INGESTION DES HÉMATOZOAIRES PAR LE VECTEUR.

Analyse de quatre filaires parasites d'un *Saimiri**

G. PETIT**

RÉSUMÉ. Le problème de l'ingestion des hématozoaires par le vecteur est traité en s'appuyant essentiellement sur l'exemple d'un Primate américain *Saimiri sciureus* parasité simultanément par 4 espèces de Filaires : *Dipetalonema robini* Petit et coll., 1985, *D. gracile* (Rud., 1809), *Mansonnella* (*Tetrapetalonema*) *mariae* Petit et coll., 1985, *M. (T.) colombiensis* Esslinger, 1982.

Le « vecteur » utilisé est essentiellement *Aedes aegypti* ; dans quelques cas particuliers, *Culicoides nubeculosus*.

Sont traités successivement :

a) *La morphologie des microfilaries en cause.*

b) *Les documents qualitatifs* : exposé de diverses observations directes : mouvements des microfilaries vivantes ; observations sur le repas des *Aedes* ; histologie vasculaire des tissus où l'*Aedes* et l'expérimentateur effectuent les prélèvements de sang : oreille, peau du flanc, queue ; observations des microfilaries sur coupes histologiques.

c) *Les microfilariémies* :

Descriptions des variations nycthémérales des 3 espèces périodiques et effet de l'anesthésie à différents moments de la journée.

L'auteur ne s'intéresse pas au déterminisme des rythmes nycthéméraux (traité par Hawking), mais seulement aux variations des densités microfilariennes, dans la mesure où elles influent sur l'ingestion.

d) *Les variations des microfilariémies en fonction du lieu de prélèvement.*

— Comparaisons numériques entre la richesse du sang pris au flanc et à l'oreille, pendant le creux et pendant le pic de la microfilariémie ;

— *id.* entre la richesse du sang pris à l'oreille et à la queue ;

— particularités des prélèvements effectués à la queue.

e) *L'ingestion des microfilaries*

Le rendement de l'ingestion, c'est-à-dire le rapport entre le nombre de microfilaries ingérées par l'*Aedes* piquant dans telle ou telle condition et le nombre de microfilaries trouvées dans le même volume de sang prélevé dans telle ou telle condition est établi en de nombreuses situations.

* Le présent fascicule renferme les 5 premiers chapitres de l'article (voir sommaire) ; la fin de ce travail sera publiée dans le prochain fascicule.

** Laboratoire de Zoologie-Vers, associé au CNRS, Muséum National d'Histoire Naturelle, 61, rue Buffon, F 75231 Paris Cedex 05.

— Ce travail a bénéficié d'une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé.

Accepté le 2 mai 1984

Le rendement dépend de l'espèce de la microfilaire, du lieu de gorgement (flanc, oreille, queue), de la période de gorgement (pic, creux, montée ou descente de la microfilariémie).

f) La distribution des « vecteurs » en fonction du nombre de microfilaries ingérées est établie pour *Aedes aegypti* et pour *Culicoides nubeculosus*.

Le travail expérimental permet d'établir 25 séries de rapports quantitatifs entre comptages effectués pour comparer 2 modes de prélèvement ; comme chaque prélèvement permet une comparaison rigoureuse entre les 4 espèces coexistantes, nous disposons d'un total de 100 rapports.

La principale difficulté vient de ce que le taux de la microfilariémie, sensible au moindre stress de l'hôte, est extrêmement instable dans le temps ; et que le repas des vecteurs n'est pas instantané. L'établissement du rapport nécessite donc des corrections aléatoires fondées sur le taux des microfilariémies avant et après le repas.

Les rapports les plus fiables sont ceux qui comparent flanc et oreille, car les deux prélèvements sont presque simultanés.

L'auteur dispose ainsi de quelques données établies par observations directes et de 12 rapports flanc/oreille où les causes d'erreur sont faibles (fig. 1 et tableau XLI).

L'ensemble apporte des contraintes très fortes et les hypothèses qui permettent de rendre compte de toutes les données sont presque totalement imposées.

Il en résulte les conclusions suivantes :

- a) la densité des parasites dans le système circulatoire varie selon le diamètre des vaisseaux ;
- b) le sang prélevé par le vecteur ou par l'expérimentateur est un mélange provenant de vaisseaux de petit, moyen et grand diamètre, dont la proportion relative varie suivant l'organe où il est prélevé et suivant le mode de prélèvement.

Nous distinguons trois sortes de Filaires :

- 1) Espèces à périodicité marquée et ne pénétrant pas dans les vaisseaux de moins de 15 μm .

La grande espèce *D. robini* et la petite espèce *D. gracile* sont les 2 représentantes de cette catégorie.

Les microfilaries s'accumulent dans les poumons pendant le jour. Lorsqu'elles sont lâchées dans la circulation en très grand nombre, elles suivent passivement les hématies dans les grands vaisseaux ; cependant, lorsque l'arbre circulatoire effectue ses dernières dichotomies, les microfilaries ne peuvent suivre les hématies et doivent s'acheminer par un réseau d'anastomoses où elles se trouvent transitoirement concentrées.

On explique donc aisément pourquoi les prélèvements au flanc (riche en vaisseaux de 15 à 70 μm de diamètre) et les repas d'*Aedes* (qui se gorgent de préférence sur ce type de vaisseaux) sont plus riches que les autres, et cela surtout au moment de la phase croissante de la microfilariémie.

La seule différence appréciable entre *D. gracile* et *D. robini* est que *D. gracile*, plus petite, s'écoule plus facilement et ne présente ce phénomène d'accumulation dans les moyens vaisseaux qu'au moment du pic.

- 2) Espèce périodique avec microfilaries pouvant pénétrer transitoirement dans les vaisseaux de moins de 15 μm .

L'exemple en est fourni par *M. (T.) mariae*. Les preuves de sa présence dans les très fins vaisseaux sont données par la distribution moins poissonnienne de cette espèce et surtout par le « phénomène de la première goutte de sang » : le premier mm^3 qui s'écoule de l'extrémité de la queue est particulièrement riche en sang provenant de très fins vaisseaux et extrêmement riche aussi en *M. (T.) mariae*.

Les différents rapports obtenus expérimentalement paraissent indiquer que cette fréquentation des très fins vaisseaux ne s'effectue que pendant le creux de la microfilariémie ; pendant le

pic, au contraire, l'espèce paraît encore plus que les précédentes, s'accumuler dans le réseau de 15-70 μm de diamètre.

On peut imaginer que le corps de cette microfilare, très long et facilement pelotonné sur lui-même, résiste aisément au courant sanguin dans les vaisseaux de moins de 70 μm de diamètre.

3) Espèce non périodique avec microfilaires vivant à l'intérieur des capillaires.

M. (T.) colombiensis vit dans les très fins vaisseaux et le nombre de microfilaires circulantes est infime par rapport à la population globale. Le seul procédé pour l'obtenir en quantité importante consiste à masser l'oreille et surtout la queue de façon à déloger les microfilaires des capillaires. Le sang recueilli à cet instant est donc riche en microfilaires, mais de façon artificielle et transitoire, car les microfilaires sont vite reprises dans la circulation générale et l'on peut observer un « phénomène de vidage » à l'oreille et à la queue lorsque plusieurs massages sont effectués successivement.

Nous interprétons donc cette espèce comme une Filare à microfilariémie sanguine encore mal adaptée à cette biologie, puisqu'elle n'est prélevée que très difficilement par le vecteur, que ce soit un moustique, un culicöïde ou une tique.

L'ensemble de ces conclusions, presque imposées par les exigences des 12 rapports flanc/oreille rend compte également sans difficulté particulière des 88 autres rapports établis au cours des autres expériences.

Il est regrettable que l'ensemble ne puisse être confirmé par l'observation directe ; cela est impossible puisqu'un stress quelconque et, *a fortiori*, la mort de l'animal entraînent des modifications vasculaires inévitables.

Il reste pourtant quelques procédés pour tester la valeur des hypothèses formulées.

I. Entreprendre des expériences du même type avec un matériel biologique différent.

Cela a été fait avec une Filare périodique parasite de *Corvus frugilegus* ; le résultat est positif.

II. Expérimenter sur les conséquences que cette hypothèse implique.

Cela a été réalisé en comparant la richesse relative en gamétocytes de *Plasmodium* de rongeurs des petits repas et des grands repas du vecteur, *Anopheles stephensi* ; le résultat est positif.

III. Tenter de comprendre à l'aide des hypothèses précédentes certains phénomènes biologiques déjà constatés, mais non encore expliqués.

Nous avons utilisé le phénomène paradoxal de Landau et coll., 1979 montrant qu'une infectivité maximale pour l'Anophèle (3^e jour dans nos conditions expérimentales) correspond à une période où l'expérimentateur ne voit pas encore les gamétocytes dans le sang.

L'expérience réalisée avec des microsphères inertes inoculées au rongeur montre l'enrichissement relatif du repas du vecteur en particules de 12 μm de diamètre.

Nous avons constaté directement par ailleurs la dépression des vaisseaux rythmée par le pompage lors du repas du vecteur. Tout concorde donc pour admettre que les parasites d'environ 10 μm de diamètre (taille des gamétocytes infectants) puissent s'accumuler dans les très fins vaisseaux et n'en être délogés que par l'aspiration faite par le vecteur lors de son repas.

Il résulte de ces considérations que l'ingestion des microfilaires par l'*Aedes* (et peut-être, de façon plus générale, l'ingestion d'un hématozoaire par son vecteur) n'est pas sous la dépendance d'adaptation particulière telle qu'un chimiotactisme.

C'est la richesse en parasites du sang ingéré qui se retrouve passivement chez le vecteur, mais cette richesse est très variable puisqu'elle dépend des facteurs complexes que nous venons d'analyser.

FIG. 1. — Hypothèses pour rendre compte des 12 rapports flanc/oreille : — *en haut à gauche*, on suppose qu'un prélèvement de sang est constitué d'hématies provenant en partie de gros vaisseaux de plus de 70 µm de diamètre (grisé fin), de moyens vaisseaux de 15 à 70 µm de diamètre (grisé fin) et de petits vaisseaux de moins de 15 µm de diamètre (blanc). — *en bas à droite*, on suppose que la richesse relative de chacune des trois filaires dans le sang varie selon le diamètre du vaisseau et selon que la microfilarémie est au pic ou au creux. Exemple : *D. gracile*, au moment du pic : pas de microfaires dans les petits vaisseaux, nombreuses microfaires dans les moyens vaisseaux, abondance moyenne dans les gros vaisseaux — *au centre*, la composition hypothétique de chaque prélèvement en sang provenant de gros, moyens ou

Ingestion of blood parasites by the vector. Analysis of four filarial parasites of the squirrel monkey.

SUMMARY. Ingestion of blood parasites by a vector is examined using as a model the American primate *Saimiri sciureus* simultaneously parasitized by 4 species of filariae : *Dipetalonema robini* Petit *et al.*, 1985, *D. gracile* (Rudolphi, 1809), *Mansonella (Tetrapetalonema) mariae* Petit *et al.*, 1985, *M. (T.) colombiensis* Esslinger, 1982.

In most cases the "vector" used was *Aedes aegypti* but *Culicoides nubeculosus* was used in certain instances.

The following subjects are successively examined :

- a) Morphology of the microfilariae under study ;
- b) Exposé of a variety of qualificative observations : movement of living microfilariae ; observation on the feeding of *Aedes* ; vascular histology of tissues where *Aedes* and the experimenter take blood : ear, skin of the flank, tail ; observations on microfilariae in histological section.
- c) Microfilaremiæ

Description of circadian fluctuations of the 3 species which show periodicity and the effect of the anesthetic on the microfilaremiæ at different times during the day.

The author does not examine factors determining the circadian cycle (these were treated by Hawking) but studies the way in which variations in microfilarial concentrations affect ingestion of microfilariae.

- d) Variations of microfilaremiæ as a function of where the blood sample is taken.

Comparison of the concentration of microfilariae in blood taken from the flank with that in blood taken from the ear during low and peak periods in the microfilaremiæ cycle.

— the same comparison is made between blood taken from the ear and the tail ;

— peculiarities of samples taken from the tail.

- e) Ingestion of microfilariae

The efficiency of ingestion is examined by comparing the number of microfilariae picked up by *Aedes* feeding under such and such a condition with that picked up by the experimenter in an identical volume of blood taken under the same or different conditions.

The number of microfilariae picked up depends on the species of microfilaria, the feeding site (flank, ear, tail) and the time of feeding (peak, low, ascending or descending periods in the microfilaria cycle).

- f) Frequency distributions of the vector as a function of the number of microfilariae ingested are determined for *Aedes aegypti* and *Culicoides nubeculosus*.

petits vaisseaux de moins de 15 µm de diamètre (blanc) est représentée sur chaque colonne (chaque colonne est divisée en 6 unités, échelle à droite). F : flank ; O : oreille ; en haut prélèvement fait par l'expérimentateur, en bas prélèvement fait par l'*Aedes* ; à gauche, au creux de la microfilariémie ; à droite, au pic de la microfilariémie. Entre les 2 colonnes : rapports flank/oreille pour *D. robini* (r), *D. gracile* (g.) et *M. (T.) mariae* (m).

FIG. 1. — Hypotheses proposed to account for the 12 flank/ear ratios. — *Above at left.* We assume that a sample of blood consists of a mixture of cells coming from large vessels greater than 70 µm in diameter (fine stippling), medium vessels 15-70 µm in diameter (course stippling) and small vessels 15 µm in diameter (white). — *Below at right.* We assume that the relative concentration of the 3 filariae in the blood varies with vessel diameter and with whether the microfilaremiæ is at peak or low phase in its cycle. Example : *D. gracile* during peak phase : no microfilariae in the small vessels, many in medium vessels and moderate numbers in large vessels. — *At centre.* The hypothetical composition of each sample in blood from each of the three classifications of vessels is represented in each column. F = flank, O = ear. Above, samples taken by experimenter. Below, sample taken by *Aedes*. Left, sample taken during low phase of microfilaremiæ ; right, samples taken during peak phase. Between the two columns, flank/ear ratios are given for *D. robini* (r), *D. gracile* (g) and *M. (T.) mariae* (m).

Our experiments allow us to establish 25 ratios between microfilarial counts taken to compare 2 modes of sampling ; since each sample permits comparisons between the four species examined, we have a total of 100 ratios at our disposition.

The principal difficulty lies in the fact that the level of the microfilaremia, sensitive to the slightest stress to the host, is extremely unstable in time, and the vectors require a certain amount of time to feed.

Establishing a ratio therefore necessitates randomized connections based on estimates of the microfilaremia before and after the feeding period. The most reliable ratios are those comparing flank and ear because the two samples can be taken simultaneously. Therefore, the author makes use of data derived from direct observations and the 12 ratios comparing flank and ear in which the sources of error are low (*fig. 1 table XLI*).

The ensemble of these data involves strong constraints and hypotheses which account for the whole group of observations are virtually imposed.

The following conclusions result from this analysis :

- a) the concentration of parasites in the circulatory system varies with the diameter of the vessel examined;
- b) blood taken up by the vector or by the experimenter is a mixture coming from small, medium and large vessels, the relative proportions of which vary with the organ sampled and the method of sampling.

We distinguish three types of filariae :

- 1) Species with a marked periodicity which do not enter vessels less than 15 μm in diameter.

The large species *D. robini* and the small species *D. gracile* are the 2 examples of this category.

Microfilariae accumulate in the lung during the day. Released into the blood stream in very large numbers they are carried along passively with the blood cells in large vessels ; however the microfilariae cannot follow the blood cells in the final branches of the circulatory system and must make their way actively in the bed of anastomoses between arterial and venous systems where they become temporarily concentrated.

It is easy to understand why blood samples taken from the flank (a region rich in vessels 15-70 μm in diameter) and blood meals of *Aedes* (which feed preferentially on vessels of this size) are particularly rich in microfilariae of these species and especially during the ascending phase of the microfilaremia.

The only appreciable difference between *D. gracile* and *D. robini* is that *D. gracile*, being smaller, moves about more easily and shows the phenomenon of accumulation in vessels of medium diameter only during the peak.

- 2) Species with a periodicity and whose microfilariae can temporarily enter vessels less than 15 μm in diameter.

M. (T.) mariae is an example. Proof of its presence in small vessels is given by the fact that its distribution in the blood departs from the Poisson distribution and by the "phenomenon of the first drop of blood" : the fact that the first mm^3 taken from the extremity of the tail, particularly rich in blood coming from small vessels, is extremely rich in *M. (T.) mariae*.

Ratios derived from experimental data seem to indicate that this sojourn in very narrow vessels only occurs during the period of low microfilaremia ; in contrast, during the peak, microfilaria of this species appear to accumulate in vessels 15-70 μm in diameter to an even larger extent than those of the previous species.

It would seem that this microfilaria with its long pliant body, easily coiled upon itself, is able to resist the current in vessels less than 70 μm in diameter.

- 3) Species displaying no periodicity, with microfilariae occurring in the capillaries.

Microfilariae of *M. (T.) colombiensis* occur in very fine vessels and the number of circulating forms is very low in relation to the total population. The only way to obtain large numbers of microfilariae is by massaging the ear or, better yet, the tail ; in this way the microfilariae are

dislodged from the capillaries. Blood so obtained is very rich in microfilariae of this species but only temporarily since the dislodged microfilariae are rapidly taken into the general circulation and one observes a phenomenon of depletion when several bouts of massage are practised in short succession.

We interpret this species as a filaria whose microfilaremia is still poorly adapted since microfilaria are taken up only with great difficulty by the vector, be it a mosquito, a midge or a tick.

These conclusions, virtually imposed by the 12 ratios between flank and ear counts, account with little difficulty for the other 88 ratios established during our experiments.

It is unfortunate that this group of hypotheses cannot be confirmed by direct observation. This is impossible since any stress to the host, not to mention the death of the host, inevitably modifies the vascular parameters under study.

Nevertheless there are a number of ways we can evaluate the hypothesis indirectly.

I. Undertake similar experiments using different biological material. This has been done using a peculiar filarial parasite of *Corvus frugilegus* ; the result is positive.

II. Experiment on the implications of the hypotheses.

This was done by comparing the yield of gametocytes of rodent *Plasmodium* in small and large blood meals of the vector *Anopheles stephensi* ; the result is positive.

III. Attempt to understand as yet unexplained biological phenomena with the help of the hypotheses.

We have used the paradoxical phenomenon observed by Landau *et al.* showing that the period of maximal infectivity of rodent malaria to *Anopheles* (3rd day after infection under our experimental conditions) occurs at the time when the experimenter cannot detect gametocytes in the circulating blood.

An experiment using inert microspheres injected into a rodent shows that the vector's blood meal is particularly rich in particules about 12 μm in diameter.

We have observed directly changes in the shape of vessels caused by the pumping of the vector during its feeding. Our observations suggest that parasites about 10 μm in diameter (the size of infective gametocytes) accumulate in very fine vessels and remain there until dislodged by the sucking activity of the feeding vector.

These considerations indicate that the ingestion of microfilariae by *Aedes* (and possibly more generally, the ingestion of any blood parasite by its vector) is not dependent on any particular adaptation such as chemotaxis.

The number of parasites taken up by the vector depends upon their concentration in the host's blood. However, this concentration is very variable since it depends upon a number of complex factors which we have analysed above.

Sommaire

INTRODUCTION

CHAPITRE I : Méthodes

- A. Mesure de la densité des microfilaires dans le sang prélevé par l'expérimentateur : la microfilariémie.
- B. Mesure de la densité des microfilaires dans le sang prélevé par l'*Aedes*.
- C. Anesthésie du singe.

CHAPITRE II : *Microfilaires étudiées*

- A. Caractères morphologiques des quatre espèces de microfilaires étudiées
 - 1 - *Dipetalonema robini* Petit et coll., 1985
 - 2 - *Dipetalonema gracile* (Rudolphi, 1809)
 - 3 - *Mansonella (Tetrapetalonema) mariae*, Petit et coll., 1985
 - 4 - *Mansonella (Tetrapetalonema) colombiensis*, Esslinger, 1982.
- B. Essai d'identification des microfilaires de *Saimiri sciureus* étudiées par Hawking en 1973.

CHAPITRE III : *Documents qualitatifs*

- A. Observation des microfilaires à frais
- B. Observation, *in-vivo*, de la prise de sang par les *Aedes*
 - 1 - Dispositif expérimental utilisé
 - 2 - Observation du repas de sang de l'*Aedes*.
- C. Histologie des tissus où sont effectués les prélèvements de sang par l'expérimentateur ou par l'*Aedes*
 - 1 - L'oreille
 - 2 - La peau du flanc
 - 3 - La queue
 - a) à 1 mm de l'extrémité (fin de la partie osseuse)
 - b) à 5 mm de l'extrémité
 - 4 - Observation des microfilaires sur les coupes histologiques.

CHAPITRE IV : *Périodicité des microfilariémies*

- A. Variations nycthémérales des microfilariémies
 - 1 - *D. robini*
 - a) sans anesthésie
 - b) avec anesthésie
 - 2 - *D. gracile*
 - a) sans anesthésie
 - b) avec anesthésie
 - 3 - *M. (T.) mariae*
 - a) sans anesthésie
 - b) avec anesthésie
 - 4 - *M. (T.) colombiensis*
 - a) sans anesthésie
 - b) avec anesthésie
- B. Effet de l'anesthésique sur les microfilariémies
 - 1 - Injection de l'anesthésique à 9 h.
 - a) mise en évidence de l'effet de l'anesthésique
 - b) cinétique de l'effet de l'anesthésique sur les microfilariémies pendant la première heure
 - c) durée de l'effet de l'anesthésique sur les microfilariémies
 - 2 - Injection de l'anesthésique à 21 h.
 - 3 - Effet provoqué par deux injections successives d'anesthésique
- C. Variations saisonnières des microfilariémies
 - 1 - *D. robini*
 - 2 - *D. gracile*

- 3 – *M. (T.) mariae*
- 4 – *M. (T.) colombiensis*

D. Discussion

CHAPITRE V : Variations des microfilariémies en fonction du lieu de prélèvement

- A. Densités microfilariennes comparées dans le sang pris au flanc et celui pris à l'oreille
 - 1 – pendant le creux de la microfilariémie
 - 2 – pendant le pic de la microfilariémie, naturel ou produit par l'anesthésique
- B. Densités microfilariennes comparées dans le sang pris à la queue et celui pris à l'oreille
 - 1 – Particularités des prélèvements effectués à la queue
 - a) début du prélèvement
 - b) fin du prélèvement
 - 2 – Microfilariémies comparées à la queue et à l'oreille pendant un cycle nycthéral

CHAPITRE VI : Ingestion des microfilaires

- A. Ingestion pendant le creux de la microfilariémie
- B. Ingestion pendant le pic de la microfilariémie
- C. Variations de l'ingestion suivant le lieu de gorgement
 - 1 – comparaison flanc-oreille-queue ; expérience préliminaire
 - 2 – contrôle de l'expérience précédente
- D. Variations de l'ingestion lors de la montée ou de la chute de la microfilariémie
 - 1 – Pendant la montée de la microfilariémie
 - 2 – Pendant la chute de la microfilariémie
- E. Distribution des vecteurs en fonction du nombre de microfilaires ingérées
 - 1 – *Aedes aegypti*
 - 2 – *Culicoides nubeculosus*

CHAPITRE VII : Synthèse des données

- A. Particularités dans le comportement et la localisation des microfilaires de chacune des quatre espèces
 - 1 – *M. (T.) colombiensis*
 - 2 – *M. (T.) mariae*
 - 3 – *D. gracile* et *D. robini*
- B. Particularités vasculaires des différents organes pouvant fournir une explication aux résultats expérimentaux
- C. Hypothèse sur les particularités des sangs prélevés par l'expérimentateur ou par l'*Aedes* et sur les particularités des répartitions de chaque espèce de microfilaires dans les vaisseaux
 - 1 – Hypothèse sur l'origine des sangs prélevés
 - 2 – Hypothèse sur l'emplacement préférentiel de chacune des trois espèces de microfilaires circulantes
- D. Examen des rapports flanc/oreille à l'aide des hypothèses précédentes
 - 1 – Expérimentateur – creux de microfilariémie
 - 2 – Expérimentateur – pic de microfilariémie

- 3 – *Aedes* – creux de microfilariémie
- 4 – *Aedes* – pic de microfilariémie
- E. Analyse des données concernant la queue
- F. Cas particulier de *M. (T.) colombiensis*
- G. Richesse en microfilaires des repas d'*Aedes* pris en phase de microfilariémie croissante ou décroissante
 - 1 – microfilariémie croissante
 - 2 – microfilariémie décroissante
- H. Rapports entre les prises de sang prélevé par l'*Aedes* et par l'expérimentateur

CHAPITRE VIII : *Reprise des problèmes posés par les Filaires du Saimiri à l'aide de modèles fournis par d'autres hématozoaires*

- A. Phénomène de la surcharge en microfilaires pendant la phase de microfilariémie croissante : Filaire de Corvidés
- B. « Phénomène de la première goutte de sang » ; comparaison des petits et des grands repas dans le cas des Plasmodiums de Rongeurs
- C. Problème des hématozoaires dans les petits vaisseaux de moins de 15 μm

CONCLUSIONS

Bibliographie

Introduction

Lorsqu'il y a isolement géographique ou passage à un nouvel hôte, le premier signe de spéciation chez les Filaires vivipares apparaît presque toujours au niveau de la microfilarie (Bain, 1968).

Cela n'est pas étonnant, si l'on considère que la pression de sélection joue relativement peu pendant la vie imaginaire qui se déroule à l'intérieur des tissus, mais qu'elle joue, avant tout, au moment le plus fragile du cycle, c'est-à-dire lorsque le vecteur ingère les microfilaires.

Les phénomènes qui accompagnent l'ingestion de l'Hématozoaire par le vecteur nous paraissent donc revêtir une importance toute particulière aussi bien d'un point de vue pratique, pour comprendre l'équilibre d'un foyer de transmission, que d'un point de vue théorique pour comprendre l'évolution du parasite.

De très nombreux travaux sont consacrés au problème de l'ingestion. Deux points particulièrement importants prêtent à discussion :

a) le parasite est-il ingéré normalement, ou est-il susceptible de se concentrer dans le sang ingéré par le vecteur ; ou au contraire, le sang ingéré est-il moins riche en parasites que le sang circulant ?

La réponse peut être schématisée en 3 possibilités : le $\frac{\text{rapport nombre ingéré}}{\text{nombre attendu}}$ est-il inférieur, égal ou supérieur à 1 ?

b) le nombre attendu est déterminé par l'expérimentateur qui prélève du sang chez l'homme ou chez l'animal infesté. La richesse du sang en parasites est-elle la même lorsque le sang est prélevé en différents endroits du corps, chez l'homme, en particulier, au doigt, à l'oreille ou dans le sang veineux ?

Les réponses à ces deux questions sont extraordinairement contradictoires. Nous ne les analyserons pas en détail, car plusieurs auteurs l'ont fait (Gubler et coll., 1973 ; Kershaw et coll., 1953 ; Lavoipierre, 1958 ; Ramachandran, 1966) et ont donné la bibliographie. Dans le *tableau I a et b* nous indiquons brièvement le nom du parasite, celui du vecteur, la référence et le résultat obtenu.

Nous avons eu la possibilité de reprendre à nouveau ce très difficile sujet, car nous disposons d'un Saïmiri parasité par 4 espèces de Filaires à microfilaires sanguines, aussi différentes que possible et toutes quatre abondantes.

L'un des extrêmes est constitué par une espèce à biologie de type *bancrofti*, à périodicité nocturne très forte ; l'autre extrême, par une espèce à microfilaire peu mobile, encastrée dans les très fins vaisseaux et qui présente des analogies avec *Mansonella streptocerca*. Les deux autres espèces sont intermédiaires entre ces extrêmes.

Les microfilaires ayant un très faible métabolisme, il est peu vraisemblable qu'il y ait de fortes interactions entre les quatre espèces.

Par ailleurs, même dans le cas de très fortes microfilarémies, le volume occupé par les microfilaires reste très petit par rapport à celui des cellules sanguines et nous ne pensons pas que les phénomènes de freinage qui seront signalés ultérieurement puissent dépendre beaucoup de la richesse de l'infection.

Les résultats obtenus avec le Saïmiri ont donc, semble-t-il, un intérêt exceptionnel : quelle que soit l'expérience, chaque goutte de sang prélevé chez le Saïmiri va en effet permettre une comparaison immédiate entre les comportements particuliers à chacune des 4 espèces. On verra donc aisément ce qui, dans le phénomène de l'ingestion par le vecteur, est lié spécifiquement au parasite.

Sur les quatre Filaires étudiées, *D. robini* Petit et coll., 1985, *D. gracile* (Rudolphi, 1809), *M. (T.) mariae* Petit et coll., 1985 et *M. (T.) colombiensis* Esslinger, 1982, trois sont certainement transmises par des Ceratopogonidés ; cela est démontré pour *D. gracile*, qui évolue chez *Culicoides hollensis* (cf. Eberhard, 1979) et chez *C. nubeculosus*, mais, dans ce cas, avec un très mauvais rendement (observation personnelle). Les cycles de *D. robini* et *M. (T.) mariae* ne sont pas connus et nous n'avons pas réussi à faire évoluer ces espèces chez *C. nubeculosus*, mais tous les cycles connus dans les deux genres, *Dipetalonema* et *Mansonella*, se font chez des Cératopogonidés.

Le vecteur de la quatrième espèce, *M. (T.) colombiensis*, est peut-être aussi un Cératopogonide, mais il est étonnant de constater que la microfilaire de cette espèce n'est pratiquement pas prélevée par *C. nubeculosus*.

Presque toutes les expériences d'ingestion ont été effectuées avec *Aedes aegypti*, qui est donc très éloigné des vecteurs véritables. Toutefois la composition en parasites

TABLEAU I a.

FILAIRE	VECTEUR	AUTEUR	OBS ATT	REMARQUE
<u>Brugia malayi</u>	<u>Aedes aegypti</u>	Wharton (1957)	≥ 1	
" "	" "	Ramachandran (1966)	> 1	pour 51 <u>Aedes</u> sur 57
" "	<u>Aedes albopictus</u>	Wharton (1957)	> 1	
" "	<u>Aedes togoi</u>	Ramachandran & coll. (1967)	< 1	pour 36 <u>Aedes</u> sur 63
" "	<u>Mansonia longipalpis</u>	Wharton (1957)	> 1	
<u>Dipetalonema dessetae</u>	<u>Aedes aegypti</u>	Petit & coll. (1982)	1	
<u>Dipetalonema viteae</u>	<u>Ornithodoros tartakowskyi</u>	Pacheco & coll. (1972)	1	
<u>Dirofilaria corynodes</u>	<u>Aedes aegypti</u>	Webber (1953)	1	
<u>Dirofilaria immitis</u>	<u>Aedes aegypti</u>	Kershaw & coll. (1953)	< 1	pour la plupart des moustiques
" "	" "	Kershaw & coll. (1955)	1,5	pour les moustiques gorgés à réplétion
" "	<u>Aedes togoi</u>	Zielke (1973)	1	
" "	<u>Anopheles atroparvus</u>	"	1	
" "	<u>Culicoides nubeculosus</u>	Nicholas & coll. (1952)	1	
<u>Dirofilaria magnilarvatum</u>	<u>Mansonia longipalpis</u>	Wharton (1959)	-	pas de proportionnalité ; très grands écarts d'ingestion entre moustiques
" "	<u>Mansonia uniformis</u>	"	-	
<u>Dirofilaria repens</u>	<u>Aedes aegypti</u>	Roychowdury & coll (1969)	> 1	
" "	<u>Culex pipiens</u>	"	> 1	
<u>Loa loa</u>	<u>Chrysops</u> spp.	Kershaw & coll. (1954)	< 1	pour la majorité des <u>Chrysops</u>
" "	<u>Chrysops silacea</u>	Kershaw & coll. (1955)	0,5	
" "	<u>Culicoides grahamii</u>	Duke (1956)	< 1	
" "	<u>Culicoides inornatipennis</u>	"	< 1	
<u>Litomosoides carinii</u>	<u>Culicoides nubeculosus</u>	Nicholas & coll. (1952)	1	
" "	<u>Bdellonyssus bacoti</u>	Bertram (1949)	< 1	
" "	" "	Tanaka & coll. (1963)	< 1	
<u>Mansonella (E) perstans</u>	<u>Culicoides austeni</u>	Hopkins & coll. (1952)	2,7	
" "	" "	Nicholas & coll. (1954)	1	
" "	<u>Culicoides grahamii</u>	Duke (1956)	< 1	
" "	" "	Nicholas & coll. (1954)	1	
" "	<u>Culicoides inornatipennis</u>	Duke (1956)	< 1	

"	"	<u>Chrysops</u> spp.	Kershaw & coll. (1954)	1	
"	"	<u>Chrysops</u> <u>silacea</u>	Kershaw & coll. (1955)	1	
<u>Waltonella</u>		<u>Aedes</u> <u>aegypti</u>	Gordon & coll. (1939)	> 1	"capillary feeding"
<u>dolichoptera</u>		" "	" "	< 1	"pool feeding"
<u>Wuchereria</u> <u>ban-</u>		<u>Aedes</u> <u>aegypti</u>	MacGreevy & coll. (1982)	10,4	
<u>crofti</u>		" "	Roychowdhury & coll. (1969)	> 1	
"	"	<u>Aedes</u> <u>polynesiensis</u>	Bryan et coll. (1976)	12	
"	"	" "	Rosen (1955)	1	
"	"	" "	Samarawickrema & coll. (1979)	> 1	
"	"	<u>Aedes</u> <u>pseudoscutellaris</u>	Manson-Bahr (1912)	1	
"	"	<u>Aedes</u> <u>samoanus</u>	Samarawickrema & coll. 1979)	≥ 1	
"	"	<u>Anopheles</u> <u>gambiae</u>	Crans (1973)	1	
"	"	" "	MacGreevy & coll. (1982)	12	
"	"	<u>Culex</u> <u>fatigans</u>	Ashburn & coll. (1907)	> 1	pour certains moustiques
"	"	" "	Burton (1964)	2	
"	"	" "	Crans (1973)	3	
"	"	" "	Gubler & coll. (1973)	1	faible microfilarémie
"	"	" "	" "	< 1	forte microfilarémie
"	"	" "	Jordan & coll. (1962)	> 1	
"	"	" "	O'Connor & coll. (1937)	> 1	pour certains moustiques
"	"	" "	Wharton (1960)	> 1	
"	"	<u>Culex</u> <u>pipiens</u>	Roychowdhury & coll. (1969)	> 1	
"	"	<u>Culex</u> <u>quinquefasciatus</u>	MacGreevy & coll. (1982)	8,6	

TABLEAU I a. — Comparaison entre la densité des microfilares dans le sang prélevé par l'expérimentateur (nombre attendu) et la densité des microfilares dans le sang prélevé par le vecteur (nombre observé).

$$\frac{\text{OBS}}{\text{ATT}} = \frac{\text{densité des microfilares dans le sang prélevé par le vecteur}}{\text{densité des microfilares dans le sang prélevé par l'expérimentateur}}$$

TABLEAU I b. — Variations de la microfilarémie en fonction du lieu de prélèvement.

O = oreille ; D = doigt ; E = épaule ; H = hanche ; M = mollet ; V = veine.

FILAIRE	AUTEUR	MESURE DE LA MICROFILARÉMIE	RAPPORT DES MICROFILARÉMIES	REMARQUE
<u>Dirofilaria magnilarvatum</u>	Hawking (1959)	queue	$\frac{Q}{O} = 1$	
		oreille	$\frac{Q}{O} = 15$	queue froide et pendante
<u>Loa loa</u>	Carme (1983)	veine	$\frac{V}{O} = 2 \text{ à } 3$	quelle que soit l'heure (6h30, 12h et 18h)
		oreille doigt	$\frac{D}{O} = 2 \text{ à } 3$	
<u>Mansonella (M.) ozzardi</u>	Nathan & coll. (1979)	oreille doigt	$\frac{Q}{D} = 0,2 \text{ à } 19$	$\frac{O}{D} = 1$ pour 30 individus sur 40
<u>Mansonella (T.) colombiensis</u>	Hawking (1973)	queue veine	$\frac{Q}{V} = 208$	
<u>Mansonella (T.) marmosetae</u>	Hawking (1973)	queue veine	$\frac{Q}{V} = 1,5 \text{ à } 2$	
<u>Wuchereria bancrofti</u>	Gubler (1973)	veine doigt	$\frac{V}{D} = 1$	quelle que soit l'heure du cycle nycthémeral
" "	Lagraulet (1972)	doigt oreille épaule	$\frac{D}{O} = 1,4 \text{ et } 1,5$ $\frac{D}{E} = 1,2 \text{ et } 1,4$	respectivement pour 22 individus peu filariens et 7 individus très filariens
		hanche	$\frac{D}{H} = 1,4 \text{ et } 1,8$	
		mollet	$\frac{D}{M} = 1,6 \text{ et } 1,8$	
" "	Nathan & coll. (1979)	oreille doigt	$\frac{O}{D} = 0,5 \text{ à } 4,9$	$\frac{O}{D} = 1$ pour 20 individus sur 30
" "	Mac Mahon & coll. (1979)	veine doigt	$\frac{V}{D} < 1$	
" "	Yorke & coll. (1917)	veine doigt	$\frac{V}{D} = 0,43$	pendant le pic nocturne de microfilarémie
			$\frac{V}{D} = 1$	pendant le creux diurne de microfilarémie

du sang ingéré par l'Arthropode hématophage, que ce soit *A. aegypti*, *C. nubeculosus*, ou même une Tique, *Ornithodoros erraticus*, ne diffère pas sensiblement. Pour simplifier, dans l'ensemble du texte, nous utiliserons donc le terme de « vecteur », bien qu'il soit impropre, puisqu'il ne s'agit que de l'Arthropode qui ponctionne le sang.

Chapitre I : Méthodes

Il sera parfois nécessaire de spécifier tel ou tel détail technique lors de l'exposé d'une expérience particulière, mais les techniques courantes, utilisées tout au long du travail, sont présentées ci-dessous. Elles concernent la mesure des microfilarémies, l'appréciation de la richesse des repas des *Aedes* en microfilaires, l'anesthésie et l'indication des modifications physiologiques qu'elle provoque.

A — Mesure de la densité des microfilaires dans le sang prélevé par l'expérimentateur : la microfilarémie

Chez le Saïmiri la microfilarémie est mesurée dans trois types de prélèvements sanguins :

a) à l'oreille

Le sang est prélevé au niveau de la veine marginale de l'oreille qui a un diamètre d'environ 500 μm et qui est bien visible sous la peau. Le prélèvement n'est pas effectué directement dans la veine ; celle-ci, trop petite, est simplement piquée perpendiculairement avec une fine aiguille. Lorsque cette aiguille est retirée, 5 à 10 mm^3 de sang s'écoulent et sont récupérés au moyen de micropipettes calibrées.

Il est parfois nécessaire de presser un peu l'oreille pour aider le sang à sortir. Cette opération est renouvelée 3 à 4 fois pour obtenir un volume suffisant.

Ce type de prise de sang peut être répété fréquemment et pratiqué facilement, même sur le Saïmiri non anesthésié,

b) au flanc

Une incision d'environ 1 à 2 cm de long est réalisée au moyen d'une lame de rasoir héparinée dans la peau abdominale latéro-dorsale du Saïmiri. Cette incision a une profondeur d'environ 1,5 mm ; elle traverse le derme et l'hypoderme et s'arrête au niveau des aponévroses musculaires. Ce type de prise de sang permet de prélever sous anesthésie 30 à 40 mm^3 de sang mais ne peut être répétée souvent.

c) à l'extrémité de la queue

Une incision très superficielle est effectuée à l'extrémité de la queue ; le sang coule alors très peu (1 mm^3 environ) et il est nécessaire pour obtenir un volume suffisant de pratiquer un massage d'avant en arrière. Ce type de prélèvement sanguin peut être répété et réalisé facilement sur animal non anesthésié.

Dans les trois cas, le sang obtenu est étalé en gouttes épaisses de 10 mm^3 qui sont séchées, deshémozoinées, fixées et colorées au Giemsa pour le comptage des microfilaires.

La microfilarémie dans ces prises de sang est exprimée par sa valeur moyenne pour 10 mm^3 de sang. L'intervalle de confiance est calculé grâce à la formule de

Rojas (Southwood, 1971), car les valeurs individuelles, c'est-à-dire le nombre de microfilaries par goutte de 10 mm³, ne se distribuent pas selon une loi normale.

$$D^2 = \frac{\frac{1}{\bar{X}} + \frac{1}{K}}{N}$$

D = pourcentage de variation de la moyenne

$\bar{X}$ = moyenne (microfilarémie pour 10 mm³)

K = coefficient d'aggrégation de Neymann

N = nombre de prélèvements de 10 mm³ de sang

Cette formule est établie au seuil de signification 5 %.

Étant donné les conditions expérimentales, le coefficient K est calculé par la méthode des moments (Bliss et Fisher, 1953) :

$$K = \frac{\bar{X}^2}{S^2 - \bar{X}} \quad (S^2 = \text{variance})$$

Pratiquement les nombres de prélèvements de sang étant faibles (N = 2 à 4) nous avons préalablement déterminé la valeur de K pour les 4 espèces de Filaires et pour les 3 sortes de prélèvements sur des séries plus importantes de prélèvements sanguins (N = 20).

B — Mesure de la densité des microfilaries dans le sang prélevé par l'*Aedes*

Pour déterminer cette densité lors d'une expérience de gorgement des moustiques, il est nécessaire de connaître le nombre moyen de microfilaries ingérées ainsi que le volume moyen de sang ingéré par *Aedes*.

1 — Nombre moyen de microfilaries ingérées par *Aedes*

Les moustiques sont mis à gorger sur le Saïmiri 3 à 4 jours après l'émergence. Ils proviennent d'un élevage synchrone où la taille des individus est homogène.

Pour que la taille de l'échantillon de sang prélevé soit également homogène, seuls les moustiques gorgés à réplétion sont utilisés.

Pour le comptage des microfilaries, les moustiques sont placés à 0° juste après le gorgement afin d'éviter le passage des microfilaries dans l'hémocèle. Ils sont ensuite disséqués un par un ; l'estomac gorgé de sang est étalé en goutte épaisse et traité comme les prélèvements de sang (cf. A). Le dénombrement des microfilaries dans ces préparations permet de calculer le nombre moyen de microfilaries ingérées par *Aedes*. L'intervalle de confiance sur cette valeur est déterminé grâce à la formule de Rojas pour les mêmes raisons que précédemment. Le nombre d'*Aedes* gorgés dans chaque expérience étant en général supérieur à 10 nous avons utilisé dans la formule de Rojas le coefficient K calculé à partir de l'échantillon.

2 — Volume de sang ingéré par l'*Aedes*

Dès que l'*Aedes* est gorgé, il perd une grande quantité de liquide par l'anus, ce qui rend difficile la détermination du volume de sang ingéré. Boorman (1960), à la suite d'expériences précises, a évalué l'importance de ces pertes : le poids de sang ingéré par l'*Aedes* au cours du repas est 68 % plus fort que ne l'indique le poids de sang 1/2 heure après le gorgement. La validité de cette méthode a été confirmée récemment par dosage de l'hémoglobine (Briegel and Coll., 1979).

En pesant 50 *Aedes* non gorgés et 50 *Aedes* gorgés, 1/2 heure après leur repas, nous pouvons donc déterminer le volume moyen de sang ingéré par *Aedes* dans l'expérience, sachant que la densité du sang est égale à 1,06.

Finalement, la densité des microfilaires dans le sang prélevé par l'*Aedes* est exprimée en nombre de microfilaires pour 10 mm³ pour être comparée à celle des microfilaires du sang prélevé par l'expérimentateur.

C — Anesthésie du Saimiri

L'anesthésique employé est l'Imalgène qui est du chlorydrate de Kétamine. Il est injecté à raison de 2 mg/kg en intramusculaire, en association avec un tranquilisant, le V-tranquil ou acepromazine base (0,2 mg/kg). Le chlorydrate de Kétamine présente des effets secondaires, en particulier sur l'appareil cardiovasculaire :

- accélération du rythme cardiaque (30 %) dans les minutes qui suivent l'injection, puis retour progressif à un rythme normal ;
- augmentation de la tension artérielle parallèlement à l'effet cardiaque ;
- augmentation de la pression veineuse (30 %) ;
- augmentation du débit sanguin et légère vasodilatation périphérique.

Le V-tranquil est un neuroleptique ou dépresseur du système nerveux central, provoquant un état de calme, de relaxation musculaire avec atténuation de l'inquiétude, de la nervosité et des réactions de défense. Il s'oppose à certains effets précédents tels que l'augmentation de la tension artérielle et permet de diminuer de 20 à 30 % la dose d'anesthésique à utiliser.

Chapitre II : Microfilaires étudiées

Le travail porte sur les 4 espèces de microfilaires qui coexistent chez un *Saimiri sciureus* vivant en captivité dans notre animalerie.

L'animal n'a pas été sacrifié, et l'on n'a pas récolté les adultes correspondant à ces microfilaires.

Le singe est un don du Dr. Dedet de l'Institut Pasteur de Guyane, qui monte un élevage de cette espèce pour des travaux sur le paludisme. Il reçoit donc de Guyana des animaux récemment capturés, dont certains meurent à l'arrivée, et le Dr. Bain a ainsi eu l'opportunité de collecter les adultes des 4 espèces qui correspondent à celles du Saimiri en expérience.

Ces Saïmiris sont tous originaires de Guyana et sont du « type Georgetown » avec le caryotype 14/7 (communication de C. Roussilhon).

Deux Filaires viennent d'être décrites ; ce sont *Dipetalonema robini* Petit, Bain et Rousilhon, 1985 et *Mansonella (Tetrapetalonema) mariae* Petit, Bain et Rousilhon, 1985.

Les deux autres espèces sont redécrites de façon détaillée dans un article sur les Filaires de Singes sud-américains (Bain, Petit et Rosales-Loesener, 1985).

Nous ne reprenons donc ici que les éléments qui sont nécessaires à la compréhension des phénomènes de l'ingestion : la morphologie des microfilaires sanguines à frais et leurs caractères différentiels sur goutte épaisse (partie A).

En fin de chapitre (partie B), nous discuterons la détermination que nous pouvons proposer à l'aide des données systématiques récentes pour les microfilaires de *S. sciureus*, dont Hawking a étudié la biologie en 1973.

A — Caractères morphologiques des 4 espèces de microfilaires sanguines (fig. 2 et 3).

1 — *Dipetalonema robini* Petit et coll., 1985

Cette microfilaire est longue de 195 à 245 μm et large de 4,8 à 5,5 μm quand elle est immobilisée à la chaleur.

En goutte épaisse, les éléments distinctifs sont les suivants : gaine présente, ondulations larges du corps, espace céphalique plus long que large, queue effilée et surtout le double corps interne.

2 — *Dipetalonema gracile* (Rudolphi, 1809)

Cette microfilaire est plus petite que la précédente : 145-205 μm de long et 3,5-4 μm de large (extension à la chaleur).

En goutte épaisse, elle est caractérisée par la gaine présente, la tête plus étroite que le corps, l'espace céphalique très court, la queue trapue, le corps aux ondulations serrées, le corps interne à peine visible.

3 — *Mansonella (Tetrapetalonema) mariae* Petit et coll., 1985

La microfilaire de cette espèce est très longue et grêle : 335 à 398 μm de long et 2,5 à 3,5 μm de large (extension à la chaleur).

Elle se reconnaît donc très aisément sur goutte épaisse ; de plus, la gaine est absente, le corps souvent enroulé sur lui-même ; le corps interne est pratiquement invisible.

4 — *Mansonella (Tetrapetalonema) colombiensis* Esslinger, 1982

Microfilaire grande et épaisse : 265 à 365 μm de long et 5 à 7 μm de large (extension à la chaleur).

En goutte épaisse, elle est généralement en extension ou à peine courbée ; gaine absente ; grand espace céphalique ; grand corps interne ; cellule R1 visible ; queue épaisse et bilobée.

FIG. 2. — Microfilaires sanguines en extension à la chaleur :
A, *D. robini* ; B, *D. gracile* ; C, *M. (T.) mariae* ; D, *M. (T.) colombiensis*.

FIG. 3. — Microfilaires sanguines en goutte épaisse :
A, *D. robini* ; B, *D. gracile* ; C, *M. (T.) mariae* ; D, *M. (T.) colombiensis*.

Conclusions

Les 4 espèces en cause appartiennent donc toutes à la même « lignée *Dipetalonema* ». Mais les récentes analyses (Bain & Chabaud, 1982) amènent à l'idée que l'histoire évolutive des 2 genres est différente.

L'origine du groupe serait gondwanienne ; *Dipetalonema sensu stricto* serait caractéristique de la région néarctique. *Mansonella* (*Tetrapetalonema*) au contraire pourrait avoir son origine chez les *Tupaia* asiatiques et avoir évolué en Amérique du Nord chez les Carnivores et les Scuridés pour subir une explosion évolutive tardive chez les Platyrrhiniens sud-américains.

D'un point de vue morphologique, les adultes de *Dipetalonema* sont primitifs (c'est-à-dire du type Spiruride par la capsule buccale présente et l'œsophage puissant et divisé). Nous verrons que les microfilaires au contraire sont parfaitement adaptées à la « biologie Filaire » c'est-à-dire qu'elles circulent avec les hématies et se trouvent de plus en plus soumises aux cycles nycthémeraux.

Les *Mansonella* (*Tetrapetalonema*) ont des adultes morphologiquement évolués (cavité buccale et œsophage atrophiés) et nous verrons que les microfilaires, au contraire, s'adaptent difficilement à la « biologie Filaire » ; elles conservent une biologie semi-tissulaire, semi-vasculaire, et leur adaptation au cycle nycthémera est beaucoup moins marquée. *M. (T.) colombiensis*, primitif par rapport à *M. (T.) mariae* par la structure du vagin et des spicules, est l'espèce qui a les microfilaires les moins mobiles.

Les Filaires du Saïmiri ne sont pas particulièrement proches des Filaires parasites de l'Homme ; elles appartiennent à des sous-genres ou genres différents.

Du point de vue biologique, *D. robini* et *D. gracile* donnent cependant par convergence une bonne image de la biologie de la Filaire de Bancroft.

M. (T.) mariae n'a pas d'espèce réellement homologue chez l'homme, sauf peut-être l'espèce accidentelle *M. (Esslingeria) rodhaini* (Peel et Chardome, 1947), à microfilare très longue et grêle.

M. (T.) colombiensis ne semble pas avoir d'équivalent chez l'homme¹ ; elle constitue avec *M. (T.) panamensis* Mac Coy, 1936 et *M. (T.) saimiri* Esslinger, 1981 un petit ensemble primitif spécifiquement parasite de Platyrrhiniens dont les microfilaires, comme nous le verrons plus loin, vivent dans les capillaires sous-épidermiques.

Dans un groupe bien différent, le genre *Dirofilaria*, on connaît une espèce *D. magnilarvatum* Price, 1959 dont la microfilare mesure 580 µm sur 8 µm de large, et qui est encastrée dans les fines artérioles. (Hawking, 1959).

Ainsi nous trouvons chez les Singes néotropicaux (*Tetrapetalonema*) et chez les Singes asiatiques (*Dirofilaria*), deux groupes de Filaires à biologie convergente du fait que l'adaptation des microfilaires à l'appareil circulatoire reste incomplète.

1. *Mansonella* (*Esslingeria*) *streptocerca* (Macfie et Corson, 1922) pourrait avoir des analogies morphologiques et biologiques ; toutefois les microfilaires ne vivent pas dans les capillaires mais dans le conjonctif dermique. A ce propos, nous avons eu la possibilité de confirmer l'observation de Macfie et Corson.

B — Essai d'identification des microfilaires de *Saimiri sciureus* étudiées par Hawking en 1973

L'origine du *Saimiri sciureus* n° 2578 étudié par Hawking n'est pas indiquée. Ce Singe est parasité par 4 espèces de microfilaires désignées A, B, C et D, dont les dimensions et les caractéristiques, figurées p. 434, sont étudiées sur des spécimens fixés au formol à 2 % (technique de Knott, 1939).

Il n'est pas possible habituellement d'attribuer un nom de genre à une microfilare. Ici, le cas est particulier car les travaux sur les Filaires de Singes sud-américains sont nombreux (Faust, 1935 ; Mac Coy 1936 ; Dollfus & Chabaud, 1955 ; Dunn & Lambrecht, 1963 ; Freitas, 1964 ; Esslinger, 1966, 1979, 1981, 1982, Eberhard, 1978), etc. et toutes les espèces trouvées jusqu'à présent appartiennent soit au sous-genre *Tetrapetalonema* (microfilare sans gaine) soit au genre *Dipetalonema* (microfilare à gaine).

1 — « Microfilare A » : pas de gaine ; corps long de 248 μm et large de 3,1 μm ; queue entièrement nucléée, à extrémité obtuse. Cette microfilare est grêle mais plus petite que *M. (T.) mariae* et nous pensons, comme Orihel consulté en 1973 par Hawking, qu'elle peut être identifiée à *M. (T.) marmosetae* Faust, 1935.

2 — « Microfilare B » (type Y de Orihel) : pas de gaine ; corps long de 296 μm et large de 5,3 μm ; grand espace céphalique ; queue entièrement nucléée ; extrémité caudale large et obtuse.

Les dimensions de cette microfilare s'accordent avec celles de deux espèces de *Tetrapetalonema*, qui sont très proches l'une de l'autre : *M. (T.) colombiensis* et *M. (T.) saimiri* ; mais la grande taille de l'espace céphalique et les 2 noyaux caudaux terminaux semblent permettre de la rattacher plus précisément à la première espèce.

3 — « Microfilare C » (type T de Orihel) : gaine présente ; corps long de 118 μm et large de 5,7 μm ; espace céphalique très court ; queue entièrement nucléée.

La taille réduite de cette microfilare l'oppose à *D. robini* et *D. caudispina* ; elle semble trop large pour être assimilée à *D. gracile* ; la seule *Dipetalonema* à microfilare aussi courte est *graciliformis* (96 μm /3,5 μm dans l'utérus des femelles fixées à l'alcool, cf. Bain et coll., 1985) mais on ne connaît pas ses dimensions après fixation au formol. Il est possible également que ce soit une espèce non décrite.

4 — « Microfilaires D » : pas de gaine ; corps long de 270 μm et large de 4,4 μm ; espace céphalique aussi long que large ; queue entièrement nucléée.

Cette microfilare paraît appartenir au sous-genre *Tetrapetalonema* ; l'espèce ne peut être déterminée.

La richesse en espèces des Filaires de Plathyrrhiniens est beaucoup plus grande qu'on ne l'admettait il y a 10 ans. Le matériel étudié par Hawking ne pourrait être identifié avec certitude que par l'étude des Filaires adultes provenant de la même espèce d'hôte capturée au même endroit.

Chapitre III : Documents qualitatifs

L'essentiel du travail va porter sur les données quantitatives : périodicité des microfilariémies (chap. IV), variations des microfilariémies selon le lieu de prélèvement (chap. V), ingestion des microfilaries (chap. VI). Nous rassemblons ci-dessous (chap. III), les documents obtenus par observation directe ou par histologie qui, bien qu'approximatifs, nous seront d'un grand secours dans l'interprétation générale des données (chap. VII).

A — Observation des microfilaries à frais

Les microfilaries vivantes sont observées dans du sang frais placé entre lame et lamelle.

- La microfilarie de *D. robini* se remarque tout de suite car elle est très mobile et très puissante ; elle se déplace par de fortes ondulations de tout son corps. C'est la microfilarie la plus rapide.
- La microfilarie de *D. gracile* a le même type de mouvement que celle de *D. robini* mais elle est moins puissante et moins mobile.
- La microfilarie de *M. (T.) mariae* est longue, très souple et très grêle. Elle se pelotonne sur elle-même et brasse faiblement les hématies autour d'elle avec des mouvements lents sans pratiquement avancer.
- La microfilarie de *M. (T.) colombiensis* apparaît robuste et assez rigide, sauf dans la partie postérieure où la queue agit comme un fouet qui bat rythmiquement les hématies. Malgré la mobilité de sa queue et sa puissance, cette microfilarie avance lentement en rampant comme un serpent.

B — Observation, *in vivo*, de la prise de sang par les *Aedes*

1 — Dispositif expérimental utilisé

Une souris blanche est anesthésiée, une fenêtre d'environ 1 cm² est pratiquée dans la peau dorsale en incisant jusqu'au niveau de la première couche musculaire.

La souris est couchée sur le côté, sur la platine d'un microscope inversé (*fig. 4*). La peau dorsale est étirée pour placer la fenêtre réalisée précédemment devant l'objectif du microscope.

Il est possible ainsi d'observer la circulation sanguine cutanée et le mécanisme de l'ingestion du sang par l'*Aedes*.

2 — Observation du repas de sang de l'*Aedes*

L'*Aedes* enfonce son labre à peu près perpendiculairement à la peau, il peut alors en quelques secondes, se trouver en position d'ingérer du sang ou bien il doit réaliser de nombreux essais avant de pouvoir le faire. Au cours de ces essais infructueux, le labre traverse souvent toute l'épaisseur du derme et de la couche musculaire (600 µm

FIG. 4. — Dispositif expérimental pour l'observation directe du repas de sang d'un moustique.

L : lumière, P = peau dorsale d'une souris blanche (épiderme, derme, hypoderme et première couche musculaire), S : souris blanche. T = tube en verre, V : lame de verre, X = objectif du microscope.

au total) et s'arrête bloqué par la lame de verre sur laquelle la peau est appliquée. Fréquemment le moustique sectionne des petits vaisseaux (moins de $20\ \mu\text{m}$) et perce des plus gros (20 à $80\ \mu\text{m}$ de diamètre) en créant ainsi plusieurs hémorragies dans lesquelles il peut ingérer de petites quantités de sang ou bien même réaliser un repas complet lorsque l'hémorragie est importante.

Dans la plupart des cas cependant, le sang est prélevé directement dans un vaisseau sanguin. Le labre est toujours perpendiculaire au vaisseau ponctionné et son extrémité paraît à peine engagée à l'intérieur. Gordon et Lumsden (1939) et Griffiths et Gordon (1952) donnent des images excellentes du labre en position dans les vaisseaux sanguins. Le moustique aspire alors le sang d'une façon rythmique (environ 2 aspirations par seconde) ; la durée du repas est inférieure à une minute. Le gorgement de l'*Aedes* peut s'effectuer dans différents types de vaisseaux :

— dans les capillaires (1 observation) : toutes les hématies qui circulent l'une derrière l'autre dans le capillaire passent dans le labre ; la vitesse de circulation des hématies est considérablement augmentée par l'aspiration du moustique ;

— dans les veines (4 observations) : nous avons observé le gorgement de l'*Aedes* dans des veines dont le diamètre varie entre 20 μm et 60 μm . Dans les plus petites, le sang est aspiré des deux côtés du vaisseau ; dans les plus grosses l'écoulement sanguin paraît peu modifié, on observe seulement à chaque aspiration du moustique une dépression locale de la paroi de la veine autour du point de gorgement.

— dans les artères (1 observation) : l'*Aedes* s'est gorgé dans une artère de 30 μm de diamètre, sans créer de dépression dans la paroi du vaisseau mais en provoquant une vibration de l'artère sur 600 μm de long environ de part et d'autre du point de gorgement.

C — Histologie des tissus où sont effectués les prélèvements de sang, par l'expérimentateur ou par l'*Aedes*

Trois zones sont analysées, après fixation au Carnoy : lobe supérieur de l'oreille, peau du flanc et extrémité de la queue.

1 — L'oreille (fig. 5 A)

Le fragment fixé a été prélevé sur le singe à 9 h 30 le 24.2.83, après anesthésie à 9 h.

En coupe transversale cet organe présente une structure dissymétrique avec 2 parties séparées par une lame cartilagineuse :

- une couche cutanée dorsale à derme épais et riche en follicules pileux ;
- une couche cutanée ventrale à derme mince et peu pilifère.

Au niveau de ces deux couches, le derme est extrêmement vascularisé, avec en profondeur de nombreux vaisseaux dont le diamètre n'excède pas 20-30 μm . La partie superficielle du derme est riche en fins capillaires (moins de 10 μm) surtout sur la face ventrale. Ainsi nous avons dénombré 1 section de capillaire tous les 50 μm dans la couche papillaire de la face ventrale et une section tous les 100 μm sur la face dorsale.

2 — La peau du flanc (fig. 5 B)

Le fragment fixé a été prélevé au niveau de la peau abdominale latéro-dorsale sur le Saïmiri à 9 h 45 le 24.2.83 après anesthésie à 9 h.

La peau du flanc présente 3 couches successives :

- un épiderme mince de 20 μm d'épaisseur ;
- un derme épais de 300 à 400 μm d'épaisseur avec un conjonctif dense. Cette couche est très peu vascularisée par rapport à l'oreille même au niveau de la couche papillaire (1 section de capillaire tous les 160 μm) ;
- un hypoderme très épais (500 μm) et très riche en adipocytes. Dans cette couche de la peau, le réseau sanguin est peu dense. Il est constitué surtout d'artères et de veines parallèles de 70 μm de diamètre qui forment un réseau horizontal très lâche duquel partent des branches verticales (diamètre de moins de 20 μm) irriguant le derme.

FIG. 5. — *S. sciureus* ; A. Oreille en coupe transversale. B. Peau du flanc en coupe transversale. C. Queue en coupe transversale à 5 mm de l'extrémité caudale. D. idem, à faible grossissement. E. Queue en coupe transversale à 1 mm de l'extrémité caudale.

AP : apophyse vertébrale, A : artère, C : capillaire, ch : cartilage, D : derme, E : épiderme, H : hypoderme, m : muscle, p : poil, ta : adipocyte, VE : vertèbre.

3 — La queue

Le fragment fixé, de 5 mm de long, a été prélevé à l'extrémité de la queue lors de l'autopsie d'un Saïmiri ayant subi une exanguination et parasité par les mêmes microfilaires.

L'analyse morphologique a été effectuée à 2 niveaux différents :

a) à 1 mm de l'extrémité (fin de la partie osseuse) (*fig. 5 E*)

— l'épiderme est très épais (500 à 800 μm), il renferme de nombreuses sections de follicules pileux et des petits massifs musculaires, le tout dans un conjonctif dense. Cette couche est très riche en capillaires, en particulier au niveau de la couche papillaire (1 section tous les 50 μm). Le diamètre des vaisseaux ne dépasse pas 20 μm , sauf dans la partie profonde du derme où existent quelques rares vaisseaux d'environ 40 μm de diamètre.

b) à 5 mm de l'extrémité (*fig. 5 C et D*)

Le derme a à peu près la même morphologie qu'à l'extrémité de la queue, mais il est moins épais (300 à 400 μm) et les capillaires sous-épidermiques sont moins nombreux (une section tous les 120 μm).

Sous le derme se trouve un hypoderme de 200 à 500 μm d'épaisseur qui n'existe pas à l'extrémité ; il renferme de nombreux adipocytes et des follicules pileux dans un conjonctif lâche. Cette zone est bien vascularisée mais le diamètre des vaisseaux n'excède pas 20 μm .

Sous l'hypoderme se trouve l'axe vertébral à 4 apophyses, enrobé dans un conjonctif extraordinairement vascularisé ; on distingue :

- de grosses artères très musclées dont le diamètre est égal à 250 μm pour une lumière de 70 μm d'épaisseur ; elles sont orientées suivant l'axe longitudinal de la queue et reliées entre elles par des anastomoses horizontales très musclées également.
- des glomi cutanés
- des vaisseaux plus périphériques dont le diamètre varie entre 20 et 50 μm de diamètre.

4 — Observation de microfilaires sur les coupes histologiques

L'observation de microfilaires sur coupe de peau est extrêmement rare. Le fait est dû en particulier à la difficulté de prélever des échantillons de peau sans provoquer d'hémorragie ni modifier les conditions locales de la circulation sanguine.

Nous n'avons pu éviter d'importantes pertes de sang lors des différents prélèvements effectués, cependant nous observons sur les coupes de peau de nombreuses sections de microfilaires dans les capillaires sanguins de la couche papillaire. Dans tous les cas il s'agit de microfilaires de *M. (T.) colombiensis*, facilement reconnaissables par leur grand corps interne, leur queue bifide et leur grand espace céphalique. Très souvent ces microfilaires sont associées avec des hématies qui sont restées coincées entre les replis de la microfilarie et la paroi du capillaire (*fig. 6*).

La densité des microfilaires de *M. (T.) colombiensis* varie considérablement suivant l'organe étudié :

- au niveau de l'oreille, la densité est très forte surtout sur la face ventrale. Sur

FIG. 6. — Microfilaires de *M. (T.) colombiensis*, encastrées dans les capillaires sous-épidermiques de l'oreille. — en haut, sections de microfilaire repliée dans un capillaire dilaté renfermant des hématies. — en bas, à plus fort grossissement, partie antérieure d'une microfilaire occupant tout le volume du capillaire.
D : derme, E : épiderme, Mf : microfilaire.

cette face, déjà deux fois plus riche en capillaires, 68 % des capillaires montrent une section de microfilaires contre 28 % sur la face dorsale.

— au niveau de la peau du flanc, elles sont pratiquement absentes ;

— au niveau de la queue, la densité des microfilaires à 1 mm de l'extrémité est identique à celle observée sur la face ventrale de l'oreille.

Par contre, à 5 mm de l'extrémité, seulement 10 % des sections de capillaires montrent une section de microfilaires alors que la densité des capillaires est déjà deux fois plus faible.

Chapitre IV : Périodicité des microfilariémies

Bien que de simples prises de sang ne soient pas réellement douloureuses, toute expérimentation sur des animaux intelligents et doux, comme le sont les Saïmiris, est délicate ; le fait d'être réveillé toutes les trois heures pendant la nuit, le fait d'être maintenu immobile pendant le temps de la piqûre, pourraient les rendre anxieux et réfractaires à toute manipulation.

On sait, par ailleurs, combien le moindre stress peut agir sur le système circulatoire, ce qui fausse toute expérimentation.

L'emploi de substances tranquillisantes ou anesthésiques s'impose donc à tous égards, mais l'on sait que ces substances sont capables de modifier ou même d'inverser la périodicité des rythmes filariens.

Nous avons donc réalisé un cycle nycthéméral avec prises de sang à l'oreille toutes les 3 heures, sans aucune anesthésie.

Les données ainsi obtenues ont été comparées à celles qui proviennent de l'animal qui a reçu une anesthésie à 21 heures, c'est-à-dire au moment du pic de la microfilariémie.

Ces données, réunies et comparées dans la 1^{re} partie « Variations nycthémérales des microfilariémies », permettent :

- a) de constater que l'anesthésie en une dose à 21 h ne perturbe pas beaucoup la périodicité ;
- b) d'établir cette périodicité pour les 4 espèces.

Dans une deuxième partie « Effet de l'anesthésique sur les microfilariémies », l'effet de l'anesthésique est mis en évidence par prise de la dose à 9 h c'est-à-dire au moment du creux de la microfilariémie.

L'effet du produit est donc dissocié de l'effet du sommeil physiologique, sa cinétique peut être établie, ainsi que l'effet de doses répétées d'anesthésique.

Dans une troisième partie, enfin, les variations saisonnières éventuelles sont recherchées.

Les données recueillies dans l'ensemble du chapitre vont donc permettre, pour la suite du travail, de savoir, à tout moment, et quelle que soit l'anesthésie utilisée, quel est le taux de la microfilariémie prévisible, et dans quel sens et à quelle vitesse ce taux doit normalement évoluer.

A — Variations nycthémérales des microfilarémies1 — *D. robini*a) *sans anesthésie* (fig. 7 A et B, tableau II a)

La microfilarémie de *D. robini* présente une périodicité nycthémérale avec les valeurs maximales entre 21 h et 0 h (le « pic nocturne ») et minimales entre 9 h et 12 h (le « creux diurne »). Du creux au pic, la densité microfilarienne augmente de 15 à 18 fois.

b) *avec anesthésie* (fig. 7 C et D, tableau II b)

Les valeurs maximales de la microfilarémie sont obtenues comme dans l'expérience précédente entre 21 h et 0 h. Le creux de microfilarémie est plus long ici, il dure de 6 h à 15 h. Du creux au pic, la densité microfilarienne augmente de 15 à 18 fois.

TABLEAU II a et b. — *D. robini* : Variation nycthémérale de la microfilarémie.

$$R = \frac{\text{microfilarémie au temps } t}{\text{microfilarémie la plus basse}}$$

Heure solaire	Microfilarémie oreille	R
6 h	142 ± 12	2,6
9 h	81 ± 13	1,5
12 h	54 ± 14	1
15 h	135 ± 12	2,5
18 h	197 ± 12	3,6
21 h	1 028 ± 11	19
0 h	1 093 ± 11	20,2
3 h	641 ± 11	11,9
6 h	161 ± 12	3

a) 30 septembre-1^{er} octobre 1983, pas d'anesthésie
 Pic de microfilarémie : 21 h- 0 h
 Creux de microfilarémie : 9 h-12 h.

Heure solaire	Microfilarémie oreille	R
21 h	1 051 ± 11	18,1
0 h	978 ± 11	16,9
3 h	419 ± 11	7,2
6 h	61 ± 13	1,1
9 h	58 ± 14	1
12 h	62 ± 13	1,1
15 h	62 ± 13	1,1
18 h	253 ± 12	4,4
21 h	892 ± 11	15,4

b) 8-9 septembre 1983, anesthésie à 21 h le 8 septembre
 Pic de microfilarémie : 21 h- 0 h
 Creux de microfilarémie : 6 h-15 h.

2 — *D. gracile*

a) sans anesthésie (fig. 7 A et B, tableau III a)

Cette Filaire présente une périodicité nycthémérale de la microfilariémie, avec un pic qui débute à 0 h et qui est donc décalé d'environ 3 h par rapport à celui de *D. robini*.

La fin de ce pic est difficile à déterminer précisément ici, puisqu'à 6 h, dans le dernier prélèvement, la microfilariémie est toujours en pic, alors qu'elle est 2 fois plus basse dans le premier prélèvement de 6 h. Ces différences sont probablement dues aux perturbations du sommeil du Saïmiri. La microfilariémie la plus basse est observée à 12 h, sans qu'il y ait une phase de creux prolongée.

Pendant le pic de microfilariémie, la densité microfilarienne est au maximum 5,5 fois plus forte qu'à 9 h.

TABLEAU III a et b. — *D. gracile* : Variations nycthémérales de la microfilariémie.

$$R = \frac{\text{microfilariémie au temps } t}{\text{microfilariémie la plus basse}}$$

Heure solaire	Microfilariémie oreille	R
6 h	326 ± 12	2,4
9 h	224 ± 12	1,6
12 h	136 ± 12	1
15 h	219 ± 12	1,6
18 h	160 ± 12	1,2
21 h	274 ± 12	2
0 h	570 ± 11	4,2
3 h	752 ± 11	5,5
6 h	724 ± 11	5,3

a) 30 septembre-1^{er} octobre 1983, pas d'anesthésie
 Pic de microfilariémie : 0 h-3 h
 Creux de microfilariémie : 12 h

Heure solaire	Microfilariémie oreille	R
21 h	372 ± 12	2,6
0 h	653 ± 11	4,6
3 h	560 ± 11	4
6 h	380 ± 12	2,7
9 h	141 ± 12	1
12 h	144 ± 12	1
15 h	167 ± 12	1,2
18 h	226 ± 12	1,6
21 h	223 ± 12	1,6

b) 8-9 septembre 1983, anesthésie à 21 h le 8 septembre
 Pic de microfilariémie : 0 h- 3 h
 Creux de microfilariémie : 9 h-15 h.

b) avec anesthésie (fig. 7 C et D, tableau III b)

Après l'anesthésie, *D. gracile* présente un pic de microfilariémie la nuit entre 0 h et 3 h. Ce pic est donc bien décalé de 3 h par rapport à celui de *D. robini*. Le creux de microfilariémie est ici plus long, il dure de 9 h à 15 h.

Pendant le pic nocturne, la densité microfilarienne est au maximum 4,6 fois plus forte qu'à 9 h.

Lors du dernier prélèvement, fait à 21 h, la microfilariémie n'a pas retrouvé le niveau initial observé 24 h auparavant ; elle est à ce moment plus faible d'environ 40 %.

3 — *M. (T.) mariae*

a) sans anesthésie (fig. 7 A et B, tableau IV a)

Le phénomène périodique est ici moins net que pour les deux premières Filaires, en particulier à cause de la valeur assez forte de la microfilariémie à 15 h. Nous observons cependant 4 valeurs de la microfilariémie supérieures à 100 la nuit et 4 valeurs inférieures à 100 le jour.

D'autre part, le rapport entre la plus forte microfilariémie et la plus basse est égal à 4,7.

TABLEAU IV a et b. — *M. (T.) mariae* : Variations nycthémérales de la microfilariémie.

$$R = \frac{\text{microfilariémie au temps } t}{\text{microfilariémie la plus basse}}$$

Heure solaire	Microfilariémie oreille	R
6 h	131 ± 12	4,1
9 h	72 ± 13	2,3
12 h	32 ± 15	1
15 h	78 ± 13	2,4
18 h	45 ± 14	1,4
21 h	106 ± 13	3,3
0 h	102 ± 13	3,2
3 h	150 ± 12	4,7
6 h	70 ± 13	2,2

a) 30 septembre-1^{er} octobre 1983, pas d'anesthésie
 Pic de microfilariémie : 21 h-6 h
 Creux de microfilariémie : 12 h.

Heure solaire	Microfilariémie oreille	R
21 h	231 ± 12	4,2
0 h	202 ± 12	3,7
3 h	160 ± 12	2,9
6 h	94 ± 13	1,7
9 h	79 ± 13	1,4
12 h	55 ± 14	1
15 h	73 ± 13	1,3
18 h	112 ± 12	2
21 h	194 ± 12	3,5

b) 8-9 septembre 1983, anesthésie à 21 h le 8 septembre
 Pic de microfilariémie : 21 h- 0 h
 Creux de microfilariémie : 9 h-15 h.

TABLEAU V a et b. — *M. (T.) colombiensis* :
Variations nycthémérales de la microfilariémie.

$$R = \frac{\text{microfilariémie au temps } t}{\text{microfilariémie la plus basse}}$$

Heure solaire	Microfilariémie oreille	R
6 h	119 ± 26	39,7
9 h	45 ± 27	31,3
12 h	22 ± 28	7,3
15 h	6 ± 35	2
18 h	19 ± 29	6,3
21 h	21 ± 28	7
0 h	26 ± 28	8,7
3 h	13 ± 30	4,3
6 h	3 ± 42	1

a) 30 septembre-1^{er} octobre 1983, pas d'anesthésie.

Heure solaire	Microfilariémie oreille	R
21 h	40 ± 27	13,3
0 h	26 ± 28	8,7
3 h	10 ± 32	3,3
6 h	3 ± 42	1
9 h	11 ± 32	3,7
12 h	17 ± 30	5,7
15 h	26 ± 28	8,7
18 h	13 ± 30	4,3
21 h	11 ± 32	3,7

b) 8-9 septembre 1983, anesthésie à 21 h le 8 septembre.

b) *avec anesthésie* (fig. 7 C et D, tableau IV b)

Après anesthésie, le phénomène de périodicité pour cette *Filaire* est bien marqué. Le pic de microfilariémie s'observe entre 21 h et 0 h, comme pour *D. robini*. Les basses microfilariémies durent de 9 h à 15 h (minimum à 12 h).

Pendant le pic, la microfilariémie est 4,2 fois plus forte qu'à 12 h.

4 — *M. (T.) colombiensis*

a) *sans anesthésie* (fig. 7 A et B, tableau V a)

Pour cette espèce, la recherche d'un phénomène de périodicité de la microfilariémie est plus difficile que pour les 3 autres espèces, car sa microfilariémie est souvent très basse et l'intervalle de confiance sur sa mesure très important.

La microfilariémie maximum est observée ici pendant les premiers prélèvements, c'est-à-dire entre 6 h et 9 h, puis la microfilariémie décroît. Les variations observées après 15 h ont peu de signification.

FIG. 7. — Les Filaires de *S. sciurus* : variations nycthémerales des densités microfilariennes.

A et B : sans anesthésie les 30 septembre et 1^{er} octobre 1983 ; C et D : après anesthésie à 21 h le 8 septembre 1983. (En A et C, microfilarémie des 4 espèces rapportée à 10 mm³ de sang ; en B et D, microfilarémie des 3 espèces périodiques exprimée en pourcentage du maximum observé.)

b) avec anesthésie (fig. 7 C et D, tableau V b)

La microfilariémie maximum observée est 3 fois plus basse que dans l'expérience précédente. Cependant, elle est observée également pendant les premiers prélèvements, c'est-à-dire ici entre 21 h et 0 h, puis elle décroît. Les variations observées ensuite entre 6 h et 21 h ont peu de signification.

Les résultats pour cette Filaire sont donc difficiles à interpréter ; ils ne montrent pas de variation journalière de la microfilariémie.

B — Effet de l'anesthésique sur les microfilariémies

Trois cas sont considérés : inoculation de l'anesthésique le matin (9 h), inoculation de l'anesthésique le soir (21 h), et deux inoculations successives à 21 h et 9 h.

1 — Injection de l'anesthésique à 9 h

a) Mise en évidence de l'effet de l'anesthésique

Le sang est prélevé immédiatement après l'injection de l'anesthésique et 55' après ; le tableau VI montre les résultats de cette expérience.

TABLEAU VI. — Variations des microfilariémies des Filaires de *S. sciureus* ; 55' après l'anesthésie.

$$R = \frac{\text{microfilariémie à 9 h 55}}{\text{microfilariémie à 9 h}}$$

29 septembre 1983 — anesthésique à 9 h.

H	<i>D. robini</i>	<i>D. gracile</i>	<i>M. (T.) mariae</i>	<i>M. (T.) colombiensis</i>
9 h	55 ± 14	140 ± 12	67 ± 13	35 ± 28
9 h 55	863 ± 11	309 ± 12	40 ± 15	55 ± 30
R	15,7	2,2	0,6	1,6

- Pour *D. robini*, l'anesthésique provoque en une heure une augmentation de la microfilariémie analogue à celle observée au pic nocturne de microfilariémie (tableau II).
- Pour *D. gracile*, l'anesthésique provoque en une heure une augmentation de la microfilariémie, qui est 2 fois plus faible environ que celle observée au pic nocturne.
- Pour *M. (T.) mariae*, on observe une légère baisse de la densité microfilarienne ; elle peut correspondre à la chute naturelle de la microfilariémie entre 9 h et 12 h.
- Pour *M. (T.) colombiensis*, la faible augmentation observée n'est pas significative (grand intervalle de confiance).

b) Cinétique de l'effet de l'anesthésique sur les microfilariémies pendant la première heure.

Le sang est prélevé à 9 h 12, 9 h 22, 9 h 33, 9 h 46, 10 h 01. Les résultats sont représentés dans la figure 8 et le tableau VII.

FIG. 8. — Cinétique des variations des microfilariémies des Filaires de *S. sciureus* pendant l'heure qui suit l'anesthésie, 10 octobre 1983 — anesthésique à 9 h.

TABEAU VII. — Cinétique des variations des microfilariémies des Filaires de *S. sciureus* pendant l'heure qui suit l'anesthésie.

$$R = \frac{\text{microfilariémie à 10 h 01}}{\text{microfilariémie à 9 h 12}}$$

10 octobre 1983 — anesthésique à 9 h.

H	<i>D. robini</i>	<i>D. gracile</i>	<i>M. (T.) mariae</i>	<i>M. (T.) colombiensis</i>
9 h 12	47 ± 14	121 ± 12	91 ± 13	17 ± 29
9 h 22	80 ± 13	135 ± 12	85 ± 13	21 ± 29
9 h 33	313 ± 12	157 ± 12	86 ± 13	25 ± 28
9 h 46	849 ± 11	298 ± 12	60 ± 14	18 ± 29
10 h 01	1 006 ± 11	536 ± 12	46 ± 14	8 ± 39
R	21,4	4,4	0,5	0,5

Les mêmes observations que dans l'expérience précédente peuvent être faites ; on remarque de plus que :

— Pendant les 12 premières minutes, la microfilariémie des 4 espèces de Filaires n'est pas modifiée.

— Pour *D. robini*, la microfilariémie augmente légèrement entre la 12^e et la 22^e minute, puis brutalement entre la 22^e et la 43^e minute.

— Pour *D. gracile*, la microfilariémie augmente très légèrement entre la 12^e et la 33^e minute, puis plus rapidement ensuite, sans atteindre l'accroissement rapide de *D. robini*.

— Pour *M. (T.) mariae*, la chute de la microfilariémie apparaît entre la 33^e et la 61^e minute.

— Pour *M. (T.) colombiensis*, l'anesthésique ne provoque pas de variation significative de la microfilariémie.

c) Durée de l'effet de l'anesthésique sur les microfilariémies.

Deux expériences sont réalisées :

- dans la première, le sang est prélevé juste après l'anesthésie à 9 h, puis à 12 h ;
- dans la deuxième, le sang est prélevé à 10 h 35 et 11 h 05.

Les résultats de ces deux expériences sont représentés dans le tableau VIII a et b.

TABLEAU VIII. — Variation des microfilariémies des Filaires de *S. sciureus* :

a) microfilariémies à 9 h et 12 h ;

b) microfilariémies à 10 h 35 et 11 h 05.

$$R = \frac{\text{microfilariémie à 12 h}}{\text{microfilariémie à 9 h}}$$

H	<i>D. robini</i>	<i>D. gracile</i>	<i>M. (T.) mariae</i>	<i>M. (T.) colombiensis</i>
9 h	62 ± 13	124 ± 12	41 ± 14	32 ± 28
12 h	848 ± 11	599 ± 11	35 ± 15	5 ± 36
R	13,7	4,8	0,9	0,2

a) 20 septembre 1983 — anesthésique à 9 h.

H	<i>D. robini</i>	<i>D. gracile</i>	<i>M. (T.) mariae</i>	<i>M. (T.) colombiensis</i>
10 h 35	923 ± 11	514 ± 12	97 ± 13	6 ± 35
11 h 05	857 ± 11	580 ± 12	43 ± 14	7 ± 34

b) 14 octobre 1983 — anesthésique à 9 h.

Ces deux expériences montrent que le pic de microfilariémie de *D. robini* se prolonge au moins jusqu'à 12 h, c'est-à-dire 3 h après l'anesthésie.

L'anesthésique provoque une augmentation de la microfilariémie de *D. gracile*, qui est analogue à celle observée lors du pic naturel de microfilariémie. Ce pic est atteint plus tardivement (entre 10 h et 10 h 30) que celui de *D. robini* (10 h). Le décalage entre le pic nocturne de microfilariémie de *D. robini* et celui de *D. gracile* se reproduit donc ici lors du pic de microfilariémie provoqué par l'anesthésie.

M. (T.) mariae et *M. (T.) colombiensis* paraissent très peu sensibles à l'anesthésique, lorsqu'il est injecté à 9 h.

La fin de l'effet de l'anesthésique après l'injection à 9 h n'a pas été étudiée au niveau du sang prélevé à l'oreille, mais dans celui prélevé à l'extrémité de la queue. A 14 h, pour *D. robini* et *D. gracile*, les microfilariémies sont redescendues au niveau normal à cette heure. Les microfilariémies de *M. (T.) mariae* et *M. (T.) colombiensis* sont également à leur niveau normal.

2 — Injection de l'anesthésique à 21 h

Une seule expérience est réalisée : l'anesthésique est injecté au Singe à 21 h ; le sang est prélevé immédiatement après et une heure plus tard.

Le tableau suivant montre les résultats obtenus :

TABLEAU IX. — Variations des microfilariémies des Filaires de *S. sciureus*.
27 octobre 1983 — anesthésique à 21 h.

H	<i>D. robini</i>	<i>D. gracile</i>	<i>M. (T.) mariae</i>	<i>M. (T.) colombiensis</i>
21 h	1 183 ± 11	585 ± 12	128 ± 12	37 ± 28
22 h	1 198 ± 11	748 ± 12	92 ± 13	23 ± 28
R	1	1,3	0,7	0,6

- L'injection de l'anesthésique à 21 h ne provoque pas de modification de la microfilariémie de *D. robini*.
- Pour *D. gracile*, la microfilariémie augmente entre 21 h et 22 h, mais cette variation correspond à l'augmentation naturelle observée (fig. 7 A et B).
- Pour *M. (T.) mariae*, la microfilariémie chute un peu entre 21 h et 22 h et paraît indiquer un effet légèrement négatif de l'anesthésique sur la microfilariémie de cette Filaire pendant le pic nocturne.
- Pour *M. (T.) colombiensis*, la microfilariémie ne varie pas significativement entre 21 h et 22 h.

3 — Effet provoqué par deux injections successives d'anesthésique.

Nous analysons le cas où la première injection a lieu à 21 h et la deuxième à 9 h le lendemain matin.

Le sang est prélevé juste après l'inoculation de 9 h, puis à 10 h et 12 h (tableau X).

TABLEAU X. — Variations des microfilariémies des Filaires de *S. sciureus*,
après 2 anesthésies — 27-28 octobre 1983.
Anesthésique à 21 h le 27 et à 9 h le 28 octobre.

$$R = \frac{\text{microfilariémie à 21 h}}{\text{microfilariémie à 9 h}}$$

H	<i>D. robini</i>	<i>D. gracile</i>	<i>M. (T.) mariae</i>	<i>M. (T.) colombiensis</i>
9 h	29 ± 15	111 ± 12	32 ± 15	8 ± 39
10 h	230 ± 12	208 ± 12	28 ± 16	35 ± 28
12 h	360 ± 12	260 ± 12	33 ± 15	9 ± 22

La 2^e injection d'anesthésique à 9 h provoque une augmentation de la microfilariémie de *D. robini* et de *D. gracile*, qui est loin d'atteindre la valeur du pic de microfilariémie, comme après une première anesthésie à 9 h.

- Pour ces deux *Dipetalonema*, la microfilariémie à 12 h atteint seulement le 1/3 environ de la valeur du pic nocturne de microfilariémie.
- L'anesthésique ne semble pas agir sur les deux *Mansonella* après injection à 9 h, qu'il s'agisse d'une première ou d'une deuxième injection d'anesthésique.

A — Variations saisonnières des microfilariémies

Les données numériques sont représentées dans les *tableaux XI, XII, XIII et XIV*. Elles concernent la période d'octobre 1982 à octobre 1983.

Les prélèvements de sang sont effectués à l'oreille, à 21 h et à 9 h, le lendemain matin, dans les 2 cas juste après injection de l'anesthésique.

Dans l'expérience du 1.10.1982, exceptionnellement, la première prise de sang a lieu à 9 h, sans anesthésie, la deuxième à 21 h après anesthésie.

1 — *D. robini* (tableau XI).

Entre février et octobre 1983, la microfilariémie de *D. robini* est restée assez stable, sans variations saisonnières apparentes ; le rapport de la microfilariémie à 21 h sur la microfilariémie à 9 h a toujours une valeur élevée ; les variations observées paraissent liées à l'incertitude qui existe sur la mesure de la microfilariémie à 9 h. Cette incertitude est plus grande dans l'expérience du 1.10.1982, où seulement 10 mm³ de sang ont été prélevés.

TABLEAU XI. — *D. robini*, variations saisonnières de la microfilariémie.
Octobre 1982-octobre 1983.

Date	Microfilariémie 21 h	Microfilariémie 9 h	R
1/10/82*	473 ± 20	51 ± 24	9,3
3/02/83	690 ± 11		
30/03/83	1 094 ± 11		
20/06/83	1 019 ± 11	40 ± 15	25,5
31/08/83	1 011 ± 11	53 ± 14	19
8/09/83	1 051 ± 11	58 ± 14	18,1
14/09/83	787 ± 11		
27/10/83	1 183 ± 11	29 ± 16	40,8

* 10 mm³ de sang prélevés seulement.

2 — *D. gracile* (tableau XII).

A 9 h, la microfilariémie est restée stable de juin à octobre 1983 ; parallèlement, des variations plus importantes sont observées à 21 h. Ces variations sont probablement dues au fait qu'à 21 h cette Filaire est en phase de montée.

Nous n'observons pas de variation que l'on puisse relier à une périodicité mensuelle ou saisonnière.

TABLEAU XII. — *D. gracile*, variations saisonnières de la microfilariémie.
Octobre 1982-octobre 1983.

$$R = \frac{\text{microfilariémie à 21 h}}{\text{microfilariémie à 9 h}}$$

Date	Microfilariémie 21 h	Microfilariémie 9 h	R
1/10/82*	98 ± 22	68 ± 23	1,4
3/02/83	143 ± 12		
30/03/83	188 ± 12		
20/06/83	466 ± 12	76 ± 13	6,1
31/08/83	480 ± 11	111 ± 13	4,3
8/09/83	372 ± 12	141 ± 12	2,6
14/09/83	201 ± 12		
27/10/83	585 ± 11	111 ± 13	5,2

* : 10 mm³ prélevés seulement.

3 — *M. (T.) mariae* (tableau XIII).

Pour cette Filaire, nous n'observons pas non plus de variations saisonnières. On constate, par contre, que la microfilariémie a régulièrement baissé au cours de l'année. Il est vraisemblable donc que les adultes soient morts ou ne pondent plus.

TABLEAU XIII. — *M. (T.) mariae*, variations saisonnières de la microfilariémie.
Octobre 1982-octobre 1983.

Date	Microfilariémie 21 h	Microfilariémie 9 h	R
1/10/82	524 ± 20	155 ± 21	3,4
3/02/83	274 ± 12		
30/03/83	241 ± 12		
20/06/83	240 ± 12	80 ± 13	3
31/08/83	113 ± 12	78 ± 13	1,5
8/09/83	231 ± 12	79 ± 13	2,9
14/09/83	177 ± 12		
27/10/83	128 ± 12	32 ± 15	4

4 — *M. (T.) colombiensis* (tableau XIV).

Les valeurs des microfilariémies sont très irrégulières et aucun cycle saisonnier ne se dessine.

TABLEAU XIV. — *M. (T.) colombiensis*, variations saisonnières de la microfilariémie. Octobre 1982-octobre 1983.

$$R = \frac{\text{microfilariémie à 21 h}}{\text{microfilariémie à 9 h}}$$

Date	Microfilariémie 21 h	Microfilariémie 9 h	R
1/10/82	16 ± 51	9 ± 55	1,8
3/02/83	3 ± 42		
30/03/83	9 ± 32		
20/06/83	19 ± 29	6 ± 35	3,2
31/08/83	18 ± 29	34 ± 27	0,52
8/09/83	40 ± 27	11 ± 31	3,6
14/09/83	8 ± 33		
27/10/83	37 ± 27	8 ± 33	4,6

D — Discussion

Ce travail porte sur l'ingestion des microfilaires par le vecteur et non sur la périodicité. Celle-ci intervenant dans l'ingestion, elle est nécessairement prise en compte, mais nous ne la considérons que dans ses manifestations, le déterminisme de la périodicité des microfilariémies ayant fait l'objet des remarquables travaux d'Hawking et de son équipe de 1957 à 1981.

Hawking a précisément étudié des Filaires parasites de *Saimiri sciureus*, donc du même hôte que notre modèle biologique, mais la provenance du Singe de Hawking n'est pas indiquée. Son *Saimiri* héberge lui aussi 4 espèces de Filaires, qui ne correspondent que partiellement à celles de nos animaux.

Comme nous l'avons indiqué plus haut, les déterminations qui nous paraissent vraisemblables pour ces espèces sont :

Microfilaire A : *M. (T.) marmosetae*

Microfilaire B : *M. (T.) colombiensis*

Microfilaire C : *Dipetalonema* sp.

Microfilaire D : *M. (Tetrapetalonema)* sp.

Les travaux publiés par Hawking sur ces 4 espèces semblent avoir été faits essentiellement entre 9 h et 15 h (probablement heure locale de Tulane, en Louisiane).

L'essentiel des faits apparaît cependant clairement : les 3 espèces A, B, D, que nous soupçonnons d'appartenir au sous-genre *Tetrapetalonema* ont une périodicité peu marquée et sont peu sensibles aux stimuli habituels, sauf l'espèce A, qui paraît baisser de 50 à 70 % quand la température de l'hôte passe de 40° à 33° centigrades.

Par contre, l'espèce C, *Dipetalonema* sp., a la périodicité bien marquée que nous avons constatée avec notre matériel et est très sensible à l'effet d'une baisse de température de l'hôte, puisque le taux de microfilariémie passe de 60 à 600 (cf. Hawking, 1973, fig 2).

Ne désirant pas répéter le travail de Hawking, nous constatons donc simplement que nos 2 *Dipetalonema*, *D. gracile* et surtout *D. robini*, ont une périodicité très marquée avec un pic nocturne, plus tardif pour *D. gracile*.

Pour *M. (Tetrapetalonema) marmosetae*, Hawking estime qu'il n'y a pas de périodicité évidente et que le taux de microfilariémie baisse lorsque la température centrale de l'hôte diminue.

Notre conclusion est inverse pour *M. (T.) mariae*, puisque :

- nous constatons qu'il y a une périodicité ;
- que le maximum étant nocturne, la baisse de température du corps entraînerait un accroissement de la microfilariémie et non une baisse de celle-ci, comme l'indique le graphique de Hawking.

Ces divergences peuvent être dues soit à des différences de souche, soit au fait que l'étude de cette espèce étant très accessoire dans le travail général de Hawking, il semble que peu de données nocturnes aient été enregistrées.

Quoi qu'il en soit, le stimulus qui détermine la libération des microfilaries des poumons vers la périphérie, ou plus vraisemblablement comme l'admet Hawking, le stimulus qui bloque les microfilaries dans les poumons (le pic de la microfilariémie étant un phénomène passif) sort du sujet de ce travail et nous n'y revenons pas.

Chapitre V : Variations des microfilariémies en fonction du lieu de prélèvement

Lorsque deux prélèvements de 10 mm³ sont effectués, l'éventualité la plus simple et qui ne nécessite aucune explication particulière, est que ces 2 prélèvements soient égaux — qu'ils soient prélevés par l'*Aedes* ou par l'expérimentateur, — qu'ils soient prélevés à l'oreille, au flanc ou à la queue —, qu'ils soient prélevés au moment où la microfilariémie est à son pic, à son creux, en phase ascendante ou en phase descendante, tout cela étant vrai pour chacune des 4 espèces de microfilaries considérées. Le nombre constaté au cours du premier prélèvement est désigné sous le vocable de « nombre attendu » ; si aucun phénomène ne se manifeste, le nombre du 2^e prélèvement, « nombre obtenu » lui est égal.

L'expérimentation, conduite dans les chapitres v et vi, montre qu'il n'en est rien et fait ressortir les principaux paramètres qui déterminent les rapports nombre obtenu/nombre attendu.

Mais ces différents paramètres interférant les uns avec les autres, l'ensemble des rapports ne pourra être analysé que de façon globale à la suite de ces deux chapitres, c'est-à-dire dans le chapitre vii.

Une des difficultés pour apprécier la relation entre le nombre de microfilaries ingérées par le vecteur et la densité microfilarienne vient de ce que l'expérimentateur prélève le sang à un endroit du corps (par exemple oreille, doigt) et fait gorgier le vecteur dans un autre (par exemple bras, cuisse).

Nous avons donc comparé chez le Saimiri les prélèvements obtenus à l'oreille avec ceux obtenus au flanc ; c'est, en effet, au flanc que les *Aedes* ont été le plus souvent gorgés ; des prélèvements ont également été effectués à la queue, car c'est très souvent avec le sang de la queue que les auteurs établissent la microfilariémie.

Pour éviter que les résultats ne soient faussés par les variations nycthémérales (ou induites) de la microfilarémie, les prélèvements dans les divers organes se sont succédés très rapidement et leur ordre chronologique est indiqué.

A — Densités microfilariennes comparées dans le sang pris au flanc et celui pris à l'oreille

1 — Pendant le creux de la microfilarémie

Cinq couples de données sont analysés dans les *tableaux XV à XVIII* :

• *D. robini*

La microfilarémie de *D. robini* est plus forte de 20 % (en moyenne) dans le sang prélevé au flanc.

TABLEAU XV. — *D. robini*, microfilarémies au flanc et à l'oreille.

$$R = \frac{\text{Microfilarémie au flanc}}{\text{Microfilarémie à l'oreille}}$$

Microfilarémie flanc		Microfilarémie oreille		R	H	Date	Anesthésique
58 ± 14	*2	53 ± 14	*1	1,09	9 h	10.05.83	9 h
46 ± 14	2	40 ± 14	1	1,15	9 h	20.06.83	21 h, 9 h
57 ± 14	2	53 ± 14	1	1,08	9 h	31.08.83	21 h, 9 h
70 ± 13	2	55 ± 14	1	1,27	9 h	26.09.83	9 h
69 ± 16	1	47 ± 20	2	1,47	9 h	10.10.83	9 h

$$R_1 = \text{Rapport moyen } \frac{\text{flanc}}{\text{oreille}} \quad 1,21 \pm 0,19^{**}$$

* Ordre chronologique des prélèvements.

** Intervalle de confiance calculé pour un faible échantillon (Schwartz, 1977, p. 154).

• *D. gracile*

La densité microfilarienne apparaît globalement à peine inférieure au flanc, une seule expérience donnant un résultat contraire.

TABLEAU XVI. — *D. gracile*, microfilarémies au flanc et à l'oreille.

Microfilarémie flanc		Microfilarémie oreille		R	H	Date	Anesthésique
89 ± 13	2	111 ± 12	1	0,80	9 h	10.05.83	9 h
54 ± 14	2	76 ± 13	1	0,71	9 h	20.06.83	21 h, 9 h
110 ± 12	2	111 ± 12	1	0,99	9 h	31.08.83	21 h, 9 h
128 ± 12	2	140 ± 12	1	0,91	9 h	26.09.83	9 h
158 ± 15	1	121 ± 18	2	1,31	9 h	10.10.83	9 h

$$R_1 = \text{Rapport moyen } \frac{\text{flanc}}{\text{oreille}} \quad 0,94 \pm 0,28$$

• *M. (T.) mariae*

Les mêmes observations que pour *D. gracile* peuvent être faites.

TABLEAU XVII. — *M. (T.) mariae*, microfilariémies au flanc et à l'oreille.

Microfilariémie flanc		Microfilariémie oreille		R	H	Date	Anesthésique
120 ± 12	2	143 ± 12	1	0,84	9 h	10.05.83	9 h
64 ± 13	2	81 ± 13	1	0,79	9 h	20.06.83	21 h, 9 h
58 ± 14	2	78 ± 13	1	0,74	9 h	31.08.83	21 h, 9 h
52 ± 14	2	67 ± 13	1	0,78	9 h	26.09.83	9 h
129 ± 15	1	91 ± 18	2	1,42	9 h	10.10.83	9 h

$$R_s = \text{Rapport moyen } \frac{\text{flanc}}{\text{oreille}} \quad 0,91 \pm 0,34$$

• *M. (T.) colombiensis*

La microfilariémie de *M. (T.) colombiensis* est environ 10 fois plus faible dans le sang prélevé au flanc que dans celui prélevé à l'oreille.

TABLEAU XVIII. — *M. (T.) colombiensis*, microfilariémies au flanc et à l'oreille.

Microfilariémie flanc		Microfilariémie oreille		R	H	Date	Anesthésique
1,43 ± 55	2	14 ± 30	1	0,1	9 h	10.05.83	9 h
1,33 ± 56	2	6 ± 35	1	0,22	9 h	20.06.83	21 h, 9 h
0,33 ± 103	2	18 ± 29	1	0,02	9 h	31.08.83	21 h, 9 h
3,7 ± 39	2	35 ± 27	1	0,11	9 h	26.09.83	9 h
0,5 ± 104	1	17 ± 42	2	0,03	9 h	10.10.83	9 h

$$R_s = \text{Rapport moyen } \frac{\text{flanc}}{\text{oreille}} \quad 0,1 \pm 0,1$$

2 — Pendant le pic de la microfilariémie, naturel ou produit par l'anesthésique

• *D. robini*

La microfilariémie de *D. robini* est plus forte de 30 % dans le sang prélevé au flanc que dans celui prélevé à l'oreille.

TABLEAU XIX. — *D. robini*, microfilariémies au flanc et à l'oreille.

Microfilariémie flanc		Microfilariémie oreille		R	H	Date	Anesthésique
1 395 ± 11	2	1 019 ± 11	1	1,37	21 h	20.06.83	21 h
1 438 ± 11	2	1 011 ± 11	1	1,42	21 h 25	31.08.83	21 h
956 ± 12	2	863 ± 13	1	1,11	10 h	26.09.83	9 h
1 217 ± 11	1	1 005 ± 14	2	1,21	10 h	10.10.83	9 h
1 421 ± 11	1	923 ± 11	2	1,54	10 h 32	14.10.83	9 h
1 008 ± 11	1	857 ± 11	2	1,18	11 h	14.10.83	9 h

$$R_s = \text{Rapport moyen } \frac{\text{flanc}}{\text{oreille}} \quad 1,3 \pm 0,17$$

• *D. gracile*

Nous disposons de 4 données au moment du pic de microfilariémie de cette espèce. Comme pour *D. robini*, la microfilariémie de *D. gracile* est plus forte dans le sang prélevé au flanc que dans celui prélevé à l'oreille (40 % plus forte).

TABEAU XX. — *D. gracile*, microfilariémies au flanc et à l'oreille.

Microfilariémie flanc		Microfilariémie oreille		R	H	Date	Anesthésique
691 ± 11	2	466 ± 12	1	1,5	21 h	20.06.83	21 h
724 ± 11	2	480 ± 12	1	1,5	21 h 25	31.08.83	21 h
767 ± 11	1	514 ± 11	2	1,49	10 h 32	14.10.83	9 h
647 ± 11	1	583 ± 11	2	1,11	11 h	14.10.83	9 h

$$R_6 = \text{Rapport moyen } \frac{\text{flanc}}{\text{oreille}} = 1,4 \pm 0,3$$

• *M. (T.) mariae*

Les données ici sont moins nombreuses, puisque l'anesthésique ne provoque pas d'augmentation de la microfilariémie de cette Filaire.

Pour les 2 expériences réalisées, la microfilariémie de *M. (T.) mariae* est plus forte dans le sang prélevé au flanc que dans celui prélevé à l'oreille (38 % de plus).

TABEAU XXI. — *M. (T.) mariae*, microfilariémies au flanc et à l'oreille.

Microfilariémie flanc		Microfilariémie oreille		R	H	Date	Anesthésique
408 ± 12	2	240 ± 12	1	1,7	21 h	20.06.83	21 h
121 ± 12	2	113 ± 12	1	1,07	21 h 25	31.08.83	21 h

$$R_7 = \text{Rapport moyen } \frac{\text{flanc}}{\text{oreille}} = 1,38 \pm 0,56$$

• *M. (T.) colombiensis*

La microfilariémie de *M. (T.) colombiensis* est en moyenne 3 fois plus forte dans le sang prélevé à l'oreille que dans celui prélevé au flanc.

TABEAU XXII. — *M. (T.) colombiensis*, microfilariémies au flanc et à l'oreille.

Microfilariémie flanc		Microfilariémie oreille		R	H	Date	Anesthésique
0,22 ± 122	2	19 ± 29	1	0,01	21 h	20.06.83	21 h
0,33 ± 103	2	34 ± 28	1	0,01	21 h 25	31.08.83	21 h
0,43 ± 104	2	55 ± 29	1	0,01	10 h	26.09.83	9 h
1,6 ± 69	1	8 ± 33	2	0,2	10 h	10.10.83	9 h
10 ± 32	1	6 ± 35	2	1,66	10 h 32	14.10.83	9 h
0,33 ± 103	1	7 ± 34	2	0,05	11 h	14.10.83	9 h

$$R_8 = \text{Rapport moyen } \frac{\text{flanc}}{\text{oreille}} = 0,32 \pm 0,69$$

B — Densités microfilariennes comparées dans le sang pris à la queue et celui pris à l'oreille

La queue des Cebidae et, en particulier, celle de *Saimiri sciureus* est longue (35 cm pour un animal ne pesant que 900 g). La vascularisation de cet organe est donc particulière et les prélèvements de sang effectués par l'expérimentateur sont moins réguliers que ceux effectués à l'oreille ou au flanc (cf. chap. I).

Dans la pratique, la piqûre à l'extrémité de la queue procure d'abord une très petite quantité de sang (environ 1 mm³), qui est particulièrement riche en microfilaires.

Le sang coule ensuite difficilement de façon spontanée et il est nécessaire, par un massage d'avant en arrière, de provoquer l'arrivée du sang ; celle-ci, lorsqu'elle est établie, s'effectue presque régulièrement, mais l'on constate que le sang de la fin du prélèvement, dans les derniers 40 mm³, est plus riche en microfilaires que celui prélevé dans les 40 premiers mm³.

Les deux phénomènes sont importants d'une part pour apprécier les données numériques obtenues, d'autre part pour tenter de comprendre la localisation précise de chacune des espèces de microfilaires dans l'appareil vasculaire.

Ils sont donc présentés au début de ce chapitre.

1 — Particularités des prélèvements effectués à la queue

a) Début du prélèvement (tableau XXIII et fig. 9).

Dans l'expérience décrite ici, l'extrémité de la queue du singe est parfaitement saine, car aucun prélèvement n'a encore été effectué à cet endroit.

Les volumes de sang récoltés après piqûre sont successivement de 1,5 ; 0,5 ; 2,5 ; 3 ; 12 (perdus)* ; 10 et 7,5 mm³.

TABLEAU XXIII. — Microfilarémies à la queue ; variations dans les prélèvements successifs faits de 9 h à 9 h 05 exprimés pour 10 mm³ ; données numériques.

$$R_9 \text{ à } R_{12} = \frac{\text{microfilarémie 1}^{\text{er}} \text{ prélèvement}}{\text{microfilarémie 4}^{\text{e}} \text{ prélèvement}}$$

27 juillet 1983 — anesthésie à 9 h.

<i>D. robini</i>	<i>D. gracile</i>	<i>M. (T.) mariae</i>	<i>M. (T.) colombiensis</i>	ordre des prélèvements
320 ± 116	520 ± 116	613 ± 116	106 ± 118	1
180 ± 202	380 ± 201	340 ± 201	100 ± 205	2
128 ± 91	220 ± 90	108 ± 91	36 ± 95	3
50 ± 86	63 ± 85	37 ± 87	30 ± 88	4
102 ± 46	191 ± 45	212 ± 45	80 ± 46	6
65 ± 53	117 ± 52	124 ± 52	46 ± 54	7
$R_9 = 6,4$	$R_{10} = 8,2$	$R_{11} = 16,5$	$R_{12} = 3,5$

FIG. 9. — Microfilarémie à la queue : variations dans les prélèvements successifs faits de 9 h à 9 h 05 ; représentation graphique.

27 juillet 1983 — anesthésie à 9 h.

En abscisse, 1 à 7 = n^{os} des prélèvements ; n^o 5 (double tiret)
= prélèvement perdu.

Les densités microfilariennes successives (ramenées à 10 mm³) montrent que la première goutte, très petite (1,5 mm³), est relativement plus riche en microfilaire que les gouttes suivantes :

Pour *D. robini* (R₉), la microfilarémie est 6,4 fois plus forte dans le 1^{er} prélèvement que dans le 4^e, pour *D. gracile* (R₁₀) 8 fois plus forte, pour *M. (T.) mariae* (R₁₁) 16,5 fois plus forte, et pour *M. (T.) colombiensis* (R₁₂) 3,5 fois plus forte.

Ce phénomène de concentration des microfaires concerne un très faible volume de sang ; il n'est pas discernable et modifie peu la mesure de la microfilarémie lorsqu'on prélève 20 à 30 mm³ de sang.

b) Fin du prélèvement

Dans l'expérience décrite ici, nous prélevons 100 mm³ de sang à l'extrémité de la queue du singe (entre 9 h et 9 h 07).

Nous comparons la microfilarémie des premiers prélèvements (18 mm³) à celle des derniers (46 mm³) (tableau XXIV).

Plusieurs prélèvements de sang ont déjà été effectués la veille à la queue et son extrémité est ici en état de cicatrisation.

TABLEAU XXIV. — Microfilarémie à la queue : variations dans la succession des prélèvements de 9 h à 9 h 07, exprimés pour 10 mm³.

$$R = \frac{\text{microfilarémie derniers prélèvements}}{\text{microfilarémie premiers prélèvements}}$$

28 juillet 1983 — anesthésie à 9 h.

	<i>D. robini</i>	<i>D. gracile</i>	<i>M. (T.) mariae</i>	<i>M. (T.) colombiensis</i>
18 premiers mm ³	53 ± 22	69 ± 21	58 ± 22	32 ± 22
46 derniers mm ³	132 ± 34	147 ± 36	161 ± 34	72 ± 35
R	R ₁₃ = 2,5	R ₁₄ = 2,1	R ₁₅ = 2,8	R ₁₆ = 2,3

La microfilarémie pour chaque espèce est plus forte dans les derniers prélèvements ; l'augmentation varie entre 2,1 et 2,8 fois plus.

2 — Microfilarémie comparée à la queue et à l'oreille pendant un cycle nycthéral

Lors de l'expérience analysant les variations nycthérales de la microfilarémie à l'oreille sans anesthésie (*fig. 7 A et B*) des prélèvements de sang à la queue ont aussi été effectués après chaque ponction à l'oreille*.

Les volumes pris à la queue varient entre 15 et 30 mm³ ; les comparaisons entre les microfilarémies à l'oreille et à la queue sont représentés dans les *figures 10 à 13* et les *tableaux XXV à XXVIII*.

• *D. robini* (*fig. 10, tableau XXV*).

Les variations nycthérales de la microfilarémie dans le sang de la queue sont semblables à celles observées dans celui de l'oreille. Toutefois, les densités microfilariennes à la queue sont plus fortes (1,4 à 2,7 fois plus), sauf dans le premier prélèvement.

TABLEAU XXV. — *D. robini* ; comparaison de la microfilarémie à l'oreille et à la queue pendant le cycle nycthéral.

$$R_{17} = \frac{\text{microfilarémie queue}}{\text{microfilarémie oreille}}$$

30 septembre-1^{er} octobre 1983 — pas d'anesthésie.

Heure	Microfilarémie queue	Microfilarémie oreille	R ₁₇
6 h	151 ± 43	142 ± 12	1,06
9 h	152 ± 33	81 ± 13	1,87
12 h	148 ± 33	54 ± 14	2,74
15 h	282 ± 27	135 ± 12	2,09
18 h	552 ± 30	197 ± 12	2,80
21 h	1 666 ± 30	1 028 ± 11	1,62
0 h	1 738 ± 30	1 093 ± 11	1,59
3 h	910 ± 30	641 ± 11	1,42
6 h	359 ± 31	161 ± 12	2,22

* Les précédents prélèvements à la queue avaient été effectués 5 jours plus tôt.

FIG. 10. — *D. robori* ; comparaison de la microfilariémie à l'oreille et à la queue pendant le cycle nycthéméral.
30 septembre-1^{er} octobre 1983 — pas d'anesthésie.
trait noir = queue ; trait interrompu = oreille.

• *D. gracile* (fig. 11, tableau XXVI).

Comme pour l'espèce précédente, les densités microfilarieuses à la queue suivent la même évolution qu'à l'oreille avec des valeurs plus fortes (1,17 à 2,59 fois plus), sauf dans le premier prélèvement, presque 2 fois plus faible au contraire.

TABLEAU XXVI. — *D. gracile* ; comparaison de la microfilariémie à l'oreille et à la queue pendant le cycle nycthéméral.

$$R_{18} = \frac{\text{microfilariémie queue}}{\text{microfilariémie oreille}}$$

30 septembre-1^{er} octobre 1983 — pas d'anesthésie.

Heure	Microfilariémie queue	Microfilariémie oreille	R ₁₈
6 h	181 ± 43	326 ± 12	0,55
9 h	268 ± 33	224 ± 12	1,19
12 h	263 ± 33	126 ± 12	1,93
15 h	454 ± 27	219 ± 12	2,07
18 h	414 ± 30	160 ± 12	2,59
21 h	414 ± 30	274 ± 11	1,51
0 h	756 ± 30	570 ± 11	1,32
3 h	885 ± 30	752 ± 11	1,17
6 h	873 ± 30	724 ± 11	1,21

FIG. 11. — *D. gracile* ; comparaison de la microfilarémie à l'oreille et à la queue pendant le cycle nycthéméral
30 septembre-1^{er} octobre 1983 — pas d'anesthésie,
trait noir = queue ; trait interrompu = oreille.

TABLEAU XXVII. — *M. (T.) mariae* ; comparaison de la microfilarémie à l'oreille et à la queue pendant le cycle nycthéméral.

$$R_{19} = \frac{\text{microfilarémie queue}}{\text{microfilarémie oreille}}$$

30 septembre-1^{er} octobre 1983 — pas d'anesthésie.

Heure	Microfilarémie queue	Microfilarémie oreille	R_{19}
6 h	65 ± 44	131 ± 12	0,5
9 h	96 ± 33	72 ± 13	1,33
12 h	98 ± 34	32 ± 15	3,06
15 h	196 ± 27	78 ± 78	2,51
18 h	183 ± 31	45 ± 14	4,06
21 h	153 ± 30	106 ± 13	1,44
0 h	209 ± 30	102 ± 13	2,05
3 h	181 ± 30	150 ± 12	1,21
6 h	153 ± 31	70 ± 13	2,18

FIG. 12. — *M. (T.) mariae* ; comparaison de la microfilarémie à l'oreille et à la queue pendant le cycle nycthéral.
30 septembre-1^{er} octobre 1983 — pas d'anesthésie
trait noir = queue ; trait interrompu = oreille.

FIG. 13. — *M. (T.) colombiensis* ; comparaison de la microfilarémie à l'oreille et à la queue pendant le cycle nycthéral.
30 septembre-1^{er} octobre 1983 — pas d'anesthésie,
trait noir = queue ; trait interrompu = oreille.

• *M. (T.) mariae* (fig. 12, tableau XXVII).

Le phénomène de périodicité journalière de la microfilariémie est moins net à la queue qu'à l'oreille. On remarque seulement une période de basse microfilariémie pendant les trois premiers prélèvements, qui sont diurnes (6 h, 9 h et 12 h).

Comme pour *D. robini* et *D. gracile*, la microfilariémie est supérieure à la queue (entre 1,2 et 4 fois plus), sauf dans le premier prélèvement où elle est deux fois moindre.

• *M. (T.) colombiensis* (fig. 13, tableau XXVIII).

Au cours des quatre premiers prélèvements, la microfilariémie augmente régulièrement à la queue pour atteindre une valeur très forte (250). Pendant le même temps, la microfilariémie à l'oreille décroît pour atteindre une valeur très basse (6). A part le premier prélèvement, les densités microfilariennes observées sont plus fortes à la queue, comme pour *D. robini*, *D. gracile* et *M. (T.) mariae*, mais la différence est ici particulièrement importante (3 à 40 fois plus).

TABLEAU XXVIII. — *M. (T.) colombiensis* : comparaison de la microfilariémie à l'oreille et à la queue pendant le cycle nycthémeral.

$$R_{20} = \frac{\text{microfilariémie queue}}{\text{microfilariémie oreille}}$$

30 septembre-1^{er} octobre 1983 — pas d'anesthésie.

Heure	Microfilariémie queue	Microfilariémie oreille	R ₂₀
6 h	69 ± 43	119 ± 26	0,58
9 h	137 ± 33	45 ± 27	3,05
12 h	160 ± 33	22 ± 28	7,27
15 h	241 ± 27	6 ± 35	40,16
18 h	140 ± 30	19 ± 29	7,37
21 h	124 ± 30	21 ± 28	5,9
0 h	127 ± 30	25 ± 28	5,08
3 h	96 ± 30	13 ± 30	7,38
6 h	77 ± 32	3 ± 42	25,66