ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome 55

1980

N° 6

© Masson, Paris, 1980.

Annales de Parasitologie (Paris)
1980, t. 55, n° 6, pp. 621-633.

MÉMOIRES ORIGINAUX

Morphologie et infectivité des gamétocytes de *Plasmodium inui*

par E. DEI-CAS *, P. MAUROIS *, I. LANDAU **, E. DUTOIT *,
F. MILTGEN **, A. VERNES * et J. BIGUET *

* Unité 42 (INSERM), Domaine du CERTIA, 369, rue Jules-Guesde,
F 59650 Villeneuve d'Ascq.

** Laboratoire de Zoologie (vers) associé au CNRS. Muséum National d'Histoire Naturelle,
F 75231 Paris Cedex 05.

RESUME. Les auteurs rapportent les changements biomorphologiques subis par les gamétocytes de *Plasmodium inui* au cours de l'infection naturelle de *Macaca fascicularis* splénectomisé. L'infection a été suivie jusqu'au 42^e jour par des frottis pratiqués par piqûre à l'oreille (P.O.) et sur du sang prélevé au même moment par *A. stephensi* (P.M.). Les premiers oocystes sont apparus le 8^e jour après l'infection chez les moustiques nourris sur le singe parasité 8 jours après la splénectomie, alors que la gamétocythémie n'est pas encore décelable dans les P.O. L'infectivité des gamétocytes a atteint son maximum le 13^e jour pour une parasitémie de 152/10⁴. Les premiers sporozoïtes sont apparus le 18^e jour à 25°C après le repas infectant. Les sporozoïtes ont été infectants pour un deuxième singe.

Quatre types morphologiques (O, I, II et III) de gamétocytes ont été identifiés. Ils correspondent aux types précédemment décrits chez les *Plasmodium* de rongeur. Le maximum d'infectivité coïncide avec une ascension brutale de la macrogamétocythémie dans les P.M. ; par contre, l'infectivité est très faible lors du pic suivant de macrogamétocythémie qui correspond cependant au maximum de parasitémie (1 318/10⁴ 18 jours après la splénectomie).

Lorsque l'infectivité est forte, les gamétocytes de type O et I sont plus nombreux dans les P.M. que dans les P.O. pratiqués simultanément.

En définitive, le comportement des gamétocytes de *P. inui* est, pour l'essentiel, très proche de celui des *Plasmodium* de rongeurs. On notera cependant que l'identification

Accepté le 11 juillet 1980.

des 4 types morphologiques chez *P. inui* est plus aisée dans les macrogamétocytes que dans les microgamétocytes. Le contraire avait été observé chez les *Plasmodium* de rongeurs.

Morphology and infectivity of *Plasmodium inui* gametocytes.

SUMMARY. *The authors report biomorphological changes of Plasmodium inui gametocytes during the natural infection of spleenless Macaca fascicularis. The infection was controlled up to the 42th day by smears produced by pricks into their ears (P.O.) and on blood taken at the same time by A. stephensi (P.M.). The first oocysts appeared on the 8th day after the infection in mosquitoes fed on the monkey parasitised in the 8th day after splenectomy, as gametocytaemia was not detectable yet in the P.O. smears. The infectivity of gametocytes is highest on the 13rd day for a 152/10⁴ parasitaemia. The first sporozoites appeared on the 18th day at 25°C after the infecting meal. The sporozoites were infecting for a second monkey.*

Four morphological types (O, I, II and III) gametocytes were identified. They corresponded to the same types previously described in rodent *Plasmodium*. The maximum of infectivity coincided with a sudden increase in mosquito macrogametocytaemia; on the other hand the infectivity was very weak during the following peak of macrogametocytaemia which corresponded however to the maximum of parasitaemia (1 318/10⁴ 18 days after splenectomy).

When infectivity was important, there was a greater number of type O and I gametocytes in P.M. than in P.O.

Eventually, the behaviour of *P. inui* gametocytes is, for the mainly, almost the same as that of rodent *Plasmodium*. However it is to be noted that the identification of the 4 morphological types in *P. inui* is easier in macrogametocytes than in microgametocytes. The reverse had been observed in rodent *Plasmodium*.

L'infectivité des gamétocytes des *Plasmodium* du groupe « vivax » est en rapport avec la formule gamétocytaire et l'état physiologique du gamétocyte, les gamétocytes jeunes (type O et I) étant les plus infectants (Landau *et al.*, 1979). Cependant, l'abondance des gamétocytes O et I ne coïncide pas nécessairement avec une grande infectivité : celle-ci, toujours présente dans la première vague de parasitémie, éventuellement dans la deuxième, disparaît ensuite. Pourtant, les gamétocytes devenus « non infectants » récupèrent leur infectivité quand ils ont séjourné 2 heures dans le sang de leur hôte vertébré normal et sain. Dans ces conditions, on peut supposer que la variation de l'infectivité des gamétocytes est dépendante de facteurs complexes concernant à la fois le parasite et l'hôte vertébré.

Les facteurs affectant le parasite correspondent à l'ensemble des changements morphobiométriques subis par les gamétocytes au cours de l'infection palustre. Quatre types morphologiques ont pu être distingués. Ils représentent très vraisemblablement une évolution cytotologique indépendante de l'hôte.

La taille des gamétocytes varie avec leur âge et retentit sur celle des hématies hôtes. Les gamétocytes jeunes (type O et I) étant plus grands, les hématies parasitées sont elles-mêmes plus volumineuses. Ce fait entraîne sans doute leur accumulation préférentielle au niveau des capillaires où elles sont aspirées par l'Anophèle, et expliquerait la concentration des gamétocytes infectants dans l'intestin moyen des moustiques ; elle est en effet supérieure à celle des mêmes stades dans le sang de l'hôte, prélevé au même moment, par les techniques habituelles qui intéressent toujours, au moins partiellement, des vaisseaux de calibre supérieur à celui des capillaires (Landau *et al.*, 1979).

Les facteurs dépendant de l'hôte constituent l'ensemble des modifications subies par le milieu sanguin au cours du paludisme, qui provoqueraient dans les étapes plus avancées de l'infestation le remplacement des gamétocytes (type O, I, II, III) par leurs homologues dégénérés morphologiquement et pratiquement incapables d'infecter l'hôte invertébré.

Dans le cadre de cette étude sur les gamétocytes, la présente contribution concerne *P. inui*, parasite de primate.

Matériel et méthodes

Un exemplaire de *Macaca fascicularis* mâle, capturé en Malaisie, de caryotype $42 = 2n$, montrait une très faible parasitémie à *P. inui*. Splénectomisé le 9-5-79, il a été soumis à un rythme de 12 heures d'obscurité (10 à 22 heures) et 12 heures de lumière (22 à 10 heures), en tenant compte des observations de Hawking *et al.* (1968). Nous avons suivi l'évolution de sa parasitémie et de la gamétocythémie sur des frottis colorés au Giemsa. Deux sortes de frottis journaliers ont été pratiqués entre 16 et 19 heures à partir du lendemain de la splénectomie : les uns classiques (P.O.) où le sang était prélevé par piqûre à l'oreille du singe ; les autres (P.M.) effectués sur le sang prélevé dans l'intestin moyen des femelles d'*Anopheles stephensi* disséqués immédiatement après leur repas.

Nous avons de plus gorgé environ 60 femelles par expérience, pendant 30 à 60 mn, sur le singe les jours suivants : jour 8 après la splénectomie qui est le premier jour où la parasitémie est notable, puis jours 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 18, 20, 21, 22, 24, 27, 28 et 42. Chaque fois, le contenu intestinal de 3 femelles était étalé sur une lame quelques instants après qu'elles se soient gorgées complètement. Les autres femelles ont été conservées entre 8 et 26 jours à 25°C pour l'étude de la production de sporozoïtes et pour l'entretien du cycle de la souche isolée. L'infectivité a été exprimée selon la formule :
$$\frac{\text{nombre de moustiques infectés}}{\text{nombre de moustiques sains}} \times \text{nombre d'oocystes (fig. 2)}.$$

Nous avons inoculé un deuxième singe par voie intraveineuse à partir de 82 thorax de moustiques gorgés sur le premier, 13, 14 et 16 jours après splénectomie. Ces thorax ont été broyés dans du milieu TC 199 et, après centrifugation pour éliminer les gros débris, le surnageant a été injecté.

Fig. 1. — *Plasmodium inui* chez *Macaca fascicularis*. A : macrogamétocyte de type 0 ; B : macrogamétocyte de type I ; C : macrogamétocyte de type II ; D : microgamétocyte de type II et macrogamétocyte de type III ; E : microgamétocyte de type I ; F : microgamétocyte et macrogamétocyte de type III.

Les frottis colorés au Giemsa ont été étudiés quantitativement en appréciant la parasitémie et la gamétocythémie globale par 10.000 hématies ; la « formule gamétocytaire » a été obtenue en déterminant le pourcentage de chaque type de micro- et de macrogamétocyte par rapport à la gamétocythémie globale selon les critères morphologiques et tinctoriaux précédemment définis (Landau *et al.*, 1979).

Résultats

1 — Morphologie des gamétocytes de *P. inui* (fig. 1).

Nous avons retrouvé les quatre types morphologiques, décrits pour les *Plasmodium* de rongeurs dans les macro- et microgamétocytes de *P. inui*, la distinction étant toutefois ici plus malaisée. La morphologie gamétocytaire correspond à celle des gamétocytes du groupe « *vivax* » (Landau *et al.*, 1976). Il s'agit de gamétocytes ronds chargés d'un pigment verdâtre ayant un diamètre qui varie entre 5,6 et 10,2 μm ($8,5 \pm 0,4$) pour les macrogamétocytes et entre 5,2 et 10 μm ($8,2 \pm 1$) pour les microgamétocytes.

Le noyau des macrogamétocytes est mal limité dans le type O avec des amas très fins de chromatine condensée et accumulée en périphérie. Dans les types I et II, il a un aspect plus homogène, rose, finement granulaire (dans le cas de *P. yoelii*, le noyau est également granulaire dans le type I, mais il est homogène et colloïdal dans le type II). Il est très petit et condensé dans le macrogamétocyte de type III. Le cytoplasme bleu pâle dans le type O, devient d'un bleu plus homogène et violet dans le type III. Cependant, les gamétocytes de type II ont parfois déjà un cytoplasme violet. Le pigment, fin et jaunâtre dans les formes jeunes, devient brun verdâtre et condensé dans les formes plus évoluées. Le microgamétocyte possède une chromophilie très remarquable dès son apparition ; le noyau occupe la moitié de la surface du type I, le pigment étant déjà très gros et abondant. Le cytoplasme rose vif dans les formes jeunes se rétracte fortement ; il est presque complètement rempli par le pigment dans le type III, très petit, et à noyau très condensé. Les hématies parasitées par des macro- ou des microgamétocytes montrent des modifications remarquables. Les altérations de la taille n'ont pas été évaluées, étant donné l'importante anisocytose qui accompagnait l'anémie de l'animal, mais elles ne nous ont pas semblé considérables. Par contre, la chromophilie du cytoplasme érythrocytaire a fortement augmenté et les hématies hébergeant des gamétocytes O et I présentent autour de la vacuole parasitophore une large couronne cytoplasmique très foncée qui contraste avec le cytoplasme clair du parasite. Le cytoplasme érythrocytaire présente toujours des granulations sombres (de Ziemann ?) plus ou moins abondantes. Enfin, dans certains cas, il n'est plus visible.

2 — Infectivité.

Nous avons disséqué 8 à 21 Anophèles par jour, 8 à 26 jours après les avoir nourris sur le singe. En considérant comme jour 0 de l'expérience celui de la splénectomie, la première série de moustiques a été nourrie le jour 8. Ce jour-là, aucune gamétocythémie n'était décelable sur les P.O. alors qu'elle s'élevait à 4,9 pour 10^4 héma-

ties dans le sang ingéré (tableau I). Ces gamétocytes ont été infectants pour les moustiques : huit jours après le repas sanguin, des oocystes étaient visibles dans les parois de l'intestin moyen et des sporozoïtes visibles dans les glandes salivaires à partir du 18^e jour. Ces sporozoïtes étaient infectants pour un second singe inoculé par voie IV. Les gamétocytes ont été infectants du jour 8 au jour 20 de façon presque ininterrompue (fig. 2). L'infectivité devenait nulle à partir du jour 24, avec toutefois une résurgence très discrète le jour 28. C'est au jour 13 que le maximum d'infectivité est enregistré : 8 moustiques positifs sur 11 et $9,2 \pm 4,3$ oocystes par moustique.

On notera qu'au cours de l'expérimentation, le nombre d'oocystes décelés sur les intestins moyens des moustiques a varié de 1 à 39 au maximum.

Fig. 2. — Variations de la gamétocythémie et de l'infectivité des gamétocytes de *Plasmodium inui* dans le sang de *Macaca fascicularis* splénectomisé, prélevé directement sur le singe (= P.O) et prélevé sur le moustique après l'hémophagie et avant l'exflagellation (= P.M). Gamétocytes par 10^4 hématies ($G/10^4$). Ligne épaisse et continue : macrogamétocytes dans les P.O. ; ligne discontinue : macrogamétocytes dans les P.O. ; ligne mince continue : microgamétocytes dans les P.O. ; ligne à traits et points alternés : microgamétocytes dans les P.M. ; zones pointillées : infectivité (i) des gamétocytes (cf. texte pour son évaluation) ; J : jours après splénectomie.

Tableau I. — *Concentration des formes gamétocytaires jeunes dans l'intestin moyen d'Anopheles stephensi nourri sur Macaca fascicularis splénectomisé, infecté avec Plasmodium inui*

Jours après spléc- tomie	Macaca fascicularis						Anopheles stephensi					
	Parasi- témie par 10 ⁴	Gaméto- cytémie globale (par 10 ⁴)	Type de gamétocyte			Parasi- témie (par 10 ⁴)	Gaméto- ⁽¹⁾ cytémie globale (par 10 ⁴)	Type de gamétocyte				
			I	II	III			I	II	III		
8	14	0	0	0	0	11	4,9	3	1	0,5	0	
9	10	2	0	2	0	10	0,9	0,3	0,3	0,3	0	
10	25	3	0	3	0	13	3,9	1,6	2,3	0	0	
11	80	8	4	4	0	45	20,7	12,2	3,5	1,6	3,3	
13	152	7	0	4	2	1	179	38	17	5	6,5	9,5
14	120	7	2	0	1	4	206	3	3	0	0	0
16	580	51	7	21	16	7	640	23	8	5,5	7,6	2
18	1 318	85	4	9	12	60	834	68	25,8	6,8	25,8	9,5
20	1 111	67	1	16	10	40	493	28	0	0	5,8	22,2
21	1 159	1	0	0	0	1	437	26	0	2,8	15	9,1
24	687	19	2	3	3	11	— (2)	— (2)	—	—	—	—
27	454	18	0	1	5	13	451	26	0	7	11,9	7
28	1 070	7	0	1	0	6	446	10	0	1	3	6
31	1 050	35	1	9	16	9	— (2)	— (2)	—	—	—	—
42	280	8	0	0	0	8	354	4	0	1	0	3

(1) Moyenne sur trois femelles par jour.

(2) Absence de prélèvement.

3 — La gamétocytémie dans le sang périphérique du singe (P.O.).

Dans les étalements effectués après piqure de l'oreille, la gamétocytémie a, dans la règle, suivi le profil des variations de la parasitémie. Celle-ci était de $10/10^4$ hématies le jour 7; elle atteignait un maximum de $1318/10^4$ le jour 18 et elle s'élevait encore à $280/10^4$ le jour 42, le dernier de l'expérience. La gamétocytémie, apparemment nulle les jours 7 et 8, était décelable le 9^e jour, passait par un maximum le 18^e jour avec 85 gamétocytes pour 10^4 hématies et atteignait 8 gamétocytes pour 10^4 hématies le jour 42. Cependant cette chute, beaucoup moins régulière que la montée, s'effectue en dents de scie (tableau I).

Le profil des variations des différents types de gamétocytes est représenté dans la figure 3. Les plus forts pourcentages de gamétocytes de type O et I qui sont d'appari-

Fig. 3. — Pourcentage de gamétocytes de type O, I, II et III dans les P.O. (ligne discontinue) et dans les P.M. (ligne continue). J : jours après splénectomie.

tion précoce s'observent avant le jour 14. Les types II et III augmentent considérablement vers la fin de l'infection. Au jour 32, ils sont les seuls encore décelables dans le sang du singe. Il existe une corrélation entre les logarithmes des gamétocytemies (par 10^4 hématies) du jour 9 au jour 18 et le temps (*fig. 4 A*). Une étude de la gamétocytemie limitée du jour 9 au jour 13, période où l'infectivité est maximum (*fig. 4 B*), montre que les logarithmes de la concentration gamétocytaire sont en corrélation avec le temps ($r = 0,87$), la pente (+ 0,14) étant moins prononcée que précédemment (*fig. 4 A*).

4 — La gamétocytemie dans le sang prélevé par le moustique (P.M.).

Le profil de la gamétocytemie dans les P.M. suit sensiblement les variations de gamétocytemie dans les P.O. Cependant, les gamétocytes sont visibles dans les P.M. dès le jour 8, alors qu'ils sont seulement décelables dans les P.O. à partir du jour suivant. La gamétocytemie monte considérablement le jour 11. Elle présente un premier pic le jour 13 à 38 gamétocytes par 10^4 hématies, alors qu'elle est 5 fois plus basse dans le P.O. correspondant. Cette discordance paraît résulter pour une part notable des macrogamétocytes de type O, nombreux (17) dans les P.M., alors qu'ils n'étaient pas décelés dans les P.O. du même jour. Ce pic concorde avec le maximum d'infectivité pour le moustique (*fig. 2*). Un second pic de gamétocytemie, plus élevé que le premier, survient au jour 18 (68 gamétocytes pour 10^4 hématies) avec le nombre maximum de gamétocytes de type O observés. Simultanément, la parasitémie de ces P.M. s'élève brutalement et atteint son maximum. Avant le jour 18, il existe une corrélation entre le temps et l'augmentation de la gamétocytemie dans les P.M. (*fig. 4*), la pente de la droite montante est moindre (0,15) que celle de sa correspondante des P.O. ; elle se situe toutefois à gauche de cette dernière. Les gamétocytemies sont donc, au même jour, plus élevées dans les P.M. que dans les P.O. Les deux droites divergent au maximum vers les jours 8 et 9, puis elles ont tendance à se rapprocher. Leur étude statistique ne révèle aucune différence significative. Après le jour 18, la gamétocytemie décroît de façon linéaire dans les P.M., en corrélation significative avec le temps (pente = - 0,06). La demi-vie de la population de gamétocytes est de 2,2 jours (*fig. 4*).

Par contre, la chute de la population gamétocytaire dans les P.O. n'a pas été en corrélation significative avec le temps (dispersion trop grande). Une étude partielle de la gamétocytemie dans les P.M. (*fig. 4 B*) entre les jours 7 et 13 révèle une augmentation plus importante (pente = 0,24) que dans les P.O. (pente = 0,14).

L'étude des variations relatives des différents types de gamétocytes dans les P.M. (*fig. 3*) montre clairement que la proportion des gamétocytes de type O, par rapport à la population totale des gamétocytes, est considérablement plus élevée dans les P.M. que dans les P.O. entre les jours 8 et 18 (*fig. 3*). Pour les gamétocytes des autres types, les variations quantitatives suivent en général le même profil dans le sang prélevé selon les deux modalités.

Les deux pics les plus élevés d'infectivité constatés se situent entre les jours 13 et 16. Le jour 13 correspond au premier pic de gamétocytemie globale dans les P.M. avec 45 % de gamétocytes de type O. Au jour 16, le pourcentage de gamétocytes de

type O s'élève encore à 35 % et il est de 24 % pour le type I. Ensuite, les gamétocytes jeunes restent très nombreux jusqu'au jour 18, après quoi leur densité devient très faible avec une exception pour le type I au jour 27.

Fig. 4. — Gamétocytemie globale au cours du paludisme à *Plasmodium inui*. $G/10^4$: gamétocytemie par 10^4 hématies ; J. : jours après splénectomie. A : traits épais : P.M. ($r = 0,85$ et pente = $0,15$ pour la droite montante ; $r = -0,95$ et pente = $-0,06$ pour la droite descendante) ; trait mince : P.O. ($r = 0,96$; pente = $0,17$) ; $\circ$ = P.M. ; $\bullet$ = P.O. ; grande flèche : début de la chute de la parasitémie ; petite flèche : moment où la densité gamétocytaire est descendue à 50 % (demi-vie = 2,2 jours) par rapport au maximum dans les P.M. B : trait épais : P.M. ($r = 0,71$; pente = $0,24$) ; trait mince : P.O. ($r = 0,87$, pente = $0,14$).

Le maximum de gamétocytémie dans les P.M. (68/10⁴) et dans les P.O. (85/10⁴) le jour 18, correspond paradoxalement à une infectivité faible pour le moustique (2,1 moustiques infectés sur 10 ; $1 \pm 0,0$ oocyste).

Discussion

1 — Commentaires sur les conditions d'expérimentation.

D'après les chiffres rapportés par Coatney *et al.* (1971) (tableau 32, p. 249), la susceptibilité à l'infection par *P. inui*, à 25°C d'*Anopheles balacensis*, *A. freeborni*, *A. maculatus* et *A. quadrimaculatus* paraît plus grande que celle d'*A. stephensi* dans nos conditions d'expérimentation. Garnham (1966) signale la production de gamétocytes très nombreux vers le 12^e jour après la splénectomie. Dans notre expérience, elle atteint son maximum dans les P.O. le 18^e jour et elle présente un second pic le 31^e jour, mais ces derniers gamétocytes ne sont plus fertiles.

Garnham (1966) rapporte encore des observations faites sur un exemplaire femelle de *Cercopithecus mitis* splénectomisé 5 mois après son injection par voie sanguine avec *P. inui*. La parasitémie et la gamétocytémie ont été très élevées quatre semaines après l'opération, mais les gamétocytes n'ont pas été infectants pour le moustique. Dans notre expérience 3 semaines après la splénectomie, la parasitémie dépasse 13 % et la production de gamétocytes est considérable, mais l'infectivité pour le moustique est très faible. Par contre, plus précocement, 13 jours après la splénectomie, 8 moustiques sur 10 sont infectés. En fait, la qualité des gamétocytes importe beaucoup plus que leur quantité.

2 — Aspects morphologiques.

Nous pensons avoir apporté la première description de l'évolution morphologique des gamétocytes de *P. inui* qui sont de type *vivax* (selon Landau *et al.*, 1976). Il resterait à préciser si les modifications observées ont une traduction ultrastructurale et quels sont les facteurs qui déterminent la perte d'infectivité. Les auteurs de *P. inui* (Halberstaedter et von Prowazek) n'avaient fait en 1907 qu'une brève description des gamétocytes. Ils notaient cependant la présence d'une vacuole dans quelques macrogamétocytes qui étaient probablement des macrogamétocytes de type III. Garnham, en 1966, représente vraisemblablement des macrogamétocytes de type III et un microgamétocyte de type I dans la planche 23 de son livre. Quant aux gamétocytes de *P. inui* représentés dans la planche XXXIX du livre de Coatney *et al.* (1971), ils correspondent respectivement à un macrogamétocyte de type II à III et à un microgamétocyte de type II.

3 — Infectivité des gamétocytes.

Suivant Hawking *et al.* (1968, 1971, 1972), les temps nécessaires à la maturation des gamétocytes des *Plasmodium* serait très variable suivant l'espèce considérée : 30 heures pour *P. knowlesi*, 54 heures pour *P. cynomolgi*, 9 jours pour *P. falciparum* et 24 heures environ pour *P. chabaudi*. En fait, le vrai problème qui nous paraît devoir

être résolu, concerne le moment où le sang circulant renferme des gamétocytes de type O et I, qui sont de beaucoup les plus, et peut-être les seuls, infectants. Nous avons vu qu'ils peuvent pratiquement échapper à l'examen des étalements de sang du singe et être cependant concentrés et aisément décelables dans le sang de l'estomac de moustique.

Le temps durant lequel les gamétocytes demeurent infectants a fait également l'objet d'investigations. Il varierait beaucoup également suivant les *Plasmodium* : 5 à 12 heures pour *P. knowlesi*, *P. cynomolgi* et *P. cathemerium* (Hawking *et al.*, 1968), 11 à 12 jours et même probablement 3 semaines pour *P. falciparum* (Smalley et Sinden, 1977). L'infectivité des gamétocytes de *P. yoelii yoelii* et *P. yoelii nigeriensis* n'excéderait pas une demi-journée (Landau *et al.*, 1979).

Dans notre expérimentation sur *P. inui*, nous avons mis en évidence 3 vagues apparentes de la gamétocythémie avec de nombreux gamétocytes de type O et I. La première, discrète au jour 8, correspond vraisemblablement à une schizogonie que nous n'avons pas décelée dans le sang des P.O. ; la seconde (à son maximum le jour 13) et la troisième (au jour 18) correspondraient sans doute à deux schizogonies significatives (jours 10 à 14 et 14 à 18). Mais, alors que les gamétocytes de la deuxième vague, comme ceux de la première, sont très infectants, ceux de la troisième ne le sont pratiquement plus. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer la faible infectivité alors observée : subsistance de quelques gamétocytes infectants provenant de la deuxième vague ; production de gamétocytes rarement infectants au cours de la troisième vague. La forme de la courbe d'infectivité (fig. 2, zone pointillée) plaide en faveur de la deuxième hypothèse. La quantité de sang prise par les moustiques étant très supérieure à 10^4 hématies, nous avons, en effet, tendance à penser que l'infectivité ne dépasse pas 24 heures et que la très faible infectivité enregistrée après le 18^e jour et après le 28^e jour résulte de quelques gamétocytes de la 4^e et de la 5^e génération ayant échappé à la toxicité du sang et non décelables sur 10^4 hématies.

L'évolution morphologique des gamétocytes de *P. inui* au cours de l'infection naturelle d'un *Macacus fascicularis* splénectomisé, les variations de l'infectivité des gamétocytes pour le moustique, la « concentration » des macrogamétocytes de type O dans l'intestin de celui-ci au cours de l'hémophagie correspondent aux faits observés précédemment chez les *Plasmodium* de rongeur (Landau *et al.*, 1979). Cependant, alors que chez ces derniers, l'évolution morphologique des microgamétocytes est plus évidente que celle des macrogamétocytes, c'est l'inverse que nous avons constaté chez *P. inui*.

Il résulte de ce travail que la concentration maximum de macrogamétocytes de type O dans le contenu intestinal de l'Anophèle coïncide avec le maximum d'infectivité pour celui-ci. Il est possible que les gamétocytes de type O soient les plus infectants ou, probablement, les seuls infectants. Pourtant, les résultats apportés ne nous permettent pas d'affirmer cette hypothèse. En effet, quelques gamétocytes des autres types coexistent à de faibles concentrations avec ceux de type O dans l'intestin du moustique dans les moments où l'infectivité atteint son maximum (tableau I). La preuve que la fertilité caractérise un type particulier de gamétocyte cesserait d'être hypothétique si

l'on pouvait marquer exclusivement les gamétocytes d'un type déterminé et retrouver le marquage dans les oocystes contenant des sporozoïtes infectants.

Hawking *et al.* (1968) ont décrit une succession de types morphologiques (cinq pour *P. knowlesi*, huit pour *P. cynomolgi* et six pour *P. cathemerium*), dont la concentration varie au cours du nycthémère, les formes les plus infectantes pour le moustique étant les plus abondantes vers minuit. Il pourrait donc exister également des variations nycthémerales de la gamétocytemie qui se superposeraient aux variations de la formule gamétocytaire et de l'infectivité que nous avons observées et qui sont en rapport avec les vagues de gamétocytogenèse. La réalité de ce phénomène dans le paludisme à *P. inui* reste cependant à démontrer.

REMERCIEMENTS. — Nous remercions vivement le Docteur Croquette qui a fait les caryotypes des singes, le Docteur Triboulet, qui les a splénectomisés. Nous remercions également M^{me} Christiane Debuyser pour sa précieuse collaboration technique.

Bibliographie

- Coatney R.G., Collins W.E., Warren McW., Contacos P.G.: The primate malarias. U.S. Dep. of Health, Education and Welfare, N.I.H., Maryland, 1971.
- Garnham P.C.C.: Malaria parasites and other Haemosporidia. *Blackwell Scientific Publications*, Oxford, 1966.
- Halberstaedter L., Von Prowazek S.: Untersuchungen über die Malaria-parasiten der Affen. *Arb. Gesundheitsamt. (Berl.)*, 1907, 26, 37-43.
- Hawking F., Worms M.J., Gammage K.: 24 and 48 hour cycles of malaria parasites in the blood, their purpose, production and control. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1968, 62, 731-760.
- Hawking F., Wilson M.E., Gammage K.: Evidence for cyclic development and short-lived maturity in the gametocytes of *Plasmodium falciparum*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1971, 65, 549-559.
- Hawking F., Gammage K., Worms M.J.: The asexual and sexual circadian rhythms of *Plasmodium vinckei chabaudi* of *P. berghei* and of *P. gallinaceum*. *Parasitology*, 1972, 65, 189-201.
- Landau I., Miltgen F., Chabaud A.G.: Les différents types de gamétocytes chez les hémospories de mammifères. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1976, 51, 175-187.
- Landau I., Miltgen F., Boulard Y., Chabaud A.G., Baccam D.: Etudes sur les gamétocytes des *Plasmodium* du groupe « vivax »: morphologie, évolution, prise par les Anophèles et infectivité des microgamétocytes de *Plasmodium yoelii*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1979, 54, 145-161.
- Smalley M.E., Sinden R.E.: *Plasmodium falciparum* gametocytes: their longevity and infectivity. *Parasitology*, 1977, 74, 1-8.
-