Annales de Parasitologie (Paris), t. **45**, 1970, n° 3, pp. 295 à 320

Mécanisme de la traversée de la paroi stomacale par les microfilaires chez *Anopheles stephensi* et *Simulium damnosum*.

Mise en évidence d'un séjour des microfilaires dans l'épithélium digestif (1)

par **O. BAIN** et **B. PHILIPPON**

Laboratoire de Zoologie (Vers), associé au C.N.R.S. (Pr A.-G. CHABAUD), *Muséum National d'Histoire Naturelle, 57, rue Cuvier, F 75 - Paris-5e, et Section Onchocercose, Centre Muraz, Bobo-Dioulasso (Haute-Volta)*

SOMMAIRE

INTRODUCTION.

CHAPITRE I. — Etude histologique de la traversée de la paroi stomacale d'*Anopheles stephensi* par les microfilaires de *Foleyella furcata, F. candezei* et *Saurositus agamae hamoni*.

A) Traversée de la paroi stomacale par les microfilaires de *Foleyella furcata*.

B) Traversée de la paroi stomacale par les microfilaires de *Foleyella candezei*.

C) Traversée de la paroi stomacale par les microfilaires de *Saurositus agamae hamoni*.

Interprétation.

Appendice au chapitre I. — La destruction de l'épithélium stomacal par les microfilaires, une cause de la mortalité chez les Anophèles hyperinfectés.

CHAPITRE II. — Etude histologique de la traversée de la paroi stomacale de *Simulium damnosum* par les microfilaires d'*Onchocerca volvulus*.

CONCLUSION.

BIBLIOGRAPHIE.

(1) Ces recherches ont bénéficié du soutien financier de l'Organisation Mondiale de la Santé.

Article available at http://www.parasite-journal.org or https://doi.org/10.1051/parasite/1970453295

Résumé

Une étude du mécanisme de la traversée de la paroi stomacale par les microfilaires est entreprise chez *Anopheles stephensi* et *Simulium damnosum*.

Chez *A. stephensi*, les observations sont effectuées sur trois espèces de Filaires de Reptiles (*Foleyella furcata*, *F. candezei* et *Saurositus agamae hamoni*) dont les cycles ont été réalisés chez ce vecteur au laboratoire. Des dissections à frais d'*A. stephensi* infecté par *F. furcata* montrent que 80 à 100 % des microfilaires ingérées atteignent l'hémocèle et que les passages des microfilaires s'effectuent essentiellement pendant les trois premières heures qui suivent le repas ; les lamelles péritrophiques visibles sur coupes histologiques, qui entourent plus ou moins régulièrement le repas de sang, ne gênent pas la sortie des microfilaires. Avec *F. candezei* et *S. a. hamoni*, une forte proportion des microfilaires est rapidement détruite dans l'estomac. Mais chez ces trois espèces de Filaires, les images histologiques présentées lors de la traversée de la paroi stomacale sont identiques : de nombreuses microfilaires sont entièrement lovées dans une ou plusieurs cellules digestives et distendent parfois la lame conjonctive qui entoure l'estomac.

Ces microfilaires intraépithéliales se rencontrent au niveau des cellules digestives peu étirées et épaisses, qui sont principalement localisées dans la région postérieure de l'estomac (cette répartition particulière des microfilaires persiste chez les moustiques qu'on oblige à digérer la tête en bas). Aucun embrochage complet de la paroi stomacale par les microfilaires n'a été observé quelle que soit la minceur de l'épithélium digestif. Nous pensons donc que les microfilaires traversent la paroi digestive en trois temps : perforation rapide de la bordure striée de la cellule digestive, pénétration au sein du cytoplasme digestif et possibilité pour la microfilaire de migrer d'une cellule à l'autre, perforation retardée de la lame conjonctive péristomacale qui est assez résistante. La phase intraépithéliale des microfilaires provoque chez les Anophèles hyperinfectés une abrasion de l'épithélium digestif qui entraîne la mort du moustique ; dans ce cas, la lame conjonctive, généralement saine, enveloppe seule le repas sanguin.

Chez une population de *S. damnosum*, appartenant à une région de savane arbustive en Haute-Volta, et gorgée sur Onchocerquien, les dissections à frais ont montré que quelques rares microfilaires d'*Onchocerca volvulus* (1 sur 100 environ) traversent la paroi stomacale ; elles atteignent l'hémocèle de une minute à douze heures après le repas. Sur coupes, la majorité des microfilaires apparaît rapidement emprisonnée dans les mailles d'un

réseau de lamelles péritrophiques. La sortie tardive des microfilaires paraît donc être incompatible avec l'établissement précoce d'un barrage péritrophique efficace. La découverte de microfilaires intraépithéliales, comparables à celles observées chez *A. stephensi,* semble apporter une solution à ce problème : nous pensons que quelques microfilaires arrivent à pénétrer assez vite dans l'épithélium avant que le barrage péritrophique ne soit mis en place ; une fois dans les cellules digestives, elles sont à l'abri des sécrétions péritrophiques ; la lame conjonctive assez résistante est ensuite plus ou moins rapidement perforée par les microfilaires.

Summary

The process of crossing the stomachal wall by microfilariae was studied in *Anopheles stephensi* and *Simulium damnosum.*

In *A. stephensi* observations were made on three species of filariae from Reptiles (*Foleyella furcata, F. candezei* and *Saurositus agamae hamoni*) and life-cycles were obtained in this vector at the laboratory. In *F. furcata,* dissections of live *A. stephensi* have demonstrated that 80 to 100 % of ingested microfilariae reach the haemocoel and that the crossing by microfilariae is taking place only during the first three hours after ingestion ; from histological sections it could be observed that the peritrophic lamellae which are surrounding the ingested blood are not preventing the crossing out of microfilariae.

In *F. candezei* and *S. a. hamoni* a large portion of microfilariae are soon to be destroyed in the very stomach. But in these three filaria species similar histological features are to be found, during the passing through the stomachal wall : i.e. numerous microfilarias are to be found coiled into one or several digestive cells, sometimes distorting the conjonctive sheath which is surrounding the stomach.

These intraepithelial microfilariae are to be found among the thick and less stretched out digestive cells which are mostly localised in the lower part of the stomach (this particular distribution of microfilariae is kept unaltered even if mosquitos are kept with their head upside down during digestion). No full broaching of the whole stomach wall by microfilariae has been observed howewer thin the digestive epithelium could be. So we presume that microfilariae are passing through the digestive wall in three times : by rapid drilling of the brush border of the digestive cell, by penetration into the digestive cytoplasm with possibility to migrate from one cell to another, and delayed perforation of the conjonctive peristomachal layer which is rather

obstructive. In the hyperinfested *Anopheles* the microfilarian intraepithelial stay induces an abrasion of the digestive epithelium which is lethal to the mosquito : in this case the usually sound conjonctive sheath is the sole layer remaining around the ingested blood.

Among a population of *S. damnosum* from a bush savannah in Upper Volta which has been fed upon Onchocerquians, dissections from live specimens indicate that few microfilariae (one out of 100 approximatively) from *Onchocerca volvulus* have been able to cross the stomachal wall ; they reach the haemocoel one minute to 12 hours after feeding. On sections, most of the microfilariae are to be seen rapidly entrapped into the meshes of a lamellar peritrophic net. A delayed crossing out by microfilariae seems contradictory to the early establishment of an helpful peritrophic shield. The finding of intraepithelial microfilariae similar to these observed in *A. stephensi* seems to solve this problem : we presume that some microfilariae are able to penetrate into the epithelium before the peritrophic shield could be fully established ; once being inside the digestive cells they are protected against the peritrophic secretions ; the rather strong conjonctive layer is then perforated more or less rapidly by microfilariae.

INTRODUCTION

La gravité de l'Onchocercose humaine rend particulièrement nécessaire la connaissance précise des différentes phases du cycle d'*Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) et des facteurs qui limitent ou favorisent ce cycle.

Au niveau du vecteur, *Simulium damnosum* Theobald, 1903, Lewis (1950 et 1953) puis Duke et Lewis (1964) ont insisté sur l'importance d'un facteur limitant efficace : la membrane péritrophique, qui bloque une grande quantité de microfilaires ingérées.

Dans un foyer de Haute-Volta, de très nombreuses dissections de Simulies fraîchement gorgées ont confirmé l'importance du barrage péritrophique ; elles ont aussi posé un problème : les arrivées des microfilaires s'étalent sur les douze premières heures qui suivent le repas de sang (2), or quelques premières observations histologiques montrent que la membrane péritrophique forme une enveloppe continue autour du sang dès la troisième heure.

La méthode histologique ne semblait pas être appropriée à l'étude de ce problème à cause de la rareté extrême des microfilaires qui traversent la paroi stomacale dans ce foyer de Haute-Volta. Ce problème a pu être éclairci après avoir étudié la traversée

(2) L'analyse quantitative détaillée de la traversée de la paroi stomacale de *S. damnosum* par les microfilaires d'*O. volvulus* est exposée par B. Philippon et O. Bain dans un article en cours.

de la paroi stomacale par d'autres espèces de microfilaires chez *Anopheles stephensi*, vecteur chez lequel la membrane péritrophique ne bloque pas les microfilaires et qui est ainsi plus favorable aux observations histologiques.

Malgré des différences quantitatives importantes entre ces deux vecteurs, le mécanisme de la traversée de l'épithélium digestif s'est révélé être fondamentalement le même.

Cette note comprend donc une analyse histologique de la traversée de la paroi stomacale d'*A. stephensi* par trois espèces de microfilaires, suivie d'une étude sur la mortalité des moustiques hyperinfectés (qui apparaît comme une conséquence du comportement des microfilaires dans l'épithélium stomacal) et d'une analyse histologique du même phénomène chez *S. damnosum* infecté par *O. volvulus*.

CHAPITRE I. — ETUDE HISTOLOGIQUE DE LA TRAVERSÉE DE LA PAROI STOMACALE D'*Anopheles stephensi* PAR LES MICROFILAIRES DE *Foleyella furcata, F. candezei* ET *Saurositus agamae hamoni*

Le mécanisme de la traversée de la paroi stomacale d'*Anopheles stephensi* par les microfilaires est étudié par des techniques histologiques successivement chez trois espèces de Filaires de Reptiles : *Foleyella furcata* (Linstow, 1899), *Foleyella candezei* (Fraipont, 1882) et *Saurositus agamae hamoni* Bain, 1969.

A. Traversée de la paroi stomacale par les microfilaires de *Foleyella furcata*.

Matériel et méthodes.

Foleyella furcata est fourni par deux *Chameleo verrucosus* Cuv., originaires du sud de Madagascar : le 287 W, provenant de Tanandava et le 2 JJ provenant de Tulear (3).

Les microfilaires récoltées dans le sang des Caméléons mesurent en moyenne 140 μ de long et 6 μ de large. Leur développement larvaire (Bain, 1969) s'effectue dans le tissu adipeux abdominal et thoracique d'*Anopheles stephensi*.

La souche d'*A. stephensi* est celle de Shute utilisée habituellement au laboratoire et élevée entre 23° et 25°.

Au cours du repas de sang, les moustiques prennent en moyenne 22 microfilaires sur 287 W et 380 microfilaires sur 2 JJ.

Une partie des moustiques gorgés est tuée à l'éther à des temps précis après le repas, puis disséquée dans le Ringer. Pour connaître le moment exact auquel un moustique s'est gorgé, un faible nombre de ♀ (5 environ) est placé dans une petite cage, en présence d'un Caméléon infecté ; un moustique gorgé se repère ainsi facilement ; il est isolé dans un tube sur lequel est notée l'heure du repas.

---

(3) Nous remercions vivement M. Brygoo et M. Prod'hon qui nous ont aimablement envoyé ces Caméléons.

A la dissection, la tête est ôtée, le tube digestif est isolé dans une goutte de Ringer, et observé quelques minutes *in toto* à la loupe binoculaire ; des microfilaires peuvent continuer à s'échapper de l'estomac : le lieu de leur sortie est noté ; le tube digestif et le repas sanguin sont ensuite dilacérés et les microfilaires qu'ils contiennent sont comptées au microscope. L'abdomen et le thorax sont isolés et dilacérés dans une autre goutte et leurs microfilaires sont comptées. Le pourcentage des microfilaires ayant atteint l'hémocèle est calculé pour chaque moustique.

Une autre fraction de moustiques gorgés est recueillie dans les mêmes conditions et tuée à l'éther, fixée au Carnoy puis coupée et colorée à l'hémalun-éosine ou à l'Azan.

Observations effectuées sur des moustiques fraîchement disséqués.

Ces observations concernent la consistance du repas sanguin et le lieu de sortie des microfilaires.

La consistance du repas sanguin varie : juste après le gorgement, il est généralement liquide ; une heure plus tard, il forme une masse coagulée et il conserve ensuite cet aspect.

Chez des moustiques fortement infectés, disséqués dix à quinze minutes après le repas, il est fréquent d'observer des microfilaires qui sortent de l'estomac ; ces sorties ont lieu essentiellement dans la région postérieure, juste en avant du proctodeum, plus rarement à la base du cardia, parfois dans la région moyenne de l'estomac.

Sondages quantitatifs (pourcentage des microfilaires qui traversent la paroi stomacale ; chronologie de cette traversée).

Une étude numérique de la traversée de la paroi stomacale par les microfilaires de *F. furcata* est actuellement en cours. Nous exposons ici les premiers résultats qui ont servi de cadre à l'étude histologique.

Cinq moustiques disséqués une à cinq minutes après le repas n'ont aucune microfilaire dans l'hémocèle.

Sur douze moustiques disséqués dix minutes après le repas, quatre n'ont pas de microfilaire dans l'hémocèle, trois en ont une ou deux (0,2 à 0,5 % du total des microfilaires ingérées) et chez les cinq autres, 4 à 19 % des microfilaires ont atteint l'hémocèle, la moyenne globale étant égale à 4,3 % (4, 4, 6, 18, 19 %).

Sur neuf moustiques disséqués quinze minutes après le repas (4), un seul n'a pas de microfilaire dans l'hémocèle ; chez les autres 9 à 47 % des microfilaires ont atteint l'hémocèle avec une moyenne globale de 23 % (0, 9,5, 9, 16, 26, 28,5, 33, 39, 47 %).

Sur six moustiques disséqués une heure après le repas (4), un spécimen n'a pas encore de microfilaire dans l'hémocèle ; chez les autres ♀, le pourcentage de ces microfilaires varie de 11 à 40,9 % avec une moyenne de 19,5 % (0, 11, 12,5, 17,8, 35, 40,9).

(4) Dans quelques cas les ♀ gorgées étaient trop nombreuses pour être disséquées au fur et à mesure, parmi les ♀ tuées à 15', 1 h et 2 à 3 h ; quelques spécimens ont donc été placés en attente au frigidaire à 4° ; à cette température les microfilaires sont immobilisées. Les résultats numériques obtenus dans ces conditions nous semblent être conformes à ceux trouvés lors des dissections immédiates.

Sur douze moustiques disséqués deux à trois heures (4) après le repas tous présentent des microfilaires dans l'hémocèle ; le pourcentage de ces microfilaires varie de 7 à 100 % avec une moyenne de 69 % (7, 41, 60, 68, 72, 73, 74, 77, 80, 84, 87, 100 %).

Sur les dix ♀ disséquées vingt-quatre heures après le repas, les microfilaires qui restent dans l'estomac sont en destruction plus ou moins avancée ; le pourcentage des microfilaires ayant atteint l'hémocèle (basé sur le total des microfilaires encore visibles dans l'estomac) varie entre 61 et 100 %, avec une moyenne de 78,6 % (61, 63, 66, 67, 70, 80, 87, 92, 100, 100 %).

Ces données sont encore insuffisantes pour établir la chronologie précise de l'arrivée des microfilaires dans l'hémocèle ; ainsi la moyenne obtenue actuellement à une heure est très voisine, et même légèrement inférieure à celle de 15 minutes, et de nouvelles dissections devront confirmer ces résultats avant qu'ils puissent être interprétés.

Mais ces chiffres montrent que les microfilaires commencent à atteindre l'hémocèle dix minutes après le repas ; entre dix et quinze minutes elles passent en grand nombre dans la cavité générale (4 % à 10' et 23 % à 15') ; trois heures après le repas le pourcentage des microfilaires ayant atteint l'hémocèle est très proche du pourcentage définitif ; la majorité des microfilaires a donc traversé la paroi stomacale entre dix minutes et trois heures.

Etude histologique.

Les données numériques paraissant indiquer un passage particulièrement actif entre dix et vingt minutes, de nombreuses ♀ ont été fixées à ce moment ; d'autres fixations ont été effectuées à une minute, trente minutes, une heure, trois heures, six heures et vingt-quatre heures.

1) Description de l'estomac d'un moustique sain ; son évolution au cours de la digestion (24 premières heures après le repas).

L'ingestion du sang produit un étirement de l'épithélium digestif mais l'amincissement provoqué chez les cellules épithéliales ne se manifeste pas de façon homogène.

En certaines zones les cellules stomacales restent hautes ; ces zones ont une localisation constante : ce sont la région de la base du cardia (cellules hautes de 20 μ à 50 μ) et la région située juste en avant du proctodeum qui forme une bande souvent étroite dorsalement et large ventralement (cellules hautes de 15 μ à 90 μ) ; les cellules les plus hautes ont souvent une base étroite mais leur apex est très gonflé et fait saillie dans la lumière stomacale (pl. 1, photo 1). Il existe en outre assez souvent quelques cellules hautes (18 à 15 μ) groupées dans le plan transversal médian de l'estomac. L'épithélium des régions moyenne et antérieure est au contraire mince et plat, la hauteur des cellules ne dépassant pas 2,5 μ (les noyaux eux-mêmes sont étirés et aplatis) (pl. 1, photo 2). Quand le repas sanguin est réduit, les différences d'épaisseur des cellules entre les régions antérieure et postérieure s'estompent, toute la paroi stomacale pouvant être épaisse et plissée. De même, les inégalités d'épaisseur de l'épithélium, qui sont nettes chez les ♀ bien gorgées pendant les premières heures

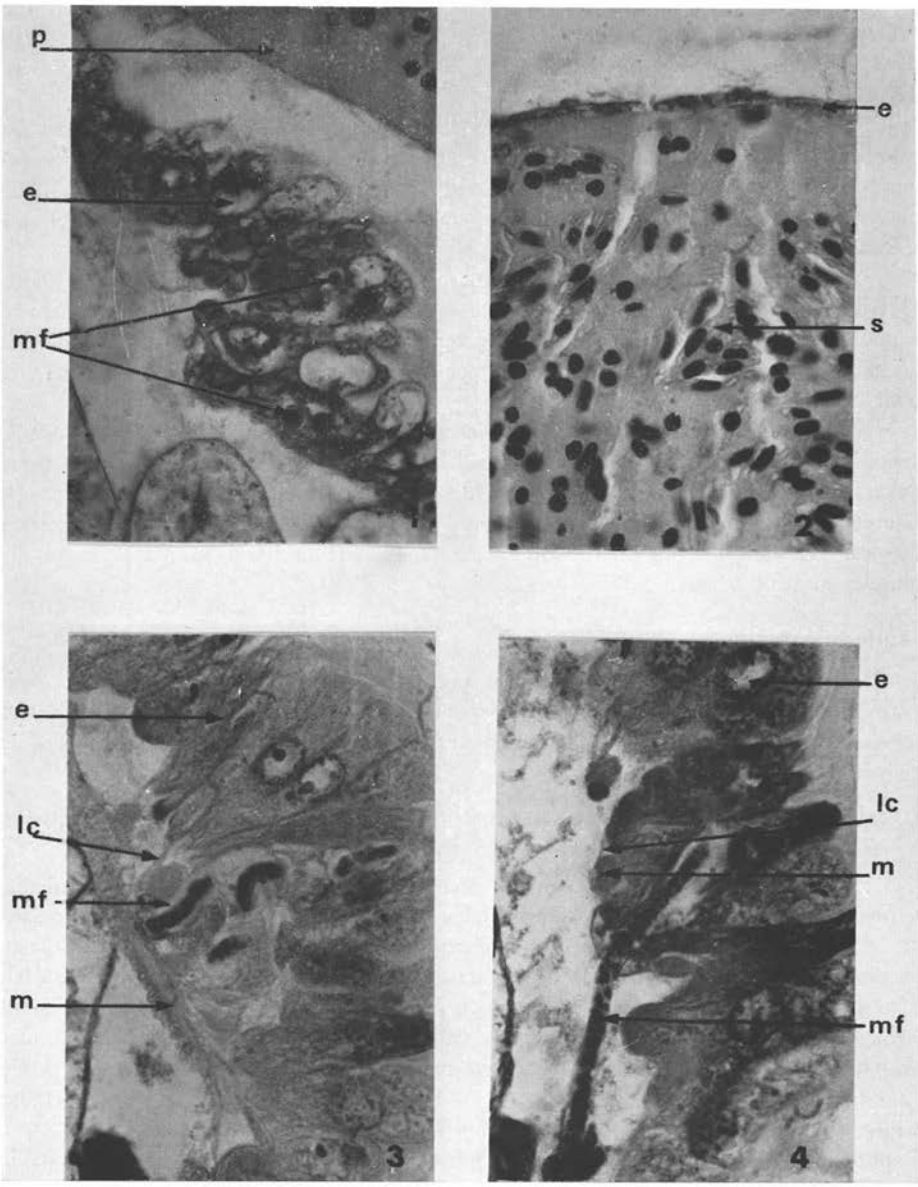

PLANCHE 1. — *Foleyella furcata* chez *Anopheles stephensi ;* 20' après le repas ; photo 1 : Epithélium épais de la région préproctodéale ventrale, avec 2 sections de microfilaires intraépithéliales. Photo 2 : Epithélium mince de la région antérieure. Photo 3 : Microfilaire lovée dans une cellule épithéliale postérieure et bloquée par la musculature et la lame conjonctive péristomacales. Photo 4 : Microfilaire qui traverse la lame conjonctive et passe dans l hémocèle

qui suivent le repas, se réduisent au cours de la digestion : vers la sixième heure, l'épithélium antérieur commence à s'épaissir et ses cellules acquièrent un cytoplasme bien visible ; vers la vingt-quatrième heure, toutes les cellules sont hautes et leur cytoplasme est chargé de réserves (graisse et substance P.A.S. +) (fig. 1 A).

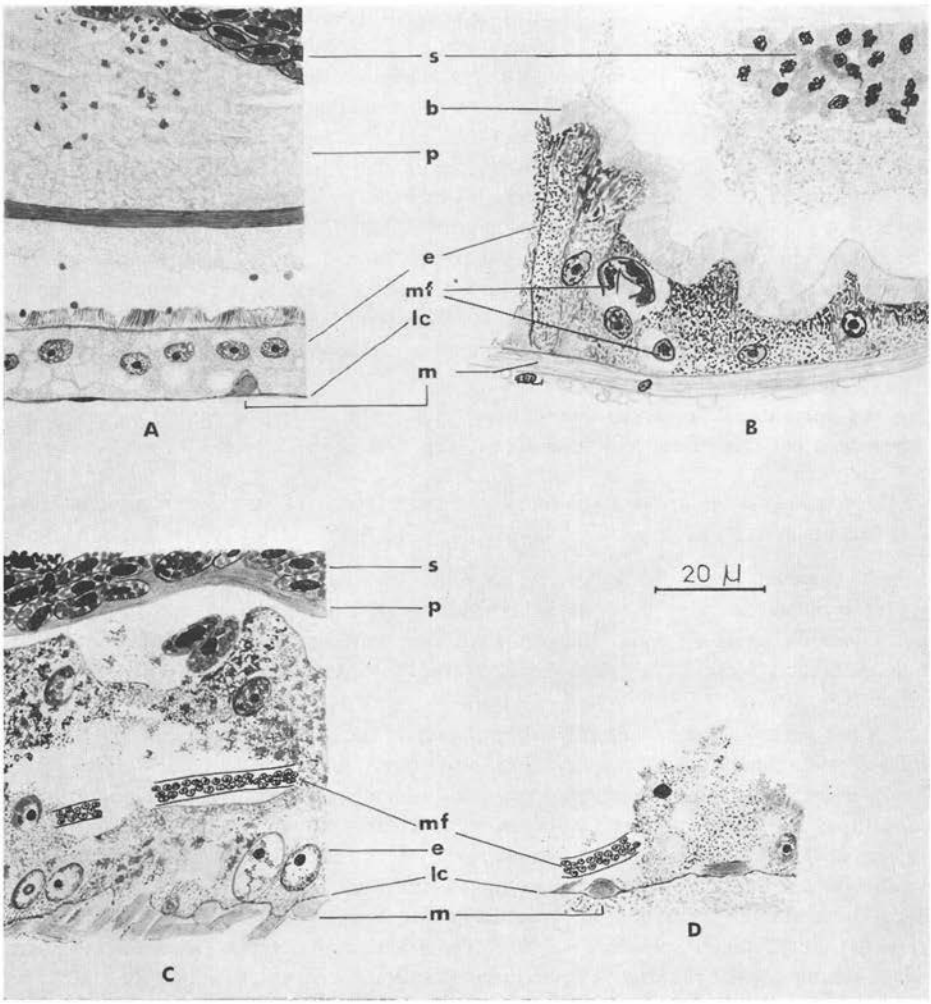

FIG. 1. — *Anopheles stephensi :* A. moustique sain, gorgé depuis 24 h montrant l'épithélium digestif riche en réserves et les différents aspects de la membrane péritrophique ; B. moustique infecté par *F. furcata,* gorgé depuis 20', montrant des sections de microfilaires dans les cellules épithéliales ; C. cellules épithéliales postérieures lésées par des microfilaires de *F. furcata,* 1 h après le repas ; D. épithélium digestif détruit par des microfilaires de *F. candezei,* 12 h après le repas

e : épithélium digestif ; lc : lame conjonctive ; m : muscle ; mf : microfilaire ; p : membrane péritrophique ; s : repas sanguin ; g : gaine de microfilaire ; b : bordure en brosse ; c : coagulum.

Toutes les cellules épithéliales ont une bordure striée dont l'épaisseur varie ; elle est en général plus épaisse dans la région préproctodéale et peut localement disparaître ; certaines cellules peu épaisses semblent s'effilocher dans la lumière stomacale peu de temps après le repas ; la bordure en brosse est très nette vingt-quatre heures après le repas (fig. 1 A).

Dès les premières minutes, la membrane péritrophique est sécrétée et a une structure lamelleuse ou l'aspect d'un coagulum amorphe (évolution suivie par les colorations à l'Azan) (pl. 1, photo 1) ; les lamelles sont surtout nettes dans la région postérieure mais se rencontrent aussi en des zones variables et discontinues ; elles sont minces et empilées ou épaisses et isolées. Une heure après le repas ces fragments de lamelle sont reliés les uns aux autres par un coagulum dense dans la région postérieure et plus diffus dans la région antérieure. La membrane péritrophique ainsi constituée est épaisse de 3 μ à 30 μ (l'épaisseur est plus grande dans la région postérieure). Au cours des heures suivantes et jusqu'à la vingt-quatrième heure la croûte péritrophique devient plus compacte encore et de nouvelles lamelles sont sécrétées ; vers l'avant la membrane péritrophique reste mince (4 μ environ) mais elle atteint 50 à 70 μ près du proctodeum ; l'ensemble du repas sanguin et de la membrane péritrophique ont été souvent séparés de l'épithélium sous l'action du fixateur.

La paroi digestive est doublée par une musculature disposée en réseau, elle-même enveloppée par une mince lame conjonctive (fig. 1 A et pl. 1, photo 3).

2) Description de l'estomac de moustiques infectés, pendant la première heure après le repas.

Une minute après le repas, les microfilaires sont réparties uniformément dans toute la masse sanguine mais dans la région postérieure plusieurs se disposent à la périphérie du repas de sang dans un coagulum diffus, près de l'épithélium digestif. Quelques rares sections de microfilaires s'observent dans l'épithélium stomacal postérieur.

Chez les moustiques fixés entre dix minutes et une heure (durant cette période les images sont comparables), une quantité importante des microfilaires est située dans l'épithélium digestif. La proportion exacte de ces microfilaires a été évaluée chez un moustique fixé vingt minutes après le repas et très fortement infecté (161 JJ) (en raison de leur abondance, les microfilaires n'ont pu être identifiées d'une coupe à l'autre et une étude de la répartition des sections de microfilaires a été effectuée) ; sur une trentaine de coupes un total de 1.651 sections a été dénombré ; elles sont réparties de la façon suivante : 13 % à l'extérieur de l'estomac, 60 % à l'intérieur de l'estomac et 27 % dans l'épithélium stomacal. Ces microfilaires occupent les cellules épithéliales épaisses (15 μ à 90 μ) et sont donc situées presque exclusivement dans la moitié postérieure de l'estomac, plus rarement au niveau des cellules cardiales, comme le montrent les comptages effectués sur quelques coupes : moustique 160 JJ, 0 section dans la région antérieure, et 16 sections dans la région postérieure ; moustique 169 JJ, fixé une heure après le repas, 0 microfilaire dans la région antérieure, 4 microfilaires dans la région postérieure ; moustique 170 JJ, fixé comme 169 JJ,

1 microfilaire dans la région antérieure, 9 microfilaires dans la région postérieure (ces deux derniers moustiques ont une infection assez faible qui permet aisément d'identifier d'une coupe à l'autre les microfilaires). Les groupes de cellules hautes situées dans le plan médian transversal de l'estomac sont souvent parasités. Les microfilaires se présentent généralement en sections transversales, au sein du cytoplasme (pl. 1, photo 1) ; une microfilaire peut être suivie sur une épaisseur de 50 à 70 μ montrant qu'elle occupe plusieurs cellules contiguës ; elle est entièrement intracellulaire, parfois lovée sur elle-même. Les cellules digestives ainsi parasitées paraissent saines ; dans certains cas toutefois (par exemple, densité très élevée des microfilaires), l'apex de la cellule est broyé et détruit (pl. 3, photo 4).

La pénétration des microfilaires dans l'épithélium et leur sortie vers l'hémocèle (pl. 1, photo 4) s'observent peu fréquemment : chez le moustique 161 JJ, sur 210 sections de microfilaires épithéliales, comptées sur plusieurs coupes, aucun passage vers l'hémocèle n'est observé et il n'y a que trois cas de pénétration dans l'épithélium ; chez le moustique 170 JJ, sur dix microfilaires épithéliales, deux passent vers l'hémocèle. Aucune microfilaire embrochant de part en part la paroi stomacale (épithélium et lame conjonctive) n'a été observée, ces deux étapes paraissant être chronologiquement séparées. Parfois des microfilaires s'observent entre la base de la cellule épithéliale et l'enveloppe musculaire et conjonctive (pl. 1, photo 3). Quelques rares microfilaires pénètrent perpendiculairement dans l'épithélium ; elles ont été observées au niveau des épithéliums épais.

Les microfilaires qui sont encore dans la lumière stomacale sont principalement réparties dans la région périphérique du repas de sang (5) : un comptage des sections des microfilaires effectué chez le moustique 161 JJ donne 6 sections centrales et 49 sections périphériques. Les microfilaires sont généralement parallèles à la paroi de l'estomac, caractère qui est bien mis en évidence sur les coupes tangentielles. Les microfilaires restées dans le sang sont également réparties entre les moitiés antérieure et postérieure : moustique 161 JJ, 21 sections antérieures et 27 sections postérieures sur une coupe, 51 sections antérieures et 62 sections postérieures sur une deuxième coupe ; moustique 169 JJ, 8 sections antérieures et 5 sections postérieures ; moustique 172 JJ fixé 10 minutes après le repas, 68 sections antérieures et 51 sections postérieures.

3) Cas particulier des moustiques infectés digérant la tête en bas, fixés dix a vingt minutes après le repas.

Des moustiques ont été astreints à digérer la tête en bas en étant maintenus par contension dans de petits tubes. Ils ont été fixés dix à vingt minutes après le repas.

Les comptages des microfilaires dans l'épithélium ont donné les résultats suivants pour deux ♀ : chez 166 JJ, 74 sections dans l'épithélium antérieur et 91 sections dans l'épithélium postérieur ; chez ce moustique, le repas de sang est réduit, l'épithélium stomacal est épais même dans la région antérieure et est presque uniformément infecté. Chez 164 JJ, 2 microfilaires dans l'épithélium antérieur et 7 microfilaires dans l'épithé-

(5) Cette région, délimitée approximativement, comprend la couche externe du repas sanguin, le coagulum et l'espace de rétraction compris entre le coagulum et l'épithélium digestif.

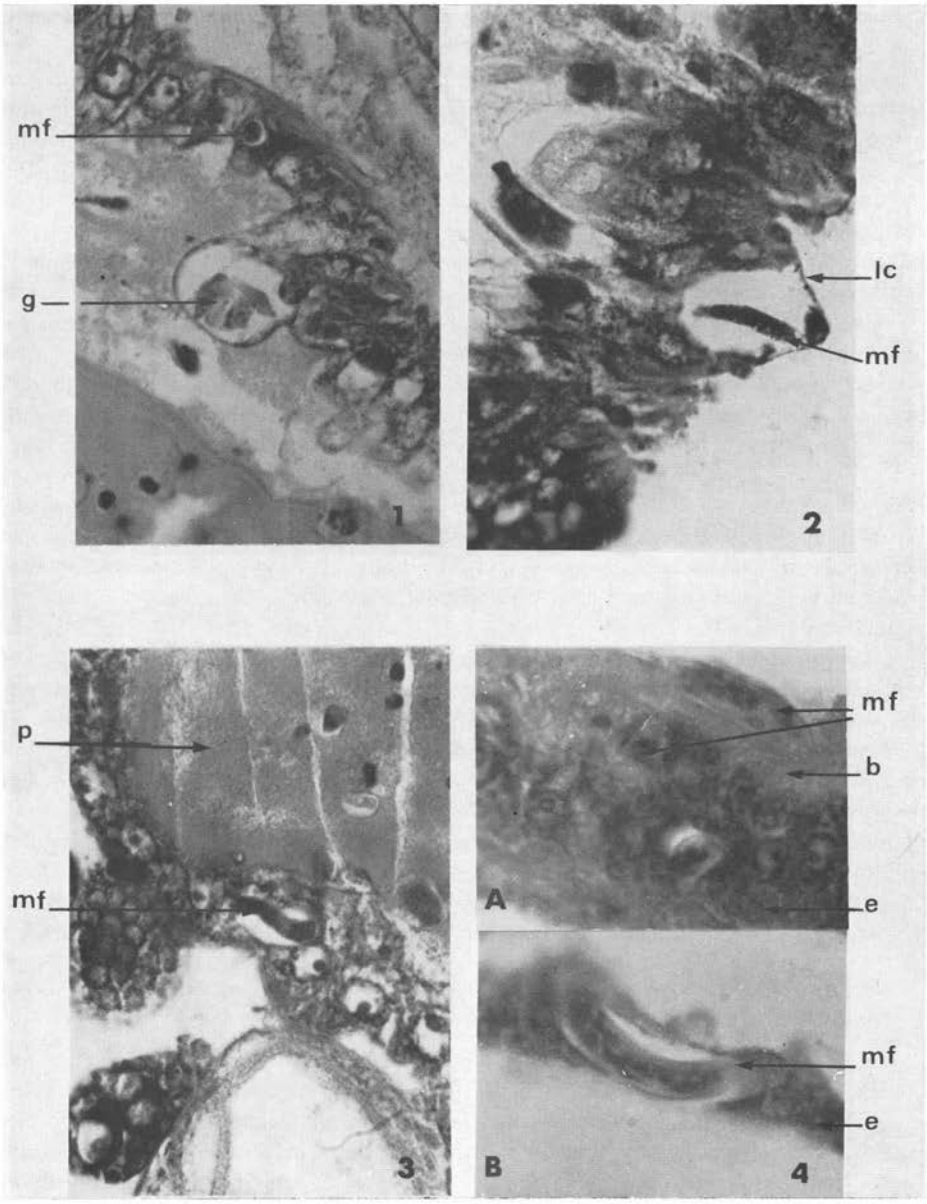

PLANCHE 2. — Photos 1 à 3 *Anopheles stephensi ;* photo 1 : Gaine d'une microfilaire de *F. furcata* dans une cellule épithéliale postéro-ventrale (1 h après le repas). Photo 2 : Microfilaire de *F. candezei* étirant la lame conjonctive (3 h après le repas). Photo 3 : Microfilaire de *S. a. hamoni* dans une cellule épithéliale postérieure (30' après le repas). Photo 4 A et B : Epithélium de *S. damnosum* fixés respectivement à 30' et 1 h, renfermant chacun une section de microfilaire

lium postérieur (dans la lumière stomacale, il y a 20 microfilaires dans la région postérieure et 34 microfilaires dans la région antérieure) ; chez ce deuxième moustique, le repas est moins réduit, la paroi stomacale est mince dans la région antéro-dorsale, la seule qui reste indemne de microfilaires.

4) DESCRIPTION DE L'ESTOMAC DE MOUSTIQUES INFECTÉS TROIS HEURES APRÈS LE REPAS.

Les microfilaires situées dans la masse sanguine et dans l'épithélium sont rares ; elles sont au contraire nombreuses dans l'hémocèle et le tissu adipeux.

Les cellules épithéliales renferment fréquemment les gaines des microfilaires (pl. 2, photo 1) qui les ont traversées, mais une certaine proportion de ces gaines est abandonnée dans la masse sanguine.

Chez les moustiques peu infectés, quand le passage ancien d'une microfilaire n'est pas attesté par la présence de la gaine, il est le plus souvent impossible à détecter, car les cellules épithéliales ont gardé un aspect sain ; dans quelques cas toutefois des cellules hautes ont une morphologie anormale qui pourrait correspondre à des cicatrices du passage des microfilaires : le cytoplasme présente un aspect piqueté avec des plages denses basophiles et des inclusions éosinophiles tandis que le noyau est anormalement foncé.

Chez les moustiques fortement infectés les cellules épithéliales sont déchirées.

B. Traversée de la paroi stomacale par les microfilaires de *Foleyella candezei.*

Matériel et méthode.

Foleyella candezei est fourni par les *Chameleo senegalensis laevigatus* Gray n° 119 JJ, 120 JJ et 253 JJ provenant de Pala (Haute-Volta).

Les microfilaires récoltées dans le sang des Caméléons mesurent en moyenne 92 μ de long et 6,5 à 7 μ de large. Leur dévelopement (Bain, sous presse) est semblable à celui de *F. furcata.*

Les techniques de dissection et de fixation sont les mêmes que celles qui sont exposées pour *F. furcata.*

Quelques dissections ont montré que les moustiques prenaient en moyenne 150 microfilaires durant le repas sanguin et qu'une forte proportion de ces microfilaires mouraient dans l'estomac (jusqu'à 80 %).

Description de l'estomac de moustiques infectés.

Des moustiques fixés vingt minutes après le repas montrent des microfilaires restées dans la lumière stomacale (dont plus de la moitié située à la périphérie de la masse sanguine et parallèlement à la paroi digestive) et des microfilaires entièrement enfouies dans une ou plusieurs cellules contiguës de l'épithélium stomacal ; ces microfilaires intra-épithéliales sont réparties comme celles de *F. furcata,* c'est-à-dire principa-

lement dans la région postérieure épaisse de l'estomac et, moins souvent, dans les autres cellules hautes, telles que les cellules cardiales. Les microfilaires sont souvent situées entre l'épithélium et la lame conjonctive, qui peut alors être étirée (pl. 2, photo 2).

Vingt-quatre heures après le repas sanguin il reste encore de nombreuses microfilaires dans la masse sanguine.

C. Traversée de la paroi stomacale par les microfilaires de *Saurositus agamae hamoni*

Matériel.

Saurositus agamae hamoni est fourni par *Agama agama* 592 JJ et 778 JJ provenant de Somousso (Haute-Volta) (6).

Les microfilaires récoltées dans le sang des Agames mesurent en moyenne 90 μ de long et 7,5 μ de large. Le développement s'effectue chez *A. stephensi* dans les muscles alaires (Bain, sous presse).

Quelques moustiques gorgés sur 778 JJ sont disséqués : sur 60 microfilaires ingérées en moyenne, 50 à 80 % sont déjà mortes une heure après le repas et 0 à 4,5 % ont atteint l'hémocèle. Sur 592 JJ, trois fois moins de microfilaires sont ingérées.

Description de l'estomac de moustiques infectés.

Le faible nombre de microfilaires ingérées (les moustiques fixés se sont gorgés sur 592 JJ) et la proportion très réduite des microfilaires qui traversent la paroi stomacale ne permettent pas d'apprécier, comme pour les deux Filaires précédentes, la répartition des microfilaires dans leur ensemble.

Mais chez des moustiques fixés trente minutes après le repas, les quelques microfilaires observées en train de traverser la paroi stomacale présentent les mêmes caractères que chez les *Foleyella* étudiées : les microfilaires sont lovées dans une ou plusieurs cellules contiguës et les cellules parasitées sont épaisses (pl. 2, photo 3) (cellules de la région proctodéale). Vingt-quatre heures après le repas, des microfilaires sont complètement mélanisées et situées entre l'épithélium digestif et la lame conjonctive, ou appliquées sur la face externe de cette lame, essentiellement dans la région épaisse de l'estomac.

Interprétation.

Chez *A. stephensi*, le pourcentage des microfilaires qui atteint l'hémocèle est très variable suivant l'espèce filarienne étudiée : jusqu'à 100 % pour *F. furcata*, environ 20 % pour *F. candezei*, 3 % pour *S. agamae hamoni*. Ces inégalités sont dues

(6) Nous exprimons notre gratitude à M. Hamon et à ses collaborateurs qui nous ont envoyé ce matériel.

à la mort plus ou moins rapide des microfilaires dans l'estomac, la constitution chimique du vecteur convenant plus ou moins aux microfilaires.

Mais ces trois espèces de microfilaires présentent quelques traits communs fondamentaux : elles ne sont pas bloquées par la membrane péritrophique, qui est mince, fragile et discontinue ; elles sortent dans la région postérieure de l'estomac (observation à frais) ; elles se présentent le plus souvent enfermées dans les cellules digestives épaisses préproctodéales (observation histologique).

— HYPOTHÈSE PERMETTANT D'EXPLIQUER LE RÔLE PRIVILÉGIÉ DE LA RÉGION POSTÉRIEURE DE L'ESTOMAC :

La répartition des microfilaires dans la lumière stomacale est assez peu influencée par la pesanteur : les moustiques 161 JJ et 170 JJ, qui digèrent normalement ont des concentrations de microfilaires assez égales entre les moitiés antérieure et postérieure, et elles diffèrent peu de celles du moustique 164 JJ, qui digère la tête en bas. La sortie des microfilaires dans une zone particulière de l'estomac ne peut donc s'expliquer par une concentration plus forte des microfilaires dans cette région.

Chez le moustique 166 JJ (digestion la tête en bas), les sections des microfilaires s'observent dans tout l'épithélium digestif, or celui-ci se caractérise par des cellules épithéliales antérieures presque aussi épaisses que les cellules postérieures ; chez plusieurs autres moustiques digérant normalement, il existe quelques microfilaires situées dans les hautes cellules de la base du cardia ; la région postérieure de l'estomac des moustiques riche en microfilaires est toujours constituée par un épithélium particulièrement épais.

L'épaisseur de la cellule stomacale paraît donc être un facteur primordial pour la microfilaire. L'importance de ce facteur peut s'expliquer de la façon suivante : les microfilaires, circulant parallèlement à la surface de la paroi stomacale, glissent sur les épithéliums minces, qui sont distendus et lisses, mais peuvent aisément perforer l'apex plus ou moins saillant et gonflé des épithéliums épais.

— VIE INTRA-ÉPITHÉLIALE DES MICROFILAIRES. RÔLE DE LA LAME CONJONCTIVE PÉRISTOMACALE.

Aucun embrochage de la paroi stomacale dans son ensemble (épithélium + lame conjonctive) n'a été observé, ni dans les régions minces de l'estomac, ni dans les régions épaisses. A notre avis, cette absence ne peut pas être uniquement une conséquence des techniques histologiques (fixation trop lente pour bloquer un phénomène très rapide) ; la position des microfilaires, parallèles à la paroi stomacale, les rend peu réalisables. Par contre, la très grande fréquence des microfilaires intraépithéliales (27 % chez le moustique 161 JJ) prouve la prédominance de ce mode lent de la traversée de la paroi.

Le fait que les microfilaires sont enfouies dans les cellules épithéliales montre que la bordure striée de la cellule ainsi que ses parois latérales sont fragiles.

La présence de microfilaires situées entre les cellules épithéliales et la lame conjonctive et étirant parfois celle-ci prouvent la résistance de cette lame.

La durée de l'existence intraépithéliale d'une microfilaire est donc conditionnée par le temps qu'elle met à perforer la lame conjonctive. Cette durée est probablement très variable, allant de quelques secondes (sorties abondantes des microfilaires entre dix et vingt minutes chez *F. furcata*) à plusieurs heures (cas des microfilaires mélanisées dans l'épithélium chez *S. a. hamoni*).

La destruction de l'épithélium stomacal par les microfilaires, une cause de la mortalité chez les Anopheles hyperinfectés.

La relation entre le nombre élevé des microfilaires ingérées et la mortalité accrue et précoce des moustiques a été remarquée par de nombreux auteurs travaillant sur diverses espèces de Culicides et de Filaires (Pandit, Pandit et Iyer, 1929 ; Causey, 1939 ; Mackerras, 1953 ; Rosen, 1954 ; Le Corroler, 1957). Elle a été spécialement étudiée avec *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877) et *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856), par Kershaw, Lavoipierre et Chalmers (1953), Kartmann (1954) et Gaillard (1957) ; ces auteurs montrent que la mortalité se manifeste du premier au cinquième jour suivant le repas de sang, avec un maximum le deuxième et le troisième jours. Brygoo et coll., en 1959, expérimentant sur des *Culex fatigans* hyperinfectés par *Foleyella furcata,* observent une mortalité essentiellement le premier et le deuxième jours et montrent que le Caméléon ayant la microfilarémie la plus élevée provoque la mortalité la plus rapide.

Nous avons observé un phénomène comparable chez *Anopheles stephensi* infecté par les trois espèces de microfilaires de Reptiles :

— *A. stephensi* infecté par *F. furcata* : un lot de 37 ♀ est gorgé sur 2 JJ ; 89 % des ♀ sont mortes quarante-huit heures après le repas : 8 ♀ meurent le premier jour, 25 meurent le deuxième jour.

— *A. stephensi* infecté par *F. candezei* : un lot de 65 ♀ est gorgé sur 120 JJ ; 86 % des ♀ sont mortes en quarante-huit heures : 22 ♀ meurent le premier jour, 34 meurent le deuxième jour.

— *A. stephensi* infecté par *S. a. hamoni* : quatre lots de ♀ sont gorgés sur 778 JJ ; chez le premier lot (39 ♀), 63,5 % des ♀ meurent le premier jour ; chez le deuxième lot (62 ♀) 67,7 % des ♀ meurent le premier jour, aucune ne meurt le deuxième jour ; chez le troisième lot (179 ♀) 80 % des ♀ meurent le premier jour, aucune ne meurt le deuxième jour ; chez le quatrième lot (238 ♀) 79 % des ♀ meurent le premier jour.

Le gorgement de moustiques sur des Reptiles-témoins sains a montré qu'il existait en outre une mortalité non négligeable, indépendante de la microfilarémie, qui varie avec l'espèce de l'hôte :

— *A. stephensi* gorgés sur *Uromastix acanthinurus* : (1 lot) sur 180 ♀ gorgées, aucune mortalité n'est observée durant les quarante-huit heures qui suivent le repas.

— *A. stephensi* gorgés sur *Chameleo verrucosus* : (2 lots) sur 125 ♀ gorgées, il y a 4 % de mortalité le premier jour et 25 % le deuxième jour ; sur 107 ♀ gorgées,

il y a 2 % de mortalité le premier jour (la mortalité n'est pas observée le deuxième jour).

— *A. stephensi* gorgés sur *Agama agama* : (2 lots) sur 85 ♀, il y a 25,8 % de mortalité le premier jour et 8,2 % le deuxième jour ; sur 40 ♀, il y a 26,6 % de mortalité le premier jour (la mortalité n'est pas observée le deuxième jour).

Afin de dissocier les deux phénomènes, mortalité due à une incompatibilité vis-à-vis de l'hôte et mortalité due à l'hyperinfection, deux études histologiques ont été effectuées sur deux séries de moustiques : ♀ non infectées mourantes (7) fixées douze à vingt-quatre heures après le repas, ♀ hyperinfectées fixées une à vingt-quatre heures après le repas (les ♀ de vingt-quatre heures sont mourantes).

Ces deux types de moustiques présentent des anomalies anatomiques qui se manifestent essentiellement au niveau de l'estomac.

Etude histologique de l'estomac d'un moustique non filarien mourant.

L'estomac d'un moustique non filarien mourant se distingue essentiellement de celui d'un moustique sain de vingt-quatre heures (pl. 3, photo 1, fig. 1 A) par l'absence de membrane péritrophique lamelleuse ; la masse sanguine non digérée est mal délimitée par un coagulum non structuré, souvent très mince, et qui peut même disparaître ; l'épithélium présente des régions d'aspect normal, mais généralement ses cellules sont très pauvres en cytoplasme, vacuolaires (pl. 3, photo 3), avec une bordure en brosse clairsemée ; la lame conjonctive et la musculature sont fréquemment décollées de l'épithélium (pl. 3, photo 2).

Etude histologique de l'estomac d'un moustique hyperinfecté.

Durant les premières heures qui suivent le repas, l'épithélium stomacal apparaît déjà fortement dégradé : en certaines zones, l'apex des cellules épithéliales est déchiré par une ou plusieurs microfilaires (pl. 3, photo 4) ; en d'autres endroits, l'épithélium est formé de hautes cellules en voie de nécrose (noyaux pycnotiques, structure désordonnée (pl. 4, photo 1). Parfois l'épithélium a disparu et son ancien emplacement peut être occupé par une microfilaire (fig. 1 D). La membrane péritrophique est irrégulière mais la masse sanguine reste centrale et assez bien délimitée.

Au cours des heures suivantes les dégradations sont encore plus nettes : la paroi stomacale se réduit sur de grandes surfaces à la musculature doublée de la lame conjonctive ; celle-ci peut être distendue sous la poussée des microfilaires (pl. 4, photo 2) ; quelques cellules épithéliales témoins subsistent. Le repas sanguin non digéré n'est plus retenu par les quelques lambeaux de lamelles péritrophiques qui ont subsisté, et chez les moustiques mourants, les globules sanguins arrivent ainsi au contact de la paroi stomacale (le cytoplasme de ces globules périphériques se colore très mal).

---

(7) Les moustiques ont un comportement particulier avant de mourir : ils marchent en titubant sur le sol de la cage et sont incapables de voler. Brygoo, en 1959, décrit le même comportement chez des *Culex fatigans* mourants.

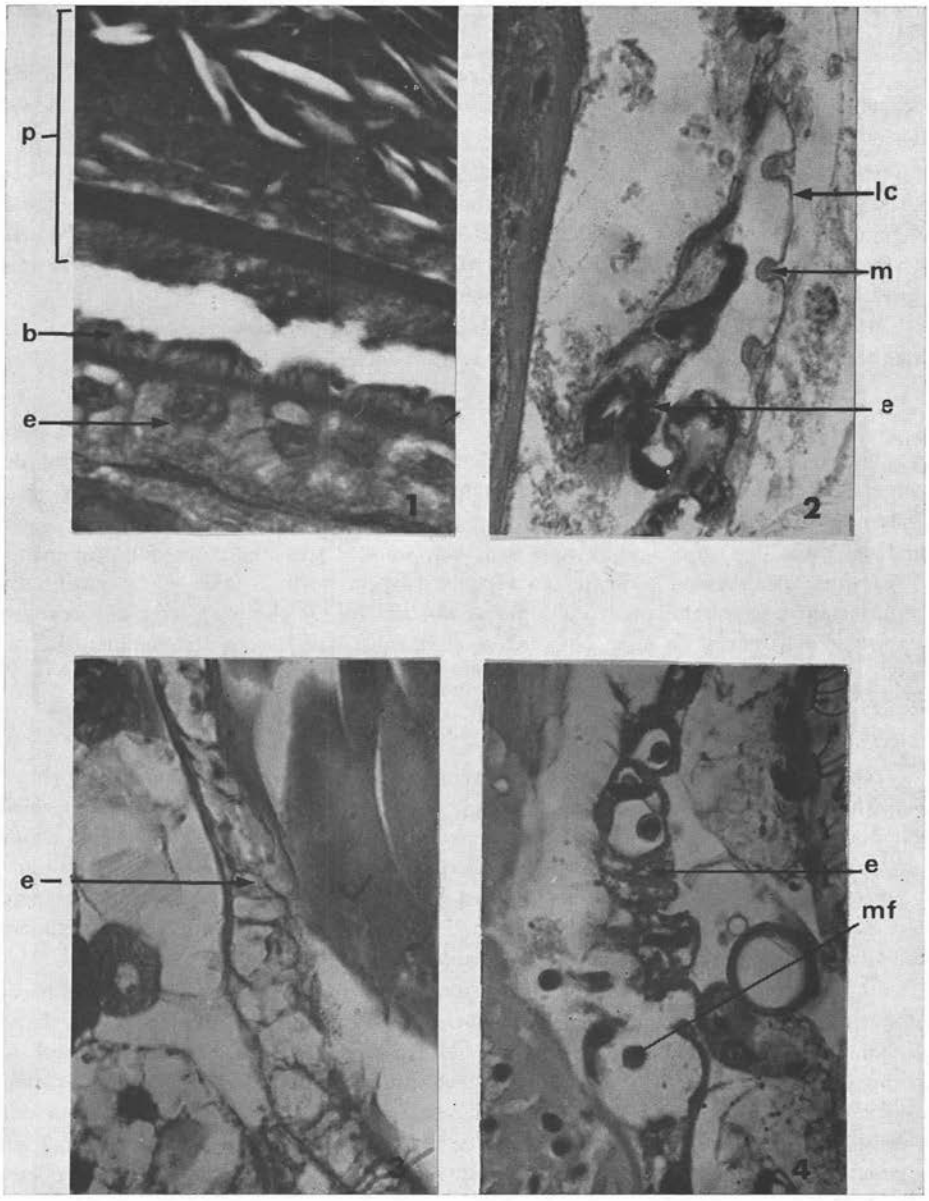

PLANCHE 3. — *Anopheles stephensi ;* photo 1 : Epithélium et membrane péritrophique chez un moustique sain (24 heures après le repas). Photo 2 : décollement des muscles et de la lame conjonctive chez un moustique mourant gorgé sur Agame sain (12 h après le repas). Photo 3 : Epithélium vacuolaire chez le même moustique. Photo 4 : Cellules épithéliales déchirées par une microfilaire de *F. furcata* (20' après le repas)

Les moustiques mourants infectés par *F. furcata* peuvent présenter des hémorragies assez importantes, par suite de la rupture de la lame conjonctive ; mais les moustiques mourants infectés par *F. candezei* et *S. a. hamoni* n'en présentent pas ; parfois simplement quelques globules sanguins ont été entraînés dans l'hémocèle au lieu de sortie d'une microfilaire.

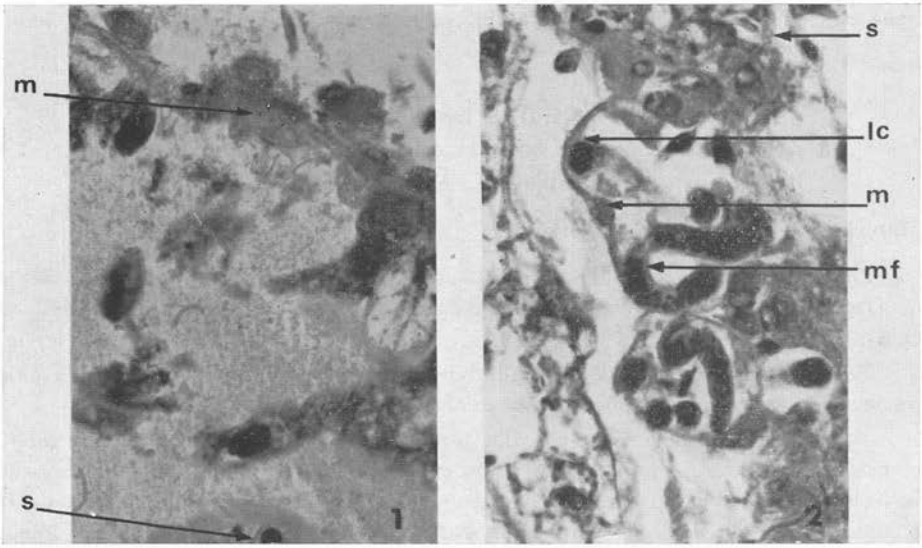

PLANCHE 4. — *A. stephensi ;* photo 1 : Epithélium postérieur déchiré par le passage des microfilaires de *F. furcata* (1 h après le repas). Photo 2 : Microfilaires de *F. candezei* occupant l'emplacement de l'épithélium disparu, et bloquées par la lame conjonctive distendue (19 h après le repas, moustique mourant)

Conclusion.

Les moustiques mourants, infectés ou non, présentent deux caractères communs (absence de membrane péritrophique et repas sanguin non digéré) qui les distinguent des moustiques sains de vingt-quatre heures, qui ont une masse sanguine en cours de digestion entièrement enfermée dans une membrane péritrophique assez épaisse.

Chez les moustiques non infectés mourants, l'épithélium est présent mais fonctionne anormalement.

Chez les moustiques hyperinfectés, la cause essentielle de la mortalité est la destruction de l'épithélium sous l'effet abrasif des microfilaires ; généralement la lame conjonctive plus résistante et la musculature limitent la masse sanguine qui vient à leur contact ; mais parfois il y a une hémorragie, qui est ici un phénomène secondaire.

La mortalité des moustiques hyperinfectés paraît être davantage due à la quantité de microfilaires qui sont ingérées qu'au nombre de celles qui atteignent l'hémocèle, comme le montrent les moustiques infectés par *F. candezei* et *S. a. hamoni* (3 % à 20 % des microfilaires sont retrouvées dans l'hémocèle) ; ceci confirme l'importance du rôle abrasif des microfilaires vis-à-vis de l'épithélium digestif. En outre, le fait d'avoir trouvé, chez un moustique d'aspect normal, 293 larves de *F. furcata* en cours de développement montre que, si les lésions épithéliales n'ont pas été mortelles, le moustique est alors capable de supporter une forte infection.

CHAPITRE II. — Etude histologique de la traversée de la paroi stomacale de *Simulium damnosum* par les microfilaires d'*Onchocerca volvulus*

Matériel.

Onchocerca volvulus est fourni par un Africain fortement infecté, du village de Dagoidougou (Haute-Volta). Les microfilaires mesurent en moyenne 350 μ de long et 6 μ de large.

Les Simulies proviennent d'un gîte situé sur la Leraba, près du village ; elles prennent en moyenne 115 microfilaires durant leur repas de sang.

Après leur repas, les Simulies sont recueillies individuellement dans des tubes, et fixées sur place au Carnoy, à des temps précis. La confection des coupes nécessite un soin particulier parce que la masse sanguine a tendance à s'isoler du reste de la Simulie et à rayer la paroi digestive ; la surface du bloc est donc collodionnée toutes les deux ou trois coupes ; malgré ces précautions, il est rare d'obtenir une Simulie en coupes parfaitement sériées et sans aucune déchirure. Les coupes sont généralement colorées à l'hémalun-éosine ; l'Azan est utilisé sur des coupes-témoins pour étudier la formation de la membrane péritrophique.

Etude histologique de la paroi stomacale des Simulies.

La paroi stomacale des Simulies présente une organisation comparable à celle des moustiques : l'épithélium à bordure en brosse est doublé par une musculature en réseau et une lame conjonctive, très étroitement appliquées à l'épithélium ; la lame conjonctive est mise en évidence par l'Azan sur un estomac à jeûn, plissé.

Juste après le repas sanguin, l'épithélium est aminci mais reste plus épais dans la région préproctodéale (3 à 5 μ d'épaisseur dans la région antérieure, 5 à 20 μ dans la région postérieure) ; les cellules digestives ont souvent un apex mal délimité ; en certaines zones, dont la localisation est variable, elles se terminent par une sorte de bouchon apical et basophile, mais la hauteur totale de la cellule ne dépasse pas 20 μ (pl. 5, photo 2). Quarante-huit heures après le repas, toutes les cellules épithéliales sont plus hautes que larges (25 à 30 μ de haut) ; la brosse ciliée est épaisse, souvent surmontée par de gros granules basophiles de sécrétion.

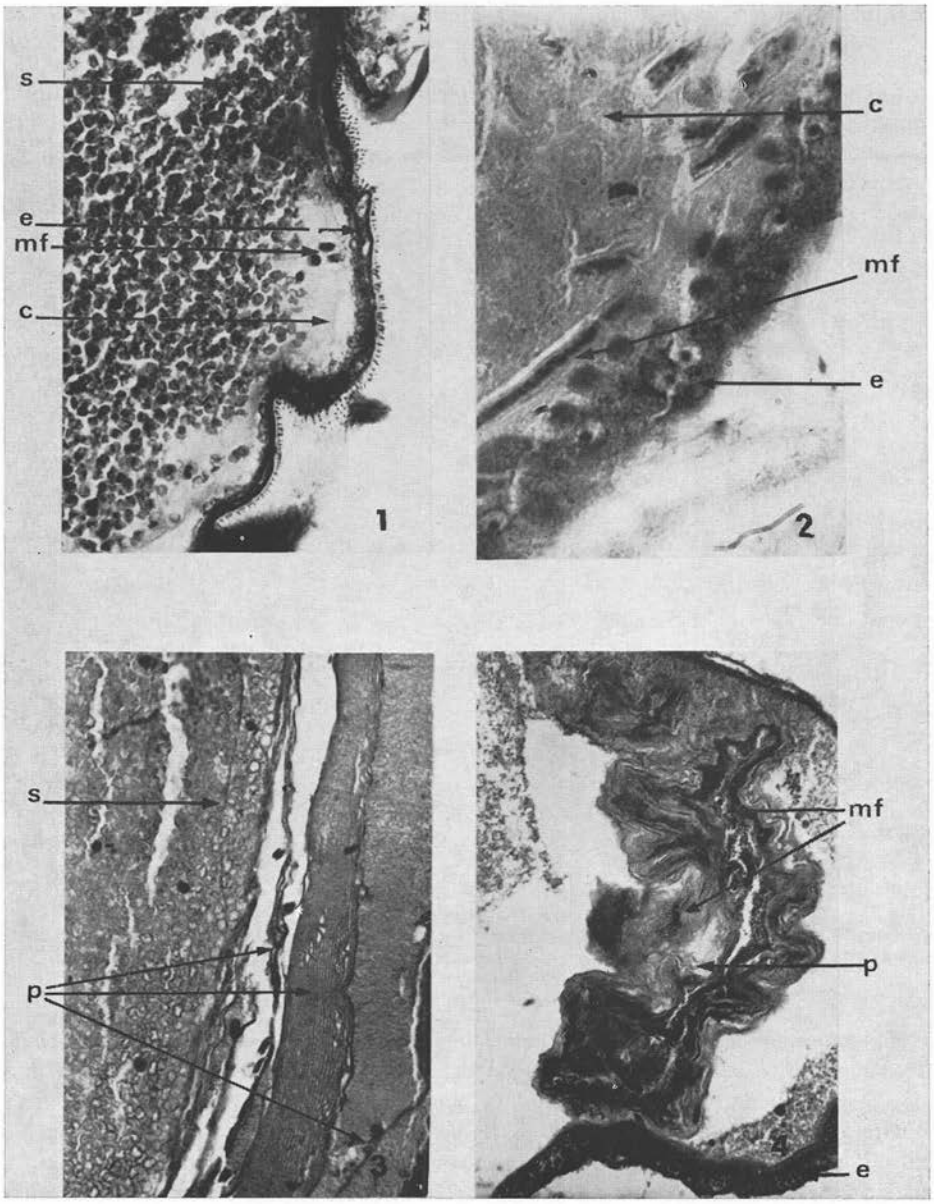

PLANCHE 5. — *O. volvulus* chez *S. damnosum ;* photo 1 : Aspect du sang, 5' après le repas. Photo 2 : Microfilaires dans le coagulum près des cellules épithéliales gonflées, 30' après le repas. Photo 3 : masse sanguine entourée par des lamelles péritrophiques et microfilaires immobilisées dans un réseau de lamelles, 3 h après le repas. Photo 4 : Coupe tangentielle d'une membrane péritrophique renfermant quelques restes lysés de microfilaires; 48 h après le repas

Evolution de la membrane péritrophique, de la masse sanguine et de la répartition des microfilaires.

Une à cinq minutes après le repas, la masse sanguine et les microfilaires occupent presque toute la lumière stomacale et les hématies ne sont pas tassées les unes contre les autres ; le repas sanguin et les microfilaires peuvent être localement en contact avec l'épithélium (pl. 5, photo 1) ; ailleurs, ils en sont séparés par un coagulum non structuré qui renferme quelques groupes d'hématies ; ce coagulum est mince dans la

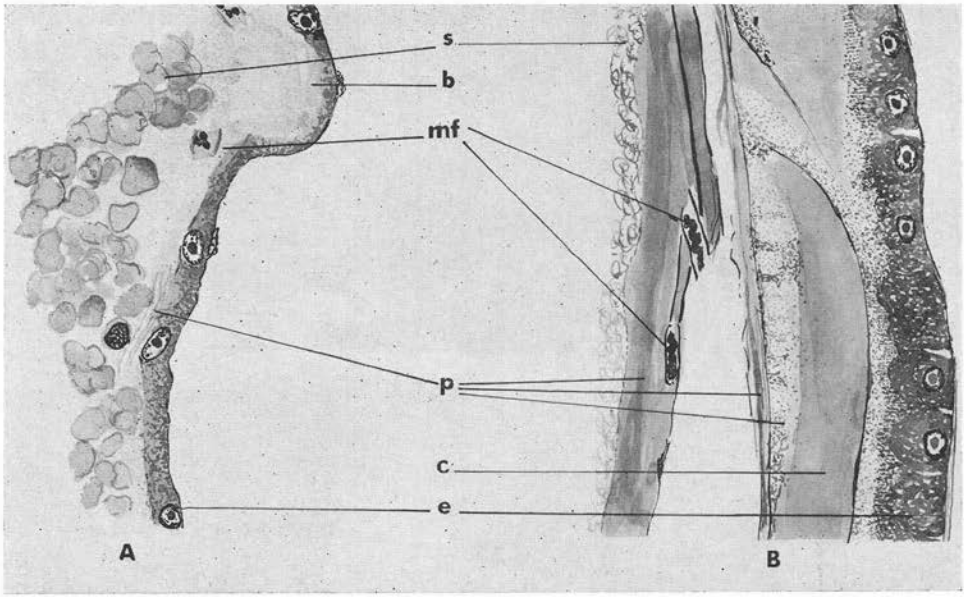

FIG. 2. — *Simulium damnosum* infecté par *O. volvulus*. A. aspect de l'épithélium digestif et du sang 5' après le repas ; B. *idem*, avec microfilaires emprisonnées dans le réseau des lamelles péritrophiques, 6 h après le repas.

région moyenne de l'estomac mais peut atteindre 150 μ d'épaisseur aux extrémités de cet organe. Il existe en outre quelques très rares lamelles péritrophiques situées près de l'épithélium (fig. 2 A). Trente minutes plus tard les hématies sont tassées les unes contre les autres ; elles forment une masse centrale irrégulièrement circonscrite par de fins fragments de lamelles péritrophiques ; sous ces lamelles, les globules blancs et la majorité des microfilaires se sont regroupés. Le repas de sang est séparé de l'épithélium par un coagulum d'épaisseur variable, où s'observent quelques microfilaires ; certaines d'entre elles s'appliquent étroitement à l'épithélium et le déforment. Dans la région postérieure de l'estomac, le coagulum est traversé par des lamelles péritrophiques lâchement empilées.

Durant les heures suivantes, le coagulum péritrophique diminue d'épaisseur tandis que le nombre des lamelles augmente ; ces lamelles se tassent et se regroupent autour de la masse sanguine (pl. 5, photo 3) ; au niveau de l'épithélium, de nouveaux fragments de lamelles sont sécrétés, tantôt ils sont très minces et apparaissent appliqués à la surface de la bordure en brosse, tantôt ils sont épais et semblent provenir de la condensation et du décollement de cette bordure. Ces fragments de lamelles sont finalement reliés entre eux et forment un réseau de mailles très lâches qui emprisonne les microfilaires (fig. 2 B) ; celles-ci sont encore très mobiles et exercent de fortes poussées sur les mailles (pl. 5, photo 3).

Dix à douze heures après le repas, la masse sanguine est parfaitement circonscrite par une membrane continue à structure lamelleuse où les microfilaires sont enlisées. Dans la région postérieure, cette membrane atteint 40 μ d'épaisseur ; dans la région antérieure, elle est plus épaisse mais a souvent gardé un aspect de coagulum pauvre en lamelles. L'ensemble de la masse sanguine et de la membrane péritrophique est généralement séparé artificiellement de l'épithélium digestif par le fixateur ; parfois l'espace de rétraction est rempli par une substance grumeleuse diffuse.

Plus tard, la membrane péritrophique brunit, les microfilaires sont lysées et la masse sanguine est digérée progressivement (48 h) (pl. 5, photo 4).

Exceptionnellement la membrane péritrophique peut ne pas se former ; la Simulie a alors un comportement particulier et meurt assez vite ; le sang ingéré est expulsé par l'anus durant les premières heures qui suivent le repas (les premiers excréments sont rejetés normalement vingt-quatre heures après le repas). Une Simulie de ce type a été fixée neuf heures après le repas ; son estomac a conservé l'aspect qu'il a normalement cinq minutes après le gorgement : les hématies ingérées ne se sont pas concentrées en une masse sanguine centrale ; l'épithélium digestif est riche en cellules à bouchon basophile et n'a pas de bordure striée ; d'aspect généralement sain, il présente toutefois deux petites lésions au niveau desquelles les cellules digestives ont été détruites ; le sang ingéré est alors en contact avec la musculature et la lame conjonctive.

Présence de microfilaires intraépithéliales.

Certaines microfilaires (8) ont une situation intraépithéliale analogue à celle qui a été observée chez *A. stephensi* (pl. 2, photos 4 A et B). Mais ici la microfilaire, particulièrement volumineuse par rapport aux cellules digestives, n'est que partiellement enfouie dans le cytoplasme de l'épithélium, une partie du corps continuant à se lover dans la lumière stomacale. La lame conjonctive peut être déformée sous la poussée des microfilaires mais elle n'est pas perforée.

Discussion.

L'étude histologique a confirmé le rôle efficace de la membrane péritrophique dans le blocage des microfilaires : trente minutes après le repas, une forte proportion des

(8) Deux cas seulement ont été observés, à trente minutes et une heure sur une trentaine de Simulies étudiées. Ce pourcentage n'a pas de signification en raison des difficultés rencontrées dans l'histologie des Simulies fraîchement gorgées.

microfilaires ingérées est déjà agglutinée à la périphérie de la masse sanguine et retenue par des lamelles péritrophiques extrêmement fines. Les microfilaires restées dans le coagulum périphérique sont à leur tour bloquées par des lamelles nouvellement formées au contact de l'épithélium puis refoulées vers la masse sanguine.

Mais ce barrage péritrophique n'est pas encore mis en place durant les quinze premières minutes qui suivent le repas sanguin ; à ce moment des microfilaires sont en contact avec l'épithélium.

Les dissections montrent cependant que la traversée stomacale s'étale au moins pendant les douze premières heures qui suivent le repas. Ceci implique que certaines microfilaires sont protégées de l'action de la membrane péritrophique.

Lewis, en 1953, a émis l'idée qu'une partie des microfilaires restait en attente dans le cardia et arrivait dans l'estomac quand la construction de la membrane péritrophique était terminée.

Nous avons observé, durant les dissections, des Simulies ayant des microfilaires cardiales ; une heure après le repas, ces Simulies constituent 3 % de la population, mais ce taux devient définitivement nul trois heures après le repas. L'existence des microfilaires cardiales ne peut donc expliquer la forte augmentation du taux d'infection des Simulies d'une heure à douze heures [30 % des Simulies sont positives (9) à une heure et 58 % à douze heures].

Les tubes de Malpighi renferment parfois quelques rares microfilaires (10) mais ici encore leur nombre (1 à 2 % des Simulies ont des microfilaires dans les tubes de Malpighi, à une heure et à six heures) est très inférieur à celui des microfilaires qui atteignent tardivement l'hémocèle.

L'observation des microfilaires intraépithéliales apporte, à notre avis, une solution au problème : ces microfilaires ont pénétré incomplètement mais précocement dans les cellules digestives où elles sont à l'abri des sécrétions péritrophiques (soit directement en étant dans le cytoplasme cellulaire, soit indirectement en lysant les cellules et en interrompant ainsi localement la formation des lamelles péritrophiques). Le passage définitif de ces microfilaires dans l'hémocèle paraît retardé par la lame conjonctive péristomacale résistante.

Des observations effectuées à frais sur des Simulies disséquées à six heures, douze heures et vingt-quatre heures viennent étayer cette hypothèse. Six heures après le repas, il est aisé de séparer la paroi stomacale de l'ensemble estomac + péritrophique ; cette dissection libère quelques microfilaires bien mobiles qui n'étaient pas emprisonnées dans la membrane péritrophique ; à douze heures et vingt-quatre heures, de telles microfilaires sont extrêmement rares. Par ailleurs le pourcentage des Simulies ayant des microfilaires libres dans l'espace péritrophique à la sixième heure correspond au pourcentage des Simulies qui sont devenues positives entre la sixième heure et la douzième heure.

---

(9) Simulie positive signifie Simulie ayant au moins une microfilaire dans l'hémocèle.

(10) Nous ne tenons pas compte ici des cas anormaux, remarqués pour la première fois par Lewis, où les tubes de Malpighi sont grouillants de microfilaires, et qui correspondent probablement aux Simulies qui ne forment pas de membrane péritrophique.

CONCLUSION

Les dissections à frais de *S. damnosum* ont montré que presque toutes les microfilaires ingérées restent bloquées à l'intérieur de l'estomac par la membrane péritrophique mais que quelques rares microfilaires arrivent dans l'hémocèle pendant les douze premières heures qui suivent le repas, c'est-à-dire au moment où le barrage péritrophique est fonctionnel.

L'ensemble des observations histologiques effectuées sur trois espèces de Filaires chez un autre vecteur, *A. stephensi*, et sur *O. volvulus* chez *S. damnosum*, permet, à notre avis, d'expliquer ce phénomène paradoxal par la mise en évidence chez ces deux vecteurs, d'une phase intraépithéliale des microfilaires.

Le séjour des microfilaires dans l'épithélium digestif, observé aussi par Esslinger (1962) avec *Brugia pahangi* (Buckley et Edeson, 1956) chez *A. quadrimaculatus*, est donc certainement une étape obligatoire pour toutes les espèces filariennes et quel que soit le vecteur.

La constance de ce phénomène nous incite à penser qu'il s'agit d'un caractère biologique des Filaires dont il faut rechercher l'origine chez les Spirurides. On connaît dans cette superfamille des larves, par ex. les Rictulaires, qui se développent dans la paroi du tube digestif après avoir effectué une migration dans l'épithélium intestinal, pendant tout le premier stade (communication orale de Quentin et Seureau). La phase migratoire intraépithéliale des Filaires apparaît donc comme un vestige des migrations beaucoup plus importantes qui ont lieu chez les Spirurides.

Bibliographie

BAIN (O.), 1969. — Etude morphologique du développement larvaire de *Foleyella furcata* chez *A. stephensi*. *Ann. Parasit., Hum. & Comp., 44,* 165-172.

—, sous presse. — Etude morphologique du développement larvaire de *Foleyella candezei* chez *A. stephensi*. *Ann. Parasit. & Comp.*

—, sous presse. — Développement larvaire de *Saurositus agamae hamoni* n. sp., *Eufilariinae* parasite d'Agame en Haute-Volta, chez *Anopheles stephensi*. *Ann. Parasit. Hum. & Comp.*

BRYGOO (E.-R.), SUREAU (P.) et DODIN (A.), 1959. — Survie des *Culex fatigans* gorgés sur *Chamaelo*. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar, 27,* 63-68.

CAUSEY (C.-R.), 1939. — *Aedes* and *Culex* mosquitoes as intermediate hosts of frog filaria, *Foleyella* sp. *Am. J. Hyg., 29,* 79-81.

—, 1939. — The development of frog filaria larvae, *Foleyella ranae* in *Aedes* and *Culex* mosquitoes. *Am. J. Hyg., 29,* 131-132.

—, 1939. — Development of the larval stages of *Foleyella brachyoptera* in mosquitoes. *Am. J. Hyg., 30,* 69-71.

DUKE (B. O. L.) et LEWIS (D. J.), 1964. — Studies on factors influencing the transmission of onchocerciasis. III. Observations on the effect of the peritrophic membrane in limiting the development of *Onchocerca volvulus* microfilariae in *Simulium damnosum*. *Ann. Trop. Med. Parasit., 58,* 83-88.

ESSLINGER (J. H.), 1962. — Behavior of microfilariae of *Brugia pahangi* in *Anopheles quadrimaculatus. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 11,* 749-758.

GAILLARD (H.), 1957. — Mortalité chez les culicides infestés par *Dirofilaria immitis* et *Wuchereria bancrofti. Z. Tropen med. Parasit., 8,* 476-485.

KARTMAN (L.), 1954. — Suggestions concerning an Index of experimental filariae infection in mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg., 3,* 329-337.

KERSHAW (W. E.), LAVOIPIERRE (M. M. J.) et CHALMERS (T. A.), 1953. — Studies on the intake of microfilariae by their insect vectors, their survival and their effect on the survival of their vectors. I. *Dirofilaria immitis* and *Aedes aegypti. Ann. Trop. Med. Parasit., 47,* 207-224.

LE CORROLER (Y.), 1957. — Evolution de *Dirofilaria immitis* Leidy, 1856, chez *Aedes (Stegomyia) aegypti* Lin. Souche « Orlando » (Florida). *Bull. Soc. Path. Exot., 50,* 542-555.

LEWIS (D. J.), 1950. — A peritrophic membrane in *Simulium. Nature,* 165, 978.

—, 1953. — *Simulium damnosum* and its relation to onchocerciasis in the anglo-egyptian Sudan. *Bull. entom. Res., 43,* 597-644.

MACKERRAS (M. J.), 1953. — Lizard Filaria : transmission by mosquitoes of *Oswaldofilaria chlamydosauri* (Breinl) (*Nematoda : Filarioidea*). *Parasitology, 43,* 1-3.

PANDIT (C. G.), PANDIT (S. R.) et IYER (P. V. S.), 1929-1930. — The development of the Filaria *Conispiculum guindiensis* (1929) in *C. fatigans,* with a note on the transmission of the infection. *Indian J. med. Res., 17,* 421-429.

ROSEN (L.), 1954. — Observations on *Dirofilaria immitis* Leidy in French Oceania. *Ann. Trop. Med. Parasit., 48,* 318-328.