Onchocercose au Guatemala :

l'ingestion des microfilaires par *Simulium ochraceum*
et leur passage dans l'hémocèle de ce vecteur (1)

par O. BAIN, M.-C. DURETTE-DESSET et R. DE LEON *

Laboratoire de Zoologie (Vers) associé au C.N.R.S. (P^r A.-G. CHABAUD)
Muséum national d'Histoire naturelle, 43, rue Cuvier, F 75231 Paris Cedex 05

SOMMAIRE :

RÉSUMÉ.

SUMMARY.

INTRODUCTION.

MATÉRIEL.

TECHNIQUES : préparations « à frais » et gouttes épaisses.

RÉSULTATS NUMÉRIQUES ET CHRONOLOGIE DU PASSAGE DES MICROFILAIRES.

CHAPITRE I. — Analyse quantitative de l'ingestion des microfilaires.

- A) Sous-estimation des résultats « à frais ».
- B) Corrections à apporter aux résultats « à frais ».
- C) Signification de la sous-estimation « à frais » : lyse immédiate dans l'estomac d'une importante fraction des microfilaires ingérées.

CHAPITRE II. — Analyse quantitative du passage des microfilaires dans l'hémocèle.

- A) Degré d'infestation des Simulies.
- B) Relations numériques entre microfilaires ingérées et microfilaires passées dans l'hémocèle.

CONCLUSION.

- A) Aspects caractéristiques de la transmission de l'Onchocercose humaine au Guatemala.
- B) Comparaison avec deux complexes *Onchocerca-Simulium* d'Afrique occidentale.
- C) Signification de l'association, chez un même hôte, de microfilaires à lyse rapide et de microfilaires à lyse lente.

(1) Ce travail a pu être effectué grâce à une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé.

(*) Professeur honoraire à l'Instituto de Investigaciones Científicas, Universidad de San Carlos, Guatemala.

Résumé.

La dissection de très nombreuses *Simulies* sauvages (*S. ochraceum*) gorgées sur trois volontaires Onchocerquiens guatémaltèques montre que les prises de microfilaires peuvent atteindre des moyennes très élevées (respectivement 233, 352 et 447 microfilaires avec d'importants écarts (de 0 à 1 700 par exemple), mais que seulement 1 à 2 % de cette énorme quantité de microfilaires ingérées atteint l'hémocèle. Contrairement à ce qui se passe en Afrique, en zone de savane guinéenne, l'augmentation du nombre des microfilaires ingérées entraîne ici une augmentation proportionnelle du nombre des microfilaires passées dans l'hémocèle. Cette étude révèle en outre un phénomène très particulier, la lyse en deux temps des microfilaires ingérées ; environ 50 % sont immédiatement détruites dans l'estomac, cette proportion étant plus élevée pour les petites prises de microfilaires, et le reste n'est progressivement détruit qu'après la 8^e heure.

Cette observation, qui traduit une dualité des microfilaires d'*Onchocerca volvulus* chez leur hôte au Guatemala, est compatible avec notre hypothèse, initialement formulée pour expliquer le phénomène de limitation : coexistence, chez un hôte donné, de deux populations de microfilaires, les unes aptes et les autres inaptes à traverser la paroi stomacale du vecteur.

Summary.

Onchocerciasis in Guatemala : the ingestion of the microfilaria by S. ochraceum and their migration in the vector's haemocoel.

Numerous wild simuliids were dissected after being engorged on three Guatemalan volunteers infected with *Onchocerca volvulus*. It was found that the microfilariae-uptake can reach very high levels (means 233, 352 and 447 respectively) with a large range (from 0 to 1.700 for instance). Only 1 to 2 % of these great numbers of ingested microfilariae reach the haemocoel. In contrast with observations made in african guinean savannah, it was found that an increase in number of ingested microfilariae brought about a proportionnal increase in the number of microfilariae which had reached the haemocoel. A very unusual phenomenon has been encountered in this study, for the lysis of ingested microfilariae occurs in two phases. Nearly 50 % are immediately destroyed in the stomach, this proportionnal number being higher when the microfilariae-uptake is smaller, the remaining microfilariae are destroyed progressively after the eighth hour. This observation which indicates a dual potentiality among a population of *Onchocerca volvulus* in a Guatemalan host is compatible with the hypothesis we previously put forward to explain the limitation phenomenon i. e. occurrence in a given host of two microfilariae populations one being able and the other unable to cross the stomach wall of the vector.

Introduction.

Que ce soit en Afrique (en zone de savane guinéenne), ou au Guatemala, le « rendement » des *Simulies* qui transmettent l'Onchocercose humaine est très comparable ; dans les deux cas, 1 à 2 % seulement des microfilaires ingérées s'échappent

de l'estomac (De Léon et Duke, 1966 ; Philippon et Bain, 1973). La présente étude montre cependant que les mécanismes du passage des microfilaires dans l'hémocèle du vecteur sont totalement différents dans ces deux régions géographiques.

Matériel.

L'étude expérimentale s'est déroulée en novembre 1971, à la Finca El Amparo, près de San Pedro de Yepocapa, dans la zone onchocerquienne de Yepocapa — Chimaltenango. Trois Indiens onchocerquiens différemment infestés, habitant cette zone, se sont aimablement prêtés à notre expérience : Aparicio, Rodolfo et Feliciano, âgés respectivement de 26, 18 et 15 ans. Ils n'ont jamais subi de traitement antilarien. Les femelles sauvages de *Simulium ochraceum* sont récoltées entre 9 h et 11 h, après gorgement complet sur le dos ou les avant-bras des onchocerquiens.

Techniques.

Une fraction des *Simulies* est disséquée dans le Ringer, à des temps variés après le repas allant de 45 mn à 12 h ; l'estomac est isolé du reste du corps (tête, pattes et ailes sont ôtées préalablement) ; les microfilaires sont comptées à frais, séparément dans ces deux parties ; la somme des deux nombres obtenus correspond au total des microfilaires ingérées. Chez les *Simulies* disséquées 11-12 h après le repas, les microfilaires stomacales n'ont été dénombrées que chez un nombre réduit de ♀, car elles sont trop lysées. Au cours de chaque journée, une série de 30 à 50 *Simulies* environ est disséquée ; chaque série comprend plusieurs lots disséqués à des temps différents (45 mn à 2 h, 4 à 5 h, 6 à 8 h et 12 h après le repas sanguin).

Une autre fraction des *Simulies* est disséquée juste après le repas ; l'estomac est prélevé puis dilacéré sur lame ; la goutte épaisse ainsi obtenue est colorée au Giemsa et les microfilaires comptées correspondent donc au total ingéré par 1 ♀.

Des *Simulies* sont également fixées au Carnoy de 1 mm à 24 h après le repas (2).

Résultats numériques.

L'analyse des résultats numériques a été particulièrement délicate ; comme l'interprétation que nous en donnons n'est peut être pas la seule possible, nous jugeons utile de transcrire chacun de nos comptages, dans l'ordre où ils ont été obtenus.

(2) L'analyse histologique du passage des microfilaires dans l'hémocèle de *S. ochraceum* sera exposée dans un article ultérieur.

1. Aparicio.

A) OBSERVATIONS A FRAIS : 7 séries, comprenant respectivement 20, 31, 38, 54, 56, 49 et 30 ♀, ont été effectuées. Chaque Simulie est représentée par deux nombres : le 1^{er} nombre correspond au total des microfilaries ingérées, le deuxième, au nombre des microfilaries passées dans l'hémocèle. Chez la moitié des Simulies disséquées à 11-12 h (53 ♀ sur 100), seul le deuxième nombre est connu.

- Le 13-11-71 : 45' à 2 h : 386-8 ; 397-10 ; 248-2 ; 84-0 ; 444-20 ; 4 h à 5 h : 151-0 ; 432-31 ; 338-0 ; 329-1 ; 199-1 ; 240-11 ; 6 h-8 h : 118-0 ; 384-13 ; 12 h : -0 ; -21 ; -2 ; -4 ; -15 ; -0 ; -0.
- Le 14-11-71 : 4 h à 5 h : 424-13 ; 197-1 ; 730-27 ; 44-0 ; 260-3 ; 157-1 ; 433-12 ; 148-0 ; 393-0 ; 6 h à 8 h : 492-28 ; 785-5 ; 546-14 ; 456-12 ; 408-2 ; 303-1 ; 92-0 ; 234-2 ; 12 h : -6 ; -18 ; -2 ; -4 ; -20 ; -3 ; -15 ; -7 ; -11 ; -8 ; -0 ; -3 ; -5 ; -6.
- Le 16-11-71 : 45' à 2 h : 476-19 ; 881-12 ; 215-0 ; 519-12 ; 253-2 ; 4 h à 5 h : 395-3 ; 422-6 ; 119-3 ; 170-0 ; 271-0 ; 419-7 ; 432-0 ; 203-23 ; 342-5 ; 166-11 ; 329-14 ; 184-0 ; 6 h-8 h : 133-1 ; 130-5 ; 78-7 ; 55-1 ; 191-1 ; 350-10 ; 290-13 ; 275-0 ; 320-2 ; 126-12 ; 372-1 ; 12 h : -2 ; -1 ; -0 ; -1 ; -6 ; -0 ; -7 ; -2 ; -23 ; -7.
- Le 18-11-71 : 45' à 2 h : 770-10 ; 218-1 ; 81-2 ; 220-3 ; 270-15 ; 438-31 ; 457-3 ; 245-1 ; 66-0 ; 187-10 ; 544-5 ; 4 h à 5 h : 165-0 ; 56-0 ; 493-61 ; 186-1 ; 99-0 ; 146-0 ; 100-6 ; 389-34 ; 582-22 ; 55-0 ; 493-12 ; 154-1 ; 6 h à 8 h : 175-0 ; 43-0 ; 411-0 ; 299-1 ; 281-17 ; 198-0 ; 414-10 ; 108-0 ; 54-0 ; 397-2 ; 246-12 ; 625-6 ; 544-1 ; 475-0 ; 241-1.
- Le 20-11-71 : 45' à 2 h : 325-2 ; 387-0 ; 301-1 ; 9-0 ; 252-11 ; 278-15 ; 245-19 ; 203-0 ; 92-5 ; 203-1 ; 479-7 ; 379-11 ; 752-42 ; 115-1 ; 73-0 ; 6 h à 8 h : 338-31 ; 263-8 ; 223-2 ; 359-1 ; 352-39 ; 507-9 ; 652-54 ; 219-0 ; 165-0 ; 324-9 ; 79-1 ; 404-2 ; 291-4 ; 524-3 ; 522-32 ; 326-8 ; 705-3 ; 158-0 ; 128-0 ; 215-0 ; 236-4 ; 97-0 ; 12 h : 365-0 ; 263-0 ; 150-0 ; 140-11 ; 249-12 ; 209-14 ; 221-8 ; 259-4 ; 126-0 ; 320-7 ; 164-1 ; 169-4 ; 327-5 ; 292-38 ; 35-1 ; 147-2 ; 221-5 ; 119-5 ; 100-4.
- Le 22-11-71 : 45' à 2 h : 2-0 ; 108-1 ; 682-30 ; 77-1 ; 348-16 ; 158-1 ; 317-2 ; 382-10 ; 396-6 ; 100-2 ; 295-1 ; 277-2 ; 6 h à 8 h : 287-4 ; 434-11 ; 358-5 ; 154-0 ; 199-1 ; 597-38 ; 226-0 ; 371-12 ; 261-2 ; 64-8 ; 175-0 ; 243-10 ; 222-6 ; 458-2 ; 59-3 ; 851-25 ; 481-0 ; 1011-63 ; 12 h : 63-1 ; 317-9 ; 134-9 ; 394-3 ; 481-16 ; 505-23 ; 319-3 ; 59-1 ; 407-8.
- Le 23-11-71 : 45' à 2 h : 178-4 ; 769-18 ; 342-10 ; 7-0 ; 0-0 ; 438-4 ; 457-6 ; 157-0 ; 285-3 ; 856-3 ; 306-2 ; 890-7 ; 293-6 ; 270-10 ; 217-0 ; 12 h : 241-13 ; 448-3 ; 98-0 ; 146-3 ; 60-0 ; 348-6 ; 255-6 ; 472-8 ; 246-1 ; 130-1 ; 131-1 ; 413-2 ; 300-0 ; 321-5 ; 125-3.

B) GOUTTES ÉPAISSES : 5 séries, comprenant respectivement 15, 41, 49, 54 et 19 ♀, ont été effectuées. Chaque nombre représente le total des microfilaries ingérées par Simulie.

- Le 13-11-71 : 373 ; 366 ; 145 ; 331 ; 663 ; 210 ; 870 ; 579 ; 501 ; 246 ; 345 ; 549 ; 370 ; 825 ; 515.
- Le 14-11-71 : 481 ; 797 ; 840 ; 243 ; 365 ; 447 ; 329 ; 180 ; 876 ; 424 ; 465 ; 338 ; 1141 ; 408 ; 164 ; 575 ; 674 ; 101 ; 509 ; 446 ; 412 ; 276 ; 501 ; 430 ; 208 ; 133 ; 385 ; 742 ; 421 ; 740 ; 584 ; 849 ; 844 ; 710 ; 644 ; 771 ; 630 ; 390 ; 182 ; 303 ; 89.

- Le 16-11-71: 200; 439; 594; 628; 94; 396; 572; 223; 373; 594; 565; 283; 611; 881; 275; 524; 164; 7; 259; 429; 295; 504; 201; 529; 370; 279; 544; 175; 388; 334; 694; 178; 293; 439; 626; 598; 137; 284; 758; 407; 420; 1783; 326; 258; 495; 719; 614; 374; 418.
- Le 22-11-71: 417; 88; 871; 823; 292; 314; 274; 230; 582; 721; 604; 337; 413; 629; 610; 963; 161; 339; 114; 165; 415; 380; 449; 279; 147; 417; 283; 584; 166; 237; 151; 867; 180; 718; 240; 599; 770; 174; 313; 147; 1; 156; 461; 805; 582; 592; 184; 377; 515; 311; 480; 199; 90; 537.
- Le 23-11-71: 236; 1594; 574; 155; 1131; 269; 151; 702; 370; 711; 848; 1295; 965; 205; 548; 12; 283; 73; 203.

2. Rodolfo.

A) OBSERVATIONS A FRAIS: 5 séries, respectivement de 4, 16, 38, 53 et 48 ♀, sont effectuées. Les résultats sont transcrits comme pour Aparicio. Parmi les 41 ♀ disséquées à 12 h, les comptages des microfilaries stomacales ont été faits chez 15 Simulies.

- Le 10-11-71: 45' à 2 h: 211-0; 220-1; 12 h: 1; -0; 331-32.
- Le 13-11-71: 6 h-8 h: 136-0; 127-2; 314-3; 330-0; 25-0; 143-0; 748-4; 129-0; 198-0; 12 h: -0; -1; -0; -4; -0; -0; -0.
- Le 15-11-71: 45' à 2 h: 104-0; 36-0; 72-0; 109-0; 104-2; 99-1; 246-3; 4 h-5 h: 246-9; 31-0; 83-0; 111-0; 221-7; 330-4; 58-0; 6 h à 8 h: 262-3; 230-0; 68-0; 530-8; 184-0; 87-0; 197-1; 234-2; 246-0; 109-0; 379-0; 425-5; 28-4; 12 h: -0; -0; -0; -2; -0; -3; -0; -0; -0; -7; -2.
- Le 17-11-71: 45' à 2 h: 13-0; 48-0; 501-11; 177-14; 172-1; 22-0; 215-2; 43-0; 225-4; 404-1; 36-0; 31-0; 185-0; 4 h à 5 h: 48-0; 43-0; 219-0; 170-2; 118-2; 6 h à 8 h: 410-20; 15-0; 52-0; 350-24; 26-0; 26-0; 32-0; 99-1; 131-1; 104-0; 23-0; 34-0; 95-0; 462-11; 77-1; 242-0; 217-7; 3-0; 63-0; 68-0; 40-0; 12 h: 47-1; 37-0; 56-3; 350-11; 10-1; 9-0; 122-0; 82-0; 147-2; 12-0; 211-11; 83-1; 46-1; 42-0.
- Le 19-11-71: 45' à 2 h: 42-0; 84-4; 141-1; 16-0; 149-6; 333-0; 305-0; 344-0; 5-0; 119-0; 122-5; 42-1; 49-0; 0-0; 4 h à 5 h: 148-1; 101-3; 38-1; 53-1; 152-0; 8-0; 70-1; 289-4; 238-0; 112-4; 220-0; 6 h à 8 h: 15-0; 721-12; 171-0; 18-0; 33-0; 15-0; 88-0; 433-3; 44-0; 16-0; 11-0; 118-3; 79-0; 61-1; 94-0; 194-0; 12 h: -0; -0; -0; -0; -0; -3; -6.

B) GOUTTES ÉPAISSES: 3 séries de 48, 13 et 43 Simulies sont effectuées.

- Le 15-11-71: 104; 33; 141; 404; 778; 196; 533; 235; 177; 290; 675; 185; 55; 93; 97; 58; 392; 91; 124; 615; 440; 334; 473; 227; 170; 410; 105; 150; 510; 883; 449; 154; 133; 168; 162; 117; 374; 70; 267; 113; 197; 298; 144; 275; 115; 116; 205; 1202.
- Le 17-11-71: 153; 84; 136; 100; 232; 54; 178; 132; 84; 222; 18; 157; 43.
- Le 19-11-71: 51; 221; 151; 34; 207; 142; 443; 560; 92; 50; 64; 192; 293; 234; 302; 138; 158; 183; 175; 176; 325; 207; 138; 108; 660; 334; 186; 43; 62; 27; 127; 359; 334; 295; 185; 188; 292; 163; 278; 372; 148; 317; 81.

3. Feliciano.

A) OBSERVATIONS A FRAIS : 2 séries de 8 et 6 Simulies.

Le 10-11-71 : 45'-2 h : 170-0 ; 607-5 ; 212-2 ; 6 h-8 h : 570-4 ; 403-4 ; 39-0 ; 210-1 ; 234-2.

Le 11-11-71 : 45'-2 h : 323-2 ; 306-5 ; 4 h-5 h : 46-0 ; 6-0 ; 6 h-8 h : 128-0 ; 417-6.

B) GOUTTES ÉPAISSES : 33 Simulies disséquées.

Le 12-11-71 : 544 ; 139 ; 206 ; 66 ; 646 ; 181 ; 544 ; 531 ; 324 ; 325 ; 352 ; 743 ; 755 ; 179 ; 839 ; 226 ; 206 ; 426 ; 386 ; 116 ; 494 ; 369 ; 143 ; 257 ; 110 ; 27 ; 40 ; 182 ; 314 ; 729 ; 725 ; 131.

Chronologie du passage des microfilaires dans l'hémocèle.

Cette étude est basée sur les résultats obtenus avec Aparicio et Rodolfo, les quelques sondages effectués avec Féliciano ne pouvant être utilisés à ce sujet.

1. *Aparicio* (tableau I) : les résultats exposés dans ce tableau montrent clairement que les passages des microfilaires dans l'hémocèle s'effectuent pendant les deux premières heures qui suivent le repas de sang.

2. *Rodolfo* (tableau I) : le pourcentage de microfilaires passées augmente encore après la 8^e heure, mais cette élévation n'est qu'apparente : la présence exceptionnelle d'une Simulie ayant 32 microfilaires dans l'hémocèle, sur 15 Simulies observées, élève exagérément le pourcentage de réussite des microfilaires.

Ainsi, quel que soit l'onchocercarien sur lequel les Simulies se sont gorgées, le passage des microfilaires dans l'hémocèle est très rapide et s'effectue pendant les deux premières heures qui suivent le repas.

Chapitre I.

Analyse quantitative de l'ingestion des microfilaires (3)

A) SOUS-ESTIMATION DES RÉSULTATS A FRAIS.

Pour étudier la variation numérique de l'ingestion des microfilaires, nous disposons de deux ensembles de résultats, correspondant aux deux techniques utilisées :

(3) Les résultats de la 12^e heure ne sont pas utilisés dans cette analyse quantitative de l'ingestion des microfilaires, car d'assez nombreuses microfilaires sont digérées et les comptages de microfilaires stomacaux sont erronés.

comptages « sur gouttes épaisses » et comptages « à frais ». Contrairement à ce que nous pensions, les résultats obtenus diffèrent selon la méthode employée ; les 2 séries de résultats sont donc exposées séparément pour chaque onchocerquien.

TABLEAU I. — Chronologie du passage des microfilaries dans l'hémocèle de *S. ochraceum*

Les résultats de la 12^e heure sont représentés sur 2 lignes, selon que toutes les microfilaries ont été comptées (estomac et hémocèle ; cf. ligne supérieure) ou seulement les microfilaries de l'hémocèle (ligne inférieure). (A = Aparicio ; B = Rodolfo ; Mf. P. = microfilaries passées dans l'hémocèle ; Mf. I. = microfilaries ingérées ; m = moyenne ; ♀ — = similie sans microfilaire dans l'hémocèle ; N = nombre).

Heures	% Mf.P	m Mf.P	% ♀ —	N ♀ disséquées	m Mf.I	N max. Mf.P
45 mn-2 h	1,4	6,47	19	63	478	42
4 h-5 h	1,9	8,02	31	39	417	61
A 6 h-8 h	1,6	7,63	26,3	76	477	63
	1,3*	6,0		53	457*	38
12 h		5,92	21	100		
45 mn-2 h	0,72	1,58	55,5	36	225	14
4 h-5 h	0,77	1,69	47,8	23	219	9
B 6 h-8 h	0,74	1,96	66	59	262	24
	1,7*	4,2		15	255*	32
12 h		2,24	56	41		

Pour Aparicio et Rodolfo, nous indiquons, pour chaque série, un ensemble de caractéristiques : total des Simulies disséquées ; nombres extrêmes de microfilaries ingérées ; moyennes arithmétique et géométrique des microfilaries ingérées ; distribution des Simulies en fonction de la quantité de microfilaries ingérées, sous forme d'un graphique et d'un tableau ; en outre, les lois de distribution du nombre de microfilaries ingérées sont étudiées (J. Dejardin) ; elles se révèlent être log normales, de la forme $\log (x + x_0)$ gaussiennes ; x_0 est une caractéristique de chaque ensemble expérimental.

Pour Feliciano, seules sont indiquées les moyennes arithmétiques, car les quelques données numériques dont nous disposons ne permettent pas une analyse plus poussée.

(*) A la 12^e heure, la m. Mf. I est calculée en utilisant la moyenne des Mf. I. de 45 minutes à 6 heures ; en effet, par suite de la digestion des microfilaries dans l'estomac, la m. Mf. I. s'était abaissée à 354 et 177 respectivement chez Aparicio et Rodolfo ; les pourcentages de Mf. P. apparaissaient plus élevés (1,7 chez Aparicio et 2,3 chez Rodolfo).

1. *Aparicio*.

A frais : 178 Simulies disséquées ; 2 à 1 011 microfilaires ingérées ; moyennes arithmétique et géométrique respectivement égales à 309,8 et 250 ; $x_0 = 220$; cf. tableau 2, fig. 1A et fig. 3.

FIG. 1. — Distribution de *S. ochraceum* en fonction du nombre de microfilaires ingérées sur *Aparicio*. A : « à frais » ; B : « sur gouttes épaisses ». Les quatre points groupés à droite représentent les Simulies qui ont ingéré respectivement 1 031, 1 295, 1 594 et 1 783 microfilaires. (N. ♀ = nombre de Simulies disséquées ; N. Mf I = nombre de microfilaires ingérées).

TABLEAU II. — Distribution des Simulies en fonction du nombre des microfilaires ingérées

Corrections à apporter aux résultats « à frais »
(Goutte épaisse B représente Goutte épaisse A, ramené à un total de 118 Simulies
Mf. I. = microfilaire ingérée)

Classes de Mf. I.	Frais	Goutte épaisse	Frais	Goutte épaisse A	Goutte épaisse B
0-49	6	3	35	6	7
50-99	17	5	19	15	17
100-149	13	8	20	19	21
150-199	22	18	10	22	25
200-299	40	28	17	18	21
300-399	32	26	8	10	11
400-499	25	25	5	6	7
500-599	9	24	2	3	4
600-699	3	13	0	2	2
≥ 700	11	28	2	3	3
Total des Simulies	178	178	118	104	118
Onchocerquien	Aparicio		Rodolfo		

Sur gouttes épaisses : 178 Simulies disséquées ; 1 à 1 783 microfilaries ingérées ; moyennes arithmétique et géométrique respectivement égales à 447,5 et 420 ; $x_0 = 330$; cf. tableau 2, fig. 1B et fig. 3.

2. Rodolfo.

A frais : 118 ♀ disséquées ; 0 à 748 microfilaries ingérées ; moyennes arithmétique et géométrique respectivement égales à 152 et 110 ; $x_0 = 30$; cf. tableau 2, fig. 2A et fig. 3.

Sur gouttes épaisses : 104 ♀ disséquées ; 18 à 1 201 microfilaries ingérées ; moyennes arithmétique et géométrique respectivement égales à 233,8 et 185 ; $x_0 = 10$; cf. tableau 2, fig. 2B et fig. 3.

FIG. 2. — Distribution de *S. ochraceum* en fonction du nombre de microfilaries ingérées sur Rodolfo. A : « à frais » ; B : « sur gouttes épaisses » ; le point isolé à droite représente une Simulie qui a ingéré 1 202 microfilaries.

3. Feliciano.

Le petit nombre de Simulies disséquées ne permet pas d'établir de distribution, mais on retrouve pour les moyennes arithmétiques de microfilaries ingérées les mêmes différences que précédemment : 259 « à frais » et 352 « sur gouttes épaisses ».

Ainsi, quel que soit l'onchocercarien sur lequel les Simulies se sont gorgées, les résultats « à frais » sont très fortement inférieurs à ceux « sur gouttes épaisses » : la comparaison des moyennes arithmétiques montre un écart d'environ 50 %.

Les microfilaries des gouttes épaisses ont été recomptées, et les premiers résultats confirmés (avec une erreur de 0 à 4 %, sauf pour les quelques prises supérieures à 1 000 microfilaries, où l'erreur atteint 15 %, car les microfilaries sont en paquets) ; les nombres obtenus sur gouttes épaisses représentent donc, avec le minimum d'erreur, les quantités réelles de microfilaries ingérées ; les faibles valeurs obtenues à frais signifient que 50 % environ des microfilaries ingérées échappent dans ces conditions à l'observation.

FIG. 3. — Représentation gaussio-logarithmique de la distribution des *Simulies* en fonction du nombre des microfilaries ingérées. En abscisse : $x + x_0$, x étant le nombre de microfilaries ingérées et x_0 , une constante ; en ordonnée, les pourcentages cumulés des classes de *Simulies* (Rf = Rodolfo, comptages « à frais » des microfilaries ; Rg = Rodolfo, comptages sur gouttes épaisses ; Af = Aparicio, « à frais » ; Ag = Aparicio, sur gouttes épaisses).

B) CORRECTIONS A APPORTER AUX RÉSULTATS A FRAIS.

L'analyse comparée des courbes gaussio-logarithmiques issues des comptages montre que la sous-estimation effectuée « à frais » n'est pas quelconque. Le passage des résultats « à frais » à ceux « sur gouttes épaisses » se fait par utilisation des distributions transformées qui se révèlent être de même variance pour Aparicio, d'une part, et Rodolfo, d'autre part (les variances sont différentes pour les deux *Onchocera*

quiens); pour chaque onchocerquien, on passe d'une distribution à l'autre par une simple translation sur échelle logarithmique, ce qui revient à une multiplication des nombres. Ainsi, pour Aparicio, « à frais », $\log(x + 220)$ est normal, de moyenne 2,69; pour Aparicio, « gouttes épaisses », $\log(x + 330)$ est normal, de moyenne 2,86; le coefficient multiplicatif pour passer de l'une à l'autre est de $10^{2,86-2,69} = 10^{0,17} = 1,47$; on a donc pour le passage « à frais » — « gouttes épaisses » l'équation $1,47(x + 220) - 330 = 1,47x - 6$, arrondi à $1,5x$. Pour Rodolfo, on passe de la même façon des valeurs « à frais » transformées $\log(x + 30)$ aux valeurs « sur gouttes épaisses » transformées $\log(x + 10)$ par une translation de $2,27 - 2,14 = 0,13$ sur l'échelle log; on a finalement pour le passage « à frais » — « gouttes épaisses » l'équation $1,4x + 30$.

Les corrections à apporter aux résultats « à frais » d'Aparicio et de Rodolfo sont donc assez proches, mais non identiques: avec Aparicio, l'erreur commise « à frais » est régulièrement égale au tiers du total des microfilaries ingérées; avec Rodolfo, l'adjonction d'une valeur constante égale à 30 signifie que la sous-estimation est beaucoup plus importante pour les petites prises de microfilaries; quand le nombre de microfilaries ingérées est élevé, elle devient régulièrement égale au tiers du total des microfilaries ingérées, la constante + 30 à ajouter devenant négligeable.

C) SIGNIFICATION DE LA SOUS-ESTIMATION « A FRAIS »: LYSE IMMÉDIATE D'UNE FRACT. ON DES MICROFILAIRES INGÉRÉES.

En observant à nouveau les gouttes épaisses, nous avons trouvé des faits qui concrétisent ces calculs.

1) Deux types de microfilaries sont morphologiquement reconnaissables sur les gouttes épaisses des 3 Onchocerquiens: des microfilaries saines, avec une colonne nucléaire formée de noyaux serrés et anguleux; des microfilaries plus ou moins lysées, présentant différents degrés d'anomalies nucléaires: beaucoup ne contiennent que quelques noyaux, le reste du corps étant vide, d'autres ont seulement des plages anucléées localisées en diverses régions du corps; enfin, certaines se reconnaissent seulement à l'espacement plus grand des noyaux et à leur forme ronde (photos 1, 2 et 3).

2) Il existe une corrélation entre le nombre des microfilaries lysées dans chaque goutte épaisse et la valeur calculée de la sous-estimation « à frais ».

La proportion des microfilaries lysées dans les gouttes épaisses a été étudiée avec du matériel gorgé sur Rodolfo, particulièrement intéressant, puisque nous devons logiquement trouver une augmentation de cette proportion pour les petites prises de microfilaries. Les gouttes épaisses, prises au hasard dans un lot où nous avons sélectionné un nombre suffisant de petits repas de microfilaries, ont été observées par une collègue ignorant les données de l'expérience, afin d'assurer son objectivité.

La figure 4 représente le résultat de 16 comptages de gouttes épaisses, effectuées en dénombrant séparément les microfilaries lysées et les microfilaries saines

PHOTOS I, II et III. — Les deux types de microfilaires observées dans l'estomac de *S. ochraceum* juste après le repas : 1 : microfilarie saine ; 2 : microfilarie lysée ; 3 : détail d'une microfilarie saine (région antérieure) et d'une microfilarie lysée (région postérieure).

FIG. 4. — Variation de la proportion des microfilaries lysées en fonction du nombre total des microfilaries ingérées (*Simulies gorgées sur Rodolfo*); les cercles représentant les résultats des comptages effectués « sur gouttes épaisses », les triangles, le pourcentage calculé de la sous-estimation « à frais » et la courbe l'évolution de ce pourcentage calculé. (Mf L = microfilaries lysées; Mf I = microfilaries ingérées).

Elle montre :

a) Que la proportion des microfilaires lysées chez les *Simulies* juste après le repas est plus élevée pour les petites prises de microfilaires : 67 à 100 % de 0 à 50 microfilaires ingérées, et 40 à 55 % pour les prises supérieures à 150 microfilaires.

b) Que le pourcentage des microfilaires lysées par rapport à la totalité des microfilaires ingérées est du même ordre de grandeur que le pourcentage calculé d'erreur commise « à frais » : ce pourcentage calculé est de 71,4 % et 42,8 % respectivement pour un total de 50 et 150 microfilaires ingérées.

La difficulté qui réside dans la distinction entre les microfilaires saines et les microfilaires faiblement lysées ne permet pas une vérification stricte du calcul du pourcentage de correction à effectuer sur les résultats « à frais » ; néanmoins, la conformité mise en évidence, sur ces quelques sondages, entre le nombre de microfilaires lysées et les valeurs calculées nous paraît suffisante pour conclure que la sous-estimation « à frais » est due au fait qu'une partie des microfilaires est immédiatement lysée dans l'estomac, et ceci dans des proportions définies, et qu'elles échappent alors à l'observation.

Chapitre II.

Analyse quantitative du passage des microfilaires dans l'hémocèle

A) DEGRÉ D'INFESTATION DES *SIMULIES*.

— *Aparicio* : 25 % des *Simulies* restent négatives bien qu'elles aient toutes prélevé des microfilaires. Pour l'ensemble des *Simulies* gorgées, 7 microfilaires en moyenne passent dans l'hémocèle ($M_g = 3,8$) (4), avec des valeurs extrêmes de 0 et 63 microfilaires.

— *Rodolfo* : 58 % des *Simulies* restent négatives (1 seule n'a pas pris de microfilaires). Pour l'ensemble des *Simulies* gorgées, 2 microfilaires en moyenne passent dans l'hémocèle ($M_g = 0,7$), avec des valeurs extrêmes de 0 et 32 microfilaires.

B) RELATIONS NUMÉRIQUES ENTRE LES MICROFILAIRES INGÉRÉES ET LES MICROFILAIRES PASSÉES DANS L'HÉMOCELÈ.

— *Aparicio* : 1,6 % des microfilaires ingérées passent dans l'hémocèle. La figure 5 montre que le nombre des microfilaires passées dans l'hémocèle a tendance à augmenter avec le nombre des microfilaires ingérées et suggère une proportionnalité entre ces deux nombres.

(4) Moyenne géométrique de Williams.

Cette proportionnalité n'a pu être vérifiée par les tests statistiques, qui ne peuvent s'appliquer à des valeurs calculées (cas du nombre des microfilaires ingérées) mais elle semble établie de façon satisfaisante : le pourcentage des microfilaires passées dans l'hémocèle est sensiblement constant dans les diverses classes de microfilaires ingérées (tableau III) ; le pourcentage des *Simulies* négatives diminue quand le repas est plus

FIG. 5. — Aparicio. Relations numériques entre microfilaires ingérées et microfilaires passées dans l'hémocèle ; échelles logarythmiques (Mf I = microfilaires ingérées ; Mf P = microfilaires passées ; les nombres entre parenthèses représentent le nombre réel de microfilaires ingérées ou passées).

riche en microfilaires (tableau III). Au sein de chaque classe de microfilaires ingérées, il existe toutefois des écarts absolus importants entre les nombres des microfilaires passées dans l'hémocèle (de 0 à 63 au maximum pour la classe > 700 microfilaires) ; mais ces écarts correspondent à une variation individuelle beaucoup plus faible si l'on considère le pourcentage de passage des microfilaires (de 0 à 8 % dans l'exemple précédent).

— Rodolfo : 0,87 % des microfilaires ingérées passent dans l'hémocèle. Comme dans le cas précédent les relations numériques entre microfilaires ingérées et microfi-

laires passées dans l'hémocèle n'ont pu être statistiquement analysées. La figure 6 et le tableau 3 montrent qu'elles sont complexes : le nombre des microfilaires passées dans l'hémocèle a tendance à augmenter avec le nombre des microfilaires ingérées (fig. 6) ; le pourcentage des *Simulies* négatives diminue quand le repas est plus riche en microfilaires (tableau 3), ces deux faits suggérant, comme pour Aparicio, une simple proportionnalité entre microfilaires ingérées et microfilaires passées dans l'hémocèle. Mais la proportion des microfilaires qui traversent la paroi stomacale est plus faible pour les

FIG. 6. — *Rodolfo*. Relations numériques entre microfilaires ingérées et microfilaires passées dans l'hémocèle ; échelles logarythmiques (mêmes symboles que fig. 5).

petites prises de microfilaires et elle remonte autour de 1 % pour les prises supérieures à 200 microfilaires (tableau 3). Le très faible pourcentage des passages des microfilaires pour les petites prises est dû à l'abondance alors plus grande des microfilaires lysées immédiatement dans l'estomac. Les pourcentages de passages des microfilaires varient individuellement de 0 à 4 % pour les *Simulies* d'une même classe de microfilaires ingérées.

Ainsi, quelque soit l'onchocercarien, il ressort essentiellement que le nombre des microfilaires passées dans l'hémocèle augmente avec le nombre des microfilaires ingérées ; mais le pourcentage des passages des microfilaires est toujours très faible, voisin de 1 % et se réduit encore quand la proportion des microfilaires immédiatement lysées dans l'estomac augmente (cas de petites prises de microfilaires chez *Rodolfo*).

TABLEAU III. — *Passage des microfilaires dans l'hémocèle en fonction du nombre des microfilaires ingérées. Les % réels sont calculés après avoir réévalué le nombre des microfilaires stomacales ($\times 1,5$ pour Aparicio ; $\times 1,4 + 30$ pour Rodolfo). (N. ♀ = nombre de Simulies disséquées ; ♀ — = Simulie sans microfilaire dans l'hémocèle ; Mf. I. = microfilaires ingérées ; Mf. P. : microfilaires passées dans l'hémocèle)*

Classes de Mf. I.	N ♀	% ♀ —	% réels Mf. P.	N ♀	% ♀ —	% réels Mf. P.
0-49	13	76	1,5	6	100	0
50-99				29	89,6	0,28
100-149	20	45	1,4	13	61,5	0,49
150-199				17	64,7	0,46
200-299	25	44	0,8	16	31,2	1,02
300-399	26	19	1,4	19	47,3	0,58
400-499 ou 400	24	8,3	1,2	18	27,6	1,2
500-599	22	9,9	2			
600-699	18	11	1,6			
700	30	6,6	1,9			
% moyen	178	25	1,6	118	56	0,87
Onchocerquien	Aparicio			Rodolfo		

Conclusion.

Cette étude, jointe aux résultats de De Léon et Duke (1966), montre quelles sont les particularités de certains mécanismes de la transmission de l'Onchocercose humaine au Guatemala.

A) Aspects caractéristiques de la transmission de l'Onchocercose humaine au Guatemala.

De Léon et Duke ont étudié en 1966, dans la même région, la relation entre les microfilaires ingérées et le nombre de stades infestants obtenus chez *S. ochraceum*. Ils arrivent aux conclusions suivantes : la densité microfilarienne des onchocerquiens peut être très élevée (Mg de 390 et 170) ; le pourcentage des microfilaires qui se développent en stades infestants est très bas (0,65 à 2,1 %) ; de nombreuses microfilaires sont déjà lysées juste après le repas.

En étudiant uniquement l'ingestion des microfilaires et leur passage dans l'hémocèle nous retrouvons ces trois caractères : les Simulies ont ingéré jusqu'à 1 700 microfilaires avec des Mg de 447 et 234 ; de l'énorme population de microfilaires prélevée

par le vecteur, une quantité infime peut poursuivre son développement : 1 sur 100 environ ; enfin, avec Aparicio et Rodolfo, les gouttes épaisses faites juste après le repas sont déjà riches en microfilaires lysées.

En outre, en abordant le problème de la transmission de l'Onchocercose par une technique différente de celle des auteurs précédents (comptages pour chaque Simulie des microfilaires stomacales et des microfilaires passées dans l'hémocèle, de 45' à 12 h après le repas), d'autres faits apparaissent :

— le nombre des microfilaires passées dans l'hémocèle est proportionnel à celui des microfilaires ingérées (tableau III, fig. 5 et 6) : l'infestation des Simulies est donc étroitement liée à la richesse des repas en microfilaires ; pour une Mg de 447 microfilaires ingérées, 75 % des Simulies (cas d'Aparicio) deviennent positives et elles ont en moyenne 9 microfilaires dans l'hémocèle ; pour une Mg de 234 microfilaires ingérées, seulement 52 % des Simulies deviennent positives et elles n'ont en moyenne que 4 microfilaires dans l'hémocèle ; au-dessous de 100 microfilaires ingérées, la transmission est pratiquement nulle ;

— les microfilaires immédiatement lysées dans l'estomac constituent environ 50 % des microfilaires ingérées ; elles forment une population aux propriétés physiologiques bien particulières qui s'opposent au reste des microfilaires ingérées dont la lyse ne débute que beaucoup plus tard, vers la 12^e heure.

La moitié des microfilaires ingérées sur onchocerquien guatémaltèque a donc un pouvoir infectant nul.

— La traversée de la paroi stomacale par les microfilaires s'effectue rapidement, en moins d'une heure ; durant cette période la membrane péritrophique est microscopiquement peu discernable.

B) Comparaison avec deux complexes *Onchocerca-Simulium* d'Afrique occidentale.

Par des expériences d'infestations croisées, Duke, Lewis et Moore (1966) ont clairement montré l'existence de deux principales formes physiologiques d'*Onchocerca volvulus* et de *Simulium damnosum* en Afrique occidentale, liées aux zones bioclimatiques : l'une de forêt et savane guinéenne, l'autre de savane soudanienne.

1) COMPARAISON AVEC LE COMPLEXE DE FORÊT.

Les données sur les caractères de la transmission de l'Onchocercose humaine en forêt proviennent des travaux effectués au Cameroun par Duke (1962) et Duke & coll. (1966). Les moyennes géométriques de microfilaires ingérées sur différents volontaires oscillent entre 0 et 20 (avec une prise maximale de 427 microfilaires) c'est-à-dire qu'elles sont au moins dix fois inférieures à celles du Guatemala (170 et 390 selon De Léon et Duke ; 185 et 420 dans nos expériences). Les moyennes géométriques des stades infestants varient de 0 à 7,6 (au maximum 63 stades infestants chez une Simulie),

avec des valeurs fréquentes comprises entre 2 et 3 ; elles sont donc assez voisines de celles du Guatemala (2,07 et 2,53 selon De Léon et Duke ; 1,6 et 0,87 avec nos volontaires) et traduisent ainsi un pourcentage global nettement plus élevé de réussite des microfilaires ingérées qu'il ne l'est au Guatemala (en général 35 à 70 % au lieu de 0,65 à 2,1 %). La comparaison des relations numériques entre microfilaires ingérées et stades infestants ne peut guère être poussée plus loin car les résultats de Duke, basés sur des moyennes, ne permettent pas d'apprécier avec précision les effets du nombre des microfilaires ingérées sur la quantité des stades infestants qui se développeront ; l'exemple suivant montre toutefois que cette quantité augmente en fonction du nombre des microfilaires ingérées : pour un même hôte, à des Mg de microfilaires ingérées égales à 1,14 et 12,72 correspondent des Mg de stades infestants respectivement égales à 0,98 et 7,16 et des pourcentages de 86 et 56 (Duke et coll., 1966, tableau I, p. 328-329).

2) COMPARAISON AVEC LE COMPLEXE DE SAVANE SOUDANIENNE.

Nous choisissons comme foyer de comparaison celui que l'un de nous a étudié près de la Leraba, au sud de la Haute-Volta (Bain et Philippon, 1970 ; Philippon et Bain, 1972). Dans cette zone, la transmission se caractérise par la très faible quantité de microfilaires ingérées capables de se développer : 1 sur 100 environ ; 50 % de *Simulies* gorgées restent négatives et la fraction positive renferme en moyenne 2 microfilaires. Ces caractères sont donc apparemment proches de ceux de l'Onchocercose au Guatemala. En fait, des différences importantes entre ces deux régions résident dans les mécanismes de transmission : en Haute-Volta, toutes les microfilaires ingérées ont une lyse lente qui débute 12 h après le repas ; les relations entre microfilaires ingérées et microfilaires passées dans l'hémocèle sont d'un type très particulier puisque les pourcentages les plus élevés de réussite (30 %) s'observent pour les très petites prises de microfilaires (1 à 5) et que le nombre de microfilaires passées dans l'hémocèle est maintenu à de faibles valeurs quelque soit l'augmentation du nombre des microfilaires ingérées (phénomène de limitation : Bain, 1971), si l'on excepte les quelques cas de sorties massives de microfilaires toujours liées à des anomalies mortelles de la membrane péritrophique. Ainsi, en Haute-Volta, l'infestation des *Simulies* ne s'accroît pas avec la densité en microfilaires des repas sanguins, comme c'est le cas au Guatemala. Une autre différence existe encore entre ces deux couples Filaire-vecteur : en Haute-Volta, la membrane péritrophique est épaisse, joue un rôle de barrage précoce mais les microfilaires, du fait de l'existence d'un séjour prolongé dans l'épithélium stomacal, gagnent paradoxalement l'hémocèle de façon tardive (jusqu'à la 12^e h) ; au Guatemala, la sortie est plus rapide (1 h) et non gênée par la membrane péritrophique.

C) Signification de l'association, chez un même hôte, de microfilaires à lyse rapide et de microfilaires à lyse lente.

Le fait qu'une proportion très élevée (au moins 50 %) des microfilaires ingérées est fortement lysée dès son arrivée dans l'estomac tandis que le reste de la population

n'est attaquée par les enzymes digestifs que 8 h plus tard (cf. tableau I), est très remarquable. Cette observation présente certaines analogies avec l'hypothèse que nous avons formulée pour tenter d'expliquer le phénomène de limitation, observé chez certains couples Filaire-vecteur (Bain, 1971) : le faible taux de passage des microfilaires serait dû à la coexistence, chez l'hôte, de deux catégories de microfilaires, les unes aptes (microfilaires +), les autres inaptes (microfilaires —) à traverser la paroi stomacale, ces dernières formant des populations plus concentrées. La mise en évidence des deux étapes de destruction des microfilaires d'*O. volvulus* chez *S. ochraceum* ne constitue évidemment pas une preuve de la validité de cette hypothèse, mais elle montre tout au moins :

1) que toutes les microfilaires d'un même hôte n'ont pas les mêmes propriétés physiologiques, ce qui est rendu perceptible par leurs réactions vis-à-vis du vecteur,

2) que ces catégories de microfilaires peuvent avoir des modes de dispersion différents ; en effet, chez Rodolfo, la proportion des microfilaires à lyse immédiate semble nettement plus élevée (70 - 90 %) quand la prise globale en microfilaires est petite. Cette particularité provoque d'ailleurs une limitation des passages de microfilaires dans l'hémocèle, mais qui ne se manifeste évidemment qu'au niveau des faibles repas en microfilaires (1 à 200), contrairement à ce qui advient dans les autres couples Filaire-vecteur étudiés jusqu'à présent.

Bibliographie

- BAIN (O.), 1971. — Transmission des Filarioses : limitation des passages des microfilaires ingérées vers l'hémocèle du vecteur ; interprétation. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 46 (5), 613-631.
- et PHILIPPON (B.), 1970. — 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. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 45 (3), 295-320.
- DE LÉON (J.) et DUKE (B. O. L.), 1966. — Experimental studies on the transmission of Guatemalan and West African strains of *Onchocerca volvulus* by *Simulium ochraceum*, *S. metallicum* and *S. callidum*. *Trans. Roy. Soc. trop. Med. hyg.*, 60 (6), 735-752.
- DUKE (B. O. L.), 1962. — Studies on factors influencing the transmission of onchocerciasis. I. The survival rate of *Simulium damnosum* under laboratory conditions and the effect upon it of *Onchocerca volvulus*. II. The intake of *Onchocerca volvulus* microfilariae by *Simulium damnosum* and the survival of the parasites in the fly under laboratory conditions. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 56 (2 et 3), 130-135 et 255-263.

- , LEWIS (D.J.) et MOORE (P.J.), 1966. — *Onchocerca-Simulium* complexes. I. Transmission of forest and Sudan savannah strains of *Onchocerca volvulus*, from Cameroon, by *Simulium damnosum*, from various West African bioclimatic zones. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 60 (3), 318-336.
- PHILIPPON (B.) et BAIN (O.), 1972. — Transmission de l'Onchocercose humaine en zone de savane d'Afrique occidentale ; passage des microfilaires d'*Onchocerca volvulus* Leuck. dans l'hémocèle de la femelle de *Simulium damnosum* th. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. Med. et Parasit.*, 10 (3), 251-261.

Addendum : Les travaux de M. Coluzzi et R. Trabucchi (1968), ceux de P. B. McGreevy (sous presse) et les recherches effectuées durant l'impression semblent indiquer que le phénomène des microfilaires immédiatement lysées est en relation avec la présence de dents bucco-pharyngées chez *S. ochraceum*.

- COLUZZI (M.) et TRABUCCHI (R.), 1968. — Importanza dell' armatura buccofaringea in *Anopheles* e *Culex* in relazione alle infezioni con *Dirofilaria*. *Parassitologia*, 10, 47-59.
-