**La Filaire *Breinlia booliati*
dans le tissu adipeux d'*Aedes togoi*;
comparaison avec le couple *Dipetalonema dessetae* - *A. aegypti*. (*)**

par G. PETIT et H. SPITALIER-KAVEH

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

Résumé.

Dans le couple Filaire-vecteur *Breinlia* (*Breinlia*) *booliati*-*Aedes* (*Finlaya*) *togoi*, les modifications du tissu adipeux parasité offrent de grandes similitudes avec celles observées précédemment chez *Dipetalonema* (*Molinema*) *dessetae*-*Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* : organisation en syncytium des adipocytes parasités par une microfilare, stimulation locale de la synthèse protéique. Toutefois, il existe entre les deux couples une différence fondamentale : le syncytium adipeux parasité n'est plus activé par la prise d'un repas de sang chez *booliati-togoi* alors que ce tissu parasité réagit comme les adipocytes sains chez *dessetae-aegypti*.

L'analyse des couples croisés (*booliati-aegypti* et *dessetae-togoi*) montre que ces particularités physiologiques sont liées à la Filare et non au vecteur.

Summary.

The Filaria *Breinlia booliati* in the *Aedes togoi* adipose tissue; comparison with the couple *Dipetalonema dessetae*-*A. aegypti*.

In the couple Filaria-vector *Breinlia* (*Breinlia*) *booliati*-*Aedes* (*Finlaya*) *togoi*, the changes observed in the parasited adipose tissue display large similarities with those recently observed in *Dipetalonema* (*Molinema*) *dessetae*-*Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* : same syncytium organisation of parasited adipocytes, and local stimulation of protein synthesis. However, there is an essential difference between the two couples studied : the parasited adipous syncytium is not any more induced by a blood uptake in *booliati-togoi*, whereas this parasited tissue reacts like unparasited adipocytes in *dessetae-aegypti*.

Analysis of crossed couples (*booliati-aegypti* and *dessetae-togoi*) demonstrates that these physiological properties are not linked to the vector but to the Filaria itself.

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

Accepté le 20 juillet 1979.

Matériel et techniques

1. Entretien des souches filariennes.

La souche de *Breinlia* (*B.*) *booliati* Singh et Ho, 1973, est entretenue sur rat blanc; l'hôte intermédiaire expérimental est *Aedes* (*Finlaya*) *togoi* (Ho et coll., 1973).

La microfilariémie du rat blanc utilisé pour infester les moustiques est peu élevée : 90 microfilaries/10 μ l de sang pris au sinus oculaire; en effet, des sondages numériques ont montré que 95 % des microfilaries ingérées par *A. togoi* atteignent l'hémocèle et la mortalité augmente fortement quand les moustiques sont très infestés.

Le développement larvaire s'effectue en 13-14 jours à 26 °C; la mue I a lieu à 6-7 jours et la mue II à 10-11 jours.

L'entretien de la souche de *Dipetalonema* (*Molinema*) *dessetae* a été exposé précédemment (Petit, 1978). Le vecteur expérimental habituellement utilisé est *A. (Stegomyia) aegypti* et il est gorgé sur des *Proechimys oris* à forte microfilariémie (1 000 microfilaries/10 μ l), car il y a une puissante « limitation » lors de la traversée stomacale par les microfilaries.

Mais, dans le cas du couple croisé *D. dessetae*-*A. togoi*, la sortie des microfilaries de l'estomac s'effectue très différemment : il n'y a pas de limitation et 95 % des microfilaries ingérées atteignent l'hémocèle, la mortalité devenant élevée dans les cas des fortes infestations. Le *Proechimys* utilisé pour infester *A. togoi* a donc une microfilariémie peu élevée (90 microfilaries/10 μ l).

La suite du développement de *dessetae* chez *togoi* s'effectue, comme chez *aegypti* (premiers stades infestants le 15^e jour, formes retardées ou abortives exceptionnelles).

— Dans le couple croisé *B. booliati*-*A. aegypti*, les premières infestations des moustiques ont été faites avec un rat blanc fortement filarien, car l'existence d'un « phénomène de limitation » chez *A. aegypti* empêche habituellement la mortalité (Bain, 1976). En fait, avec *B. booliati*, le mécanisme de la traversée de la paroi stomacale par les microfilaries paraît être plus complexe; il semble exister une limitation quand le nombre de microfilaries ingérées n'est pas très élevé, mais ce phénomène de régulation ne paraît pas fonctionner régulièrement pour de fortes prises de microfilaries (> 200 microfilaries) et de tels moustiques meurent. Un rat blanc ayant seulement 90 microfilaries/10 μ l s'est donc révélé plus favorable pour le gorgement d'*A. aegypti*.

Chez ce vecteur, le développement de *B. booliati* s'effectue très mal : les larves sont lysées ou mélanisées avant d'avoir atteint le stade infestant; toutefois quelques larves arrivent au stade II.

2. Lots d'expériences ; repas des moustiques.

Pour chaque coupe Filaire-vecteur, l'expérience comprend 3 lots :

- un lot de moustiques gorgés sur le rongeur filarien (repas n° 1), puis régulièrement gorgés sur rongeur sain (3 repas sur cobaye) pendant la durée du développement larvaire ;
- un lot témoin, gorgé sur le même rongeur filarien, puis maintenu à jeun;

— un deuxième lot témoin, gorgé sur un rongeur sain (*Proechimys* ou rat blanc suivant le couple étudié), puis sur cobaye aux mêmes moments que le premier lot.

Avec *A. (S.) aegypti*, les repas sont effectués aux jours 0, 3, 6, 9.

Avec *A. (F.) togoi*, les repas sont plus espacés, car le vecteur a une physiologie plus lente; ils ont lieu aux jours 0, 3, 7, 11.

3. Fixations.

L'influence du repas sanguin sur le tissu adipeux sain d'*A. togoi* est analysée au moment du 2^e repas; les fixations sont effectuées avant ce repas, puis 6 heures, 24 heures, 36 heures et 72 heures après.

Les fixations pour l'analyse du tissu adipeux parasité sont effectuées avant chaque repas et également 24 heures après le 3^e repas.

Les techniques de fixation et de coloration pour la microscopie optique et électronique sont les mêmes que précédemment (Petit et coll., 1979).

I - Analyse du couple *Breinlia (B.) booliati* - *Aedes (F.) togoi*

A. — Tissu adipeux des moustiques sains.

La morphologie et l'évolution des adipocytes d'*A. togoi* sont très semblables à celles d'*A. aegypti* (Petit et coll., 1979); en particulier, un développement important de l'ergastoplasme apparaît régulièrement à la suite des repas de sang et s'accompagne d'une régression des réserves (fig. 1 et 3 A).

Toutefois, chez *A. togoi*, les adipocytes renferment un nombre souvent élevé de pigments; les mitochondries sont allongées et non sphériques, et le métabolisme est un peu plus lent (développement maximum de l'ergastoplasme 36 heures après le repas, au lieu de 24 heures chez *A. aegypti*).

B. — Tissu adipeux parasité.

Contrairement à ce qui a été observé dans le couple *D. dessetae*-*A. aegypti* (Petit et coll., 1979), la morphologie du tissu adipeux parasité est la même chez les moustiques régulièrement gorgés de sang et chez ceux qui ne le sont pas.

Les données morphologiques sont les suivantes :

— 24 heures après le repas infestant, les microfilaires sont dans le tissu adipeux abdominal, plus souvent au niveau des segments 3, 4 et 5, situés à la hauteur de l'estomac; le thorax peut également héberger quelques larves, principalement quand le moustique est très infesté.

Chaque microfilaire est située dans plusieurs adipocytes contigus, qui s'organisent en syncytium.

— Au 6^e jour (avant le 3^e repas), les modifications nucléaires et cytoplasmiques sont bien visibles. Les noyaux de la région parasitée sont généralement vésiculeux et plus gros;

Fig. 1. *A. togoi* sain ; A : adipocyte avant le 2^e repas de sang (glycogène abondant) ; B : 6 heures et C : 24 heures après (extension de l'ergastoplasme). ($\times 30\,000$).

ils sont souvent situés à la périphérie du syncytium, aplatis contre la membrane qui le limite. De ce fait, la comparaison des volumes des noyaux des zones parasitées et des zones saines a été rendue plus difficile; elle a été faite sur les noyaux présentant leur plus grand diamètre; les résultats sont les suivants : $47,55 \pm 8,23$ et $27,21 \pm 3,05$, respectivement dans les régions parasitées et saines.

Le cytoplasme est plus développé autour des larves et présente une basophilie, généralement peu accentuée (fig. 2 A); il montre une activité de synthèse plus importante que dans les adipocytes sains : ergastoplasme plus développé, ribosomes libres nombreux, mitochondries multipliées et souvent très allongées, corps de Golgi bien développés (fig. 3 B) et fig 3 C). Parallèlement, les réserves diminuent. Tous ces organites sont répartis de façon homogène dans la masse cytoplasmique et non en zones bien séparées d'activité et de réserves, comme c'est le cas dans les adipocytes sains (fig. 3 A).

— Au 8^e jour (24 heures après le 3^e repas de sang), le syncytium parasité ne montre pas de développement accru de l'ergastoplasme; par contre, les adipocytes sains avoisinants sont normalement stimulés par le repas de sang (fig. 4 A et B).

— Au 11^e jour, le syncytium parasité subsiste le plus souvent sous forme résiduelle autour des larves (fig. 2 B et C).

— Au 13^e jour, celles-ci sont en train de se libérer, les membranes des lobules parasités se déchirent; aucune réaction n'est visible autour de ces débris du tissu adipeux.

C. — Rendement parasitaire.

Le rendement parasitaire est comparé chez les moustiques qui prennent des repas sanguins supplémentaires après le repas infestant et chez ceux qui n'en prennent pas.

Les dissections des moustiques sont effectuées 14 jours après l'infestation. Dans les 2 lots de moustiques, la plupart des larves sont au stade III; il y a très peu de stades retardés et pas de formes abortives; la mortalité des *Aedes* (1) dans les 2 lots est sensiblement la même.

Tableau I. Taux d'infestation d'*A. togoi* par *B. booliati*, chez les moustiques gorgés et non gorgés. ($L_3/Aedes$ = nombre moyen de stades infestants par *Aedes*; $L_3/tête + trompe$ = nombre moyen de stades infestants dans la tête et la trompe des *Aedes*; N. *Aedes* = nombre d'*Aedes* disséqués; mortalité *Aedes* = % de *togoi* morts dans chaque lot d'expérience).

	$L_3/Aedes$	$L_3/tête + trompe$	N. <i>Aedes</i>	Mortalité <i>Aedes</i>
3 Repas sur Cobaye	20,5	11,3	40	68 %
Pas de repas sur Cobaye	22,7	10,8	20	84 %

(*) Chez les *A. togoi* sains, la mortalité n'est pas non plus négligeable, mais elle est plus réduite : 30 % des moustiques meurent, qu'ils soient ou non régulièrement gorgés.

Fig. 2. *A. togoi* infesté par *B. booliati*; A : 7^e jour, sections de larves et élargissement des travées cytoplasmiques denses entre les gouttelettes lipidiques, dans la zone parasitée; B et C : 11^e jour; B : 4 larves dans un lobule « in toto », à frais; C : sections de larves dans un lobule presque complètement évidé.

(A et C, éch. 30 µm; B, éch. 100 µm).

Fig. 3. A : *A. togoi* sain; à gauche adipocyte avant le repas, à droite 24 heures après, montrant l'accroissement des territoires ergastoplasmiques aux dépens des réserves; B et C : *A. togoi* infesté par *B. booliati* et régulièrement gorgé, deux régions d'un syncytium adipeux parasité par une larvé de 6 jours.

(A, éch. 10 μ m; B, $\times$ 25 000; C, $\times$ 30 000).

Discussion

Comparaison avec le couple *D. (M.) dessetae*-*A. (S.) aegypti*.

Chez les 2 couples, la microfilaire pénètre dans plusieurs adipocytes contigus qui s'organisent en syncytium et elle stimule la synthèse protéique aux dépens des réserves. Dans le syncytium parasité, les réserves et les organites de synthèse ne sont plus répartis suivant des territoires nettement délimités, mais ils sont mêlés, et leur importance relative change : le glycogène et les lipides régressent, les ribosomes sont plus nombreux, surtout concentrés près des petits massifs d'ergastoplasme néoformés, les mitochondries sont multipliées, les dictyosomes sont plus fréquents. La phase finale du développement larvaire s'accompagne d'une destruction du syncytium parasité, dont il ne reste pratiquement plus que la membrane cellulaire.

Chaque couple présente toutefois des particularités :

— L'activation du tissu adipeux parasité est plus lente chez *booliati-togoi* que chez *dessetae-aegypti* (respectivement 6^e et 3^e jour); la réaction est également moins intense que chez *dessetae-aegypti* (basophilie moins forte) et les noyaux sont disposés vers la périphérie du syncytium et non dans la masse.

Mais la différence la plus importante réside dans le rôle des repas de sang :

— Chez *dessetae-aegypti*, le syncytium parasité montre régulièrement une activité de synthèse accrue à la suite des repas de sang et, si les moustiques ne sont pas nourris, le tissu parasité montre précocement des images de dégénérescence (réticulum endoplasmique enroulé); dans ce syncytium en voie de lyse, les larves se développent mal; le rendement est 3 fois moindre (et même 10 fois moindre si la quantité de réserves accumulées durant la vie préimaginale du moustique est insuffisante) (Petit, 1978, Petit et Spitalier-Kaveh, 1979).

— Chez *booliati-togoi*, au contraire, le tissu adipeux parasité n'est plus activé à la suite des repas de sang : la figure 4 A montre un contraste frappant entre le syncytium parasité, à l'ergastoplasme disséminé, et les adipocytes sains avoisinants, à forte concentration ergastoplasmique. En outre, dans le cas des moustiques non nourris, le syncytium parasité ne montre aucune dégénérescence précoce susceptible de bloquer le développement de la Filaire et le rendement parasitaire paraît être sensiblement le même chez les moustiques nourris et non nourris.

II. - Observation sur les couples croisés *D. (M.) dessetae* - *A. (F.) togai* et *B. (B.) booliati* - *A. (S.) aegypti*

A. — *D. dessetae* chez *A. togai*.

Le tissu adipeux parasité montre les mêmes caractères que ceux observés chez *D. dessetae*-*A. aegypti* : réaction précoce, forte, noyaux dans la masse du syncytium et non en périphérie (fig. 5 A) ; celui-ci présente les variations rythmiques de l'extension de l'ergastoplasme, liées au repas de sang (fig. 5 B).

Fig. 4. *A. togoi* infesté par *B. booliati*, au 8^e jour, 24 heures après un gorgement; A : opposition entre le syncytium parasité non stimulé par le repas et les adipocytes sains à ergastoplasme très développé (membrane cellulaire du syncytium indiquée par les flèches; larve filarienne enveloppée dans la mue I); B : structure syncytiale du tissu parasité. ($\times 10\,000$).

Fig. 5. *A. togoi* infesté par *D. dessetae*; A : aspect du syncytium parasité par une larve de trois jours; B : *idem*, au 8^e jour et 24 heures après le repas (larve dans la mue I) ($\times 10\,000$).

B. — *B. booliati* chez *A. aegypti*.

Dans ce couple, où le développement de la Filaire s'effectue très mal, nous avons seulement cherché à connaître l'effet du repas de sang sur le syncytium parasité.

Des observations ont été faites en microscopie électronique sur une larve saine au stade II, au 8^e jour, 24 heures après le repas de sang; les images sont identiques à celles de *B. booliati* chez *A. togoi*: les adipocytes sains montrent un hyperdéveloppement de l'ergastoplasme et non le syncytium parasité.

Conclusion

Comme dans le couple *D. dessetae*-*A. aegypti*, la larve de *B. booliati* chez *A. togoi* parasite plusieurs adipocytes transformés en syncytium, dont elle accélère le métabolisme.

Le couple *B. booliati*-*A. togoi* présente toutefois deux traits originaux :

- le tissu parasité n'est plus activé à la suite des repas de sang;
- les repas sanguins supplémentaires après le repas infestant ne sont plus nécessaires à la suite du développement larvaire de la Filaire.

L'examen des couples croisés montre que c'est la Filaire et non le vecteur qui est responsable du type de la lésion; en effet, quel que soit le moustique, — avec *D. dessetae*, le tissu adipeux parasité subit une activation précoce, forte, et reste sensible à l'action du repas de sang; — avec *B. booliati*, il subit une activation moins intense et n'est plus stimulé par le repas sanguin.

Symboles des légendes des figures

D (appareil de Golgi), G (glycogène), L (lipides), L₁ et L₂ (larves aux stades I et II), M (mitochondrie), N (noyau), p (pigment), REG (reticulum endoplasmique granulaire), TS (tissu adipeux sain), TP (tissu adipeux parasité), TE (lobule évidé par la Filaire)

Bibliographie

- 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.
- Ho B. C. et coll., 1973 : Observations on the development of a new *Filaria* (*Breinlia booliati*) of a Rat *Rattus sabanus* in the Mosquito *Aedes togoi*. *J. Helminth*, 47, 135-140.
- Petit G., 1978 : La Filaire *Dipetalonema dessetae* : phénomène de régulation et rendement parasitaire chez l'*Aedes* vecteur. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 53, 649-668.
- Petit G., Spitalier-Kaveh (H.), 1979 : La Filaire *Dipetalonema dessetae* chez *Aedes aegypti*; étude du tissu adipeux parasité. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 54, 81-92.
-