La Filaire *Dipetalonema dessetae* : phénomènes de régulation et rendement parasitaire chez l'*Aedes* vecteur

par G. PETIT

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

Résumé.

Des sondages numériques sont effectués sur les différentes étapes du cycle de *Dipetalonema dessetae* chez *Aedes aegypti* :

— ingestion des microfilaires : la variation du nombre des microfilaires ingérées suit une loi binomiale négative, mais la surdispersion est plus faible que celle observée par Pichon avec la Filaire de Bancroft, dont la microfilaire, beaucoup plus épaisse, est plus ralentie dans les capillaires ;

— traversée de la paroi stomacale : la « limitation » est due à l'établissement d'un barrage stomacal précoce (2^e heure), mais il est imparfait et laisse filtrer des microfilaires durant les heures suivantes ;

— développement des larves et migration vers la tête : chez les moustiques bien nourris, toutes les microfilaires passées dans l'hémocèle atteignent le stade infestant, mais avec un léger retard chez les moustiques très infestés ; 50 % des stades infestants migrent dans la tête, quelle que soit l'intensité du parasitisme.

Il apparaît que, dans le couple Filaire-vecteur, la régulation de la transmission est due presque exclusivement au phénomène de limitation stomacale et accessoirement aux vitesses différentes de développement. La nutrition du vecteur, à l'état préimaginal et à l'état adulte est un facteur essentiel dans le rendement parasitaire.

Accepté le 11 juillet 1978.

Summary.

The Filaria *Dipetalonema dessetae*: phenomenon of regulation and parasite yield in the *Aedes* vector.

Numerical observations were made on the various steps of the cycle of *Dipetalonema dessetae* in *Aedes aegypti*:

— ingestion of microfilariae: the numbers of the ingested microfilariae correspond to a negative binomial distribution, but the over-dispersion is less important than in the Bancroft's filaria as observed by Pichon; in this last case the microfilariae are thicker and thus are more slowed in the capillari;

— crossing of the stomach wall: the « limitation » is caused by a precociously established stomacal barrier (2nd hour); however, this barrier is not perfect and allows some microfilariae to infiltrate;

— larval development and migration towards the head: in the well fed mosquitoes, all the microfilariae in the hemocoel reach the infective stage, but less rapidly in the heavily infected mosquitoes; 50 per cent of the microfilariae migrate towards the head, not depending with the level of infection.

In this couple filaria-vector, the regulation of the transmission is depending nearly exclusively with the stomacal « limitation » and secondarily with different speeds of the development. The feeding of the mosquito — preimago or adult — is an essential factor for vector efficiency.

Introduction

La compréhension d'un foyer de filariose nécessite de connaître, entre autres facteurs, le rendement parasitaire du vecteur, c'est-à-dire la relation entre le nombre de microfilaries ingérées au cours du repas infestant, et le nombre de stades infestants inoculés à l'hôte définitif au moment de la piqure.

De nombreux travaux de qualité ont été effectués sur ce sujet (cf. la bibliographie indiquée par Sasa, 1976 et par Denham et Mc Greevy, 1977), mais les techniques de statistiques, de microscopie électronique, et l'emploi de nouveaux couples filaires-vecteurs, d'utilisation plus facile, devraient permettre d'approfondir certains points.

L'objet de ce travail est l'étude des principaux facteurs qui conditionnent le rendement parasitaire chez *Aedes aegypti* infesté par *Dipetalonema dessetae* Bain, 1973.

L'*Aedes* utilisé est la souche Gkep (cf. Petit et coll., 1977), qui s'est révélée d'emblée totalement sensible vis-à-vis de cette Filare et n'a donc pas eu à subir de sélection ultérieure. La Filare a été isolée en 1973 d'un Rongeur (*Proechimys oris* Thomas, 1904) naturellement infesté et a été maintenue depuis cette date au laboratoire chez les descendants issus d'un seul couple.

I. - Ingestion des microfilaires

Depuis longtemps, la relation entre le taux de la microfilariémie et le nombre de parasites ingérés par le vecteur a intrigué divers auteurs (cf. Ramachandran, 1966), car ils ont remarqué que, pour un couple Filaire-vecteur donné, certains Moustiques prélèvent un nombre de microfilaires bien supérieur à ce que la microfilariémie permet de prévoir. L'ajustement des courbes d'ingestion des microfilaires à la loi binomiale négative montre qu'il s'agit d'un cas particulier d'un fait très général en parasitologie, la surdispersion (Crofton, 1971, Pichon et coll., 1975).

A. Données numériques ; distribution des *Aedes* en fonction du nombre des microfilaires ingérées.

Les données numériques sont fournies par cinq groupes de Moustiques gorgés jusqu'à réplétion sur des *Proechimys* ayant des microfilariémies différentes (1) : 2 000 microfilaires (expérience 1 ; 73 données), 1 000 microfilaires (expérience 2 ; 99 données), 400 microfilaires (expérience 3 ; 169 données), 100 microfilaires (expérience 4 ; 104 données), 150 microfilaires (expérience 5 ; 98 données).

Les Moustiques sont disséqués 17 h à 22 h après le repas sanguin pour dénombrer les microfilaires ingérées (microfilaires intrastomacales + microfilaires extrastomacales).

Les cinq distributions des *Aedes* en fonction du nombre de microfilaires ingérées sont représentées dans la figure 1.

B. Analyse des distributions des *Aedes* en fonction du nombre des microfilaires ingérées.

L'analyse de ces distributions a été donnée récemment par Pichon et coll. (1975) sur d'autres couples Filaires-vecteurs.

Pratiquement, pour effectuer ces analyses, nous cherchons dans un premier temps si nos distributions peuvent s'ajuster à une loi binomiale négative : l'ajustement réalisé est très bon ($P > 0,9$).

Dans un deuxième temps, nous calculons pour chaque distribution, d'une part, l'écart-type, et, d'autre part, la valeur du paramètre K, par une des méthodes indiquées par Pichon et coll. (2).

Dans les cinq cas, l'écart-type est très inférieur à la moyenne arithmétique et la valeur de K est voisine de 3 (tableau I).

(1) La microfilariémie correspond au nombre de microfilaires comptées dans 10 μ l de sang prélevé au sinus oculaire vers 14 h (pic diurne). Il ne faut attribuer qu'une valeur approximative aux nombres que nous indiquons pour la microfilariémie, car la quantité de microfilaires trouvées dans 10 μ l de sang prélevé sur un Rongeur donné et à un moment donné est assez variable.

(2) La méthode utilisée ici est la méthode des moments $K = \bar{X}^2/S^2 - \bar{X}$, $\bar{X}$ étant la moyenne et S^2 la variance.

Fig. 1. Distribution d'*A. aegypti* en fonction du nombre de microfilaries de *D. dessetae* ingérées (N = nombre; ♀ = moustique gorgé; Mf I = microfilaries ingérées); 1: 2 000 microfilaries/10 μ l; 2: 1 000 microfilaries/10 μ l; 3: 400 microfilaries/10 μ l; 4: 100 microfilaries/10 μ l; 5: 150 microfilaries/10 μ l.

Tableau I. *D. dessetae* - *A. aegypti* ; analyse des distributions des microfilaires ingérées par *A. aegypti* (MI = microfilaires ingérées).

N° d'expérience	1	2	3	4	5
Microfilariémie	2 000	1 000	400	100	150
Moyenne arithmétique des MI	624,9	206	57,3	22,5	17,5
Variance	139 498	19 982	1 429	159	144
Ecart-type	373,5	141,36	37,8	12,6	12
K	2,81	2,14	2,49	3,7	2,39
Nombre d' <i>Aedes</i>	73	99	169	104	98
Nombres extrêmes de microfilaires ingérées :					
— minimum	166	14	4	3	2
— maximum	2 264	695	257	61	79

C. Discussion : hypothèses sur la signification biologique de ces analyses.

Les résultats obtenus par Pichon et coll. 1975 sur *Wuchereria bancrofti* sont les suivants (tableau II) :

Tableau II. *W. bancrofti* var. *pacifica* ; analyse des distributions des microfilaires ingérées ; deux espèces de moustiques sont utilisées et deux taux de microfilariémie.

Espèce du vecteur	<i>Aedes polynesiensis</i>	<i>Aedes polynesiensis</i>	<i>Aedes aegypti</i>
Microfilariémie	175	20	20
Moyenne des MI	45,92	11,45	3,84
Ecart-type	47,42	12,82	4,28
K	0,95	0,85	1,05

Dans ces trois distributions, quel que soit le vecteur utilisé et la microfilariémie, la moyenne arithmétique est très proche de l'écart-type et K est voisin de 1. La distribution des vecteurs s'ajuste à une loi binomiale négative particulière, la loi géométrique.

Selon ces auteurs, la même loi convient également pour d'autres couples Filaires-vecteurs (par exemple, la souche africaine de la Filaire de Bancroft ; la Filaire des Bovins, *Setaria labiato-papillosa*).

Les résultats que nous obtenons avec *D. dessetae* sont différents : le paramètre K est proche de 3 au lieu de 1, et l'écart-type est nettement inférieur à la moyenne, au lieu de l'égaliser. La surdispersion observée avec *D. dessetae* est donc plus faible.

Pour interpréter leurs expériences sur *W. bancrofti*, Pichon et coll. (1976) indiquent : « Le ralentissement des microfilaries lors de leur passage dans les vaisseaux capillaires suffit pour rendre compte d'une telle distribution. L'action de ce facteur est difficilement négligeable quand on considère la taille des microfilaries, longues de 200-300 μm et larges de 6-8,5 μm , qui ont à traverser des capillaires d'un diamètre égal ou inférieur à 10 μm . Le modèle le plus simple pour représenter ce genre de situation (analogie avec les problèmes d'encombrement d'un standard téléphonique, par exemple) fait appel à la réunion de deux processus stochastiques de Poisson. »

La première idée qui se présente pour expliquer la discordance de nos résultats est donc de supposer que c'est le diamètre du corps des microfilaries qui entre en jeu : chez *D. dessetae*, il est nettement inférieur au diamètre des microfilaries de *W. bancrofti* (4-5 μm au lieu de 6-8,5 μm). A l'inverse, chez la Filaire des Bovins citée plus haut, dont le coefficient K égale 1 comme chez *W. bancrofti*, la microfilaire a une épaisseur comparable à celle de *bancrofti* (6-7,5 μm).

II. - Traversée de la paroi stomacale par les microfilaries

Le couple *D. dessetae* - *Aedes aegypti* est caractérisé par un puissant phénomène de régulation, qui se produit lors de la traversée de l'épithélium stomacal de l'*Aedes* par les microfilaries ; il s'agit du phénomène de limitation décrit par Bain (1972 et 1976) : lorsqu'il y a limitation, la proportion des microfilaries qui passent dans l'hémocèle diminue quand augmente le nombre de microfilaries ingérées (fig. 2).

Fig. 2. Phénomène de limitation chez *D. dessetae* - *Aedes aegypti* : pourcentage de microfilaries qui traversent la paroi stomacale en fonction du nombre de microfilaries ingérées (Mf P : microfilaries passées).

Par ailleurs, Bain et Chabaud (1975) ont montré que, chez les *Aedes* infestés, toute cellule attaquée par une microfilaire subit une lyse basophile, qui ne s'observe ni chez

les moustiques sains, ni chez les moustiques faiblement infestés, ni chez les moustiques très infestés peu de temps après le repas. La lyse cellulaire semble engluier la microfilaire et lui interdire la traversée de la paroi stomacale ; les auteurs concluent que cette modification du comportement de l'épithélium stomacal, qui ne se produit qu'à un moment déterminé, sous l'action de très nombreuses microfilaires, fournit une explication au phénomène de limitation et que l'on peut y voir la première étape d'un phénomène immunitaire, puisque le mécanisme implique une information générale de tout l'estomac.

Par ailleurs, dans le couple *Aedes aegypti* - *Setaria labiatopapillosa* étudié par Brengues et Bain, il apparaît que les microfilaires arrivent de façon très progressive dans l'hémocèle (6 h) quand 1 à 3 microfilaires sont ingérées, mais que les passages s'arrêtent dès les premières heures quand le nombre de microfilaires ingérées est important.

L'ensemble des résultats obtenus sur ces deux couples par deux techniques différentes est donc très cohérent. Mais il a paru utile de poursuivre l'étude de ce problème sur deux points particuliers :

A) la lésion stomacale chez l'*Aedes* hyperinfesté ;

B) la chronologie des passages des microfilaires vers l'hémocèle chez les moustiques peu et très infestés.

A. La lésion stomacale chez l'*Aedes* hyperinfesté.

La figure 3, B et C, représente deux cellules de l'épithélium digestif d'un *Aedes* hyperinfesté, fixé 3 heures après le repas de sang. L'une d'elles contient une microfilaire, en coupe transversale. Cette cellule a un aspect très particulier, qui contraste avec celui de la cellule voisine saine. La cellule parasitée est très osmiophile, pincée à la base et débordant à l'apex sur la cellule voisine ; les citernes du réticulum endoplasmique sont anormalement dilatées et tout le reste du cytoplasme offre l'aspect d'un magma où les structures cytoplasmiques ont disparu (3). La cellule parasitée est donc complètement lysée.

Ces images évoquent des phénomènes de dégénérescence, qui s'observent dans l'intestin moyen de divers Insectes (Fain-Maurel et coll., 1973 ; Papillon et coll., 1974). Ils sont caractérisés, comme ici, par une basophilie très importante des cellules touchées, qui, ensuite, sont expulsées dans la lumière du tube digestif. Dans le cas de ces Insectes, il s'agit d'une dégénérescence relativement lente, avec la formation progressive de grosses vacuoles autophagiques et la manifestation tardive de la pycnose nucléaire.

(3) Fixation utilisée pour l'intestin moyen d'*Aedes aegypti* :

— Fixation : Glutaraldéhyde à 6 % dans un tampon de gacodylate de Sodium 0,1 M + CaCl_2 0,05 %.

— Rinçage : Tampon gacodylate de Sodium 0,2 M, pH 7,4 ajusté à 840 m osm avec 10 % de Saccharose + CaCl_2 0,05 %.

— Post fixation : Acide osmique à 1 % dans tampon gacodylate de Sodium 0,2 M, pH 7,4.

Fig. 3. A. Réaction d'une cellule intestinale touchée par une microfilaire chez un moustique hyperinfesté. (Microscopie optique). B. Coupe de la microfilaire dans la cellule lysée (en bas à gauche) et cellule voisine normale (en haut à droite) $\times 5\,100$. C. *idem* : limite entre cellule lysée (en bas à gauche) et cellule saine (en haut à droite) $\times 25\,000$. (Symboles : E : épithélium ; h : hémocèle ; m : mitochondrie ; mf : microfilaire ; mv : microvillosité ; s : sang).

Au contraire, chez les Moustiques très infestés, cette basophilie et cette pycnose nucléaire apparaissent très rapidement sans qu'on puisse trouver d'étape intermédiaire. La microfilaire semble donc provoquer, dans ce cas, une lyse très rapide de la cellule qu'elle parasite.

B. Chronologie de l'arrivée des microfilaires dans l'hémocèle des *Aedes* peu et très infestés.

Nous avons comparé les sorties des microfilaires chez les moustiques peu infestés et chez les moustiques très infestés ; les données numériques sont déposées au M.N.H.N. et peuvent être communiquées sur demande. Les résultats exploitables (petites prises et grandes prises de microfilaires) sont représentées dans le tableau III et sur la figure 4.

Tableau III. *D. dessetae* - *A. aegypti* ; données numériques sur le passage des microfilaires dans l'hémocèle, chez les moustiques peu et très infestés. (Mf I = nombre de microfilaires ingérées ; m = nombre moyen ; Mf P = microfilaires passées ; N ♀ = nombre d'*Aedes*).

Heures	Mf I $\leq$ 23 m Mf I = 12,6				Mf I $\geq$ 150 m Mf I = 429			
	N ♀	Mf I	Mf P	% Mf P	N ♀	Mf I	Mf P	% Mf P
1					6	2 720	16	0,60
2	13	187	9	4,81	16	6 647	56	0,84
3	23	247	18	7,29	17	8 284	158	1,91
4	23	312	62	19,87	20	7 206	212	2,94
5	21	257	72	28,02	24	16 294	417	2,56
7	20	282	69	24,47	17	7 628	401	5,26
9	19	242	99	40,91	7	1 670	128	7,66
24	27	272	152	56,30	25	12 767	1 032	8,1

Les proportions de microfilaires passées montrent toujours de très grands écarts par rapport à la moyenne ; l'intervalle de sécurité est donc très large et les 340 mesures que nous avons obtenues restent insuffisantes pour apprécier le détail du phénomène.

Le phénomène de limitation se manifeste dans les proportions qui avaient été établies précédemment par Bain et Chabaud (1975) (*fig. 2*).

La chronologie des passages proprement dite est plus clairement exprimée par les pourcentages cumulés des sorties, ramenés à 100 % en 24 h, pour les petites et pour les grandes prises. Ces chiffres sont indiqués dans le tableau IV et dans la figure 5.

Fig. 4. Chronologie du passage des microfilaires dans l'hémocèle chez les *Aedes* peu et très infestés, pendant les 24 h qui suivent le repas de sang (traits pleins : 12,6 microfilaires ingérées en moyenne ; tirets : 429 microfilaires ingérées en moyenne ; pour les deux courbes, les intervalles de confiance sont indiqués ; H = heure ; % Mf P = pourcentage de microfilaires passées dans l'hémocèle par rapport au nombre ingéré).

Tableau IV. *D. dessetae* - *A. aegypti* ; chronologie comparée de l'arrivée des microfilaires dans l'hémocèle, chez les moustiques peu et très infestés (les Mf P sont exprimées en pourcentage du nombre total passé à 24 h).

Heures	Mf I $\leq$ 23	Mf I $\geq$ 150
	% Mf P	% Mf P
2	9	10
3	13	23
4	35	38
5	50	31
7	43	60
9	73	95
24	100	100

Discussion.

D'après les données préliminaires, nous nous attendions à ce que, comme dans le couple *Setaria* - *Aedes*, les sorties de l'estomac s'effectuent très rapidement dans le cas des grosses prises, et très progressivement, au contraire, dans le cas des petites prises.

La comparaison des chronologies des sorties chez les moustiques peu et très infestés par *D. dessetae* est en contradiction avec cette hypothèse (fig. 5).

Fig. 5. Chronologie comparée de l'arrivée des microfilaires dans l'hémocèle chez les *Aedes* peu et très infestés (traits pleins : 12,6 microfilaires ingérées ; tirets : 429 microfilaires ingérées) ; les passages à 24 h sont ramenés à 100 % ; pour chaque heure, les Microfilaires passées sont exprimées en pourcentages cumulés par rapport au total passé à 24 h (Mf P = microfilaires passées).

Toutefois, l'examen de la figure 4 montre l'existence d'un barrage installé très précocement, puisque, dès deux heures, la courbe de sortie des microfilaires chez les moustiques très infestés est nettement plus basse que celle des moustiques peu infestés.

Le mécanisme de barrage semble être imparfait et laisse toujours filtrer une très faible proportion de microfilaires ingérées.

III. - Développement de la filaire dans le tissu adipeux

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressé à deux problèmes particuliers :

- l'influence sur le développement de la filaire de facteurs qui tiennent à la nutrition du moustique ;
- l'existence éventuelle d'un phénomène de régulation se surajoutant à la limitation stomacale.

Les expériences sont effectuées à 26°.

A. Nutrition du moustique.

1) *Influence des repas sanguins surnuméraires de l'Aedes sur le développement de la Filaire.*

Petit, Bain et Spitalier-Kaveh (1977) ont montré que dans ce couple Filaire-vecteur, le rendement parasitaire est multiplié par 10 lorsque des repas sanguins surnuméraires sont fournis à l'*Aedes* pendant la durée du développement larvaire de la Filaire.

2) *Influence des conditions de vie larvaire des Aedes sur le développement de la Filaire (tableau V).*

Le tissu adipeux de la femelle d'*Aedes* adulte est chargé de réserves (lipides, glycogène) qui se sont accumulées lors de la vie larvaire. Le parasite se développant à l'intérieur des cellules adipeuses, on pouvait supposer que l'amélioration de l'élevage larvaire favoriserait le parasitisme.

L'élevage de routine pratiqué au laboratoire consistait à donner du biscuit de chien finement pulvérisé aux larves dès l'éclosion. Par ailleurs, la densité larvaire par cuve d'élevage était habituellement élevée et l'apparition de nymphes s'étirait sur de longues périodes (deux semaines).

Nous avons obtenu un élevage rapide (8 jours à 25° C), bien synchronisé et donnant des nymphes régulièrement de belle taille en apportant deux modifications :

— les larves, dès l'éclosion, doivent trouver une nourriture abondante. Les pontes sont donc mises à éclore dans de l'eau de foin (environ 80 g de foin séché macéré une demi-journée dans 1/2 litre d'eau). Les larves plus âgées sont nourries comme précédemment ;

— la densité des larves a été fortement abaissée : environ 100 larves pour 1,5 litre d'eau de foin.

Les rendements parasitaires obtenus avec un tel élevage sont beaucoup plus élevés : par exemple, quand il n'y a pas de repas de sang surnuméraires, le nombre moyen de stades infestants par Moustique atteint 7 au lieu de 1,3.

Les Moustiques adultes étant plus grands ingèrent plus de microfilaires, mais, dans le cas de notre expérience, le Rongeur utilisé a une forte microfilarémie (environ 800 microfilaires/10 µl) et le phénomène de limitation joue à plein. Il s'ensuit que la différence entre les nombres de microfilaires passées dans l'hémocèle chez les Moustiques mal ou bien nourris est négligeable. L'amélioration du rendement parasitaire peut donc être imputée essentiellement à un taux plus élevé de réussite des microfilaires passées dans l'hémocèle quand le tissu adipeux a eu un bon développement larvaire.

Il en résulte que, dans le cas de Moustiques à vie larvaire améliorée, l'effet positif des repas sanguins sur le rendement parasitaire est moins fort : le rendement est triplé (22 stades infestants en moyenne au lieu de 7), alors que, chez les Moustiques ayant peu de réserves larvaires, la prise de repas de sang décuple le rendement (tableau V).

Tableau V. Effets des repas sanguins et des conditions d'élevage larvaire des *Aedes* sur le développement de *D. dessetae* (* données prélevées dans Petit et coll., 1977). (La microfilariémie est exprimée en nombre de microfilaries pour 10 μ l; $L_3/Aedes$ = nombre moyen de stades infestants par *Aedes*; % *L* anormale = pourcentage des larves retardées, lysées ou mélanisées par rapport au nombre total de larves; *N Aedes* = nombre d'*Aedes* disséqués).

Elevage larvaire des <i>Aedes</i>	Micro-filarémie	Pas de repas surnuméraire sur <i>Proechimys</i> sain			3 repas surnuméraires sur <i>Proechimys</i> sain		
		$L_3/Aedes$	% <i>L</i> anormales	<i>N Aedes</i>	$L_3/Aedes$	% <i>L</i> anormales	<i>N Aedes</i>
Médiocre*	800	1,3	72	76	10,9	7	78
Amélioré	800	7	36	15	22	5	15

B. Développement des larves dans le tissu adipeux (tableau VI).

Pour cette étude, 4 lots de moustiques ont été gorgés sur des *Proechimys* ayant respectivement 2 000, 1 000, 150 et 100 microfilaries pour 10 μ l de sang.

Deux séries de données nous permettent d'apprécier la réduction éventuelle du nombre des larves pendant le développement dans le corps gras; ce sont:

a) la comparaison entre le nombre moyen de microfilaries passées dans l'hémocèle et le nombre moyen de larves développées le 18^e jour dans le même lot;

Tableau VI. Nombre de larves développées chez l'*Aedes* en relation avec le nombre de microfilaries ingérées (Mf I) et de microfilaries passées (Mf P).

Microfilarémie approximative	Mf I	Mf P	<i>N Aedes</i> examinés	Nombre moyen de larves développées par <i>Aedes</i>	<i>N Aedes</i> examinés	% larves anormales	<i>N Aedes</i> examinés
2 000	600	47	18	33	16	3,9	59
1 000	200	20	11	25	19	0,3	81
150	50	17	10	16	25	2,8	86
100	14	7	17	13	20	3,9	60

b) le pourcentage de larves anormales (larves retardées, plus ou moins lysées, parfois mélanisées) observé au cours de dissections de 16 à 29 jours.

On constate qu'il n'y a pas de différence sensible pour ces deux ensembles de données entre les moustiques très infestés et les moustiques peu infestés.

La seule différence un peu sensible concerne le premier lot : 47 microfilaires dans l'hémocèle à 24 h, 33 larves seulement le 18^e jour ; il n'est pas légitime de calculer les intervalles de confiance sur ces échantillons non distribués suivant une loi gaussienne, mais il est difficile d'admettre, étant donné la grande dispersion des résultats (4), qu'une telle différence soit significative.

Nous ne pouvons donc conclure à l'existence d'une régulation de la population au cours du développement dans le corps gras.

IV. - Migration des stades infestants

Les L_3 qui se sont formées dans le corps gras émigrent, en partie tout au moins, dans les pièces buccales. Dans cette localisation, elles peuvent être éliminées au cours d'un repas sur aliment sucré (Lavoipierre et Ho, 1966 et 1973) ou bien au cours d'un repas sanguin (Mac Greevy et coll., 1974), correspondant alors à l'inoculation du parasite, ou bien rester dans les pièces buccales.

Nous avons étudié l'importance relative des différentes destinées possibles des larves infestantes et, de façon plus générale, tenté d'établir un bilan approximatif entre le nombre de microfilaires ingérées et le nombre de L_3 relâchées au moment de la piqûre infestante.

Étant donné les difficultés expérimentales, étant donné également les difficultés statistiques qui découlent d'une part de ce que les distributions binomiales négatives donnent des écarts à la moyenne considérable et que, d'autre part, il est impossible de calculer les intervalles de confiance sur la moyenne de petits échantillons lorsque la population n'est pas gaussienne, les résultats obtenus dans ce chapitre permettent un sondage et non pas une étude précise.

1) Vitesse de maturation (tableau VII).

La vitesse de maturation doit être considérée comme un facteur important en épidémiologie, car le taux de mortalité des moustiques dans la nature est si élevé qu'il peut y avoir pour l'efficacité de transmission d'un parasite de réelles différences entre celui qui sera mûr en 18 jours et celui qui le sera en 21 jours.

(4) Sur les 16 ♀ examinées à 18 jours dans cette expérience, le nombre de larves développées varie de 0 à 75.

L'examen du tableau VII paraît indiquer que les larves ingérées en grand nombre mûrissent un peu moins vite que dans le cas où l'infestation est faible. Dans les expériences 3 et 4 (faibles infestations), le pourcentage de larves infestantes par rapport au nombre total de larves ne diffère pas les 18°, 21° et 24° jours. Dans les expériences 1 et 2, au contraire, il paraît bien y avoir une différence entre le 18° et le 21° jour ; dans l'expérience 2, en particulier, le nombre 76 peut être considéré comme significativement différent du nombre 94. Dans nos conditions expérimentales (élevage à 26°C), nous admettons donc que la maturation des larves est légèrement retardée dans le cas de fortes infestations.

Tableau VII. Pourcentages de larves infestantes par rapport au nombre total de larves.

Microfilarémie approximative	% de larves infestantes				
	Jours				
	16	18	21	24	29
2 000	—	76 ± 10	85 ± 8	87	—
1 000	52	76 ± 15	94 ± 3	98	99,9
150	—	93	95	99	—
100	—	89	89,5	86	—

2) Migration des larves infestantes dans la tête (tableaux VIII et IX).

Dans les expériences 1 et 2 (tableau VIII), l'augmentation des larves céphaliques du 18° au 21° jour (11 à 15 dans le premier cas, 6 à 9 dans le deuxième cas) semble bien correspondre à la maturation plus tardive des larves infestantes vue précédemment. Dans les expériences 3 et 4, au contraire (maturation plus précoce), le nombre de stades infestants n'augmente pas dans la tête du 18° au 21° jour (8-8, exp. 3 ; 7-6, exp. 4).

Si l'on examine globalement du 21° au 29° jour les résultats successifs des quatre expériences, on constate une diminution constante du nombre de larves céphaliques ; cela correspond aux pertes au cours des repas sur jus sucré qui seront examinées dans le paragraphe suivant.

Ce qui nous intéresse ici est de savoir si les larves mûres qui se trouvent dans le thorax et l'abdomen sont susceptibles d'émigrer dans la tête au fur et à mesure que celle-ci se vide.

Tableau VIII. *Maturation des larves III et migration dans la tête du 16^e au 29^e jour, chez les Aedes nourris sur repas sucrés.*

Microfilarémie approximative	Jours	16	18	21	24	29
2 000	Nombre moyen de larves/ <i>Aedes</i>		34,7	33	15	
	Nombre moyen L ₃ /Th. + Abd.		14,5	13	7	
	Nombre moyen L ₃ /tête		11	15	6	
	Nombre d' <i>Aedes</i> examinés		19	20	20	
1 000	Nombre moyen de larves	29	25	23	19	12,8
	Nombre moyen L ₃ /Th. + Abd.	13,5	13	12	9,5	6,5
	Nombre moyen L ₃ /tête	1,5	6	9,5	9	6
	Nombre d' <i>Aedes</i> examinés	15	16	16	16	18
150	Nombre moyen de larves		16	11,5	11	4
	Nombre moyen L ₃ /Th. + Abd.		7	3	4	0
	Nombre moyen L ₃ /tête		8	8	7	3
	Nombre d' <i>Aedes</i> examinés		25	25	25	11
100	Nombre moyen de larves		13	10	11	
	Nombre moyen L ₃ /Th. + Abd.		4	3	5	
	Nombre moyen L ₃ /tête		7,5	6	4,5	
	Nombre d' <i>Aedes</i> examinés		20	20	20	

Tableau IX. *Comparaison entre Aedes peu et très infestés sur la relation entre le nombre total de larves (L) dans l'Aedes et le nombre de larves infestantes dans la tête (* intervalle de confiance).*

	$L \leq 10$	$L \geq 25$
Nombre d' <i>Aedes</i> disséqués	23	22
Nombre moyen de larves/ <i>Aedes</i> .	5,7	40,2
Nombre moyen de larves infestantes dans la tête	3,3	19,05
% de stades infestants dans la tête par rapport au nombre de stades totaux	57,6 % $\pm$ 21 % *	47,4 % $\pm$ 15 %

En comparant les chiffres du 21^e et du 29^e jour, l'existence de cette migration ne peut pas être éliminée : le nombre de larves restées dans le thorax + abdomen passe de 12 à 6 (exp. 2) et de 3 à 0 (exp. 3).

Cependant, étant donné les difficultés statistiques, ce phénomène ne peut être considéré comme démontré.

Le dernier point particulièrement intéressant pour nous est la comparaison entre les *Aedes* peu et très infestés ; il pourrait y avoir une régulation supplémentaire si le pourcentage des larves céphaliques se révélait supérieur chez les *Aedes* peu infestés. Nous avons donc scindé nos résultats en deux groupes, d'un côté les spécimens ayant 10 larves ou moins, et, d'autre part, ceux ayant 25 larves ou plus. Les résultats consignés dans le tableau 9 ne permettent pas de mettre en évidence ce type de régulation.

3) Pertes en larves infestantes au cours du repas sur jus sucré (tableau VIII).

Dans nos conditions d'élevage, les *Aedes* ont à tout moment la possibilité de se nourrir sur jus sucré. Il est bien connu qu'au cours de ces repas, un certain nombre de larves infestantes s'échappent des pièces buccales (Lavoipierre et Ho, 1966 et 1973). L'examen du tableau VIII indique que ce phénomène est bien marqué ; il en résulte que le nombre de larves infestantes par *Aedes* est maximum le 21^e jour dans les expériences 1 et 2 (infestations fortes avec maturation un peu plus tardive) et maximum au contraire au 18^e jour dans les expériences 3 et 4 (infestation faible, maturation plus rapide).

4) Pertes en larves infestantes au cours d'un repas sanguin (tableau X).

La comparaison entre infections faible et forte n'a pas encore été réalisée ; la seule expérience disponible concerne un lot infesté sur Rongeur ayant une microfilariémie d'environ 1 000 et observé le 23^e jour.

Tableau X. Perte de larves pendant un repas sur *Proechimys* le 23^e jour.

	Avant le repas	Après le repas
Nombre moyen de $L_3/Aedes$...	18	12
Nombre moyen de $L_3/tête$	11	5,5
Nombre moyen de $L_3/Abd. + th.$	7	6,5
Nombre d' <i>Aedes</i>	21	52

L'expérience nous indique que la moitié environ des larves céphaliques sont libérées alors que les nombres de larves abdominales et thoraciques avant et après le repas de sang ne changent pas.

Conclusions

Le couple Filaire-vecteur *Dipetalonema dessetae* - *Aedes aegypti* paraît constituer un excellent matériel pour les travaux expérimentaux de Filariologie et, en particulier, pour les travaux d'immunologie et de chimiothérapie.

Pour améliorer sensiblement les facilités d'utilisation de cette souche, et pour mieux connaître les caractéristiques de ce couple filaire-vecteur, nous avons cherché quels étaient les facteurs qui influençaient le rendement parasitaire et nous avons effectué une série de sondages sur toutes les étapes du cycle chez le vecteur pour comprendre à quel stade et par quels mécanismes s'effectue la régulation de la transmission.

Les points suivants ont été étudiés :

1) Ingestion des microfilaires.

La grande variabilité du nombre des microfilaires ingérées par un vecteur sur un hôte donné et l'existence de prises plus fortes ou plus faibles que celles qui sont attendues apparaissent actuellement comme l'effet de la surdispersion des microfilaires (Pichon), phénomène général en parasitologie (Crofton).

L'étude de l'ingestion des microfilaires nécessite donc un nombre important de données pour analyser la distribution du vecteur en fonction du nombre des microfilaires ingérées.

Les résultats obtenus avec *A. aegypti* - *D. dessetae* diffèrent de ce qui était connu jusqu'à maintenant à ce sujet. Les distributions des *Aedes* en fonction du nombre de microfilaires ingérées obéissent, dans tous les cas étudiés (*W. bancrofti*, *S. labiatopapillosa*), à une loi géométrique où la moyenne arithmétique est un peu supérieure à l'écart-type ; il s'agit donc d'une loi binomiale négative particulière où le paramètre K est égal à 1.

Pour notre Filaire, il s'agit également d'une binomiale négative, mais le paramètre K est proche de 3, l'écart-type est nettement inférieur à la moyenne et la surdispersion est donc plus faible.

Nous pensons que ces particularités sont liées à la gracilité du corps de la microfilare (4-5 μ m, au lieu de 6-8,5 μ m), ce qui entraîne un ralentissement moindre des parasites dans les capillaires.

2) Traversée de la paroi stomacale par les microfilaires.

Nous avons retrouvé le phénomène de limitation (la proportion de microfilaires ingérées qui gagnent l'hémocèle est d'autant plus faible que le nombre de microfilaires ingérées est plus grand) tel qu'il avait été décrit par Bain et Chabaud : 65 % de microfilaires passées pour 1 à 10 microfilaires ingérées et 10 % pour 200 à 300 microfilaires ingérées.

En revanche, ce qui paraissait prévisible pour la chronologie du phénomène ne s'est pas vérifié. On pouvait s'attendre à ce que, comme pour *Setaria labiatopapillosa*

chez *A. aegypti*, connue à ce propos, la traversée de l'estomac par les microfilaires soit bloquée très précocement dans les fortes infestations et très tardivement dans les faibles infestations. Il apparaît, en réalité, que les passages à travers l'estomac s'effectuent lentement et que la chronologie du phénomène ne diffère pas très sensiblement entre moustiques fortement ou faiblement infestés.

Nous devons donc faire appel à la notion d'un barrage incomplet qui devra faire l'objet d'études ultérieures.

L'analyse ultrastructurale de la cellule digestive bloquant la microfilarie a été réalisée ; il s'agit d'une lyse totale de la cellule touchée qui semble s'effectuer très brutalement.

3) Développement dans le tissu adipeux.

Sans sélection génétique supplémentaire de la souche d'*Aedes* utilisée, le rendement parasitaire chez le vecteur peut être considérablement amélioré : ce rendement passe de 1,3 à 7, en perfectionnant les techniques d'élevage larvaire de l'*Aedes*, et de 7 à 22, en donnant des repas de sang supplémentaires aux Insectes infectés.

Il n'y a pas de régulation de la population larvaire au cours du développement dans le corps ; les microfilaires qui atteignent la cavité générale arrivent dans leur très grande majorité au stade infestant, que le moustique soit fortement ou faiblement infesté.

4) Maturation et migrations des stades infestants.

Une régulation sensible s'ajoutant à la limitation stomacale est due aux vitesses de maturation ; les larves mûrissent en 18 jours chez les *Aedes* peu infestés et en 21 jours seulement chez les *Aedes* très infestés.

Cette faible différence, déjà constatée par divers auteurs (cf. Sasa, 1976), peut avoir une importance réelle dans la nature, car l'espérance de vie moyenne d'un moustique est généralement faible.

Les sondages effectués pour comparer les étapes ultérieures (migration des larves infestantes dans la tête, pertes en larves infestantes au cours des repas sur jus sucré) ne montrent pas de différences importantes entre moustiques peu ou très infestés.

Les analyses statistiques, toujours difficiles à manier sur ces phénomènes parasitaires (distributions non gaussiennes), ne permettent pas d'éliminer formellement la possibilité de petites régulations additionnelles, mais l'ensemble du travail montre cependant que le couple *Dipetalonema dessetae* - *Aedes aegypti* constitue un bon exemple d'une régulation de transmission due presque exclusivement au phénomène de limitation stomacale, et, accessoirement, aux vitesses différentes du développement des larves.

En dehors de tout phénomène de régulation chez les moustiques très infestés et peu infestés, l'étude montre que la nutrition générale du vecteur, à l'état larvaire et à l'état adulte, est un élément généralement sous-estimé, qui peut avoir une importance essentielle dans l'équilibre d'un foyer filarien.

Bibliographie

- Bain O. (1972): Transmission des Filarioses. Limitation des passages des microfilaires ingérées vers l'hémocèle du vecteur; interprétation. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 46, 613-631.
- Bain O. (1976): Traversée de la paroi stomacale du vecteur par les microfilaires: techniques d'étude utilisées, importance épidémiologique. *Bull. Org. Mond. Santé*, 54, 397-401.
- Bain O., Chabaud A.G. (1975): Le mécanisme assurant la régulation de la traversée de la paroi stomacale du vecteur par les microfilaires (*Dipetalonema dessetae*, *Aedes aegypti*). *C.R. Acad. Sci. Paris*, 281, sér. D, 1199-1202.
- Bregues J., Bain O. (1972): Passage des microfilaires de l'estomac vers l'hémocèle du vecteur dans les couples *Wuchereria bancrofti* - *Anopheles gambiae* A., *W. bancrofti* - *Aedes aegypti* et *Setaria labiatopapillosa* - *A. aegypti*. *Cah. O.R.S.T.O.M., Ser. Ent. Med. Parasitol.*, 10, 235-250.
- Crofton H.D. (1971): A quantitative approach to parasitism. *Parasitology*, 62, 179-193.
- Denham D.A., McGreevy P.B. (1977): Brugian Filariasis: epidemiological and experimental studies. *Ad. Parasitol.*, 15, 244-309.
- Fain-Maurel M.A., Cassier P., Alibert J. (1973): Etude infrastructurale et cytochimique de l'intestin moyen de *Petrobius maritimus* Leach en rapport avec ses fonctions excrétrices et digestives. *Tissue Cell*, 5, 603-631.
- Lavoipierre M.M.J., Ho B.C. (1966): Studies on filariasis. I. The migration of the infective larvae of *Brugia pahangi* in *Aedes togoi* and their loss from the Mosquito under experimental conditions. *J. Helminthol.*, 40, 343-362.
- Lavoipierre M.M.J., Ho B.C. (1973): Studies on filariasis. II. *Brugia pahangi*: the escape of infective larvae from the Mosquito. *J. Helminthol.*, 47, 339-352.
- MacGreevy P.B., Theis J.H., Lavoipierre M.M.J., Clark J. (1974): Studies on filariasis. III. *Dirofilaria immitis*: emergence of infective larvae from the mouth parts of *Aedes aegypti*. *J. Helminthol.*, 48, 221-228.
- Papillon M., Fain-Maurel M.A., Cassier P. (1974): Contribution à l'étude morphologique de l'intestin moyen de *Locusta migratoria migratorioides* (R. et F.). Recherches biologiques contemporaines. *Imp. Vagner*, Nancy, 4^e trim. 1974, p. 119-138.
- Petit G., Bain O., Spitalier-Kaveh H. (1977): Facteurs favorables à la transmission de la Filaire de laboratoire *Dipetalonema dessetae*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 52, 585-586.
- Pichon G., Prod'hon J., Rivière F. (1975): Recherche d'une loi de distribution des microfilaires ingérées par des moustiques piquant un Filarien. Premiers résultats. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 280, sér. D, 717-719.
- Pichon G., Prod'hon J., Rivière F. (1976): Hétérogénéité de l'ingestion des parasites sanguicoles par leurs vecteurs: description quantitative, interprétation et conséquences. *Multigr. Inst. Rech. Med. Louis Mallardé*, n° 357/IRM/J 5, 7 p., Papeete.
- Ramachandran C.P. (1966): Biological aspects in the transmission of *Brugia malayi* by *Aedes aegypti* in the laboratory. *J. Med. Entomol.*, 3, 239-252.
- Sasa M. (1976): Human filariasis. A global survey of Epidemiology and control. *University Park Press*, Baltimore, Londres, Tokyo, 819 p.