs larves de la phase II B, cette desquamation de la cuticule œsophagienne durant la deuxième mue (fig. 12).

Yamada (1927) et Heydon (1931) ont pensé que les larves du deuxième stade s'alimentent aux dépens des tissus de l'hôte. Cette hypothèse ne nous paraît pas justifiée : en effet, nous avons examiné un très grand nombre de larves, mais n'avons jamais trouvé de matériel nutritif dans leur tube digestif. Le tube digestif ne fonctionne pas pendant les stades larvaires, et le rectum ne s'ouvre pas à l'extérieur jusqu'à la fin du troisième stade. Dans les dissections de thorax de Moustiques infestés, nous n'avons jamais observé de contraction péristaltique du tube digestif chez les larves vivantes.

A notre avis, il semble donc que les larves qui se trouvent dans le thorax du Moustique absorbent leur nourriture par diffusion de

FIG. 12. — *W. bancrofti* (Cobbold) : Desquamation de la paroi cuticulaire de l'œsophage de la larve à la fin du deuxième stade.

liquide du corps de Moustique à travers leur mince cuticule. Chez quelques larves de la phase II B, nous avons trouvé des matières amorphes et mucilagineuses dans l'intestin moyen, rappelant les sécrétions des cellules de l'intestin postérieur.

Chitinisisation des larves de Filaire dans le thorax du Moustique

Plusieurs chercheurs ont observé que les larves de Filaire se développant dans le thorax du Moustique sont parfois tuées par un processus de chitinisisation. Ils ont désigné ce processus sous le nom de « encapsulation ». Ce phénomène a été signalé non seulement chez les Vers, mais aussi chez les Hyphomycètes, les Protozoaires et les Bacilles.

Des coupes de Moustiques infestés expérimentalement par des larves de Filaire nous ont permis d'observer que quelques-unes de ces larves avaient tendance à s'entourer d'un dépôt de chitine. Ce dépôt peut apparaître en n'importe quel point du corps de la larve. A partir de petites taches isolées, la chitine s'étend, peu à peu, jusqu'à former une gaine autour de la larve tout entière (fig. 13 et 14).

FIG. 13 et 14
Chitinisisation des larves de filaire.

Seules, les larves des premier et deuxième stades sont susceptibles d'encapsulation. Lorsque la larve atteint le troisième stade et gagne la cavité périviscérale du Moustique, elle ne peut plus être encapsulée de chitine.

Pendant les premiers stades, la larve reste vivante dans la capsule de chitine. On l'a démontré en colorant à l'hématoxyline ses cellules et leur noyau. Plus tard, les cellules ne sont plus colorées par l'hématoxyline. Au bout d'un certain temps, ne pouvant plus se nourrir, la larve finit par périr. Cette capsule chitineuse, mince au début, s'épaissit de plus en plus. On peut la colorer en jaune avec de l'acide picrique. Kartman (1953), étudiant les femelles d'*Aedes aegypti* infestées par *Dirofilaria immitis* (Leidy), a vu que, chez les femelles contenant des Microfilaires, 12 % de ces dernières étaient

encapsulées ; 0,04 % et 2 % d'entre elles ont été découvertes respectivement dans l'intestin moyen et dans l'hémocèle.

On peut considérer ce processus d'encapsulation comme une défense du Moustique contre les parasites (Brug, 1932). Il se présente le plus souvent chez des hôtes qui ne sont pas adaptés à l'infestation, et chez des hôtes placés dans des conditions défavorables (d'humidité et de température).

Mode de pénétration des larves de Filaire dans l'organisme humain

Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer le mode de pénétration des larves de Filaire dans l'organisme humain.

Manson (1877, 1878) pensait que l'infection se transmettait par absorption d'eau ayant contenu un cadavre de Moustique. Bancroft (1898) était du même avis.

L'année suivante (1899), Bancroft suggéra que l'infection pourrait être transmise par le Moustique au moment où il aspire du sang. Peu après, Low (1900), James (1900) et Dutton (1901) démontrèrent l'existence de larves adultes dans le labium du Moustique. Dutton (*loc. cit.*) pensait que les larves adultes rassemblées dans le labium sortaient par rupture d'une membrane mince située à l'extrémité du labium. Il est maintenant admis que les larves de Filaire sortent des labelles sans qu'il y ait rupture de la membrane de Dutton (d'après Yamada et Komori, 1929).

Fulleborn (1908) pensait que les larves infectieuses de *Dirofilaria immitis* (Leidy) étaient déposées sur la peau du Chien par le Moustique au moment où il absorbait du sang. Plus tard, ces larves pouvaient entrer dans la peau du Chien à travers la piqûre faite par le Moustique.

Bahr (1912) a dit que les larves infectieuses de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold), une fois placées sur la peau de l'Homme, pouvaient facilement y pénétrer. Il a ajouté que cette entrée n'a aucun rapport avec les piqûres faites par le Moustique. Donc, son opinion était que les larves pouvaient traverser la peau humaine intacte.

Yokagawa (1939), Ménon et Ramamurti (1941) sont d'avis que les larves de Filaire sont incapables de pénétrer la peau de l'Homme sans l'aide du Moustique. Ils ont dit qu'elles ne pouvaient pénétrer que par les piqûres du Moustique au moment où il aspire du sang.

Nous voyons donc que le mode de pénétration des larves de Filaire dans la peau de l'Homme n'a jamais été observé de façon précise, c'est pourquoi nous avons effectué quelques expériences à ce sujet.

Des adultes de *Culex fatigans* (Wied.) ont été infestés expérimentalement par les Microfilaires de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold). 12 à 13 jours après, ils ont été capturés dans un tube et étourdis par des chiquenaudes données sur ce tube. Ensuite, nous les avons disséqués dans une solution isotonique. Les larves, bien développées et sans blessures, ont été prélevées au moyen d'une pipette fine, et déposées sur la peau de l'avant-bras d'un volontaire.

Nous avons essayé trois séries d'expériences : 1) sur la peau sans blessures ; 2) sur la peau que nous avons piquée avec une aiguille fine pour simuler les piqûres d'un Moustique, et 3) sur la peau scarifiée avec une aiguille. Dans chaque cas, nous avons compté 8 à 10 larves vivantes et les avons laissées sur la peau, dans une goutte de solution isotonique. Puis, nous avons placé une boîte de Pétri sur la goutte de solution isotonique contenant les larves vivantes. Pour maintenir le milieu humide, nous avons collé un morceau de papier-filtre mouillé à l'intérieur de la boîte de Pétri. De temps en temps, nous observions les larves à la loupe binoculaire.

Environ deux heures après, nous avons ajouté quelques gouttes de solution isotonique à la goutte originale contenant les larves. Puis les larves ont été prélevées à l'aide d'une pipette fine, et leur nombre comparé à celui du début de l'expérience.

Nous avons observé que, dans chaque expérience, on retrouve la totalité des larves, vivantes ou mortes.

Nous avons observé sous la loupe binoculaire que les larves s'agitent très vivement sur la peau de l'Homme, mais ne paraissent se mouvoir suivant aucune direction, restant toujours sur place. Chez le Moustique, au contraire, les larves peuvent circuler dans le labium, la tête et la cavité située au-dessous du tube digestif. Dans cette cavité, les larves prennent une forme ondulante, et peuvent se propulser en s'appuyant sur les parois de cette cavité. Lorsque la larve est déposée sur la peau, cet appui lui manque et elle n'est pas capable de pénétrer dans la peau intacte. Nous voyons donc que le Moustique est indispensable pour effectuer cette pénétration.

III. — Développement de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold) chez le moustique *Culex fatigans* (Wied)

L'étude de la larve du premier stade est très importante pour connaître l'origine et le développement des différents organes du Ver. C'est dans ce stade qu'on peut distinguer les cellules qui donnent naissance aux différents organes du Ver. Dans les stades sui-

vants, le deuxième et le troisième, il y a surtout croissance de ces organes déjà formés à la fin du premier stade.

Premier stade

La première forme évoluant dans le thorax du Moustique (fig. 11) a les mêmes structures et aspects que la Microfilarie, mais elle est dépourvue de gaine. On y observe bien tous les organes de la Microfilarie, tels que l'anneau nerveux, la cellule excrétrice, le pore excréteur, les cellules G et le pore anal.

Le premier changement qui se produit chez la larve est une rapide diminution de longueur. La larve, qui mesurait $220\ \mu$ à $170\ \mu$ de long et $8\ \mu$ à $9,5\ \mu$ de large à la phase I A, ne mesure plus que $150\ \mu$ à $130\ \mu$ de long et $12\ \mu$ à $15\ \mu$ de large à la phase suivante. Ainsi, il y a un changement considérable en leur forme et taille entre les phases I A et I B. Pendant ces deux phases, la larve est dépourvue de cuticule, mais possède des parois minces, élastiques et membranées ; cela permet facilement un changement de taille et de forme. La cuticule commence à se former à la fin de la phase I B ou au début de la phase I C.

Après la phase I B, la larve commence à s'allonger et, à la phase I C, elle a une longueur de $160\ \mu$ à $190\ \mu$ et une largeur de $18\ \mu$ à $22\ \mu$. Dans ces deux phases, I B et I C, la larve a l'aspect d'une saucisse, d'où le nom de « phase saucisse ».

TABLEAU II

W. bancrofti : Variations de longueur, de largeur et de l'indice- α de Men pendant les quatre phases de la larve du premier stade. (Les mesures sont en microns).

	I A	I B	I C	I D
Longueur de la larve	220-170	150-130	160-190	230-300
Largeur de la larve	8-9,5	12-15	18-22	20-24
Indice- α (1) de Men	25-18	12,5-8,5	8,5-10	10-13

$$(1) \text{ Indice-}\alpha \text{ de Men} = \frac{\text{longueur totale de la larve}}{\text{largeur totale de la larve.}}$$

La croissance en longueur de la larve se poursuit pendant la phase I D. Elle mesure alors $230\ \mu$ à $300\ \mu$ de long, mais elle ne subit qu'une faible augmentation de largeur. La fin de cette phase est marquée par une mue, et la larve passe à la deuxième partie de son cycle évolutif chez le Moustique.

a) *Formation de l'œsophage.* — Les cellules se trouvant à l'avant de la cellule excrétrice et quelques-unes situées en arrière sont dis-

FIG. 15. — *W. bancrofti* (Cobbold) : Cellules situées à l'extrémité antérieure de la larve réparties en deux files parallèles.

FIG. 16. — *W. bancrofti* (Cobbold) : Cellule excrétrice pressée contre la paroi postérieure de la chambre excrétrice.

posées dans la phase I A, comme chez la *Microfilare*. Dans la phase I B, on observe que plusieurs de ces cellules avancent vers le milieu de la larve. Puis elles s'y répartissent en deux files parallèles (fig. 15). Nous verrons, plus tard, que ces cellules forment l'œsophage. Les cellules périphériques dans cette région forment la couche sous-cuticulaire du Ver. Nous n'avons pu trouver aucun caractère qui puisse nous aider à distinguer les cellules qui forment la couche sous-cuticulaire de celles qui se disposent suivant ces deux lignes.

A la fin de la phase I C, on voit l'œsophage futur sous l'aspect d'une colonne de cellules bien séparées des cellules de la couche sous-cuticulaire. A la phase I D, on peut distinguer très nettement l'œsophage. Il a une largeur uniforme, sauf en deux régions ; il se resserre un peu dans la région de l'anneau nerveux et se dilate en bulbe à l'endroit où il rencontre l'extrémité antérieure de la colonne formée par les cellules provenant des divisions des cellules G_2 et G_3 .

Au début de la phase I D, la lumière de l'œsophage n'est pas formée. A cause de l'invagination de la cuticule de l'extrémité antérieure de la larve, une ligne de la cuticule va de l'extrémité antérieure à l'extrémité postérieure de l'œsophage. Avant la fin de cette phase, on observe le début de formation d'une lumière qui forme, plus tard, la lumière de l'œsophage.

A la phase I D, l'œsophage mesure $90\ \mu$ à $110\ \mu$ de long. C'est dans cette phase qu'il s'étend jusqu'au milieu de la larve. Dans le stade suivant, la longueur de la larve augmente ; mais il n'y a pas d'augmentation correspondante de la longueur de l'œsophage. L'allongement de la larve se fait surtout dans la région de l'intestin moyen.

b) *La chambre excrétrice et la cellule excrétrice*. — Chez la *Microfilare* de *W. bancrofti*, la chambre excrétrice et la cellule excrétrice sont petites et situées l'une près de l'autre. Dans le premier stade, on observe qu'elles augmentent de taille très rapidement. Ainsi qu'à la phase I C, la cellule excrétrice est pressée contre la paroi postérieure de la chambre excrétrice (fig. 16). Ceci est le résultat non seulement d'un raccourcissement de la larve, mais aussi d'un agrandissement de la chambre excrétrice vers l'arrière, et d'une augmentation de taille de la cellule excrétrice. L'allongement qui se produit ensuite chez la larve, à la phase I D, ne modifie pas la position de la cellule excrétrice par rapport à la chambre excrétrice.

c) *Corps central interne*. — Le corps central interne commence à se désagréger dès l'entrée de la larve dans la cavité périviscérale

du Moustique. A la fin de la phase I A, il est complètement désagrégé. Ce corps central interne est probablement constitué de réserves dont la digestion progressive assure la nutrition de la larve pendant ses premières heures dans le thorax du Moustique.

Manson (1893), étudiant les Microfilaires de Bancroft, avait décrit ainsi leur corps central interne : « On observe que, dans la partie postérieure du tiers moyen du parasite, il existe un dépôt irrégulier de matière granuleuse. Sous l'effet de colorants appropriés, ce dépôt apparaît comme un organe occupant sur certaine longueur l'axe du parasite. » Manson, assignant à cette formation la valeur d'une ébauche d'intestin moyen, l'avait appelée « *central viscus* ». Penel (1904) a pensé que le corps central interne correspondait au tube digestif. Fulleborn (1908) substitua au terme de « *central viscus* », donné par Manson, l'appellation plus vague de « *Innenkorper* » (« *corps interne* »).

Balfour (1911), travaillant sur une Microfilarie du Chameau, a avancé l'hypothèse que le « *central viscus* » de Manson pourrait bien n'être qu'un « matériel de réserve ». Martini (1920), établissant un parallèle entre la situation du corps central interne de la Microfilarie et celle des matières de réserve que l'on rencontre ordinairement dans l'intestin moyen des Nématodes à l'état larvaire, reprit l'hypothèse de Balfour. Couielen (1929) considère le corps central interne comme une enclave vitelline qui assure la nutrition de la Microfilarie pendant les premiers temps de sa vie embryonnaire.

Durant nos recherches, nous avons observé qu'au cours du développement de la larve chez le Moustique, le corps central interne commence à se désagréger et disparaît complètement vers la fin de la phase I A. Il sert de réserve pour la nutrition de la larve jusqu'au temps de son arrivée dans les muscles thoraciques. Il ne forme pas l'intestin du Ver adulte comme plusieurs chercheurs l'ont décrit.

d) *Les cellules G* (fig. 17). — Les quatre cellules G sont situées à la phase I A dans la même position que chez la Microfilarie. Mais elles sont plus grosses et plus apparentes.

A cause de la diminution de taille de la larve pendant la phase I B, la distance entre les quatre cellules G diminue, aussi sont-elles plus rapprochées les unes des autres. Nous avons étudié en détail le développement de ces quatre cellules et nous avons observé qu'elles donnent naissance à trois organes différents du Ver adulte. Ce développement s'effectue principalement dans la larve du premier stade.

FIG. 17. — *W. bancrofti* (Cobbold) : A droite, les 4 cellules-G à la phase I A. A gauche, les cellules G_2 et G_3 se sont divisées en 8, la cellule G_4 en 2, mais la cellule G_1 reste non divisée.

De la phase I B, les cellules G commencent à se développer comme suit : les cellules G_2 , G_3 et G_4 augmentent très rapidement de taille, tandis que la taille de la cellule G_1 reste la même. Puis, les cellules G_2 et G_3 se divisent une fois et chacune forme deux cellules ; les cellules G_1 et G_4 restent seules. Ensuite, par de nouvelles divisions des cellules G_2 et G_3 , huit cellules sont formées (fig. 17).

La cellule G_4 se divise alors en deux, mais la cellule G_1 reste encore seule. Vers la fin de la phase I B et le commencement de la phase I C, on observe que les cellules G_2 et G_3 ont formé ensemble 16 cellules qui sont disposées en colonne compacte, au centre de la larve (fig. 18). C'est alors que les cellules dérivées de la cellule G_4 se divisent encore une fois et forment quatre cellules ; la cellule G_1 reste encore non divisée. On reconnaît facilement les quatre cellules dérivées de la cellule G_4 à leur grande taille, leur gros noyau et leur cytoplasme épais. Ces quatre cellules ne se divisent plus par la suite.

Ensuite, les cellules dérivées des cellules G_2 et G_3 commencent à se diviser très rapidement. Ces divisions rapides des cellules poussent la cellule G_1 en avant et d'un côté. Enfin, quelques-unes de ces cellules passent à l'avant de la cellule G_1 . Nous verrons que cette colonne de cellules formera l'intestin moyen de la larve adulte. Par suite de la croissance de la colonne de cellules, la cellule G_1 est comprimée entre cette colonne et la paroi de la larve.

Par rapport aux cellules de la colonne, la cellule G_1 est comparativement petite et difficile à distinguer. A la fin du premier stade, elle est divisée en deux cellules, mais toujours incluse dans un cytoplasme compact. On verra plus tard que la cellule G_1 deviendra l'ébauche génitale.

Les éléments du tube digestif sont nettement visibles à la fin de la phase I D (fig. 19).

L'œsophage, dérivé des cellules situées à la région antérieure de la *Microfilare*, est constitué de deux parties : 1° la partie située à l'avant de l'anneau nerveux étant plus étroite que 2° la partie située à l'arrière de cet anneau.

L'intestin moyen est formé de cellules provenant de la division des cellules G_2 et G_3 . A la phase I D, il mesure $70\ \mu$ à $85\ \mu$ de long. Il a une largeur uniforme dans presque toute sa longueur, sauf à ce point de jonction avec les cellules qui forment l'intestin postérieur. Dans cette région, il se rétrécit. Une lumière se présente sur toute la longueur de l'intestin moyen. Au point de jonction de l'intestin moyen et de l'intestin postérieur, on observe un groupe de cellules nerveuses disposées en anneau.

Les quatre cellules dérivées de la cellule G_4 forment l'intestin postérieur. Ces quatre cellules sont grosses, et placées les unes près des autres ; la lumière de l'intestin postérieur n'est pas encore formée.

e) *La chambre anale*. — La chambre anale est plus large dans le premier stade que chez la *Microfilare*. Son pore ne s'ouvre pas à

FIG. 18. — *W. bancrofti* (Cobbold) : Les cellules G_2 et G_3 sont divisées en 16 cellules, la cellule G_4 en 2, la cellule G_1 reste non divisée.

FIG. 19. — *W. bancrofti* (Cobbold) :
Larve à la fin du premier stade avec tube digestif bien formé

l'extérieur, à cause d'une mince membrane qui le recouvre. On voit souvent qu'il y a un peu de matière mucilagineuse dans la chambre anale. Il est probable que cette matière est une sécrétion des cellules. On observe aussi que le contenu de la chambre anale fait saillie au dehors. Cette procidence a été appelée par les chercheurs « prolapsus anal ». Le « prolapsus anal » n'est pas aussi marqué chez la larve de *W. bancrofti* que chez celle de *W. malayi*.

Deuxième stade

FIG. 20. — *W. bancrofti* (Cobbold) : Extrémité caudale de la larve juste avant sa première mue.

A la fin du premier stade, la larve fait une mue, et passe à la deuxième partie de son cycle évolutif chez le Moustique. Avec la mue, disparaît la longue et mince queue caractéristique de la larve du premier stade. La larve du deuxième stade est caractérisée par une queue de la forme d'une papille (fig. 20).

Le changement le plus remarquable qui se produit chez la larve du deuxième stade est une augmentation très rapide

de sa longueur (fig. 21, 22 et 23). La larve, qui a une longueur d'environ $350\ \mu$ au début de ce stade, mesure à la fin à peu près $700\ \mu$. Mais il n'y a pas d'augmentation proportionnelle de sa largeur, la largeur variant de $27\ \mu$ à $30\ \mu$. L'étude d'un abondant matériel nous a montré que cet accroissement se réalise dans la région de l'intestin moyen. Tandis que l'œsophage et l'intestin postérieur s'allongent peu, la longueur de l'intestin moyen est multipliée par trois à la fin de ce stade.

Pour mieux comprendre la description de la larve, nous avons distingué ce stade en deux phases : II A et II B. Les larves de la phase II A ont une longueur de $350\ \mu$ à $450\ \mu$, tandis que celles de la phase II B mesurent de $500\ \mu$ à $700\ \mu$.

A la fin du deuxième stade se produit une mue, et la larve passe à son troisième et dernier stade chez le Moustique.

FIG. 21. — *W. bancrofti* (Cobbold) : Larve du deuxième stade

FIG. 22 et 23. — *W. bancrofti* (Cobbold) :
Larves du deuxième stade

TABLEAU III

W. bancrofti : Variation de longueur, de largeur et de l'indice- α de Men pendant les deux phases de la larve du deuxième stade. (Les mesures sont en microns).

	II A	II B
Longueur de la larve	350-450	500-700
Largeur de la larve	26-28	29-32
Indice- α de Men	14-18	17-21

a) *L'œsophage* (fig. 24). — L'œsophage est bien formé au début du deuxième stade ; il mesure entre 150 μ et 170 μ de long. Lorsque la larve se développe, l'œsophage croît en longueur et, à la fin de ce stade, mesure entre 190 μ et 220 μ .

TABLEAU IV

W. bancrofti : Variation de longueur de la larve, de l'œsophage et de l'indice- β de Men pendant les deux phases de la larve du deuxième stade. (Les mesures sont en microns).

	II A	II B
Longueur de la larve	350-450	500-700
Longueur de l'œsophage ..	150-170	190-220
Indice- β de Men (1)	2,3-2,7	2,6-3,1

L'œsophage a une largeur uniforme jusqu'à la région de l'anneau nerveux où il se rétrécit un peu. Il s'élargit à l'arrière de l'anneau nerveux, et, un peu avant la valve œsophagienne, il atteint sa largeur maximum (fig. 21 et 22). Il est formé de grosses cellules à noyau volumineux.

Le point de jonction de l'œsophage et de l'intestin moyen est caractérisé par une valve bien développée (fig. 25). Cette valve se compose de quatre cellules, grandes, ovales et à noyaux très appa-

$$(1) \text{ Indice-}\beta \text{ de Men} = \frac{\text{longueur totale de la larve}}{\text{longueur totale de l'œsophage.}}$$

rents. Ces quatre cellules sont liées à l'extrémité postérieure de l'œsophage et se prolongent à l'intérieur de l'intestin moyen. Elles ont une origine œsophagienne.

Pendant la desquamation qui se produit à la fin du deuxième stade, la paroi cuticulaire de l'œsophage est perdue avec la mue. Quand cette desquamation est encore incomplète, nous voyons la paroi cuticulaire comme une fibre mince en saillie de la bouche de la larve (fig. 12). On a cru autrefois qu'il s'agissait d'une fibre de muscle thoracique du Moustique, et que les larves se nourrissaient de ces muscles.

b) *Système nerveux*. — Le système nerveux, chez la larve du premier stade, est réduit, tandis que, dans le deuxième stade, il est bien développé. On voit des chaînes de cellules nerveuses qui partent de l'anneau nerveux et se dirigent en avant et en arrière. Ventralement et en arrière de l'anneau nerveux, se trouve un groupe de cellules nerveuses qui forme un ganglion. De ce ganglion partent vers l'arrière quelques chaînes de cellules nerveuses non contiguës. Ces chaînes se réunissent pour former un anneau au point de jonction de l'intestin moyen et de l'intestin postérieur.

c) *Chambre excrétrice et cellule excrétrice*. — La chambre excrétrice s'ouvre à l'extérieur par un pore étroit. La cellule excrétrice, qui est pressée contre la paroi de la chambre excrétrice, possède un gros noyau, très apparent. Au cours du développement, la chambre excrétrice et la cellule excrétrice diminuent peu à peu. Donc, à la fin de ce stade, elles sont plus petites que chez la larve du premier stade.

d) *Cellule génitale primordiale*. — La cellule G_1 , qui s'est divisée en deux cellules à la fin du premier stade, se divise encore une fois et forme une masse globulaire de quatre cellules (fig. 26). Ces cellules sont grandes, contiguës, à noyau distinct et protoplasme dense. Cette structure globulaire constitue la cellule génitale primordiale. Elle est liée à la paroi ventrale de l'intestin moyen, un peu en arrière de la valve œsophagienne (fig. 22 et 23). Sa position par rapport à la valve œsophagienne est variable. Chez quelques larves, elle se trouve plus près de la valve œsophagienne que chez les autres larves.

À la fin de ce stade, la cellule génitale primordiale a une forme plus allongée et plus ovale. Elle contient alors de 8 à 10 cellules, et mesure $16\ \mu$ à $19\ \mu$ de long et $7\ \mu$ à $10\ \mu$ de large.

e) *Intestin moyen*. — À cause de l'augmentation énorme de la longueur de la larve, on observe une différence très nette dans l'in-

FIG. 24. — *W. bancrofti* (Cobbold) : Œsophage au deuxième stade.

FIG. 25. — *W. bancrofti* (Cobbold) : Point de jonction de l'œsophage et de l'intestin moyen avec les quatre cellules de la valve œsophagienne.

FIG. 26. — *W. bancrofti* (Cobbold) : La cellule G_1 au cours du développement.

testin moyen entre le premier stade et le deuxième stade. Chez la larve du premier stade, l'intestin moyen a des parois épaisses et une lumière étroite (fig. 19), tandis que, chez la larve du deuxième stade, les parois sont minces et la lumière large (fig. 23). A cause de l'allongement de la larve, les cellules de l'intestin moyen deviennent allongées et fusiformes.

Au début de ce stade, l'intestin moyen mesure $125\ \mu$ à $150\ \mu$ de long, et $13\ \mu$ à $15\ \mu$ de large. Après l'augmentation de taille de la larve, il mesure, à la fin du deuxième stade, $330\ \mu$ à $360\ \mu$ de long et $15\ \mu$ à $17\ \mu$ de large. Le point de jonction de l'intestin moyen et de l'intestin postérieur est bien marqué. A ce point de jonction, l'intestin moyen se resserre un peu et rencontre l'extrémité antérieure des quatre cellules qui forment l'intestin postérieur.

f) *L'intestin postérieur.* — L'intestin postérieur est formé par les quatre cellules dérivées de la cellule G_4 . Ces cellules sont très apparentes et ont un gros noyau. Au début du deuxième stade, commence à s'ouvrir une lumière qui est bien formée vers la fin de ce stade. La chambre anale s'ouvre dans la lumière de l'intestin postérieur ou rectum. Comme dans le premier stade, le « prolapsus anal » fait saillie au dehors, mais il est plus marqué (fig. 27). L'intestin postérieur possède une paroi cuticulaire. Il la perd avec la mue qui se produit à la fin de ce stade.

FIG. 27. — *W. bancrofti* (Cobbold) : Extrémité postérieure de la larve à la fin du deuxième stade.

FIG. 28. — *W. bancrofti* (Cobbold) : Les trois papilles anales de la larve du troisième stade.

g) *L'extrémité caudale.* — Avant la deuxième mue, on voit un groupe de trois cellules allongées et placées côte à côte à l'extrémité caudale (fig. 27). Ces trois cellules forment les trois papilles latérales qui sont caractéristiques de la larve du troisième stade de *W. bancrofti*.

Troisième stade

Le troisième et dernier stade de la larve dans le thorax du Moustique commence après sa deuxième mue. La larve, qui pendant son deuxième stade ne montre aucun mouvement, commence à faire des mouvements lents. Partie des muscles thoraciques, elle se déplace et arrive dans la région périviscérale du thorax. Après 24 à 48 heures, la larve devient plus mince et longue. Elle commence à faire des mouvements actifs, comme un Ver. Les larves de ce stade ont une tendance à rester dans la région ventrale du tube digestif d'où elles parviennent à la tête et le labium.

La larve du troisième stade possède une cuticule bien formée et la paroi du corps a des muscles longitudinaux bien développés. A l'extrémité caudale sont situées trois papilles globulaires. Ces trois papilles sont caractéristiques de la larve du troisième stade de *W. bancrofti* (fig. 28).

Nous distinguons la larve du troisième stade en deux phases : III A et III B (fig. 31). A la phase III A, la larve mesure 870 μ à 1.200 μ de long et 24 μ à 26 μ de large. A la phase III B, elle mesure de 1.300 μ à 1.700 μ de long et de 22 μ à 24 μ de large. Il faut remarquer ici que cette diminution dans la largeur de la larve par rapport au deuxième stade est due à une augmentation énorme de la longueur de la larve pendant ce stade.

TABLEAU V

W. bancrofti : Variation de longueur, de largeur et de l'indice- α de Men pendant les deux phases de la larve du troisième stade. (Les mesures sont en microns).

	III A	III B
Longueur de la larve	870-1.200	1.300-1.700
Largeur de la larve	24-26	22-24
Indice- α de Men	37-46	59-66

a) *L'œsophage*. — Avec l'accroissement de longueur de la larve, la longueur de l'œsophage commence à augmenter. Au début du stade, il mesure de 320 μ à 400 μ de long. Vers la fin de ce stade, il mesure entre 500 μ à 600 μ de long.

TABLEAU VI

W. bancrofti: Variation de longueur de la larve, de l'œsophage et de l'indice- β de Men des deux phases de la larve du troisième stade. (Les mesures sont en microns).

	III A	III B
Longueur de la larve	870-1.200	1.300-1.700
Longueur de l'œsophage ..	320-400	500-600
Indice- β de Men	2,7-3,6	2,6-3,2

L'œsophage est étroit à l'extrémité antérieure et peu à peu s'élargit vers l'arrière. Enfin, il a une largeur maximum à son point de jonction avec l'intestin moyen. Sa lumière est étroite dans toute sa longueur et est tapissée par une cuticule.

La valve œsophagienne qui se trouve au point de jonction de l'œsophage et de l'intestin moyen est bien développée. Elle consiste en quatre grandes cellules qui sont liées à l'extrémité postérieure de l'œsophage et qui s'avancent dans la lumière de l'intestin moyen.

b) *La chambre excrétrice et la cellule excrétrice*. — La chambre excrétrice et la cellule excrétrice sont plus petites que dans le stade précédent. A la fin de ce stade, elles deviennent très réduites en taille.

c) *L'intestin moyen*. — L'augmentation de longueur de l'intestin moyen est maintenue. Au début du stade, il mesure entre 600 μ et 750 μ de long. A la phase III B, il mesure entre 800 μ à 950 μ de long.

L'intestin moyen possède une paroi mince et une lumière grande. Son intérieur est dépourvu de cuticule, contrairement à l'œsophage et l'intestin postérieur. Les parois de l'intestin moyen se composent de cellules longues et fusiformes.

Au point de jonction avec l'intestin postérieur, l'intestin moyen se resserre, et on observe un groupe de cellules qui forment un sphincter. Ces cellules sont dérivées de l'extrémité postérieure de l'intestin moyen.

FIG. 29. — *W. bancrofti* (Cobbold):
Ebauche génitale de la larve du
troisième stade.

FIG. 30. — *W. bancrofti* (Cobbold):
Extrémité postérieure de la larve
du troisième stade.

d) *L'intestin postérieur.* — L'intestin postérieur se compose de quatre grandes cellules qui forment la paroi du rectum. Sa partie antérieure est beaucoup plus étroite que l'intestin moyen, mais la partie postérieure est fortement renflée.

e) *L'ébauche génitale.* — L'ébauche génitale est une formation bien en évidence au troisième stade (fig. 29). Elle est liée à la paroi de l'intestin moyen, un peu en arrière de la valve œsophagienne. Elle a un aspect allongé, ovale, et se compose de 10 à 12 cellules bien serrées. Chaque cellule possède un cytoplasme épais et un grand noyau avec un nucléole bien défini. L'ébauche génitale mesure $20\ \mu$ à $23\ \mu$ de long et $6\ \mu$ à $8\ \mu$ de large.

f) *L'extrémité caudale.* — Les trois cellules qu'on observe à l'extrémité caudale de la larve du troisième stade donnent naissance à trois papilles qui sont caractéristiques de la larve du troisième stade de *W. bancrofti* (fig. 28). Annett, Dutton et Elliott (1901) constatent qu'il y a quatre papilles chez *W. bancrofti*. Nos observations concordent avec celles de Ashburn et Craig (1907), et plusieurs autres chercheurs, sur l'existence de trois papilles seulement.

**Étude comparative de la croissance des différentes parties
de la larve de *W. bancrofti* (Cobbold)**

La croissance de la larve de *W. bancrofti* montre quelques caractères très intéressants. Pendant le début du premier stade, il y a diminution de longueur. Mais, vers la fin, elle retrouve sa longueur

FIG. 31. — Les diverses phases
de la larve de *W. bancrofti* (Cobbold)

initiale. Au deuxième et troisième stade, cet allongement se poursuit jusqu'à ce que la larve soit devenue infectieuse, quand elle est cinq fois plus longue que la *Microfilaria*. Toutes les parties de la larve n'augmentent pas dans les mêmes proportions. L'intestin moyen, par exemple, s'allonge relativement plus que les autres parties de la larve.

Nous fournissons ci-dessous les mesures moyennes de la larve de *W. bancrofti* au cours de ses différentes phases chez le Moustique *Culex fatigans*. Feng (1936) constate qu'au début du premier stade, la diminution de longueur se produit surtout dans la région se trouvant entre le pore excréteur et les cellules G. Nos études montrent, au contraire, que toutes les régions de la larve diminuent de façon plus ou moins semblable jusqu'à la phase I B. A partir de la phase I C, la larve commence à s'allonger. Bien que toutes les ré-

TABLEAU VII

W. bancrofti : Tailles moyennes des différentes phases larvaires et positions de quelques structures aux diverses phases. (Les mesures sont en microns).

	ANN. N. (1)	DE L'AN. N. AU P. EXC.	AU P. EXC. (1)	DU P. EXC. AU P. AN.	AU P. AN. (1)	DU P. AN. A L'EXT. CAUD.	A L'EXT. CAUD. (1)
I A.....	35	17	52	103	155	30	185
I B.....	30	10	40	75	115	30	145
I C.....	32	13	45	95	140	40	180
I D.....	50	10	60	145	205	37	242
II A.....	60	15	75	250	325	45	370
II B.....	75	25	100	483	583	47	630
III A.....	75	30	105	985	1,090	50	1,140
III B.....	80	40	120	1 390	1,510	55	1,565

gions de la larve s'accroissent en même temps, nous voyons que cet accroissement est beaucoup plus marqué dans la région s'étendant du pore excréteur au pore anal. La longueur de cette région passe de 75 μ à la phase I B à 985 μ à la phase III A et 1.390 μ à la phase III B (voir tableau VII).

(1) Distance de l'extrémité antérieure de la larve. An. n. = anneau nerveux ; P. exc. = pore excréteur ; P. an. = pore anal ; Ext. caud. = extrémité caudale.

Nous avons également calculé la longueur de diverses régions de la larve exprimée en pourcentage de la longueur totale de la larve. Les résultats sont rassemblés dans le tableau VIII. Ce tableau montre que, jusqu'à la phase I C ou I D, les longueurs relatives, de chacune des quatre régions de la larve, diminuent. Après la phase I C ou I D, une diminution de longueur relative se produit dans trois régions : les régions s'étendant (I) de l'extrémité antérieure à l'anneau nerveux, (II) de l'anneau nerveux au pore excréteur, et (III) du pore anal à l'extrémité caudale. En effet, les longueurs de ces trois régions augmentent (voir tableau VII), mais, par suite de l'énorme allongement de la larve, il y a diminution de leur longueur relative.

Par contre, la région située entre le pore excréteur et le pore anal montre une augmentation de 51,7 % à la phase I B à 88,9 % à la phase III B.

TABLEAU VIII

W. bancrofti : Longueur relative de diverses régions de la larve, exprimée en pourcentage de la longueur totale de la larve.

	Ext. ant. à An. n.	An. n. à P. Exc.	P. Exc. à P. anal	P. anal à l'extr. caud.
I A	18,9	9,2	55,7	16,2
I B	20,7	6,9	51,7	20,7
I C	17,8	7,2	52,8	22,2
I D	20,7	4,0	59,9	15,3
II A	16,2	4,1	67,6	12,2
II B	11,9	3,9	76,7	7,5
III A	6,6	2,6	86,4	4,4
III B	5,1	2,5	88,9	3,5

L'énorme augmentation de longueur que nous avons constatée plus haut est surtout due à l'allongement de la région de l'intestin moyen, ce que montre bien le tableau IX. De la phase I C à la phase III B, il y a une faible augmentation de longueur de l'intestin postérieur, tandis que l'œsophage et l'intestin moyen s'allongent considérablement (voir tableau IX).

TABLEAU IX

W. bancrofti : Longueur moyenne de l'œsophage, de l'intestin moyen et de l'intestin postérieur pendant les diverses phases. (Les longueurs sont en microns et les pourcentages par rapport à la longueur totale de la larve).

	ŒSOPHAGE		INTESTIN MOYEN		INTESTIN POST.	
	Long.	%	Long.	%	Long.	%
I C	75	41,7	45	25,0	20	11,1
I D	102	42,1	80	33,1	23	9,5
II A	160	43,2	130	35,1	35	9,5
II B	200	31,7	350	55,6	33	5,2
III A	325	28,5	725	63,6	40	3,5
III B	545	34,8	906	57,9	60	3,8

(à suivre).