

# Morphologie des stades larvaires d'*Onchocerca volvulus* chez *Simulium damnosum* et redescription de la microfilaire

par Odile BAIN

[Laboratoire de Zoologie (Vers) associé au C.N.R.S. (P<sup>r</sup> A.-G. CHABAUD)  
Muséum National d'Histoire Naturelle, 57, rue Cuvier, 75 - Paris, 5<sup>e</sup>  
et Centre Muraz - Section Onchocercose - Bobo-Dioulasso (Haute-Volta)]

## Résumé

Comme l'ont déjà indiqué Nelson, Pester et Duke, l'étude épidémiologique précise de l'Onchocercose humaine ne peut être réalisée tant que les larves d'*Onchocerca volvulus* ne sont pas sûrement différenciées des autres larves de filaires évoluant chez les mêmes vecteurs ; il est utile également d'identifier les stades des larves.

La morphologie d'*O. volvulus*, étudiée ici chez *Simulium damnosum*, offre des critères simples pour reconnaître l'âge des larves ; l'histologie de ces larves apporte des précisions anatomiques qui, dans une étape ultérieure, doivent permettre une comparaison plus rigoureuse des espèces très proches évoluant chez le même vecteur.

## Summary

As already stated by Nelson, Pester, and Duke, the precise epidemiological study of human onchocerciasis cannot be achieved before the larvae of *Onchocerca volvulus* can be differentiated from the larvae of other Filarias evolving in the same vectors ; it is also usefull to identify the larval stages.

With the study of the morphology of *Onchocerca volvulus* in *Simulium damnosum* simple criteria for the determination of the age of the larvae are given ; the histology of these larvae brings anatomical precisions wich, in a latter study, may allow a more rigorous comparison of closely related species evoloving in the same vector.

(1) Cette étude a été effectuée grâce à une subvention de l'Organisation mondiale de la Santé. Le travail sur le terrain a été réalisé au Centre Muraz de l'O.C.C.G.E. de Haute-Volta, à la section Onchocercose. Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à M. Le Berre et M. Philippon, qui ont mis à notre disposition avec une entière générosité leurs moyens de travail et nous ont fait bénéficier de leur très grande compétence.

## INTRODUCTION.

Il est nécessaire, dans l'épidémiologie de l'onchocercose humaine, de distinguer quelles sont les espèces et quels sont les stades de larves de filaires qui se trouvent chez les *Simulies* anthropophiles spontanément infestées.

Les travaux de Nelson et Pester en 1962 et de Duke en 1967 permettent dans une large mesure de répondre à ces questions, mais les progrès de nos connaissances vont nécessiter une étude de plus en plus approfondie de ces problèmes ; c'est pourquoi il nous paraît utile de décrire la morphologie larvaire de l'espèce *Onchocerca volvulus* (Leuckart 1893) en nous aidant de techniques histologiques. Nous précisons en outre quels sont les critères qui permettent de distinguer entre eux les trois stades larvaires qui se présentent chez l'hôte intermédiaire.

## Matériel.

Cette étude est effectuée chez *Simulium damnosum* Theobald 1903. Les *Simulies* sont capturées l'après-midi, période durant laquelle le pourcentage des nullipares est le plus élevé ; elles proviennent d'un gîte de savane guinéenne (1) (Pont de la Leraba ; région de Niangoloko en Haute-Volta) ; elles sont récoltées sur un Onchocerquien habitant le village le plus proche ; elles se gorgent facilement sur la peau très mince des jambes et s'infestent de façon régulière (environ 98 %).

Les *Simulies* sont conservées individuellement dans des tubes contenant une bande de papier filtre et bouchés par un coton imbibé d'eau sucrée ; les tubes sont maintenus à l'obscurité ; la température varie entre 25° et 27°.

L'étude morphologique repose d'une part sur des observations à frais provenant de dissections de *Simulies* infestées dans ces conditions, d'autre part sur des coupes histologiques de *Simulies* des mêmes lots fixées au Bouin aqueux à différents temps après le repas.

## REDESCRIPTION DE LA MICROFILAIRE.

La fig. 1 A et la description qui va suivre sont la somme d'observations de microfilières préparées selon des techniques complémentaires (gouttes épaisses colorées au Giemsa, observations à frais et surtout techniques histologiques).

Le corps de la microfilaire est légèrement strié transversalement et dépourvu de gaine ; à l'apex, le pore buccal est renforcé par une armature cuticulaire très réduite, difficile à examiner avec précision : sur les microfilières vivantes, nous avons cru voir un anneau chitinoïde entourant une dent médiane ; sur les gouttes épaisses colorées au Giemsa, le pore buccal est marqué par quatre ponctuations rouges qui se prolongent chacune dans l'espace céphalique par un trait de même teinte ; sur les exuvies du premier stade larvaire, l'armature paraît composée de quatre arcs chitinoïdes inégaux disposés en croix (fig. 4 C et D), provenant peut-être de la rupture d'un anneau initial unique. La grande mobilité de l'armature buccale suggère l'existence de « hook-muscle

(1) Terminologie de Trochain in Le Berre 1966.

cells » (Taylor, 1960), mais leurs noyaux ne font pas saillie dans l'espace céphalique et il n'est pas possible de les distinguer du reste de la colonne nucléaire. Celle-ci est compacte et le corps interne n'est pas visible. Sur coupe, les noyaux des cellules sous-cuticulaires apparaissent allongés, isolés ou groupés par trois ou quatre (fig. 1 A<sub>1</sub>). La cellule R<sub>1</sub>, dont le grand diamètre est de 11  $\mu$ , est visible sur le vivant mais rarement sur goutte épaisse ; les autres cellules rectales et la cellule excrétrice sont de taille plus réduite et ne sont visibles que sur un matériel très bien fixé (1) ; toutes ces cellules se caractérisent par l'existence d'un gros noyau, renfermant un volumineux nucléole très réfringent et chromophile et par un cytoplasme bien délimité ; les cellules R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> sont au même niveau ou l'une derrière l'autre (fig. 1 A<sub>2</sub>) (écartement maximum de 5  $\mu$ ). La queue est effilée et se termine par une pointe anucléée ; la portion nucléée de la queue renferme une vingtaine de noyaux ; ils sont espacés et faciles à dénombrer vers la pointe caudale, et tassés vers le pore anal ; le nombre des noyaux espacés augmente chez les microfilaries étirées ; le dernier noyau est simple ou présente une ou deux constriction ; sur coupe, la queue présente deux types de noyaux : des noyaux médians et un petit nombre de noyaux sous-cuticulaires aplatis.

Mensurations des microfilaries : 230  $\mu$  à 270  $\mu$  de long sur les gouttes épaisses, et 315  $\mu$  à 360  $\mu$  sur les microfilaries immobilisées par la chaleur ; chez une microfilarie de 330  $\mu$  (fig. 1 A), la largeur est de 6  $\mu$  ; l'espace céphalique mesure 8  $\mu$  de long ; l'anneau nerveux, le pore excréteur, la cellule excrétrice, la cellule rectale R<sub>1</sub> sont respectivement à 65  $\mu$ , 100  $\mu$ , 120  $\mu$  et 225  $\mu$  de l'apex ; les cellules R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> sont toutes deux à 30  $\mu$  de R<sub>1</sub> ; R<sub>4</sub> est à 40  $\mu$  de R<sub>1</sub> et à 10  $\mu$  du pore anal ; la queue mesure 52  $\mu$  de long et la portion anucléée est longue de 18  $\mu$ .

### Discussion.

Nos observations sont conformes à celles de Rodenwalt (1914) ; elles confirment en outre que, à l'encontre des noyaux caudaux qui ont une disposition variable en fonction des conditions d'observation, les cellules excrétrices et rectales sont relativement stables. La cellule R<sub>1</sub> d'*O. volvulus* a une position particulièrement postérieure qui oppose cette espèce aux *Wuchereria* et aux *Dirofilaria* (Taylor, 1960), et la rapproche de *Loa loa* et des autres Onchocerques ; la distance de l'apex à la cellule R<sub>1</sub>, exprimée en pourcentage de la longueur totale du corps, donne en effet, chez les Onchocerques, les valeurs suivantes : 66,6 à 70,2 % chez *O. volvulus* ; 70,03 % chez *O. gutturosa* (selon Fain et coll., 1955) ; 71 à 74,5 % chez *O. reticulata* (selon Moignoux, 1958).

### MORPHOLOGIE DES STADES LARVAIRES.

Le développement peut se schématiser de la façon suivante : il débute par une phase d'organisation qui occupe tout le 1<sup>er</sup> stade et dure 93 h à 96 h ; durant cette période,

(1) Nous avons eu la chance d'avoir ce matériel chez une *Simulia* qui venait de prendre son repas infestant et qui fut fixée au Bouin aqueux ; les coupes ont révélé l'existence d'un bouchon de microfilaries orientées parallèlement dans le cardia, facilement étudiables.

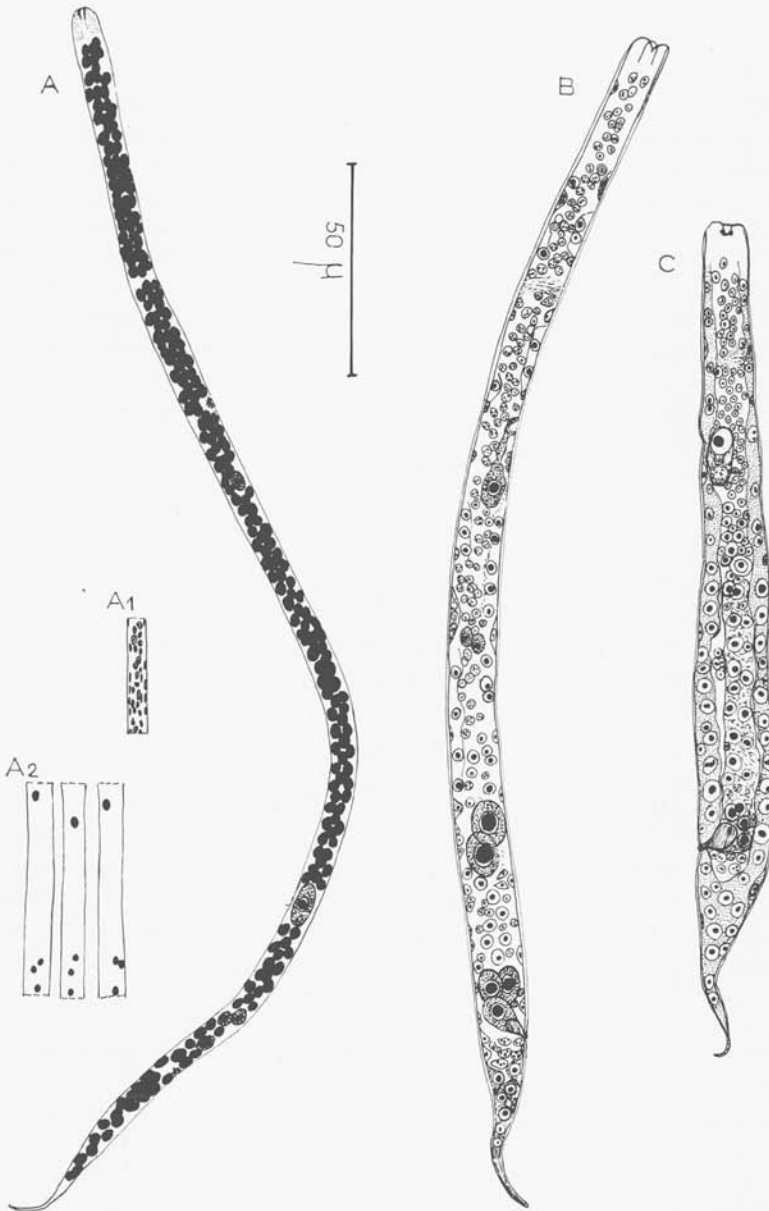


FIG. 1. — A) Microfilarie; A<sub>1</sub>, : détail de la disposition des noyaux à mi-distance de l'apex et de l'anneau nerveux (fixation histologique); A<sub>2</sub>, : variabilité de la position des cellules rectales (fixation histologique). — B) Larve de 30 h. — C) larve de 48 h

le fourreau épithélio-musculaire et le cordon digestif se différencient ; après la première mue, vient une phase de croissance qui correspond au 2<sup>e</sup> stade et dure deux jours ; elle s'accompagne du creusement du cordon digestif ; après la deuxième mue, la larve subit une rapide maturation de 24 h et les premières formes infestantes apparaissent dès le 7<sup>e</sup> jour.

### 1<sup>er</sup> stade.

Dès la 19<sup>e</sup> heure, la microfilarie a des mouvements ralentis ; 10 h plus tard, la mobilité de la larve ne se manifeste plus que par des oscillations de la queue et des mouvements d'invagination de la région buccale ; en même temps, la larve se renfle dans la région postérieure et se raccourcit légèrement.

A la 30<sup>e</sup> heure (fig. 1 B), l'épaississement a gagné tout le corps et le raccourcissement est très perceptible. A ces modifications morphologiques correspondent divers remaniements nucléaires ; la cellule excrétrice remonte légèrement vers le pore excréteur ; les cellules rectales R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> se regroupent près du pore anal qui est marqué par un bouchon cuticulaire plein, de taille réduite et non saillant ; la cellule R<sub>1</sub> a subi sur place une première division. Sous la cuticule, on observe deux types de noyaux : des noyaux aplatis, mais un peu plus gonflés que les noyaux sous-cuticulaires de la microfilarie, et de gros noyaux à nucléole volumineux et à cytoplasme plus ou moins distinct, qui semblent être l'ébauche des futurs champs musculaires.

Dans la région antérieure du corps, les cellules musculaires sont encore à peine différenciées et le reste de la colonne nucléaire ne montre aucune organisation, sauf au milieu du corps où deux cellules à cytoplasme bien déterminé représentent peut-être les initiales de l'œsophage glandulaire ; dans la région postérieure, entre la cellule R<sub>1</sub> et les autres cellules rectales, les noyaux médians sont gonflés et entourés d'un cytoplasme basophile. La queue, encore très effilée, renferme de grosses cellules musculaires et de petites cellules épithéliales.

Mensurations d'une larve âgée de 30 h (fig. 1 B) : 285  $\mu$  de long sur 12  $\mu$  de large dans la région postérieure et 9  $\mu$  dans la région antérieure ; anneau nerveux, pore excréteur et cellule excrétrice respectivement à 62  $\mu$ , 98  $\mu$  et 113  $\mu$  de l'apex ; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> respectivement à 50  $\mu$ , 13  $\mu$  et 13  $\mu$  du pore anal ; queue longue de 45  $\mu$ .

Le raccourcissement et l'épaississement s'accroissent durant les heures suivantes ; les deux cellules filles de R<sub>1</sub> se divisent à nouveau, formant quatre grosses cellules toujours éloignées du groupe R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>. Vers la 48<sup>e</sup> heure, la larve a atteint sa plus petite taille (200  $\mu$  de longueur en moyenne ; les plus petites larves mesurent 150  $\mu$  de long) ; elle commence à prendre l'aspect d'une saucisse, dont l'extrémité antérieure est encore un peu grêle et la queue conique ; les mitoses sont fréquentes.

Cette jeune forme en saucisse (fig. 1 C) se caractérise par l'existence d'une couche musculaire parfaitement délimitée et par l'apparition, dans la région postérieure, d'un cordon de cellules à cytoplasme spongieux et à noyaux le plus souvent volumineux, qui forme l'ébauche de l'intestin ; la structure fine de ce cordon est difficile à analyser, mais

il semble être formé par deux files de cellules qui se font vis-à-vis ou sont un peu décalées. Au voisinage du bouchon anal, on observe trois ou quatre noyaux à nucléole très gros, qui proviennent des cellules  $R_2$ ,  $R_3$  et  $R_4$  dont l'une a pu se diviser ; par contre, la descendance de la cellule  $R_1$  n'est plus discernable. Dans la région moyenne du corps, l'ébauche œsophagienne est formée : elle est constituée par un bourgeon distal plurinucléé où les noyaux sont disposés sans ordre apparent ; souvent, deux petits noyaux sont appendus à ce bourgeon, juste à sa jonction avec le cordon intestinal ; vers la région antérieure, le bourgeon se continue par un cordon plus ou moins nettement défini de petits noyaux œsophagiens. L'ébauche génitale est logée contre l'intestin et est formée de quatre petites cellules. La queue s'amincit régulièrement et le nombre de ses noyaux reste sensiblement identique à celui de la microfilarie.

Mensurations d'une larve âgée de 48 h (fig. 1 C) : 210  $\mu$  de long sur 18  $\mu$  de large au niveau du pore anal et 11  $\mu$  au niveau de la tête ; anneau nerveux et cellule excrétrice respectivement à 32  $\mu$  et 55  $\mu$  de l'apex (le pore excréteur n'est pas visible) ; début de l'intestin à 82  $\mu$  de l'extrémité céphalique ; ébauche génitale à 42  $\mu$  du pore anal ; queue longue de 50  $\mu$ .

La véritable forme en saucisse, caractérisée par une queue composée d'une portion en dôme et d'une pointe fine bien individualisée, apparaît vers la 60<sup>e</sup> heure ; le cordon digestif est alors complètement formé.

Les dimensions sont accrues, mais l'organisation est la même, 35 à 40 h plus tard, quand a lieu la première mue (fig. 2 A) ; l'œsophage comprend déjà une portion musculaire formée par trois rangées longitudinales de cellules assez plates et une portion glandulaire formée par des cellules à cytoplasme dense, dont la disposition est difficile à élucider en l'absence de coupes transversales ; l'intestin est plein et sa paroi est formée par de grandes cellules disposées en files longitudinales ; le bouchon cuticulaire anal fait généralement saillie à l'extérieur sous forme d'une vésicule dont le volume varie beaucoup sur le vivant suivant les individus ; le rectum, qui sécrète ce bouchon, est formé de cinq ou six cellules. Aux extrémités du corps, la larve présente un décollement de la cuticule correspondant à la première mue ; dans la région postérieure, l'exuvie renferme la nouvelle pointe caudale du jeune stade 2, qui est plus petite que la précédente.

Mensurations d'une larve âgée de 96 heures, à la première mue (fig. 2 A) : 260  $\mu$  de long sur 40  $\mu$  de large ; anneau nerveux et cellule excrétrice respectivement à 50  $\mu$  et 70  $\mu$  de l'apex (le pore excréteur n'est pas visible) ; œsophage long de 135  $\mu$ , l'œsophage musculaire se terminant au niveau de la cellule excrétrice ; ébauche génitale, très antérieure sur ce spécimen, au niveau de la jonction œsophage-intestin ; vésicule anale à 25  $\mu$  de la base de la pointe caudale ; celle-ci mesure 11  $\mu$  de long sur le jeune stade 2 et 25  $\mu$  sur l'exuvie du stade 1.

## 2<sup>e</sup> stade.

Après la première mue, la larve s'accroît rapidement ; la croissance en longueur est inégale : elle est maximum entre la cellule excrétrice et le bouchon anal ; par contre,

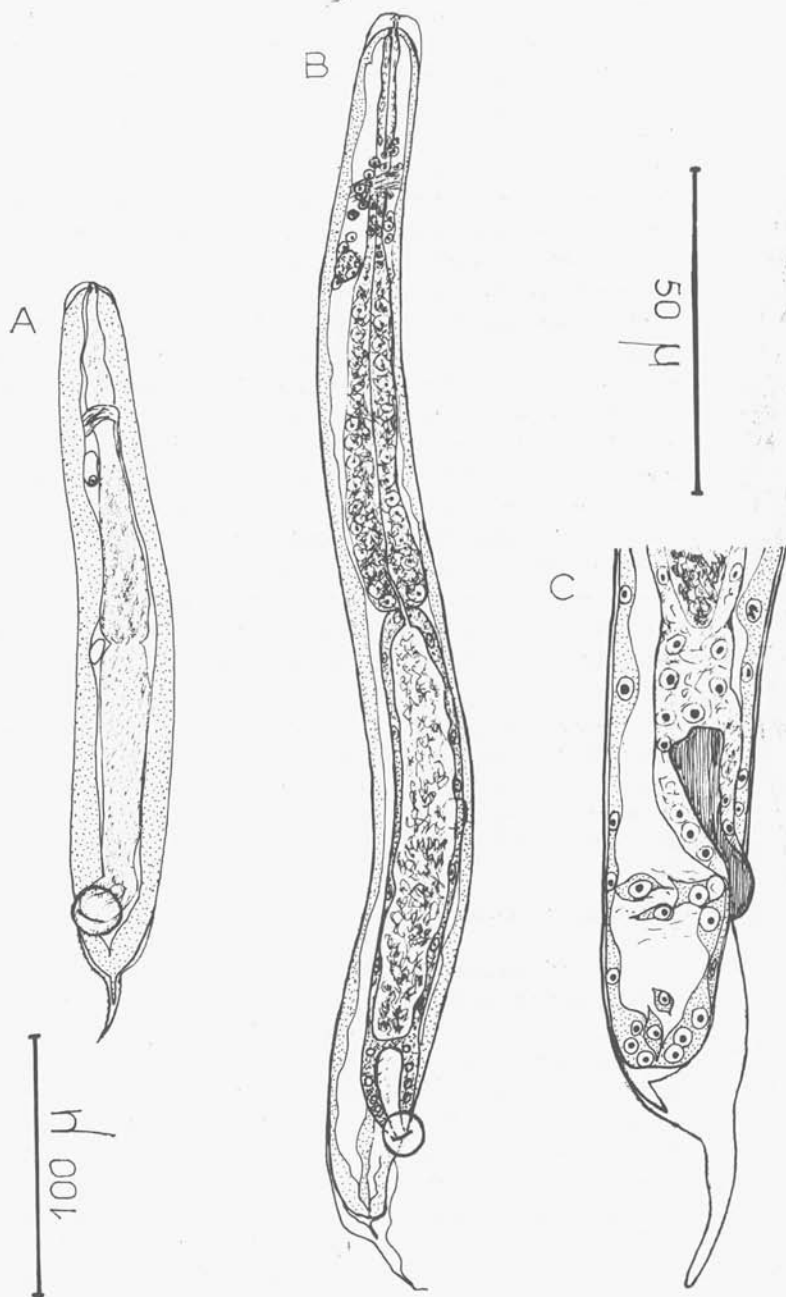


FIG. 2. — A) Larve de 96 h en mue I (observée sur le vivant). — B) Larve de six jours en mue II. — C) Détail de la région caudale du jeune stade III. (A et B : échelle 100  $\mu$  ; C : échelle 50  $\mu$ )



FIG. 3. — Stade infestant en vue latérale (observé sur le vivant)

la larve ne s'épaissit pas et perd peu à peu son aspect de saucisse. La couche épithélio-musculaire est mince ; la cavité générale est bien individualisée ; le tractus digestif est maintenant tubulaire, mais la lumière intestinale se termine en cul-de-sac au niveau du rectum ; l'œsophage musculaire a une symétrie tri-radiée ; l'œsophage glandulaire est épais ; il débute au niveau ou légèrement en avant de la cellule excrétrice et se termine à la moitié du corps ou au-delà, si bien que les rapports des longueurs œsophage glandulaire-intestin sont variables ; l'intestin a une paroi mince et il est rempli par les déchets du métabolisme ; le rectum est formé par 12 ou 15 cellules dont le cytoplasme est creusé de grosses vacuoles ; ces cellules semblent réparties en un groupe apical et un groupe péri-anal dont les cellules sont en files (on discerne généralement une file de trois cellules dans la paroi postéro-dorsale du rectum). Vers la fin du sixième jour, la cuticule se décolle chez de nombreuses larves dont la longueur varie entre 400  $\mu$  et 500  $\mu$  (fig. 2 B) ; dans la région antérieure, l'exuvie entraîne l'armature buccale du 2<sup>e</sup> stade : elle était formée par trois rhabdions de taille inégale entourant une cavité buccale étroite et allongée ; dans la région postérieure, sous la cuticule du deuxième stade, apparaît la queue du troisième stade, qui est arrondie ; souvent, la cuticule du premier stade est restée en place et les deux exuvies successives sont emboîtées l'une dans l'autre (fig. 2 C).

Mensurations d'une larve âgée de six jours à la deuxième mue (fig. 2 B) : 435  $\mu$  de long (sans les exuvies) sur 39  $\mu$  de large ; anneau nerveux et cellule excrétrice respectivement à 58  $\mu$  et 75  $\mu$  au niveau de la cellule excrétrice ; ébauche génitale à 82  $\mu$  du début de l'intestin ; queue obtuse longue de 38  $\mu$ .

### Début du 3<sup>e</sup> stade.

En quelques heures, la larve encore assez épaisse du deuxième stade évolue en forme infestante : elle s'allonge de 100  $\mu$  à 300  $\mu$ , perd ses exuvies et s'amincit (fig. 3) ; le fourreau épithélio-musculaire est aplati contre la cuticule ; le cul-de-sac rectal s'ouvre dans la lumière de l'intestin ; la larve expulse son bouchon anal et ses déchets intestinaux ; les parois de l'intestin s'appliquent l'une contre l'autre ; les variations de longueur de l'œsophage glandulaire sont plus accentuées que chez la larve du deuxième stade : l'œsophage se termine tantôt au milieu du corps, tantôt plus en arrière jusqu'au début du tiers postérieur du corps (fig. 4 A et B) ; l'ébauche génitale a une position variable le long du tiers antérieur de l'intestin ; elle est souvent difficile à voir et n'a jamais été observée le long de

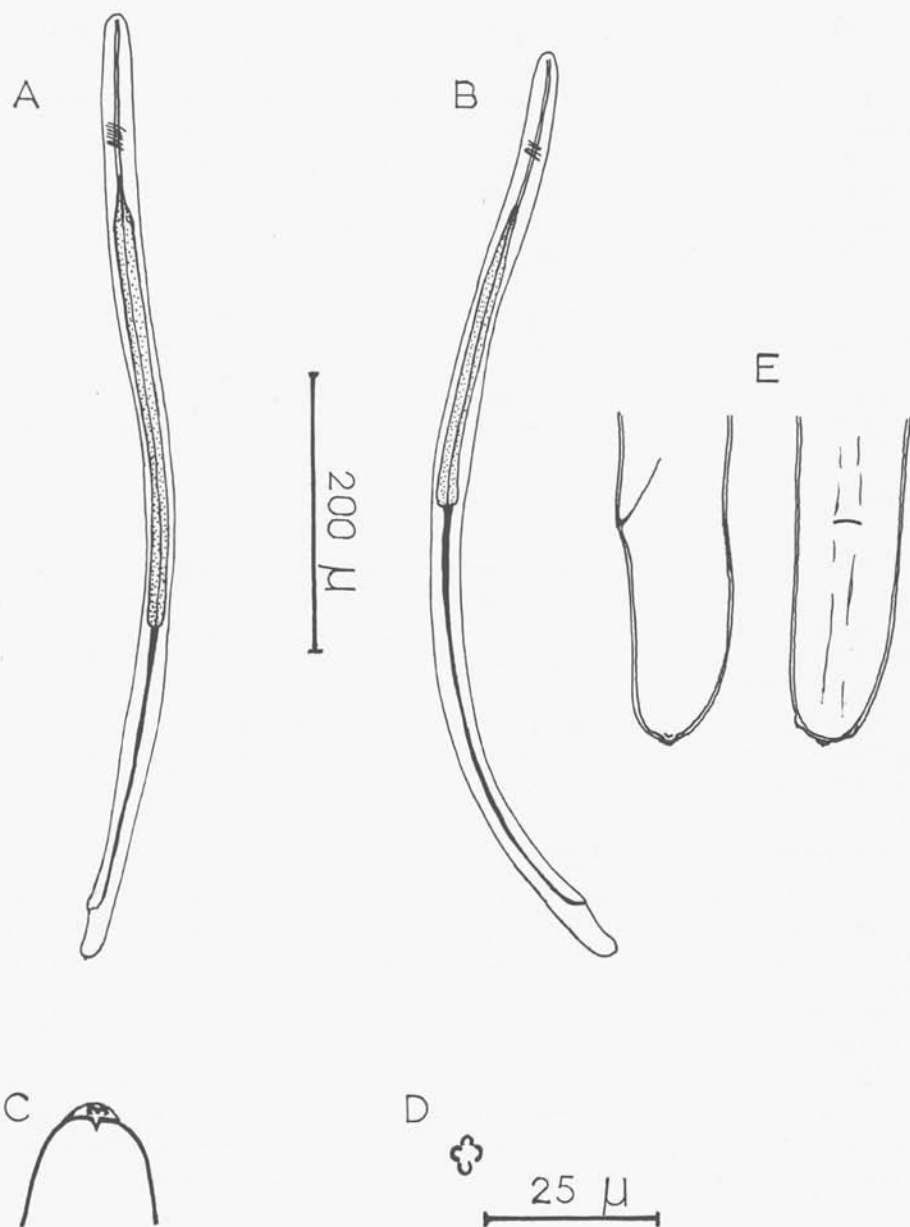


FIG. 4. — A) et B) Variabilité du rapport œsophage-intestin chez les stades infestants. — C) et D) Exuvie de la mue I montrant l'armature buccale de profil (C) et de face (D). — E) Extrémité caudale d'un stade infestant de profil et ventralement (A et B: éch. 200  $\mu$ ; C et E: éch. 25  $\mu$ ; D: à main levée)

l'œsophage glandulaire ; le rectum est allongé, plus épais que l'intestin ; sa paroi est formée de cellules chargées de graisse lui donnant un aspect réticulé.

La larve infestante est très mobile ; pour une filaire, elle conserve une silhouette trapue ; la tête est ornée par deux cercles de très petites papilles ; la capsule buccale est étroite et formée par quatre rhabdions de taille inégale ; la queue est légèrement incurvée vers la face ventrale ; elle porte à son extrémité une expansion cuticulaire médiane arrondie toujours visible et deux autres latéro-ventrales, plus ou moins perceptibles (fig. 4 E et F) ; la queue ne porte ni ornementation ni sillon sur la corde ventrale.

Mensurations d'une larve infestante (fig. 3) : 650  $\mu$  de long (longueur variable de 600  $\mu$  à 825  $\mu$ ) (4), sur 22  $\mu$  de large (largeur variable de 19  $\mu$  à 24  $\mu$ ) ; capsule buccale haute de 9  $\mu$  ; anneau nerveux et cellule excrétrice respectivement à 65  $\mu$  et 110  $\mu$  de l'apex ; œsophage musculaire long de 85  $\mu$  ; œsophage glandulaire long de 245  $\mu$  (longueur variable de 360 à 510  $\mu$ ) ; ébauche génitale à 60  $\mu$  du début de l'intestin ; queue longue de 28  $\mu$ .

## CONCLUSION.

Ce travail permet, grâce à l'observation des mues, de reconnaître les différents stades larvaires. Nous pensons que l'étude anatomique réalisée grâce aux techniques histologiques sera utile pour discriminer les espèces d'*Onchocercus* infestant naturellement *Simulium damnosum*, lorsque des travaux comparables auront été réalisés chez ces autres espèces.

Outre ces considérations pratiques, l'étude du développement d'*O. volvulus* pose quelques problèmes concernant l'origine de certains organes chez les filaires (musculature, intestin et rectum).

### I. Identification des trois stades larvaires.

L'observation de la silhouette de la larve, comme le fit Blacklock en 1926, est un renseignement utile, mais insuffisant ; le critère qui permet de distinguer un stade 1 âgé d'un stade 2 jeune est la forme de la queue : la pointe caudale est longue (25  $\mu$  environ) chez le stade 1 et courte (10 à 12  $\mu$ ) chez le stade 2 ; le stade 3 a une queue obtuse ornée d'un mucron médian et de deux mucrons latéro-ventraux, plus petits, déjà décrits par Nelson et Pester (1962).

Il est de plus difficile de discerner le jeune stade 3 et la forme infestante : tous les deux sont mobiles ; la forme infestante l'est davantage, mais surtout elle se caractérise par son état physiologique : le bouchon cuticulaire et les déchets intestinaux sont expulsés ; les parois de l'intestin sont ainsi appliquées l'une contre l'autre.

(4) Ces mensurations ont été effectuées sur des larves immobilisées en extension par la chaleur. Elles peuvent être comparées à la rigueur à celles obtenues sur des larves fixées à l'alcool bouillant (légère rétraction de 7,5 %) ; elles sont fatalement très différentes de celles qui sont prises sur des larves immobilisées par le froid ou par un fixateur froid (alcool ou alcool glyciné) et qui sont alors rétractées à un degré variable

## 2. Problèmes concernant l'origine de la musculature et celle de l'ensemble intestin-rectum.

### a) PROBLÈME CONCERNANT L'ORIGINE DE LA MUSCULATURE.

— L'origine de la musculature de la filaire pose un problème qui a été résolu de façon différente par divers auteurs : pour Taylor (1960), travaillant sur *D. immitis*, Rodenwalt (1921) et Martini (1921), travaillant sur *W. bancrofti*, la musculature provient des cellules sous-cuticulaires de la microfilaire ; pour Abe (1937) et Kobayasi (1940), utilisant aussi comme matériel *W. bancrofti*, la musculature provient des cellules de la colonne nucléaire.

— Dans nos observations, les noyaux sous-cuticulaires sont irrégulièrement répartis, souvent groupés par trois ou quatre ; ils sont relativement peu nombreux ; dans la queue, leur nombre est même très réduit (3 ou 4). Chez la jeune larve (fig. 1 B et C), les coupes permettent d'observer deux types de noyaux sous la cuticule : des noyaux vésiculeux à gros nucléoles, tels que les ont bien dessinés Schacher (1962) et Feng (1936), et des noyaux aplatis présentant la même disposition et le même aspect que les noyaux sous-cuticulaires de la microfilaire ; dans la queue, la même dualité s'observe, et le nombre des noyaux aplatis semble être égal à celui des noyaux sous-cuticulaires de la queue de la microfilaire. Au cours du développement, les gros noyaux vésiculeux s'organisent en un revêtement continu qui formera la couche musculaire.

— A notre avis, il nous semble que l'existence de deux types de noyaux périphériques chez la jeune larve correspond au double revêtement sous-cuticulaire de l'adulte, composé d'un épiderme et d'une couche musculaire ; si ces deux types de noyaux donnent rarement chez la jeune larve l'aspect de deux couches concentriques, c'est peut-être parce que, très tôt, les cordons des futures cellules musculaires s'insinuent sur les quatre faces latéro-médianes, entre les files des cellules épithéliales, comme cela se passe au cours du développement embryonnaire d'autres Nématodes (Martini, cité par Nigon, p. 261, in Grassé 1965). Ces deux groupements cellulaires peuvent avoir une seule origine (les « cellules musculaires » de la microfilaire), ou une double origine, les cellules sous-cuticulaires de la microfilaire formant l'épiderme, et un certain nombre des cellules de la colonne nucléaire formant la couche musculaire. La première hypothèse laisse alors supposer que les cellules sous-cuticulaires ont elles-mêmes une double potentialité et qu'elles résultent de l'assemblage de cellules ectodermiques vraies et de cellules d'origine mésenchymateuse, migrées très tôt vers la périphérie ; la deuxième hypothèse s'accorde avec le fait que les cellules musculaires sont d'emblée nombreuses et que le tractus digestif semble provenir principalement de la multiplication de diverses initiales (Kobayasi, 1939, 1940), les cellules de la colonne nucléaire n'intervenant que faiblement dans cette élaboration. Mais cette hypothèse paraît s'opposer au fait que les cellules sous-cuticulaires de la microfilaire sont contractiles ; il nous semble cependant que ce caractère peut avoir une explication autre qu'embryologique et être adaptative ; la fibrillation du cytoplasme des cellules ectodermiques disparaîtrait rapidement au cours de l'organogénèse ; inversement, si l'on admet que toutes les cellules sous-cuticulaires sont

des cellules musculaires d'origine mésodermique, on voit mal comment est secrétée la cuticule de la microfilarie.

b) PROBLÈME CONCERNANT L'ORIGINE DE L'INTESTIN ET CELLE DU RECTUM.

Tous les auteurs s'accordent actuellement pour dire que les cellules R ne forment pas l'ébauche génitale. Par contre, il subsiste des controverses sur leurs relations avec l'intestin et le rectum. Feng observe une migration précoce de R<sub>1</sub> vers le groupe R<sub>2</sub>-R<sub>4</sub>, et il suppose que ces quatre cellules contribuent entièrement à l'élaboration du rectum, l'intestin provenant des cellules de la colonne nucléaire ; Looss pense que, seules, les cellules R<sub>2</sub> à R<sub>4</sub> engendrent le rectum ; Taylor fait dériver le rectum de R<sub>4</sub>, et l'intestin de l'ensemble R<sub>1</sub>-R<sub>2</sub>-R<sub>3</sub>.

L'étude du développement d'*O. volvulus* semble confirmer le comportement indépendant de R<sub>1</sub> : cette cellule se divise deux fois de suite sans avoir migré vers le pore anal ; par contre, R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> se tassent précocement vers le pore anal ; chez la larve un peu plus âgée, il n'est plus possible de reconnaître la descendance de R<sub>1</sub> ; par contre, on retrouve trois ou quatre gros noyaux au voisinage du bouchon anal qui proviennent presque certainement des cellules R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub>.

Chez *O. volvulus*, le rectum pourrait être élaboré par R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub>, R<sub>1</sub> engendrant l'intestin, soit à elle seule, soit en induisant des cellules de la colonne nucléaire.

### Bibliographie

- ABE (S.), 1937. — Development of *Wuchereria bancrofti* in the mosquito *Culex fatigans*. *J. med. Ass. Formosa*, 36, 482-519.
- BLACKLOCK (D. B.), 1926. — The development of *Onchocerca volvulus* in *Simulium damnosum*. *Ann. Trop. Méd. Parasit.*, 20, 1-48.
- DUKE (B. O. L.), 1967. — Infective filaria larvae, other than *Onchocerca volvulus*, in *Simulium damnosum*. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 61, 200-205.
- FAIN (A.), HÉRIN (V.) et THIENPONT (D.), 1955. — Filariose de Bovidés au Ruanda Urundi. III. Etude parasitologique. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 35, 555-582.
- FENG (L. C.), 1936. — The development of *Microfilaria malayi* in *A. hyrcanus* var. *sinensis* *Wied. Chinese Med. J.*, suppl. 1, 345-367.
- GRASSÉ (P.), 1965. — *Traité de Zoologie*, 4, Némathelminthes, 2<sup>e</sup> fasc., 732 pp.
- KOBAYASHI (H.), 1939. — Supplementary study regarding the organisation of *Microfilaria bancrofti*. *Acta Jap. Méd. Trop.*, 1, 193-202.
- , 1940. — On the development of *Microfilaria bancrofti* in the body of the mosquito (*Culex fatigans*). *Acta Jap. Méd. Trop.*, 2, 63.
- LE BERRE (R.), 1966. — Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mémoires O.R.S.T.O.M.*, 17, 204 pp.
- LOOSS (A.), 1914. — Würmer und die von ihnen hervorgernfenen Erkrankungen. *Menses Handb. d. Tropenkrankh.*, 2nd Ed. 433 (non consulté).

- MOIGNOUX (J.), 1952. — Les Onchocerques des Equidés. *Acta Tropica*, 9, 125-150.
- NELSON (G. S.), 1959. — The identification of infective filarial larvae in Mosquitoes: with a note on the species found in « wild » Mosquitoes in the Kenya Coast. *J. Helm.*, 33, 233-256.
- et PESTER (F. R. N.), 1962. — The identification of infective filarial larvae in Simuliidae. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 27, 473-481.
- RODENWALT (E.), 1914. — Eine neue Mikrofilarie im Blut des Menschen. *Arch. Schiffs Trop. Hyg.*, 18, 1-11.
- , 1921. — Seuchenkämpfe. *Bericht des keratenden Hygieniker der V. kaiserlich-osmanischen Armee*. Heidelberg: C. Winter (non consulté).
- SCHACHER (J. F.), 1962. — Morphology of the microfilaria of *Brugia pahangi* and of the larval stages in the mosquito. *J. Parasit.*, 48, 679-692.
- TAYLOR (A. E. R.), 1960. — The development of *Dirofilaria immitis* in the Mosquito *Aedes aegypti*. *J. Helm.*, 34, 27-38.
-