ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome 59

1984

N° 5

© Masson, Paris, 1984.

Ann. Parasitol. Hum. Comp.,
1984, t. 59, n° 5, pp. 437-447.

MÉMOIRES ORIGINAUX

NOUVEAUX HAEMOPROTEIDAE PARASITES DE CHIROPTÈRES EN THAÏLANDE¹

I. LANDAU*, D. BACCAM*, N. RATANAWORABHAN**, S. YENBUTRA**,
Y. BOULARD* et A. G. CHABAUD*

RÉSUMÉ. Les *Hipposideros larvatus* de Thaïlande sont parasités par deux Hémospories nouvelles : a) *Nycteria Brucechwatti* n. sp., qui se différencie des autres *Nycteria* connues par la plus grande taille de ses schizontes et par l'absence de granule chromatinien accessoire chez le gamétocyte ; b) *Biguetiella minuta* n. g. n. sp. a de très petits schizontes (< 15 µm) intra-hépatocytiques et des gamétocytes de type « falciparum ». Ces deux espèces semblent former un couple parasitaire vicariant de celui que l'on rencontre chez les Minioptères parasités par *Polychromophilus* et *Bioccala*. Par ailleurs, le sous-genre *Bioccala* Landau et coll., 1980 est élevé au rang de genre et les problèmes taxonomiques posés par les infections polyparasitaires discutés.

New Haemoproteidae parasites of Chiroptera in Thailand

SUMMARY. *Hipposideros larvatus* of Thailand are parasitized by two new Haemosporidia : a) *Nycteria Brucechwatti* n. sp. can be differentiated from all other *Nycteria* species by the schizonts which are the largest in the genus and by the absence of accessory chromatin dots in the gametocytes ; *Biguetiella minuta* n. g. n. sp. has very small intra-hepatocytic schizonts (< 15 µm) and gametocytes of the « falciparum » type. These two species are considered as vicariant forms of parasites of *Miniopterus*, namely *Polychromophilus* and *Bioccala*. The subgenus *Bioccala* is raised to genus status and problems related to the study of polyparasitic infections of the same host are discussed.

Treize *Hipposideros larvatus* (Horsfield) ont été capturés en août 1979 dans la grotte Tam Pumakrai située dans le National Education Centre Salakphra (région de

(1) Ce travail a reçu l'appui financier de l'O.M.S.

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

** Department of Applied Scientific Corporation of Thailand, 196 Phahonyothin Road, Bangkok, Bangkok, Thaïlande.

Accepté le 21 décembre 1983.

Kanchanabury, Thaïlande). A l'examen du sang, six étaient parasités à des degrés divers par des Haemoproteidae. Quatre d'entre eux ont été autopsiés ; tous quatre présentaient également une infection rénale à *Klossiella* sp.

Deux types de schizontes très différents ont été observés dans les cellules hépatiques : les uns, de grande taille, ont les caractères des formes tissulaires des *Nycteria* ; les autres, très petits, peuvent être rapprochés de celles de *Polychromophilus* (*Bioccala*). L'étude des gamétocytes sanguins permet également de distinguer deux espèces, l'une de type « malariae », l'autre de type « falciparum » (selon la classification de Landau et coll., 1976).

En nous basant sur les données acquises précédemment (Landau et coll., 1976), nous avons associé les schizontes proches de *Nycteria* aux gamétocytes de type « malariae » et nommé l'espèce *Nycteria brucechwatti* n. sp. en hommage à L. Brucechwatt.

Les schizontes de petite taille et les gamétocytes de type « falciparum » seront décrits sous le nom de *Biguetiella minuta* n. g., n. sp. en hommage à J. Biguet.

L'étude des infections polyparasitaires présente souvent des difficultés, car il n'est pas toujours facile de rattacher spécifiquement les uns aux autres les différents stades observés. Les solutions qui peuvent être apportées à ces problèmes seront discutées dans une première partie. Dans une seconde partie, nous décrirons les deux espèces nouvelles d'Haemoproteidae rencontrées chez *Hipposideros larvatus*, puis nous discuterons de leur statut taxonomique et de celui des autres Haemoproteidae de Microchiroptères.

I — Problèmes taxonomiques posés par le polyparasitisme chez les Haemoproteidae

La schizogonie tissulaire des Haemoproteidae de Mammifères présente une très grande diversité ; cette diversité contraste avec le caractère beaucoup plus stable de leurs gamétocytes sanguins, qui peuvent tous se classer dans un petit nombre de catégories morphologiques.

Dans les premiers travaux sur les Haemoproteidae, les auteurs rattachent, sans hésitation, toutes les formes parasitaires rencontrées chez un même hôte à une seule et même espèce parasitaire.

Dans les travaux plus récents, il apparaît, au contraire, que les infections monospécifiques sont exceptionnelles. Un même animal héberge habituellement 2, 3 espèces différentes, parfois plus. Lorsque le matériel original est accessible, ces confusions sont peu gênantes, car il est toujours possible de faire une analyse du matériel type et d'attribuer le taxon à l'un des parasites coexistants.

Dans les travaux modernes, devant ce phénomène essentiel de la coexistence des espèces, 2 solutions sont possibles :

1 — Une attitude rigoureuse, qui consiste à n'attribuer un nom que lorsque tous les stades évolutifs du parasite sont parfaitement déterminés. Une telle règle, même si elle n'était pas particulièrement difficile à appliquer, n'apporterait aucune réelle

certitude, étant donné la pluralité des espèces et les difficultés rencontrées pour maintenir au laboratoire les hôtes de nombreux Haemoproteidae ; de plus, les cycles de plusieurs espèces peuvent s'effectuer simultanément dans le même vecteur.

Du point de vue de la nomenclature, cette solution rigoriste implique donc :

- a) la désignation dans le cas d'un *Hepatocystis*, par exemple, d'*Hepatocystis* sp. n° 1 pour le schizonte, *Hepatocystis* sp. n° 2 pour le jeune gamétocyte, *Hepatocystis* sp. n° 3 pour le microgamétocyte, *Hepatocystis* sp. n° 4 pour le macrogamétocyte ;
- b) de multiplier le nombre d'*Hepatocystis* sp. par le nombre d'espèces coexistant chez l'hôte étudié. La confusion qui en résulterait rendrait tout essai de compréhension impossible.

2 — Une attitude non rigoureuse, qui consiste à rassembler sous un même nom les différents stades évolutifs qui appartiennent vraisemblablement au même parasite. Dans les faits, cette solution est moins aléatoire qu'elle ne le paraît a priori. En effet, de nombreux éléments permettent une interprétation rationnelle des faits constatés. Ce sont : — *la morphologie des gamétocytes*, qui obéit à des règles que l'on commence à pouvoir interpréter ; caractères morphologiquement primitifs ou évolués, permettant de classer les gamétocytes en différentes catégories et évolution du microgamétocyte plus poussée que celle du macrogamétocyte (cf. Landau et coll., 1976 et 1980) ; *la corrélation* entre la morphologie des gamétocytes et celle des noyaux des schizontes âgés, comme dans le cas des *Nycteria*, des *Hepatocystis* et des *Plasmodium* des groupes « malariae » et « vivax » ; — *les particularités* de l'infection de l'animal étudié : chronologie des stades rencontrés ; abondance relative et évolution du parasitisme en suivant l'infection de l'animal ; — enfin, l'étude d'autres animaux de la même espèce et les recoupements éventuels avec les notions acquises par ailleurs.

Le phénomène de coexistence presque constant d'infections associées fait que nos connaissances sur les Haemoproteidae ne peuvent être que rarement acquises par une méthode entièrement rigoureuse. Il semble indispensable, pour faire progresser la question, d'utiliser des observations faites sur des animaux naturellement infectés et de procéder par hypothèses et recoupements.

Si des erreurs taxonomiques se produisent, elles pourront être facilement corrigées à condition que le matériel holotype ait été désigné et soit disponible.

II — Description

A — Matériel biologique

Hipposideros

- 102 FP : sang et foie : infection mixte à *Nycteria brucechwatti* et à *Biguetiella minuta*.
- 104 FP : sang et foie : *N. brucechwatti*.
- 116 FP : sang : infection mixte
foie : *N. brucechwatti*.
- 117 FP : sang et foie : *B. minuta*.

FIG. 1. — 1 à 8, dessins ; a à d, schémas ; 1, 2 : macrogamétocytes de *Nycteria brucechwatti* ; 3, 4 : microgamétocytes de *N. brucechwatti* ; 5, 6 : macrogamétocytes de *Biguetiella minuta* ; 7, 8 : microgamétocytes de *B. minuta* ; a : macrogamétocyte de *N. brucechwatti* ; b : microgamétocyte de *N. brucechwatti* ; c : macrogamétocyte de *B. minuta* ; d : microgamétocyte de *B. minuta*.

B — *Nycteria brucechwatti* n. sp.

Matériel holotype constitué par un schizonte de 102 FP en coupe, marqué sur une lame enregistrée au M.N.H.N. sous le n° P XI, 4.

a — Gamétocytes (fig. I, 1 à 4 et a, b)

Le gamétocyte mûr remplit l'hématie hôte, qui est fortement hypertrophiée ; le macrogamétocyte mesure 7,7 μm en moyenne et le microgamétocyte 8,5 μm . L'hématie hôte peut être invisible ou former un liseré rose ou rouge, plus rigide que le gamétocyte dont un des bords est souvent rétracté. Ailleurs, ce liseré est irrégulier, formant de petits prolongements lobaires.

Le macrogamétocyte a un noyau grossièrement arrondi ou ovalaire, finement granulaire, mesurant 1,5 à 2 μm , pouvant aller jusqu'à 4 μm chez les formes jeunes. Le cytoplasme, bleu relativement soutenu, peut contenir quelques vacuoles claires. Le pigment est abondant et noirâtre ; les granules sont irrégulièrement dispersés, généralement fins avec quelques grains plus gros que les autres.

Le microgamétocyte a un noyau très volumineux, qui occupe les 3/4 du parasite. Les limites noyau-cytoplasme sont nettes ; les contours du noyau sont irréguliers. Ce dernier présente parfois des incisures ou se présente sous forme de plusieurs masses irrégulières, plus ou moins jointives. Le cytoplasme, gris ou rose pâle, plus clair que le noyau, occupe une bande périphérique irrégulière. Le pigment, noirâtre ou jaunâtre surtout abondant en périphérie, chevauche toujours le noyau.

b — Schizontes (fig. II, 2 à 5 et fig. III, 1 et 2)

Le plus jeune stade observé mesure 18,5 μm $\times$ 14 μm . Il est ovalaire, bien limité par une enveloppe fine ; son cytoplasme est granuleux, dense, avec des amas de réticulum endoplasmique rugueux ; les noyaux sont relativement grands et difficiles à voir nettement en raison de la forte densité du cytoplasme.

La cellule hôte est un hépatocyte apparemment non modifié.

Le stade suivant mesure 65 μm $\times$ 45 μm . C'est une masse à contours irréguliers, avec des lobes en début de formation. Le cytoplasme est bleu foncé très dense, occultant les noyaux qui ne sont parfois visibles qu'en périphérie, où ils paraissent petits. La cellule hôte et son noyau n'ont pas été vus et il n'y a pas de réaction cellulaire autour du schizonte.

Un schizonte plus âgé, mesurant 140 μm $\times$ 70 μm est une forme lobée. Les lobes serrés les uns contre les autres rayonnent à partir d'une masse grossièrement arrondie occupant le milieu du schizonte ; leur implantation est large et leur extrémité s'élargit encore, en massue ; ils n'ont pas tendance à s'échapper vers le tissu environnant ; les plus grands mesurent 50 μm $\times$ 15 μm . L'enveloppe périphérique est rose, nettement visible, mais peu épaisse. Le cytoplasme est, là encore, très dense et basophile ; il a un aspect grumeleux, avec des espaces clairs, délimitant de petits amas nucléocytoplasmiques évoquant une « aposchizogonie » (Bray, 1960) ; il est également parsemé de petites vacuoles blanches et rondes. Quelques cavités de plus grande taille contiennent de petits amas denses de colloïde rétractée. Les noyaux, peu visibles dans

FIG. II. — 1 : Schizonte intra-hépatocytaire de *B. minuta* ; 2-3-4 : Schizontes immatures de *N. brucechwatti* ; 5 : Schizonte immature de *N. brucechwatti* après hydrolyse acide : noter les noyaux de grande taille et très granuleux.

FIG. III. — 1 : Schizonte mûr de *N. brucechwatti* ; 2 : détail d'un schizonte mûr de *N. brucechwatti*.

les colorations ordinaires par le Giemsa-colophane, sont étudiables après hydrolyse acide selon les techniques de Wolcott : ils sont assez grands, complexes et granulaires, comme ceux de *Nycteria medusiformis* Garnham et Heisch, 1953.

Le tissu environnant n'est pas modifié. Quelques rares cellules macrophagiques sont à proximité ou entre les lobes du schizonte.

Nous avons observé un schizonte de même forme que ce dernier, mais plus grand ($140\text{ }\mu\text{m} \times 130\text{ }\mu\text{m}$) et plus immature : le cytoplasme est parsemé de très nombreuses petites vacuoles et il n'y a pas de colloïde.

Les schizontes mûrs atteignent $250\text{ }\mu\text{m}$ de diamètre ; leur forme générale est grossièrement arrondie ; les lobes, larges, rayonnent à partir d'une masse centrale. Les mérozoïtes, très nombreux, sont groupés en amas assez mal limités par des incisures ; ils remplissent tout le schizonte. Il n'y a plus de trace de colloïde.

Une réaction histiomacrophagique modérée entoure le schizonte mûr et s'insinue plus particulièrement entre les lobes. Les cellules hépatiques environnantes sont peu touchées.

Dans un cas, un schizonte mûr était constitué par une masse centrale volumineuse, entourée de lobes plus petits ; les mérozoïtes sont, comme dans le schizonte précédent, groupés (apосschizogonie) ; le schizonte est, par ailleurs, creusé de grandes cavités vides.

C — *Biguetiella minuta* n.g., n. sp.

Matériel holotype constitué par un schizonte de 117 FP en coupe, marqué sur une lame enregistree au M.N.H.N. sous le n° P XI, 5.

a — Gamétocytes (fig. I, 5 à 8 et c, d)

Les gamétocytes de *B. minuta* sont arrondis.

Le *macrogamétocyte* est de taille relativement petite ($6,5$ à $7\text{ }\mu\text{m}$ de diamètre) et ne remplit pas l'hématie hôte. Il est entouré par un liseré rouge vif, qui présente des zones plus denses et qui ne se confond pas toujours avec le contour de l'hématie, plus clair mais visible. Le cytoplasme est bleu plus foncé que celui du macrogamétocyte de *N. brucechwatti*, le pigment est fin, brun, dispersé dans tout le parasite. Le noyau est très petit ; il peut être arrondi ou allongé, formé de plusieurs petits granules, ou bien limité à un ou deux grains de chromatine ; ceux-ci, plus gros et chromophiles que précédemment, sont inconstamment entourés par une petite zone rose.

Le *microgamétocyte* est de grande taille ($8\text{ }\mu\text{m}$ en moyenne) ; il est aussi fréquemment entouré par un liseré rose vif. Son noyau diffus, sans limites précises, est granuleux et possède une zone de condensation en position excentrique. Le cytoplasme est rose et mal différencié, le pigment est plus abondant, plus grossier et plus régulièrement dispersé que celui de *N. brucechwatti*.

Il n'y a pas de granule chromatinien accessoire.

b — *Schizontes* (fig. II, 1)

Ils sont de très petite taille, puisqu'ils ne dépassent pas 15 μm et leur aspect est très monomorphe : ils sont ronds, bien limités par une enveloppe rose fine ; leur cytoplasme est mauve clair, bleu clair ou gris, finement granuleux, avec parfois une ou plusieurs vacuoles ; il ne contient pas de gros amas de réticulum endoplasmique rugueux analogues à ceux des schizontes de *Plasmodium*. Les noyaux sont bien visibles petits, ronds, bien limités, denses, au nombre de 200 au maximum.

Ils siègent dans une cavité de l'hépatocyte et sont entourés par une bande claire de 1,5 à 3 μm d'épaisseur.

Nous n'avons pas observé de forme mûre, mais seulement des schizontes remplis de petits noyaux et qui paraissent proches de la maturité.

III — Statut taxonomique

A — Les genres *Polychromophilus* et *Bioccala*

Dans un travail précédent, nous avons été amenés à scinder le genre *Polychromophilus* en deux sous-genres : *Polychromophilus* (*Polychromophilus*) et *Polychromophilus* (*Bioccala*). Le premier a comme éléments caractéristiques — des gamétocytes du type « malariae »* et des schizontes tissulaires de grande taille (> 100 μm), contenant des noyaux grands et granuleux. Le second a — des gamétocytes de type « falciparum »* et des schizontes de petite taille (< 30 μm), avec des noyaux petits et homogènes.

Malgré la netteté et la constance des caractères différentiels entre *Polychromophilus* et *Bioccala*, nous les avons classés dans le même sous-genre « pour ne pas rompre avec la taxonomie traditionnelle ».

Or, cette classification apparemment commode, ne rend pas compte des affinités entre les parasites : en effet, *Polychromophilus* (*Polychromophilus*) et *Nycteria* sont très proches (même type général de schizontes et de gamétocytes), alors que *Polychromophilus* (*Bioccala*), comme nous le verrons plus loin, est plus proche de *Biguetiella* que de *Polychromophilus* (*Polychromophilus*).

Nous proposons donc d'élever le sous-genre *Bioccala* au rang de genre sans modifier sa définition.

* Les principaux caractères différenciant les types de gamétocytes « vivax », « malariae » et « falciparum » sont :

- « vivax » — remplit l'hématie hôte ; — microgamétocyte avec : — noyau excentré bien limité ; répartition de la chromatine tantôt homogène, tantôt non homogène (en cocarde) ; — cytoplasme rose clair ou gris ; — pigment limité à la zone cytoplasmique.

- « malariae » — ne remplit pas l'hématie hôte ; — microgamétocyte avec : — noyau central bien limité, avec une chromatine homogène ; — cytoplasme bleu ou gris ; — pigment chevauchant le noyau.

- « falciparum » — ne remplit pas l'hématie hôte ; — microgamétocyte avec : — noyau mal limité, avec une chromatine non homogène (zone de condensation mal limitée) ; — cytoplasme rose ; — pigment chevauchant le noyau.

B — Le genre *Biguetiella* n. g.

Définition : Haemoproteidae parasite de Microchiroptère ; — gamétocytes de type « falciparum » (microgamétocyte avec noyau et cytoplasme de même teinte, sans limites précises entre noyau et cytoplasme et entre noyau et zone pigmentaire), ne possédant pas de granule chromatinien accessoire ; — schizontes intra-hépatocytiques de petite taille ($< 15 \mu\text{m}$), avec des noyaux simples et non granuleux.

Espèce-type unique : Biguetiella minuta n. sp.

Biguetiella se différencie : 1) de *Nycteria* et de *Polychromophilus* — par la taille et l'aspect de ses schizontes : de très petite taille ($< 15 \mu\text{m}$), avec des noyaux simples et non granuleux chez *Biguetiella*, de grande taille (de $30 \mu\text{m}$ à $150 \mu\text{m}$), avec des noyaux complexes et granulaires chez *Nycteria* et *Polychromophilus* ; — par les gamétocytes de type « falciparum » chez *Biguetiella*, « malariae » chez *Nycteria* et *Polychromophilus* ; 2) de *Bioccala* — par le siège de la schizogonie : hépatocyte chez *Biguetiella*, cellule réticulo-endothéliale chez *Bioccala* ; — par l'absence de granule chromatinien accessoire dans les gamétocytes de *Biguetiella* et sa présence chez *Bioccala* ; 3) — d'*Hepatocystis* — par la taille des schizontes hépatiques, petits chez *Biguetiella*, grands mérocytes avec colloïde chez *Hepatocystis* ; — par les gamétocytes de type « falciparum » chez *Biguetiella*, de type « vivax » chez *Hepatocystis*.

C — L'espèce *Nycteria brucechwatti*

Elle se différencie des 6 espèces de *Nycteria* connues.

1 — par les caractères des gamétocytes :

N. medusiformis Garnham et Heisch, 1953, *N. houini* Rosin et coll., 1978 et *N. erardi* Rosin et coll., 1978 ont un noyau du microgamétocyte en « cocarde », *N. brucechwatti* « diffus ».

N. congolensis (Krampitz et Anciaux de Faveaux, 1960), *N. gabonensis* Rosin et coll., 1978 et *N. krampitzi* Rosin et coll., 1978 ont, comme *N. brucechwatti*, un noyau du microgamétocyte « diffus », mais *N. brucechwatti* n'a pas de granule chromatinien accessoire, alors que les 3 autres espèces en ont un.

De plus, le pigment des gamétocytes de *N. brucechwatti* est plus fin, plus abondant et mieux dispersé que celui de toutes les autres espèces.

2 — par les caractères des schizontes :

N. brucechwatti a les plus grands schizontes connus chez *Nycteria* ($250 \mu\text{m}$ de diamètre à maturité), le plus grand schizonte de *Nycteria* connu auparavant étant celui de *N. krampitzi* ($125 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m}$).

IV — Conclusions

La répartition de ces quatre genres d'Haemoproteidae est intéressante. *Polychromophilus* et *Bioccala* constituent l'association caractéristique des Miniophtères (Vesper-

tilionoidea) en Europe et en Afrique. Leurs gamétocytes ont un granule chromatinien accessoire ; leurs schizontes se développent dans les cellules du système réticulo-endothélial. Chez *Hipposideros larvatus* (Rhinolophoidea) de Thaïlande, *Nycteria* peut être considéré comme vicariant de *Polychromophilus* et *Biguetiella* comme vicariant de *Bioccala*, mais, pour les deux parasites d'*Hipposideros*, les gamétocytes sont dépourvus de granule chromatinien accessoire et les schizontes siègent dans la cellule hépatique. Ces deux caractères sont plus évolués et constituent des apomorphies, bien que les Rhinolophoidea soient plus anciens que les Vespertilionoidea. Le couple parasite semble donc avoir subi un changement d'hôte de façon relativement récente.

BIBLIOGRAPHIE

- BRAY R. S. : Observations on the cytology and morphology of the mammalian malaria parasites. A process of apparent plasmotomy in the pre-erythrocytic phase of *Laverania falciparum*. *Riv. Parassit.*, 1960, 21, 267-276.
- GARNHAM P. C. C., HEISCH R. B. : On a new blood parasite of insectivorous bats. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1953, 47, 357-363.
- KRAMPTZ H. E., ANCIAUX DE FAVEAUX F. M. : Über einiger Haemosporidien aus Fledermausen der Höhlen des Berglandes Katanga. *Z. Tropenmed. Parasit.*, 1960, 31, 481-488.
- LANDAU I., CHABAUD A. G., MILTGEN F., BACCAM D. : *Dionisia bunoi* n. g. n. sp., Haemoproteidae parasite du Microchiroptère *Hipposideros cyclops* au Gabon. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1980, 55, 271-280.
- LANDAU I., MILTGEN F., CHABAUD A. G. : Les différents types de gamétocytes chez les Hémosporeidies de Mammifères. Corrélations avec la morphologie des schizontes tissulaires. Hypothèses sur l'évolution du groupe. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1976, 51, 175-187.
- LANDAU I., ROSIN G., MILTGEN F., HUGOT J.-P., LÉGER N., BEVERIDGE I., BACCAM D. : Sur le genre *Polychromophilus* (Haemoproteidae parasite de Microchiroptères). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1980, 55, 13-32.
- ROSIN G., LANDAU I., HUGOT J. P. : Considérations sur le genre *Nycteria* (Haemoproteidae) parasite de Microchiroptères africains avec description de quatre espèces nouvelles. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1978, 53, 447-459.
- WOLCOTT G. B. : Mitosis in *Trypanosoma lewisi*. *J. Morphol.*, 1952, 90, 189-199.