DÉVELOPPEMENT DE LA FILAIRE *MONANEMA MARTINI* DANS L'ÉPIDERME DES TIQUES IXODIDAE¹

G. PETIT*, O. BAIN*, C. CARRAT**, F. DE MARVAL***

RÉSUMÉ. Analyse morphologique et histologique du développement larvaire de la Filaire à microfilaires « dermiques » *Monanema martini* chez les larves hexapodes de *Rhipicephalus sanguineus*, *R. turanicus* et *Hyalomma truncatum*. Les stades infestants de la Filaire apparaissent au moment de la mue larve-nymphé du vecteur (11 jours à 26° C). Le développement s'effectue entièrement dans l'épiderme des tiques, comme celui, semble-t-il, des autres *Monanema*.

Les Ixodidae se révèlent être les vecteurs majeurs des Filaires à microfilaires dermiques de la lignée *Dipetalonema*: *Yatesia*, *Cherylia*, *Cercopithifilaria* et *Monanema*.

Mots-clés : Morphogenèse. Vecteur. Histopathologie. Ixodidae. Filaire. *Monanema*. Microfilaires dermiques.

Development of the Filaria *Monanema martini* in the epidermis of ixodid ticks.

SUMMARY. Morphological and histological analysis of the larval development of *Monanema martini*, a filaria with skin dwelling microfilariae. The vectors are the hexapod larvae of *Rhipicephalus sanguineus*, *R. turanicus* and *H. truncatum*; the filarial infective stages appear during the larval-nymph moult of the vector (11 days at 26° C). This species, and in our opinion the other species of *Monanema*, have a complete development in the epidermis of the ticks.

Hard-ticks (Ixodidae) appear to be the main vectors of filariae with skin-dwelling microfilariae belonging to *Dipetalonema* evolutionary line: *Yatesia*, *Cherylia*, *Cercopithifilaria*, *Monanema*.

Key-words : Morphogenesis. Vector. Histopathology. Ixodidae. Filaria. *Monanema*. Skin-dwelling microfilariae.

Peu de cycles de Filaires sont connus chez les tiques Ixodidae et aucun, semble-t-il, n'est entretenu de façon assez routinière pour se prêter aisément à l'analyse des relations Filaires-tiques.

1. Ce travail a pu être effectué grâce à une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé et au contrat T. S. D. 380 F accordé par la Commission des Communautés Européennes.

Les observations ultrastructurales ont été effectuées au Centre d'Accueil de Microscopie électronique (Université P. et M. Curie, C. N. R. S.).

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

** Station de Recherches de Virologie et Immunologie, INRA, route de Thiverval, F 78850 Thiverval Grignon.

*** Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel, 11, rue Émile-Argand, CH-2000 Neuchâtel 7.

Accepté le 17 juillet 1987.

Monanema martini Bain et coll., 1986, Filaire à microfilaires « dermiques », qui entraîne chez le rongeur-hôte des lésions semblables à celles de l'onchocercose (Vuong Ngoc et coll., 1986), constitue un bon matériel expérimental.

Elle est transmise par diverses larves hexapodes d'Ixodidae d'élevage, avec un taux de parasitisme suffisamment élevé pour permettre l'analyse morphologique et histologique de son développement.

I — Expérimentation

Trois espèces d'Ixodidae sont utilisées : *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1804 (souche de Montpellier) ; *R. turanicus* Pomeranov et Matikashvili, 1940 (= *R. secundus* Feldman-Muhsam, 1952 ; souche d'Israël) ; *Hyalomma truncatum* Koch, 1844 (souche de Dakar).

Les repas de sang des larves hexapodes sont effectués sur des *Lemniscomys striatus* L. infestés expérimentalement, ayant environ 150 microfilaires par snip*. Le gorgement dure 1 à 2 jours pour les Rhipicéphales et 2 à 5 jours pour *H. truncatum*. Pour les 3 espèces, le jour 0 correspond à l'attachement des tiques sur le Rongeur (et non au jour de récolte).

Le développement de *M. martini* est analysé à frais, en histologie classique (fixation au Carnoy) et en ultrastructure (voir Petit et Spitalier-Kaveh, 1979, pour la fixation).

Les temps de fixation sont le jour 4 pour *R. sanguineus*, les jours 2, 3, 4 et 8 pour *R. turanicus* et les périodes 2-5 jours et 6-9 jours pour *H. truncatum*.

Dans chaque lot, quelques tiques sont sans microfilaire ni larve ; elles sont utilisées comme témoin.

Les tiques parasitées ont de 1 à 12 larves en développement.

II — Observations à frais ; morphogenèse de *M. martini*

La *figure 1* indique l'évolution de la microfilaire jusqu'à la fin du stade II ; le stade infestant a été décrit précédemment (Bain et coll., 1985a ; Bain et Chabaud, 1986).

A 26° C, la mue 1 s'effectue le 7^e jour ; au 8^e jour, la cuticule se décolle aux deux extrémités du corps ; l'exuviation complète de la mue 2 s'effectue le 11^e jour. La tique est alors au stade nymphal ou en cours d'exuviation.

Dimensions :

— Jeune larve au stade 1 ($R_1 \times 2$) : corps long de 230 μm et large de 15 μm ; noyau excréteur à 55 μm de l'apex ; queue longue de 55 μm .

* Le « snip » est un fragment de l'oreille prélevé à l'ourlet avec une pince Walser-Touffie de 2 mm de diamètre.

FIG. 1. — Morphogenèse larvaire de *M. martini* chez *R. sanguineus*.

A à C : stade 1 âgé respectivement de 4, 5 et 6 jours ; D : mue 1, vue ventrale ; E : jeune stade 2, vue latéro-ventrale ; F : stade 2 âgé en début de mue 2 ; G et H : exuviation de la mue 2 chez une larve femelle ; I : stade 2 dans l'enveloppe tissulaire d'origine épidermique, contenant 2 gros noyaux (I, éch. 30 μm ; le reste, éch. 50 μm).

— Larve en mue 1 : corps long de 280 μm et large de 18 μm ; anneau nerveux et pore excréteur à 30 et 60 μm de l'apex ; œsophage long de 105 μm ; queue du stade 1 longue de 65 μm et du stade 2 longue de 40 μm .

— Larve femelle, à l'exuviation de la mue 2 : corps long de 760 μm et large de 20 μm ; anneau nerveux et pore excréteur à 55 et 100 μm de l'apex ; œsophage long de 180 μm (portion musculaire longue de 80 μm) ; rectum et queue longs respectivement de 60 et 52 μm ; ébauche génitale à 135 μm de l'apex.

Les larves de *M. martini* sont en général libérées à la dissection ; quelques-unes cependant ont été observées *in situ* : les larves I jeunes sont appliquées à la face interne du tégument de la tique et allongées en arc de cercle. Plus tard (à partir des 6^e-7^e jours) la cuticule de la tique se détache du reste du corps lors de la dissection et les larves des Filaires restent avec le bourgeon nymphal ; chaque larve est repliée dans un sac à paroi très mince, contenant un groupe de quelques gros noyaux vésiculeux ; parfois 2 larves sont ensemble.

Les Filaires mélanisées sont exceptionnelles et n'ont été trouvées que chez *R. sanguineus*. C'est également chez cette espèce que, deux fois, une microfilaire a été trouvée allongée et bloquée dans la lumière d'un conduit salivaire.

III — Analyse histologique et ultrastructurale ; localisation de *M. martini* chez la tique et description du tissu parasité

1 — LOCALISATION DE *M. martini*

Tous les organes des larves hexapodes ont été observés : cæca digestifs ; tubes de Malpighi, aux très nombreuses sections ; cerveau ; glandes salivaires, petites à ce stade ; tissu adipeux, formant des îlots peu nombreux, à grandes mailles, aux angles desquelles se trouvent les noyaux et une frange de cytoplasme ; muscles ; épiderme et ses divers types de glandes annexes* (Balashov, 1968, et Lagutenko, 1969) ; cellules sanguines.

Chez les 3 espèces de tiques, les faits observés sont semblables.

Mis à part les microfilaires restées dans la lumière des cæca digestifs, les sections de Filaires s'observent dans l'épiderme, sous l'épiderme, et quelquefois au niveau des glandes épidermiques.

Une analyse plus précise montre que les très jeunes larves, ayant encore l'aspect de microfilaires ou déjà un peu épaissies, sont constamment intra-épidermiques (*fig. 2 A*). Les larves âgées, représentées par de nombreuses sections, sont essentiellement sous-épidermiques ; une fine paroi les sépare de l'hémocèle (*fig. 2 B*). Entre ces deux stades extrêmes, il existe des larves qui ont une partie du corps nettement dans l'épiderme et l'autre sous l'épiderme, dans un tissu clair, finement grenu.

* Chez la larve hexapode, les glandes de type I sont les plus fréquentes.

FIG. 2. — *Monanema martini* chez *H. truncatum*.

A : jeune stade 1 dans l'épiderme (2 sections) ; en bas, une cellule de glande dermique et son pore (2-5 jours) ; B : un stade 2 âgé, en position sous-épidermique (5 sections), avec un des noyaux volumineux du syncytium épidermique (6-9 jours) ; C : jeune stade 2 au contact d'une glande dermique (6-9 jours) ; D : 2 stades 1 de 2-5 jours dans l'épiderme ; la larve de droite est presque entière sur la coupe et entoure un massif nucléaire composite ; E : syncytium parasité étiré sous l'épiderme, avec 3 noyaux hypertrophiés (6-9 jours, coupe semi-fine) (éch. : 1 barre = 10 μ m). Les sections de Filaires sont indiquées par des flèches.

Les quelques sections de Filaires observées au niveau des glandes dermiques sont toujours situées à la partie supérieure de la glande, près de la cuticule ; les 2 noyaux de la glande paire, ainsi que son cytoplasme, ne sont pas modifiés (*fig. 2 C*). En outre, dans tous les cas observés, le corps de la Filaire se poursuit sur les coupes voisines dans l'épiderme proprement dit.

2 — ASPECT DU TISSU PARASITÉ

a) Tissu parasité par les larves I jeunes :

— En coupe superficielle intéressant l'épiderme, les jeunes larves de *M. martini* se présentent courbées en arc de cercle (*fig. 2 D*). Un massif nucléaire est situé dans la concavité ; sa structure est difficile à analyser, mais il semble constitué de plusieurs noyaux appliqués les uns contre les autres. La chromatine est réticulée ou en mottes.

Contre la face convexe de la larve, quelques cellules épidermiques sont étirées. Le reste de l'épiderme avoisinant est normal et offre, comme chez les témoins, l'aspect d'un pavage cellulaire ; les noyaux sont gros avec une chromatine réticulée, ou en mottes, ou montrant des images de division.

— En coupe transversale, une larve jeune est en général représentée par deux sections ; au niveau où ces deux sections se rapprochent, le massif nucléaire, décrit ci-dessus, est présent. Près d'une de ces larves, le massif nucléaire apparaît clairement constitué par 7 noyaux, groupés et assez volumineux.

b) Tissu parasité par les larves I âgées et II : près des larves plus âgées, on observe de gros noyaux vésiculeux, atteignant 20 μ m de diamètre (*fig. 2 E*). Dans les cas où la larve peut être suivie sur des coupes parfaitement sériées, on dénombre plusieurs noyaux de ce type, ayant chacun 1 nucléole volumineux, parfois 2, exceptionnellement 4.

En ultrastructure, la chromatine nucléaire apparaît dispersée ; le cytoplasme parasité est très riche en corps de Golgi et en ribosomes (polysomes) ; il contraste avec celui de l'épiderme sain, riche en ergastoplasme (*fig. 3*).

IV — Interprétation

1) La microfilaire, très mobile, engendre la formation d'un syncytium épidermique ; jusqu'à 7 noyaux ont été dénombrés.

2) En même temps que croît la Filaire, le syncytium devient volumineux et fait saillie dans l'hémocèle ; il réalise une véritable galle appliquée sous le tissu épidermique sain avoisinant.

3) Dans le syncytium nouvellement formé, les noyaux sont identiques à ceux des cellules saines avec une chromatine réticulée ou en mottes ; mais, dans le syncytium âgé, les noyaux ont fortement augmenté de volume et ils sont vésicu-

FIG. 3. — *Monanema martini* chez *H. truncatum*.

A : ultrastructure du tissu épidermique parasité (P) et sain (S) ; en bas à gauche, coupe semi-fine montrant la région étudiée (6-9 jours) ;
 B : même région ; cytoplasme sain (S) avec ergastoplasme et parasité (P) avec polysomes et corps de Golgi (éch. : 1 barre = 1 μ m).

leux ; ils contiennent parfois 2 nucléoles, exceptionnellement 4 (endomitose ?) ; aucune image de mitose n'a été vue.

Bien que quelques sections de Filaires s'observent au niveau des glandes épidermiques, elles ne paraissent pas s'y développer : les glandes ne sont pas modifiées et le corps de ces Filaires s'étend en grande partie dans le tissu épidermique avoisinant.

Discussion

Neuf des dix espèces de Filaires transmises par Ixodidae appartiennent à des genres de la lignée *Dipetalonema*, qui ont des microfilaires dermiques : *Yatesia* Bain et coll., 1982, *Cherylia* Bain et coll., 1985b, *Cercopithifilaria* (Éberhard, 1980) et *Monanema* Anteson, 1968. L'espèce qui fait exception, par ses microfilaires sanguines, *Acanthocheilonema dracunculoides* (Cobbold, 1870), ne se développe pas que chez les tiques ; elle se développe aussi chez les hippobosques (Nelson, 1963).

Pour *Cherylia* et *Cercopithifilaria*, les organes où se développent les Filaires ne sont pas précisés. Pour *Y. hydrochoeri*, unique espèce du genre, le développement s'effectue dans les muscles (Yates et Lowrie, 1984).

Dans le genre *Monanema*, trois espèces ont été analysées :

— *M. marmotae* (Webster, 1967) : selon Ko (1972), les microfilaires pénètrent dans l'épiderme et le tissu adipeux, mais ne se développent que dans ce deuxième tissu.

— *M. globulosa* (Muller et Nelson, 1975) : selon Bianco et Muller (1977), le début du développement s'effectue dans l'épiderme et s'achève dans le tissu adipeux.

— *M. martini* : le développement complet s'effectue dans l'épiderme. La microfilarie le transforme localement en un syncytium dont les noyaux deviennent gros et vésiculeux ; son cytoplasme prend un aspect spongieux ; considérablement agrandi par la Filaire, il fait saillie dans l'hémocèle et s'applique contre l'épiderme, comprimé par les cæca digestifs.

Les faits observés chez *M. martini* amènent à interpréter différemment les cycles des 2 autres *Monanema* ; les microfilaires, non seulement entrent dans l'épiderme comme l'ont indiqué les auteurs, mais s'y développent complètement et le « tissu adipeux » est, en réalité, le syncytium épidermique parasité, devenu méconnaissable. La figure 7, donnée par Ko, du tissu contenant un stade II, ne diffère pas de ce que nous avons observé ; la migration de stades 1 évolués de l'épiderme vers le tissu adipeux, envisagée par Bianco et coll., correspond en fait à la croissance du syncytium épidermique parasité qui le fait saillir dans l'hémocèle.

Mis à part ce fait fondamental — le développement intra-épidermique de *Monanema* chez les Ixodidae — deux remarques peuvent être faites sur *M. martini* :

1) Le cycle est très rapide (11 jours, à 26° C), alors que, habituellement, il est lent chez les Ixodidae (une vingtaine de jours au minimum).

M. globulosa, l'espèce la plus proche de *M. martini* et parasite de Muridés africains, est la seule qui ait également un développement rapide. Ce caractère évolué (Chabaud, 1954) s'accorde bien avec la morphologie très spécialisée des adultes et des larves infestantes de ces deux espèces.

2) La morphogenèse de *M. martini*, dans l'ensemble identique à celle des autres Filaires, présente une particularité : le massif ganglionnaire qui est appendu à la cellule excrétrice et qui, habituellement, est de petite taille et formé de 4-5 cellules, prend ici un développement particulier (environ 10 cellules ; *fig. 1*). La signification de ce caractère, de même que le rôle du massif ganglionnaire, n'est pas élucidée.

Conclusion

L'analyse du développement de *M. martini* et la comparaison avec les cycles proches font apparaître deux notions :

1) Les Filaires transmises par Ixodidae sont fondamentalement des espèces à microfilaires « dermiques » de la lignée *Dipetalonema* ; elles appartiennent à 4 genres : *Yatesia*, *Cherylia*, *Cercopithifilaria* et *Monanema*.

2) Le développement larvaire complet dans l'épiderme des tiques, signalé pour la première fois chez *M. martini*, semble être un caractère commun aux *Monanema*.

REMERCIEMENTS. — Nous tenons à exprimer notre reconnaissance aux collègues qui nous ont fait parvenir des tiques et nous ont fait part de leur expérience sur ce groupe : Mmes Feldman-Muhsam et G. Lanotte ; MM. A. Gueye, D. Jarry, P. Morel et A. Stauffer.

BIBLIOGRAPHIE

- ANTESON R. K. : Biological studies of *Monanema marmotae* (Webster, 1967), a filarioid parasite of the woodchuck *Marmota monax canadensis*. Ph. D. thesis, Univ. Connecticut, 1986 (ouvrage non consulté).
- BAIN O., BAKER M., CHABAUD A. G. : Nouvelles données sur la lignée *Dipetalonema* (Filarioidea, Nematoda). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1982, 57, 593-620.
- BAIN O., PETIT G., GUEYE A. : Transmission expérimentale de *Monanema nilotica* El Bihari et coll., 1977, Filaire à microfilaires dermiques parasite de Muridés africains. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1985a, 60, 83-89.
- BAIN O., PETIT G., JACQUET-VIALLET P., HOUIN R. : *Cherylia guyanensis* n. gen., n. sp., Filaire d'un marsupial sud-américain, transmise par Tique. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1985b, 60, 727-737.
- BAIN O., BARTLETT C., PETIT G. : Une filaire de Muridés africains dans la paroi du côlon, *Monanema martini* n. sp. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1986, 61, 465-472.
- BAIN O., CHABAUD A. G. : Atlas des larves infestantes de Filaires. *Trop. Med. Parasitol.*, 1986, 37, suppl., 301-340.
- BALASHOV Y. S. : Blood sucking Ticks (Ixodoidea). Vectors of Diseases of Man and Animals. Leningrad: Nauka. 319 pp (Trans. O. G. Strekalovsky in *Misc. Publ. Entomol. Soc. Am.*, 1968, 8, 159-376).
- BIANCO A. E., MULLER R. L. : A hard tick as vector of a new rodent filaria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1977, 71, 383.
- CHABAUD A. G. : Sur le cycle évolutif des Spirurides et des Nématodes ayant une biologie comparable. Valeur systématique des caractères biologiques. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1954, 29, 42-88, 206-249, 358-425.

- EBERHARD M. L. : *Dipetalonema (Cercopithifilaria) kenyensis* subgen. et sp. n. (Nematoda: Filarioidea) from African Baboons, *Papio anubis*. *J. Parasitol.*, 1978, 66, 551-554.
- KO R. C. : The transmission of *Ackertia marmotae* Webster, 1967 (Nematoda: Onchocercidae) of groundhogs (*Marmota monax*) by *Ixodes cookei*. *Canad. J. Zool.*, 1972, 50, 437-450.
- LAGUTENKO Y. P. : On morphology and topography of dermal sensory organs in Ixodid Ticks. I. *Hyalomma asiaticum* (en russe, résumé anglais). *Zool. Zhurnal*, 1969, 48, 74-84.
- MULLER R. L., NELSON G. S. : *Ackertia globulosa* sp. n. (Nematoda: Filarioidea) from rodents in Kenya. *J. Parasitol.*, 1975, 61, 606-609.
- NELSON G. S. : *Dipetalonema dracunculoides* (Cobbold, 1870) from the dog in Kenya; with a note on its development in the louse, *Hippobosca longipennis*. *J. Helminthol.*, 1963, 37, 235-240.
- PETIT G., SPITALIER-KAVEH H. : La Filaire *Dipetalonema dessetae* chez *Aedes aegypti*; étude du tissu adipeux parasité. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1979, 54, 81-92.
- VUONG NGOC PH., BAIN O., PETIT G., CHABAUD A. G. : Étude anatomo-pathologique des lésions cutanées et oculaires de Rongeurs infestés par *Monanema* spp. Intérêt pour l'étude de l'Onchocercose humaine. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1986, 61, 311-320.
- WEBSTER W. A. : *Ackertia marmotae* n. sp. (Filarioidea: Onchocercinae) from the groundhog (*Marmota monax*). *Canad. J. Zool.*, 1967, 45, 277-283.
- YATES J. A., LOWRIE R. C. Jr : Development of *Yatesia hydrochoerus* (Nematoda: Filarioidea) to the infective stage in ixodid ticks. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, 1984, 51, 187-190.