INGESTION DES MICROFILAIRES PAR LE VECTEUR DANS LE CAS D'UNE FILAIRE PÉRIODIQUE *DITETALONEMA DESSETAE**

G. PETIT*

RÉSUMÉ. L'analyse, chez *D. dessetae*, de la périodicité de la microfilarémie, de l'ingestion des microfilaires par *Aedes aegypti*, et la comparaison avec l'ingestion de microsphères inertes inoculées au rongeur permettent de tirer les conclusions suivantes :

— Si les moustiques se gorgent pendant le plateau diurne, la densité des microfilaires ingérées est égale ou un peu supérieure à la densité des microfilaires dans le sang du sinus oculaire. Par contre, s'ils se gorgent la nuit, ils ingèrent 2,5 fois plus de microfilaires que ne le laisse prévoir la densité microfilarienne au sinus de l'œil ; il y a donc la nuit un phénomène de persistance des microfilaires dans la circulation sanguine cutanée du rongeur.

— Avec des moustiques de taille identique ingérant chacun un volume semblable de sang, la distribution des *Aedes* en fonction du nombre des microfilaires ingérées se rapproche d'une loi de Poisson ($K = 12$), ce qui indique que la répartition des microfilaires dans le sang cutané du rongeur tend vers l'homogénéité. Cette répartition semble résulter d'un processus actif, car les microsphères inertes, à l'opposé des microfilaires, se distribuent d'une manière très hétérogène ($K = 0,7$) dans le sang du rongeur accessible à l'*Aedes*.

— L'ingestion par des moustiques de microfilaires ou de certains *Plasmodium* ne fait pas intervenir un phénomène de ralentissement de ces derniers dans les fins capillaires (moins de 10 μm) ; les moustiques semblent piquer dans des vaisseaux de plus gros calibre (20-70 μm de diamètre).

Intake of microfilariae by the vector for a periodic filarioid, *Dipetalonema dessetae*.

SUMMARY. The Filariid *D. dessetae* in its natural host, *Proechimys oris*, has a daily periodic microfilaraemia with a conspicuous peak during the day (blood from the ocular sinus).

— If the mosquitoes engorge during the daily peak, the density of microfilariae ingested is equal or slightly superior to the density of microfilaria in the blood from the ocular sinus. However, if they engorge during the night they ingest 2,5 times the number of microfilariae than the density of microfilariae in the ocular sinus indicates they should. Thus during the night there is a phenomenon of persistence of microfilariae in the cutaneous blood circulation of the rodent.

— With mosquitoes of similar size each ingesting a similar volume of blood the distribution of *Aedes* as a function of the number of microfilariae ingested resembles the Poisson distribution. This indicates that the distribution of microfilariae which are accessible to the vector in the blood of *Proechimys* is nearly homogeneous.

* Laboratoire de Zoologie (Vers), associé au CNRS, Muséum national d'Histoire naturelle, 61, rue Buffon, F75231 Paris Cedex 05.

1. Ce travail a pu être effectué grâce à une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé.
Accepté le 15 janvier 1981.

— In comparison the inert microspheres are distributed heterogeneously in the cutaneous blood of the rodent ($K = 0,7$). This apparently indicates that the microfilariae by their movements keep their homogeneous distribution.

— The small ($8-14 \mu\text{m } \varnothing$) and large ($18-24 \mu\text{m } \varnothing$) microspheres are ingested in the same way by *Aedes* or *Anopheles*. Thus the ingestion of "voluminous" objects in the blood such as microfilariae or certain *Plasmodium* does not require that the objects be slowed down in narrow capillaries. In fact it appears that the two vectors studied have access to vessels of a greater diameter ($20-70 \mu\text{m}$) than is generally believed.

Introduction

L'étude quantitative de l'ingestion des microfilaries a donné lieu à des travaux analysés récemment par Pichon et coll. (1975 et 1980).

Nous reprenons cette étude dans le cas de la Filaire *Dipetalonema dessetae* Bain, 1973, entretenue chez son hôte naturel *Proechimys oris* Thomas, 1904, et transmise expérimentalement par *Aedes aegypti* (souche Gkep). Cette Filaire présente un phénomène de périodicité journalière de la microfilariémie que nous décrivons ; l'ingestion des microfilaries est étudiée sous trois aspects différents :

- L'ingestion en fonction des variations journalières de la microfilariémie.
- La distribution des *Aedes* en fonction du nombre de microfilaries ingérées.
- La comparaison de l'ingestion des microfilaries avec l'ingestion de microsphères inertes introduites artificiellement dans le sang de l'hôte.

I — Ingestion des microfilaries et périodicité journalière de la microfilariémie.

a) LA PÉRIODICITÉ

Pour étudier les variations de la microfilariémie, le sang est prélevé au sinus de l'œil du *Proechimys*, ce qui permet des ponctions régulières et suffisamment importantes. 50 mm^3 de sang sont ainsi prélevés toutes les 3 heures pendant 24 heures chez 3 rongeurs différemment infestés (respectivement 3441, 1205 et 248 microfilaries pour 50 mm^3 de sang à 12 h).

La figure 1¹ représente les variations de la densité microfilarienne pendant 24 h ; celles-ci sont identiques pour les 3 rongeurs étudiés. On distingue un plateau de forte microfilariémie entre 6 h et 15 h et un plateau de basse microfilariémie entre 18 h et 24 h. La chute de la microfilariémie atteint pratiquement 90 % de la microfilariémie maximum.

1. Expérience réalisée le 7/10/80 à Paris dans les conditions du laboratoire (température = 20°C).

FIG. 1. — *D. dessetae* : périodicité journalière de la microfilarémie chez 3 *Proechimys* (sang du sinus oculaire). Le nombre de microfilaries est exprimé en pourcentage du nombre maximum observé.

b) INGESTION DES MICROFILAIRES PENDANT LE PLATEAU DIURNE ET LE PLATEAU NOCTURNE

Pour voir l'influence de ces fluctuations de la microfilarémie sur le nombre de microfilaries ingérées, des moustiques sont mis à gorgier à 12 h et 22 h sur la peau ventrale de 2 *Proechimys* différemment infestés (respectivement 487 et 4 105 microfilaries pour 50 mm³ de sang à 12 h).

Les *Aedes* sont maintenus à 0° C après le gorgement pour éviter le passage des microfilaries dans l'hémocèle. L'estomac de chacun des moustiques est ensuite prélevé, dilacéré sur lame en goutte épaisse, qui sera colorée au Giemsa pour le comptage des microfilaries. Les résultats sont représentés tableau I.

Le nombre moyen attendu de microfilaries ingérées par *Aedes* est calculé par rapport à la densité microfilarienne au sinus de l'œil, chaque *Aedes* ingérant 4,5 mm³ de sang (Boorman, 1960).

— Si les moustiques se gorgent à 12 h, la densité des microfilaries ingérées est égale ou un peu supérieure à la densité des microfilaries dans le sang du sinus oculaire (rapport 1,09 et 1,13).

— Par contre, s'ils se gorgent la nuit, ils ingèrent 2,5 fois plus de microfilaries que ne le laisse prévoir la densité microfilarienne au sinus de l'œil.

TABLEAU I. — Ingestion des microfilaries de *D. dessetae* par *A. aegypti* pendant le plateau diurne et le plateau nocturne.

Præchimys N°	Heure Solaire	Nb de Mf pour 50 mm ³ de sang au sinus de l'œil	Nb moyen de Mf ingérées par Aedes		Rapport Nb $\frac{\text{Observé}}{\text{Attendu}}$	Nb Aedes
			Attendu	Observé		
25 GK	12 H	487	43,8	47,8 ± 3,52	1,09	115
	22 H	62	5,6	13,9 ± 1,18	2,49	110
85 GJ	12 H	4105	369	416 ± 25,2	1,13	115
	22 H	614	55	136 ± 9,32	2,49	115

(Nb = nombre ; Mf = microfilarie ; Nb attendu = nombre moyen théorique de microfilaries ingérées par *Aedes*, calculé en fonction de la microfilarémie au sinus de l'œil, chaque *Aedes* ingérant 4,5 mm³ de sang).

c) DISCUSSION

La Filaire *D. dessetae* présente une périodicité journalière de la microfilarémie très marquée (presque 90 % de chute journalière au sinus oculaire.) Elle est plus accentuée que chez *Wuchereria bancrofti* type pacifique et *Dirofilaria immitis*, où la chute ne dépasse pas 75 % de la microfilarémie maximum ; elle l'est moins que chez *Wuchereria bancrofti* et *Loa loa*, où la chute de la microfilarémie est pratiquement totale (Hawking, 1967).

Les relations différentes à 12 h et à 22 h entre le nombre attendu de microfilaries ingérées et le nombre observé montrent que la chute de la microfilarémie dans le sang cutané est beaucoup moins importante qu'elle ne l'est dans le sang du sinus oculaire. Lors de la chute de la microfilarémie, un certain nombre de microfilaries ne vont donc pas vers les poumons et persistent dans la circulation sanguine cutanée, soit qu'elles ne soient pas stimulées par les changements physiologiques de l'hôte, soit qu'elles se maintiennent activement malgré ce stimulus. Ce phénomène de rétention des micro-

filaires dans les vaisseaux cutanés contredit un peu l'idée de l'adaptation d'une microfilière à pic diurne à la piqûre par un insecte diurne ; cependant, la prise des microfilaires par l'*Aedes* reste nettement meilleure le jour (environ 3 fois meilleure pour les 2 expériences réalisées).

II — Distribution des *Aedes* en fonction du nombre de microfilaires ingérées.

a) ANALYSE DES DISTRIBUTIONS

Les distributions obtenues antérieurement avec ce couple Filaire-vecteur (Petit, 1978) étaient surdispersées (ajustement à une loi binomiale négative, coefficient de surdispersion K égal à 3).

Actuellement, avec un élevage plus standard des moustiques (individus plus gros et de taille semblable) et un tri plus précis des femelles gorgées à réplétion, tous les *Aedes* font un repas de sang plus important et ingèrent chacun un volume semblable de sang. Dans ces conditions, on constate que les distributions se rapprochent d'une loi de Poisson (coefficient K atteignant la valeur de 12) (fig. 2).

FIG. 2. — Distribution des *Aedes* en fonction du nombre de microfilaires ingérées. En blanc ; distribution observée ; en noir : distribution théorique de Poisson pour la même moyenne. (Coefficient de surdispersion $\kappa = \frac{S^2}{\bar{X}}$ $\bar{X}$ étant la moyenne et S^2 la variance).

b) DISCUSSION

En parasitologie, les distributions des hôtes en fonction du nombre de leurs parasites sont toujours surdispersées (Crofton, 1971 ; May, 1977 ; Anderson, 1978), en particulier chez les vecteurs de Filaires (Schmid, 1972 ; Pichon et coll., 1975 et 1980). Cette surdispersion est particulièrement grande dans les distributions naturelles, où une faible partie des hôtes renferme la totalité de la population parasitaire. Très généralement le coefficient K est en effet bien inférieur à 3.

Par contre, dans les distributions expérimentales, il est possible, au moins pour notre couple Filaire-vecteur, d'obtenir une distribution plus homogène proche du modèle poissonnien en limitant les variations apportées par les fluctuations de la quantité de sang ingéré par les *Aedes*.

Ceci montre que la répartition des microfilaires dans le sang cutané du *Proechimys* tend vers l'homogénéité.

III — Ingestion de microsphères inertes inoculées à un rongeur.

a) DESCRIPTION DES MICROSPHÈRES, MODALITÉS D'INJECTION

Les particules sont constituées d'un polymère de Dextran, le Sephasorb HP (Pharmacia Fine Chemicals). Elles sont neutres chimiquement et ont un diamètre qui varie entre 8 μm et 24 μm pour un diamètre moyen de 14,7 μm (fig. 3).

Ces microsphères sont injectées par voie intrapéritonéale (3 g de Sephasorb dans 5 ml de sérum physiologique pour un rat blanc de 100 g). Elles entrent rapidement dans la circulation sanguine, leur densité passe par un maximum 24 h après l'injection,

FIG. 3. — Histogramme de fréquence des microsphères en fonction de leur diamètre. A, dans le séphasorb pur ; B, dans le sang du sinus de l'œil ; C, dans le sang ingéré par les *Aedes* ; D, dans le sang ingéré par les *Anopheles*. ($\bar{X}$ = diamètre moyen des microsphères, $\emptyset$ = diamètre des microsphères).

puis elle décroît régulièrement. Une grande partie des microsphères ne pénètre pas dans la circulation sanguine et forme des kystes dans le péritoine ; d'autres semblent s'accumuler dans divers tissus et, en particulier, dans les tissus sous-cutanés.

Les microsphères sont repérables sur goutte épaisse simplement deshémo-globinisée, ou sur frottis non coloré.

b) TAILLE DES MICROSPHÈRES INGÉRÉES

Une expérience d'ingestion de microsphères est réalisée sur un rat blanc 24 h après l'injection de Sephasorb ; 104 *Aedes* sont gorgés sur la peau abdominale de l'animal comme lors des expériences d'ingestion de microfilaires ; de même, une prise de sang est effectuée au sinus oculaire du rongeur avant le gorgement.

Un test d'ingestion avec 30 *Anopheles* est réalisé parallèlement. L'histogramme de fréquence des différentes tailles de microsphères ingérées par l'*Aedes* ou l'*Anopheles* est représenté sur la figure 4.

Les *Aedes* et les *Anopheles* ingèrent dans les mêmes proportions les différentes tailles de microsphères trouvées dans le sang du sinus oculaire ou dans le Sephasorb pur.

c) DISTRIBUTION DES « AEDES » EN FONCTION DU NOMBRE DE MICROSPHÈRES INGÉRÉES

L'analyse est réalisée sur les 104 *Aedes* gorgés. Les caractéristiques de la distribution sont indiquées figure 4.

La distribution des *Aedes* en fonction du nombre de microsphères ingérées est très surdispersée, comme l'indique la valeur de son coefficient K égal à 0,7, et s'ajuste bien à une loi binomiale négative.

FIG. 4. — Distribution des *Aedes* en fonction du nombre de microsphères ingérées.
(Ms = microsphère, 1 = 1 *Aedes* ayant ingéré 49 microsphères).

d) DISCUSSION

L'examen de l'histogramme (fig. 4) montre que l'*Aedes* ou l'*Anophele* n'ingère pas préférentiellement les particules les plus grosses. Cette idée était suggérée par les travaux de plusieurs auteurs : Pichon et coll. (1975 et 1980) et nous-mêmes (1979) évoquons le ralentissement des microfilaries lors de leur passage dans les fins capillaires (diamètre inférieur à 10 μm) pour rendre compte des surdispersions observées lors de l'ingestion ; Landau (1980) fait intervenir la grande taille de certains gamétocytes (diamètre compris entre 9,5 et 10,5 μm), plus ralentis dans les fins capillaires pour expliquer leur concentration chez les Anophèles.

Ces hypothèses paraissent donc erronées ; il semble que l'*Aedes* ou l'*Anopheles* aient accès à des vaisseaux de plus grosse taille qu'on ne l'imagine généralement ; la longueur de leur trompe et son enfoncement lors de la piqûre font penser qu'ils prélèvent du sang entre 400 et 1500 μm de profondeur, c'est-à-dire au niveau de vaisseaux dont le diamètre varie entre 20 μm et 70 μm (artérioles, veinules, anastomoses artério-veineuses) et non pas dans les très fins capillaires superficiels. D'autre part, le volume du repas de sang d'un *Aedes* (4,5 mm^3 environ) indique que, même s'il pique dans un fin capillaire, il prélève principalement du sang plus profond ; en effet, cette quantité de sang ingéré correspondrait au volume de sang compris dans un capillaire de 10 μm de diamètre sur 12 m de long, alors que leur longueur ne dépasse pas 800 μm chez les mammifères (Chèvremont, 1956).

L'analyse de la distribution des *Aedes* en fonction du nombre de microsphères ingérées montre une forte surdispersion ($K = 0,7$), ce qui indique qu'une particule inerte tend, à l'opposé des microfilaries, à se répartir d'une manière hétérogène dans le sang accessible au vecteur.

Conclusions

— La Filaire *D. dessetae* présente chez son hôte naturel *P. oris* une microfilarémie périodique journalière avec un plateau diurne de forte microfilarémie (sang du sinus oculaire).

— Si les moustiques se gorgent pendant le plateau diurne, la densité des microfilaries ingérées est égale ou un peu supérieure à la densité des microfilaries dans le sang du sinus oculaire. Par contre, s'ils se gorgent la nuit, ils ingèrent 2,5 fois plus de microfilaries que ne le laisse prévoir la densité microfilarienne au sinus de l'œil ; il y a donc la nuit un phénomène de persistance des microfilaries dans la circulation sanguine cutanée du rongeur.

— Avec des moustiques homogènes (individus de même taille ingérant chacun un volume semblable de sang), la distribution des *Aedes* en fonction du nombre des microfilaries ingérées s'ajuste à une loi de Poisson, ce qui indique que la répartition des microfilaries dans le sang du *Proechimys* accessible au vecteur tend vers l'homogénéité.

— A l'opposé, des microsphères inertes se répartissent d'une manière très hété-

rogène ($K = 0,7$) dans le sang cutané du rongeur, ce qui semble indiquer que les microfilaires par leurs mouvements s'y maintiennent activement d'une manière homogène.

— Les petites microsphères (8-14 μm de $\varnothing$) et les grosses microsphères (18-24 μm de $\varnothing$) sont ingérées de la même manière par les *Aedes* ou les *Anophèles* ; l'ingestion de parasites sanguins « volumineux », tels que des microfilaires ou certains *Plasmodium*, ne fait donc pas intervenir un phénomène de ralentissement de ces derniers dans les fins capillaires. Il semble, en fait, que les 2 vecteurs étudiés aient accès à des vaisseaux de plus gros calibre (20-70 μm) qu'on ne l'imagine généralement.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSON R. M. : The regulation of host population growth by parasitic species. *Parasitology*, 1978, 76, 119-157.
- BOORMAN J. P. T. : Observations on the feeding habits of the mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) ; The loss of fluid after a blood meal and the amount of blood taken during feeding. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1960, 54, 8-14.
- CHÈVREMENT M. : Notions de cytologie et histologie, Éd. Desoer, 1960, 991 p.
- CROFTON H. D. : A quantitative approach to parasitism. *Parasitology*, 1971, 62, 179-193.
- HAWKING F. : The 24-hour periodicity of microfilariae : biological mechanism responsible for its production and control. *Proc. R. Soc. B*, 1967, 169, 59-76.
- LANDAU I., MILTGEN F., BOULARD Y., CHABAUD A. G., BACCAM D. : Études sur les gamétocytes des *Plasmodium* du groupe « vivax » : morphologie, évolution, prise par les Anophèles et infectivité des microgamétocytes de *Plasmodium yoelii*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1979, 54, 145-161.
- MAY R. M. : Dynamical aspects of host-parasite associations : Crofton's model revisited. *Parasitology*, 1977, 75, 259-276.
- PETIT G. : La Filaire *Dipetalonema dessetae* : phénomènes de régulation et rendement parasitaire chez l'*Aedes* vecteur. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1978, 53, 649-668.
- PICHON G., PROD'HON J., RIVIÈRE F. : Distribution des microfilaires ingérées par les moustiques. WHO. FIL/75.139, 1975, 24 p.
- PICHON G., PROD'HON J., RIVIÈRE F. : Hétérogénéité de l'ingestion des parasites sanguicoles par leurs vecteurs : description quantitative et interprétation. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1980, 290, sér. D, 1011-1013.
- SCHMID W. D., ROBINSON E. J. : The pattern of a host-parasite distribution. *J. Parasitol.*, 1972, 58, 907-910.