

UNIVERSITÉ CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR
ECOLE DOCTORALE: SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE
L'ENVIRONNEMENT (ED-SEV)

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année : 2012

N° d'ordre : 28



THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Parasitologie

Présentée par : El hadji FALL

Nématodes tissulaires parasites de rongeurs au Sénégal :
Développement et Migration de *Trichosomoides nasalis*
(Nematoda : Trichinelloidea) chez *Arvicanthis niloticus*.

Soutenue le 15 Décembre 2012 devant le jury composé de :

Président :	M. Bhen Sikina TOGUEBAYE	Professeur	UCAD
Rapporteurs :	M. Moustapha DIAGNE	Chargé d'enseignement	UCAD
	M. Ngor FAYE	Professeur	UCAD
	M. Laurent GRANJON	Chargé de recherche	IRD (Dakar)
Examineurs :	Mlle Coralie MARTIN	Chargée de recherche	INSERM(France)
	M. Cheikh Tidiane BA	Professeur	UCAD
Directeur de Thèse :	M. Moustapha DIAGNE		

DEDICACES

- ✓ **A mon Père Ousmane et ma Mère Maro DIA.**
Que DIEU le Tout Puissant vous laisse encore parmi nous.

- ✓ **A feu ma tante Ndèye FALL** très tôt arrachée à notre affection. Que le Bon DIEU l'accueille dans son Paradis Céleste.

- ✓ **A tous mes frères et sœurs : Ibrahima, Fallou, Arame, les jumelles Adama et Awa, Maro, Aïssatou, Coumba, Diarra,** Vous m'avez beaucoup soutenu, ce travail est aussi le votre.

- ✓ **A mon épouse Soda,** pour les privations dont elle a souffert durant mes longues et fréquentes absences et pour son inlassable et constant témoignage d'amour. Puisse le Tout-Puissant consolider notre union qu'Il a Lui-même consacrée.

- ✓ **A mes enfants.**

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé par l'équipe de recherche du Laboratoire de Parasitologie ESP 2014 dirigée par **Monsieur Moustapha DIAGNE** au Département de Biologie Animale de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

- On peut aisément comprendre qu'un travail intellectuel, quelles que soient sa forme et sa nature, ne peut être bien mené sans l'apport décisif de nombreuses personnes, de façon directe ou indirecte. Ainsi, tant au niveau de la conception du sujet, qu'au niveau de la recherche ou de la rédaction du texte, cette thèse n'aurait eu sa forme actuelle sans l'aide et les conseils de certains professeurs et de certains chercheurs.
- Parmi ces personnes, j'ai contracté une première dette à l'égard de mon directeur de thèse. En effet, sans la clairvoyance du **Professeur Moustapha DIAGNE**, cette recherche n'aurait jamais été entreprise. Ses encouragements et surtout sa disponibilité ont été pour moi une source constante de motivation à poursuivre ce travail. Je tiens à le remercier particulièrement pour ses nombreux conseils et enseignements dont j'espère en avoir fait bon usage.
- A notre regretté **Professeur Odile BAIN** qui nous a quitté ce 16 Octobre 2012 et qui sera toujours présente dans nos mémoires. Nous nous souviendrons de ton énergie débordante depuis toutes ces années que tu as consacrées à la biologie des parasites et qui est l'objet de ma thèse. Nous dirons que c'est par cette biologie parasitaire qui t'a tant passionné que tu as tirée ta révérence en signant mes deux articles. Nous nous souviendrons.....

Je tiens particulièrement à remercier :

- Le **Professeur Bhen Sikina TOGUEBAYE** d'avoir bien accepté de juger ce travail et de présider à la soutenance malgré vos charges académiques et administratives ; soyez-en indéfiniment remercié et à travers vous toutes les autorités de l'Ecole Doctorale Sciences de la Vie, de la Santé et de l'Environnement (ED-SEV). Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

- Le **Professeur Ngor FAYE** d'avoir bien voulu me consacrer une partie de votre temps précieux pour faire un rapport sur ma thèse et d'être membre du jury. Trouvez ici l'expression de ma toute reconnaissance.
- Le **Docteur Laurent GRANJON** IRD Bel Air (Dakar). Malgré vos charges, vous avez accepté d'être à la fois rapporteur de la thèse et membre du jury. Trouvez ici la marque de ma sincère reconnaissance.
- Le **Professeur Cheikh Tidiane BA** chef du département de Biologie Animale. Merci d'avoir accepté d'évaluer mon travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma grande reconnaissance.
- Le **Docteur Coralie MARTIN** au Laboratoire de Parasitologie Comparée MNHN/INSERM (France). Vous nous avez offert gracieusement des cages et des biberons pour améliorer nos conditions d'élevage des animaux qui ont servi aux expériences. Vous nous avez même prêté du matériel de coupe (support et lames de microtome) ce qui nous a permis de réaliser les coupes histologiques avec une grande satisfaction. Certaines photos ont été réalisées dans votre laboratoire. Votre disponibilité a été d'un grand apport pour mener à bien mon travail. Votre laboratoire est l'exemple type d'une collaboration entre le Nord et Sud. Malgré vos charges, vous avez accepté d'être présente à Dakar pour juger ce travail. Nous vous exprimons toute notre reconnaissance ainsi qu'à votre équipe.

Nous adressons également nos remerciements au **Docteur Kerstin JUNKER** : ARC-Onderstepoort Veterinary Institute (Afrique du Sud) pour son aide dans la révision des versions anglaises des articles et au **Docteur Isabelle VALLEE** au Laboratoire de Santé Animale (Maisons-Alfort France) pour la précieuse documentation sur *Trichinella spiralis*; nous leur exprimons notre profonde gratitude.

Nous associons à ces remerciements toutes les personnes qui ont constamment répondu à notre appel et qui ont régulièrement contribué au bon déroulement de notre travail Je veux citer : **J. M. DUPLANTIER, Khalidou. BA** pour le piégeage des rongeurs au début de mon travail, au **Professeur Amadou BA** du Laboratoire Commun de Microbiologie Bel Air qui nous a permis de réaliser aussi certaines de nos photos de nos coupes histologiques, au **Docteur MUTAFCHIEV**

Y. de l'Institut de Biodiversité et des Ecosystèmes (Bulgarie), qui nous a apporté aussi son concours.

Nous ne saurions oublier dans nos remerciements, tous les techniciens du département de Biologie Animale plus particulièrement : **M. Issa FALL, M. Amadou. B. SEYDI, M. MBENGUE et Mme MBENGUE, M. Michel SARR, M. Daouda DIOUF** et à tout le **personnel du BST Point E** qui nous ont apporté leur amitié.

Je ne saurai citer ici tous ceux qui m'ont soutenu par leurs conseils éclairés, par leur assistance discrète, par leur amitié sincère de peur d'en oublier, qu'ils soient tous très sincèrement remerciés. Ils se reconnaîtront. Ils me permettront de mentionner expressément : Le Pr **P. M. SEMBENE, Dr Nadina LEITE, Dr DIABAKHATE, Pr Mady NDIAYE, Dr Adama DIOUF /DIAGNE, Mme Nafisatou BA /LO, Mme Anta AGNE/DJIGO, Mlle Adama SANE**, mes camarades et amis : **Alioune DIA, EL. Amadou POUYE dit MOURIDE, Massamba MBOUP, Serigne Mbacké HANN, Boubou SOW, Bassirou MBAYE, Moussa NGOM, Mamour TOURE, Mamecor FAYE, Sokhna TOURE.**

Par ces lignes ci-dessus j'exprime ma profonde gratitude à tous ceux qui ont apporté un soutien direct ou indirect dans la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

	PAGES
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1. LE PHYLUM DES NEMATODES	4
1.1. Diversité des Nématodes	4
1.2. Organisation structurale des nématodes	5
1.3. Accouplement chez les Nématodes	8
1.4. Eléments de systématique.....	10
1.4.1. Phylogénie des métazoaires.....	10
1.4.2.. Classification des Nématodes.....	11
1.4.2.1. Position systématique des Nématodes	11
1.4.2.2. Classification traditionnelle ou classique	13
1.4.2.3. Classification phylogénétique	14
2. LES NEMATODES TISSULAIRES	18
2.1. Cycles des Nématodes.....	18
2.1.1 Cycle d'une filaire : <i>Onchocerca volvulus</i>	18
2.1.1.1. Traitement	21
2.1.2. Cycle de <i>Trichinella spiralis</i>	21
2.1.2.1. Phase infestation.....	24
2.1.2.2. Phase dissémination	24
2.1.2.3. Phase enkystement	24
2.1.2.4. Traitement	27
3. TRICHOSOMOÏDES NASALIS PARASITE D'ARVICANTHIS	
<i>NILOTICUS</i>	27
3.1. Position systématique de <i>Trichosomoïdes nasal</i>	28
3.2. Description de <i>Trichosomoïdes nasal</i>	29

CHAPITRE II : DEVELOPPEMENT DE *TRICHOSOMOÏDES NASALIS* CHEZ

<i>ARVICANTHIS NILOTICUS</i>	33
1. Introduction	33
2. Matériel et méthodes	34
2.1. Lieux de captures des <i>Arvicanthis niloticus</i>	34
2.2. Technique de piégeage des <i>Arvicanthis niloticus</i>	34
2.3. Elevage et entretien des <i>Arvicanthis niloticus</i>	35
2.4. Infestation expérimentale des <i>Arvicanthis niloticus</i>	35
2.4.1. Infestation par voie orale.....	35
2.4.2. Infestation par voie intrapéritonéale.....	36
2.5. Dissection des <i>Arvicanthis niloticus</i> expérimentalement infectés	36
2.6. Analyse morphologique des vers	37
2.7. Histologie	38
3. Résultats et analyse	38
3.1. Prévalence et intensité moyenne de l'infection	38
3.2. Localisation de <i>T. nasalis</i> chez <i>A. niloticus</i>	39
3.2.1. Localisation de <i>T. nasalis</i> chez les <i>A. niloticus</i> infectés par voie orale.....	39
3.2.2. Localisation de <i>T. nasalis</i> chez les <i>A. niloticus</i> infectés par voie intrapéritonéale.....	42
3.3. Morphogénèse larvaire : Stades et mues larvaires	44
3.4. Les sites de la croissance larvaire	47
3.5. <i>Trichosomoides nasalis</i> dans les fibres musculaires striées abdominales	48
4. Discussion	49
4.1. Migrations précoces et tardives.....	49

4.2. Développement dans les fibres musculaires.....	52	
5. Conclusion.....	53	
CHAPITRE III: MIGRATION DE <i>TRICHOSOMOÏDES NASALIS</i> CHEZ		
<i>ARVICANTHIS NILOTICUS</i>		55
1. Introduction	55	
2. Matériel et méthodes	56	
2.1. Technique d'histologie	56	
2.1.1 Prélèvement.....	56	
2.1.2. Fixation.....	57	
2.1.3. Décalcification	57	
2.1.4. Inclusion	57	
2.1.5. Coupes	58	
2.1.6. Collage des coupes	58	
2.1.7. Coloration.....	58	
2.1.8. Montage.....	59	
3. Résultats et analyse	60	
3.1. <i>Trichosomoides nasalis</i> dans les fibres musculaires striées thoraciques	60	
3.2. <i>Trichosomoides nasalis</i> dans les parties externes des fosses nasales (museau, vestibule) et dans les fosses nasales.....	60	
3.3. <i>Trichosomoides nasalis</i> dans l'épithélium pseudostratifié de la muqueuse nasale.....	65	
4. Discussion	68	
5. Conclusion.....	70	
5.1. Migration de <i>Trichosomoides nasalis</i>	70	
5.2. Migration chez les autres Trichinelloidea	71	
5.3. Accouplement de <i>Trichosomoides nasalis</i>	71	

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....73

BIBLIOGRAPHIE77

WEBOGRAPHIE..... 84

ANNEXE

RESUME

Figures

	PAGES
Figure 1 [1]: Structure d'un nématode : <i>Caenorhabditis elegan</i>	7
Figure 2 : A Schéma de l'extrémité antérieure d'un Nématode, en vue apicale. B Extrémité caudale de <i>Dipetalonema freitasi</i> vue ventrale montrant les languettes caudales : les phasmides	7
Figure 3 : A. Schéma hypothétique de l'accouplement chez <i>Mansonella (Tetrapetalonema)</i> B. Détails de l'area rugosa de <i>Dipetalonema freitasi</i> . C Accouplement entre mâle adulte et Femelle adulte d' <i>Anatrichosoma buccalis</i>	9
Figure 4: Phylogénie des métazoaires : A: Phylogénie "traditionnelle" des métazoaires; B: Phylogénie basée sur les séquences 18S de l'ARN ribosomique.	10
Figure 5 : Classification phylogénétique des Ecdysozoaires.	13
Figure 6 : Arbre phylogénique de l'embranchement des Nématodes.	16
Figure 7 : Arbre phylogénique des Nématodes Secernentea parasites de vertébrés.	17
Figure 8A [2] : <i>Onchocerca volvulus</i> dans les nodules du tissu sous cutané	19
Figure 8B [3] : Sections de femelles adultes d' <i>Onchocerca volvulus</i> dans les tissus fibreux de l'hôte	19
Figure 8C [4] : Le cycle de développement d' <i>Onchocerca volvulus</i>	20
Figure 9 [5]: Cycle de développement de <i>Trichinella spiralis</i>	22
Figure 10 [6]: Phase intestinale, migration larvaire et phase musculaire chez l'Homme. .	23
Figure 11 [7]: Schéma d'une larve infestant une fibre musculaire.	25
Figure 12 [7]: Formation de la cellule nourricière de <i>Trichinella spiralis</i>	26
Figure 13 [7]: Schéma d'une larve de <i>Trichinella spiralee</i> dans la capsule de collagène et formation du réseau capillaire.....	26

Figure 14 : Femelle de *Trichosomoides nasalis*29

Figure 15 : Détails au microscope à balayage d'une bande bacillaire à mi-corps chez la femelle de *T. nasalis*. 30

Figure 16 : Mâle de *Trichosomoides nasalis* 31

Figure 17 : **A.** Œufs embryonnés de *T. nasalis* : **B.** Larve de 3 jours de *T. nasalis*. 32

Figure 18 : Lieux de captures des *Arvicanthis niloticus* 34

Figure 19 : Diagramme de Croissance de *T. nasalis* chez *Arvicanthis niloticus* 45

Figure 20 : Larve (J9) de *Trichosomoides nasalis* en mue. 46

Figure 21 : Trois femelles de *Trichosomoides nasalis* en mue. 46

Figure 22 : *Trichosomoides nasalis* dans une fibre musculaire abdominale striée..... 49

Figure 23 : *Trichosomoides nasalis* dans une fibre musculaire thoracique intercostale.... 60

Figure 24 : Les trois régions du maxillaire supérieur délimitées pour l'histologie sur un crâne d'un rongeur, en vue latérale 61

Figure 25: **A :** Coupe frontale des fosses nasales au niveau du museau montrant les cornets saillants dans les cavités nasales. Cornet médian à gauche, cornets antérieur et médian à droite. **B :** Coupe frontale des fosses nasales au niveau du museau montrant les cornets médians saillants dans les cavités nasales 61

Figure 26 : **A :** *Trichosomoides nasalis* dans le tissu adipeux de la région dorsale du museau à J20. **B :** Deux sections transversales de *Trichosomoides nasalis* dans le tissu conjonctif dermique du vestibule nasal. **C :** *Trichosomoides nasalis* entre les fibres musculaires du museau. **D :** *Trichosomoides nasalis* entre les fibres musculaires du vestibule nasal..... 63

Figure 27 : **A :** Section longitudinale de *Trichosomoides nasalis* dans la lamina propria des cavités nasales d'*A. niloticus*. **B :** *Trichosomoides nasalis* dans un vaisseau

sanguin de la lamina propria. **C** : *Trichosomoïdes nasalis* (4) autour du cornet médian, (1) dans vaisseau sanguin de la lamina propria, (2) et (3) dans l'épithélium pseudostratifié..... 64

Figure 28 : A & B: Les deux types d'épithéliums de la partie antérieure du cornet: l'épithélium avec des cellules à mucus et l'épithélium pseudostratifié, mais sans doublure supérieure kératinisée. **C** : Femelle de *Trichosomoïdes nasalis* dans l'épithélium pseudostratifié. 66

Figure 29 : A : Deux sections transversales d'une femelle de *T. nasalis* avec un mâle intra-utérin dans l'épithélium pseudostratifié dilaté. **B** : *T. nasalis* dans l'épithélium pseudostratifié. **C** : Femelle de *T. nasalis* sous la partie supérieure de l'épithélium pseudostratifié kératinisé dont les plis indiquent les mouvements du parasite. 67

Figure 30 : Cycle de *Trichosomoides nasalis* 74

Tableaux

Tableau 1 : Localisation de *Trichosomoides nasalis* chez *Arvicanthis niloticus* infecté par voie orale..... 41

Tableau 2 : Localisation de *Trichosomoides nasalis* chez *Arvicanthis niloticus* infecté par voie intrapéritonéale..... 43

Tableau 3 : Mensurations de *Trichosomoïdes nasalis* à différents stades en fonction du temps et de la localisation chez *Arvicanthis niloticus* (infestation par voie intrapéritonéale). 47

Tableau 4: Migration de *Trichosomoïdes nasalis* chez *Arvicanthis niloticus* : Localisation histologique des *T. nasalis* dans la partie A du crâne (voir figure24) 62

INTRODUCTION

Au Sénégal, au cours d'enquêtes virologiques chez les rongeurs menées par l'institut de Recherche pour le Développement (IRD) et l'Institut Pasteur de Dakar, des *Arvicanthis niloticus* Desmarest (rongeur muridae) ont été capturés à Bandia. Après avoir effectué sur ces rongeurs des biopsies des lobes auriculaires à la recherche de microfilaires dermiques, une dilacération des parois du caecum et du colon révèle la présence d'une filaire *Monanema martini*, Bain et al., 1986. En outre, la dissection de la muqueuse des fosses nasales de ces rongeurs a permis de récolter des adultes de Trichosomoides identifiés comme étant l'espèce *Trichosomoides nasalis* dont les femelles hébergent un mâle nain intra-utérin (Diagne et al., 2000). Des études histologiques ultérieures de la muqueuse des fosses nasales et du maxillaire supérieur d'*Arvicanthis niloticus* naturellement parasités par *Trichosomoides nasalis* ont montré que les femelles du parasite sont entièrement logées dans l'épithélium de la muqueuse nasale qu'elles étirent considérablement et que le chorion est le siège de lésions inflammatoires importantes à dominantes lymphocytaires à l'origine d'une rhinosinusite responsable d'obstructions nasales (Diagne et al., 2004).

Hormis les trichines, les aphasmiens tissulaires sont rares et à peine connus, certainement plus diversifiés que ne le suggèrent les rares études faites chez les singes (Smith & Chitwood, 1954), les petits marsupiaux (Pence & Little, 1972 ; Spratt, 1982) et les rongeurs (Diagne et al., 2000 et 2004). *Trichosomoides nasalis* est de la même superfamille que les trichines qui sont des espèces pathogènes pour l'Homme. Or, toute étude sur la pathologie humaine nécessite un modèle animal, et, dans la mesure du possible, un modèle rongeur, seul mammifère réellement utilisable pour l'expérimentation de base.

La connaissance des cycles biologiques est un élément fondamental pour la mise en place des moyens de lutte contre les parasites. L'étude des migrations larvaires est également importante à bien connaître pour les approches vaccinales, afin de déterminer le moment et le lieu de la protection et ses mécanismes.

Les résultats intéressants de Diagne et al., 2004 sur les effets pathologiques de *T. nasalis* à divers endroits chez son hôte ont soulevé deux questions.

- La première concerne la voie de migration de *T. nasalis* depuis le tube digestif jusqu'à la muqueuse nasale. Dans ce contexte, la découverte de sections de deux vers femelles dans le tissu conjonctif externe des maxillaires supérieurs, laisse suggérer une migration par les tissus.
- La deuxième question porte sur leur comportement d'accouplement. Diagne et al. (2000) ont rapporté que la très grande majorité des femelles nasales hébergent un mâle intra-utérin, et des mâles libres n'ont pas été trouvés. Cependant, on ne connaît ni la période ni dans quel tissu ou dans quelle cavité, le mâle pénètre dans l'utérus de la femelle.

Chez *Trichosomoides crassicauda*, la copulation a lieu dans différentes régions du tractus urogénital des rats (Thomas, 1924). De plus amples informations peuvent être trouvées à partir d'espèces du genre *Anatrichosoma* étroitement apparenté au genre *Trichosomoides*. Chez les *Anatrichosoma*, les femelles et les mâles sont de taille similaire ; ces derniers ne vivent pas de façon permanente dans les voies génitales des femelles. Little & Orihel (1972) ont observé un accouplement des *Anatrichosoma buccalis* Pence & Little, 1972 dans l'épithélium multicouche de la langue des opossums: le mâle insère sa moitié postérieure dans l'appareil génital de la femelle mais se retire après l'accouplement. Les auteurs n'ont pas indiqué le site de prédilection des mâles entre les accouplements. Pour *Anatrichosoma cynamolgi* Smith & Chitwood 1954, un mâle a été identifié dans le tissu conjonctif sous-jacent de l'épithélium des voies nasales d'un singe, où il occupait la lumière d'un vaisseau lymphatique (Long et al., 1976). En revanche, chez *Anatrichosoma haycocki* Spratt, 1982, la copulation a lieu dans la lumière des glandes paraclocales des dasyuridés (Spratt, 1982).

Dans le contexte que nous venons de définir, mes travaux de thèse se sont orientés autour de l'objectif général suivant :

- ✓ Connaître le cycle biologique de *Trichosomoïdes nasalis* chez son hôte naturel *Arvicanthis niloticus* qui était jusque là inconnu.

La réalisation de cet objectif général passera par les objectifs spécifiques suivants :

- Déterminer les différents stades de développement de *T. nasalis*.
- Identifier le ou les sites de la croissance larvaire.
- Éluclider la ou les voie(s) de migration de *T. nasalis*
- Préciser quand et où a lieu l'accouplement.

Afin d'apporter de nouvelles données permettant de répondre à ces questions, nous avons choisi de développer deux grands axes de recherche :

- 1- Etudier le développement de *T. nasalis*.
- 2- Etudier la migration de *T. nasalis*.

Ces axes devraient nous permettre d'apporter quelques réponses sur la biologie de ce genre.

Ce manuscrit est organisé en quatre parties rapportant les résultats de mes travaux.

Le premier chapitre constitue une synthèse bibliographique présentant brièvement le phylum des Nématodes et sa place dans le monde vivant.

Les deux chapitres suivants rapportent les résultats obtenus sur l'étude du développement et de la migration de *Trichosomoïdes nasalis* chez son hôte muridé *Arvicanthis niloticus*.

La quatrième et dernière partie de ce manuscrit est constituée par la conclusion générale et les perspectives qui se dégagent de mes travaux.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES NEMATODES

1. LE PHYLUM DES NEMATODES

Les Nématodes sont très peu connus au regard d'autres organismes de la biosphère. Ce sont des animaux peu visibles dans l'environnement du fait de leur petite taille. Le nématode le mieux connu est *Caenorhabditis elegans* (**Fig. 1**), organisme modèle dont le génome a été entièrement séquencé en 1998 et dont la structure simple permet l'étude de nombreux mécanismes cellulaires et moléculaires. Les nématodes suscitent pourtant beaucoup de curiosité de par leur caractère ubiquiste sur la planète et leur rôle important dans le fonctionnement de divers écosystèmes.

1.1. Diversité des Nématodes

Les Nématodes comprennent différentes formes, libres ou parasites d'animaux ou de végétaux. Ils exploitent différents milieux, occupant des niches écologiques très diverses sur la planète tels que les océans et les mers, les eaux douces mais aussi les fluides corporels, les films d'eau dans le sol ou sur les végétaux. Ce sont les organismes les plus abondants de tous les métazoaires en terme de nombre d'individus dans de nombreux écosystèmes, notamment ceux du sol ($1,20 \cdot 10^{11}$ individus/m² contre 10^5 /m² pour les acariens qui constituent le deuxième groupe le plus abondant, Kevan, 1965).

Les Nématodes sont à la fois diversifiés et abondants avec un nombre total d'espèces estimé entre 40000 et 10 millions (Blaxter et al., 1998; Dorris et al., 1999 ; Blumenthal et al., 2004). Ce grand nombre d'espèces (26000 espèces décrites, Hugot et al., 2001) les place au deuxième rang dans le règne animal après les insectes. Cette diversification s'est réalisée avec un génome initial d'environ 25000 gènes, comme le suggère l'espèce de référence *Caenorhabditis elegans*. Les nématodes ont également des régimes alimentaires très diversifiés. Certaines espèces sont bactériophages, comme le nématode "modèle" *C. elegans*, d'autres sont entomopathogènes (ex: *Steinernema* spp ou *Heterorhabditis* spp), parasites

d'animaux (ex : *Trichosomoides* spp, *Onchocerca* spp, *Ascaris* spp, *Brugia spp* ou *Trichinella* spp) ou encore prédatrices (ex: *Mononchus* spp). Les Nématodes du sol causent chaque année de lourds dommages aux plantes cultivées. Les Nématodes parasites d'animaux causent les plus graves préjudices au bétail et, chez l'homme, ils sont des agents de maladies tropicales, les filarioses.

1.2. Organisation structurale des Nématodes

Les Nématodes sont des organismes cylindriques non segmentés. Ce sont des métazoaires triploblastiques cœlomates, autrefois classés parmi les *Pseudocoelomates*. Le pseudocœlome correspond au blastocèle qui est une cavité qui se forme lors du développement embryonnaire. Les Nématodes ont un tube digestif complet, c'est-à-dire avec bouche et anus. Leur tube digestif est un simple tube sans muscles sauf au pharynx et au rectum. Primitivement, la bouche des Nématodes est entourée de six lèvres, deux latérales et quatre submédianes (**Fig.2A**).

Les amphides constituent une paire d'organes sensoriels céphaliques, toujours latérales et sont présentes chez toutes les espèces et à tous les stades. Le système sensoriel comprend aussi deux ensembles de papilles simples, l'un apical, présent chez les deux sexes, l'autre caudal propre aux mâles. Les Nématodes prédateurs possèdent un stylet dont ils se servent pour transpercer l'épiderme de leurs proies pour ensuite sucer leurs fluides. Le système nerveux est formé d'un anneau nerveux, autour de l'œsophage, qui se prolonge par un ensemble de ganglions nerveux.

Dans la région caudale, les Nématodes présentent une paire d'organes sensoriels latéraux les phasmides (**Fig. 2B**). L'anوس est subterminal.

Les Nématodes ne possèdent ni appareil respiratoire, ni appareil circulatoire. La surface du corps peut être striée, mais ce n'est en aucun cas une métamérie. L'animal a un hydrosquelette sous pression, qui s'appuie sur sa cuticule, ce qui lui donne cette forme circulaire. La cuticule

est sécrétée par un revêtement non cellulaire : l'hypoderme. Cette cuticule est faite de collagène et de cuticuline. Elle est partiellement renouvelée lors des mues larvaires (4 chez les Nématodes), entre les mues et chez les adultes, des changements de constitutions chimiques de sa surface sont permanents.

Les Nématodes ne possèdent que des muscles longitudinaux, pas de muscles circulaires. L'action de ces muscles longitudinaux permet aux Nématodes de se déplacer en ondulant rapidement. Le système reproducteur comprend primitivement deux gonades tubuleuses, l'une des gonades disparaît généralement chez les mâles (monorchie). Chez les femelles, selon qu'il y a une ou deux gonades on emploie le terme de monodelphe ou didelphe. Ces gonades peuvent être dirigées en sens opposé (amphidelphe) ou dirigées parallèlement vers l'avant (prodelphe) ou vers l'arrière (opisthodelphe). Le pore génital femelle s'ouvre ventralement, primitivement vers le milieu du corps. Le tube génital mâle s'ouvre dans le rectum formant ainsi le cloaque. Dans le cloaque, des pièces fortement cuticularisées, les spicules, activées par les muscles font office d'organes copulateurs. Les spermatozoïdes n'ont ni flagelle ni cils.

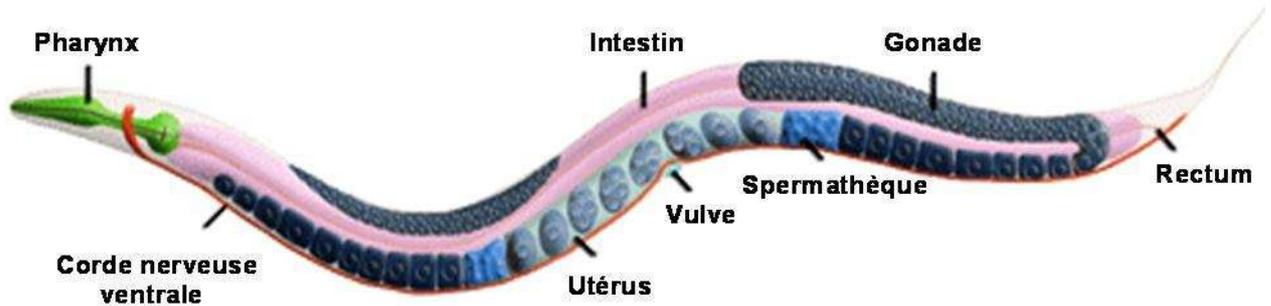


Figure 1 [1]: Structure d'un nématode (d'après by Z. F. Altun & D. H. Hall, dans Atlas of *C. elegans* anatomy. Le chiffre entre crochets représente la référence webographique.

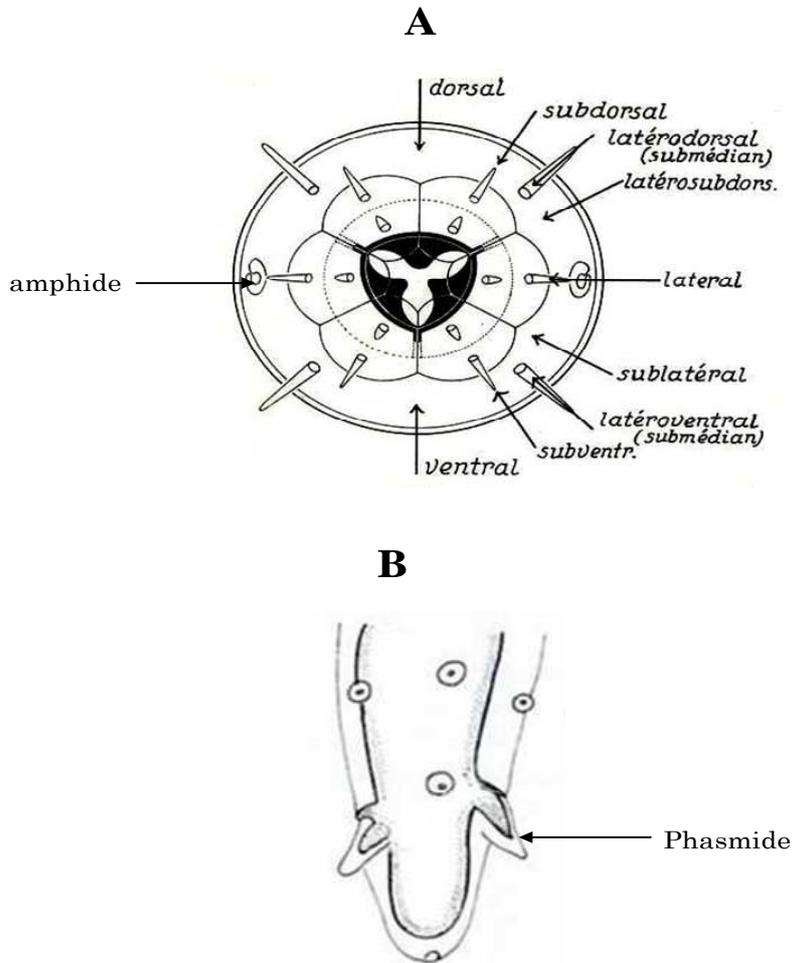


Figure 2 : **A** Schéma de l'extrémité antérieure d'un Nématode, en vue apicale (d'après De Cornick, 1965) **B** Extrémité caudale de *Dipetalonema freitasi* (d'après Bain et al., 1987), vue ventrale montrant les languettes caudales, les phasmides.

1.3. Accouplement chez les Nématodes

La cuticule lisse des Nématodes pose un problème sérieux pour que le mâle enserme la femelle. Chez les Nématodes l'accouplement donne lieu à des adaptations morphologiques chez le mâle extrêmement complexes et variées : bourses caudales des Strongylida, sculptures cuticulaires ventrales des Oxyurida, ventouses de certains Ascaridida, ailes caudales et extrémité postérieure spiralée des Spirurida. Chez les Filaires, l'*area rugosa* qui est une sorte d'appareil antidérapant (**Fig. 3B**) a permis de discriminer les souches géographiques du parasite humain *Brugia malayi* (Bain et al., 1988). Cette structure ainsi que certains renflements observés dans la partie antérieure du corps jouent un rôle dans l'accouplement en favorisant une contention du mâle par la femelle comme l'indique le schéma de l'accouplement chez *Mansonella (Tetrapetalonema) mariae* (Bain & Chabaud, 1988). La région caudale du mâle enserme la région antérieure de la femelle où s'ouvre la vulve (**Fig. 3A**).

Chez les Trichinelloïdes, l'accouplement présente une certaine originalité:

Chez *Trichosomoides nasalis*, parasite de la muqueuse nasale d'*Arvicanthis niloticus*, le mâle vit de façon permanente dans l'utérus de la femelle ; chez *Anatrichosoma*, le mâle pénètre entièrement dans les voies génitales de la femelle et vit de façon temporaire dans l'utérus et se retire après l'accouplement; la **figure 3C** montre la moitié postérieure du mâle dans l'appareil génital de la femelle (Little & Orihel, 1972).

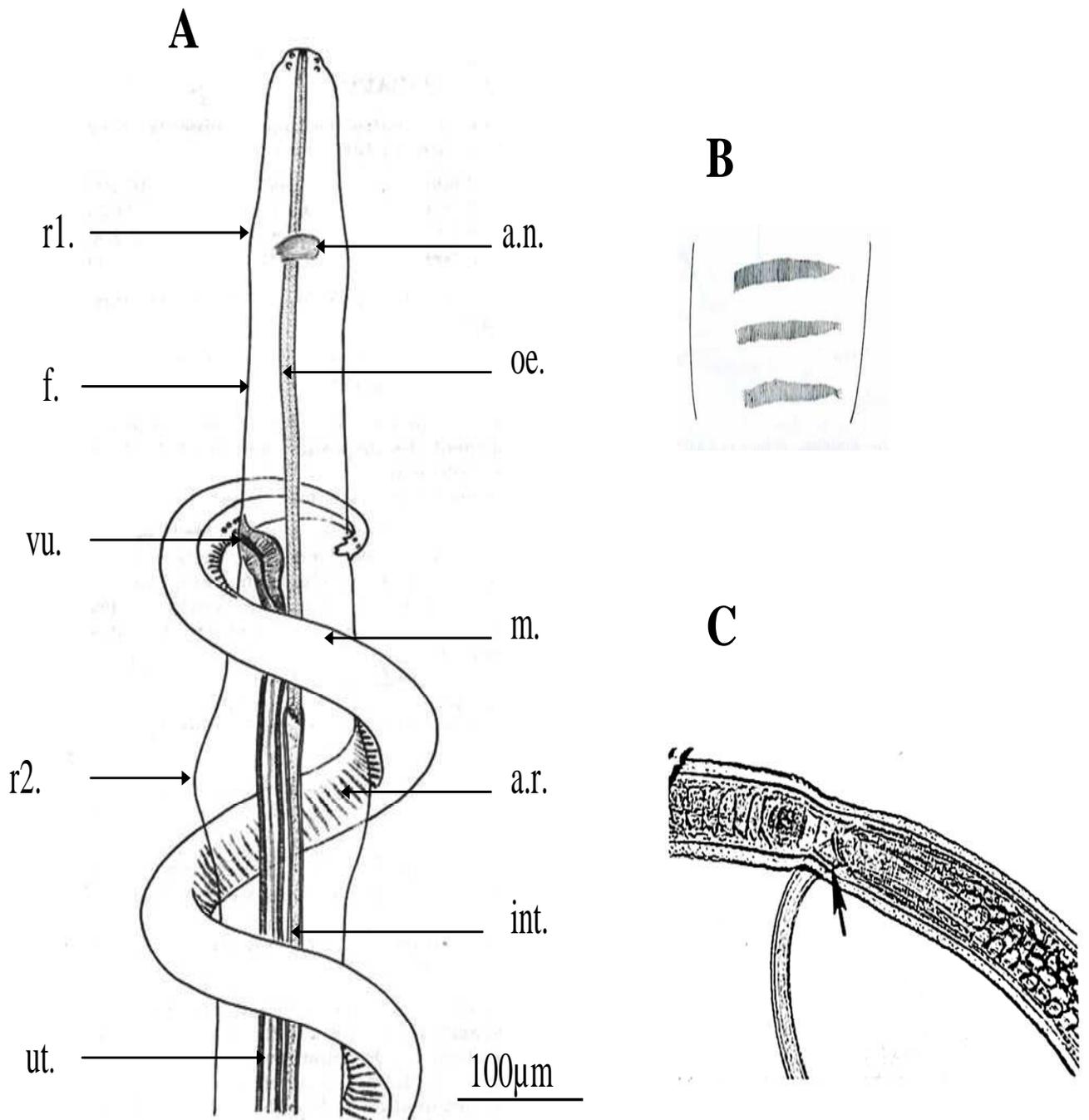


Figure 3 : A. Schéma hypothétique de l'accouplement chez *Mansonella (Tetrapetalonema) mariae* (d'après Bain & Chabaud, 1988) ; a.n. anneau nerveux ; a.r. : area rugosa ; f. : femelle ; int. : intestin ; m. : mâle ; oe. : œsophage ; r1. : 1^{er} renflement ; r2. : 2^{ème} renflement ; ut. : utérus ; vu. : vulve. B. Détails de l'area rugosa de *Dipetalonema freitasi* (d'après Bain et al., 1987). C Accouplement entre mâle adulte et Femelle adulte d'*Anatrichosoma buccalis* (d'après Little & Orihel, 1972)

1.4. Éléments de systématique

1.4.1. Phylogénie des métazoaires

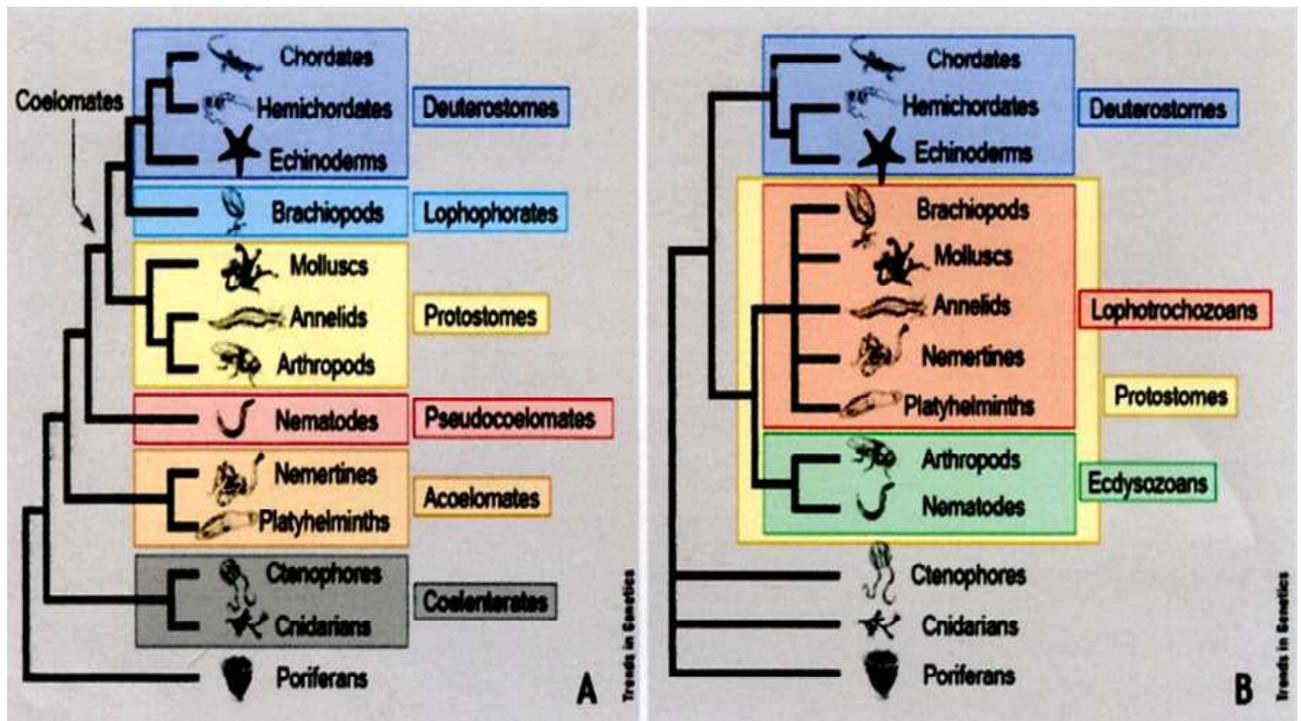


Figure 4: Phylogénie des métazoaires : **A:** Phylogénie "traditionnelle" des métazoaires; **B:** Phylogénie basée sur les séquences 18S de l'ARN ribosomal. (d'après Adoutte et al., 1999).

La phylogénie classique des métazoaires (**Fig. 4A**), basée sur des critères morphologique et embryologique, repose sur une vision gradiste du vivant, c'est-à-dire sur une complexité croissante des organismes. Parmi les eucaryotes métazoaires placés à la base de cette classification, les éponges (Porifères) sont suivies par les cnidaires, les cténaires, et enfin les acoelomates et les pseudocoelomates. Vient ensuite une divergence majeure qui donne naissance aux branches protostomes et deutérostomes, réunies sous le nom de coelomates triploblastiques.

La classification moléculaire (**Fig. 4B**), (d'après Adoutte et al. ; 2000), basée principalement sur l'analyse phylogénétique des gènes codant pour les ARN ribosomiques 18S, a modifié la vision classique de la phylogénie des métazoaires. La nouvelle phylogénie des métazoaires est constituée des non-bilatériens (regroupement qui inclut les éponges, les cnidaires et les cténophores) et de deux groupes de bilatériens : les deutérostomes et les protostomes. Les relations entre les non-bilatériens n'ont pu être précisées, et, fréquemment, ces phylums n'apparaissent pas dans un groupe monophylétique.

Les ecdysozoaires (animaux qui possèdent une cuticule et dont la croissance se fait par mues) et les lophotrochozoaires (animaux dont le développement passe par des formes larvaires de type trochophore ou possédant des lophophores) constituent le groupe des protostomes.

Si l'existence de trois grands groupes d'animaux bilatériens est bien établie à savoir les deutérostomes et les protostomes, eux mêmes divisés en ecdysozoaires et lophotrochozoaires, les relations au sein de ces deux derniers clades restent assez obscures. En particulier, les relations de parentés des lophotrochozoaires sont peu résolues alors même que ce groupe présente une extrême hétérogénéité de formes et de modes de développement.

1.4.2. Classification des Nématodes

1.4.2.1. Position systématique des Nématodes

L'ancienne classification basée sur des données morphologiques et physiologiques plaçait le phylum des Nématodes dans l'embranchement des Némathelminthes, à proximité des Plathelminthes, puis, plus tard, au sein des Pseudocoelomates.

Mais les analyses génétiques, et notamment l'analyse des gènes codant la sous unité d'ARNr 18S, ont prouvé que les Nématodes appartenaient au groupe des Ecdysozoaires (Aguinaldo et al., 1997 ; Lecointre & Le Guyader, 2001). Même si cette conception suscite encore de nombreuses interrogations, un consensus se dégage pour considérer que les Nématodes peuvent être regroupés avec les Arthropodes (**Fig.5**) pour former les Ecdysozoa, animaux

capables de renouveler leur cuticule par des mues (Aguinaldo et al., 1997; Lecointre & Le Guyader, 2001). Ce groupe rassemble les nématodes, les insectes, les arachnides et les crustacés. Le nom du taxon vient du mot ecdysis qui désigne la mue.

Ce taxon se divise en trois groupes :

- les Céphalorhynches (Kinorhynches, Loricifères, Priapulides)
- les Panarthropodes contenant :
 - les Onychophores
 - les Tardigrades
 - les Euarthropodes (ou Arthropodes vrais)
- les Nématozoaires (Nématodes et Nématomorphes)

Les groupes les plus connus chez les ecdysozoaires sont les arthropodes (ce dernier comprenant notamment les insectes et les crustacés). Ce clade rend obsolète l'ancienne notion d'articulés (*Articulata*) qui regroupait arthropodes et annélides sur l'idée que la segmentation était un caractère ancestral. C'est bien la mue qui constitue un caractère ancestral et justifie de regrouper les ecdysozoaires. La mue des arthropodes est déclenchée par l'ecdysone, mais cette hormone n'est probablement pas présente chez tous les Ecdysozoaires : le nématode *Caenorhabditis elegans* utilise une autre hormone stéroïde.

Les Nématodes et les Nématomorphes forment le groupe des Nématozoaires (**Fig.5**). (Lecointre & Le Guyader, 2001).

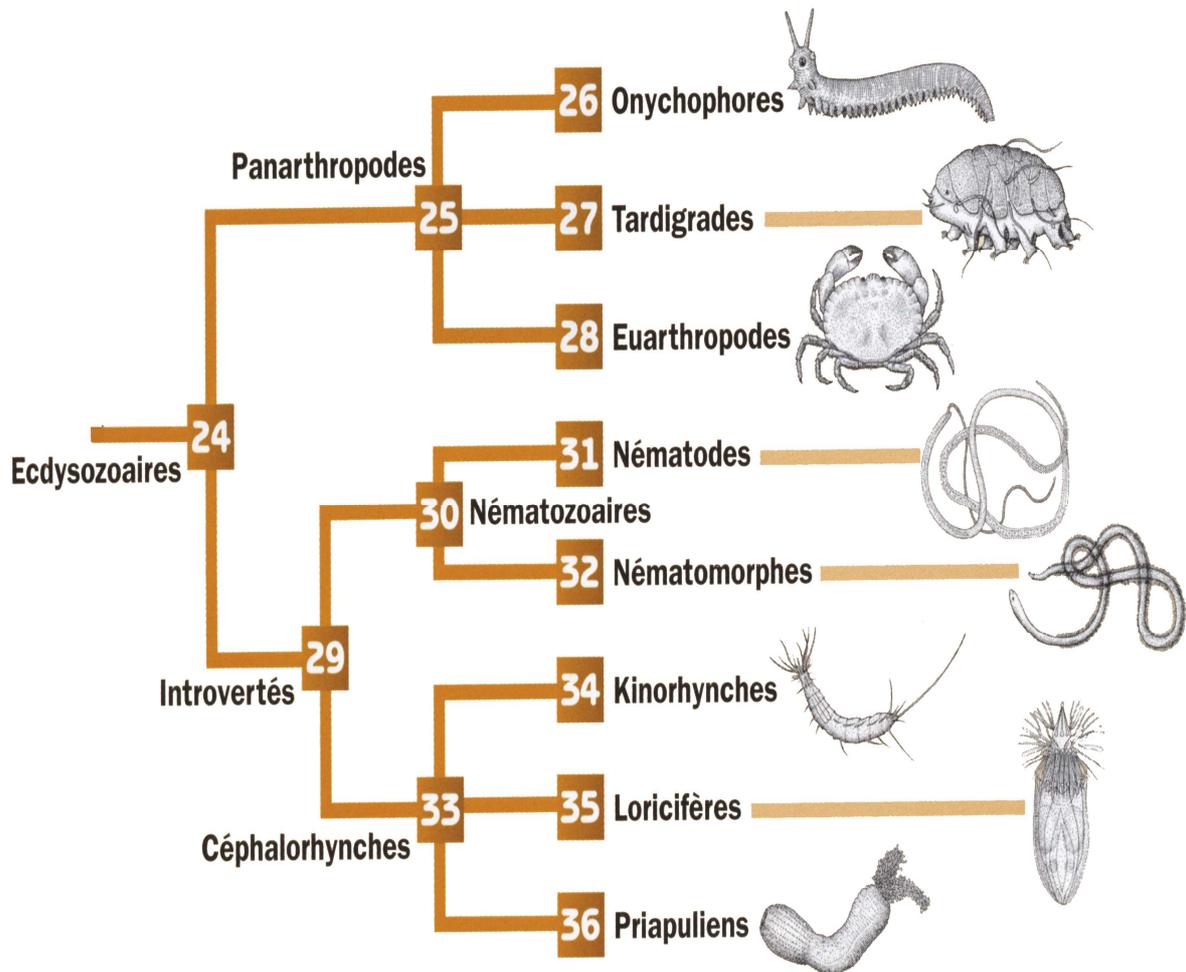


Figure 5 : Classification phylogénétique des Ecdysozoaires (extrait de Lecointre & Le Guyader, 2001)

1.4.2.2. Classification traditionnelle ou classique

Classiquement les Nématodes sont divisés en deux classes : Secernentea (ou Phasmidien), et Adenophorea (ou Aphasmidien), par la présence chez les Secernentea, ou l'absence chez les Adenophorea de phasmides, minuscules organes latéraux glandulaires et nerveux situés sur la queue. La classe des Phasmiens se subdivise en quatre sous-classes: Rhabditia, Spiruria, Tylenchia, Diplogasteria; celle des Aphasmiens en deux sous-classes: Enoplia et Chromadoria. La division des ordres en sous-ordres, super-familles, familles et sous-familles, puis en genres et en espèces est assez complexe. Avec l'apparition des techniques de biologie moléculaire, des phylogénies ont pu être réalisées.

1.4.2.3. Classification phylogénétique

Cette classification est principalement fondée sur les méthodes de la cladistique, méthode établie en par Willi Hennig, 1950 (Schmitt, 2003). L'analyse cladistique qui sert de base à l'établissement de cette classification considère les caractères à toutes les échelles à valeur égale : les caractères macroscopiques et microscopiques issus de l'anatomie comparée et de l'embryologie, les caractères moléculaires issus de la biochimie et de la biologie moléculaire, ainsi que les données apportées par la paléontologie.

La **classification phylogénétique** est un système de classification des êtres vivants qui a pour objectif de rendre compte des degrés de parenté entre les espèces et qui permet donc de comprendre leur histoire évolutive (ou phylogénie). La phylogénie des Nématodes est basée sur les analyses moléculaires établies à partir de l'ARN ribosomique nucléaire 18S (Blaxter, 2001 ; Blaxter et al., 1998 ; Dorris et al., 1999). Elle utilise aussi la sous-unité ribosomale (SSU rRNA), gène homologue chez toutes les formes de Nématodes, pour permettre d'établir les relations phylogénétiques. Cette nouvelle classification diffère de façon significative des premières hypothèses (De Ley & Blaxter, 2001) (**Fig. 6**).

Trois clades majeurs sont à présent reconnus (Blaxter et al., 1998): **le clade I, le clade II et le clade C et S** d'où dérivent **les clades III, IV et V**.

Chaque clade doit répondre à une même définition: un clade comprend tous les descendants d'un ancêtre et l'ancêtre lui-même. On parle aussi de groupe monophylétique. Ainsi, des espèces d'un même clade seront toujours plus proches entre elles que d'une autre espèce extérieure à ce clade.

Chacun de ces clades contient des espèces ayant des modes de vie divers et comptent tous des espèces parasites d'animaux ou de végétaux.

Le clade I comprend les Dorylaimida, les Mononchida, les Mermithida et les **Trichocephalida**. Ce clade associe parasites de plantes, de vertébrés et d'invertébrés, avec des espèces libres benthiques ou terrestres.

Le clade II comprend les Enoplida et les Triplonchida. Il inclut les espèces marines et des espèces parasites de plantes.

Le clade C et S comprend les Chromadorida et les Secernentea, et parmi les Secernentea, trois clades:

Le clade III comprend les Ascaridida, les Spirurida, les Oxyurida et les Rhigonematida. Il comprend uniquement des parasites d'invertébrés et vertébrés.

Le clade IV comprend les Cephalobidae, les Tylenchida, les Aphelenchida (**IVb**) et les Strongyloididae, les Steinernematidae, les Panagrolaimidae (**IVa**). Il associe parasites d'animaux, de plantes ou de champignons mais aussi des formes libres.

Le clade V réunit des Nématodes libres comme les Rhabditida et Diplogasterida avec les Strongylida, parasites de vertébrés.

Dans cette étude le parasite étudié appartient à l'ordre des Trichocephalida du **clade I** : il s'agit de *Trichosomoides nasalis* parasite de la muqueuse nasale d'*Arvicanthis niloticus*.

Une récente classification du phylum des Nématodes (Hodda, 2007) propose 5 classes, 9 sous-classes, 23 super-ordres, 39 ordres, 52 sous-ordres, 89 superfamilles et 241 familles mais peu de changement sont notés au niveau des familles et superfamilles. Cette classification reflète la vue actuelle sur l'évolution dans le phylum et les incertitudes sur l'évolution des Nématodes.

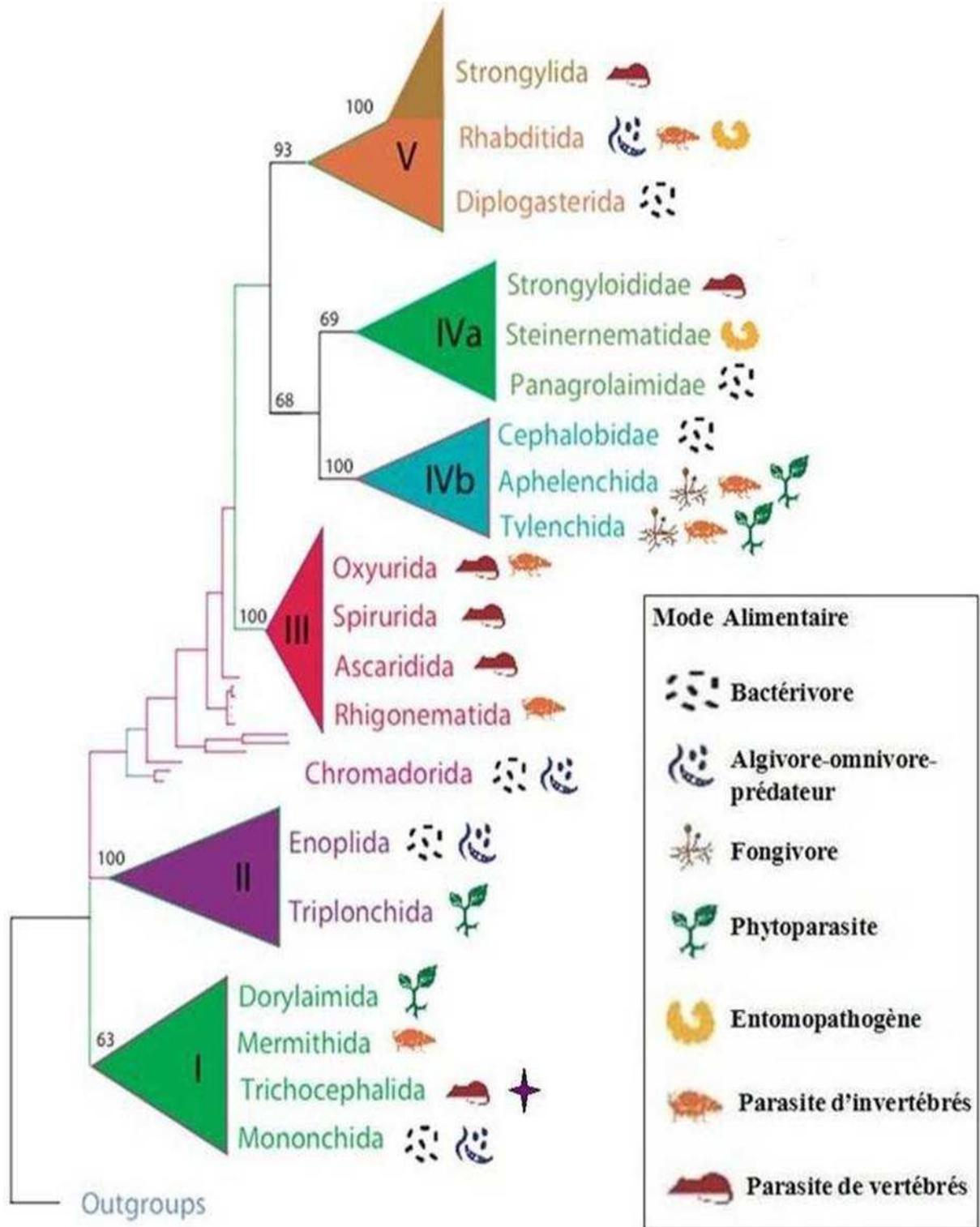


Figure 6 : Arbre phylogénique du phylum des Nématodes basé sur la séquence de la petite sous-unité ribosomale. Pour chaque groupe taxonomique sont indiquées les relations trophiques. Les chiffres romains représentent les clades (extrait de Blaxter, 2001). L'étoile rajoutée à la figure originale indique l'espèce étudiée *Trichosomoides nasalis* du groupe des Trichocephalida appartenant à la super-famille des Trichinelloidea).

Chez les Nématodes parasites de vertébrés, il est remarquable de constater une excellente correspondance entre les clades issus de l'analyse moléculaire (Blaxter, 2001) et l'arbre phylogénétique issu de l'analyse morpho-biologique de Chabaud (1974) (Fig.7).

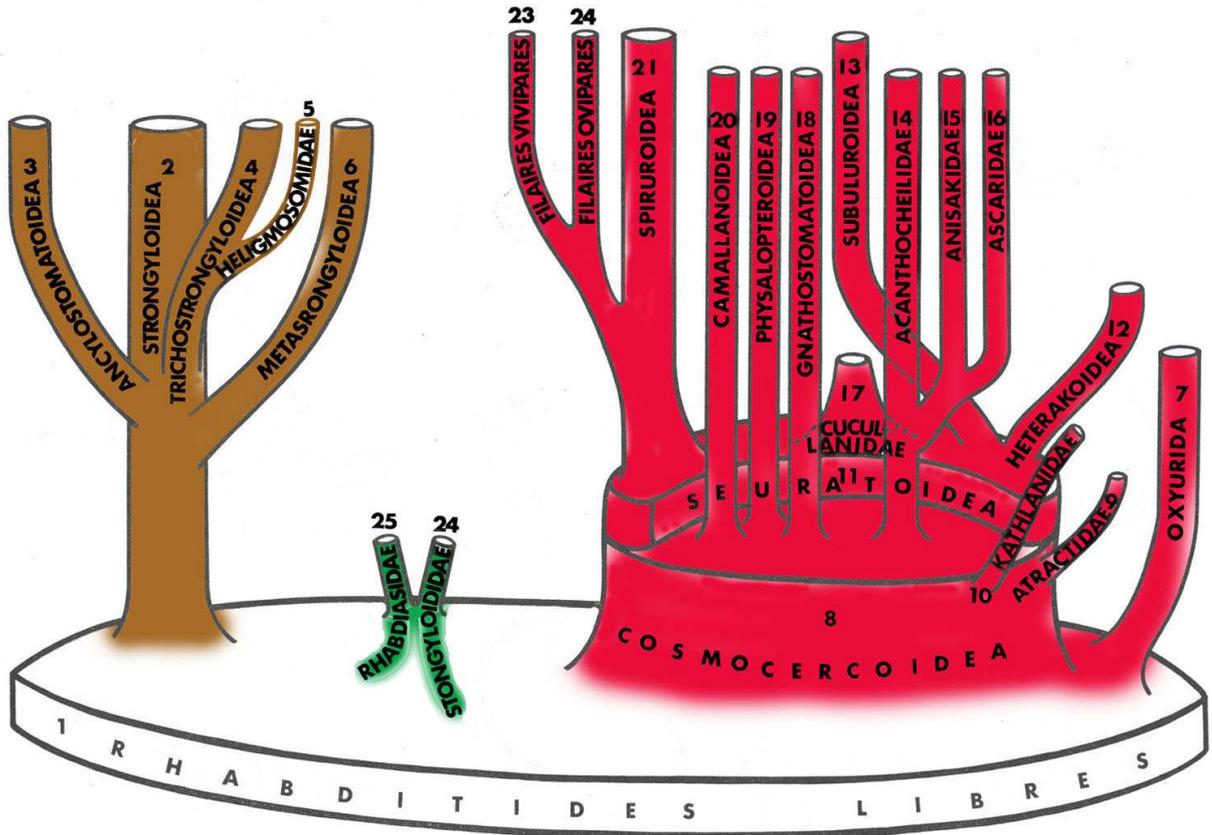


Figure 7 : Arbre phylogénétique des Nématodes Secernentea parasites de Vertébrés (extrait de Chabaud, 1974): les couleurs sont celles des clades définis par l'analyse moléculaire (voir Fig. 6) brun, (V, Strongylida), vert (IV a, Rhabdiasidae et Strongyloidea), rouge (III, Ascaridida, Spirurida, Oxyurida).

2. LES NEMATODES TISSULAIRES

Les Nématodes du tube digestif des vertébrés, en particulier ceux des rongeurs, ont été très bien étudiés, mais ceux qui sont dans les tissus sont ignorés parce qu'ils ne sont mis en évidence que par une recherche active au cours des dissections.

2.1. Cycles des Nématodes

La connaissance des cycles biologiques est un élément fondamental pour la mise en place des moyens de lutte contre le vecteur et le parasite. Deux types de parasites différents par leur mode de transmission ont été étudiés dans le passé ; nous rappelons le cycle évolutif de chacun d'eux. Il s'agit premièrement d'un phasmidien, *Onchocerca volvulus*, appartenant à la famille des Onchocercidae, qui compte 78 genres, les plus importants par leur nombre d'espèces et par leur importance en médecine humaine et vétérinaire. On connaît les cycles évolutifs et les caractéristiques des larves infestantes des 34 genres seulement (Bain et Chabaud, 1986). Le deuxième parasite est un aphasmidien qui appartient à la famille des Trichuridae, *Trichinella spiralis*, espèce très bien étudiée à cause de son tropisme musculaire et qui pose des problèmes de santé à l'homme et aux animaux. Hormis les trichines, ces aphasmidien tissulaires sont rares et à peine connus, certainement plus diversifiés que ne le suggèrent les rares études faites chez les singes (Smith & Chitwood, 1954), les rongeurs (Diagne et al., 2000), et des petits marsupiaux (Pence & Little, 1972 ; Spratt, 1982) ; ils correspondent chaque fois à une réussite évolutive particulière et étonnante.

Trichosomoides nasalis parasite de rongeur est un autre aphasmidien tissulaire de la même super famille que les trichines fait l'objet de mon travail (chapitres II & III).

2.1.1 Cycle d'une filaire : *Onchocerca volvulus*.

Onchocerca volvulus (Duke, 1990) est un parasite spécifiquement humain et appartient au clade III. Les vers adultes ont une longévité de 10 à 15 ans et mesurent 2 à 3 cm de long pour

le mâle, 50 cm pour la femelle ; ils vivent dans le derme, soit libres, soit dans des nodules fibreux, les onchocercomes ou kystes onchocerquiens. Les vers mâles et femelles s'entrelacent dans les nodules au niveau du tissu sous cutané de la peau (Fig.8A) avec parfois plusieurs sections de femelles adultes dans les tissus fibreux de l'hôte (Fig.8B) Après s'être accouplées, les femelles émettent des embryons ou microfilaries de 300 µm de long, qui se répandent dans le derme, aussi bien le jour que la nuit.



Figure 8A [2] : *Onchocerca volvulus* dans les nodules du tissu sous cutané.

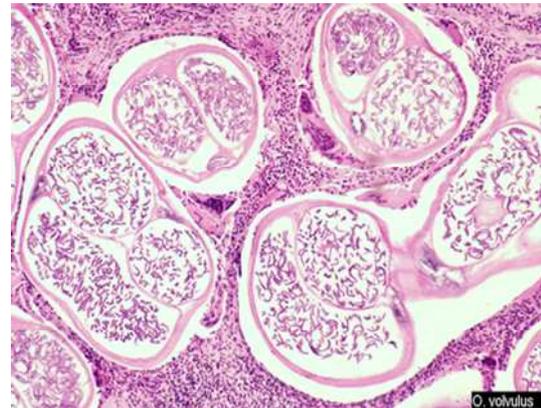


Figure 8B [3] : Sections de femelles adultes d' *Onchocerca volvulus* dans les tissus fibreux de l'hôte.

Le chiffre entre crochets représente la référence webographique.

Le cycle évolutif du parasite est à deux hôtes : l'homme, hôte définitif, et un insecte, la simule, hôte intermédiaire et vecteur (**Fig.8C**).

Les microfilaries n'évoluent pas chez l'homme. Elles doivent nécessairement être ingérées par une simule pour continuer leur développement et assurer la pérennité de l'espèce. Seule la femelle de simule pique l'homme, car, après la fécondation, elle a besoin de sang pour la maturation des œufs de chaque ponte. Lors d'un repas de sang sur une personne infectée, la simule ingère des microfilaries (L1) qui vont subir des transformations pour donner des larves L3.

Le cycle parasitaire : La simule s'infecte lors d'un repas sanguin en prélevant, dans le derme d'un malade, des microfilaries qui évoluent en larve L1, en larve L2 dans les muscles

thoraciques, puis en larve L3 qui migrent vers le labium. Au point de piqûre, les larves L3 traversent activement l'épiderme. Elles migrent sous la peau, deviennent adultes et forment des nodules onchocerciens. Les microfilaries sont libérées de ces nodules et vont migrées dans le tissu sous cutané.

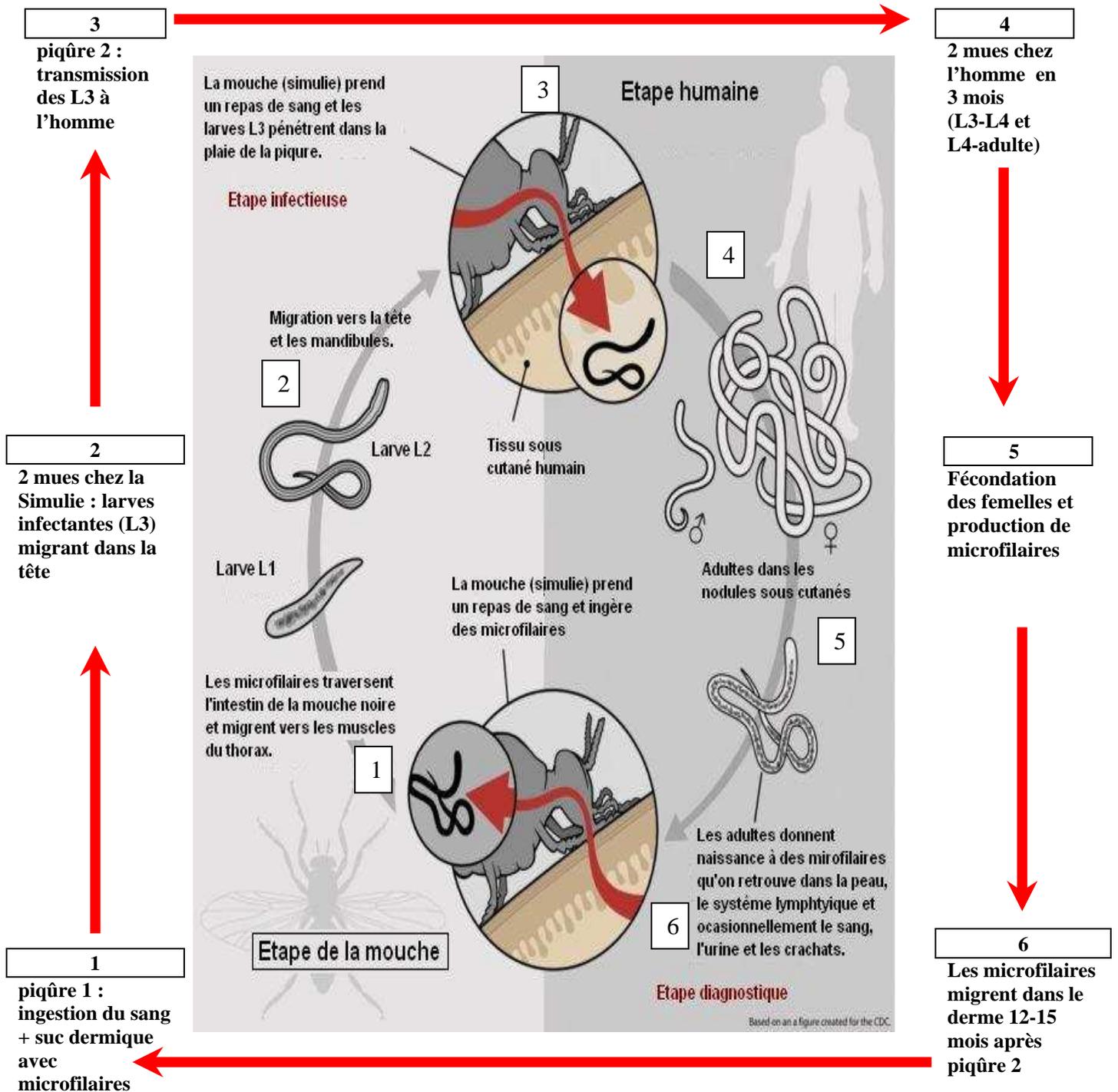


Figure 8C [4]: Le cycle de développement d'*Onchocerca volvulus* (Schéma amélioré)
Le chiffre entre crochets représente la référence webographique.

Très souvent la maladie n'a pas de symptômes, mais l'infection oculaire donne toute sa gravité à la maladie, l'onchocercose étant la première cause de cécité dans les zones infestées et la deuxième cause de cécité d'origine infectieuse dans le monde. L'atteinte oculaire donne son nom à l'onchocercose, la cécité des rivières.

2.1.1.1. Traitement

Plus de 15 millions de personnes sont atteintes dont la majorité en Afrique. Le programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'ouest (OCP) qui a engagé 11 pays dont le Sénégal est un véritable succès car, il a ramené pratiquement à zéro la transmission de la maladie.

Le traitement par l'ivermectine et l'épandage d'insecticides ont permis de maîtriser l'onchocercose; l'ivermectine n'ayant qu'un effet macrofilaricide limité. Les traitements doivent être répétés régulièrement afin de maintenir les charges microfilariennes au dessous du seuil au-delà duquel les signes cliniques de l'onchocercose peuvent apparaître. Les traitements répétés qui ont également un effet curatif entraînent une baisse des charges parasitaires au niveau oculaire, ils entraînent également une réduction de l'insémination des femelles conduisant à une interruption presque complète de la fécondation des oocytes et donc de l'embryogenèse des microfilaries (Duke et al., 1991).

2.1.2. Cycle de *Trichinella spiralis*

Trichinella spiralis est un petit ver blanc, allongé et cylindrique de la Super famille des Trichinelloidea, à peine visible à l'œil nu. Les mâles sont longs de 1,4 à 1,6 mm et larges de 40 µm et les femelles sont longues de 3 à 4 mm et larges de 60 µm.

Les oeufs intra-utérins sont en forme de tonnelet (30 à 40 µm de diamètre) avec une membrane vitelline très fine et sans vraie coque. Les embryons se développent *in utero* et se débarrassent de la membrane vitelline qui les entoure. Ils mesurent 100 à 160 µm de long sur 9 µm de large. Plus petites qu'une hématie, les larves libérées traversent facilement la lamina

propria puis les parois capillaires, spécialement grâce à un stylet buccal mobile (particulièrement développé au stade larvaire).

Le cycle de la trichine est particulier puisqu'il se réalise sans passage par une forme intermédiaire dans le milieu extérieur. En effet c'est un cycle indirect qui se fait chez un seul et unique hôte mammifère omnivore ou carnivore, dont l'homme. On le qualifie de cycle auto-hétéroxène (Bourrée, 2008).

L'hôte est à la fois:

- Hôte définitif, hébergeant les formes adultes du nématode.
- Hôte intermédiaire, où évoluent les formes larvaires.
- Vecteur : les tissus parasités d'un individu doivent être ingérés par un deuxième individu pour assurer la transmission du parasite.
- Réservoir : les larves enkystées peuvent vivre des années hébergées dans les muscles de leur hôte.

Le cycle du parasite présente la particularité de se dérouler très rapidement au sein du même hôte. Il comporte trois étapes (**Fig.9 et 10**).

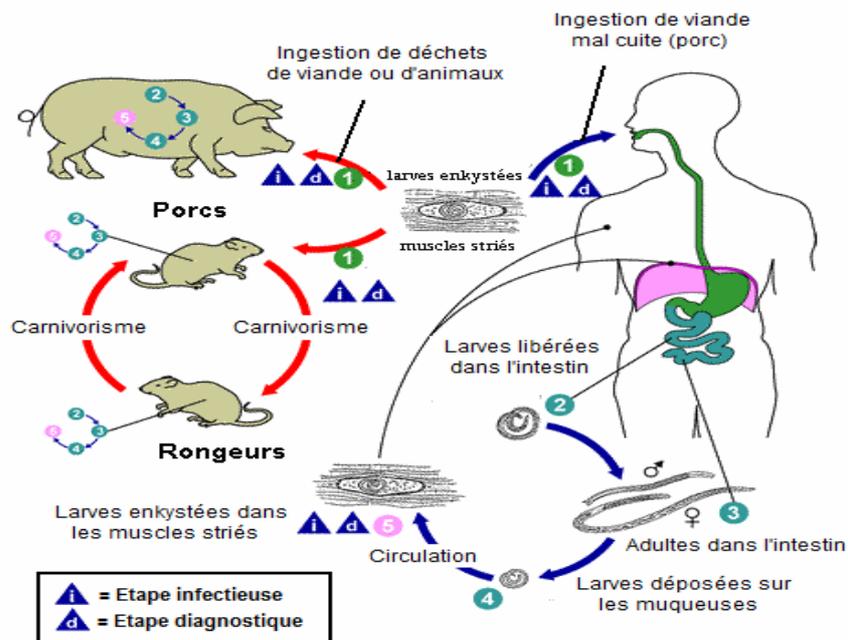


Figure 9 [5]: Cycle de développement de *Trichinella spiralis*. Le chiffre entre crochets représente la référence webographique.

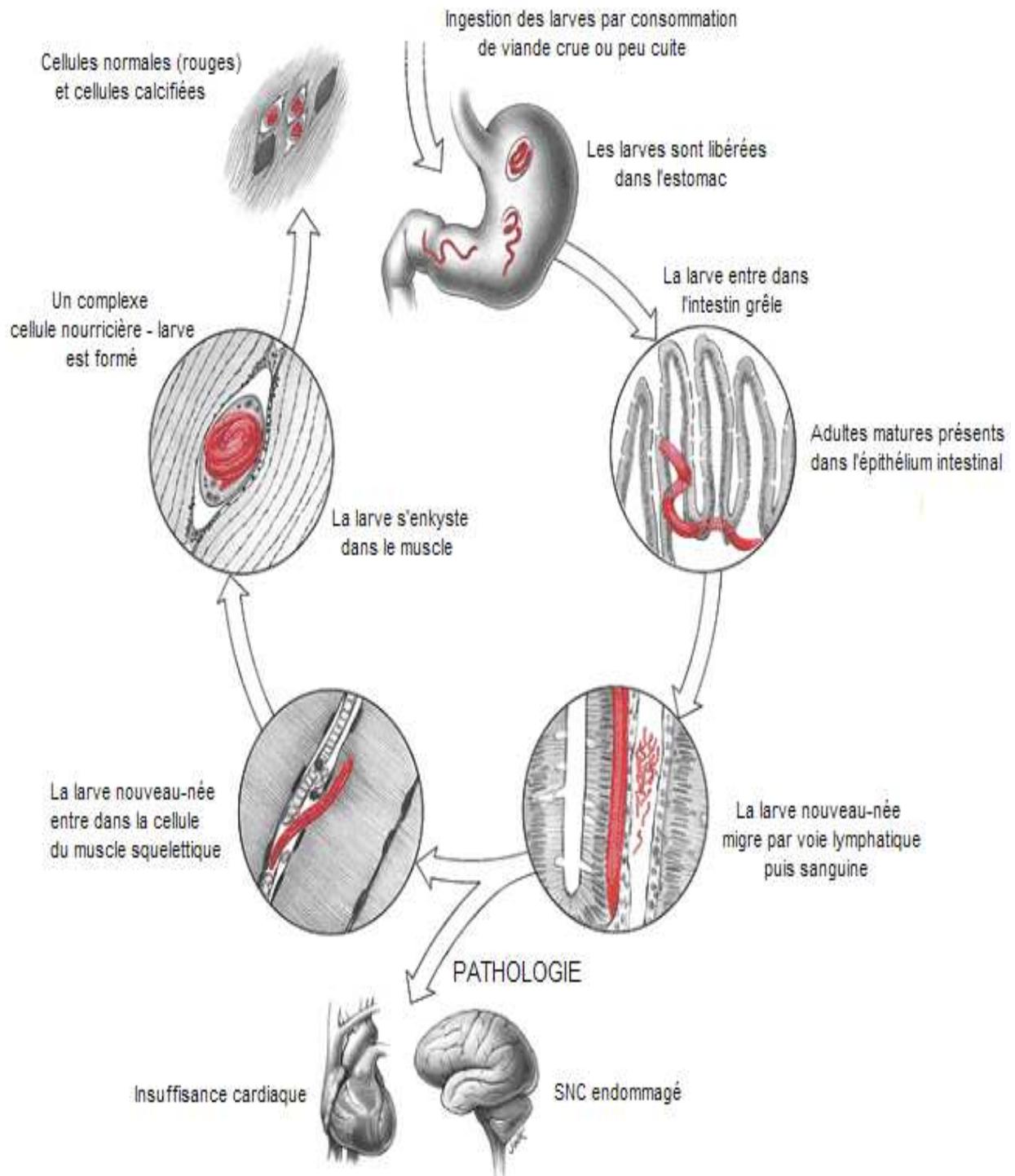


Figure 10 [6]: Phase intestinale, migration larvaire et phase musculaire chez l'Homme de *Trichinella spiralis*.

Le chiffre entre crochets représente la référence webographique.

2.1.2.1. Phase d'infestation

Celle-ci commence par l'ingestion par l'homme ou l'animal d'une viande contenant des larves enkystées. La coque kystique subit l'action des sucs digestifs libérant ainsi les larves qui vont pénétrer dans l'épithélium des villosités intestinales. Elles vont générer des tunnels de forme sinusoïdale au cours de leur migration. Ces larves subissent 4 mues successives dans le tube digestif durant les douze heures qui suivent l'ingestion de la viande. Elles deviennent adultes au bout de 36 heures, se trouvent dans l'épithélium intestinal et sont capables de s'accoupler. Après accouplement dans la lumière intestinale, les mâles succombent et les femelles fécondées s'enfoncent dans la muqueuse intestinale par les glandes de Lieberkuhn et les plaques de Peyer (voie lymphatique). Les oeufs éclosent dans l'utérus de la femelle (femelle vivipare) et sont expulsés sous forme de larves L1NN (larves « nouveau-nées »).

La ponte commence deux jours après l'accouplement et peut durer jusqu'à 6 semaines.

2.1.2.2. Phase de dissémination

Les larves L1NN migrent par voie lymphatique, puis sanguine, (seul stade libre du cycle) passant par le cœur droit et les poumons. Le cœur gauche est atteint environ un jour après l'expulsion des larves, les disperse dans la circulation générale. Les larves atteignent les muscles striés (leur lieu de prédilection) et sont à ce niveau aptes à s'enkyster

2.1.2.3. Phase d'enkystement

Une fois arrivées dans les muscles striés, les larves quittent les vaisseaux sanguins pour se disperser dans les fibres musculaires où elles seront plus aptes à poursuivre leur développement (**Fig.11**). Celles-ci s'enroulent très rapidement en spirale, d'où le nom de *spiralis* donné à la première espèce de trichine observée.

Les larves L1NN ont un tropisme remarquable pour les cellules musculaires striées squelettiques et pratiquement 100 % des larves trouveront leur niche si l'hôte n'est pas

immunisé. La cellule musculaire striée pénétrée par une L1NN va subir des transformations pour devenir une cellule nourricière qui fonctionne vraisemblablement pour nourrir et protéger le parasite (**Fig.12**). Les larves encapsulées dans les muscles survivent des années après l'infestation, (**Fig.13**) mais peuvent dégénérer à l'issue d'une synthèse abondante de collagène étouffant la cellule nourricière qui se calcifie.

Il se passe donc environ trois semaines entre l'ingestion de la viande contaminée et l'enkystement des larves dans le muscle strié.

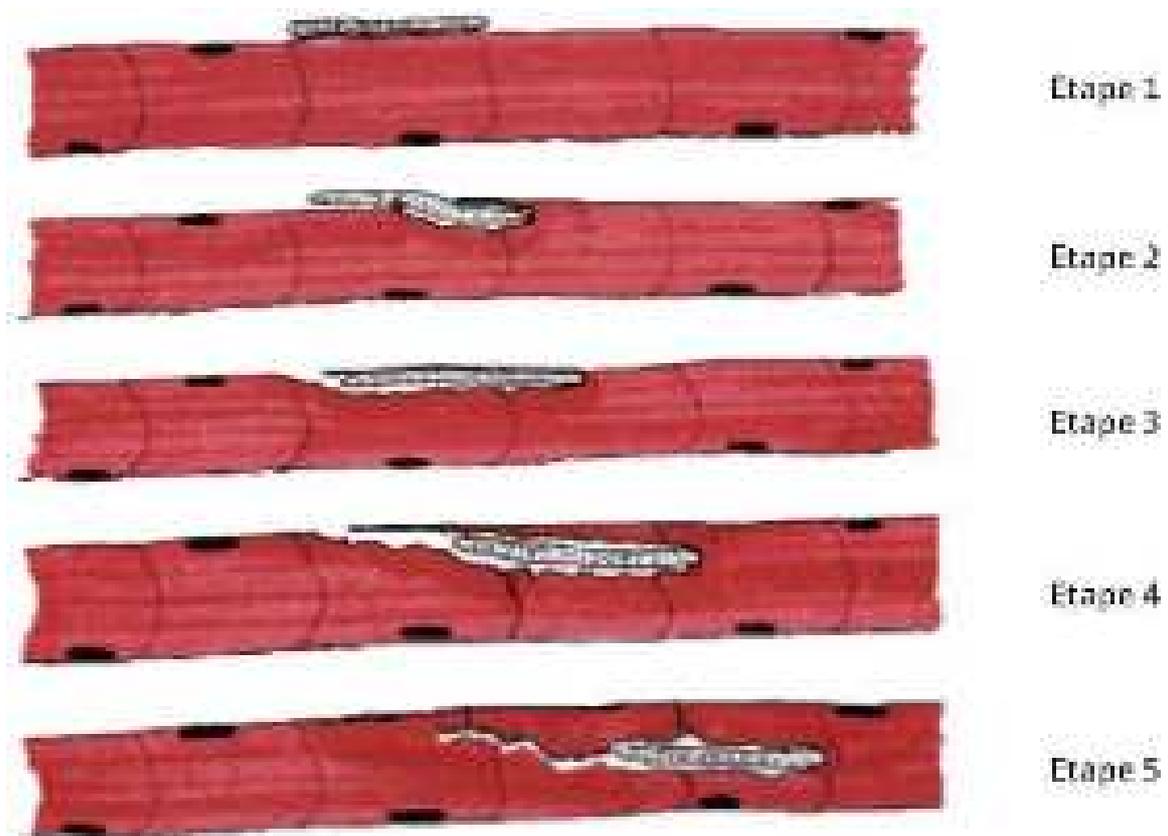


Figure 11 [7]: Schéma d'une larve infestant une fibre musculaire.
Le chiffre entre crochets représente la référence webographique.

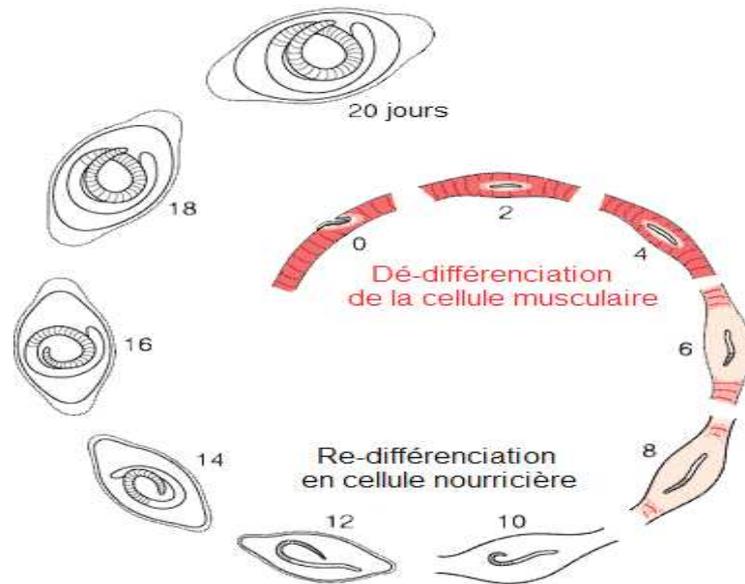


Figure 12 [7]: Formation de la cellule nourricière. Il y a au moins deux phases distinctes au processus de formation de la cellule nourricière : une différenciation de la cellule musculaire et une autre de re-différenciation de la cellule musculaire en cellule nourricière. Le chiffre entre crochets représente la référence webographique.

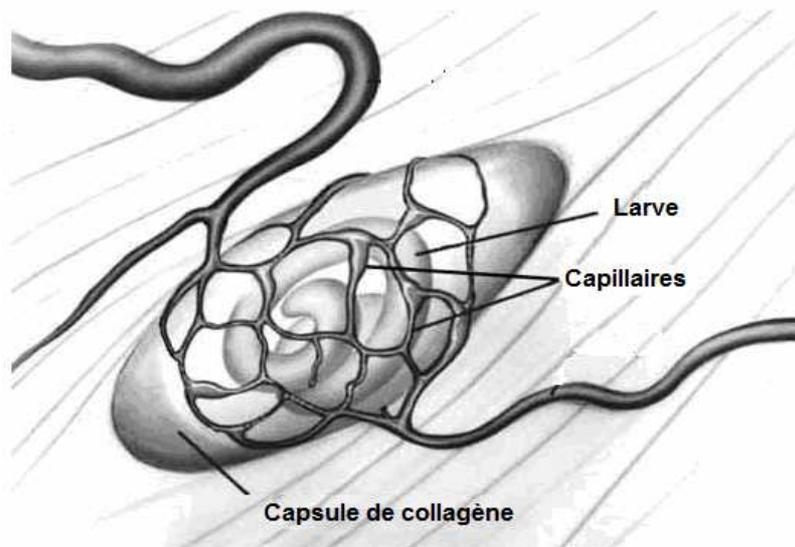


Figure 13 [7]: Schéma d'une larve de *Trichinella spiralee* dans la capsule de collagène et formation du réseau capillaire. Le chiffre entre crochets représente la référence webographique.

2.1.2.4. Traitement

La trichinellose humaine a été identifiée au Sénégal au cours des années 1960, lors de la découverte d'une épidémie impliquant des expatriés européens ayant consommé la viande de phacochère crue (Vassiliades, 1973) et plus récemment, en 2009, chez des touristes français ayant consommé du jambon de phacochère parasité (Dupouy-Camet et al., 2009).

La trichinellose est une maladie à ce jour incurable, c'est-à-dire qu'une fois les larves enkystées dans les muscles, aucun traitement ne peut avoir d'action sur elles.

L'efficacité des benzimidazoles est limitée par leur faible solubilité dans l'eau et la faible biodisponibilité dans les liquides intestinaux mais aussi la faible absorption par l'intestin. De nouvelles formulations ont été développées dans le but d'augmenter le taux d'absorption et la concentration de ces médicaments dans le sang, mais ces dernières n'ont été utilisées, jusqu'à ce jour, que dans des modèles animaux (Dupouy-Camet & Murrell, 2007).

Spécifiquement, le mébendazole et l'albendazole ont été associés au pyrrolidone de polyvinyle pour créer des dispersions solides, et l'albendazole dans des solutions liquides a été associé à des promoteurs absorbants, mélangé avec des complexes cristallins de Cyclodextrine ou avec huile polysorbate arachis 80 comme excipient (Lopez et al., 1997; Castillo et al., 1999).

De nouvelles études sont nécessaires mais cela pourrait être une approche prometteuse pour traiter des patients atteints de trichinellose.

3. TRICHOSOMOIDES NASALIS PARASITE D'ARVICANTHIS NILOTICUS

Au Sénégal il a été identifié deux groupes de Nématodes tissulaires parasites de rongeurs :

- un groupe de nématodes Filarioidea clade III, *Monanema martini* (Bain, Barlett & Petit, 1986) parasite des vaisseaux lymphatiques de la paroi de l'intestin d'*Arvicantthis niloticus*, utilisé pendant des années au Muséum National d'Histoire Naturelle en

France, comme modèle pour la pathologie onchocercienne dont les microfilaires sont concentrées dans le tissu sous cutané des lobes auriculaires (Wanji et al., 1994),

- un autre groupe de nématodes Trichinelloidea clade I, *Anatrichosoma* sp. parasite de la muqueuse stomacale de *Mastomys erythroleucus* et *Trichosomoides nasalis* parasite de la muqueuse nasale d'*Arvicanthis niloticus*.

Nous faisons ici la description de cette dernière espèce parce qu'elle fait l'objet de mon travail dans les chapitres II et III.

Trichosomoides nasalis, (Biocca & Aurizi 1961), décrit en Italie chez *Rattus norvegicus*, a été observé au Sénégal chez le muridae *A. niloticus* où il est fréquent sauf dans la région Sud ; il parasite la muqueuse nasale de son hôte entraînant des lésions inflammatoires importantes (Diagne et al., 2004). Il est surtout remarquable par son dimorphisme sexuel. Le mâle appartient à la catégorie des mâles nains ; il est beaucoup plus petit que la femelle et présente la particularité unique chez les nématodes, de vivre obligatoirement dans les voies génitales de la femelle. A cette modalité biologique correspond au point de vue morphologique l'absence d'appareil copulateur. Nous rappelons ici dans ce qui suit la position systématique et une description sommaire du parasite.

3.1. Position systématique de *Trichosomoides nasalis*

Dans la classification conventionnelle du Règne Animal, *Trichosomoides nasalis* peut être classé comme suit :

Embranchement	Nématode
Classe :	Adenophorea
Sous-classe	Enoplia
Ordre	Trichocephalida
Sous ordre	Trichinellina
Super-Famille	Trichuroidea
Famille	Trichuridae
Sous-Famille	Trichosomoidinae

Actuellement, avec la classification phylogénétique les Trichinelloidea appartiennent l'ordre des Trichocephalida du clade I (Blaxter et al., 1998)

3.2. Description de *Trichosomoides nasalis*

- La femelle (Fig.14) mesure 16 à 22 mm de long sur 220 à 250 µm de large, le tiers antérieur du corps est mince, constriction à la hauteur de la jonction œsophage-intestin et vulve; reste du corps épais, sauf une courte portion postérieure amincie et brusquement recourbée ; extrémité postérieure arrondie. Stylet identifié chez la plupart des spécimens. Bandes bacillaires latérales (Fig.15) montrant des pores de taille variable au sommet des mamelons. Oesophage avec une partie musculaire et une autre glandulaire. Intestin élargi dans la région postérieure ; rectum court ; anus terminal ; vulve au niveau de la jonction œsophage-intestin ou un peu en arrière, avec une lèvre antérieure saillante.

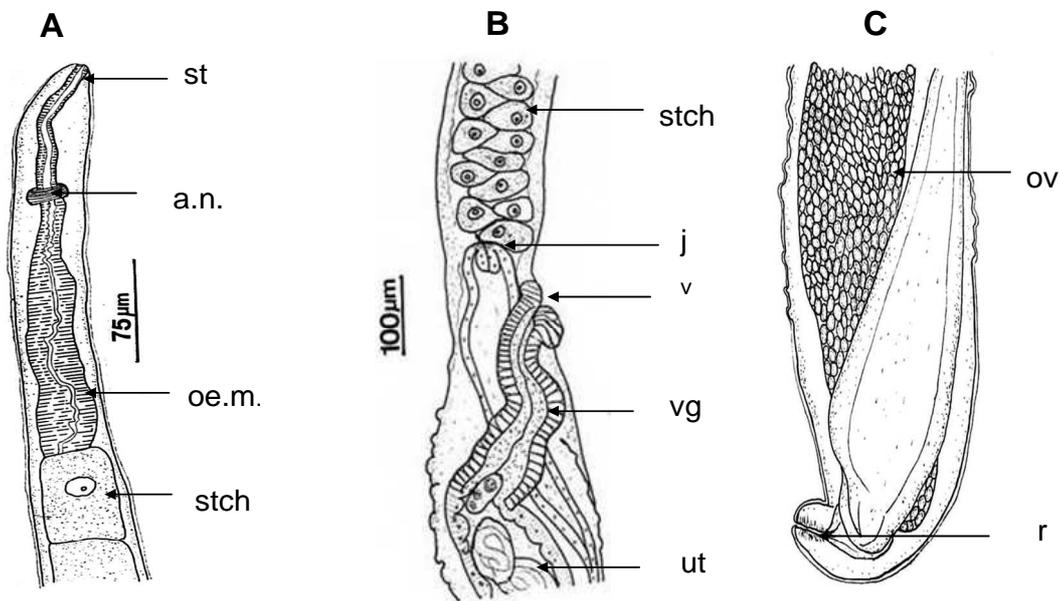


Figure 14 : Femelle de *Trichosomoides nasalis* : **A.** Extrémité antérieure ; **B.** Jonction œsophage intestin ; **C.** Extrémité postérieure (Diagne et al., 2000). Légende : a.n. : anneau nerveux ; j : jonction œsophage intestin; oe.m. : œsophage musculaire ; ov : ovaire ; r : rectum ; st : stylet ; stch : stichocyte ; v : vulve ; vg : vagin. . Barres d'échelles A : 75µm; B-C: 100µm

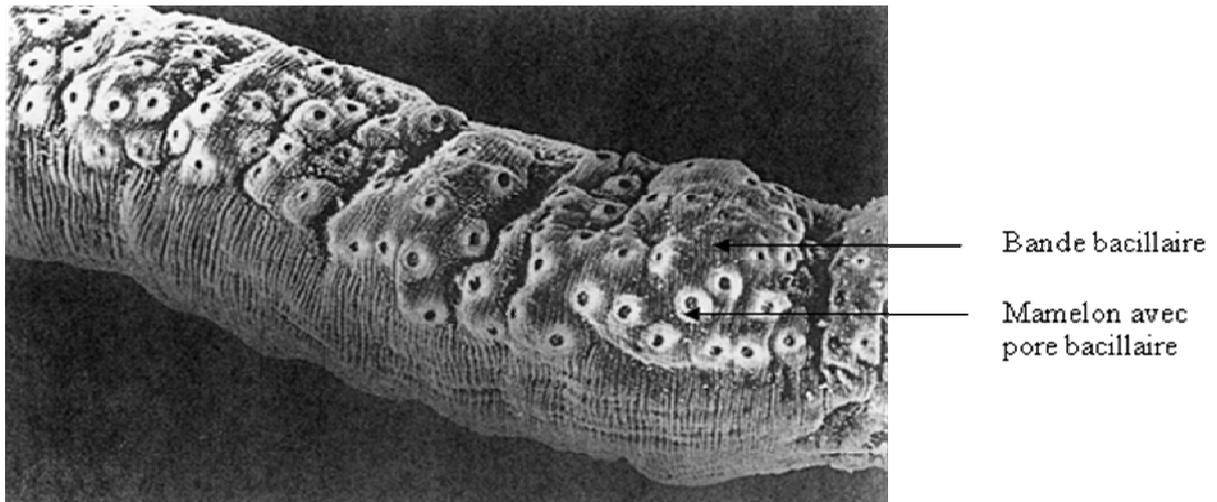


Figure 15 : Détails au microscope à balayage d'une bande bacillaire à mi-corps chez la femelle de *Trichosomoides nasalis* (Diagne et al., 2000)

- Le mâle (**Fig.16**), de petite taille mesure 1,04 à 2,17 mm de long et 30 à 50 μm de large, stylet buccal présent, œsophage musculaire puis glandulaire avec formation graduelle du stichosome dont les stichocytes ont des noyaux plus ou moins régulièrement opposés ; au niveau de la jonction œsophage intestin, présence d'une valvule œsophagienne relativement volumineuse ; cloaque court, canal éjaculateur deux fois plus court que le cloaque, bandes bacillaires latérales avec un nombre variable de files de cellules.

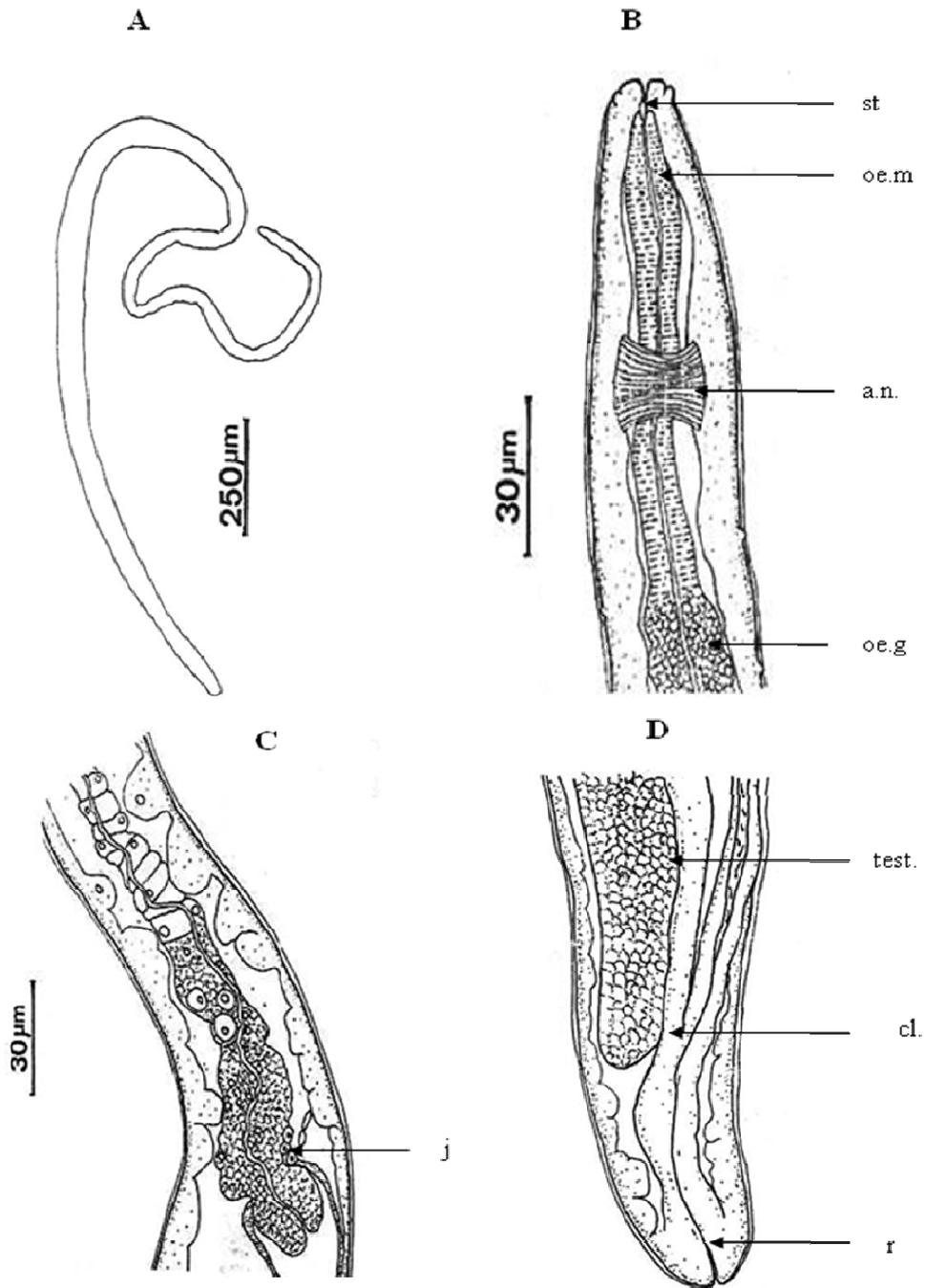


Figure 16 : Mâle de *Trichosomoides nasalis* (Diagne et al., 2000): **A.** Silhouette du mâle ; **B.** Extrémité antérieure ; **C.** Jonction œsophage-intestin ; **D.** Extrémité postérieure. Légende : a.n. : anneau nerveux ; cl : cloaque ; j : jonction œsophage-intestin ; oe.g : œsophage glandulaire ; oe.m : œsophage musculaire st : stylet ; test : testicule. Barres d'échelles : A : 250µm ; B, C et D : 30µm.

- Les œufs en tonnelets caractéristiques des Trichinelloidea sont longs de 75 à 82µm et larges de 48 à 55µm; cylindriques quand ils sont très jeunes avec bouchons polaires très saillants ; œufs mûrs embryonnés en amande à coque brun doré. (**Fig.17A**)
- La larve a un corps un peu trapu dans la partie antérieure ; œsophage occupant les deux tiers du corps ; l'intestin est court ; le stylet est présent ; l'anneau nerveux est très visible de même que les stichocytes (**Fig.17B**).

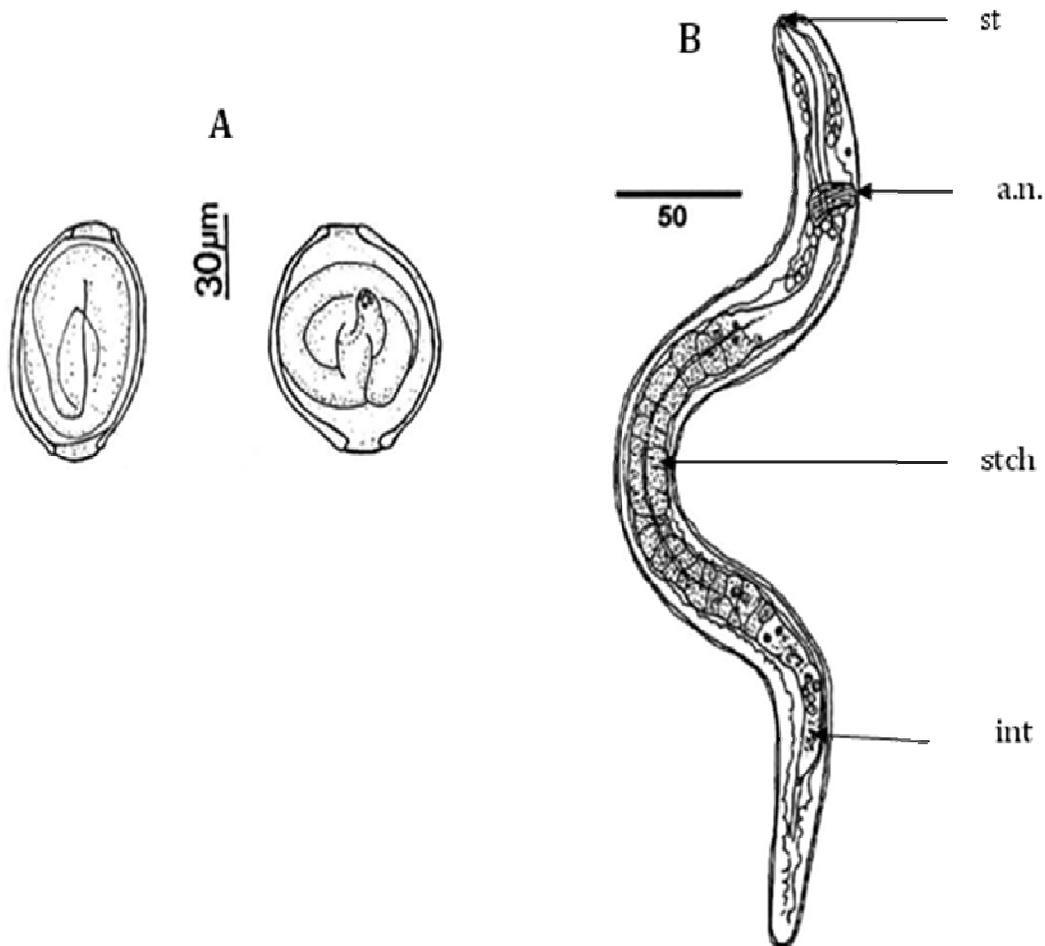


Figure 17 : A. Œufs embryonnés de *T. nasalis* (Diagne et al., 2000); B. Larve de 3 jours de *T. nasalis*. (Fall et al., 2012). Légende : a.n. anneau nerveux ; int : intestin ; st : stylet ; stch : stichocyte. . Barres d'échelles : A : 30µm ; B : 50µm

**CHAPITRE II : DEVELOPPEMENT DE *TRICHOSOMOIDES NASALIS* CHEZ
*ARVICANTHIS NILOTICUS***

1. Introduction

Arvicanthis niloticus (Geoffroy) est une espèce de rongeur Africain de la famille des Muridae. Il est principalement distribué dans le Sahel et la savane de la ceinture soudano-zambézienne, qui englobe le Sénégal. Ses habitats naturels sont: la savane sèche, la savane humide, les zones arbustives subtropicales ou tropicales humides, les terres arables, les pâturages, les jardins ruraux, urbains, les terres irriguées et inondées de façon saisonnière et les terres agricoles. Cependant, sa biologie n'est pas très bien connue (Musser & Carleton, 2005).

Les Trichosomoidinae avec les genres *Trichosomoides* Railliet, 1895 et *Anatrichosoma* Smith & Chitwood, 1954, sont des nématodes rarement étudiés. Ils sont essentiellement des parasites de la couche épithéliale de la muqueuse de différents organes (Anderson, 2000). Les adultes de certains d'entre eux envahissent le tube digestif, comme chez l'espèce *Trichinella spiralis* (Owen, 1835) (cf Gardiner, 1976) qui est largement étudiée, d'autres parasitent la peau, la cavité buccale, la cornée et la sclérotique, les voies et les cavités nasales et la vessie de leurs hôtes. Les espèces *Trichosomoides* spp. parasitent les deux derniers organes (Antonakopoulos et al., 1991; Serakides et al., 2001; Diagne et al., 2000 & 2004).

Le mâle de *Trichosomoides* sp. est nain et vit dans l'utérus de la femelle. Des œufs embryonnés sont pondus et expulsés avec les fèces, l'urine ou le mucus nasal. Les hôtes sont infectés lorsqu'ils ingèrent ces œufs. À ce jour, le développement chez l'hôte n'a été étudié que chez *Trichosomoides crassicauda* (Bellingham, 1840), un parasite de la vessie des rats (Yokogawa, 1921; Thomas, 1924). Les résultats de Diagne et al., (2000) sur *Trichosomoides nasalis* Biocca & Aurizi, 1961 parasite fréquent des cavités nasales d'*Arvicanthis niloticus* au Sénégal, ont encouragé d'autres études sur la biologie de ce genre.

2. Matériel et méthodes

2.1. Lieux de captures des *Arvicanthis niloticus* (Fig.18)

Les *Arvicanthis niloticus* ont été piégés dans les champs tel que décrit par Diagne et al., 2000. Ils ont été capturés près de Dakar dans les Niayes (14 ° 50'270"N, 17 ° 12'360"O) et dans la région de Saint Louis, à Savoigne (16 ° 09'247"N, 16 ° 18 '225"O).

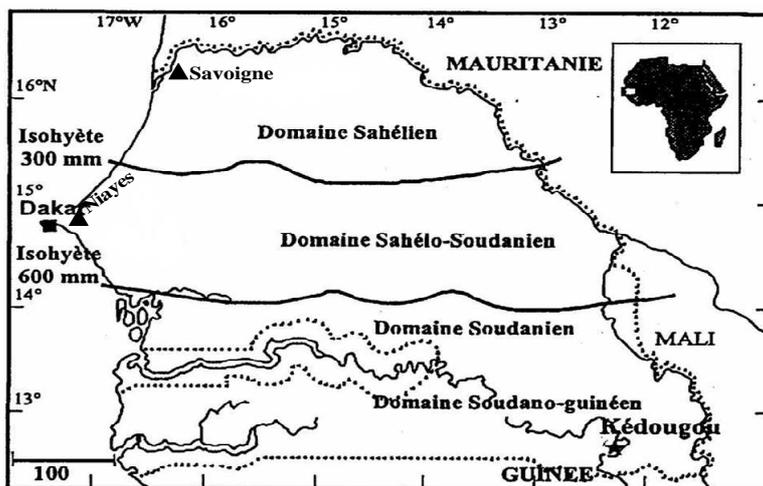


Figure 18 ▲ Sites de piégeage des *Arvicanthis niloticus*

2.2. Technique de piégeage des *Arvicanthis niloticus*

Le piégeage est la technique la plus couramment employée pour la capture des petits mammifères tels que les rongeurs.

Les pièges utilisés sont de type Firobind et Manufrance. Ils sont appâtés avec de la pâte d'arachide. Ils sont posés, appâtés et ouverts en fin d'après midi, les captures étant relevées le lendemain matin.

Ce piégeage s'effectue en pleine brousse dans un milieu considéré assez propice à être un refuge pour les rongeurs, même pendant les périodes de faible densité.

Dans les deux sites de capture, du fait d'une présence importante de rongeurs à activité surtout diurne, tous les pièges sont fermés après un relevé tardif du matin et ré ouverts pendant l'appâtage, relativement tôt l'après midi. Cela a pour but d'éviter une forte mortalité des rongeurs par la chaleur tout en augmentant la probabilité de capture d'*A. niloticus*.

2.3. Elevage et entretien des *Arvicanthis niloticus*

L'élevage d'*A. niloticus* sains est maintenant possible, ce qui nous a permis de maintenir cycliquement *T. nasalis* chez son hôte avec possibilité d'étudier son développement. Les animaux capturés ont été utilisés pour la reproduction à l'animalerie du département de Biologie Animale de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et ont fourni tous les jeunes rongeurs utilisés dans cette étude. Les animaux d'expérience ont été maintenus par groupes de 2 à 6 dans des cages en polycarbonate transparents d'une superficie de 549 cm² avec des couvercles en acier inoxydable. Les animaux avaient accès à l'eau dans des biberons en propylène de 100 ml ou 500ml avec becs en acier inoxydable et à une nourriture disponible dans le commerce (Les Moulins Sentenac, Dakar, Sénégal).

2.4. Infestation expérimentale des *Arvicanthis niloticus*

Les adultes de *T. nasalis* utilisés pour les infestations expérimentales ont été récoltés à partir d'*A. niloticus* naturellement ou expérimentalement infectés. Les rongeurs sauvages sont tués par étirement, et les femelles gravides de *T. nasalis* ont été récoltées de la muqueuse nasale en conformité avec les études antérieures de Diagne et al., 2000. De jeunes *A. niloticus* âgés de deux à quatre semaines ont été infectés expérimentalement par voie orale ou par voie intrapéritonéale.

2.4.1. Infestation par voie orale

L'infestation par voie orale est utilisée pour une première série de rongeurs (n = 102). Les rongeurs sont d'abord soumis à un jeûn hydrique de 24 heures, avant de recevoir par voie orale 1 à 4 femelles gravides fraîchement récoltées à l'aide d'une seringue (sans aiguille) que les rongeurs vont lécher. Le liquide restant est ensuite placé au fond de la cavité buccale. Depuis que nos tentatives d'infestation des rongeurs avec des femelles intactes se sont avérées

sans succès, chaque femelle a d'abord été perforée, à l'aide d'une aiguille, sous un microscope. Cela semblait faciliter la libération des œufs et certaines larves.

2.4.2. Infestation par voie intrapéritonéale

Les rongeurs de la deuxième série (n = 52) infectés par voie intra péritonéale reçoivent sur la ligne ventrale dans la partie antérieure de l'abdomen une injection d'un grand nombre de larves mobiles nouvellement écloses récupérées de femelles matures de *T. nasalis*. Environ 50 larves mobiles sont récupérées de chaque femelle de *T. nasalis*. Le nombre exact de larves administrées n'a pas été déterminé et varie de quelques unes à 35 larves mélangées avec des œufs embryonnés.

2.5. Dissection des *Arvicanthis niloticus* expérimentalement infectés

Les *A. niloticus* expérimentalement infectés ont été tués au chloroforme pour éviter les saignements. La peau a été enlevée et jetée pour éviter une éventuelle contamination par des nématodes phorétiques qui pourraient interférer avec les larves de *T. nasalis* aux stades précoces de leur développement. Les cavités thoracique et abdominale ont été ouvertes séparément et chacune plongée quelques minutes dans une solution saline normale (NaCl 0,9%) pour récupérer tous les vers (chiffres correspondants en italiques sur le tableau 1).

Pour la cavité thoracique, les vaisseaux sanguins du cœur ont été ligaturés ce qui nous permis de faire une ponction du sang cardiaque. Ensuite, le cœur, les poumons et la trachée ont été dilacérés séparément dans une solution saline normale.

Pour la cavité abdominale, l'aorte, la veine cave et des vaisseaux collatéraux ont été ligaturés, isolés et leur sang examiné. Comme dans des études précédentes sur la migration des nématodes du groupe des filaires (Maréchal et al., 1996; Wanji et al., 1990), les nœuds lymphatiques abdominaux principaux (ganglions mésentériques et la chaîne lombo-iliaques)

ainsi que les ganglions cervicaux ont été prélevés et disséqués. Le mésentère, le tube digestif, le foie et les reins ont été prélevés et dilacérés séparément.

Initialement, les muscles abdominaux et thoraciques ont été grossièrement lacérés et observés (chiffres normaux dans le tableau I). Plus tard, afin d'améliorer les taux de récupération des larves, un effort a été fait pour disséquer finement les muscles abdominaux et thoraciques, ainsi que le diaphragme et la langue (chiffres en gras dans le tableau I). La muqueuse nasale a été disséquée à partir de trois jours après l'infestation.

Tous les échantillons d'organes, de tissus et de sang, ont été placés dans des boîtes de Pétri séparées contenant une solution saline normale, chaque échantillon a été examiné à plusieurs reprises, en commençant une heure après la dilacération. Les boîtes de Pétri ont passé la nuit au réfrigérateur entre 4 et 7°C et réexaminées. Les boîtes de Pétri contenant du sang ont finalement été traitées avec de l'acide acétique à 5% pour lyser les globules rouges, dans le but d'éclaircir le milieu, et réexaminées à nouveau.

Parmi les 102 rongeurs infectés par voie orale, 67 ont été disséqués à partir de 45 minutes jusqu'à J17 après l'infestation suivant le protocole complet (voir le tableau 1), tandis que la muqueuse nasale a été disséquée sur 35 rongeurs examinés entre J18 et J74 après l'infestation. Les 52 rongeurs infectés par voie intrapéritonéale ont été disséqués à partir de 2 heures jusqu'à J32 après l'infestation et certains ont été partiellement fixés pour l'histologie, (tableau 2).

2.6. Analyse morphologique des vers

Les larves récoltées ont été fixées dans du formol à 10% et les vers adultes dans de l'alcool chaud de 70°. Les femelles gravides de 40 jours ou plus, contenant des œufs embryonnés sont utilisées pour de nouvelles infestations.

La majorité des vers ont été éclaircis avec du lactophénol et observés sous un microscope doté d'une chambre claire. Leurs dimensions ont été mesurées sur les dessins comme décrit par Diagne et al. (2000). Sauf indication contraire, les mesures sont en micromètres.

Des études détaillées ont été réalisées sur plusieurs vers récupérés sur les rongeurs qui ont reçu une ou deux injections pour identifier les différents stades de développement du parasite.

2.7. Histologie

Les rongeurs sont infectés par voie intrapéritonéale et fixés pour l'histologie entre J14 et J19, la paroi abdominale ou la tête ou les deux sont fixés in toto dans du formol à 10% (tableau 2). Après dissection, des échantillons de muscles des parois abdominale et thoracique, et la muqueuse nasale ont été préparés comme décrit par Diagne et al.(2004), inclus dans de la paraffine puis coupés (coupes de 5 microns) et colorés avec hémalum de Mayer et éosine.

3. Résultats et analyse

3.1. Prévalence et intensité moyenne de l'infection

Les deux voies d'infestation ont réussi, comme le montre les dissections de la muqueuse nasale à J30 et au delà.

- Avec la voie orale, la prévalence de *T. nasalis* est de 100% (n = 8 rongeurs de J33 à J74 après l'infestation). La charge parasitaire moyenne est de 5 (extrêmes: 1-15), basée sur le nombre de femelles qui hébergent presque toutes un mâle intra-utérin.

De J18 à J25 après l'infestation, la prévalence pour la muqueuse nasale est de 29,6% (n = 27 rongeurs), ce qui suggère que des vers sont encore en migration dans les tissus trois semaines après l'infestation.

De 45 minutes à J17 après l'infestation, la prévalence est de 46,3% (n = 67), avec une charge parasitaire de 6,1 (extrêmes 1-24), basée sur la somme des larves de sexe indéterminé, et les larves mâles et femelles.

Il est évident que les larves, une fois dispersées dans les tissus, toutes n'ont pu être récupérées, même après une amélioration des techniques de dissection.

- Par la voie intrapéritonéale, la prévalence finale est de 100% (n = 2 rongeurs; J30 et J32 après l'infestation) et la charge parasitaire moyenne basée sur les vers femelles est de 3,5 (extrêmes 3-5).

De J4 à J18 après l'infestation, la prévalence est de 75% (n = 28), avec une charge parasitaire de 5,1 (extrêmes 1-6).

3.2. Localisation de *T. nasalis* chez *A. niloticus*

3.2.1. Localisation de *T. nasalis* chez les *A. niloticus* infectés par voie orale

Après infestation par voie orale, tous les organes de l'hôte ont été examinés à partir de 45mn jusqu'à J17 pour étudier la migration larvaire.

Des larves nouvellement écloses et des œufs larvés pourraient rester dans l'œsophage et l'estomac jusqu'à 2 heures après l'infestation, mais pas plus tard que cela. Parmi les nombreux organes et tissus examinés, seuls quelques uns étaient parasités. En effet, les vaisseaux mésentériques, les vaisseaux collatéraux, les gros vaisseaux sanguins (aorte, veine cave), les ganglions lymphatiques, les reins, les intestins, la rate et la langue n'ont jamais été parasités donc ne figurent pas dans le tableau 1. Les organes ou les tissus suivants ont rarement été infectés et sont également exclus du tableau 1: une seule larve dans l'œsophage de 1 sur 52 rongeurs deux heures après l'infestation, une larve dans le cœur et le foie de 1 sur 57 rongeurs à J5 après l'infestation; une larve dans le diaphragme de 1 sur 49 rongeurs deux heures après l'infestation et de 1 sur 67 rongeurs dans la paroi musculaire du thorax 15jours après l'infestation.

La muqueuse nasale est infectée à partir de J17 après l'infestation et chez un rongeur sur 54, on a récolté 10 *T. nasalis* dans la muqueuse nasale.

Les organes et les tissus restants ont été très souvent infectés (tableau I).

D'abord la cavité abdominale avec 1, 13 et 6 larves récoltées, respectivement à 4, 6 et 8 heures après l'infection (chiffres en italiques dans le tableau I).

Les poumons de 13 des 45 rongeurs examinés soit (28,9%) de 1 heure à J9 après l'infection sont parasités avec une charge parasitaire variant de 1 à 19 larves par hôte. En outre, des œufs embryonnés étaient présents dans les poumons chez cinq de ces rongeurs.

Les muscles abdominaux de 17 sur 56 des rongeurs examinés à partir de 8 heures jusqu' à J17 soit (30,4%) ont été parasités avec une charge parasitaire variant 1 à 19 larves par hôte.

Tableau I : Localisation de *Trichosomoides nasalis* chez les *Arvicanthis niloticus* infectés par voie orale (n = 67)

D.p.i. ^a	Infectés/ hôtes disséqués	Estomac	Poumons	Cavité abdominale	Nombre de vers/hôte
45 mpi	0/1	0	0	0	0
60 mpi	1/2	0	2/0	0	2/0
90 mpi	1/1	3*	5	0	8
2 hpi	3/3	4*/0/2*	19/1/0	0	23/1/2
	1/2	1*/0	0/0	0	1/0
4 hpi	1/1	0	4	<i>1</i>	5
6 hpi	1/1	0	1*	<i>13</i>	14
8 hpi	1/2	0/0	0/0	<i>0/12 + 6</i>	0/18
2 dpi	0/1	0	0	0	0
3 dpi	1/1	0	0	5	5
	0/1	0	0	0	0
4 dpi	2/2	0	0/ 1*	10/ 0	10/1
	1/1	0	0	8	8
	0/1	0	0	0	0
5 dpi	1/1	0	1	4	5
	0/1	0	0	0	0
6 dpi	0/2	0	0	0	0
7 dpi	3/7	0	6*/3/1	0/0/0	6/3/1
	1/1	0	0	19	19
8 dpi	1/4	0	10*	3	13
	1/1	0	0*	5	5
	0/1	0	0	0	0
9 dpi	1/6	0	2	0	2
	1/2	0	0	2	2
10 dpi	1/6	0	0	1	1
12 dpi	0/2	nd	0	0	0
	1/1	nd	0	5	5
13 dpi	0/1	nd	0	0	0
	1/1	nd	nd	4	4
14 dpi	1/1	nd	nd	2	2
	1/1	nd	nd	3	3
	1/1	nd	nd	1	1
15 dpi	0/1	nd	0	0	0
	0/1	nd	nd	0	0
16 dpi	1/3	nd	nd	2	2
17 dpi	1/2	nd	nd	2	2
Total	31/67	10	56	108	174

^adpi: Jour d'autopsie ; hpi: heure d'autopsie ; mpi: minutes d'autopsie.

^bnd: non déterminer, *larves non développées et œufs embryonnés

^c texte normal : dissection grossière des muscles; **gras** : dissection fine des muscles ; *italique*, cavité abdominale.

3.2.2. Localisation de *T. nasalis* chez les *A. niloticus* infectés par voie intrapéritonéale

Chez les rongeurs infectés par voie intrapéritonéale (tableau II), les larves sont absentes des organes et tissus suivants: la rate, les ganglions lymphatiques, les cavités du cœur, les poumons, le foie, le diaphragme et la langue. Ces organes ne sont donc pas représentés dans le tableau II.

De 2 à 8 heures après l'infestation, 81% des larves récupérées ont été trouvées dans le liquide abdominal, lors de l'ouverture et rinçage de la cavité abdominale.

Les premières larves ont été retrouvées dans la paroi abdominale six heures après l'infestation et à J4 toutes les larves sont dans la paroi abdominale.

De J4 à J20 après l'infection, les parasites ont été trouvés soit dans la paroi abdominale et / ou thoracique et à partir de J20, dans la muqueuse nasale.

Tableau II : Localisation de *Trichosomoides nasalis* chez les *Arvicantis niloticus* infectés par voie intrapéritonéale ($n = 52$)

D.p.i. ^a	Infectés/ hôtes disséqués	Abdomen ^c	thorax ^d	Muqueuse nasale	Nombre de vers/hôte
2 hpi	1/1	0 + 19	0	nd ^c	19
4 hpi	1/1	0 + 20	0	nd	20
6 hpi	1/1	2 + 33	0	nd	35
8 hpi	1/1	13 + 0	0	nd	13
	1/1	7 + 20	0	nd	27
4 dpi	1/1	4 + 0	0	0	4
9 dpi	1/1	5 + 0	0	0	5
12 dpi	1/1	6 + 0	0	0	6
	2/5	0/1/0/0/1	0	0	0/1/0/0/1
14 dpi	4/4	2/1/1/1	0/2/0/0	0	2/3/1/1
14 dpi histo^b	1/3	1 histo	0	0 histo	1
15 dpi	1/1	2	0	0	2
16 dpi	1/2	0/0	0/1	0	0/1
17 dpi	4/4	0/0/0/3	4/2/1/0	0	4/2/1/3
17 dpi histo^b	1/4	1 histo	0	0 histo	1
18 dpi	1/1	0	1	0	1
18 dpi histo^b	0/4	0 histo	0	0 histo	0
19 dpi histo^b	4/4	0 histo	1/1/2/2	0 histo	1/1/2/2
20 dpi	3/5	0	0/0/0/3/0	1/0/0/0/2	1/0/0/3/2
21 dpi	2/3	0	0	0/5/4	0/5/4
30 dpi	2/2	0	0	3/3	3/3
32 dpi	2/2	0	0	5/3	5/3
Total	36/53	143	20	26	189

^adpi: Jour d'autopsie hpi: heure d'autopsie.

^bhisto: Le muscle abdominal et la muqueuse nasale sont utilisés pour l'étude histologique.

^c texte normal : dissection grossière des muscles; **gras** : dissection fine des muscles ; *italique*, cavité abdominale

^dnd: non déterminer.

3.3. Morphogenèse larvaire : Stades et mues larvaires

Les larves extraites des œufs et les larves récupérées à partir des résidus de l'abdomen 6 heures après l'infestation ont en moyenne 288.7 μm (250-310) de long et 15,3 μm (12-18) de large (n = 8). On ne note pas de différence apparente sur la croissance des vers quelle que soit la voie d'infestation utilisée. Par conséquent les données obtenues avec les deux voies d'infestation, orale et intrapéritonéale, ont été regroupées. Les longueurs de 93 vers, récupérés de 6 heures à J24, ont été mesurées (**Fig. 19**).

Jusqu'à J9, la croissance des larves est très lente, ne dépassant pas 0,5 mm. Par la suite, la croissance devient très rapide et les larves mâles et femelles ainsi que les larves de sexe indéterminé sont en mue (**fig. 20 et 21**).

Les données sur les dates de mue et les mesures détaillées des parasites issus de l'infestation par voie intrapéritonéale sont présentées dans le Tableau III.

Les larves de tailles croissantes (490, 750, 1425) sont en mue respectivement à J9, J12 et J17 (**Fig. 19**).

A J19, les mâles en mue IV ont environ 1500 μm de long (Tableau III).

Deux femelles en mue IV (la vulve fermée, le tractus génital développés), l'une dans le thorax et l'autre dans la muqueuse nasale, ont 4500 et 4650 μm de longs respectivement à J19 et J21 après l'infestation (Tableau III).

Le premier mâle adulte a été trouvé à J17 après l'infestation et mesure 2000 μm de long alors que la première femelle adulte a été trouvée à J21 avec 4700 μm de long (Tableau III).

La croissance des vers dans le temps est présentée par la Figure 19.

Plusieurs vers en mue de différentes tailles ont également été récupérés à partir de rongeurs réinfectés. Ils ne pouvaient pas être datés, mais ont été utilisés pour l'analyse morphologique.

Le stylet buccal et des bandes bacillaires étaient présents chez toutes les larves et les adultes étudiés.

A J3, l'œsophage occupe les 2 / 3 antérieur du corps, et le stichosome pourrait être vu dans la moitié postérieure de l'œsophage, à ce stade, l'intestin est court.

Pendant la croissance du parasite, le ratio œsophage / longueur du corps a été réduit à 1 / 2 chez le mâle et 1 / 3 chez la femelle. Dans les deux sexes, des stichocytes sombres alternent plus ou moins régulièrement avec des stichocytes clairs. Les sexes pourraient être déterminés plus ou moins facilement lorsque les larves ont une longueur ≥ 1 mm, les larves mâles étant plus mince que les larves femelles et le cloaque des mâles étant deux fois plus long que le rectum des femelles 75 et 30 μ m de long, respectivement (**Fig 14C et 16D**).

La morphologie du parasite adulte est similaire à celle décrite précédemment (Diagne et al. 2000), et la longueur de cinq femelles, récoltées à J32, variait de 9990 à 13600 μ m.

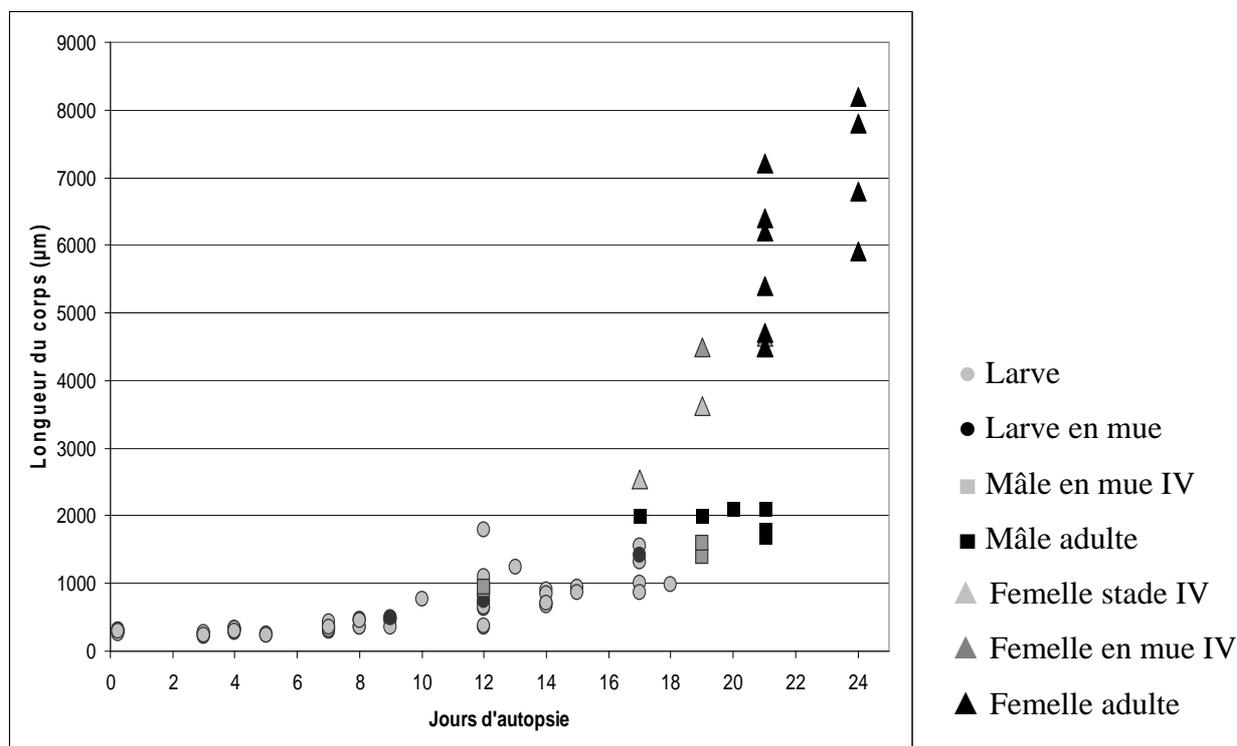


Figure 19 : Diagramme de croissance de *Trichosomoides nasalis* chez *Arvicanthis niloticus* durant les 24 jours post-infection.

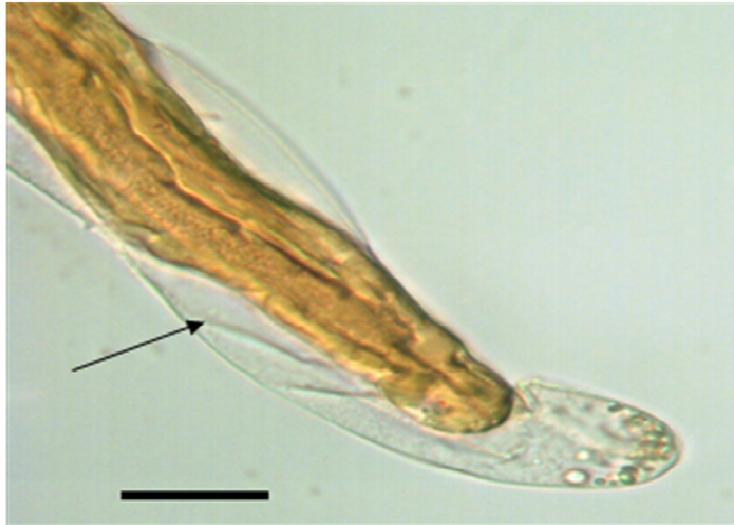


Figure 20 : Larve (J9) de *Trichosomoides nasalis* en mue. Barre d'échelle : 25 μ m
La flèche indique la mue

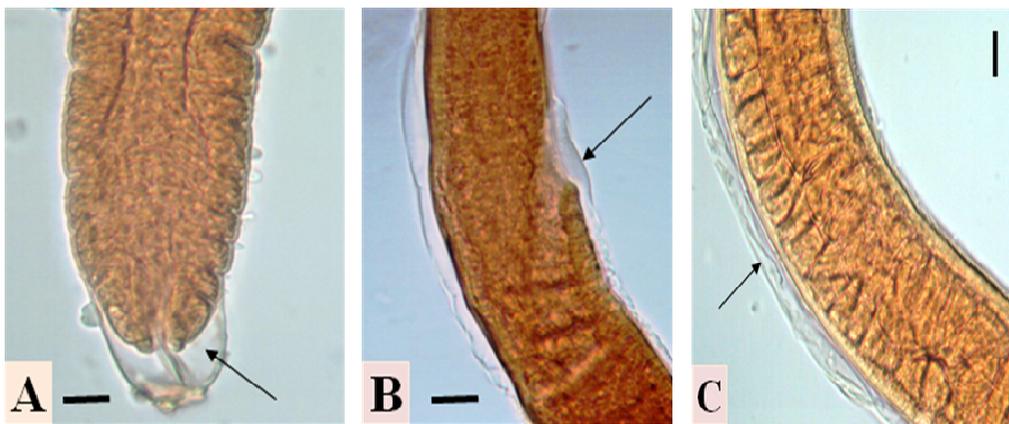


Figure 21 : Trois femelles de *Trichosomoides nasalis* en mue IV (J17) : **A** (muscle abdominal), **B et C** (muqueuse nasale). Barre d'échelle: A, B, C : 20 μ m
Les flèches indiquent la mue

Tableau III : Mensurations de *Trichosomoïdes nasalis* à différents stades en fonction du temps et de la localisation chez *Arvicanthis niloticus* (infestation par voie intrapéritonéale).

Stade	Longueur du corps	Largeur à mi-corps	Longueur totale de l'œsophage	Apex - vulve	Jour d'autopsie	Localisation
Larve ^a	208	18	140	-	3	abdomen
Larve en mue	490	25	275	-	9	abdomen
Larve en mue	750	30	380	-	12	abdomen
Larve en mue	1 425	25	820	-	17	abdomen
Mâle en mue IV	1 400	40	780	-	19	thorax
Mâle en mue IV	1 600	40	900	-	19	thorax
Mâle adulte	2 000	35	1 170	-	17	abdomen
Mâle adulte	2 000	40	1 100	-	19	thorax
Mâle adulte	2 100	40	1 100	-	20	Muqueuse nasale
Femelle stade 4	2 550	50	1 170	1150	17	thorax
Femelle stade 4	3 625	45	1 450	1500	19	thorax
Femelle en mue IV	4 500	50	1 500	1550	19	thorax
Femelle en mue IV	4 650	60	1 700	1750	21	Muqueuse nasale
Femelle adulte	4 700	60	1 650	1700	21	Muqueuse nasale
Femelle adulte	5 400	70	1 720	1800	21	Muqueuse nasale
Femelle adulte	6 400	90	1 800	1850	21	Muqueuse nasale

^ainfestation par voie intrapéritoneale.

3.4. Les sites de la croissance larvaire

Dans les poumons, aucune croissance n'a été observée. Les larves de premier stade, à J9, ne dépassent pas 320µm de longueur, contrairement à celles de la paroi abdominale qui ont une longueur de 490µm. Des œufs larvés ont également été récupérés à partir des poumons de cinq rongeurs après l'infestation par voie orale.

Pour le cœur et le diaphragme, deux larves de premier stade, ont été trouvées à J5 sans aucun signe de développement.

Avec les deux modes d'infestation, des larves en développement ont été trouvées dans la musculature de la paroi abdominale et, à une fréquence moindre, dans la paroi thoracique (tableau I & II).

De jeunes larves de sexe indéterminé, des larves femelles de quatrième stade, des mâles en mue III et mue IV, sept femelles en mue IV, quelques mâles adultes, mais pas de femelles adultes, ont été trouvés dans les muscles abdominaux et thoraciques.

La muqueuse nasale contient quatre autres femelles en mue IV (entre J17 et J23; tableau 3). Ces femelles en mue, et les jeunes mâles, ont été retirés de la couche profonde de la muqueuse.

Plus tard, c'est-à-dire au-delà de J23, des femelles matures, hébergeant 1 à 2 mâles nains, ont été récupérées de l'épithélium de la muqueuse nasale alors que les mâles seuls sont très rares.

3.5. *Trichosomoides nasalis* dans les fibres musculaires striées abdominales

Les parois abdominales de 15 rongeurs ont été préparées pour l'histologie (Tableau II). Dans les coupes de la paroi abdominale de deux d'entre eux, une section du parasite a été trouvée respectivement à J14 et J 17 après l'infestation. Les larves ont été identifiées à l'intérieur d'une fibre musculaire (**Fig.22**). Pas de capsule de collagène mais des cellules inflammatoires ont été observées autour de la fibre infectée. En fait, l'inflammation était limitée à l'aspect interne du péritoine, qui entoure la zone d'inoculation. Aucun changement majeur n'a été noté dans la fibre infectée, mais la structure de myofibrille semblait moins bien définie (**Fig.22B**). Les vers trouvés à J14 et J17 ont à peu près la même largeur (30 et 33, respectivement) et sont au quatrième stade de développement.

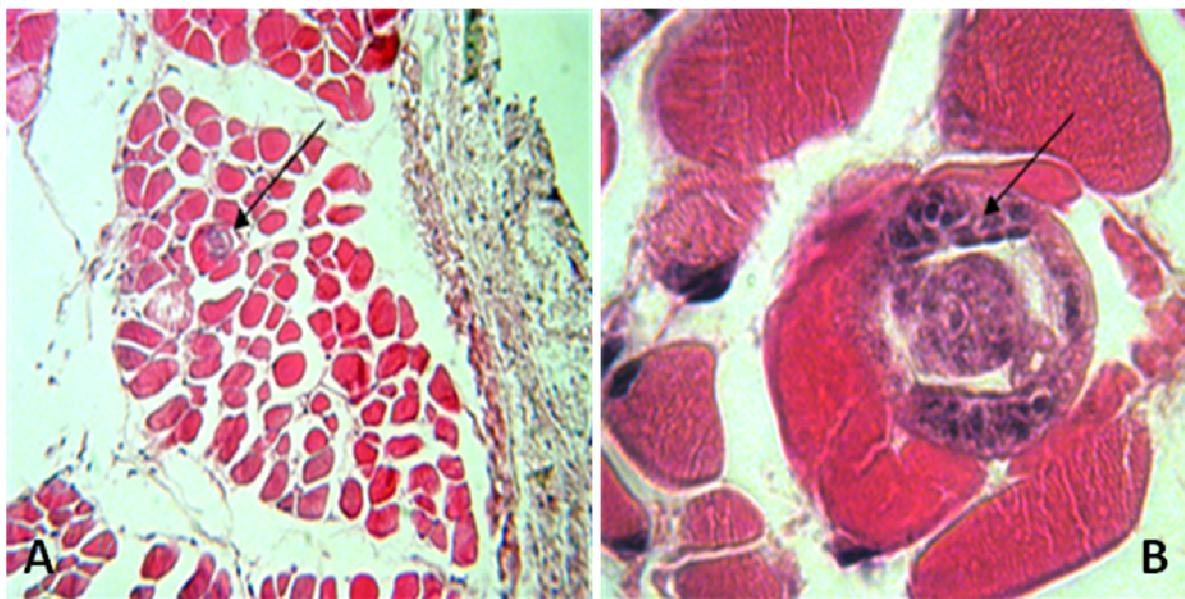


Figure 22 : *Trichosomoides nasalis* dans une fibre musculaire abdominale striée à J17

Grossissements: A X 20 ; B X 100

4. Discussion

Le développement initial a lieu dans les muscles de l'abdomen et du thorax. Les voies de migration, en particulier au début et en fin de développement, ainsi que les principales caractéristiques du développement observées dans cette étude seront discutées ici et comparées avec d'autres nématodes, principalement les Trichinelloidea.

4.1. Migrations précoces et tardives

L'étude des voies de migration larvaire est difficile, et pour une espèce donnée, différents auteurs peuvent aboutir à des conclusions controversées (Yokogawa, 1921; Thomas, 1924). Pour *T. spiralis*, des larves minuscules de 111-125 μ m de long et 7 μ m de large (Ali Khan, 1966), libérées par la femelle se dispersent dans le système sanguin et lymphatique (revue dans Anderson, 2000). Pour *T. nasalis*, la façon dont les larves de premier stade passent du tube digestif à la musculature abdominale n'a pas été clairement élucidée, mais, à l'heure actuelle, il n'existe aucune preuve solide qui montre que la migration se fait par la voie

sanguine ou lymphatique. Au contraire, plusieurs observations faites durant cette étude suggèrent une migration directe par les tissus des parois abdominale et thoracique.

- Premièrement, malgré une dissection minutieuse des hôtes, aucune larve n'a été récupérée à partir des vaisseaux sanguins ou dans le cœur à partir de 45 minutes et jusqu'à 8 heures après l'infestation (une seule larve cardiaque a été récupérée 5 jours après l'infestation). Contrairement aux espèces de filaire (Wanji et al., 1990; Maréchal et al., 1996), aucune larve n'a été récupérée des ganglions lymphatiques.

-Deuxièmement, les quelques *T. nasalis* récupérés des poumons ne semblent pas être le résultat de la diffusion par le sang. Parce que des oeufs étaient présents dans les poumons. Ainsi, il semble que les parasites avaient été accidentellement aspirés lorsque le liquide utilisé pour l'infestation orale a été placé au fond de la cavité buccale des jeunes rongeurs. La même technique (infestation par voie orale) a été améliorée par la suite et les poumons ne sont plus infectés.

-Troisièmement, chez les rongeurs infectés oralement et examinés à un stade précoce (2 à 8 heures après l'infection), les larves nouvellement écloses ont été trouvées dans **la cavité abdominale** de trois rongeurs avec respectivement 1, 13 et 6 larves (tableau 1). Chez les rongeurs infectés par voie intrapéritonéale, les larves ont été observées dans **la paroi abdominale** de trois rongeurs dès 6-8 heures après l'infestation (tableau 2) et aucune larve n'a été récupérée à partir des vaisseaux sanguins ou lymphatiques pendant cette même période.

Par conséquent, nous suggérons que les larves de premier stade de *T. nasalis* progressent de la lumière du tube digestif aux fibres musculaires grâce à une migration tissulaire, en utilisant leur stylet buccal et les sécrétions du stichosome. Thomas (1924) a observé chez *T. crassicauda* que les mouvements du stylet sont très actifs chez les larves de la cavité abdominale.

Après leur développement dans la musculature abdominale, des larves femelles de quatrième stade et de jeunes mâles de *T. nasalis* migrent vers la muqueuse nasale par une voie encore inconnue. Une migration lymphatique ne peut pas être exclue, car la citerne de Pecquet dans la région abdominale est à proximité. Alternativement, le stylet de *T. nasalis*, toujours présent dans les stades tardifs, peut aider à pénétrer la muqueuse en conjonction avec les sécrétions du parasite. Pour les espèces de *Trichinella*, qui n'ont pas de stylet à la fin du premier stade, il a été montré que les excrétion / sécrétion (ES) composée d'antigènes tyvelose portant des glycoprotéines, jouent un rôle important dans la pénétration des cellules épithéliales intestinales (ManWarren et al., 1997; Appleton, 2001; Appleton & Romaris, 2001). En effet, des sérine-protéases, qui sont abondantes dans les antigènes ES de *Trichinella* pourraient avoir une fonction importante dans le processus d'invasion de l'hôte et faciliter la migration dans les tissus (Dzik, 2006).

Chez *T. nasalis*, l'accouplement a lieu après la migration tissulaire. Il semble se produire dans les couches profondes de la muqueuse nasale. Depuis que des femelles en mue IV, ainsi que quelques mâles, ont été récupérés de la couche conjonctive de la muqueuse, nous déduisons que l'accouplement se produit dans cet endroit, avant que les femelles atteignent l'épithélium nasal. Ceci est similaire au comportement d'accouplement de *A. cynamolgi*. Dans les quelques études histologiques concernant cette espèce, les mâles ont été trouvés dans la sous-muqueuse nasale des singes rhésus infectés, *Macaca mulatta* (Zimmermann), mais pas dans la muqueuse épithéliale (Long et al., 1976). Cela contraste avec le comportement d'accouplement de deux autres Trichosomoidinae, décrit comme survenant dans la lumière du tractus urogénital chez le rat pour *T. crassicauda* (Thomas, 1924), et les glandes paracloacales d'*Antechinus* spp. pour *A. haycocki* (Spratt, 1982). La possibilité que ce dernier soit un faux résultat ne peut être rejetée, du fait que l'épithélium est fragile et peut se rompre très facilement lors de la dissection.

4.2. Développement dans les fibres musculaires

Le développement des larves de *T. nasalis* jusqu'au stade adulte prend trois semaines, semblable à celui de *T. crassicauda* (Thomas, 1924). Chez *T. nasalis*, les larves ont été observées en mue avec différentes longueurs à différents moments tout au long de la période expérimentale (tableau 3). Au moins trois mues ont été identifiées. Une mue observée à J9 (**Fig.20**) probablement la première mue, chez une larve de 490µm de long. La seconde mue probablement à J12, à 750µm de long. La quatrième mue s'est produite lorsque les vers ont pu être identifiés en tant que mâles ou femelles. Au total, 20 larves en mue ont été récupérées sur tous les rongeurs infectés expérimentalement, y compris les larves de taille intermédiaire, probablement en deuxième ou troisième mue. Kozek (1971 a et b) a démontré que chez *T. spiralis*, le nombre classique de quatre mues était la règle, semblable aux autres groupes de nématodes. Cependant, ces mues sont survenues dans un délai très court, de 9 à 28 heures après l'infestation. Chez *T. spiralis* le développement de la larve infectante jusqu'à la fin du premier stade larvaire a lieu dans les cellules nourricières modifiées et sont donc très différentes des larves nouvellement écloses de *T. nasalis*. En conséquence, le calendrier de mues pour *T. nasalis* n'est pas aussi hautement spécialisé que chez *T. spiralis*.

Des *T. nasalis* en croissance ont été régulièrement récupérés à partir de la musculature de la paroi abdominale et, à une fréquence moins importante, de la paroi thoracique (tableau 1 & 2). En outre, les larves en développement ont été trouvées enfermées dans des fibres musculaires (**Fig.22**). Cette localisation spécifique pourrait être un trait biologique particulier chez *T. nasalis*, mais nous suggérons qu'il aurait pu passer inaperçu dans d'autres études, car ces muscles ne sont pas parmi les organes examinés (Thomas, 1924; Spratt, 1982).

La localisation musculaire est particulièrement intéressante, et pourrait avoir une signification phylogénétique, comme les espèces de *Trichinella* sont connues pour se développer dans les fibres musculaires. Cependant, la similitude entre *Trichinella spp.* et *T. nasalis* n'est pas

complète. Tout d'abord, la phase intramusculaire de *Trichinella* correspond à une phase de croissance prolongée du premier stade (Despommier et al., 1975), tandis que chez *T. nasalis*, tous les stades larvaires se produisent dans la paroi musculaire. Par ailleurs, le développement de *T. nasalis* ne semble pas induire une transformation de la fibre musculaire en une cellule nourricière, comme décrit pour *T. spiralis* (Despommier, 1998). Fait intéressant, aucune capsule de collagène n'a été observée autour de *T. nasalis* dans les tissus musculaires. Ces résultats rapprochent *T. nasalis* des espèces de *Trichinella* non-encapsulées telles que *T. pseudospiralis* Garkavi 1972, car cette espèce n'induit pas la formation de cellule nourricière, et la réponse inflammatoire reste limitée (Hulinska et al., 1985; Haehling et al., 1995; Bruschi et al., 2009). Ainsi, ce rongeur parasité par *T. nasalis* pourrait être un nouveau modèle qui mérite bien des investigations.

5. Conclusion

La présente étude montre que les femelles de *T. nasalis* qui hébergent un mâle intra-utérin s'installent dans la muqueuse nasale en trois semaines. La récolte des larves de stade 1 dans le liquide péritonéal 48 heures après l'infection orale suggère un passage direct de la paroi digestive vers la musculature abdominale.

Un des principaux résultats rapportés ici est que le développement larvaire se produit dans la musculature des parois abdominale et thoracique. Le développement initial de *T. nasalis* a lieu principalement dans les muscles abdominaux, puis dans les muscles thoraciques. Ce développement est entrecoupé de mues.

Ces observations suggèrent que *T. nasalis* migre directement par les tissus des parois abdominale et thoracique. Par conséquent, nous pensons que les larves de premier stade de *T. nasalis* progressent de la lumière du tube digestif aux fibres musculaires grâce à une migration tissulaire, en utilisant leur stylet buccal et les sécrétions du stichosome.

Cette localisation musculaire est une découverte chez les Trichosomoidinae et pourrait avoir une signification phylogénétique, comme les espèces de *Trichinella* sont connues pour se développer dans les fibres musculaires. Mais ici on constate que le développement de *T. nasalis* n'induit pas la transformation de la fibre musculaire infectée en cellules-nourricières ou « nurse-cells » comme dans le cas de *Trichinella spiralis*. En plus aucune capsule de collagène n'a été observée autour de *T. nasalis* dans les tissus musculaires; ce qui rapproche *T. nasalis* de l'espèce de *Trichinella* non-encapsulée: *T. pseudospiralis*.

CHAPITRE III : MIGRATION DE *TRICHOSOMOIDES NASALIS* CHEZ***ARVICANTHIS NILOTICUS*****1. Introduction**

Trichosomoides nasalis Biocca & Aurizi, 1961 est un nématode Trichinelloidea dont les femelles hébergent un mâle nain intra-utérin vivant dans l'épithélium de la muqueuse nasale (Diagne et al., 2004). Au Sénégal, il est un parasite fréquent du Muridé *Arvicanthis niloticus* (Geoffroy) (Diagne et al., 2000). L'élevage de l'hôte a été mis en place dans l'animalerie du département de Biologie Animale. Les études sur la migration et sur la biologie dans ce groupe des Trichosomoidinae, qui est très rarement étudié, sont devenues possibles. Avec *T. nasalis*, il a été récemment découvert que le développement larvaire se produit dans les fibres musculaires striées du rongeur. Cette similitude avec les espèces de *Trichinella*, suggère que la phase larvaire musculaire pourrait être un caractère primitif chez les Trichosomoidinae, même si elle n'a pas déjà été suspectée (Fall et al., 2012). Cependant chez *Trichinella* spp. le développement larvaire s'arrête à la fin du premier stade (Kozek, 1971), tandis que chez *T. nasalis* les quatre stades larvaires se produisent dans les fibres musculaires (Fall et al., 2012). *T. nasalis*, par la suite, migre vers la muqueuse nasale (Fall et al., 2012.). Les objectifs visés dans ce chapitre sont:

- d'élucider la ou les voie(s) de migration de *T. nasalis*
- de préciser le site (lieu) d'accouplement des *T. nasalis*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Technique d'histologie

Pour cette étude histologique, l'infestation expérimentale des *Arvicanthis niloticus* a été réalisée par voie intrapéritonéale, avec une ou deux injections, telle que décrite par Fall et al., 2012. Les rongeurs infectés sont isolés afin d'éviter toute contamination incontrôlée. Après autopsie à différents temps, les parois abdominale et thoracique ainsi que le maxillaire supérieur ont été traités comme décrit par Diagne et al., 2004, pour l'étude histologique standard entre J14 et J21, période de la migration larvaire.

Le maxillaire supérieure et le thorax ont été décalcifiés pendant 3h (décalcifiant Rapide DC-LMR) avant leur inclusion dans de la paraffine. Pour l'inclusion, les parois abdominale et thoracique sont coupées grossièrement à l'aide de ciseaux en 4 parties et le maxillaire supérieur en 3 parties déterminées sur la base des observations inédites non encore publiées. Lors des discussions et des études sur *T. nasalis* il était apparu que les adultes de *T. nasalis* ont été généralement récupérés à partir d'un site spécifique du maxillaire supérieur entre les racines des incisives. Ainsi, trois pièces frontales du maxillaire, d'avant en arrière, (A, B et C) chacune d'environ 0,5cm d'épaisseur ont été coupées (Fig.24). Les échantillons de tissus ont été inclus dans de la paraffine et des coupes de 5 µm ont été réalisées et colorées avec de l'Hémalun de Mayer et de l'éosine ou à l'hématoxyline de Harris-Eosine.

La préparation du matériel histologique passe par les étapes suivantes :

Prélèvement, Fixation, Inclusion, coupes et Coloration

2.1.1. Prélèvement

Prélèvement à l'autopsie d'organe complet ou portion d'organe sans dilacération.

Les parois abdominale et thoracique sont coupées à l'aide de ciseaux en 4 parties et le maxillaire supérieur en 3 parties (A, B et C) (Fig.24).

2.1.2. Fixation

La fixation empêche l'hydrolyse et la putréfaction des tissus. C'est donc une opération destinée à tuer les cellules en les conservant autant que possible dans l'état où elles se trouvaient pendant leur vie. Cela signifie que les tissus doivent résister à toutes les manipulations telles que la déshydratation, l'inclusion, la coupe etc.

La qualité première d'un fixateur est sa puissance de pénétration. Le fixateur doit produire une coagulation totale des albuminoïdes (coagulation fractionnée pour éviter les contractions).

Dans cette étude, le fixateur utilisé est le Formol à 10% tamponné pH7. La durée de fixation est déterminée par la vitesse de diffusion de l'agent fixateur, de la consistance et de l'épaisseur de l'échantillon. Ici 1 à 2 jours sont nécessaires pour des blocs épais de 0,5cm.

2.1.3. Décalcification

Le maxillaire supérieur et le thorax ont été décalcifiés pendant 3h dans une solution de décalcifiant Rapide DC-LMR disponible dans le commerce. On détermine la fin de la décalcification en enfonçant une aiguille dans une zone représentative du matériel. Le matériel décalcifié est cartilagineux ou caoutchouteux et n'est pas très résistant.

Après décalcification les acides sont éliminés complètement en rinçant plusieurs fois à l'eau distillée.

On peut rectifier la décalcification incomplète du matériel inclus dans un bloc de paraffine en mettant le côté coupé du bloc pendant 15minutes dans un récipient contenant le décalcifiant puis en le rinçant à l'eau du robinet et en le découpant.

Le matériel décalcifié est ensuite traité en cours de processus histologique comme un autre matériel de taille correspondante pour l'inclusion.

2.1.4. Inclusion

Le matériel est lavé à l'alcool 70° et conservé dans des piluliers. Le processus d'inclusion comprend les étapes suivantes : déshydratation, éclaircissement, imprégnation et enrobage.

2.1.5. Coupes

Les blocs sont entamés au microtome, on effectue des coupes d'une épaisseur de 20µm jusqu'à la mise à nu du matériel ; les blocs sont ensuite placés dans la chambre froide du réfrigérateur pendant 30 minutes.

On procède à la coupe des blocs en effectuant des coupes sériées de 5µm, le ruban de paraffine est maintenu et guidé au fur et à mesure qu'il se forme, à l'aide d'un pinceau, puis déposé au fond d'une boîte et protégé aussitôt par un couvercle.

2.1.6. Collage des coupes

Les coupes sont collées sur une lame avec de l'albumine glycinée ou avec de l'eau gélatinée.

Pour le collage quatre à cinq gouttes d'albumine glycinée ou d'eau gélatinée sont étalées avec une lame de scalpel, sur la surface d'une lame préalablement nettoyée à l'alcool et marquée (numéro d'ordre, nature du matériel) à la pointe diamant, ce qui permet de repérer, lors de manipulations ultérieures, la face qui porte les coupes.

Les lames sont mises sur la plaque chauffante quelques secondes pour permettre un parfait étalement des rubans. L'eau en excès est alors versée dans un flacon. Dès que le liquide en excès est écoulé et avant que les coupes ne commencent à sécher on les essore soigneusement par pression entre plusieurs feuilles de papier Joseph.

Les lames devant être parfaitement desséchées avant d'être débarrassées de la paraffine pour la réalisation des colorations, elles sont rangées dans un portoir et portées à l'étuve à 50° pendant au moins 12 heures.

2.1.7. Coloration

Le déparaffinage, qui consiste à éliminer le milieu d'inclusion, précède la coloration. Il permet de réhydrater le tissu et suit donc, en les inversant, les principales étapes de l'inclusion.

La coloration à l'hémalum-éosine ou à l'hématoxyline de Harris-éosine nous permet d'obtenir un « paysage histologique » ; les coupes sont colorées pendant 5 à 7 minutes par l'hémalum préparé à chaud selon la formule de Masson ou bien à l'hématoxyline de Harris.

Elle donne des colorations différentes aux différentes structures. Après un lavage à l'eau courante jusqu'à l'obtention d'un virage bleu-noir, les coupes sont colorées pendant 30 secondes par une solution aqueuse d'éosine à 1% et lavées à l'eau. L'excès d'éosine est éliminé par une différenciation à l'alcool à 70°, puis à l'alcool absolu jusqu'à coloration cytoplasmique pure.

La coloration terminée, les lames sont conservées dans le toluène jusqu'au moment du montage.

2.1.8. Montage

Pour le montage, on met un mince filet de liquide d'Eukitt sur une lamelle, puis on applique celle-ci sur la lame dès la sortie du toluène. Les lames sont mises à sécher dans une étuve.

2.1.9. Lecture

Pour chaque pièce étudiée, on lit toutes les lames ainsi que tous les rangs de chaque lame

3. Résultats et analyse

3.1. *Trichosomoides nasalis* dans les fibres musculaires striées thoraciques.

Trente rongeurs ont été traités et analysés. Des sections du parasite ont été trouvées chez neuf d'entre eux. Le parasite a été localisé au niveau du muscle thoracique de un des six rongeurs fixés à J19 où le parasite en développement mesurant 25 μm de large au niveau des stichocytes est dans une fibre musculaire striée intercostale. (**Fig. 23**).

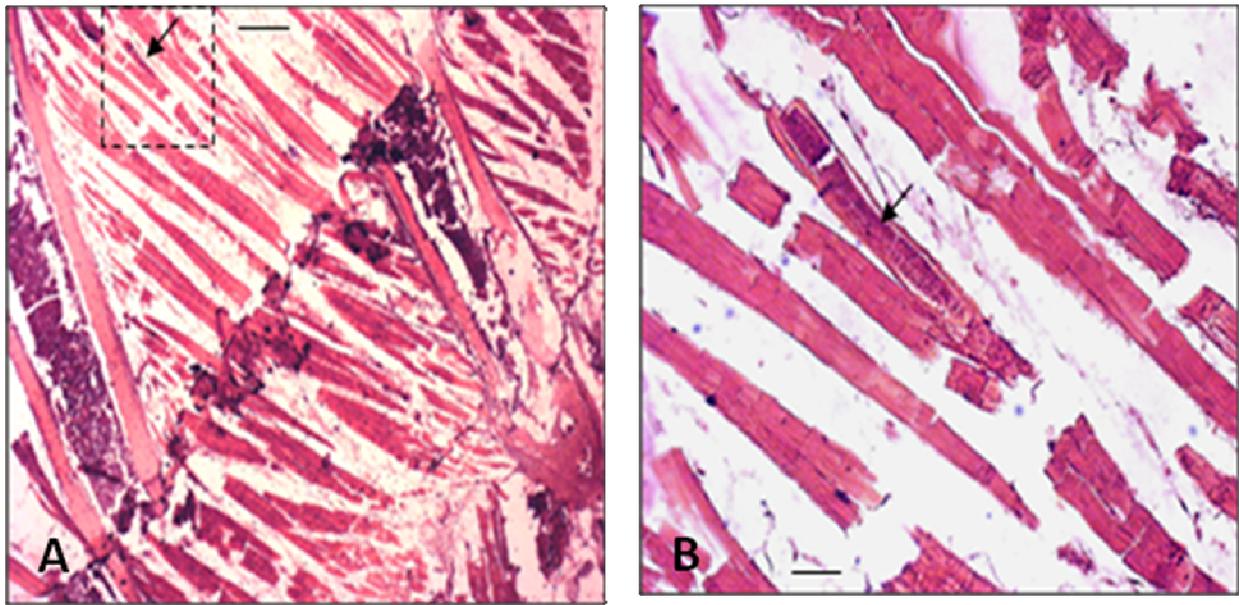


Figure 23 : *Trichosomoides nasalis* dans une fibre musculaire thoracique intercostale à J19. La flèche indique le parasite. Barres d'échelles A : 400 μm ; B : 50 μm .

3.2. *Trichosomoides nasalis* dans les parties externes des fosses nasales (museau, vestibule) et dans les fosses nasales

Plusieurs sections du parasite au total 33 sections de *T. nasalis*, sont toutes trouvées dans la région A du maxillaire (**Fig.24**), y compris le museau, le vestibule nasal et la partie antérieure des fosses nasales où se situent les cornets antérieur et médian (**Fig.25**). La localisation dans les tissus, le nombre et le sexe (basé sur la largeur du corps) des *T. nasalis* sont représentés dans le tableau 4 et les figures 24 à 29).

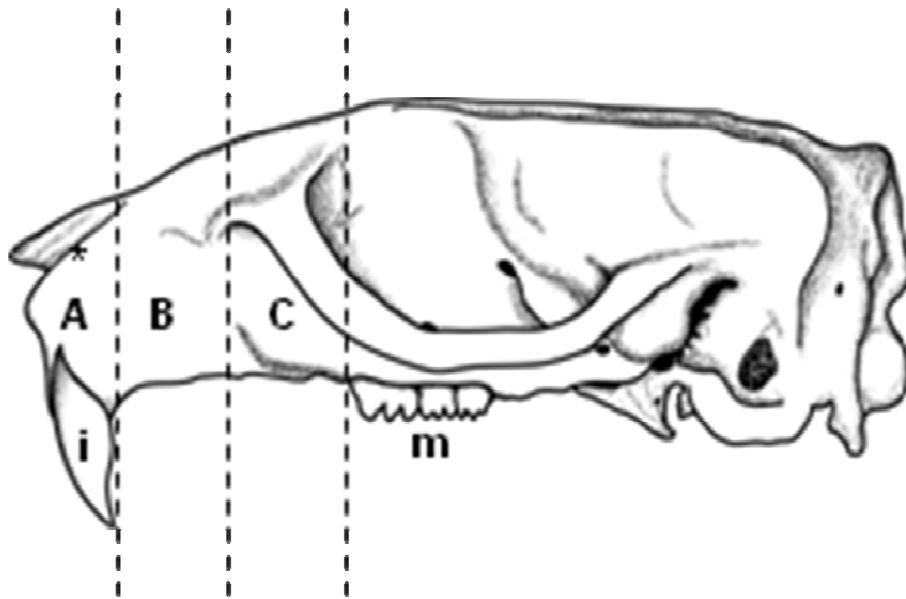


Figure 24 : Les trois régions du maxillaire supérieur délimitées pour l'histologie sur un crâne d'*A. niloticus*, en vue latérale, A: région à partir du vestibule nasal jusqu'au début de l'incisive (i), B: région de l'incisive, C: région à partir de la partie postérieure des incisives à la première molaire (m). * Indique la position des adultes de *T. nasalis*.

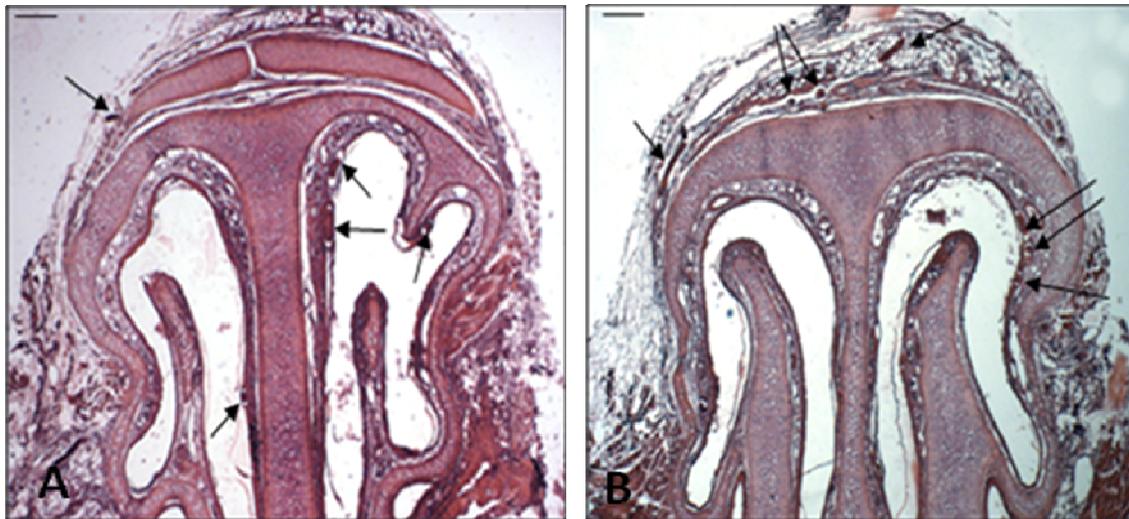


Figure 25: **A :** Coupe frontale des fosses nasales au niveau du museau montrant les cornets saillants dans les cavités nasales. Cornet médian à gauche, cornets antérieur et médian à droite. **B :** Coupe frontale des fosses nasales au niveau du museau montrant les cornets médians saillants dans les cavités nasales. Les flèches indiquent la localisation des *T. nasalis*. Barres d'échelles A et B 200µm.

Tableau 4: Migration de *Trichosomoïdes nasalis* chez *Arvicanthis niloticus* : Localisation histologique des *T. nasalis* dans la partie A du crâne (voir figure 24)

Date d'autopsie	Nombre de parasites par hôte	Diamètre du parasite à mi-corps en µm	Sexe	Tissus infectés	
19 dpi	1	29 (stichocyte)	f	vaisseau sanguin de la lamina propria	
	2	33 (Esophage)	f		
	3	25 (Esophage)	f	lamina propria	
	4	34 (Esophage)	f		
	5	36 (Esophage)	f		
	6	37 (stichocyte)	f	épithélium pseudostratifié	
	7	28 (stichocyte)	f		
20 dpi	1	48/23	f/m	épithélium pseudostratifié avec réaction inflammatoire	
	1	34	f	tissu conjonctif dermique du vestibule nasal	
	2	30	f	entre les fibres musculaires du vestibule nasal	
	3	28	f		
	4	22	m		
	5	22	m	lamina propria	
	6	40/20	f/m	épithélium pseudostratifié avec réaction inflammatoire	
	7	40/20	f/m	épithélium pseudostratifié	
	1	42/20	f/m		
	2	45/20	f/m		
	3	38 (stichocyte)	f		
	4	35/18	f/m		
	1	22	m		entre les fibres musculaires du museau
	2	30 (stichocyte)	f	épithélium pseudostratifié	
	1	28 (stichocyte)	f	tissu conjonctif du museau	
	2	31 (ovaire)	f	tissu adipeux du museau	
	3	33(stichocyte)	f	épithélium pseudostratifié	
	4	33 (stichocyte)	f		
	5	35 (stichocyte)	f		
	6	34 (ovaire)	f		
	21 dpi	1	40/20	f/m	épithélium pseudostratifié
		2	35 (stichocyte)	f	
		3	33 (stichocyte)	f	
1		45/20	f/m		
2		42/20	f/m		
3		50/20	f/m		
Total	33				

dpi: Date d'autopsie. f: femelle. m: mâle. f/m: femelle avec mâle intra-utérin

Dans les tissus entourant les cavités nasales, les sections de *T. nasalis* sont trouvées dans les tissus, conjonctif et adipeux du museau (Fig. 26A), le tissu conjonctif dermique du vestibule nasal (Fig. 26B), et entre les fibres musculaires du vestibule nasal et la partie externe du maxillaire supérieur (Fig. 26C & 26D).

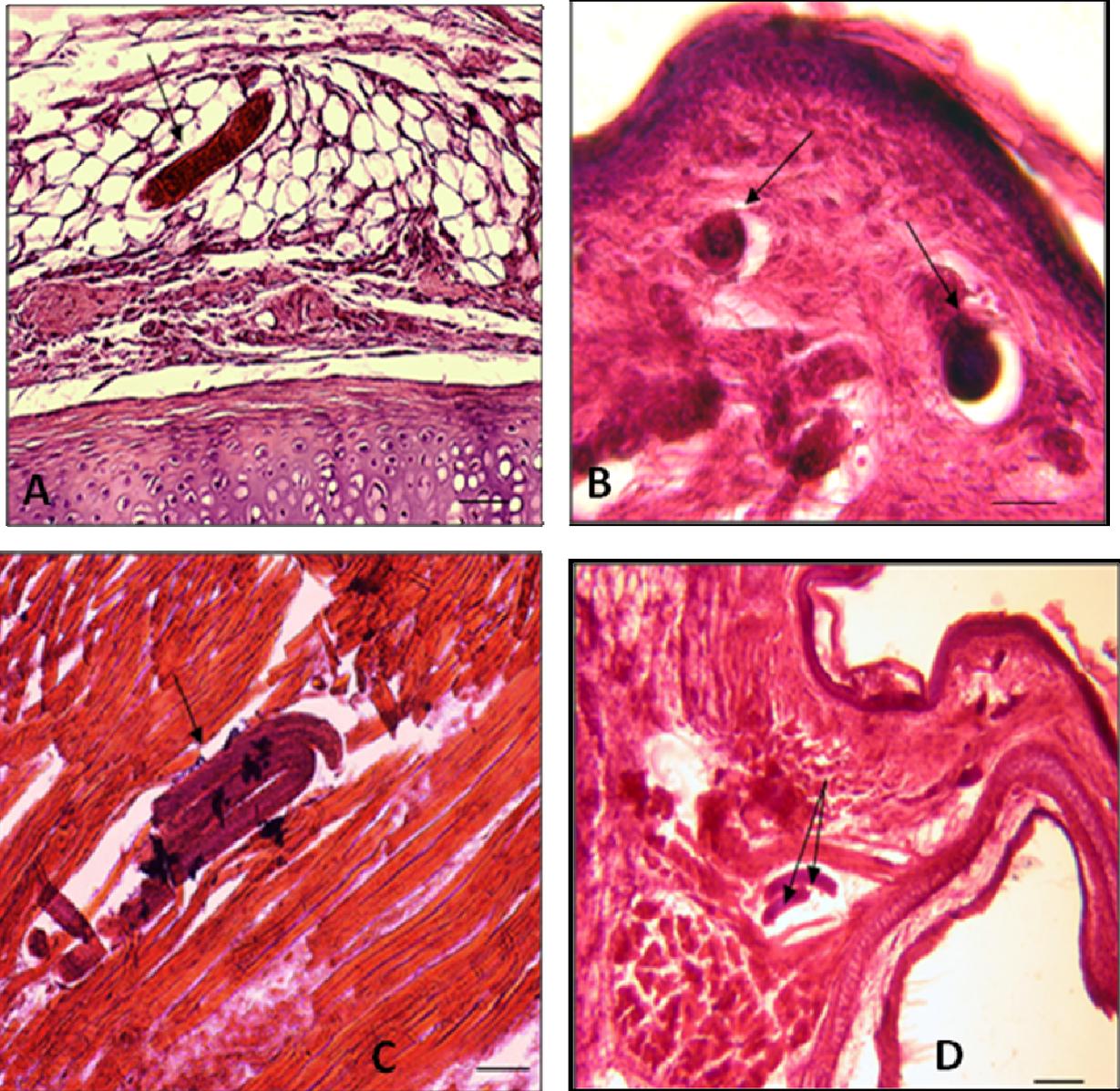


Figure 26 : **A :** *Trichosomoides nasalis* dans le tissu adipeux du museau à J20. **B :** Deux sections transversales de *Trichosomoides nasalis* dans le tissu conjonctif dermique du vestibule nasal à J20. **C :** *Trichosomoides nasalis* entre les fibres musculaires du museau à J20. **D :** *Trichosomoides nasalis* entre les fibres musculaires du vestibule nasal à J20. Barres d'échelles : A et D : 100µm. B et D ; B et C : 50µm.

Dans les cavités nasales (**Fig. 27, 28 & 29**), les parasites ont été trouvés dans le tissu conjonctif de la muqueuse (lamina propria) (**Fig. 27A**), les vaisseaux sanguins (**Fig. 27B**), et dans l'épithélium pseudostratifié de la muqueuse nasale (**Fig. 27C**); l'épithélium riche en cellules muqueuses n'étant pas parasité (**Fig. 28A & B**).

Les parasites trouvés hors de l'épithélium de la muqueuse nasale ont été rencontrés chez les rongeurs fixés à J19 et J20.

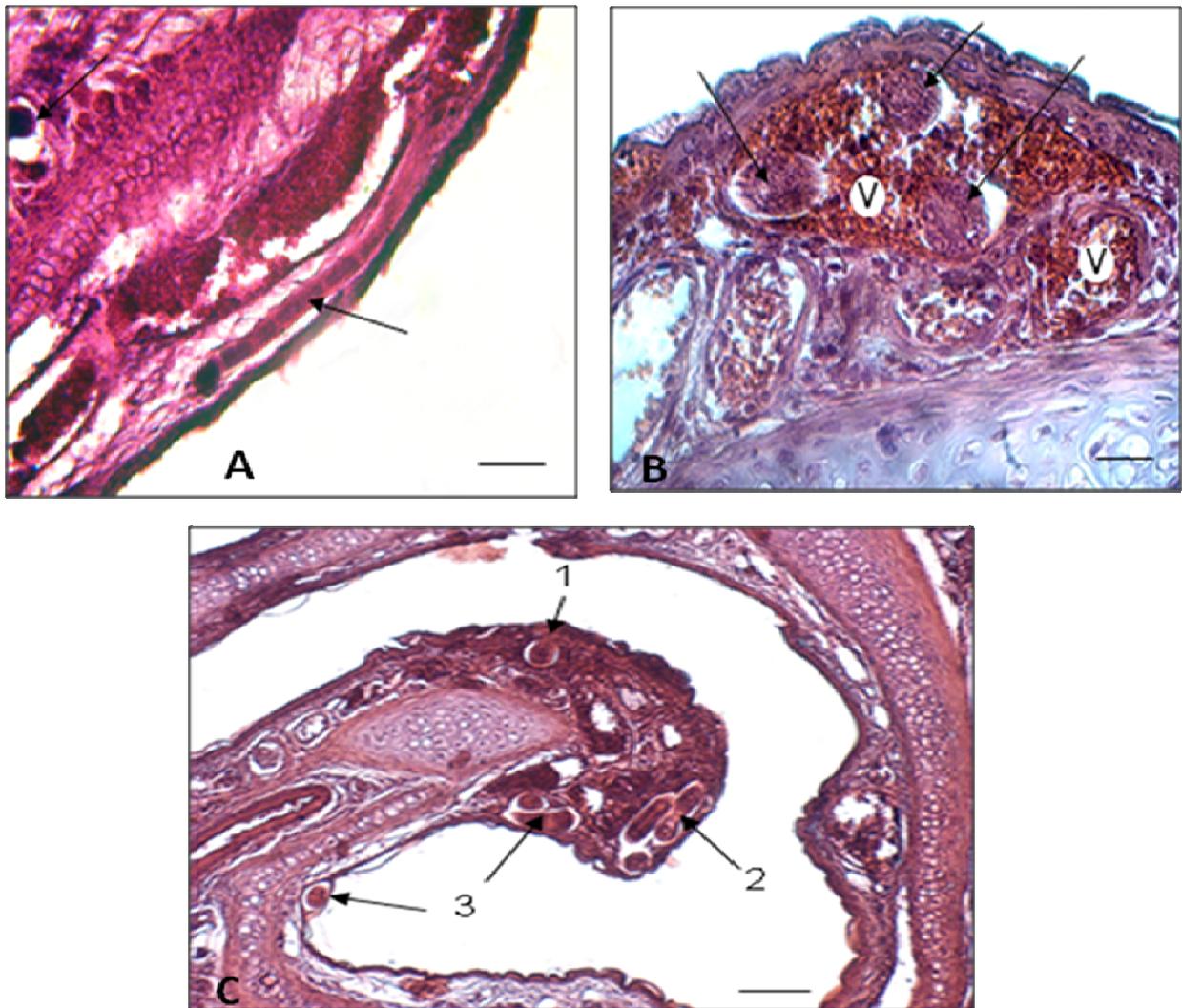


Figure 27 : A : Section longitudinale de *Trichosomoides nasalis* dans la lamina propria des cavités nasales d'*A. niloticus* à J21. Barre d'échelle 75 μ m.

B : *Trichosomoides nasalis* dans un vaisseau sanguin de la lamina propria à J19. V = vaisseau sanguin. Barre d'échelle 75 μ m.

C : *Trichosomoides nasalis* (4) autour du cornet médian, (1) dans vaisseau sanguin de la lamina propria, (2) et (3) dans l'épithélium pseudostratifié à J19. Barre d'échelle 100 μ m.

3.3. *Trichosomoides nasalis* dans l'épithélium pseudostratifié de la muqueuse nasale

Dans l'épithélium de la muqueuse nasale, dix femelles hébergeant chacune un mâle intra-utérin ont été trouvées à J20 et J21.

Les mâles ont 20 à 23 μm de large; ce diamètre est légèrement inférieur à celui observé lors de l'étude morphologique (Fall et al., 2012.) en raison de la rétraction des tissus déshydratés au cours du traitement histologique.

Les parasites ayant un diamètre supérieur à 25 μm sont considérés comme étant des femelles. Trois mâles ont été trouvés libres à J20, l'un entre les muscles (**Fig. 26C**) et les deux autres dans la lamina propria (**Fig. 27A**). Aucun mâle n'a été identifié libre dans l'épithélium pseudostratifié.

Les femelles ont été identifiées à l'extérieur des cavités nasales, et dans les cavités nasales (lamina propria, vaisseaux sanguins, et l'épithélium pseudostratifié).

Dans l'épithélium relativement mince, certaines femelles étaient enroulées en spirales (**Fig.29C**).

Les femelles hébergeant un mâle ont été trouvées seulement dans l'épithélium pseudostratifié de la muqueuse nasale avec une réaction inflammatoire parfois très intense au niveau de la lamina propria (**Fig.29A et 29B**).

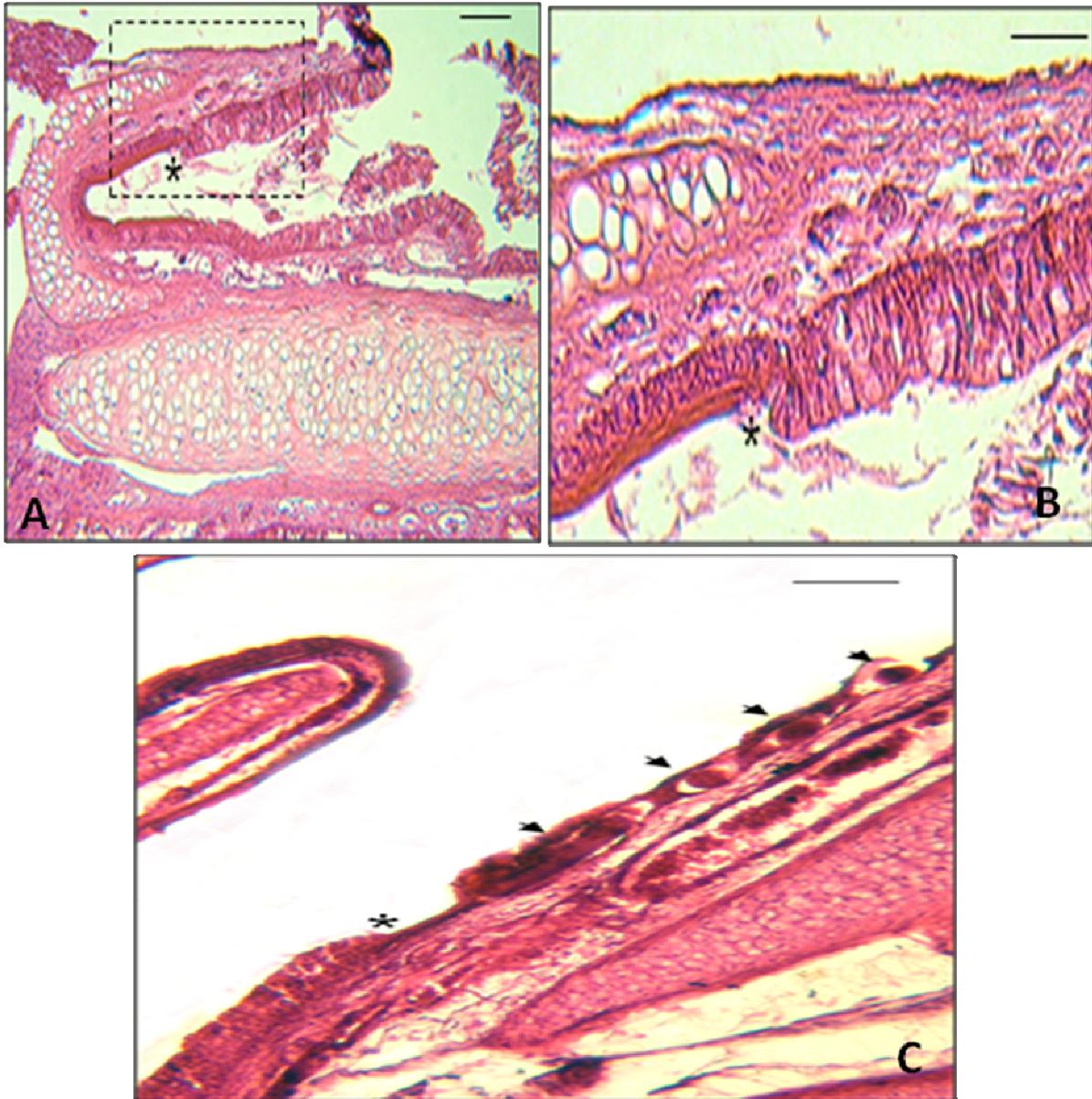


Figure 28 : A & B: Les deux types d'épithéliums de la partie antérieure du cornet: l'épithélium avec des cellules à mucus et l'épithélium pseudostratifié, mais sans doublure supérieure kératinisée. Barre d'échelle 100µm.

C : Femelle de *Trichosomoides nasalis* dans l'épithélium pseudostratifié à J21.

*: indique le contact entre l'épithélium pseudostratifié (à droite) et l'épithélium avec des cellules à mucus (à gauche).

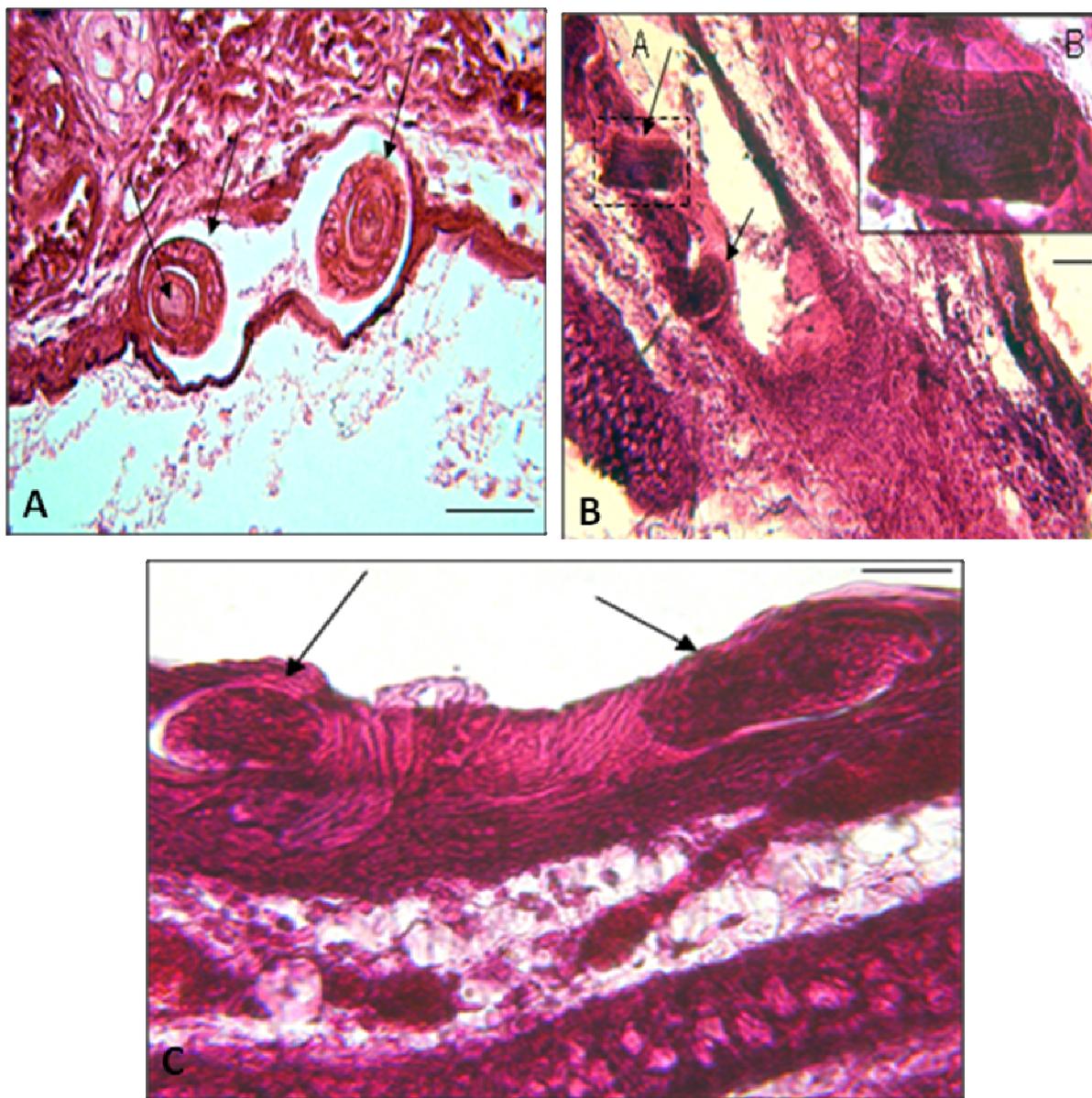


Figure 29 : A : Deux sections transversales d'une femelle de *Trichosomoides nasalis* avec un mâle intra-utérin dans l'épithélium pseudostratifié dilaté à J21. Barre d'échelle 50 μ m.

B : *Trichosomoides nasalis* dans l'épithélium pseudostratifié avec une réaction inflammatoire intense dans le chorion et les détails du mâle intra-utérin. Barre d'échelle 40 μ m.

C : Femelle de *Trichosomoides nasalis* sous la partie supérieure de l'épithélium pseudostratifié kératinisé dont les plis indiquent les mouvements du parasite. Barre d'échelle 50 μ m.

4 Discussion

Malgré la prévalence et l'intensité de l'infection qui sembleraient plus faibles en histologie qu'à la suite des dissections, les 34 vers recensés : un dans le muscle thoracique et 33 dans le nez sont suffisants pour étudier la migration de *T. nasalis*.

Après le développement des vers au niveau des fibres musculaires des parois abdominale et thoracique (Fall et al., 2012), les parasites se déplacent entre les muscles et à travers divers tissus conjonctifs de la tête (museau, vestibule nasal, partie externe du maxillaire supérieur). Ils atteignent ensuite les tissus des fosses nasales, d'abord la lamina propria, entre J19 et J20 avant de s'installer dans l'épithélium pseudostratifié qui est leur site définitif de vie. (Tableau 4).

A J21, la migration est terminée et les vers ont atteint leur site définitif extrêmement spécialisé, la région située entre les incisives, dans l'épithélium des cornets antérieur et médian, avec un tropisme exclusif pour l'épithélium pseudostratifié. La migration des vers dans la muqueuse induit une réaction inflammatoire, à l'origine d'une rhino sinusite quand les femelles deviennent matures (Diagne et al., 2004). Il est donc probable que la compétitivité des rongeurs infectés pour la recherche de nourriture et de partenaires soit réduite par rapport à ceux qui ne sont pas infectés.

Dans le cadre de la présente étude, il est également noté que les mâles libres (n = 3) ne se trouvent pas dans l'épithélium, mais dans la lamina propria et entre les fibres musculaires du museau. Les femelles hébergeant un mâle intra-utérin ne sont rencontrées que dans l'épithélium pseudostratifié.

L'accouplement ou la pénétration du mâle dans l'utérus de la femelle, se fait donc après l'installation des femelles dans l'épithélium de la muqueuse nasale. Ces observations corroborent l'hypothèse de Diagne et al. (2004) selon laquelle l'accouplement de *T. nasalis* est tissulaire et non dans la lumière des organes parasités comme suggéré par Thomas (1924)

chez *Trichosomoides crassicauda* (Bellingham, 1840) parasite de la vessie des *Rattus* expérimentalement infectés, et pour *Anatrichosoma haycocki* Spratt, 1982, parasite des glandes paracloacales des marsupiaux naturellement infectés. En effet, ces auteurs ont trouvés quelques jeunes adultes dans l'uretère et l'intestin grêle, respectivement. Toutefois, fait intéressant, les mâles matures d'*Anatrichosoma haycocki* ont été trouvés dans l'épithélium des glandes alors que les femelles gravides étaient dans la lumière des glandes paracloacales (Spratt, 1982). Ceci suggère que la copulation tissulaire peut également se produire chez cette espèce.

La présence de vers en migration dans les vaisseaux sanguins soulève quelques commentaires. Cette localisation n'est pas fréquente (2 sur 33) et, elle est uniquement observée dans la lamina propria de la muqueuse des fosses nasales où la vascularisation est très importante (**Fig.27A&B et 28A**). Les vers, très actifs au cours de la phase finale de la migration, semblent se frayer un chemin entre les tissus, en utilisant leur stylet, toujours présent, et très probablement les sécrétions produites par les cellules oesophagiennes spécialisées : les stichocytes. , comme on le voit chez *Trichinella spiralis* Owen, 1835 (Manwarren et al., 1997; Dzik, 2006). Ceci suggère qu'ils puissent entrer dans un vaisseau sanguin qui est sur leur chemin vers l'épithélium, mais nous ne pensons pas que ce passage dans le système sanguin central soit obligatoire. Une localisation vasculaire n'est pas une caractéristique particulière de *T. nasalis*, elle a été observée chez d'autres Trichosomoidinae, avec deux parasites du vestibule nasal de singes, *Anatrichosoma cutaneum* (Swift, Bottes & Miller, 1922) et *A. cynamolgi* Smith & Chitwood, 1954. Chez ces deux espèces, des mâles ont été identifiés dans les vaisseaux de la lamina propria (Allen, 1960; Long et al., 1976.).

Chez *Anatrichosoma* spp, le mâle, qui est aussi long que la femelle, mais beaucoup plus mince ne vit pas en permanence dans l'utérus de la femelle. Au moment de la copulation, le mâle introduit la moitié postérieure de son corps dans la vulve de la femelle qui est elle-même

dans l'épithélium stratifié du vestibule nasal, comme observé chez *A. buccalis* parasite d'un marsupial didelphidé (Little & Orihel, 1972).

La localisation vasculaire des mâles chez des parasites de singes pourrait être un lieu de repos entre les copulations.

5. Conclusion

Les données biologiques observées avec *T. nasalis* ont mis en évidence certaines caractéristiques importantes communes avec *Trichinella* spp, Comme le tropisme musculaire de la larve, et pour *T. spiralis* l'accouplement a lieu dans l'épithélium de la muqueuse de l'intestin (Gardiner, 1976). Cela pourrait être une caractéristique primitive.

5.1. Migration de *Trichosomoides nasalis*

Après le développement des vers au niveau des fibres musculaires des parois abdominale et thoracique, les parasites se déplacent entre les muscles et à travers divers tissus conjonctifs du museau.

- ❖ Ils atteignent ensuite les tissus des fosses nasales, d'abord la lamina propria entre J19 et J20, avant de s'installer dans l'épithélium pseudostratifié qui est leur site définitif de vie à J21.
- ❖ Dans la muqueuse nasale, la présence de vers en migration dans les vaisseaux sanguins soulève quelques commentaires. Cette localisation vasculaire est uniquement observée dans la lamina propria de la muqueuse nasale.

La vascularisation est très développée dans la lamina propria et les vers, étant très actifs au cours de la phase finale de migration, semblent se frayer un chemin entre les tissus, en utilisant leur stylet, toujours présent, et très probablement les sécrétions

produites par les cellules œsophagiennes spécialisées : les stichocytes, comme on le voit chez *Trichinella spiralis*.

5.2. Migration chez les autres Trichinelloidea

- ❖ Les problèmes de la migration larvaire ont été étudiés chez d'autres Trichinelloidea avec des avis contradictoires.
- Chez *Trichosomoides crassicauda* la voie de migration larvaire n'a pas été démontrée de façon convaincante probablement à cause de difficulté liée à la localisation d'un petit nombre de larves dans les tissus et les espaces tissulaires de l'hôte (Anderson, 2000).
- Chez *Anatrichosoma cynamolgi* la migration n'est pas étudiée mais l'anatomopathologie montre les mâles dans les vaisseaux de la muqueuse nasale qui semblent être des lymphatiques car aucune hématie n'ait été identifiée (Long et al., 1976).

5.3. Accouplement de *Trichosomoides nasalis*

- ❖ Nous n'avons pas observé de femelle de *T. nasalis* avec un mâle intra-utérin dans les muscles abdominaux et thoraciques ainsi que dans le chorion de la muqueuse où les sexes sont toujours séparés.
- ❖ Aucun mâle libre n'a été observé dans l'épithélium; les seuls mâles identifiés dans les coupes sont trouvés dans la lamina propria et entre les fibres musculaires du museau.
- ❖ Les coupes histologiques montrent que seuls les mâles intra-utérins sont observés chez les femelles au niveau de l'épithélium de la muqueuse.
- ❖ Nous pensons que l'accouplement ou la pénétration du mâle dans l'utérus de la femelle, se fait après l'installation des femelles dans l'épithélium de la muqueuse nasale.

- ❖ Ces observations corroborent avec l'hypothèse de Diagne et al., 2004 que l'accouplement de *T. nasalis* est tissulaire et non dans la lumière des organes parasités comme suggéré par Thomas (1924) chez *T. crassicauda* parasite de la vessie des rats et par Spratt (1982) chez *A. haycocki* parasite des glandes paracloacales des petits marsupiaux.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Au début de ce travail, suite à la découverte de *Trichosomoides nasalis* parasite d'*Arvicanthis niloticus* au Sénégal (Diagne et al., 2000), nous avons entrepris des recherches sur le cycle biologique du parasite qui était alors inconnu. Ce parasite n'est pas très éloigné de l'espèce pathogène pour l'homme : la trichine.

Un but a dirigé l'ensemble de ce travail: établir un modèle expérimental de *T. nasalis* chez le rongeur *A. niloticus*.

Les questions abordées et les méthodes utilisées sont variées, dictées à chaque étape par les problèmes posés:

- Identification du matériel utilisé, par la **morphologie**.
- Mise au point du cycle: **élevage** de rongeurs sains.
- Mise en place de deux **modes d'infestation**: oral et intrapéritonéal.
- Recherche des parasites: par la **dissection** des différents organes dans une première phase et par l'**histologie** afin de préciser la nature des tissus parasités dans une deuxième étape.

Cycle biologique

La connaissance des cycles biologiques est un élément fondamental pour la mise en place des moyens de lutte contre les parasites.

Chez les Nématodes, la transmission cyclique a été réalisée chez un bon nombre de filaires sur de petits rongeurs qui se maintiennent aisément en laboratoire.

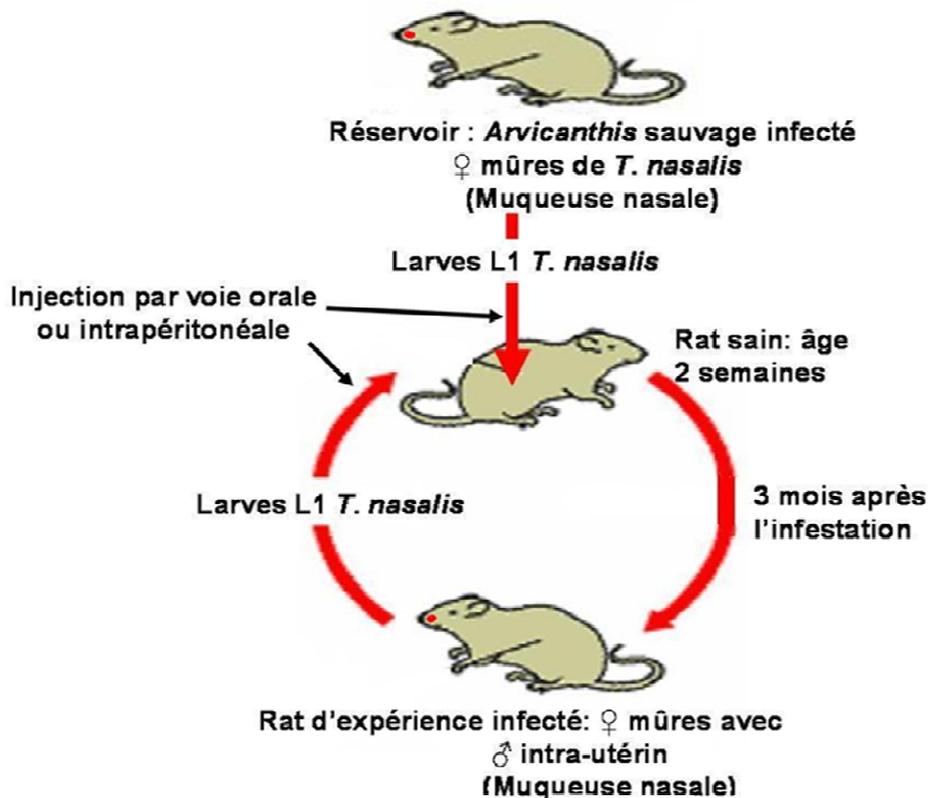
Dans la famille des Trichuridae, la localisation de l'adulte chez l'hôte dans l'espèce *Anatrichosoma* et *Trichosomoides* a été bien étudiée; en revanche on ne connaît pas leur cycle biologique.

Cycle biologique de *T. nasalis*

Récemment, le cycle biologique de *T. nasalis* parasite d'*Arvicanthis niloticus* a été réalisé expérimentalement au laboratoire.

C'est un cycle direct d'un rongeur infecté (sauvage ou d'expérience) vers un rongeur sain.

Il comprend une phase larvaire dans les muscles et les autres tissus et une phase adulte dans l'épithélium pseudostratifié de la muqueuse nasale.



Cycle de développement de *T. nasalis*

Développement et Migration de *T. nasalis*

Nous avons montré que le développement larvaire jusqu'au stade adulte s'effectue en trois semaines.

Les larves en développement ont été trouvées dans les parois musculaires abdominale et thoracique et elles ont été identifiées sur les coupes histologiques dans les fibres musculaires.

Ce tropisme musculaire n'induit pas la transformation des fibres musculaires infectées en cellules-nourricières ou « nurse-cells » comme dans le cas de *Trichinella spiralis*.

La dissémination par le sang telle qu'elle est observée avec *Trichinella spiralis* ne peut être exclue.

Cet aspect biologique de la migration est important à bien connaître pour les approches vaccinales, afin de déterminer le moment et le lieu de la protection et ses mécanismes.

Accouplement des *T. nasalis*

Nous n'avons pas observé de femelles de *T. nasalis* avec un mâle intra-utérin ni dans les muscles abdominaux ni dans les muscles thoraciques ni dans le chorion de la muqueuse nasale.

Grâce aux coupes histologiques nous montrons que seuls les mâles intra-utérins sont observés chez les femelles dans l'épithélium pseudostratifié de la muqueuse nasale.

PERSPECTIVES

- Étude de la circulation de *T. nasalis*:
 - Dynamique de la transmission de *Trichosomoides nasalis*: impact du parasite sur le comportement des *Arvicanthis niloticus* dans la nature.
 - Recherche de *T. nasalis* chez les autres muridés: aptitude d'autres rongeurs à jouer le rôle d'hôtes.
- Essai d'infestation à la souris blanche: un tel modèle permettrait l'analyse génétique et immunologique du parasitisme par *T. nasalis*.
- *T. nasalis* appartenant au même groupe que les trichines pourrait être un modèle intéressant pour étudier les mécanismes moléculaires des relations entre les larves de Trichinelloidea et les fibres musculaires infectées.
- Caractérisation moléculaire des Nématodes tissulaires parasites de rongeurs au Sénégal.
- Meilleure estimation de la biodiversité des nématodes au Sénégal par la construction de phylogénies fiables dans le cadre d'un réseau international.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADOUTTE A., BALAVOINE G., LARTILLO N., DE ROSA R. (1999). Animal evolution: the end of the intermediate taxa?. *Trends Genet.* 15:104-108.
- AGUINALDO A. M., TURBEVILL J. M., LINFORD L. S., RIVERA M. C., GAREY J. R., RAFF R. A., and LAKE J. A. (1997). Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals. *Nature* 387:489-493.
- ALI KHAN Z. (1966). The postembryonic development of *Trichinella spiralis* with special references to ecdysis. *Journal of Parasitology* 52, 248-259.
- ALLEN A.M. (1960). Occurrence of the nematode, *Anatrichosoma cutaneum*, in the nasal mucosae of *Macaca mulatta* monkeys. *American Journal of Veterinary Research* 21, 389-392.
- ANDERSON R.C. (2000). Nematode parasites of vertebrates. Their development and transmission. 2nd Edition. CABI Publishing, Wallingford, U.K., 650 p.
- ANTONAKOPOULOS G.N., TURTON J., WHITFIELD P. & NEWMAN J. (1991). Host-Parasite interface of the urinary bladder-inhabiting nematode *Trichosomoides crassicauda* : changes induced in the urothelium of infected rats. *International Journal for Parasitology* 21, 187-193.
- APPLETON J.A. (2001). New insights the intestinal niche of *Trichinella spiralis*, in : Parasitic nematodes : molecular biology, biochemistry and immunology. Kenndy M.W. & Harnett W. (eds), CABI Publishing, Wallingford, U.K., 103-120.
- APPLETON J.A. & ROMARIS F. (2001). A pivotal role for glycans at the interface between *Trichinella spiralis* and its host. *Veterinary Parasitology* 101, 249-260.
- BAIN O., BARTLETT C. & PETIT G. (1986). Une filaire de Muridés Africains dans la paroi du colon, *Monanema martini* n. sp. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée.*, 61, n°4, pp. 465-472.

- BAIN O. et CHABAUD A. (1986). Atlas des larves infestantes de Filaires. *Trop. Med. Parasit.*, 37, 301-340.
- BAIN O., CHABAUD A. G. (1988). Un appareil favorisant l'accouplement des Filaires : les renflements de la région antérieure du corps. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée.*, 63, 376-379.
- BAIN O., CHANDRASEKHARAN S. A., PARTONO F., MAK J. W., ZHENG H.J., SEO B. S., WU S. H. (1988). Discrimination de souches géographiques de *Brugia malayi* périodique par l'ornementation cuticulaire des mâles. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée.*, 63, 209-223.
- BAIN O., DIAGNE M., MULLER R. (1987). Une cinquième filaire du genre *Dipetalonema*, parasite de singes sud-américains. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée.*, 62, 262-270.
- BLAXTER M. L. (2001). Molecular analysis of nematode evolution. In: Parasitic nematodes: molecular biology, biochemistry and immunology. Eds. Kennedy M.W. & Harnett W., St. Albans, *C.A.B.I. Publishing, U.K.*, 1-24.
- BLAXTER M.L., DE LEY P., GAREY J.R., LIU L.X., SCHELDEMAN P., VIERSTRAETE A., VANFLETEREN J.R., MACKEY L.Y., DORRIS M., FRISSE L.M., VIDA J.T. & THOMAS W.K. (1998). A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature*, 392: 71-75.
- BIOCCA E., AURIZI A. (1961). On a new Parasitic Nematode *Trichosomoides nasalis* n. sp., from the Nasal cavities of *Epimys norvegicus*: and considerations on the Family Trichosomoididae Yorke and Maplestone, *Journal of Helminthology*, R. T. Leiper Supplement, 1961, pp. 5-6.
- BLUMENTHAL T., DAVIS R.E. (2004). Exploring nematode diversity. *Nature Genet.* 36:1246-1247.

- BOURREE P. (2008). Aide mémoire de parasitologie et de pathologie tropicale, 4^{ème} édition, Médecine Sciences Flammarion.
- BRUSCHI F., MARUCCI G., POZIO E., MASETTI M. (2009). Evaluation of inflammatory responses against muscle larvae of different *Trichinella* species by an image analysis system. *Vet Parasitol* 2009, 159(3-4): 258-262.
- CASTILLO J.A., PAALOMO-CANALES J., GARCIA J.J., LASTRES J.L, BOLAS F., TORRADO J.J. (1999). Preparation and characterization of albendazole-cyclodextrin complexes. *Drug Dev. ind. Pharm.*, **25**: 1241-1248.
- CHABAUD A.G. (1974). Class Nematoda. Keys to subclasses, orders and superfamilies. In: CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. Eds Anderson R.C., Chabaud A.G. & Willmott S., *Farnham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux*, N° 1, 6-17.
- DE CONINCK L.A.P. (1965) Systématique des Nématodes. In: *Traité de Zoologie Ed Grassé P.P.*, 4, N°2, 1-386.
- DE LEY P. & BLAXTER M.L. (2001). Systematic position and phylogeny. In: *Biology of Nematodes*. Ed. Lee D.L., *London: Harwood Academic Publishers*, 1-30.
- DESPOMMIER D. D. (1998). How does *Trichinella spiralis* make itself at home? *Parasitol Today*, 14(8):318-323.
- DESPOMMIER D.D., ARON L., TURGEON L. (1975). *Trichinella spiralis*: growth of the intracellular (muscle) larva. *Exp Parasitol*, 37(1):108-116.
- DIAGNE M., DIOUF M., LOCHOUARN L. & BAIN O. (2000). *Trichosomoides nasalis* Biocca & Aurizi, 1961 et *T. spratti* n.sp.(Nematoda: Trichinelloidea), parasites des fosses nasales de Muridés. *Parasite* 7, 215-220.
- DIAGNE M., VUONG P.N., DUPLANTIER J.M., BA K., THIRION-LOCHOUARN L., ATTOUT T. & BAIN O. (2004). Histological study of *Trichosomoides nasalis*

- (Nematoda: Trichinelloidea) in the murid *Arvicanthis niloticus*, with associated pathology. *Parasite* 11, 351-358.
- DORRIS M., DE LEY P. & BLAXTER M.L. (1999). Molecular analysis of nematode diversity and the evolution of parasitism. *Parasitology Today* ,15, 188-193.
- DUKE BO., ZEA-FLORES G., GANNON R.T. (1990). On the reproductive activity of the female *Onchocerca volvulus*. *Tropical Medicine and Parasitology*.; 41(4):387-402.
- DUKE BO., ZEA-FLORES G., CASTRO J., CUPP EW., MUNOZ B. (1991). Comparison of the effects of a single dose and of four six-monthly doses of ivermectine on adult *Onchocerca volvulus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 45, 132-137.
- DUPOUY-CAMET J. et MURRELL K.D. (2007). FAO/WHO/OIE guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis, *World Organisation for Animal Health Press*, Paris.
- DUPOUY-CAMET J., LECAM S., TALABANI H., ANCECELLE T. (2009). Trichinellosis acquired in Senegal from warthog ham. *Eurosurveillance*, **14**: 1-2.
- DZIK J.M. (2006). Molecules released by helminth parasites involved in host colonization. *Acta Biochimica Polonica* 53, 33-64.
- FALL E.H., DIAGNE M., JUNKER K., DUPLANTIER J.M., BA K., VALLEE I. & BAIN O. (2012). Development of *Trichosomoides nasalis* (Nematoda: Trichinelloidea) in the murid host: evidence for larval growth in striated muscle fibres. *Parasite* 19, 19-29.
- GARDINER C.H. (1976). Habitat and reproductive behavior of *Trichinella spiralis*. *Journal of Parasitology* 62, 865-870.
- HAEHLING E., NIEDERKORN J.Y. & STEWAT G.L. (1995). *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* induce collagen synthesis by host fibroblasts in vitro and in vivo. *International Journal of Parasitology* 25, 1393-1400.

- HENNIG W. (1950). Grundzüge einer Theorie der phylogenetischen Systematik. *Deutscher Zentralverlag, Berlin*, [VI]+370p.
- HODDA M. (2007) Comprehensive keys to nematodes at species and genus levels using INTKEY. *Phytopathology*. 97, S157.
- HUGOT J.P., BAUJARD P., MORAND S. (2001). Biodiversity in helminths and nematodes as a field of study: an overview. *Nematol.* 3:199-208.
- HULINSKA D., GRIM M., SHAIKENOV B. (1972). The feeding mechanism of intracellular muscle larvae *Trichinella nativa* Britov et Boev, 1972 and *T. pseudospiralis* Garkavi,. *Fol Parasitol (Praha)* 1985, 32:61-66.
- KEVEN D.K. Mc E. (1965). Soil Animals. London: R.F. and G. Witherby Ltd.
- KO R.C., FAN L., LEE D.L., COMPTON H. (1994). Changes in host muscles induced by excretory/secretory products of larval *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis*. *Parasitology*, 108(2):195-205.
- KOZEK W.J. (1971a). The molting pattern in *Trichinella spiralis*. I. A light microscope study. *Journal of Parasitology*., 57(5):1015-1028.
- KOZEK W.J. (1971b). The molting pattern in *Trichinella spiralis*. II. An electron microscope study. *Journal of Parasitology* , 57(5):1028-1038.
- LECOINTRE G. & LE GUYADER H. (2001) Classification phylogénétique du vivant. *Editions Belin, Paris, 3ème ed.*, 559 p.
- LITTLE M.D. & ORIHTEL T.C. (1972). The mating behavior of *Anatrichosoma* (Nematoda: Trichuroidea). *Journal of Parasitology* 58, 1019-1020.

- LONG G.G., LICHTENFELS J.R. & STOOKEY J.L. (1976). *Anatrichosoma cynamolgi* (Nematoda: Trichinellida) in rhesus monkeys, *Macaca mulatta*. *Journal of Parasitology* 62, 111-115.
- LOPEZ M.L., TORRADO S., SANTIAGO T., MARTINEZ A.R., BOLAS F. (1997). Improvement of albendazole efficacy against enteral but not against parenteral stages of *Trichinella spiralis* by preparing solid dispersions on polyvinylpyrrolidone. *Chemotherapy*, 1997, **43**: 430-435.
- MANWARREN T., GAGLIARDO L., GEYER J., McVAY C., PEARCE-KELLING S. & APPLETON, J. (1997). Invasion of intestinal epithelia in vitro by the parasitic nematode *Trichinella spiralis*. *Infection and Immunity* 65, 4806-4812.
- MARECHAL P., LE GOFF L., PETIT G., DIAGNE M., TAYLOR D.W., BAIN O. (1996). The fate of filaria *Litomosoides sigmodontis* in susceptible and naturally resistant mice. *Parasite*, 3(1):25-31.
- MUSSER G.G. & CARLETON M.D. (2005). Superfamily Muroidea, in: Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. Wilson D.E. & Reeder D.M. (eds), Johns Hopkins University Press, Baltimore, 894-1531.
- PENCE D. B. and LITTLE D. (1972). *Anatrichosoma buccalis* sp. n. (Nematoda : Trichosomoidae) from the buccal mucosa common opossum, *Didelphis marsupialis* l. *Journal of Parasitology* vol 58, n°4, p.767-773.
- PURKENSON M., DESPOMMIER D. D. (1974). Fine structure of the muscle phase of *Trichinella spiralis* in the mouse. In *Trichinellosis*. Edited by: Kim CW. Intext Publishers Group, USA: 7-23.
- RIPERT C. (2007). Epidémiologie des maladies parasitaires, *Lavoisier, Paris*.
- SCHMITT M. (2003). Willi Hennig and the rise of cladistics. The New Panorama of Animal Evolution *Proc. 18th Int. Congr. Zoology*, pp. 369-379.

- SMITH W. M. and CHITWOOD M. B. (1954). *Anatrichosoma cynamolgi* , a new trichiurid nematode from monkeys . *Journal of Parasit.* , 40 Sect. 2, (Suppl.): 12 . (abstract).
- SERAKIDES R., RIBEIRO A.F.C., SILVA C. M., SANTOS R. L., NUNES V. A. & NASCIMENTO E. F. (2001). Proliferative and inflammatory changes in the urinary bladder of female rats naturally infected with *Trichosomoides crassicauda*: reports of 48 cases. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 53, 1-5.
- SPRATT D.M. (1982). *Anatrichosoma haycocki* sp. n. (Nematoda: Trichuridae) from the paracloacal glands of *Antechinus* spp., with notes on *Skrjabinocapillaria* Skarbilovitsch. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 57, 63-71.
- THOMAS L.J. (1924). Studies on the life history of *Trichosomoides crassicauda* (Bellingham). *Journal of Parasitology* 10, 105-135.
- VASSILIADES G. (1973). Contrôle trichinoscopique des viandes de phacochères au Sénégal. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, 26 (1): 89-92.
- WANJI S., CABARET J., GANTIER J.C., BONNAND N., BAIN O. (1990). The fate of the filaria *Monanema martini* in two rodent hosts: recovery rate, migration and localization. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 65(2):80-88.
- WANJI S., GANTIER J. C., PETIT G., RAPP J. & BAIN O. (1994). *Monanema martini* in its murid hosts : microfiladermia related to infective larvae and adult filariae. *Tropical Medicine and Parasitology*, 43, 107-111.
- YOKOGAWA S. (1921). On the migratory course of *Trichosomoides crassicauda* (Bellingham) in the body of the final host. *Journal of Parasitology*, 7(2):80-84.

WEBOGRAPHIE (dernière consultation Novembre 2012)

[1] : <http://www.wormatlas.org/handbook/contents.htm>).

[2] : www.who.int/apoc/onchocerciasis/lifecycle/fr/index.html

[3]: atlas.or.kr/atlas/alphabet_view.php

[4]:[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Life_Cycle_of_Onchocerca_volvulus%28French
_version%29.JPG](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Life_Cycle_of_Onchocerca_volvulus%28French_version%29.JPG)

[5]: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

[6]: http://www.trichinella.org/bio_lifecycle.htm

[7]: http://www.trichinella.org/bio_nursecell.htm

DEVELOPMENT OF *TRICHOSOMOIDES NASALIS* (NEMATODA: TRICHINELLOIDEA) IN THE MURID HOST: EVIDENCE FOR LARVAL GROWTH IN STRIATED MUSCLE FIBRES

FALL E.H.*, DIAGNE M.*, JUNKER K.**, DUPLANTIER J.M.***, BA K.****, VALLÉE I.***** & BAIN O.*****

Summary:

Trichosomoides nasalis (Trichinelloidea) is a parasite of *Arvicanthis niloticus* (Muridae) in Senegal. Female worms that harbour dwarf males in their uteri, occur in the epithelium of the nasal mucosa. Young laboratory-bred *A. niloticus* were either fed females containing larvated eggs or intraperitoneally injected with motile first-stage larvae recovered from female uteri. Both resulted in successful infection. Organs examined during rodent necropsy were blood and lymphatic circulatory systems (heart, large vessels, lymphnodes), lungs, liver, kidneys, thoracic and abdominal cavities, thoracic and abdominal muscular walls, diaphragm, tongue, and nasal mucosa. Development to adult nasal stages took three weeks. Recovery of newly hatched larvae from the peritoneal fluid at four-eight hours after oral infection suggests a direct passage from the stomach or intestinal wall to the musculature. However, dissemination through the blood, as observed with *Trichinella spiralis*, cannot be excluded even though newly hatched larvae of *T. nasalis* are twice as thick (15 µm). Developing larvae were found in histological sections of the striated muscle of the abdominal and thoracic walls, and larvae in fourth moult were dissected from these sites. Adult females were found in the deep nasal mucosa where mating occurred prior to worms settling in the nasal epithelium. The present study shows a remarkable similarity between *T. nasalis* and *Trichinella* species regarding muscle tropism, but the development of *T. nasalis* is not arrested at the late first-larval stage and does not induce transformation of infected fibres into nurse cells. *T. nasalis* seems a potential model to study molecular relations between trichineloid larvae and infected muscle fibres.

KEY WORDS: *Trichosomoides*, *Trichinella*, rodent, intramuscular development.

Résumé : DÉVELOPPEMENT DE *TRICHOSOMOIDES NASALIS* (NEMATODA : TRICHINELLOIDEA) CHEZ LE MURIDÉ HÔTE : MISE EN ÉVIDENCE DE LA CROISSANCE LARVAIRE DANS LES FIBRES MUSCULAIRES STRIÉES

Trichosomoides nasalis (Trichinelloidea) est parasite d'*Arvicanthis niloticus* (Muridae) au Sénégal. Les vers femelles, qui contiennent des mâles nains intra-utérins, résident dans l'épithélium de la muqueuse nasale. De jeunes *A. niloticus* d'élevage ont ingéré des femelles avec des œufs larvés, ou ils ont été inoculés par voie intrapéritonéale avec des larves écloses de stade 1, mobiles, extraites des utérus des femelles. Les rongeurs se sont parasités avec les deux protocoles. Les organes examinés à l'autopsie des rongeurs ont été les systèmes sanguin et lymphatique (cœur, gros vaisseaux, ganglions lymphatiques), les poumons, le foie, les reins, les cavités thoracique et abdominale, les parois musculaires thoracique et abdominale, le diaphragme, la langue et la muqueuse nasale. Le développement jusqu'au stade adulte s'effectue en trois semaines. La récolte de larves nouveau-nées dans le liquide péritonéal quatre-huit heures après l'infection orale suggère un passage direct de la paroi digestive vers la musculature. Cependant, une dissémination par le sang, telle qu'elle est observée avec *Trichinella spiralis*, ne peut être exclue bien que les larves à l'éclosion de *T. nasalis* soient deux fois plus épaisses (15 µm). Les larves en développement ont été trouvées dans les parois musculaires abdominale et thoracique et elles ont été identifiées sur coupes histologiques dans les fibres musculaires. Les larves en mue 4 ont été récoltées dans l'abdomen et le thorax, ainsi que, pour les femelles seulement, dans la partie profonde de la muqueuse nasale où l'accouplement a lieu, avant l'installation des femelles dans l'épithélium nasal. Cette étude met en évidence une remarquable similitude entre *T. nasalis* et les espèces de *Trichinella* – le tropisme musculaire –, cependant, le développement de *T. nasalis* ne s'arrête pas au stade 1 âgé et il n'induit pas la transformation des fibres infectées en cellules-nouricières. *T. nasalis* pourrait être un modèle intéressant pour étudier les mécanismes moléculaires des relations entre les larves de trichinelloïdes et les fibres musculaires infectées.

MOTS-CLÉS : *Trichosomoides*, *Trichinella*, rongeur, développement intramusculaire.

* Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP5005 Dakar, Sénégal.

** ARC-Onderstepoort Veterinary Institute, Private Bag X05, Onderstepoort 0110, South Africa.

*** Centre de Biologie et de Gestion des Populations (UMR INRA/IRD/CIRAD/Montpellier Supagro), Campus de Baillarguet, CS 30016, 34988 Montpellier sur Lez Cedex, France.

**** IRD, UR 022 CBGP-Bel Air BP 1386, Dakar CP 18524, Sénégal.

***** UMR BIPAR, Anses, ENVA, UPEC, Laboratory for Animal Health, Anses Maisons-Alfort, 23, avenue du Général de Gaulle, 94706 Maisons-Alfort, France.

***** Parasitologie comparée, UMR 7205 CNRS, Muséum National d'Histoire Naturelle, CP52, 61, rue Buffon, 75231 Paris Cedex 05, France.

Correspondence: Odile Bain.
E-mail: bain@mnhn.fr

INTRODUCTION

The African Grass Rat *Arvicanthis niloticus* (Geoffroy) is a species of rodent in the family Muridae. It is mainly distributed in the Sahel and the sudano-zambesian Savanna belt, which includes Senegal. Its natural habitats are dry savanna, moist savanna, subtropical or tropical moist shrubland, arable land, pasture land, rural gardens, urban areas, irrigated land and seasonally flooded agricultural land. However, little is known about its biology and actual occurrence (Musser & Carleton, 2005).

The trichosomoidin genera *Trichosomoides* Railliet, 1895 and *Anatrichosoma* Smith & Chitwood, 1954, are rarely recorded trichinelloids. They are primarily parasites of the epithelial layer of the mucosa of various organs (Anderson, 2000). Adults of some invade the digestive tract, similar to the related and extensively studied *Trichinella spiralis* (Owen, 1835) (cf. Gardiner, 1976), others parasitise the skin, buccal cavity, cornea and sclera, nasal cavities and passages, or the bladder of their hosts. *Trichosomoides* spp. inhabit the latter two organs (Antonakopoulos *et al.*, 1991; Serakides *et al.*, 2001; Diagne *et al.*, 2000 & 2004).

Male *Trichosomoides* are dwarfs and live in the uteri of the females. Larvated eggs are laid and expelled with the faeces, urine or nasal mucus. Hosts become infected when ingesting these eggs. To date, development in the host has only been investigated in *T. crassicauda* (Bellingham, 1840), a parasite of the bladder of rodents (Yokogawa, 1921; Thomas, 1924). Findings of Diagne *et al.* (2000) that *Trichosomoides nasalis* Biocca & Aurizi, 1961 occurs frequently in the nasal cavities of *A. niloticus* in Senegal, encouraged further studies on the biology of this genus.

A previous study on the pathological effects of *T. nasalis* at various sites in its host had raised two questions (Diagne *et al.*, 2004). The first concerned the migration route of *T. nasalis* from the digestive tract to the nasal mucosa. In this context, their finding of sections of two female worms in the connective tissue of the external aspect of the upper maxillae, suggested tissue migration. The second question addressed their mating behaviour. Diagne *et al.* (2000) reported that by far the majority of nasal females contained males, and free males were the exception. However, when and in what tissue or cavity the males entered the females had not been established. In *T. crassicauda*, copulation takes place in various regions of the urogenital tract of rats (Thomas, 1924). Further information can be gleaned from species of the closely related genus *Anatrichosoma*. Here, males and females are of similar size, and males do not invade females permanently. Little & Orihel (1972) observed a mating of *Anatrichosoma buccalis* Pence & Little, 1972 in the multilayered epithelium of the tongue of opossums: the posterior half of the male had been inserted into the genital tract of the female, but was subsequently retracted. The authors did not comment on the predilection site of males between matings. In *Anatrichosoma cynamolgi* Smith & Chitwood, 1954, a male was identified in the connective tissue underlying the epithelium of the nasal passages of a monkey, where it occupied the lumen of a, possibly lymphatic, vessel (Long *et al.*, 1976). In contrast, *Anatrichosoma baycocki* Spratt, 1982, copulates in the lumen of the paracloacal glands of dasyurids (Spratt, 1982).

The aims of the present study were to determine the migration route of *T. nasalis* from the intestinal lumen to the nasal mucosa, to identify the mating site, to describe the developmental stages and to establish the site of larval growth. One of the major findings reported herein is that larval development occurs in the musculature of the abdominal and thoracic walls. Thus, *T. nasalis* shows remarkable similarities with species of *Trichinella* Railliet, 1895, in particular non-encapsulated ones, since they do not induce the profound cellular remodelling associated with nurse cell formation (Purkerson & Despommier, 1974; Ko *et al.*, 1994; Despommier, 1998; Bruschi *et al.*, 2009).

MATERIALS AND METHODS

BREEDING AND MAINTENANCE OF *A. NILOTICUS*

A *rvicantbis niloticus* were trapped in the field as described previously (Diagne *et al.*, 2000). They were captured near Dakar in the Niayes (14° 50' 270" N, 17° 12' 360" W) and in the region of Saint Louis, at Savoigne (16° 09' 247" N, 16° 18' 225" W). These animals were used to establish an infection-free breeding colony at the animal facilities of the Université Cheikh Anta Diop of Dakar, which provided all the young rodents used in this study. The experimental animals were kept in groups of 2-6 in transparent polycarbonate cages with stainless steel lids and a floor area of 549 cm². Sterilized water was freely available in 100 ml or 500 ml propylene water bottles with stainless steel spouts and animals had unlimited access to a commercially available diet (Les Moulins Sentenac, Dakar, Senegal).

EXPERIMENTAL INFECTION OF *A. NILOTICUS*

Adult *T. nasalis* were obtained from either naturally or experimentally infected *A. niloticus*. Rodents were killed by cervical dislocation, and gravid female worms were collected from the nasal mucosa in accordance with earlier studies by Diagne *et al.* (2000). Two- to four-week-old *A. niloticus* were infected experimentally by one of two routes. The oral route was used in rodents of the first series of experiments ($n = 102$). Rodents were given no food or water for 24 h, and subsequently fed 1-4 freshly recovered females containing mature eggs. For this purpose, females were suspended in a drop of saline at the tip of a syringe (without needle) that the rodents were allowed to lick off. Any remaining liquid was gently squirted into the back of the buccal cavity. During the study a few embryonated eggs were noted in the lungs and the protocol was refined. The fluid was more gently and slowly pushed into the mouth and after using

DEVELOPMENT OF *TRICHSOMOIDES NASALIS* IN THE MURID HOST

this method no more eggs were found in the lungs. Since the infection of rodents with intact females had proven unsuccessful, each female was first perforated, using a needle under a stereomicroscope. This seemed to facilitate the release of larvated eggs and some larvae hatched from the eggs while still in the female. The second series of rodents ($n = 52$) were infected intraperitoneally on the ventral line in the anterior part of the abdomen. Each was injected with highly motile, newly hatched larvae recovered from mature females of *T. nasalis*. Approximately 50 motile larvae were obtained from each female. The exact number of larvae administered was not determined and varied from a few to 35, and a few larvated eggs might have been mixed in with the free larvae. A small series of rodents were re-infected orally at ten day intervals and worms recovered from these were used for morphological studies only.

DISSECTION OF EXPERIMENTALLY INFECTED *A. NILOTICUS*

Experimentally infected hosts were killed with chloroform to avoid bleeding. The skin was removed and discarded to eliminate possible contamination with phoretic nematodes that could interfere with the recovery of *T. nasalis* larvae at the early stage of development. The thoracic and abdominal cavities were opened separately and each briefly immersed in saline to recover any worms (corresponding figures in Table I in italics). The blood vessels of the heart were ligated, and blood was recovered from the right heart cavities. The lungs and trachea were teased apart in saline. In the abdominal cavity, the aorta, *vena cava* and collateral vessels were ligated, isolated and their blood examined. Following the example of previous studies on filarial nematode migration (Maréchal *et al.*, 1996; Wanji *et al.*, 1990), the main abdominal lymph nodes (mesenteric nodes and lumbar-iliac chain) as well as the cervical nodes were removed and dissected. The mesentery, digestive tract, liver and kidneys were separated and teased apart. Initially, the thoracic and abdominal muscles were lacerated only grossly (corresponding figures in Table I in normal text). Later, to improve recovery rates, an effort was made to finely dissect the thoracic and abdominal muscles, as well as the diaphragm and tongue (corresponding figures in Table I in bold). The nasal mucosa was dissected from three days post-infection (dpi) onwards.

All blood, organ or tissue samples were placed into separate petri dishes containing saline. Each was examined several times, starting one hour after they had been teased apart. Petri dishes were kept overnight at 4-7 °C and re-examined. Petri dishes containing blood were finally treated with 5 % acetic acid to lyse red blood cells and examined again. Developing small

Time post-infection ^a	Infected/dissected hosts	Stomach	Lungs	Abdomen ^c	Total no. of worms per host
45 mpi	0/1	0	0	0	0
60 mpi	1/2	0	2/0	0	2
90 mpi	1/1	3*	5	0	8
2 hpi	3/3	4*/0/2*	19/1/0	0	23/1/2
	1/2	1*/0	0/0	0	1/0
4 hpi	1/1	0	4	1	5
6 hpi	1/1	0	1*	13	14
8 hpi	1/2	0/0	0/0	0/12 + 6	0/18
2 dpi	0/1	0	0	0	0
3 dpi	1/1	0	0	5	5
	0/1	0	0	0	0
4 dpi	2/2	0	0/1*	10/0	10/1
	1/1	0	0	8	8
	0/1	0	0	0	0
5 dpi	1/1	0	1	4	5
	0/1	0	0	0	0
6 dpi	0/2	0	0	0	0
7 dpi	3/7	0	6*/3/1	0/0/0	6/3/1
	1/1	0	0	19	19
8 dpi	1/4	0	10*	3	13
	1/1	0	0*	5	5
	0/1	0	0	0	0
9 dpi	1/6	0	2	0	2
	1/2	0	0	2	2
10 dpi	1/6	0	0	1	1
12 dpi	0/2	nd ^b	0	0	0
	1/1	nd	0	5	5
13 dpi	0/1	nd	0	0	0
	1/1	nd	nd	4	4
14 dpi	1/1	nd	nd	2	2
	1/1	nd	nd	3	3
	1/1	nd	nd	1	1
15 dpi	0/1	nd	0	0	0
	1/1	nd	nd	0	0
16 dpi	1/3	nd	nd	2	2
17 dpi	1/2	nd	nd	2	2
Total	31/67	10	56	108	174

^a dpi: days post-infection; hpi: hours post-infection; mpi: minutes post-infection.

^b nd: not determined.

^c worms recovered from grossly lacerated wall: normal text; finely dissected wall: bold; abdominal cavity: italics.

* in addition to undeveloped larvae, larvated eggs were present as well.

Table I. – Localization of *Trichosomoides nasalis* in orally infected *Arvicantbis niloticus* ($n = 67$).

worms were fixed in 10 % formalin and adult large worms were fixed in hot 70 % ethanol. Gravid females, ≥ 40 days old, containing larvated eggs were not fixed, but used to infect naive *A. niloticus*.

Among the 102 orally infected rodents, 67 were dissected from 45 minutes post-infection (mpi) to 17 dpi following the complete protocol (see Table I for details), whereas only the nasal mucosa was dissected in 35 rodents examined 18-74 dpi. The 52 intraperitoneally infected hosts were dissected from 2 hours post-infection (hpi) to 32 dpi, and some of them were partly fixed for histology (Table II).

Time post-infection ^a	Infected/dissected hosts	Abdomen ^c	Thorax ^c	Nasal mucosa	Total no. of worms per host
2 hpi	1/1	0 + 19	0	nd ^d	19
4 hpi	1/1	0 + 20	0	nd	20
6 hpi	1/1	2 + 33	0	nd	35
8 hpi	1/1	13 + 0	0	nd	13
	1/1	7 + 20	0	nd	27
4 dpi	1/1	4 + 0	0	0	4
9 dpi	1/1	5 + 0	0	0	5
12 dpi	1/1	6 + 0	0	0	6
	2/5	0/1/0/0/1	0	0	0/1/0/0/1
14 dpi	4/4	2/1/1/1	0/2/0/0	0	2/3/1/1
14 dpi histo ^b	1/3	1 histo	0	0 histo	1
15 dpi	1/1	2	0	0	2
16 dpi	1/2	0/0	0/1	0	0/1
17 dpi	4/4	0/0/0/3	4/2/1/0	0	4/2/1/3
17 dpi histo ^b	1/4	1 histo	0	0 histo	1
18 dpi	1/1	0	1	0	1
18 dpi histo ^b	0/4	0 histo	0	0 histo	0
19 dpi histo ^b	4/4	0 histo	1/1/2/2	0 histo	1/1/2/2
20 dpi	3/5	0	0/0/0/3/0	1/0/0/0/2	1/0/0/3/2
21 dpi	2/3	0	0	0/5/4	0/5/4
30 dpi	2/2	0	0	3/3	3/3
32 dpi	2/2	0	0	5/3	5/3
Total	36/52	143	20	26	189

^a dpi: days post-infection; hpi: hours post-infection.

^b histo: the abdominal musculature and nasal mucosa of these hosts were used for histological sections and worms were recorded from these.

^c worms recovered from grossly lacerated wall: normal text; finely dissected wall: bold; abdominal cavity: italics.

^d nd: not determined.

Table II. - Localization of *Trichosomoides nasalis* in intraperitoneally infected *Arvicambis niloticus* ($n = 52$).

MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF WORMS

The majority of worms were cleared in lactophenol and drawn under a compound microscope equipped with a camera lucida. Their length and width were measured on drawings as described in Diagne *et al.* (2000). Detailed studies were performed on several worms recovered from single infections as well as re-infected rodents, and the following developmental stages were distinguished: larvae, moulting unsexed larvae, fourth-stage females, males and females in fourth moult and adults. Unless otherwise stated, measurements are in micrometres.

HISTOLOGY

Intraperitoneally infected rodents were sacrificed from 14-19 dpi, and the abdominal wall or head or both fixed *in toto* in 10 % formalin (Table II). After dissection, samples of the muscles of the abdominal and thoracic walls, and the entire snout were prepared as described in Diagne *et al.* (2004), embedded in paraffin wax, sectioned at 5 μ m thickness, and stained with Mayer's haemalum and eosin.

RESULTS

PREVALENCE AND MEAN INTENSITY OF INFECTION

Both infection routes were successful as shown by dissections of the nasal mucosa on or later than 30 dpi. With the oral route, the prevalence of *T. nasalis* was 100 % ($n = 8$ rodents; from 33-74 dpi). The mean intensity of infection was 5 (range: 1-15), based on the number of females, as nearly all males had invaded the uteri by then. From 18-25 dpi, the prevalence in the nasal mucosa was 29.6 % ($n = 27$ rodents), suggesting that a proportion of worms were still migrating in tissues three weeks after oral infection. From 45 mpi to 17 dpi, the prevalence was 46.3 % ($n = 67$), with a mean intensity of 6.1 (1-24), based on the sum of unsexed larvae, and male and female larvae. It was obvious that once the larvae had invaded the tissue, not all of them could be recovered, even after the dissection techniques had been improved. With the intraperitoneal route of infection, the final prevalence was 100 % ($n = 2$ rodents; 30 and 32 dpi, respectively) and the mean intensity of infection, based on female worms, was 3.5 (3-5). From 4-18 dpi, the prevalence was 75 % ($n = 28$), and the mean intensity was 5.1 (1-6).

TRICHOSOMOIDES NASALIS LOCALIZATIONS

After oral infection, from 45 mpi to 17 dpi the entire body of the host was examined for migrating worms.

DEVELOPMENT OF *TRICHOSOMOIDES NASALIS* IN THE MURID HOST

Newly hatched larvae and larvated eggs could be found in the oesophagus and stomach up to 2 hpi, but no later than that. Among the numerous organs and tissues examined, only a few contained worms. Indeed, the mesenteric vessels, collateral vessels, large blood vessels (aorta, vena cava), lymph nodes, kidneys, intestine, spleen and tongue were never found to be infected and were therefore omitted from Table I. The following organs or tissues were rarely infected and are also excluded from Table I: one of 52 hosts harboured a single larva in the oesophagus at 2 hpi, while one larva each were found in the heart and liver of one of 57 hosts at 5 dpi; the diaphragm of one of 49 and the thoracic muscular wall of one of 67 hosts were infected with one larva each, 2 hpi and 15 dpi, respectively, and the nasal mucosa was first infected at 17 dpi, and one of 54 rodents harboured 10 worms. The remaining organs and tissues were infected more regularly (Table I). One, 13 and six larvae were recovered from the abdominal cavity of a single rodent each at 4, 6 and 8 hpi, respectively (corresponding figures in Table I in italics). The lungs of 13 of 45 (28.9 %) rodents examined from 1 hpi to 9 dpi harboured 1-19 larvae per host. In addition, larvated eggs were present in the lungs of five of these hosts. The muscular abdominal wall of 17 of 56 (30.4 %) rodents examined from 8 hpi to 17 dpi were parasitised by 1-19 larvae per host.

In intraperitoneally infected rodents (Table II), larvae were absent from the following organs and tissues: the spleen, lymphatic nodes, chambers of the heart, lungs, liver, diaphragm and tongue. These organs are thus not represented in Table II. From 2-8 hpi, 81 % of the recovered larvae were found when opening the abdominal cavity in saline. The earliest that larvae

were detected in the abdominal wall was 6 hpi, and by 4 dpi all larvae had invaded the abdominal wall. From 4-20 dpi, worms were found in the abdominal and/or thoracic wall. Worms were first found in the nasal mucosa at 20 dpi.

TRICHOSOMOIDES NASALIS GROWTH AND DEVELOPMENT

Larvae extracted from eggs ($n = 8$; 6 hpi; from abdominal residues) were 288.7 (250-310) long and 15.3 (12-18) wide. No differences in worm growth were apparent, irrespective of the infection route used. Therefore data from oral and intraperitoneal infections were pooled. Lengths of 93 worms, recovered from 6 hpi to 24 dpi, were measured (Fig. 1). Until 9 dpi, larvae grew slowly, approximately doubling their length, not exceeding 0.5 mm. Thereafter, growth was significant. Both sexes and unsexed larvae were seen moulting (Figs 1-3). Data on moulting dates and detailed worm measurements from intraperitoneal infections are presented in Table III. Larvae of increasing size (490, 750, 1,425) were moulting at 9, 12 and 17 dpi, respectively. Males in fourth moult were about 1,500 long at 19 dpi. Two females in fourth moult (vulva closed, genital tract developed) were 4,500 and 4,650 long at 19 and 21 dpi, respectively. The first adult male was found at 17 dpi and was 2,000 long. The first adult female was found at 21 dpi and was 4,700 long. Variations in the development of the worms in time and size are presented in Fig. 1. Several moulting worms of different sizes were also recovered from re-infected rodents. They could not be dated but were used for morphological analysis (Fig. 2).

The buccal stylet and bacillary bands were present in all larvae and adults studied (Fig. 2D, G, J). At 3

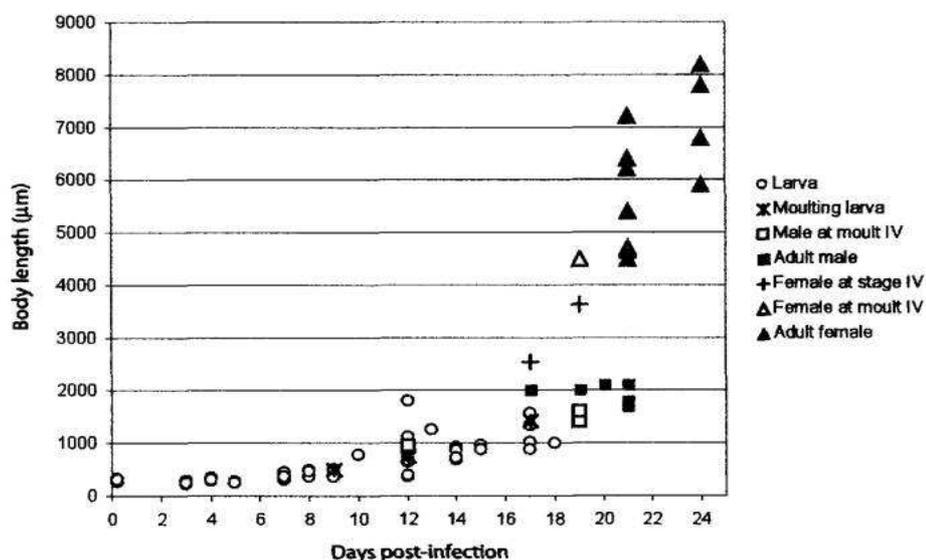


Fig. 1. – Growth and development of *Trichosomoides nasalis* in *Arvicaptbis niloticus* within 24 days post-infection.

Body-length and developmental stage of 93 worms recovered from six hours to 24 days post-infection are presented. Data from oral and intraperitoneal infection are pooled.

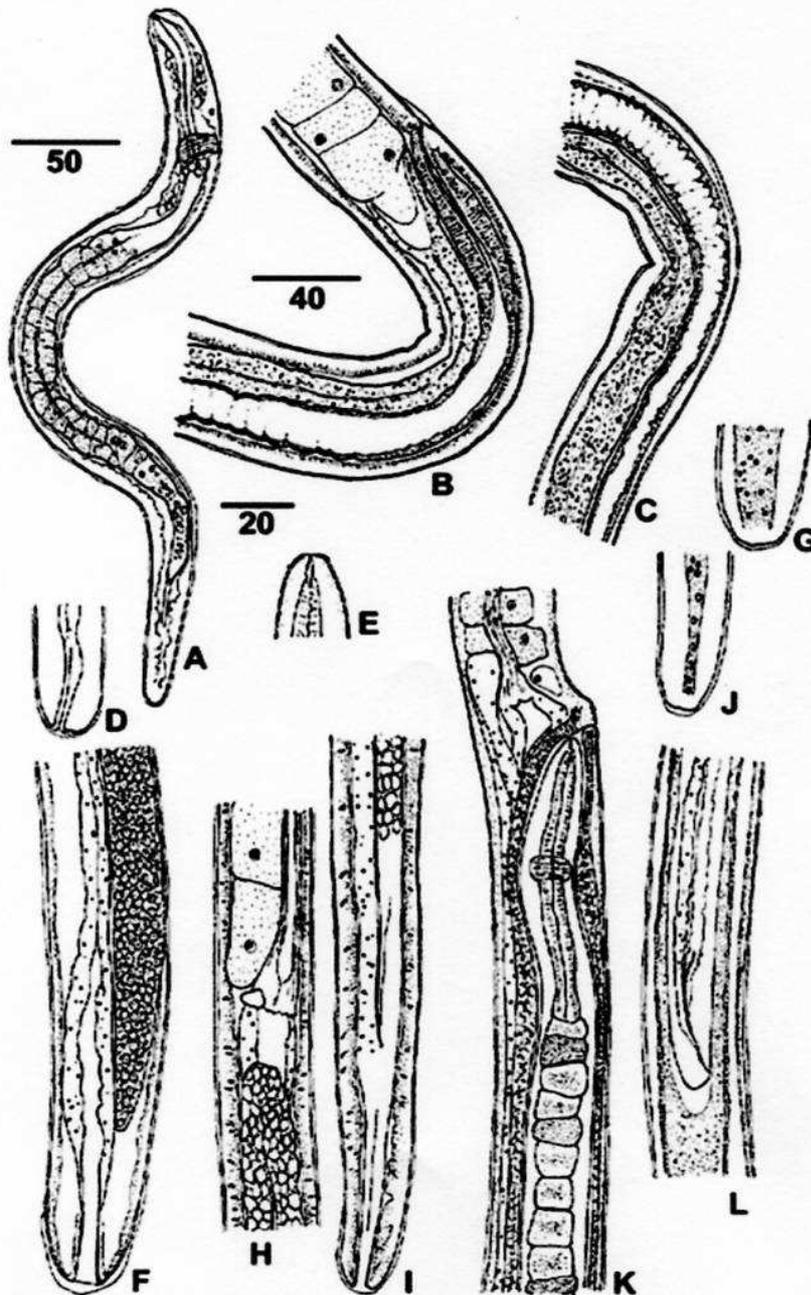


Fig. 2. – Morphology of developing *Trichosomoides nasalitis* in *Arvicantbis niloticus*.

A. First-stage larva, three days old, showing nerve ring, muscular oesophagus, long stichosome and short intestine, left lateral view. B-D. Female larva 2,800 μm long at very beginning of fourth moult; B. Oesophageal-intestinal junction and vulva (under exuvial sheath), vagina and distal part of uterus, right lateral view; C. Continuation of B, with uterus and intestine; D. Posterior extremity with rectum, lateral view. E-G. Female larva, 2,350 μm long; E. Head and stylet; F. Posterior region with ovary, intestine and rectum, and slight terminal exuvial sheath, dorso-ventral view; G. Bacillary band at posterior extremity, lateral view. H. Adult male 1,750 μm long, oesophageal-intestinal junction 1,050 μm from head. I. Same male, posterior extremity with intestine (on left), ejaculatory duct and cloaca, lateral view. J. Bacillary band at posterior extremity of a male, lateral view. K-L. Adult female 5,000 μm long with male; K. Male anterior part, its head oriented to vulva (note the stichocytes dark or clear); L. Male posterior part in uterus.

A-G: worms from abdominal wall, H-L: worms from nasal mucosa. All worms recovered from series of re-infected rodents, except the first-stage larva.

Scale bars in μm : A, K, L, 50; B, C, 40; D-J, 20.

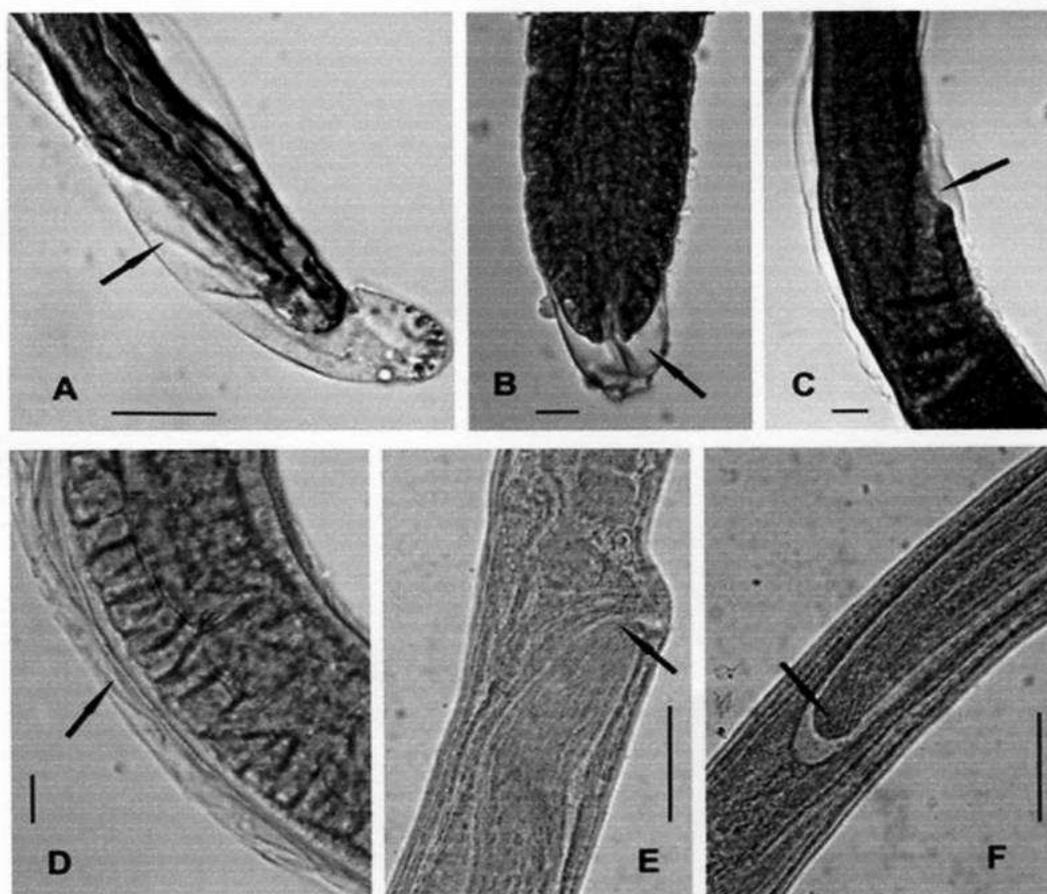
DEVELOPMENT OF *TRICHOSOMOIDES NASALIS* IN THE MURID HOST

Fig. 3. – Moulting *Trichosomoides nasalisis* and young adults from *Arvicantibis niloticus*.

A. Moulting, unsexed larva, 450 μm long, at 9 days post-infection (dpi). B-D. Three females in fourth moult, 3,200, 3,700 and 4,400 μm long, at 17 dpi; B. Posterior extremity with exuvium and the cuticular lining of the rectum; C. Vulvar region (arrow), right lateral view; D. Body exuvium. E-F. Female 5,000 μm long with intra-uterine male; E. Male anterior part close to vulva; F. Male posterior part.

Scale bars in μm : A, 25; B, C, D, 20; E, F, 40.

A and B: worm from abdominal muscular wall, C-F: from nasal mucosa.

Stage	Body length	Width at mid-body	Total oesophagus length	Muscular oesophagus length	Apex to vulva	Days post-infection	Localization
Larva ^a	208	18	140	60	-	3	abdominal
Moulting larva	490	25	275	90	-	9	abdominal
Moulting larva	750	30	380	120	-	12	abdominal
Moulting larva	1,425	25	820	165	-	17	abdominal
Male at 4 th moult	1,400	40	780	150	-	19	thoracic
Male at 4 th moult	1,600	40	900	140	-	19	thoracic
Adult male	2,000	35	1,170	155	-	17	abdominal
Adult male	2,000	40	1,100	160	-	19	thoracic
Adult male	2,100	40	1,100	160	-	20	nasal
4 th stage female	2,550	50	1,170	215	1,150	17	thoracic
4 th stage female	3,625	45	1,450	225	1,500	19	thoracic
Female at 4 th moult	4,500	50	1,500	200	1,550	19	thoracic
Female at 4 th moult	4,650	60	1,700	200	1,750	21	nasal
Adult female	4,700	60	1,650	210	1,700	21	nasal
Adult female	5,400	70	1,720	225	1,800	21	nasal
Adult female	6,400	90	1,800	225	1,850	21	nasal

^a from intraperitoneal infection.

Table III. – Measurements of *Trichosomoides nasalisis* at different stages related to time and localization in orally infected *Arvicantibis niloticus*. All measurements in micrometres.

FALL, F. H., DIAGNE M., JUNKER K. ET AL.

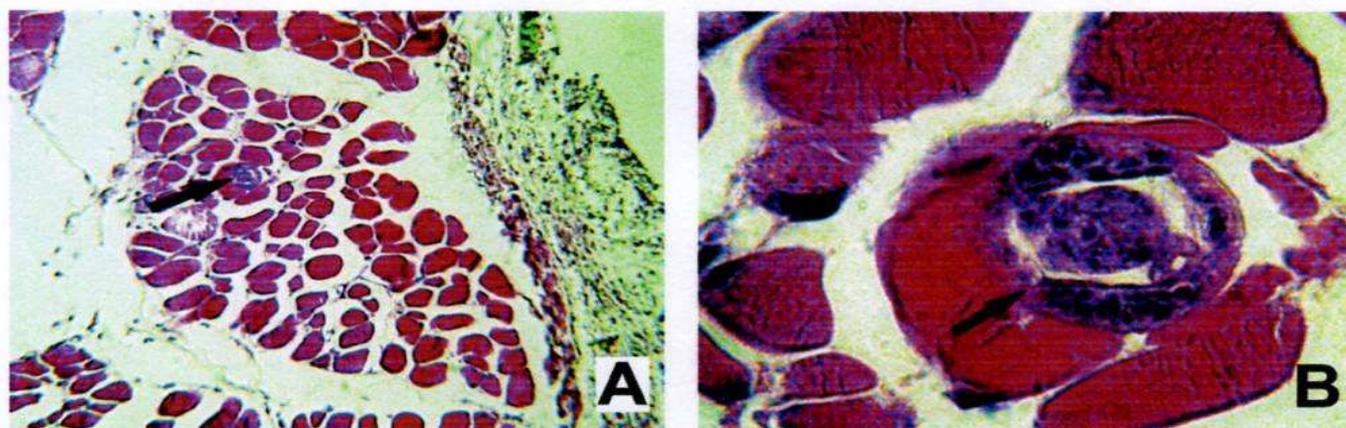


Fig. 4. – Fourth-stage larva of *Trichosomoides nasalis* in striated muscle fibre of *Arvicantbis niloticus*.

A & B. Two magnifications of a section of abdominal wall fixed seventeen days following intraperitoneal infection and stained with Mayer's Haemalum and Eosin. Intestine and gonad of *T. nasalis* are identified. Note that no collagen capsule and no inflammatory cells were observed around *T. nasalis* within the muscle tissue. Diameter of the larva: 33 μ m.

dpi, the oesophagus extended into the anterior 2/3 of the body, and the stichosome could be seen in the posterior half of the oesophagus. The intestine was short (Fig. 2A). During worm growth, the ratio oesophagus/body length was reduced to 1/2 in the male and 1/3 in the female. In both sexes, dark stichocytes alternated more or less regularly with clear stichocytes (Fig. 2K). Sexes could be distinguished when larvae were ≥ 1 mm long, male larvae being thinner than female larvae and the male cloaca being twice as long as the female rectum (75 and 30 long, respectively; Fig. 2). Adult worm morphology was similar to that described previously (Diagne *et al.*, 2000), and the length of five females, collected at 32 dpi, ranged from 9,990 to 13,600.

ORGANS CONTAINING DEVELOPING AND ADULT *T. NASALIS*

In the lungs, no growth was apparent. First-stage larvae, at 9 dpi, did not exceed 320 in length, contrary to those from the abdominal wall which had reached a length of 490. Larvated eggs were also recovered from the lungs of five hosts after oral infection. In the heart and diaphragm, two first-stage larvae, found no later than 5 dpi, did not show any sign of development.

Following both routes of infection, developing larvae were found in the musculature of the abdominal wall and, at a lower frequency, in the thoracic wall (Tables I & II). Worms were unsexed young larvae, fourth-stage females, males in fourth moult and three of a total of seven females found in fourth moult. A few adult males, but no adult females, were found at these sites as well.

The nasal mucosa contained the remaining four females in fourth moult (17-23 dpi; Table III). Notably, these moulting females, together with young males, were extracted from the deep layer of the mucosa. At later collection times, mature females containing one to two dwarf males were recovered from the upper epithelial layer whereas males alone were rare.

TRICHOSOMOIDES NASALIS IN STRIATED MUSCLE FIBRES

The abdominal wall and nasal mucosa of 15 rodents had been prepared for histology (Table II). In sections of the abdominal wall of two of these, a single worm each was seen at 14 and 17 dpi, respectively. Both larvae were identified inside a muscle fibre (Fig. 4A). No collagen capsule or inflammatory cells were seen around the infected fibre. In fact, inflammation was limited to the internal aspect of the peritoneum, surrounding the area of inoculation. No major changes were noted in the infected fibre, but the myofibril structure seemed less defined (Fig. 4B). The worms identified at 14 and 17 dpi were of similar width (30 and 33, respectively) and were in the fourth stage.

DISCUSSION

The present study demonstrates that *T. nasalis* females, containing uterine males, settle in the nasal mucosa within three weeks of infection. The initial development takes place in the musculature of the abdomen and thorax. The migration routes, especially at the start and end of development, as well as the main features of development seen in this

study are discussed here and compared with other nematodes, mainly the Trichinelloidea.

EARLY AND LATE MIGRATIONS

The investigation of larval migration routes is challenging at best, and for a given species different authors may come to controversial conclusions (Yokogawa, 1921; Thomas, 1924). In *T. spiralis*, tiny larvae, 111-125 long and 7 wide (Ali Khan, 1966), are born at an early embryonic stage and disperse in the blood and lymphatic system (review in Anderson, 2000). The way that first-stage larvae of *T. nasalis* pass from the digestive tract to the abdominal musculature has not been fully revealed yet, but, at present, there is no strong evidence of blood or lymphatic migration. On the contrary, several observations made during the current study suggest direct tissue migration from the wall of the digestive tract. Firstly, despite thorough dissection of the hosts, no larvae were recovered from blood vessels or the heart from 45 mpi to 8 hpi (a single cardiac larva was recovered at 5 dpi). In contrast with filarial species (Wanji *et al.*, 1990; Maréchal *et al.*, 1996), no larvae were recovered from the lymph nodes. Secondly, the few *T. nasalis* recovered from the lungs did not seem to be the result of blood dissemination. Because eggs were present in the lungs as well, it would appear that the parasites had accidentally been aspirated when the liquid used for oral infections was squirted into the back of the buccal cavity of the young rodents. The same technique for oral infections was subsequently refined and lungs were no longer found to be infected. Thirdly, in orally infected hosts examined at an early stage after infection (2-8 hpi), newly hatched larvae were found in the abdominal cavity of three rodents (one, 13 and six larvae, respectively; Table I). In intraperitoneally infected hosts, larvae were seen in the abdominal wall of three rodents as early as 6-8 hpi (Table II) and no larvae were recovered from blood or lymphatic vessels during this period. We, therefore, suggest that first-stage larvae of *T. nasalis* progress from the lumen of the digestive tract to muscle fibres through tissue migration, using their buccal stylet and secretions from the stichosome. As observed by Thomas (1924) with *T. crassicauda*, the movements of the stylet are very active in larvae from the abdominal cavity.

Upon completion of their development in the musculature, advanced female fourth-stage larvae and young males of *T. nasalis* migrate to the nasal mucosa by an as yet unknown route. A lymphatic migration cannot be excluded, because the Pecquet cysterna in the abdominal region is close by. Alternatively, the stylet of *T. nasalis*, still present in the late stages, may help penetrating the mucosa in conjunction with worm secretions. For *Trichinella* species, which have no

stylet at the late infective first stage, it has been shown that excretory/secretory (ES) antigens composed of tyvelose-bearing glycoproteins, play an important role in the penetration of epithelial intestinal cells (ManWarren *et al.*, 1997; Appleton, 2001; Appleton & Romaris, 2001). Indeed, serine proteases, which are abundant within *Trichinella*'s ES antigens could have an important function in the host-invasion process (Dzik, 2006), and facilitate migration within tissues.

In *T. nasalis*, mating is linked to late tissue migration. It seems to occur in the deeper layers of the nasal mucosa. Since females in the fourth moult, as well as some males, were recovered from the connective layer of the mucosa, we assume that mating occurs at this site, prior to females reaching the nasal epithelium. This is similar to the mating behaviour of *A. cynamolgi*. In the few histological studies concerning this species, males were found in the nasal submucosa of infected Rhesus monkeys, *Macaca mulatta* (Zimmermann), but not in the epithelial mucosa (Long *et al.*, 1976). This contrasts with the mating behaviour of two other Trichosomoidinae, described as occurring in the lumen of the urogenital tract of the rat for *T. crassicauda* (Thomas, 1924), and the paracloacal glands of *Antechinus* spp. for *A. baycocki* (Spratt, 1982). The possibility of the latter being a false result cannot be ruled out, as delicate epithelia are easily ruptured during dissection.

DEVELOPMENT IN MUSCLE FIBRES

The development of *T. nasalis* larvae to the adult stage takes three weeks, similar to that of *T. crassicauda* (Thomas, 1924). With *T. nasalis*, larvae were seen moulting at different lengths and at different times throughout the experimental period (Table III). At least three moults were identified. A moult observed at 9 dpi (Fig. 3A) was likely the first moult since the larva was only 490 long. The second moult was likely seen at 12 dpi, in a larva that was 750 long. The fourth moult occurred when worms could be identified as males or females. In total, 20 moulting larvae were recovered from all experimentally infected rodents, including larvae of intermediary size, which might represent the second or third moult. Kozek (1971 a, b) demonstrated that in *T. spiralis*, similar to other groups of nematodes, the classic number of four moults was the rule. However, these moults occurred within a very short period, from 9-28 hpi. The infective, late first-stage larvae of *T. spiralis* have grown in modified nurse cells and are thus very different from the infective, newly hatched larvae of *T. nasalis*. As a consequence, the timing of moults in *T. nasalis* is not as highly specialized as in *T. spiralis*.

Developing worms of *T. nasalis* were recovered regularly from the musculature of the abdominal wall

and, at a lower frequency, the thoracic wall (Tables I & II). In addition, developing larvae were found enclosed within muscle fibres (Fig. 4). This specific localization is a first record for Trichosomoidinae, the development of which has only been analysed for two species, *T. crassicauda* and *A. haycocki*. It may be a particular biological trait in *T. nasalis*, related to the nasal localization of adults, but we suggest that it might have passed unnoticed in other studies because these muscles were not amongst the examined organs (Thomas, 1924; Spratt, 1982). Indeed, the analysis was restricted to the blood system, liver, lungs and the sites where adults settle, urinary tract and posterior digestive tract, respectively. The muscular localization is particularly interesting, and might have phylogenetic significance, as species of *Trichinella* are known to develop in muscle fibres as well. However, the similarity between *Trichinella* spp. and *T. nasalis* is not complete. Firstly, the intramuscular phase of *Trichinella* corresponds to an extended growing phase of the first stage (Despommier *et al.*, 1975), whereas in *T. nasalis*, all larval stages occur in the muscular wall. Moreover, the development of *T. nasalis* does not seem to induce transformation of the muscle fibre into a nurse cell, as described for *T. spiralis* (Despommier, 1998). Interestingly, no collagen capsule and no inflammatory cells were observed around *T. nasalis* within the muscle tissues. These results approach *T. nasalis* to non-encapsulated *Trichinella* species such as *T. pseudospiralis* Garkavi, 1972, since this species also does not induce formation of a collagen wall, and the surrounding inflammatory response remains limited (Hulinska *et al.*, 1985; Haehling *et al.*, 1995; Bruschi *et al.*, 2009). Hence, the murid parasite *T. nasalis* might be a new model that is well worth investigating.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank G. Badji-Mbengue, Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Senegal, for her technical assistance.

REFERENCES

- ALI KHAN Z. The postembryonic development of *Trichinella spiralis* with special references to ecdysis. *Journal of Parasitology*, 1966, 52, 248-259.
- ANDERSON R.C. Nematodes parasites of vertebrates. Their development and transmission. 2nd Edition. CABI Publishing, Wallingford, UK, 2000, 650 p.
- ANTONAKOPOULOS G.N., TURTON J., WHITFIELD P. & NEWMAN J. Host-parasite interface of the urinary bladder-inhabiting nematode *Trichosomoides crassicauda*: changes induced in the urothelium of infected rats. *International Journal for Parasitology*, 1991, 21, 187-193.
- APPLETON J.A. New insights into the intestinal niche of *Trichinella spiralis*, in: Parasitic nematodes: molecular biology, biochemistry and immunology. Kennedy M.W. & Harnett W. (eds), CABI Publishing, Wallingford, UK, 2001, 103-120.
- APPLETON J.A. & ROMARIS F. A pivotal role for glycans at the interface between *Trichinella spiralis* and its host. *Veterinary Parasitology*, 2001, 101, 249-260.
- BRUSCHI F., MARUCCI G., POZIO E. & MASETTI M. Evaluation of inflammatory responses against muscle larvae of different *Trichinella* species by an image analysis system. *Veterinary Parasitology*, 2009, 159, 258-262.
- DESPOMMIER D.D. How does *Trichinella spiralis* make itself at home? *Parasitology Today*, 1998, 14 (8), 318-323.
- DESPOMMIER D.D., ARON L. & TURGEON L. *Trichinella spiralis*: growth of the intracellular (muscle) larva. *Experimental Parasitology*, 1975, 37, 108-116.
- DIAGNE M., DIOUF M., LOCHOUARN L. & BAIN O. *Trichosomoides nasalis* Biocca & Aurizi, 1961 et *T. spratti* n. sp. (Nematoda : Trichinelloidea), parasites des fosses nasales de muridés. *Parasite*, 2000, 7, 215-220.
- DIAGNE M., VUONG P.N., DUPLANTIER J.M., BA K., THIRION-LOCHOUARN L., ATTOUT T. & BAIN O. Histological study of *Trichosomoides nasalis* (Nematoda: Trichinelloidea) in the murid *Arvicanthis niloticus*, with associated pathology. *Parasite*, 2004, 11, 351-358.
- DZIK J.M. Molecules released by helminth parasites involved in host colonization. *Acta Biochimica Polonica*, 2006, 53, 33-64.
- GARDINER C.H. Habitat and reproductive behavior of *Trichinella spiralis*. *Journal of Parasitology*, 1976, 62, 865-870.
- HAEHLING E., NIEDERKORN J. Y. & STEWAT G.L. *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* induce collagen synthesis by host fibroblasts *in vitro* and *in vivo*. *International Journal for Parasitology*, 1995, 25, 1393-1400.
- HULINSKA D., GRIM M. & SHAIKENOV B. The feeding mechanism of intracellular muscle larvae *Trichinella nativa* Britov et Boev, 1972 and *T. pseudospiralis* Garkavi, 1972. *Folia Parasitologica (Praha)* 1985, 32, 61-66.
- KO R.C., FAN L., LEE D. I. & COMPTON H. Changes in host muscles induced by excretory/secretory products of larval *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis*. *Parasitology*, 1994, 108, 195-205.
- KOZEK W.J. The molting pattern in *Trichinella spiralis*. I. A light microscope study. *Journal of Parasitology*, 1971a, 57, 1015-1028.
- KOZEK W.J. The molting pattern in *Trichinella spiralis*. II. An electron microscopical study. *Journal of Parasitology*, 1971b, 57, 1028-1038.
- LITTLE M.D. & ORIHIEL T.C. The mating behavior of *Anatrichosoma* (Nematoda: Trichuroidea). *Journal of Parasitology*, 1972, 58, 1019-1020.
- LONG G.G., LICHTENFELS J.R. & STOOKEY J.L. *Anatrichosoma cynamogli* (Nematoda: Trichinellida) in rhesus monkeys, *Macaca mulatta*. *Journal of Parasitology*, 1976, 62, 111-115.

- MANWARREN T., GAGLIARDO L., GEYER J., MCVAY C., PEARCE-KELLING S. & APPLETON J. Invasion of intestinal epithelia *in vitro* by the parasitic nematode *Trichinella spiralis*. *Infection and Immunity*, 1997, 65, 4806-4812.
- MARECHAL P., LE GOFF L., PETIT G., DIAGNE M., TAYLOR D.W. & BAIN O. The fate of filaria *Litomosoides sigmodontis* in susceptible and naturally resistant mice. *Parasite*, 1996, 3, 25-31.
- MUSSER G.G. & CARLETON M.D. Superfamily Muroidea, *in*: Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. Wilson D.E. & Reeder D.M. (eds), Johns Hopkins University Press, Baltimore, 2005, 894-1531.
- PURKERSON M. & DESPOMMIER D. Fine structure of the muscle phase of *Trichinella spiralis* in the mouse, *in*: Trichinellosis. Kim C.W. (ed.), Intext Publishers Group, New York, 1974, 7-23.
- SERAKIDES R., RIBEIRO A.F.C., SILVA C.M., SANTOS R.L., NUNES V.A. & NASCIMENTO E.F. Proliferative and inflammatory changes in the urinary bladder of female rats naturally infected with *Trichosomoides crassicauda*: reports of 48 cases. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 2001, 53, 1-5.
- SPRATT D.M. *Anatrichosoma baycocki* sp. n. (Nematoda: Trichuridae) from the paracloacal glands of *Antechinus* spp., with notes on *Skrjabinocapillaria skarbilovitschi*. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 1982, 57, 63-71.
- THOMAS L.J. Studies on the life history of *Trichosomoides crassicauda* (Bellingham). *Journal of Parasitology*, 1924, 10, 105-140.
- WANJI S., CABARET J., GANTIER J.C., BONNAND N. & BAIN O. The fate of the filaria *Monanema martini* in two rodent hosts: recovery rate, migration and localization. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 1990, 65, 80-88.
- YOKOGAWA S. On the migratory course of *Trichosomoides crassicauda* (Bellingham) in the body of the final host. *Journal of Parasitology*, 1921, 7, 80-84.

Received on October 7th, 2011

Accepted on November 21st, 2011

**TRICHOSOMOIDES NASALIS (NEMATODA: TRICHINELLOIDEA)
IN THE MURID HOST *ARVICANTHIS NILOTICUS*: MIGRATION TO THE EPITHELIUM
OF THE NASAL MUCOSA AFTER INTRAMUSCULAR DEVELOPMENT**

FALL E.H.*, DIAGNE M.*, MARTIN C.**, MUTAFCHIEV Y.***, GRANJON L.****, BA K.****,
JUNKER K.***** & BAIN O.**

Summary:

Knowledge of the biology of the trichinelloid subfamily Trichosomoidinae is poor. *Trichosomoides nasalis* is a common parasite of *Arvicanthis niloticus* (Muridae) in Senegal, and a procedure for experimental infections has been established. It has been demonstrated that larvae develop in striated muscle fibres, similar to *Trichinella* spp., but they are not arrested in the first stage, and they reach the adult stage within three weeks. In the present histological study it is shown that *T. nasalis* females and dwarf males migrate from the abdomen and thorax to the host's muzzle, moving through connective tissues and between muscles. A few migrating specimens were also found in the blood vessels of the nasal mucosa. While sexes were still separated in the lamina propria of the mucosa, females recovered from the epithelium contained intra-uterine males. Worms were found between the incisors in the mucosa of the anterior and median conchae which are rich in mucous cells. Only the pseudostratified epithelium was parasitized. Under natural conditions, the inflammation of the nasal mucosa that is induced by the parasites might reduce the competitiveness of infected rodents when foraging or looking for potential mates.

KEY WORDS: *Trichosomoides*, *Trichinella*, rodent, migratory route, mating site.

Résumé : *TRICHOSOMOIDES NASALIS* (NEMATODA : TRICHINELLOIDEA) CHEZ LE MURIDÉ HÔTE *ARVICANTHIS NILOTICUS*: MIGRATION DANS L'ÉPITHÉLIUM DE LA MUQUEUSE NASALE APRÈS LE DÉVELOPPEMENT INTRAMUSCULAIRE

La biologie de la sous-famille des Trichosomoidinae est peu connue. *Trichosomoides nasalis* est un parasite commun d'*Arvicanthis niloticus* (Muridae) au Sénégal, et une procédure d'infestation expérimentale a été mise au point. Il a été démontré que les larves se développent dans les muscles striés, comme pour *Trichinella* spp, mais elles ne s'arrêtent pas au premier stade et atteignent le stade adulte en trois semaines. Cette étude histologique montre que les femelles et des mâles nains de *T. nasalis* migrent depuis l'abdomen et le thorax à la gueule de l'hôte, et se déplacent à travers le tissu conjonctif entre les muscles. Quelques spécimens en migration ont également été observés dans les vaisseaux sanguins et la muqueuse nasale. Si les sexes sont toujours séparés dans la lamina propria de la muqueuse, des mâles intra-utérins sont observés chez des femelles au niveau l'épithélium. Au niveau nasal, des vers ont été trouvés entre les cornets antérieurs et médians riches en cellules muqueuses. Seul l'épithélium pseudostratifié est parasité. En condition naturelle, l'inflammation de la muqueuse nasale provoquée par les parasites pourrait réduire la capacité des rongeurs infectés quand ils fourragent ou recherchent des partenaires.

MOTS-CLÉS : *Trichosomoides*, *Trichinella*, rongeur, voie migratoire, site d'accouplement.

INTRODUCTION

Trichosomoides nasalis Biocca & Aurizi, 1961 is a trichinelloid nematode of which the females that contain dwarf males in their uteri, live in the epithelium of the nasal mucosa of their rodent

host (Diagne *et al.*, 2004; see erratum at the end of this paper). It is a common parasite of the murid *Arvicanthis niloticus* (Geoffroy) in Senegal (Diagne *et al.*, 2000). A laboratory-based breeding programme for this host has been established, which made it possible to study the biology and transmission of *T. nasalis*, a species in the rarely studied group, the Trichosomoidinae (Anderson, 2000). It was recently discovered that larval development of *T. nasalis* occurs in the striated muscle fibres of the rodent. This highlighted similarities with the *Trichinella* spp., suggesting that the muscular larval phase might be a primary feature in the Trichosomoidinae, although this was not previously suspected (Fall *et al.*, 2012). However, the development of the *Trichinella* spp. is arrested at the end of the first stage (Kozek, 1971), whereas in *T. nasalis* all four larval stages occur in the muscle fibres of the abdominal and thoracic walls whereafter migration to the nasal mucosa takes place (Fall *et al.*,

* Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, UER 201/ESP 2014, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP5005 Dakar, Sénégal.

** UMR 7245 MCAM MNHN CNRS & UMR 7205 OSEB MNHN CNRS, Muséum National d'Histoire Naturelle, 61, rue Buffon, CP52, 75231 Paris Cedex 05, France.

*** Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences, 2 Gagarin Street, 1113 Sofia, Bulgaria.

**** IRD, UR 022 CBGP-Bel Air BP 1386, Dakar CP 18524, Sénégal.

***** ARC-Onderstepoort Veterinary Institute, Private Bag X05, Onderstepoort 0110, South Africa.

Correspondence: Odile Bain.

E-mail: odile.bain@wanadoo.fr

2012). The aim of this study was to elucidate the migratory route from the muscles to the nasal mucosa and to determine the mating site of *T. nasalis*.

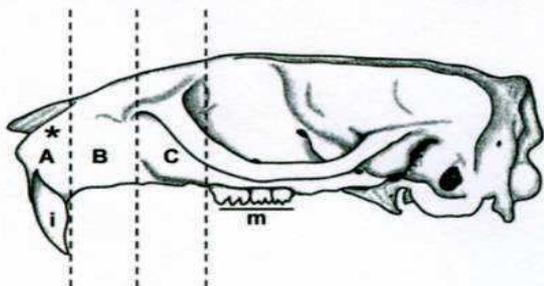


Fig. 1. – The three maxillary regions delineated for histology, shown in a rodent skull in lateral view. A, from the vestibulum to the beginning of incisor (i); B, incisor tooth region; C, from the posterior part of the incisor to the first molar (m). * indicates the position of adult *Trichosomoides nasalis*.

MATERIALS AND METHODS

Thirty *A. niloticus* were experimentally infected by one or two intraperitoneal injections, as described by Fall *et al.* (2012). Infected rodents were kept isolated in order to avoid any uncontrolled contamination with the parasite. Rodents were euthanized from 19-21 days post-infection (dpi) which corresponds to the period of migration of worms to the nasal mucosa, as established by Fall *et al.* (2012). The thoracic wall and the maxilla were fixed in 10 % formalin as described by Diagne *et al.* (2004), and subsequently decalcified for three hours (rapid decalcification with DC-LMR®). The thorax was divided into four parts, the maxilla into three parts, as determined on the basis of yet unpublished observations, that adult *T. nasalis* were usually recovered from a specific site in the maxilla, namely between the roots of the incisors. Thus, three frontal pieces, A, B and C,

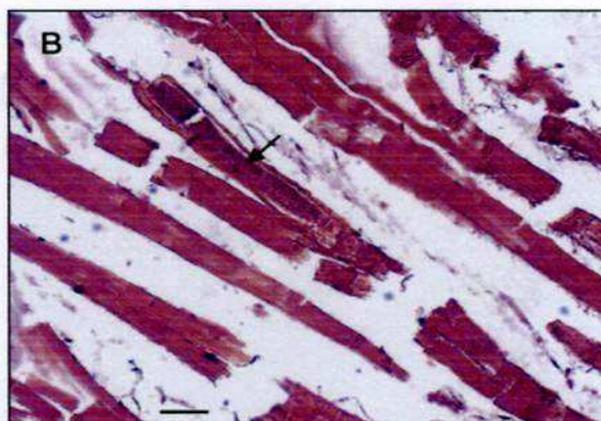
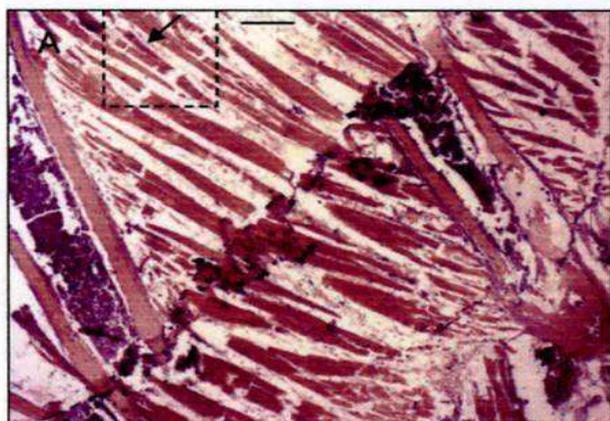


Fig. 2. – *Trichosomoides nasalis* in a thoracic muscle fibre. A, overview of ribs and musculature, parasite (arrow) within marked area. B, close-up of infected fibre. Arrow indicating parasite. Scale bars in μm : A, 400; B, 50.

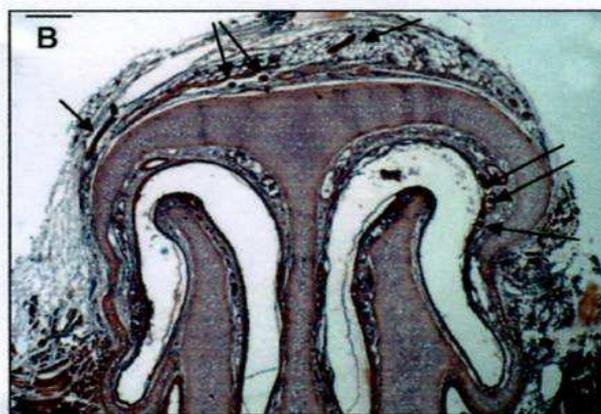


Fig. 3. – Two frontal sections of the nasal cavities at the level of the muzzle, showing the conchae projecting into the nasal cavities. A, on the left the median concha, and on the right the anterior and median conchae are visible. Arrows indicate the localization of five *Trichosomoides nasalis*. B, slightly posteriorly, only the median conchae are visible in the two cavities. Arrows indicate the localization of seven *T. nasalis*. Scale bars in μm : A, B, 200.

TRICHOSOMOIDES NASALIS IN THE MURID HOST ARVICAMBITIS NILOTICUS

each approximately 0.5 cm thick, were cut from anterior to posterior (Fig. 1). These tissue samples were embedded in paraffin wax, sectioned at 5 µm and stained with Mayer's haemalum and eosin.

RESULTS

Thirty rodents were processed and examined. Sections of worms were found in nine of these. In one of six rodents fixed at 19 dpi, *T. nasalis* was found in the thorax. A single developing worm,

25 µm wide at the level of the stichocytes, was located in a striated muscle fibre of the intercostal muscles (Fig. 2). The remaining sections, in which a total of 33 *T. nasalis* were present, were restricted to region A of the maxilla (Fig. 1), including the muzzle, nasal vestibulum and the anterior part of the nasal cavities, where the anterior and median conchae are present (Fig. 3). The localization of these specimens in the tissue, their sex (based on body width, see below) and number, are presented in Table I and Figs 1-7.

In the tissues surrounding the nasal cavities, sections of *T. nasalis* were seen in the connective and adipose

Time post-infection ^a (no. of infected hosts)	Worms recovered from infected hosts ^b	Worm diameter in µm (body level)	Sex	Infected host tissue	Figures
19 dpi (n = 1)	1/1	29 (stichocytes)	f	blood vessel in the lamina propria	5B
	2/1	33 (preoesophagus)	f	blood vessel in the lamina propria	5C
	3/1	25 (preoesophagus)	f	lamina propria	-
	4/1	34 (preoesophagus)	f	lamina propria	-
	5/1	36 (preoesophagus)	f	lamina propria	-
	6/1	37 (stichocytes)	f	pseudostratified epithelium	-
	7/1	28 (stichocytes)	f	pseudostratified epithelium	-
20 dpi (n = 5)	1/2	48 (uterus)/23 ^c (nd)	f/m	pseudostratified epithelium with inflammatory reaction	7A
	1/3	34 (nd)	f	dermal connective tissue of the nasal vestibulum	4D
	2/3	30 (nd)	f	between muscle fibers of the nasal vestibulum	-
	3/3	28 (nd)	f	between muscle fibers of the nasal vestibulum	4C
	4/3	22 (nd)	m	lamina propria	5A
	5/3	22 (nd)	m	lamina propria	-
	6/3	40 (uterus)/20 ^c (nd)	f/m	pseudostratified epithelium with inflammatory reaction	7B & 7C
	7/3	40 (uterus)/20 ^c (nd)	f/m	pseudostratified epithelium	6C
	1/4	42 (uterus)/20 ^c (nd)	f/m	pseudostratified epithelium	-
	2/4	45 (uterus)/20 ^c (nd)	f/m	pseudostratified epithelium	7D
	3/4	38 (stichocytes)	f	pseudostratified epithelium	-
	4/4	35 (uterus)/18 ^c (nd)	f/m	pseudostratified epithelium	-
	1/5	22 (nd)	m	between muscle fibers of the muzzle	4B
	2/5	30 (stichocytes)	f	pseudostratified epithelium	-
	1/6	28 (stichocytes)	f	muzzle connective tissue	3B
	2/6	31 (gonad)	f	muzzle adipose tissue	3B & 4A
	3/6	33(stichocytes)	f	pseudostratified epithelium	3B
4/6	33 (stichocytes)	f	pseudostratified epithelium	3A	
5/6	35 (stichocytes)	f	pseudostratified epithelium	3A	
6/6	34 (gonad)	f	pseudostratified epithelium	3A	
21 dpi (n = 2)	1/7	40 (uterus)/20 ^c (nd)	f/m	pseudostratified epithelium	-
	2/7	35 (stichocytes)	f	pseudostratified epithelium	-
	3/7	33 (stichocytes)	f	pseudostratified epithelium	-
	1/8	45 (uterus)/20 ^c (nd)	f/m	pseudostratified epithelium	-
	2/8	42 (uterus)/20 ^c (nd)	f/m	pseudostratified epithelium	-
	3/8	50 (uterus)/20 ^c (nd)	f/m	pseudostratified epithelium	-

^a dpi: days post-infection; ^b specimen reference number/host reference number; ^c the first numeral refers to the diameter of the female, the second to the diameter of the male; f: female; f/m: female with intra-uterine male; m: male; nd: not determined.

Table I. – Migration of *Trichosomoides nasalis* in intraperitoneally infected *Arvicambitis niloticus*: worm localization (n = 33) in the anterior part A of the maxilla (see Fig. 1).

tissue of the muzzle, the dermal connective tissue of the nasal vestibulum, between muscle fibres of the nasal vestibulum and the external aspect of the maxilla (Fig. 4). In the nasal cavities (Figs 5-7), the worms were found in the connective tissue of the mucosa (lamina propria), in mucosal blood vessels, and in the pseudostratified epithelium. They did not occur in the mucous epithelium (Fig. 6).

Worms outside the epithelium of the nasal mucosa were found in rodents processed 19 and 20 dpi, whereas intra-epithelial worms were found from 19 dpi onwards. In the epithelium of the nasal mucosa, ten females contained intra-uterine males 20 and 21 dpi (Fig. 7). These males were 20-23 μm wide which is slightly smaller than observed during preceding morphological studies (Fall *et al.*, 2012), and is due to shrinkage during preparation for histological examination. Worms with a diameter more than 25 μm were considered as females. Three males were found 20 dpi, one between muscles (Fig. 4B) and two in the lamina propria (Fig. 5A). None were identified free in the pseudostratified epithelium. Females were found

outside and inside the nasal cavities in the lamina propria, its blood vessels, and pseudostratified epithelium. They stretched the comparatively thin epithelium in which some appeared coiled (Fig. 7D). Females containing males were only found in the epithelium. An acute inflammatory cell reaction was observed in the infected lamina propria (Fig. 7A & B).

DISCUSSION

Despite the fact that the prevalence and intensity of infection appeared to be lower in histological sections than the figures established during dissection, as one might expect, the total of 34 worms found, one from the thorax and 33 from the nose, were sufficient to establish the late migratory route of *T. nasalis* from the muscles to the nasal mucosa. Having completed their development, worms escape from the muscle fibres of the thoracic and abdominal walls (Fall *et al.*, 2012; Fig. 4). They subsequently move between muscles and through a

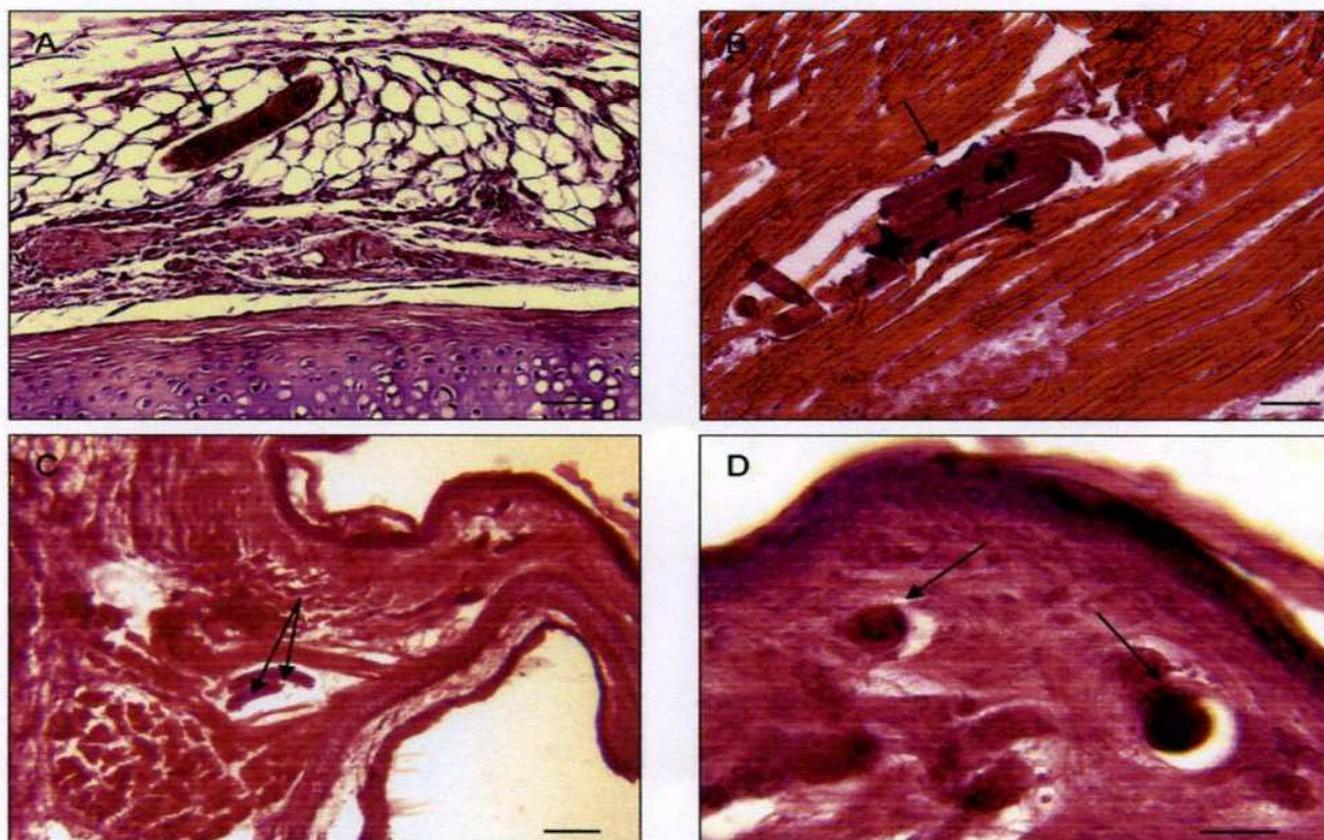


Fig. 4. – *Trichosomoides nasalis* (arrows) in tissues external to the nasal cavities. A, in the adipose tissue of the dorsal region of the muzzle. B & C, between muscle fibres of the nasal muzzle and vestibulum, respectively. D, in dermal connective tissue of the nasal vestibulum, two worms in transverse section. Scale bars in μm : A, B, D, 50; C, 100.

TRICHOSOMOIDES NASALIS IN THE MURID HOST ARVIZANTHUS NEOTICUS



Fig. 5. – *Trichosomoides nasalis* (arrows) in tissues of the nasal cavities. A, in the lamina propria, a worm in longitudinal section, at level of stichocytes. Note the large longitudinal vessel below, and another worm on left in the connective tissue. B, worm in a blood vessel of the lamina propria (V = blood vessel). C, four worms situated around the median concha, in the lamina propria (1), a blood vessel (2) and the pseudostratified epithelium (3), respectively. Scale bars in μm : A, 75; B, 30; C, 100.

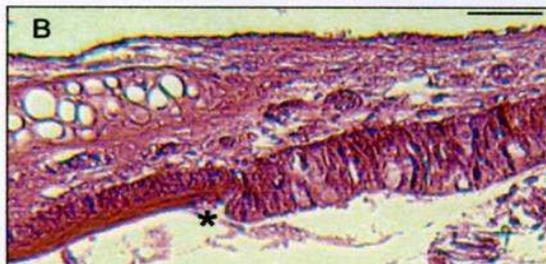
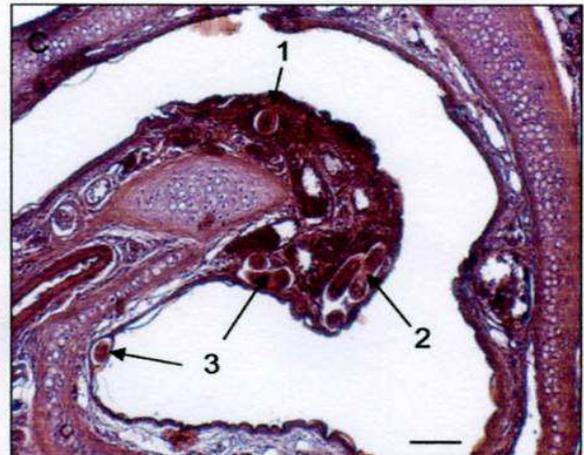


Fig. 6. – *Trichosomoides nasalis* in the pseudostratified epithelium. A, the two types of epithelia of the anterior concha: epithelium with mucous cells and pseudostratified epithelium without mucous cells but with keratinized upper lining. B, marked area in A enlarged to show detail of contact between the two epithelia. C, *Trichosomoides nasalis* female in the pseudostratified epithelium. Note the large longitudinal blood vessel below. * Marks contact between pseudostratified epithelium (on the right, with a parasite indicated by arrows) and epithelium with mucous cells. Scale bars in μm : A, C, 100; B, 50.

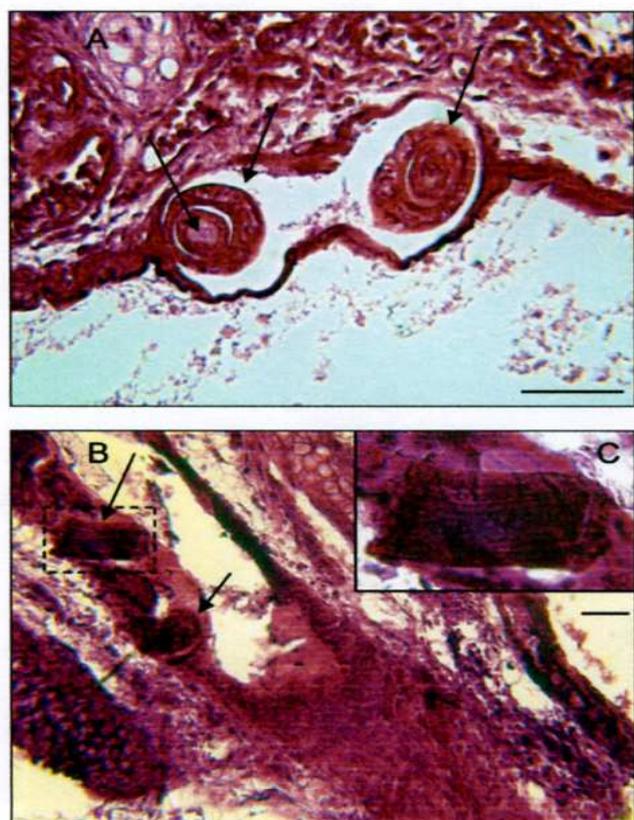
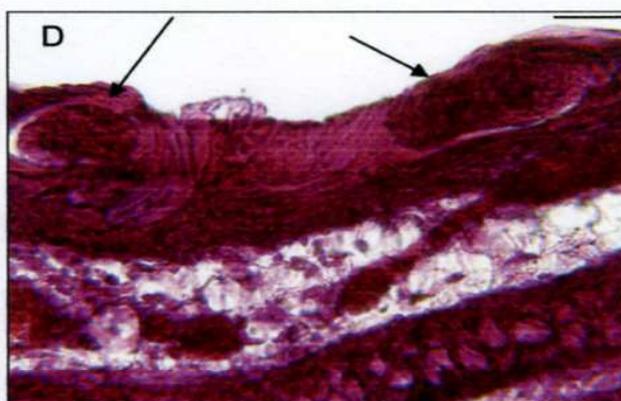


Fig. 7. – *Trichosomoides nasalis* (arrows) in the pseudostratified epithelium. A, two sections of a female (short arrows) with intrauterine male (long arrow). B, a female and inflammatory reaction. C, detail of an intrauterine male. D, female beneath the keratinized upper part of the pseudostratified epithelium which is stretched and distorted by worm movements. Scale bars in μm : A, D, 50; B, 40.



variety of connective tissue towards the head, and enter the muzzle, nasal vestibulum and external aspect of the maxilla (Figs 3-4). They then reach the tissues of the nasal cavities where they are first found in the lamina propria, at 19 and 20 dpi (Table I). At 21 dpi, migration is completed and worms have reached their extremely specific definitive site, the region between the incisors, that is the epithelial lining of the anterior and median conchae, with an exclusive tropism for the pseudostratified epithelium. The migration of worms in the mucosa induces an inflammatory reaction, which develops into a rhinitis when the females mature (Diagne *et al.*, 2004). At this stage it is probable that the competitiveness of infected rodents with respect to search for food and possible mates would be reduced when compared to those not infected.

In the course of the present study it was also noted that three free males were not found in the epithelium, but rather in the lamina propria and between muscle fibres of the muzzle, whereas intra-uterine males were only seen in intra-epithelial females. Mating, or penetration of the male into the female, thus occurs when the female settles in the epithelium of the nasal mucosa. These observations support our pre-

vious hypothesis (Diagne *et al.*, 2004) that *T. nasalis* mates in the tissues and not in the lumen. Luminal mating was suggested for a parasite of the bladder, *Trichosomoides crassicauda* (Bellingham, 1840), by Thomas (1924) following dissection of experimentally infected rats, and for another trichosomoidin parasite of the paracloacal glands, *Anatrichosoma baycocki* Spratt, 1982, following dissections of naturally infected dasyurid marsupials (Spratt, 1982). Indeed, these authors found a few young adults in the ureters and small intestine, respectively. Interestingly, however, mature *A. baycocki* males were found in the epithelium of the glands and only gravid females were in the lumen of the paracloacal glands (Spratt, 1982). This suggests that *A. baycocki* also copulates in tissues.

The presence of migrating *T. nasalis* worms in blood vessels is worth comment. This localization is rare (two of 33 worms) and was observed only in the mucosa of the nasal cavities. The vascular system is well developed in the lamina propria (Figs 5B & C, 7A). The worms, highly motile during the final migration as seen at dissection, seem to force their way between the tissues, using their stylet which is still present, and very likely also secretions, as seen in

Trichinella spiralis (Owen, 1835) (ManWarren *et al.*, 1997; Dzik, 2006). This indicates that they can, and do, enter blood vessels they encounter on their way to the epithelium.

Localization of adult worms in the vasculature is not a feature particular to *T. nasalis* and it has been observed in *T. crassicauda* by Thomas (1924) and other Trichosomoidinae, *Anatrichosoma cutaneum* (Swift, Boots & Miller, 1922) and *Anatrichosoma cynamolgi* Smith & Chitwood, 1954, both of which parasitize the nasal vestibulum of monkeys. In these two species male worms were found in the vessels of the lamina propria in histological sections (Allen, 1960; Long *et al.*, 1976). It is noteworthy that *Anatrichosoma* spp. males are as long as the females but much more slender, and do not live permanently in the uterus of the female. When copulating the male inserts half its body into the vulva of the female which is in the stratified epithelium, as observed with *Anatrichosoma buccalis* Pence & Little, 1972, a parasite of a didelphid marsupial (Little & Orihel, 1972). The vascular localization of males seen with parasites of monkeys might be a resting place between copulations assuming that males copulate more than once.

The biological data observed for *T. nasalis* has highlighted some important common features with *Trichinella* spp., like the muscle tropism of the hatching larvae. In *T. spiralis*, too, copulation occurs in the mucosal epithelium of the intestine (Gardiner, 1976). This might be a general primary feature.

REFERENCES

- ALLEN A.M. Occurrence of the nematode, *Anatrichosoma cutaneum*, in the nasal mucosae of *Macaca mulatta* monkeys. *American Journal of Veterinary Research*, 1960, **21**, 389-392.
- ANDERSON R.C. Nematode parasites of vertebrates. Their development and transmission, 2nd edition. CABI Publishing, Wallingford, UK, 2000.
- DIAGNE M., DIOUF M., LOCHOUARN L. & BAIN O. *Trichosomoides nasalis* Biocca & Aurizi, 1961 et *T. spratti* n. sp. (Nematoda: Trichinelloidea), parasites des fosses nasales de Muridés. *Parasite*, 2000, **7**, 215-220.
- DIAGNE M., VUONG P.N., DUPLANTIER J.M., BA K., THIRION-LOCHOUARN L., ATTOUT T. & BAIN O. Histological study of *Trichosomoides nasalis* (Nematoda: Trichinelloidea) in the murid *Arvicantibis niloticus*, with associated pathology. *Parasite*, 2004, **11**, 351-358. #
- DZIK J.M. Molecules released by helminth parasites involved in host colonization. *Acta Biochimica Polonica*, 2006, **53**, 33-64.
- FALL E.H., DIAGNE M., JUNKER K., DUPLANTIER J.M., BA K., VALLÉE I. & BAIN O. Development of *Trichosomoides nasalis* (Nematoda: Trichinelloidea) in the murid host: evidence for larval growth in striated muscle fibres. *Parasite*, 2012, **19**, 19-29.
- GARDINER C.H. Habitat and reproductive behavior of *Trichinella spiralis*. *Journal of Parasitology*, 1976, **62**, 865-870.
- KOZEK W.J. The molting pattern in *Trichinella spiralis*. I. A light microscope study. *Journal of Parasitology*, 1971, **57**, 1015-1028.
- LITTLE M.D. & ORIHÉL T.C. The mating behavior of *Anatrichosoma* (Nematoda: Trichuroidea). *Journal of Parasitology*, 1972, **58**, 1019-1020.
- LONG G.G., LICHTENFELS J.R. & STOOKEY J.L. *Anatrichosoma cynamolgi* (Nematoda: Trichinellida) in rhesus monkeys, *Macaca mulatta*. *Journal of Parasitology*, 1976, **62**, 111-115.
- MANWARREN T., GAGLIARDO L., GEYER J., MCVAY C., PEARCE-KELLING S. & APPLETON J. Invasion of intestinal epithelia in vitro by the parasitic nematode *Trichinella spiralis*. *Infection and Immunity*, 1997, **65**, 4806-4812.
- SPRATT D.M. *Anatrichosoma baycocki* sp. n. (Nematoda: Trichuridae) from the paraloacal glands of *Antechinus* spp., with notes on *Skrjabinocapillaria* Skarbilovitsch. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 1982, **57**, 63-71.
- THOMAS L.J. Studies on the life history of *Trichosomoides crassicauda* (Bellingham). *Journal of Parasitology*, 1924, **10**, 105-135.

Erratum

In the article by Diagne M., Vuong P.N., Duplantier J.M., Ba K., Thirion-Lochouarn L., Attout T. & Bain O. "Histological study of *Trichosomoides nasalis* (Nematoda: Trichinelloidea) in the murid *Arvicantibis niloticus*, with associated pathology", published in *Parasite*, 2004, **11**, 351-358, the following errors were made:

(a) Figure 1A does not represent the posterior nasal cavities, but the anterior nasal cavities instead. Furthermore, what is referred to as molar in the legend and marked 'm' on the photograph is not the molar but the incisor (photo and legend).

(b) In the last row of Table I the "Organ" infected by *Trichosomoides nasalis* Biocca & Aurizi, 1960 should read "Nasal cavities anterior & median" and not "Nasal cavities median & posterior".

The authors regret these errors.

Received on May 3rd, 2012

Accepted on June 20th, 2012

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Parasitologie

Résumé

Prénoms et Nom du Candidat : El hadji FALL

Titre de la thèse: Nématodes tissulaires parasites de rongeurs au Sénégal : Développement et Migration de *Trichosomoides nasalis* (Nematoda : Trichinelloidea) chez *Arvicanthis niloticus*.

Date et lieu de soutenance : 15 Décembre à l'amphithéâtre 7 FST.

Jury: Président:	M. Bhen Sikina	TOGUEBAYE
Membres :	M. Ngor	FAYE
	M. Laurent	GRANJON
	Mlle Coralie	MARTIN
	M. Cheikh Tidiane	BA
	M. Moustapha	DIAGNE

Résumé : La biologie de la sous-famille des Trichosomoidinae est peu connue. *Trichosomoides nasalis* est un parasite commun de la muqueuse nasale d'*Arvicanthis niloticus* (Muridae) au Sénégal, la femelle héberge un mâle nain intra-utérin. Une technique d'infestation expérimentale a été mise au point ; de jeunes *A. niloticus* d'élevage ont ingéré des femelles avec des œufs larvés ou ils ont été inoculés par voie intrapéritonéale avec des larves écloses de stade 1, mobiles, extraites de l'utérus des femelles. Les rongeurs se sont parasités avec les deux protocoles. Les organes examinés à l'autopsie des rongeurs ont été : les systèmes sanguin et lymphatique (coeur, gros vaisseaux, ganglions lymphatiques), les poumons, le foie, les reins, les cavités thoracique et abdominale, les parois musculaires thoracique et abdominale, le diaphragme, la langue et la muqueuse nasale. Le développement jusqu'au stade adulte s'effectue en 3 semaines. Il a été démontré que les larves de *T. nasalis* se développent dans les parois musculaires abdominale et thoracique et elles ont été identifiées sur les coupes histologiques dans les fibres musculaires ; ce qui montre une remarquable similitude dans le tropisme musculaire entre *T. nasalis* et les espèces de *Trichinella*. Cependant le développement de *T. nasalis* ne s'arrête pas au stade 1 et il n'induit pas la transformation des cellules infectées en cellules-nourricières. L'étude histologique montre aussi que les femelles et les mâles nains de *T. nasalis* migrent depuis l'abdomen et le thorax jusqu'au museau de l'hôte et se déplacent à travers les tissus conjonctifs et entre les muscles. Quelques spécimens en migration ont également été observés dans les vaisseaux sanguins de la muqueuse nasale. Cependant une dissémination par le sang telle quelle est observée avec *Trichinella spiralis* ne peut être exclue bien que les larves à l'éclosion de *T. nasalis* soient deux fois plus épaisses (15µm). Si les sexes sont toujours séparés dans la lamina propria de la muqueuse, des mâles intra-utérins sont observés chez des femelles au niveau de l'épithélium. Au niveau nasal, des vers ont été trouvés entre les cornets, antérieur et médian, riches en cellules muqueuses. Seul l'épithélium pseudostratifié est parasité.

Mots-clés : *Trichosomoides*, *Trichinella*, rongeur, développement intramusculaire, voie migratoire, site d'accouplement.