
Répartition et évolution saisonnière des infections microsporidiennes chez des larves de moustiques de la Région de Dakar (Sénégal)

Karamoko DIARRA et Bhen Sikina TOGUEBAYE

Laboratoire de Parasitologie, Département de Biologie Animale,
Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal.

Introduction

Au cours de prospections menées dans la Région de Dakar (Sénégal), des microsporidies ont été isolées chez différentes espèces de moustiques (Diptera, Culicidae). Les microsporidies sont des Protozoaires parasites intracellulaires obligatoires. Leur détermination est basée sur l'ultrastructure

des différents stades de développement (Hazard et Oldacre, 1975; Sprague, 1977, 1982; Weiser, 1977; Issi, 1986; Larsson, 1986; Canning, 1990). Dans un précédent travail (Diarra, 1990; Diarra & Toguebaye, 1991, 1992, 1994, 1997), nous avons déjà décrit ces espèces en microscopie électronique à transmission. Dans ce présent travail, nous étudions la distribution spatiale et l'évolution saisonnière des microsporidies décrites.

Matériel et méthode

52 gîtes ont été prospectés au cours de notre étude, de 1998 à 1999 (Tableau 1 et Fig. 1). Certains l'ont été systématiquement tous les mois alors que d'autres ne l'ont été que très partiellement. Pour récolter et étudier les moustiques et leurs parasites, nous avons utilisé plusieurs techniques.

1) Récolte et détermination des moustiques

L'emploi du filet troubleau constitue le procédé le plus simple et le plus rapide pour récolter les larves de moustique.

Les larves et nymphes de moustiques en surface sont recueillies soit à vue soit en fouillant dans les

débris végétaux. Elles sont ensuite aspirées à la pipette et mises dans des tubes ou des flacons. Une fois prélevées, les larves sont ramenées au laboratoire où une partie est mise dans du Lactophénol en vue d'une détermination et l'autre examinée pour la recherche des microsporidies parasites. Pour l'identification, on monte les larves entre lame et lamelle après avoir coupé l'abdomen à la jonction du 6ème et 7ème segment afin de voir de profil les 8ème et 9ème segment. Les préparations sont ensuite gardées dans du baume du Canada après éclaircissement à la potasse.

La détermination des moustiques se fait à la loupe et au microscope photonique. Les objectifs suivants sont en général utilisés: 10, 20, 40, et un 100 à immersion à l'huile, ainsi que deux jeux d'oculaires (x 8 et x 12,5). Un micromètre oculaire et un micromètre objectif sont utilisés pour étalonner les objectifs et faire les mensurations.

Tableau 1 : Répartition des larves de moustiques dans les gîtes prospectés

Légende : ++ : abondants

GÎTES	MOUSTIQUES								
	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Culex decens</i>	<i>Culex striatipes</i>	<i>Culex thelassius</i>	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	<i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>Ficobia splendens</i>	
1		+							
2		++	+				++		
3				+					+
4	++	+	++					++	
5	+								
6		++					++		
7		++	++					+	
8								+	
9		+						+	
10		+							
11								+	
12		+							
13		++							
14					++		++		
15						+		++	
16						+		++	
17						+		++	
18		+						+	
19		+	+						
20		+							
21		+	+					++	
22						+			
23								++	
24	+							+	
25								++	
26		+						++	
27								+	
28	+		+					++	
29	+							++	
30		+						++	
31	+		+					++	
32	+							++	
33						+		++	
34								++	
35		+						++	
36								++	
37								++	
38								++	
39						+		++	
40								+	
41	+								
42								++	
43		+						++	
44		++						++	
45								+	
46		+						++	
47		+	+					+	
48						+		++	
49						+		++	
50	+					+		+	
51							++		
52							+		

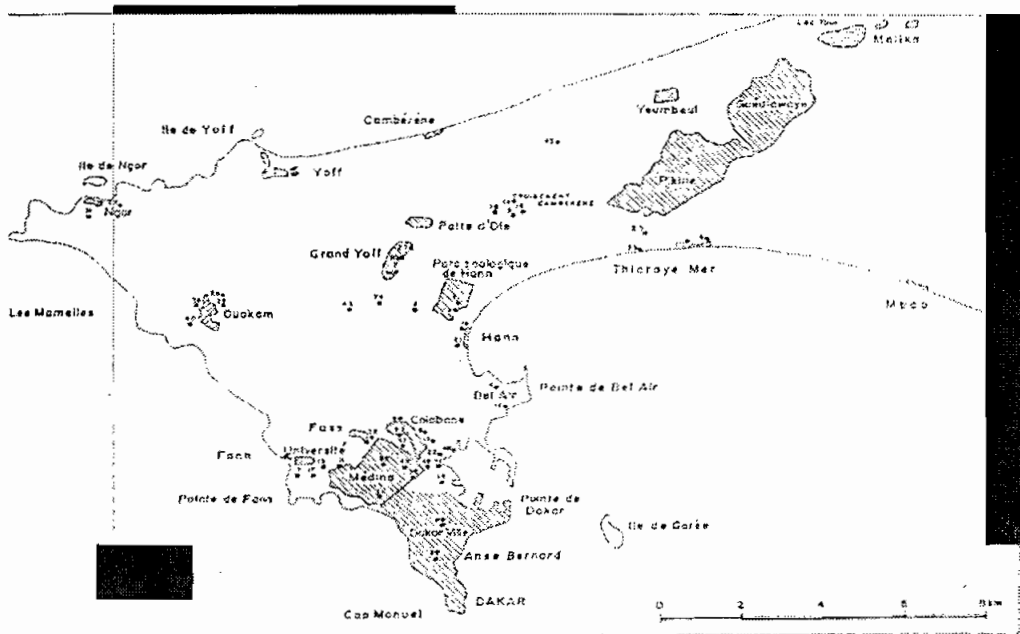


Figure 1: Localisation des gîtes prospectés dans Dakar-ville et sa banlieue

2) Recherche des microsporidies parasites des moustiques

Cette méthodologie a déjà été décrite dans des travaux ultérieurs (Diarra, 1990; Diarra & Toguebaye, 1991, 1992, 1997).

Prélèvement et mise en évidence des microsporidies

La recherche des microsporidies s'est faite par dissection des larves vivantes. Des frottis frais ont été réalisés et observés au microscope photonique à l'objectif x 40. Les spores de microsporidies apparaissent réfringentes. Elles ont été mesurées à l'aide d'un micromètre oculaire.

Techniques histologiques et cytologiques

a) Etude en microscopie photonique des microsporidies

Pour mettre en évidence les stades de développement des microsporidies, nous avons utilisé le coffret RAL qui permet une coloration rapide. La lame séchée à l'air libre est passée dans trois solutions différentes :

- Solution I : méthanol contenant de l'hexaméthylène pararosaniline pendant 1 mn, puis rinçage ;
- Solution II : 0,08 g d'éosine en solution aqueuse tamponnée à pH 7 pendant 1 mn 30, puis rinçage ;
- Solution III : 0,12 g de bleu de méthylène en solution aqueuse tamponnée à pH 7 pendant 2 mn, puis rinçage.

Après le 3ème rinçage, la préparation est séchée puis observée.

b) Etude en microscopie électronique à transmission des microsporidies

Des fragments de tissus parasités sont fixés 1h par le glutaraldéhyde à 2,5 % dans le tampon de cacodylate de sodium 0,1 M à pH 7,2 puis 1h par le tétraxide d'osmium 1% dans le même tampon. Ils sont ensuite déshydratés par l'éthanol et l'oxyde

de propylène, avant d'être inclus dans l'Epon. Les coupes sont ensuite réalisées à l'ultramicrotome Porter Blum MT1, puis contrastées à l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Elles sont ensuite observées aux microscopes électroniques Siemens Elmiskop 101 et Jeol 100 CX II.

3) Analyse des résultats

Pour chaque gîte, le nombre des espèces de moustiques et leurs microsporidies sont répertoriés.

La fréquence de distribution ($F=100N/52$) est également estimée et notée pour chaque parasite et chaque hôte. Elle nous a permis de distinguer les espèces largement distribuées des espèces très localisées. N= nombre de gîtes colonisés par les moustiques; 52= nombre de gîtes prospectés.

Pour l'étude de l'évolution saisonnière des microsporidies, deux gîtes sont retenus: les gîtes n°1 et n°2.

Résultats

a) Répartition des larves de moustiques dans les gîtes prospectés

Le tableau 1 donne la répartition des moustiques dans les différents gîtes de la Région de Dakar.

L'analyse de la fréquence de répartition des espèces de moustiques dans les gîtes (Fig. 2, Tableau 1) montre que 75 % des gîtes prospectés hébergent *Culex quinquefasciatus*. Le complexe *Anopheles gambiae* a été trouvé dans 40 % des gîtes. Bien qu'il soit très rare de trouver *Anopheles gambiae* dans des eaux usées, ce moustique a été isolé à Bel-Air (Gîte n°12) dans des eaux très sales hébergeant également *Culex quinquefasciatus* et *Culex tigripes*. *Culex tigripes* a été trouvé dans 35 % des gîtes. Il cohabite très souvent avec *Culex quinquefasciatus* puisqu'ils ont en commun 34 % des gîtes. *Culex decens* a été trouvé dans 15 % des gîtes associé à *Culex quinquefasciatus* (lorsque l'eau du gîte n'est pas très sale). Dans les gîtes n° 24 et n° 49, nous avons trouvé *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus*. Enfin *Culex tritaeniorhynchus* et *Culex striatipes* occupent respectivement 10 % et 2 % des gîtes prospectés. *Culex quinquefasciatus* et *Aedes aegypti* occupent souvent des gîtes

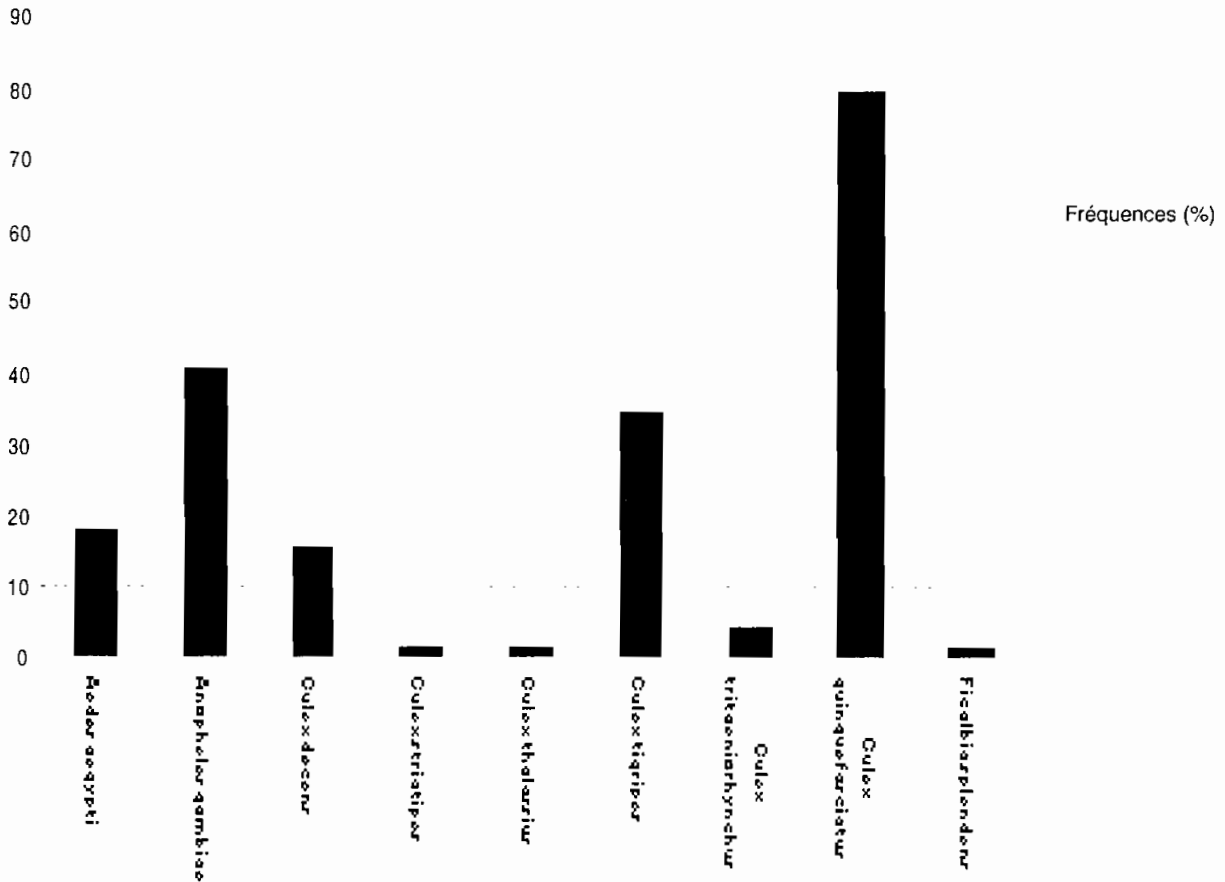


Figure 2 : Fréquences de la distribution des espèces de moustiques (Nov. 1993 à oct. 1999)

moins stables (canaux à ciel ouvert, plans d'eaux temporaires, récipients).

b) Répartition des microsporidies par gîte

Huit espèces de microsporidies ont été rencontrées chez des moustiques de la Région de Dakar. Le tableau 2 montre que ces microsporidies sont faiblement représentées. Seulement 15 % (8/52) des gîtes prospectés ont été trouvés positifs.

A l'intérieur d'un gîte, le nombre d'espèces trouvées est variable. Certains gîtes (n° 1, n° 4, n° 21, n° 50) n'ont hébergé qu'une seule espèce, d'autres deux espèces (n° 2, n° 14, n° 16) tandis que le gîte n° 17 a hébergé 3 espèces. Excepté *Vavraia culicis* (qui a été trouvé dans 3 hôtes différents à l'intérieur du gîte n° 2), toutes les espèces trouvées ne parasitent qu'un seul hôte.

L'analyse de la fréquence de la répartition des espèces de microsporidies (Fig. 3) dans les gîtes montre que celles appartenant au genre *Amblyospora* sont les plus largement distribuées dans la Région dakaroise. En effet, sur 52 gîtes prospectés, 8 hébergent des *Amblyospora* alors que *Vavraia culicis*, *Microsporidium sp1* et *Microsporidium sp2* ne colonisent chacun qu'un seul gîte (Tableau 2).

Par ailleurs, la répartition de ces microsporidies n'est pas liée à la distribution géographique de leur hôte (Tableaux 1 et 2). Par exemple, *Amblyospora culicis* n'a été trouvée que dans 3 gîtes alors qu'elle parasite un moustique (*Culex quinquefasciatus*) largement distribué dans la Région de Dakar (75 % des gîtes). C'est aussi le cas des autres espèces de microsporidies trouvées.

Tableau 2 : Répartition des Microsporidies par gîte

n° des gîtes	Microsporidies	Moustiques
1	<i>Amblyospora tritaeniorhynchi</i>	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>
2	<i>Vavraia culicis</i>	<i>Culex decens</i>
		<i>Culex striatipes</i>
		<i>Anopheles gambiae</i>
	<i>Amblyospora</i> sp	<i>Culex tigripes</i>
4	<i>Amblyospora culicis</i>	<i>Culex quinquefasciatus</i>
14	<i>Amblyospora dakarensis</i>	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>
	<i>Microsporidium</i> sp1	
16	<i>Amblyospora culicis</i>	<i>Culex quinquefasciatus</i>
	<i>Amblyospora</i> sp	<i>Culex tigripes</i>
17	<i>Amblyospora culicis</i>	<i>Culex quinquefasciatus</i>
	<i>Amblyospora</i> sp	<i>Culex tigripes</i>
	<i>Microsporidium</i> sp2	
21	<i>Amblyospora senegalensis</i>	<i>Culex thalassius</i>
50	<i>Amblyospora tritaeniorhynchi</i>	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>

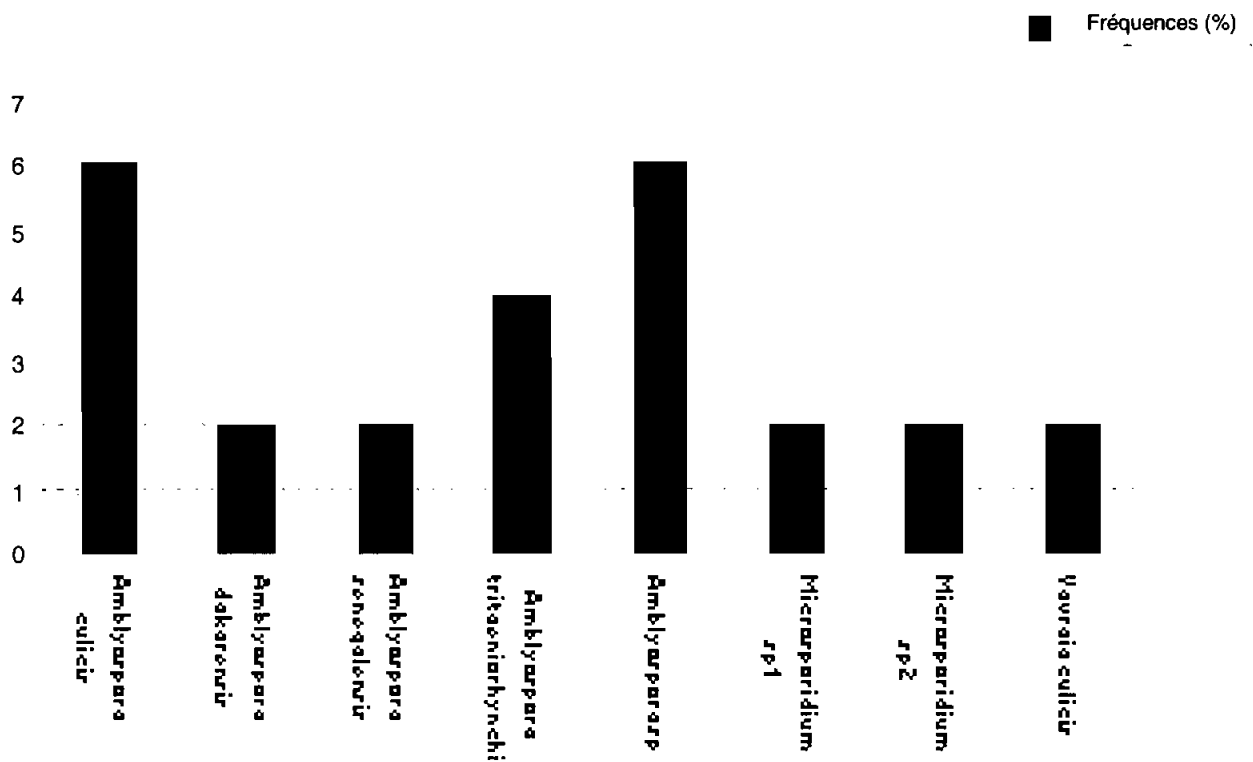


Figure 3 : Fréquences de la distribution des espèces de microsporidies (Nov. 1998 à oct. 1999)

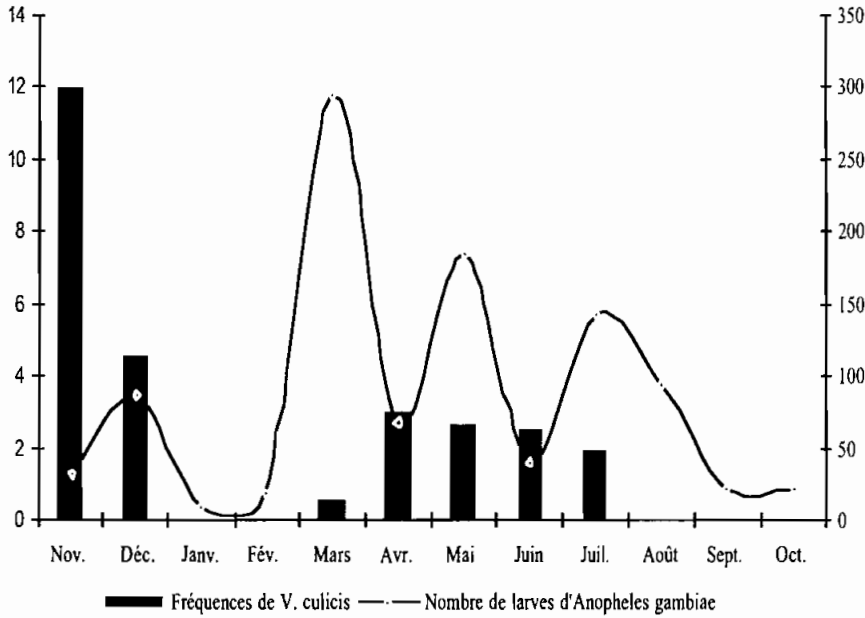


Figure 4 : Evolutions comparées de *Vavraia cykucus* et d'*Anopheles gambiae* dans le gîte n° 2 (Nov. 1998 à octobre 1999)

c) Évolution saisonnière de *Vavraia culicis* chez les larves d'*Anopheles gambiae*

présente toute l'année dans le gîte n°2. La microsporidie y a été trouvée pendant 6 mois (De novembre à décembre 1998 puis d'avril à juillet 1999) avec un taux moyen de parasitisme de 4 %.

Vavraia culicis (Fig. 4) infecte de façon irrégulière et très faiblement *Anopheles gambiae* s. l. qui est

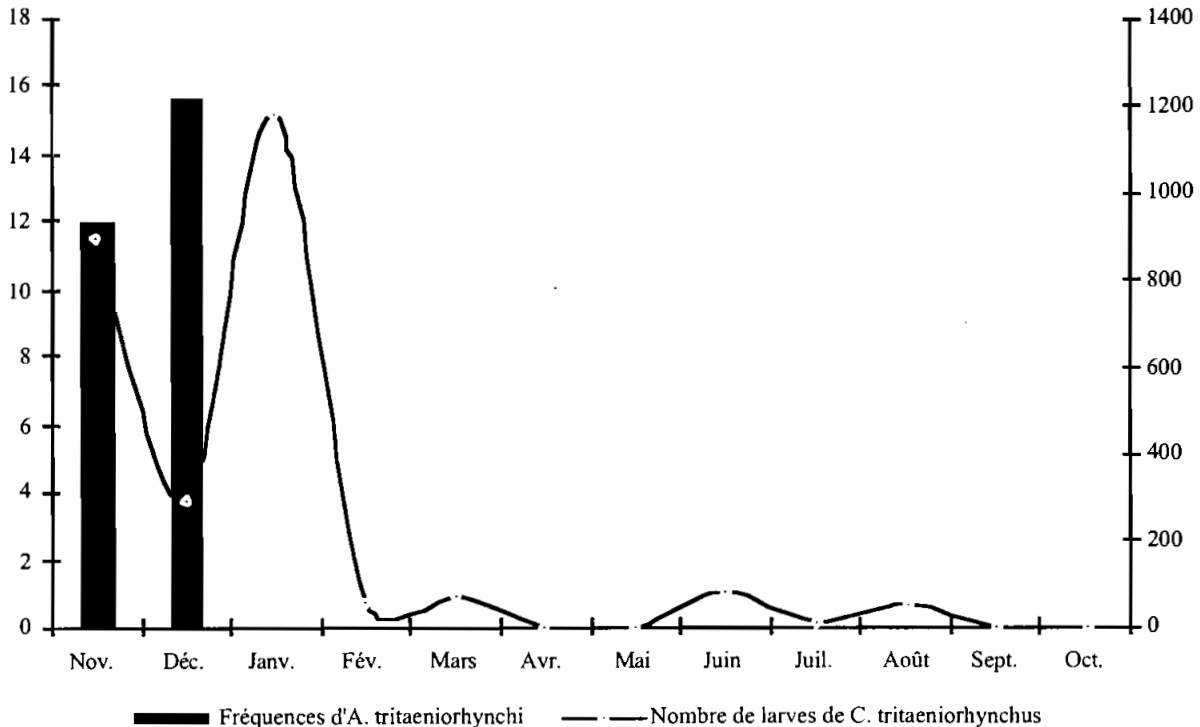


Figure 5 : Evolutions comparées d'*Amblyospora tritaeniorhynchi* et de *Culex tritaeniorhynchus* dans le gîte n° 1 (Nov. 1998 à Oct. 1999)

d) Évolution saisonnière d'*Amblyospora tritaeniorhynchi*

Amblyospora tritaeniorhynchi (Fig. 5) est très peu répandu dans le gîte n°1. Présente de novembre à décembre 1998, elle disparaît brusquement de janvier 1999 à octobre 1999.

Discussion

La présence du complexe *A. gambiae* dans des collections d'eau sale n'est pas un fait rare. Selon FAYE (1994) il existe pour ce moustique des gîtes préférentiels et des gîtes inhabituels et la colonisation des gîtes inhabituels n'est pas liée à l'absence des gîtes préférentiels. FAYE (1994) a récolté des larves et des nymphes de ce moustique à Pout (Région de Thiès), dans des collections d'eau polluées (eaux de bain, de linge et de vaisselle) en saison pluvieuse, période où de nombreuses flaques d'eau de pluie contenaient aussi des larves de cette espèce.

Peu de gîtes hébergent des microsporidies dans la Région de Dakar alors que tous les gîtes prospectés hébergent au moins une espèce de moustique. La faible fréquence de microsporidies dans la Région de Dakar peut s'expliquer par l'existence de facteurs limitant la dissémination des spores des parasites. On peut citer par exemple les modalités de transmission (et donc de dispersion) des parasites et les distances entre les différents gîtes.

Les microsporidies les plus fréquemment rencontrées dans la Région de Dakar appartiennent aux genres *Amblyospora*. Ces microsporidies ont un cycle de développement complexe et contaminent leurs hôtes moustiques par voies transovarienne et orale.

Au cours de la transmission transovarienne, elles se développent dans les ovaires des femelles adultes et les œufs infectés donnent des larves parasitées (HALL & LORD, 1982 ; ANDREADIS, 1985, 1990 ; TOGUEBAYE & MARCHAND, 1985 ; SWEENEY *et al.* 1988 ; DICKSON & BARR, 1990 ; LUKES & VAVRA, 1990 ; DARWISH & CANNING, 1991 ; BECNEL, 1992). Selon ANDREADIS (1985), cette voie, qui est pourtant la principale voie utilisée, est cependant incapable de maintenir l'infestation dans les populations de moustiques à cause du faible taux de transmission. Cette voie permet donc aux femelles de moustiques infestés

de disséminer les microsporidies dans les nouvelles localités.

Au cours de la transmission par voie orale, les larves de moustiques se contaminent en ingérant des Copépodes, hôtes intermédiaires morts, qui se sont infectés en consommant des larves parasitées mortes. Les spores formées dans les larves ne sont pas infestantes pour les autres larves (SWEENEY *et al.*, 1988 ; ANDREADIS, 1990, 1994 ; BECNEL, 1992). L'absence ou la faible présence de l'hôte intermédiaire dans le gîte constituent des facteurs qui peuvent limiter la dissémination horizontale de ces microsporidies.

V. culicis, *M. sp1* et *M. sp2* n'ont été rencontrées que dans un seul gîte alors que leurs hôtes occupent de nombreux gîtes dans la Région de Dakar. Les hôtes de ces microsporidies se contaminent au stade larvaire en ingérant les spores libérées des larves et adultes morts. Les distances plus ou moins grandes entre les gîtes peuvent limiter la dissémination des spores par les individus adultes infectés et donc affaiblis.

Remerciements

Ce travail a bénéficié d'un soutien financier (95-108 RG/BIO/AF/AC) de l'Académie des Sciences du Tiers Monde (T.W.A.S).

Bibliographie

- ANDREADIS, T. G. 1985. Experimental transmission of a microsporidian pathogen from mosquitoes to an alternate copepod host. *Proceeding of Natural Academy of Sciences, USA*. 82 : 5574-5577.
- ANDREADIS, T. G. 1990. Epizootology of *Amblyospora connecticus* (Microsporida) in field populations of saltmarsh mosquito, *Aedes cantator*, and the cyclopoid copepod, *Acanthocyclops vernalis*. *Journal of Protozoology*. 3 : 174-182.
- ANDREADIS, T. G. 1994. Ultrastructural characterization of meiospores of six new species of *Amblyospora* (Microsporida: Amblyosporida) from northern *Aedes* (Diptera: Culicidae) mosquitoes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 41: 147-154.
- BECNEL, J. J. 1992. Horizontal transmission and subsequent development of *Amblyospora*

- californica* (Microsporida : Amblyosporidae) in intermediate and definitive hosts. *Diseases of Aquatic Organisms*. **13** : 17-28.
- **CANNING, E. U. 1990. MICROSPORA.** In Handbook of Proctocista. Margulis, L., Corliss, J. O., Melkonian, M., Chapman, D., Jones, J., (ed.). Bartlett, Boston. P. 53-72.
 - **DARWISH, A. & CANNING, E. U. 1991.** A light and electron-microscopic study of *Amblyospora aegypti* n. sp. Infecting *Culex pipiens* in Egypt. *European Journal of Protistology*. **26** : 236-244.
 - **DIARRA, K. 1990.** Contribution à l'étude biologique des microsporidies (Protozoaires) parasites des moustiques du Sénégal. Thèse de Doctorat de 3ème cycle de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal. pp. 113.
 - **DIARRA, K. & TOGUEBAYE, B.S. 1991.** On the developmental cycle and ultrastructure of *Vavraia culicis* Weiser, 1947 (Microspora, Pleistophoridae) with comments on the taxonomy of the genus *Vavraia* Weiser, 1977. *European Journal of Protistology*, **27** : 134-140.
 - **DIARRA, K. & TOGUEBAYE, B. S. 1992.** Study on *Amblyospora tritaeniorhynchi* n. sp (Microsporida, Amblyosporidae) parasite of *Culex tritaeniorhynchus* Giles, 1901 (Diptera, Culicidae) with reference to sexuality. *Journal of African Zoology*, **106** : 471-478.
 - **DIARRA, K. & TOGUEBAYE, B. S. 1994.** Light and electron microscope study of the life cycle of *Amblyospora senegalensis* n. sp. (Microspora, Amblyosporidae), parasite of *Culex thalassius* (Diptera, Culicidae). *Archiv für Protistenkunde*, **144** : 212-220.
 - **DIARRA, K. & TOGUEBAYE, B. S. 1997.** *Amblyospora dakarensis* n. sp. (Microspora, Amblyosporidae), parasite of *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera, Culicidae): Ultrastructure of the octosporous phase of the life cycle with particular reference to unusual sporogony. *Zoologische Beiträge*. **38** (1) : 1-13.
 - **DICKSON, D.L. & BARR, A. R. 1990.** Development of *Amblyospora campbelli* (Microsporida : Amblyosporidae) in the mosquito *Culiseta incidens* (Thomson). *Journal of Protozoology*, **37** : 71-78.
 - **FAYE, O. 1994.** Le paludisme au Sénégal. Ecologie de la parasitose et perspectives de lutte. Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal. pp 287.
 - **HALL, D. W. & LORD, J. C. 1982.** *Amblyospora* (Microspora, Thelohaniidae) parasite of Florida mosquitoes and their biology. *Journal Florida Anti-Mosquito Association*, **53**: 12-16.
 - **HAZARD, E. & OLDACRE, S. W. 1975.** Revision of Microsporida (Protozoa) close to Thelohania, with description of one new family, eight new genera, and thirteen new species. *United States Department of Agriculture, Technical Bulletin*, **1530** : 1-104.
 - **ISSI, I. V. 1986.** Microsporidia as phylum of parasitic protozoa. *Academy of Sciences, U.S.S.R. "Protozoology"* (Leningrad), **10** : 6-136.
 - **LARSSON, R. 1986.** Ultrastructure, function and classification of microsporidia. *Progress in Protistology*, **1** : 325-390.
 - **LUKES, J. & VAVRA, J. 1990.** Life cycle of *Amblyospora weiseri* n. sp. (Microsporida) in *Aedes cantans* (Diptera, Culicidae). *European Journal of Protistology*, **25** : 200-208.
 - **SPRAGUE, V. 1977.** Systematics of Microsporidia. In *Comparative Pathobiology*, New-York, Plenum Press, **II** : 1-150.
 - **SPRAGUE, V. 1982.** Microspora. In *Synopsis and classification of living organisms*. Parker, S. P., (edit.), Mc Grow-Hill, New-York, **1**: 589-594.
 - **SWEENEY, A.W., GRAHAM, M. F. & HAZARD, E. I. 1988.** Life cycle of *Amblyospora dynenoides* sp. nov. In the mosquito *Culex annulirostris* and the copepod *Mesocyclops albicans*. *Journal of Invertebrate Pathology*, **51** : 46-57.
 - **TOGUEBAYE B. S. & MARCHAND, B. 1985.** Pathogénie, cycle de développement et ultrastructure d'*Amblyospora culicis* n. sp. (Protozoa, Microspora), parasite de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera, Culicidae). *Canadian Journal of Zoology*, **63** : 1797-1809.
 - **WEISER, J. 1977.** Contribution to the classification of Microsporidia. *Vestník Československé Společnosti Zoologické*, **24** : 308-320.

Résumé

52 gîtes ont été prospectés dans la Région de Dakar (Sénégal). Les microsporidies du genre *Amblyospora* sont les plus largement distribuées dans ces gîtes. Cette répartition n'est pas liée à la distribution géographique de leurs hôtes. C'est le cas de *Amblyospora culicis* qui n'a été trouvée que dans 3 gîtes alors qu'elle parasite un moustique, *Culex quinquefasciatus*, largement distribué dans la Région de Dakar (75 % des gîtes). L'étude de l'évolution saisonnière des infections a montré que *Vavraia culicis* infecte de façon irrégulière et très faiblement *Anopheles gambiae*, le moustique vecteur du paludisme au Sénégal.

Abstract**Distribution and seasonal prevalence of the microsporidian infections in the mosquitoes larvae from Dakar region (Sénégal)**

Studies carried out in 52 breeding places show that the microsporidia belonging to the genus *Amblyospora* are the most distributed in Dakar region. The distribution of these species is not linked to the geographical distribution of their hosts. This is the case of *Amblyospora culicis*, parasite of *Culex quinquefasciatus*, widely distributed in Dakar region (75 % of the breeding places), which has been found in only 3 breeding places. The study of the seasonal prevalence of microsporidian infections shows that the prevalence of infection due to *Vavraia culicis*, in *Anopheles gambiae*, is irregular and low.