

ORGANISATION DE COORDINATION ET
DE COOPERATION POUR LA LUTTE
CONTRE LES GRANDES ENDEMIES
(O. C. C. G. E.)

=====

OFFICE DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE
OUTRE-MER
(O. R. S. T. O. M.)

=====

Mission Entomologique de l'O.R.S.T.O.M. auprès de l'O.C.C.G.E.

INSTITUT DE RECHERCHES SUR L'ONCHOCERCOSE

=====

MERMITHIDAE PARASITES DE SIMULIES

1. Morphologie et techniques d'études (*)

par

Bernard MONDET

N° 5/ONCHO/RAP/79

(*) *Ce travail a bénéficié de l'assistance financière du C.R.D.I. (Centre de Recherches pour le Développement International, Ottawa, Canada) dans le cadre d'une convention de recherche passée entre cet organisme et l'O.C.C.G.E. (Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies, Bobo-Dioulasso, Haute-Volta).*

JUIL. 1979

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° 28534

Cpte 7

B

MORPHOLOGIE DES MERMITHIDAE

TECHNIQUES D'ETUDE D'UN FOYER DE PARASITISME PAR MERMITHIDAE

I. Recherche des stades parasites chez les larves et les nymphes de simulies.

- I.1. Récolte
- I.2. Dissection et détermination
- I.3. Localisation des stades parasites

II. Recherche des stades parasites chez les adultes de simulies.

II.1. Capture de femelles de *S. damnosum* sur appât humain

- II.1.1. Méthode de capture
- II.1.2. Dissection
- II.1.3. Localisation des stades parasites "

II.2. Capture des adultes de simulies sur plaque aluminium.

- II.2.1. Technique d'utilisation
- II.2.2. Récolte des adultes et détermination
- II.2.3. Récolte des Mermithidae

III. Recherche des stades libres.

- III.1. Dans la dérive des rivières
- III.2. Dans le sable du lit de la rivière
- III.3. Au piège lumineux

IV. Détermination des espèces de Mermithidae.

IV.1. Récolte des post-parasites.

- IV.1.1. A partir des larves de simulies
- IV.1.2. A partir des femelles de *S. damnosum*
- IV.1.3. A partir des simulies des plaques d'aluminium

IV.2. Elevage des Mermithidae.

V. Techniques de fixation.

- V.1. Stades parasites
- V.2. Stades libres

VI. Techniques de montage.

VII. Techniques spéciales pour la description de nouvelles espèces.

BIBLIOGRAPHIE

MORPHOLOGIE DES MERMITHIDAE

Nématodes parasites d'Invertébrés, les Mermithidae se caractérisent par un appareil digestif constitué d'un tube oesophagien cuticulaire clos (fig. 5, 6) ne s'étendant que sur le tiers ou la moitié du corps, d'un trophosome (fig. 1 à 4), organe de réserves, fermé, sans communication directe avec le tube oesophagien. L'absence de tout système musculaire lié au système digestif indique que la prise de nourriture s'effectue à travers la cuticule. Les adultes ne se nourrissent pas et les réserves sont utilisées pour la maturation des produits sexuels.

Stades parasites

Les stades parasites possèdent très peu de caractères morphologiques faciles à utiliser pour une détermination spécifique. La forme et la taille de l'appendice caudal (fig. 10 à 13) sont les deux caractères utilisés pour une détermination rapide. Pour une identification certaine, il est indispensable de se baser sur les caractères morphologiques des stades adultes.

Stades adultes

Les stades adultes seuls possèdent les caractères nécessaires à l'identification certaine de l'espèce qui est basée :

chez les adultes

- sur la taille et la forme des amphides, organes sensoriels, paires (fig. 17, 18, 19, 22)
- sur le nombre de cordes longitudinales (6 ou 8 chez les parasites de simulies) (fig. 15 et 16).

chez le mâle

- sur le nombre (1 ou 2) des spicules, leur taille (rapportée au diamètre du corps à l'ouverture génitale) (fig. 30, 32).
- sur le nombre et la disposition des papilles génitales (extrémité postérieure du mâle en vue ventrale) (fig. 29).

chez la femelle

- sur la forme du vagin (en "tonneau", en "S") (fig. 27, 28).

Au niveau de la tête on trouve six groupes de papilles céphaliques symétriquement disposées autour de l'ouverture buccale qui peut être plus ou moins, ou pas du tout, déplacée vers la face ventrale (caractère que l'on retrouve au niveau des stades parasites) (fig. 17 à 23). Tous les Mermithidae possèdent une glande excrétrice, située ventralement, qui semble plus ou moins rudimentaire (fig. 24, 25, 26).

Les Mermithidae connus parasites de simulies en Afrique de l'ouest appartiennent à trois genres différents : *Gastromermis*, *Mesomermis*, *Isomermis*. Les espèces connues sont : *G. leberrei*, *G. philipponi*, *M. acaudata*, *I. lairdi* (Mondet et al., 1977a, 1977b, 1979).

Les adultes sont libres et vivent dans le sable humide du lit des rivières. Des oeufs (où a lieu la première mue) sortent des pré-parasites (fig. 1 à 3) qui possèdent un stylet facilitant la pénétration à travers la cuticule des larves de simulies. Ils subissent une seconde mue (perte du stylet et éventuellement d'une partie de l'appendice caudal) (fig.3) et prennent la forme d'un croissant (fig. 4). Leur évolution les amène au stade parasite, caractérisé par un rapport longueur/largeur très élevé (souvent supérieur à 100 à la fin du développement). Immédiatement après la sortie de leurs hôtes, les post-parasites subissent deux mues simultanées perdant leur appendice caudal et devenant adultes.

TECHNIQUES D'ETUDE D'UN FOYER DE PARASITISME PAR MERMITHIDAE

I. Recherche des stades parasites chez les larves et les nymphes de simulies.

I.1. Récolte

Les larves et les nymphes de simulies récoltées avec leurs supports sont fixées à l'alcool à 80° (pour éviter l'obtention d'un alcool d'un degré trop faible suite à l'apport inévitable d'eau au moment de la récolte).

Pour des recherches d'histologie, on utilise les fixateurs tels que le liquide de Carnoy ou le Bouin alcoolique (Langeron, 1949). On peut alors assécher les larves sur papier buvard avant la fixation.

Il faut récolter un maximum d'échantillons en amont, à l'intérieur et en aval des gîtes larvaires, la répartition des larves parasitées étant très variable d'un gîte à l'autre et sur le gîte même.

La conservation des larves fixées à l'alcool semble illimitée.

I.2. Dissection et détermination

Les larves et les nymphes sont disséquées plus aisément dans de l'eau additionnée d'un peu d'alcool et de glycérine (cf. VI) sous loupe binoculaire. Ce mélange servira de milieu de montage temporaire pour la mesure des parasites et le dessin de leur caractère morphologique principal (appendice caudal).

Lorsque l'on rencontre différentes espèces parasites, il convient de les rapporter aux espèces de simulies.

Le pourcentage d'infestation d'un gîte larvaire est difficile à établir et varie selon la valeur de l'échantillonnage effectué.

I.3. Localisation des stades parasites

Le jeune parasite se rencontre au niveau de la capsule céphalique. Il mesure environ 250-300 μm et peut se loger parfois à l'intérieur même de la mandibule. Il est cependant, la plupart du temps, dans la cavité générale, au niveau des muscles et se repère assez facilement par différence de réfringence. En raison de l'augmentation de sa taille, le parasite migre ensuite, toujours dans la cavité générale, au niveau de l'abdomen. A la fin de son développement il est visible par transparence à travers la cuticule et peut déformer l'abdomen de la larve.

Chez la nymphe la dissection est indispensable pour la recherche des parasites qui sont toujours de petite taille.

La détermination du sexe du parasite peut se faire vers la fin du développement en se basant sur la présence des ébauches génitales, à l'extrémité postérieure chez le mâle, vers le milieu du corps chez la femelle. A un stade de développement plus précoce on se base sur le fait que le trophosome n'atteint pas l'extrémité postérieure du corps du mâle. contrairement à ce qui se passe chez la femelle (fig. 7, 8, 9). Chez les très jeunes stades la détermination du sexe n'est pas possible.

II. Recherche des stades parasites chez les adultes de simulies.

II.1. Capture de femelles de *Simulium damnosum* sur appât humain.

II.1.1. Méthode de capture

La capture des femelles sur appât humain est la technique pour échantillonner les femelles venant prendre leur repas de sang. Capturées avant de piquer, elles sont conservées vivantes dans des tubes à hémolyse bouchés par du coton hydrophile et maintenues à l'humidité et à l'obscurité. Cette technique est celle utilisée depuis toujours pour les recherches sur l'épidémiologie de l'onchocercose.

II.1.2. Dissection

Les femelles sont disséquées, après les avoir endormies à l'éther ou au chloroforme, sous la loupe binoculaire, dans du liquide physiologique (Ringer) à 1,0%. Tête, thorax et abdomen sont disséqués séparément pour la recherche simultanée des différents stades d'*Onchocerca volvulus*.

II.1.3. Localisation des stades parasites

Elle est la même que chez les stades larvaires de simulies. On notera, comme pour l'étude du parasitisme larvaire, la présence d'un ou plusieurs parasites, on estimera en outre la quantité de graisse présente dans l'abdomen de la femelle ainsi que l'état des ovaires.

II.2. Capture des adultes de simulies sur plaque aluminium.

II.2.1. Technique d'utilisation (Bellec, 1976)

Ce piège est constitué d'une simple plaque carrée en aluminium d'un mètre de côté. Disposée au niveau amont des gîtes larvaires il attire les adultes et les retient grâce à une fine couche de glue (Tween 20) qui le recouvre.

II.2.2. Récolte des adultes et détermination

Les simulies, récoltées au pinceau toutes les heures pour éviter une dessiccation trop importante, sont plongées soit dans l'alcool soit dans l'eau (pour une récolte éventuelle des parasites vivants).

Le tri s'effectue à la loupe binoculaire. On sépare *S. damnosum* des autres espèces, les mâles des femelles, et, parmi celles-ci, les gravides des néonates.

II.2.3. Récolte des Mermithidae

La dissection des adultes néonates permet de noter la présence de stades parasites provenant du gîte larvaire. Une partie des femelles considérées comme gravides peut être parasitée par des Mermithidae arrivés au dernier stade de leur développement. Ceux-ci peuvent souvent s'observer sans dissection.

III. Recherche des stades libres.

III.1. Dans la dérive des rivières

On peut utiliser un filet à maille fine (filet à zooplancton) pour étudier la présence de Mermithidae dans la dérive. Cette technique n'est cependant que rarement utilisée, le nombre des particules végétales retenues dans le filet est en général très important et les Mermithidae rares. On obtient le plus souvent des larves de simuliés parasitées dérivantes et cette technique sera utilisée essentiellement pour une comparaison des pourcentages de parasitisme entre les larves fixées sur les substrats et les larves dérivantes.

III.2. Dans le sable du lit de la rivière

Le sable situé sous les gîtes larvaires, ou directement en aval, recèle presque inmanquablement des Mermithidae, que la rivière coule ou ne coule pas. Le sable récolté à la main est déposé dans un récipient (10 litres). Il est ensuite transposé par faible quantité (200 cc environ) dans 5 litres d'eau. Mis en suspension, il est lavé plusieurs fois et le surnageant est filtré. Le filtrat obtenu est observé à la loupe bino-culaire. Les Mermithidae récoltés à la pipette sont classés selon leur couleur (et/ou leur taille) et isolés dans de petits récipients contenant de l'eau filtrée.

III.3. Au piège lumineux

Parallèlement à la recherche des stades libres de Mermithidae dans le sable il convient de réaliser des pièges lumineux pour rechercher les adultes parasités des insectes à larves aquatiques. Le piège est installé à proximité immédiate du gîte larvaire une demi-heure avant le coucher du soleil et fonctionne durant deux heures. Le piège est constitué par une lampe à gaz placée entre deux bacs contenant de l'eau et un tensio-actif (non toxique), "mouillant" retenant les insectes. Les Mermithidae émergent des insectes dès leur contact avec l'eau. Par comparaison avec les exemplaires récoltés dans le sable, on peut éliminer comme n'étant pas parasites de simulies tous ceux obtenus au piège lumineux (qui n'attire pas les simulies).

IV. Détermination des espèces de Mermithidae.

IV.1. Récolte des post-parasites.

IV.1.1. A partir des larves de simulies

Les larves de simulies sont récoltées avec leurs substrats, placées dans des sacs en matière plastique, sans eau, et conservées au froid (4°C) dans une glacière lors du transport du gîte au laboratoire. On évitera le contact direct des larves avec la glace. Les larves conservées de cette manière restent vivantes durant plusieurs heures. Elles sont ensuite transférées dans des bacs contenant de l'eau et un ou plusieurs aérateurs. L'utilisation d'agitateurs magnétiques est à éviter car ils risquent d'endommager les Mermithidae libres dans l'eau.

Les stades libres, parfaitement visibles sur fond noir avec un éclairage incident, sont recueillis à la pipette tous les jours dans le fond du bac jusqu'à disparition des larves de simulies. Les substrats sont également observés à la loupe binoculaire.

IV.1.2. A partir des femelles de *S. damnosum*

La capture des femelles est toujours effectuée sur appât humain mais après le repas de sang (sur un homme volontaire) puis mises en survie dans des tubes en matière plastique, bouchés par du coton imbibé d'une solution de sucre (2 g. de sucre dans un demi-litre d'eau). Elles sont maintenues ainsi à l'obscurité et à l'humidité pendant trois jours au cours desquels on les nourrit quotidiennement.

On groupe les femelles par 50 au bout de trois jours, dans une cage obscure, de un mètre cube, contenant plusieurs boîtes de Pétri en verre, remplies d'eau, d'où émerge un morceau de papier filtre. On retrouve les pontes des femelles saines sur le papier filtre et les post-parasites dans l'eau de la boîte.

Cette technique n'est que rarement utilisée car longue et peu productive. La mortalité des femelles est toujours importante et le nombre de post-parasites faible.

IV.1.3. A partir des simulies des plaques aluminium.

Quoique n'ayant jamais été utilisée dans ce but, on peut envisager cette technique de piégeage pour la récolte de Mermithidae libres post-parasites sortis naturellement des simulies. La récolte pourrait s'effectuer au pinceau et les vers seraient déposés dans une grande quantité d'eau pour diluer au maximum la glue.

IV.2. Elevage des Mermithidae

Les post-parasites, examinés soigneusement à la loupe binoculaire pour éliminer les moribonds, sont rassemblés dans des boîtes de Pétri de 5 cm de diamètre contenant du sable tamisé (grains de 50 à 500 μ m) et stérilisé dans de l'eau bouillante. De l'eau est ajoutée (filtrée

ou distillée) de façon à recouvrir le sable. On dépose entre 1 et 5 couples par boîte. Le sable et l'eau sont changés quotidiennement les cinq premiers jours. Les Mermithidae moribonds, qui restent en général à la surface du sable, sont retirés. Une fois que les Mermithidae, s'étant enfouis, ont réussi à se débarrasser de leurs dernières cuticules, la mortalité est beaucoup plus réduite et l'eau n'est changée que quand on observe une trop grande population de bactéries ou de Ciliés.

V. Technique de fixation.

V.1. Stades parasites.

En disséquant les larves ou les adultes de simulies fraîchement endormies au chloroforme on tue les parasites à l'eau physiologique chaude puis on les fixe durant 3 à 5 jours dans du "TAF" : 9,7 ml de formol, 2 ml de triéthanolamine, 91 ml d'eau distillée (Poinar, 1975).

V.2. Stades libres.

Ils sont toujours fixés au liquide de Kale durant trois à cinq jours : 17 ml d'alcool à 95°, 6 ml de formol à 40%, 2 ml d'acide acétique et 28 ml d'eau distillée (in Rubstov, 1966).

VI. Technique de montage.

Les vers, fixés, sont plongés dans le mélange suivant : 1 part glycérine, 3 parts alcool à 95° et 6 parts eau distillée. Laissés 48 heures à la température du laboratoire (23°C) ils sont ensuite placés durant au moins quatre jours dans une étuve à 30°C où se poursuit l'évaporation de l'alcool et de l'eau.

La coloration des Mermithidae est inutile.

Le montage définitif s'effectue dans de la glycérine pure (anhydre) entre lame et lamelle, en déposant des éclats de lamelle pour éviter l'écrasement des exemplaires. Le lut utilisé est celui mis au point par Rondeau du Noyer (in Langeron 1949) : 20 g. de lanoline anhydre mélangés à chaud à 80 g. de colophane. Il est solide à froid.

VII. Techniques spéciales pour la description de nouvelles espèces (S' Jacob, 1975).

La description de nouvelles espèces nécessite observation, en vue apicale, de l'extrémité antérieure (fig. 20, 21, 23), en vue ventrale de l'extrémité postérieure du mâle (fig. 29) et d'une coupe transversale du corps (fig. 15 et 16).

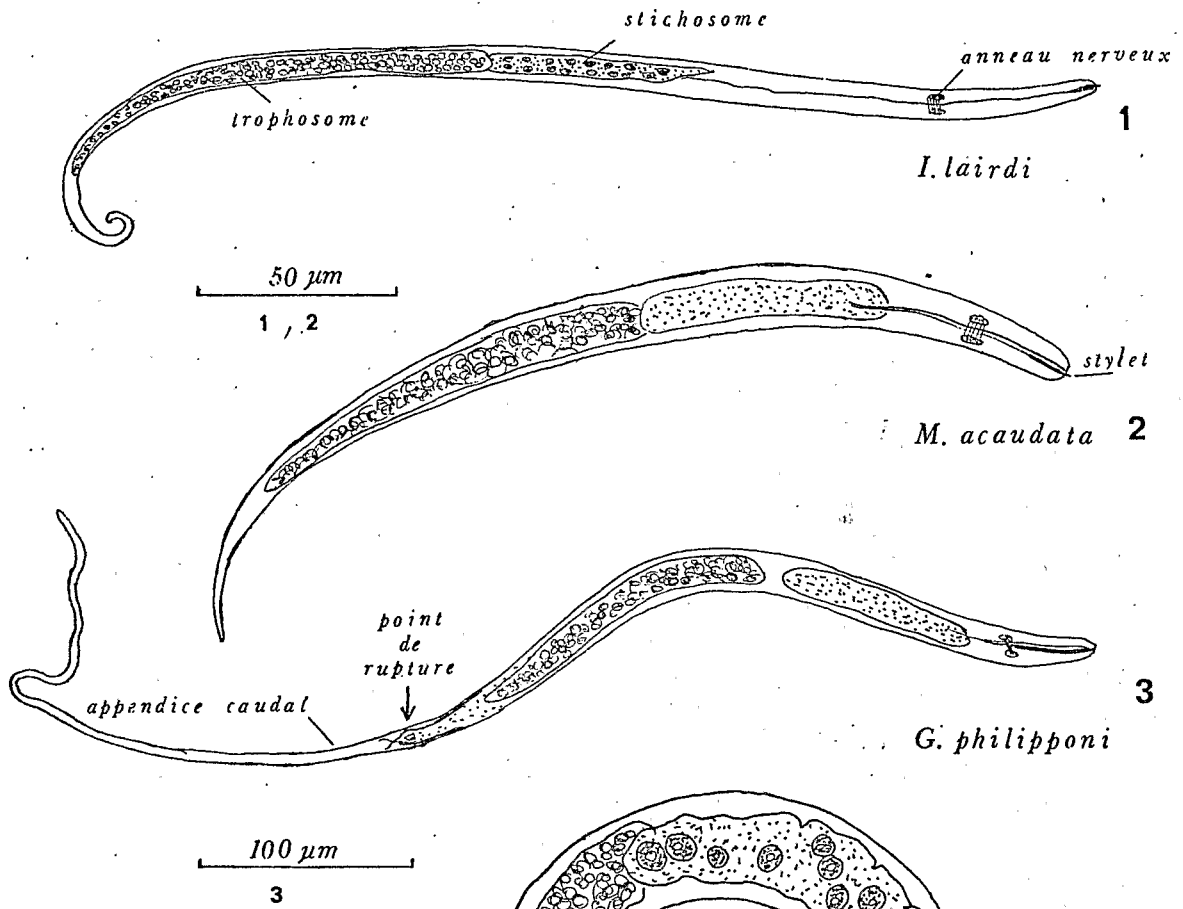
Les coupes s'effectuent dans une goutte de glycérine pure sur une lamelle en matière plastique (pour obtenir des coupes franches) avec un scalpel de chirurgien. Les parties à observer sont posées sur une lame dans une goutte de glycérine gélatinée préalablement fondue sur une plaque chauffante. La glycérine gélatinée en se solidifiant conservera aux parties observées l'orientation donnée par l'expérimentateur. On peut observer la lame au microscope sans la recouvrir d'une lamelle, même à l'objectif à immersion. Si l'on désire conserver la lame il faut la recouvrir d'une lamelle en déposant une goutte de glycérine ou d'huile à immersion avant le lutage définitif.

La glycérine gélatinée s'obtient de la façon suivante : 1 partie de gélatine trempée deux heures dans 6 parties d'eau auxquelles on ajoute 7 parties de glycérine. On homogénéise à chaud en ajoutant 1 g. de phénol pour 100 g. de mélange (S' Jacob op. cit.).

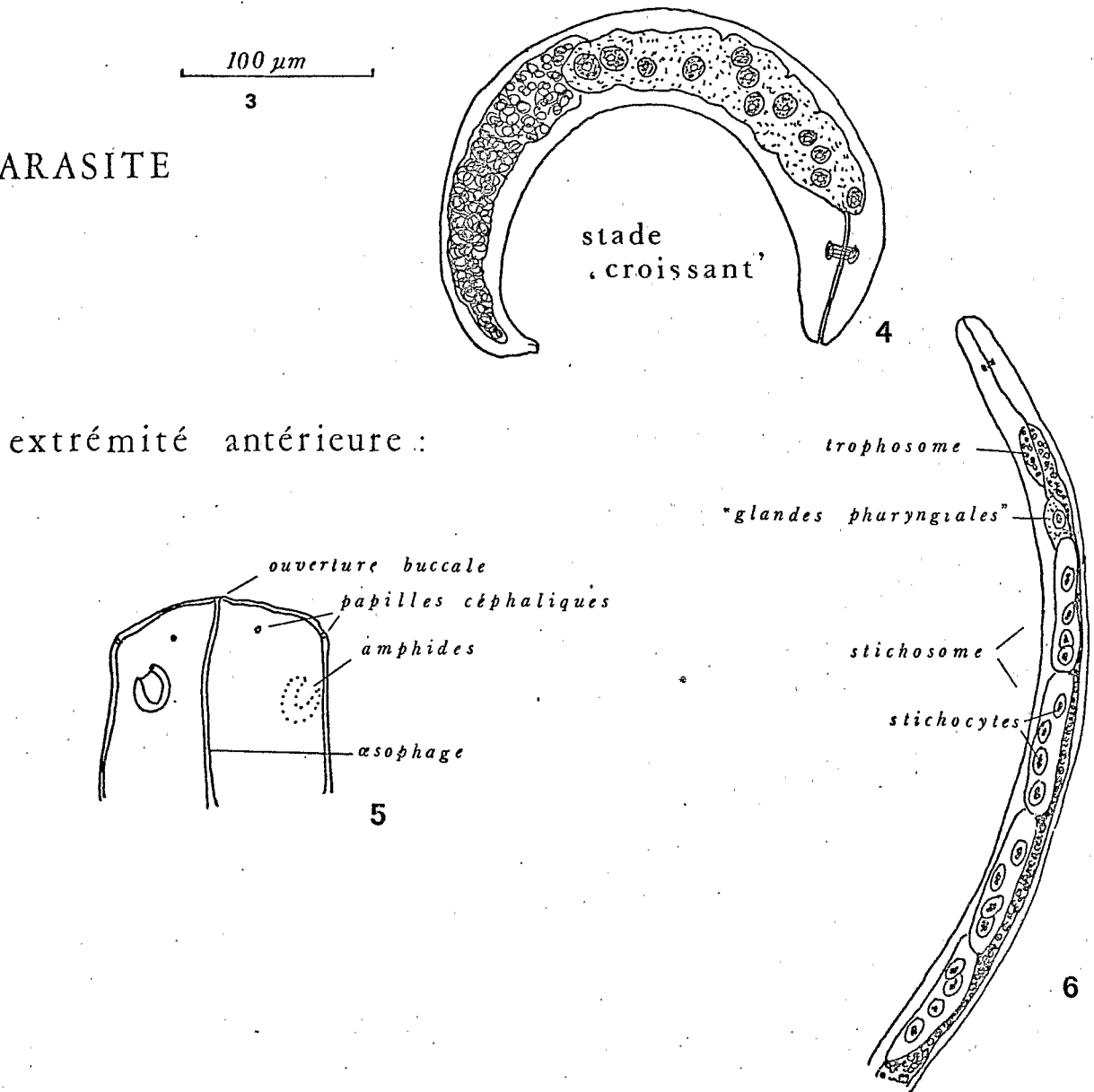
B I B L I O G R A P H I E

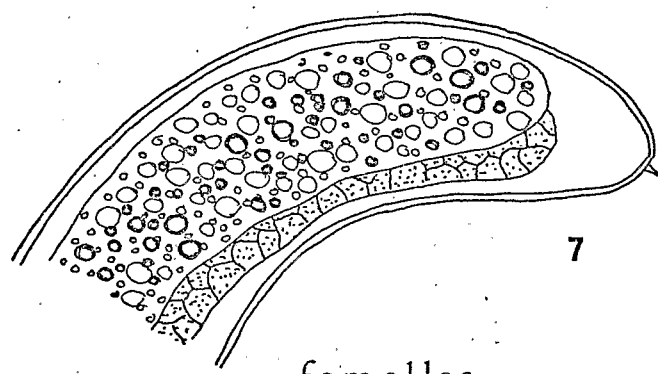
- BELLEÇ, C., 1976 - Capture d'adultes de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae) à l'aide de plaques d'aluminium, en Afrique de l'ouest. Cah. O.R.S.T.O.M. sér. Ent. méd. et Parasitol., 14 (3) : 209-217.
- LANGERON, M., 1949 - Précis de microscopie. Masson et Cie., Editeurs. Paris. 1430 pp.
- MONDET, B., G.O. POINAR, Jr., et J. BERNADOU 1977a - Etude du parasitisme des simulies (Diptera, Simuliidae) par des Mermithidae (Nematoda) en Afrique de l'ouest. II. Description de deux nouvelles espèces de *Gastromermis*. Can. J. Zool., 55 (8): 1275-1283.
- 1977b - IV. Description de *Isomermis lairdi*, n.sp., parasite de *Simulium damnosum*. Can. J. Zool., 55 (12) : 2011-2017.
- MONDET, B., et G.O. POINAR Jr., 1979 - V. Description de *Mesomermis acaudata* n.sp., Can. J. Zool., à paraître.
- POINAR, G.O. Jr., 1975 - Entomogenous nematodes. Leiden. E.J.B. Zill Ed. 317 pp.
- RUBTSOV, I.A., 1966 - (Contribution à l'étude de l'ontogenèse des Mermis parasites de diptères suceurs de sang). Trudy gelmintolog. laboratorii, 27: 128-156.
- S'JACOB, J.J. and J.V. BEZOOIJEN, 1975 - A manual for practical work in nematology. Doc. ronéotypé. 65 pp. Agricultural University, Wageningen - Pays-Bas.
-

PREPARASITE



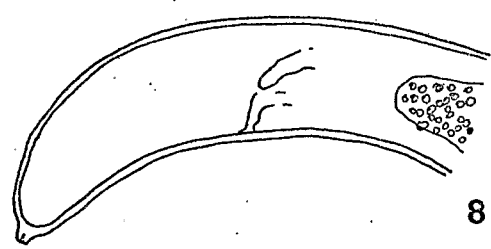
PARASITE



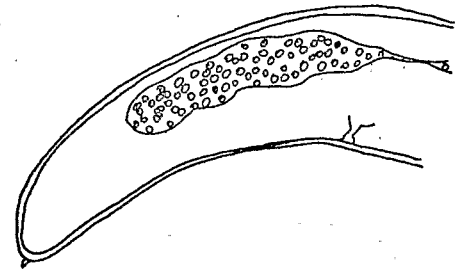


7

femelles



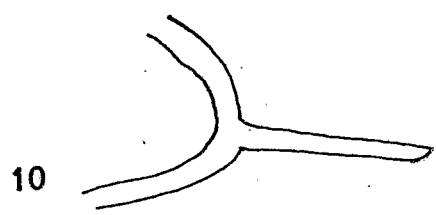
8



9

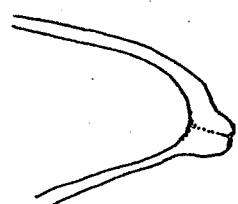
mâles

Appendices caudaux:



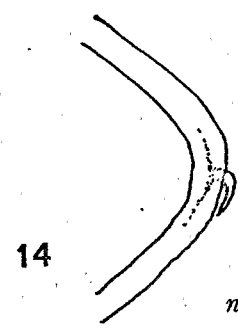
10

Gastromermis leberrei



11

G. philipponi



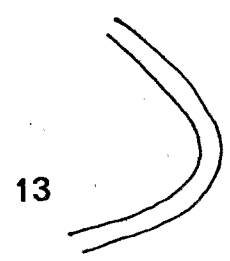
14

n. sp.



12

Isomermis lairdi

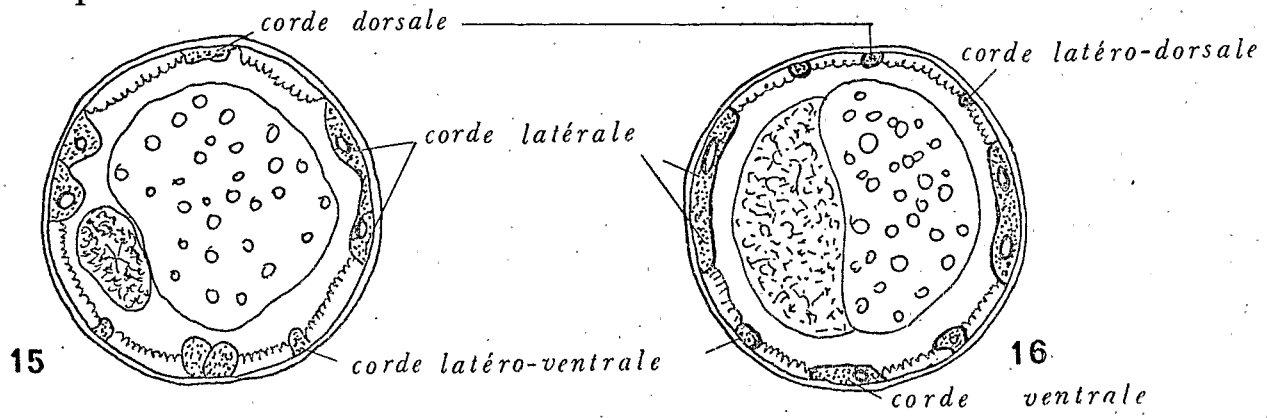


13

Mesomermis acaudata

50 µm

coupe transversale



15

16

corde dorsale

corde latéro-dorsale

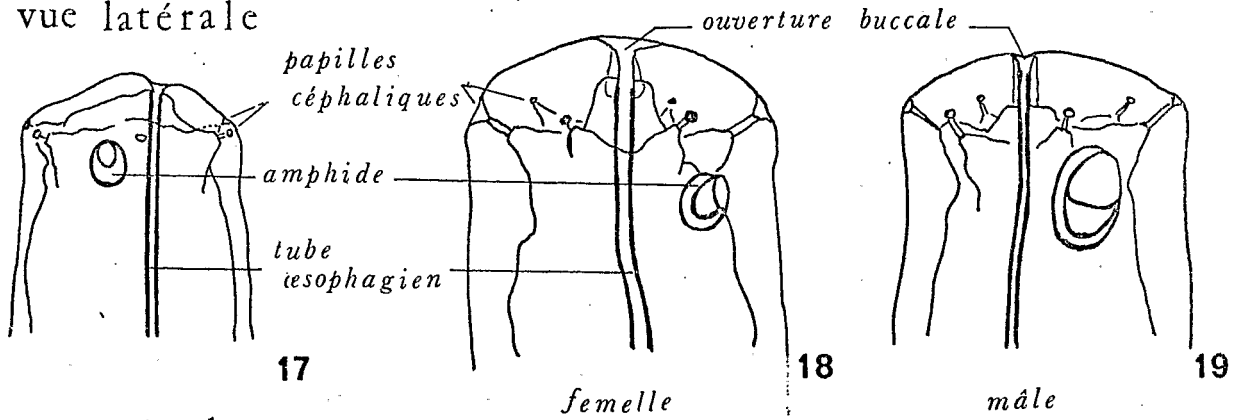
corde latérale

corde latéro-ventrale

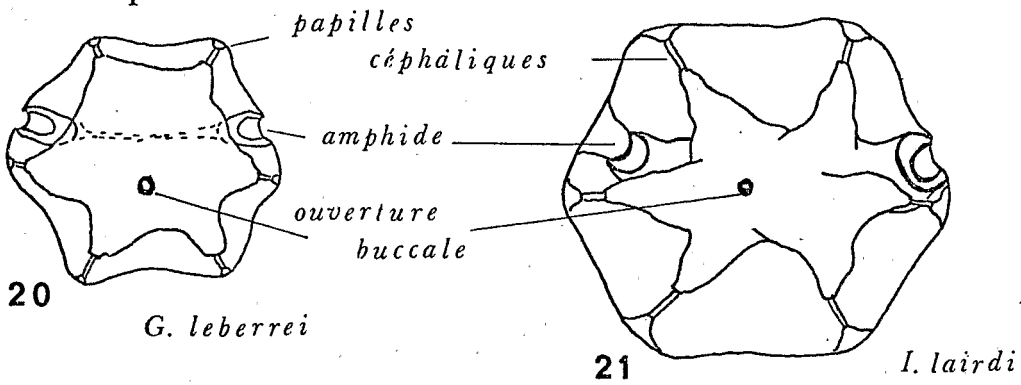
corde ventrale

extrémité antérieure:

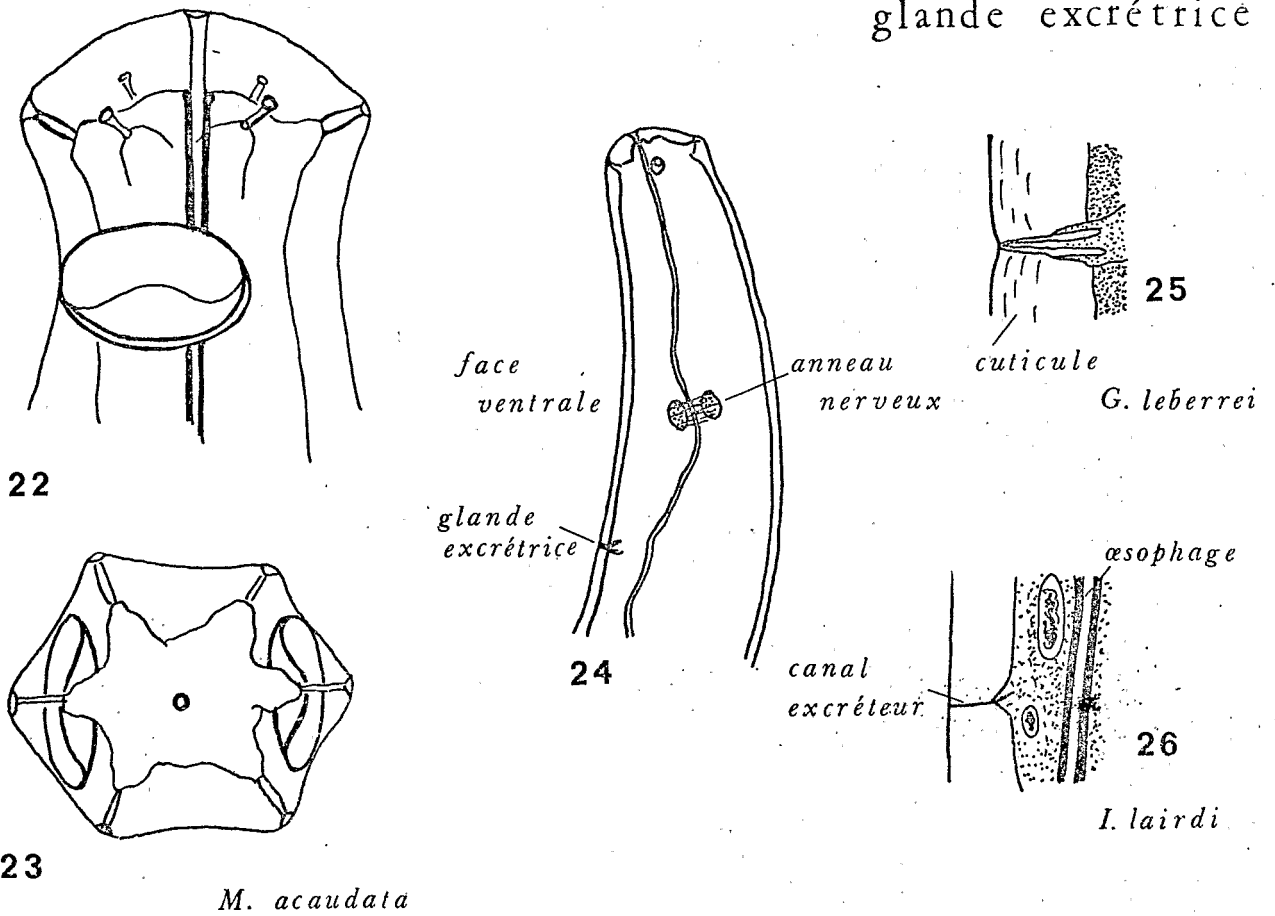
vue latérale



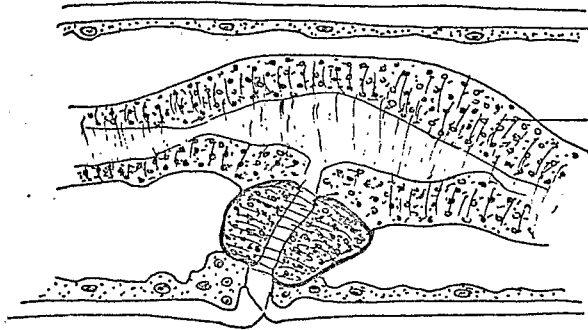
vue apicale



glande excrétrice

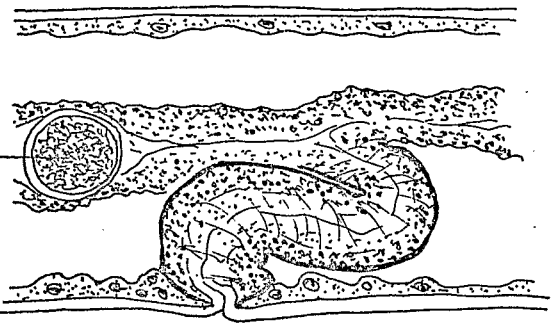


femelles



27

vagin en "tonneau"

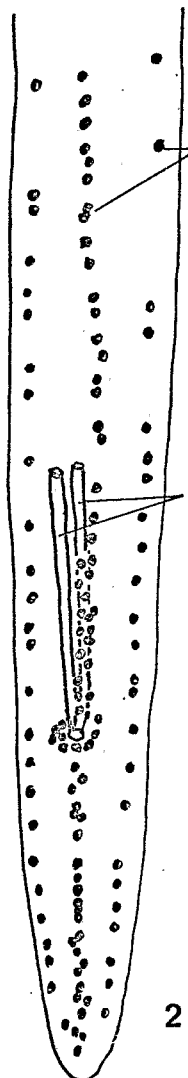


28

vagin en "S"

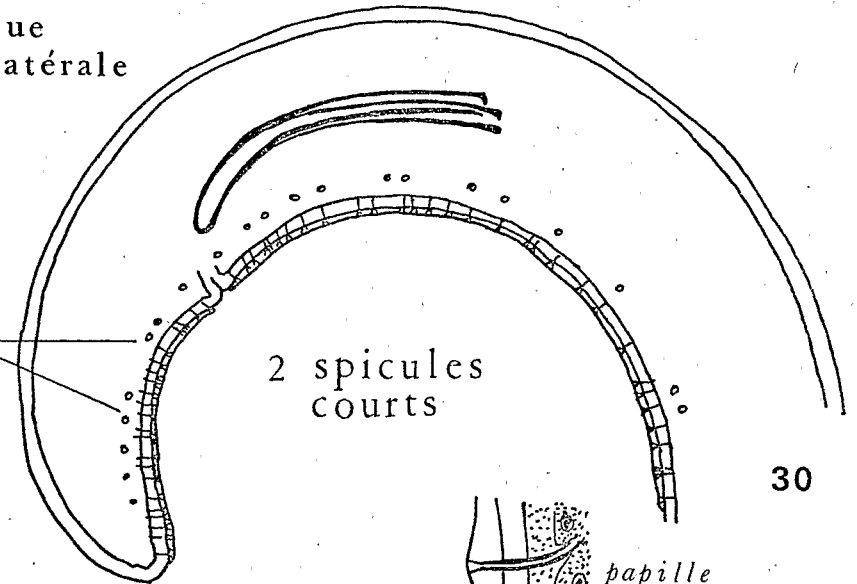
mâles

vue ventrale



29

vue latérale



30

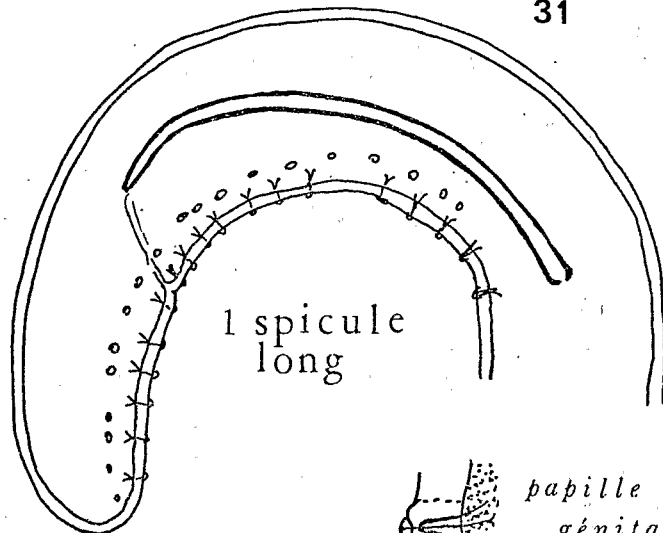
papilles génitales

2 spicules courts

spicules

papille génitale

31



32

1 spicule long

papille génitale

33