ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome 58

1983

N° 6

© Masson, Paris, 1983.

Ann. Parasitol. Hum. Comp.,
1983, t. 58, n° 6, pp. 523-538.

MÉMOIRES ORIGINAUX

ÉTUDES SUR *PLASMODIUM ATHERURI*¹

I. LANDAU*, F. MILTGEN*, D. BACCAM*, G. PETIT* et C. ROUSSILLON**

RÉSUMÉ. *Plasmodium atheruri*, parasite du porc-épic africain *Atherurus africanus*, est infectant au laboratoire pour la Souris et le Rat blancs splénectomisés, pour le Hamster intact et pour deux Rongeurs exotiques, dont l'élevage au laboratoire est facile : *Calomys callosus* et *Meriones unguiculatus*. La sporogonie a été obtenue chez des *Anopheles stephensi* gorgés sur Athérure et sur Rongeur de laboratoire ; elle ne diffère pas beaucoup de celle des autres *Plasmodium* de Rongeurs. La schizogonie préérythrocytaire est de 4 à 6 jours, mais des schizontes ont été trouvés dans le foie d'un Athérure, le huitième jour. La schizogonie sanguine, induite soit par passage de sang, soit par inoculation de sporozoïtes, évolue en 2 phases morphologiquement distinctes :

a) une phase aiguë, apparaissant chez l'Athérure neuf, chez l'Athérure splénectomisé et chez les Rongeurs de Laboratoire ; elle est caractérisée par des trophozoïtes de grande taille, des schizontes ayant de 8 à 16 noyaux, des gamétocytes, une infectivité pour les Anophèles.

b) une phase chronique, qui n'est observée que chez l'Athérure et qui succède à la phase aiguë 15 jours à 3 semaines après son début ; elle est constituée uniquement par de petits trophozoïtes et des schizontes à 4 noyaux.

Ainsi, la phase chronique ne se manifeste que chez l'hôte naturel, lorsqu'il est immunisé. Nous pensons que, dans la nature, la schizogonie chronique assure la pérennité de l'infection et que la phase aiguë présente des rechutes et permet la transmission. Le mécanisme déclenchant les rechutes n'est pas connu, mais il s'agit vraisemblablement d'une baisse de l'immunité de l'hôte.

Studies on *Plasmodium atheruri*

SUMMARY. *Plasmodium atheruri*, a parasite of the african porcupine *Atherurus africanus*, is infective to splenectomised laboratory Rats and Mice, to Hamsters and to 2 exotic rodents which are easily bred in captivity : *Calomys callosus* and *Meriones unguiculatus*.

Sporogony develops in *Anopheles stephensi* fed on *Atherurus* and on laboratory rodents ; it is similar to that of the Rodent Plasmodia. Exoerythrocytic schizogony usually lasts 4 to 6 days but schizonts have been found in the liver of a porcupine at day 8. Schizogony in the blood (induced

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

** Institut Pasteur, Cayenne, Guyane.

1. Travail effectué grâce à l'appui financier du Programme Spécial/P.N.U.D./Banque Mondiale/OMS/ de recherche et de formation concernant les maladies Tropicales.

Accepté le 14 février 1983.

by inoculation of infected blood or by injections of sporozoites) follows two stages which are morphologically distinct :

a) acute infections developing in clean *Atherurus*, following splenectomy of infected *Atherurus* or in laboratory rodents ; it is characterized by large trophozoites, schizonts with 8 to 16 merozoites, gametocytes and infectivity to *Anopheles*.

b) chronic infection which only occurs in the blood of *Atherurus* and follows the acute stage 15 to 21 days after its onset ; it is characterized by small trophozoites and schizonts producing 4 merozoites. Thus it is thought that the chronic stage only occurs in the natural host when it is immunized.

We think that, in nature, chronic schizogony maintains the parasitaemia through periods of low transmission and is followed by "recrudescences". The mechanisms that trigger the "recrudescences" are unknown but are probably connected with a decrease in the immune status of the host.

Les deux grands problèmes qui restent obscurs dans la biologie des *Plasmodium* sont, d'une part, le déterminisme de la gamétogonie et, d'autre part, les mécanismes de la chronicité des paludismes.

Le paludisme des Oiseaux et des Reptiles et le groupe « *falciparum* » paraissent appartenir à une lignée bien distincte et ont vraisemblablement des mécanismes biologiques qui leur sont propres.

Dans les groupes « *vivax* » et « *malariae* » *sensu* Landau et coll. (1976), qui nous intéressent ici, la presque totalité des travaux expérimentaux repose sur l'étude d'espèces spécialisées parasites de Primates et de Muridés.

L'étude d'espèces plus archaïques, faisant transition entre *Hepatocystis* et *Plasmodium*, et où le cycle sanguin présente plusieurs phases distinctes, l'une brève et gamétogène, l'autre chronique, est donc particulièrement intéressante.

Plasmodium atheruri Van den Berghe, Peel, Chardôme et Lambrecht, 1958, répond à ces objectifs. L'infection sanguine chez son hôte, le Porc-épic africain, se présente, en effet, sous deux aspects morphologiques distincts : dans un cas, l'infection est très polymorphe et comprend : — des schizontes ayant de 8 à 16 noyaux ; — des gamétocytes ; — un polyparasitisme des hématies ; — une atteinte relativement fréquente des réticulocytes ; — l'augmentation du nombre des hématies à ponctuations basophiles ; dans l'autre cas, il y a exclusivement de très petits schizontes à 4 noyaux, des anneaux et des trophozoïtes dans les hématies mûres.

Pendant longtemps, nous avons interprété ce polymorphisme comme la traduction d'une infection mixte par deux espèces, d'autant plus que, lors des passages de l'Athérure à des Rongeurs de laboratoire (Souris blanche, *Calomys callosus* et *Meriones unguiculatus*), seule l'infection de type aigu se développe chez ces hôtes. Cette hypothèse a dû être abandonnée pour différentes raisons.

La principale est que le passage à un Athérure de sang d'une Souris infectée chez laquelle seul le cycle aigu s'effectue, entraîne chez le Porc-épic les deux types de parasitémiés (aiguë et chronique).

En 1969, Landau et coll. avaient isolé, à partir d'un Athérure du Congo, sur différents Rongeurs du laboratoire, une souche de *Plasmodium atheruri* ; de nombreux

passages ont été effectués à des Souris blanches splénectomisées et à des Cricétidés Sud-américains *Calomys callosus* splénectomisés et intacts. La souche, adaptée à ces animaux, a été congelée ; son étude a été reprise en 1982.

En 1980, des Athérures naturellement infectés et des Athérures indemnes ont été capturés au Gabon et ramenés au Muséum à Paris au mois de novembre. De nouvelles souches, qui nous ont paru morphologiquement indistinguables de la précédente, ont été isolées sur Souris blanches splénectomisées et sur un nouveau Rongeur non splénectomisé et dont l'élevage au laboratoire est très facile : *Meriones unguiculatus*.

Les caractères morphologiques de ces parasites permettent de les rattacher à *Plasmodium atheruri* Van den Berghe et coll., 1958, isolé au Congo belge sur *Atherurus africanus* à partir des glandes salivaires d'*Anopheles smithii vanthieli*.

Ces auteurs n'ont pas décrit les grands schizontes à nombreux noyaux de la phase aiguë de la parasitémie, mais cette omission s'explique par le fait que, chez l'Athérure, la schizogonie s'effectue presque exclusivement dans les organes profonds.

Dans cet article, nous décrirons successivement la sporogonie chez *Anopheles stephensi*, la schizogonie préérythrocytaire chez *Atherurus africanus*, la parasitémie chez l'hôte naturel et les modalités d'adaptation et la morphologie de *P. atheruri* chez différents Rongeurs de laboratoire.

L'origine des souches est détaillée dans un premier chapitre ; les protocoles expérimentaux et les techniques utilisées le seront au début des autres chapitres.

I — Origine des souches

a) Souche 197 CC : Elle a pour origine un Athérure (n° 197 CC), capturé par J. P. Adam en Mai 1967 à Loukakou (Congo-Brazzaville) et splénectomisé au Muséum à Paris, en août 1968. Les 17^e et 18^e jours après la splénectomie, du sang fortement infecté a été inoculé à différents Rongeurs de laboratoire splénectomisés ; une parasitémie a été observée chez les animaux suivants : Souris, Rat, Hamster, *Calomys callosus* d'élevage.

En 1982, des *Meriones unguiculatus* non splénectomisés ont été infectés par cette souche avec du sang de Souris congelé en 1968

b) Souche 23 - 26 PI - 5 *Atherurus africanus* capturés au Gabon, au cours de l'année 1980, sont parvenus à Paris en novembre 1980. Deux d'entre eux, 23 PI et 26 PI, présentaient une parasitémie à *Plasmodium atheruri* et les 3 autres, 24 PI, 25 PI et 151 PI, étaient négatifs. Du sang prélevé sur les 2 Porc-épics naturellement infectés a été injecté à 151 PI, qui a été splénectomisé un mois plus tard, et la plupart des transmissions décrites ici ont été effectuées à partir de ce dernier. Un certain nombre de Rongeurs a également été inoculé avec du sang de 23 PI (naturellement infecté) et la parasitémie résultante n'a montré aucune différence avec celle obtenue par passage de sang de 151 PI.

Les animaux suivants ont été réceptifs : *Meriones unguiculatus* et Hamsters dorés non splénectomisés, élevés au laboratoire ; Souris blanches splénectomisées ; Rat blanc splénectomisé.

Deux *Meriones shawi* non splénectomisés, inoculés à partir d'un *Meriones unguiculatus* bien infecté, ont été suivis pendant un mois ; ils sont restés négatifs.

II — Sporogonie chez *Anopheles stephensi*

Elle a été étudiée chez des *Anopheles stephensi* maintenus à une température moyenne de 25° C.

Trois séries d'expériences ont été effectuées :

a) en 1968, la sporogonie a été observée chez des *Anopheles* gorgés sur *Atherurus* sur Souris blanche ou sur *Calomys* ; les sporozoïtes obtenus dans les glandes salivaires ont été inoculés à un Athérure disponible, mais aucun schizonte n'a été trouvé dans la biopsie hépatique effectuée au bout de 48 heures.

b) En 1982, 2 lots d'*A. stephensi* ont été gorgés sur 2 *Meriones unguiculatus* infectés depuis 7 jours.

De nombreux oocystes (50 à 100 en moyenne) se sont développés et les sporozoïtes ont envahi massivement les glandes salivaires. La morphologie et le déroulement de la sporogonie ont paru normaux ; cependant, l'inoculation de sporozoïtes à d'autres Mériens et à des Souris blanches n'a pas été suivie de parasitémie et aucun schizonte n'a été observé dans les biopsies de foie de ces Rongeurs à 5, 6 et 8 jours.

c) En 1981, 4 lots d'*A. stephensi* ont été gorgés sur *Atherurus* 151 PI les 3^e, 4^e, 7^e et 16^e jours après sa splénectomie, alors que de nombreux gamétocytes étaient présents dans les frottis de sang. Le lot le plus infecté a été celui du 7^e jour (une cinquantaine d'oocystes par estomac), mais, dans les 3 autres lots, des oocystes se sont également développés et de nombreux sporozoïtes ont envahi les glandes salivaires ; ceux-ci ont été infectants pour deux autres Athérures et ont permis l'étude de la schizogonie exo-érythrocytaire décrite plus loin. Deux Rats blancs inoculés par voie intra-veineuse avec ces sporozoïtes ont été sacrifiés les 3^e et 4^e jours ; aucun schizonte n'a été trouvé dans le foie, le poumon et le rein.

Aucune différence morphologique n'a été observée au cours de ces sporogonies.

La description qui suit a été faite à partir des Anophèles gorgés sur l'Athérure 151 PI.

— *Oocystes* : 7 jours : taille moyenne 16 μ m, pigment rassemblé en masse au centre ; 10 jours : 28 μ m, contenu granuleux, pas de pigment visible ; 11 jours : 38 μ m, apparition de cytomères ; 12 jours : 47 μ m, début de formation des sporozoïtes ; 13^e et 14^e jours : oocystes mûrs.

La taille moyenne de 11 oocystes mûrs a été de 45 μ m (38,5 à 63 μ m).

— *Sporozoïtes* : ils sont apparus dans les glandes salivaires dès le 13^e jour ; taille moyenne dans des frottis séchés à l'air, fixés au méthanol et colorés par le Giemsa : 10 μ m $\pm$ 1,5 ; l'aspect général est celui des sporozoïtes des *Plasmodium* de Muridés.

III — Schizogonie préérythrocytaire chez *Atherurus africanus* (fig. 1)

Les inoculations de sporozoïtes ont été faites à partir de pools obtenus en broyant les thorax des Anophèles infectés dans du milieu RPMI, additionné de 20 % de sérum de veau foetal. Après une centrifugation légère, le surnageant est injecté aux Porc-épics par voie intra-péritonéale, ou intra-veineuse dans la veine saphène interne dénudée.

L'*Atherurus* 24 PI, sain, a été examiné 5 fois pendant un mois et demi sans qu'aucune parasitémie n'ait été décelée. Il a alors reçu par voie intra-péritonéale un broyat de thorax de 250 *Anopheles stephensi* fortement infectés. Son sang, négatif le 5^e jour, était positif pour la première fois le 6^e jour, et sa parasitémie a augmenté régulièrement. Une biopsie de foie effectuée le 5^e jour a montré la présence de schizontes dans les hépatocytes (environ 1 schizonte toutes les 20 à 30 coupes de 1 cm × 0,5 cm).

Un deuxième Athérure, 23 PI, faiblement parasité par une infection naturelle et arrivé au laboratoire un mois et demi plus tôt, a reçu une injection intra-veineuse de 700 thorax broyés d'*Anopheles stephensi* infectés ; il a subi une première biopsie à 48 heures et une seconde le 8^e jour. Aucun schizonte n'a été décelé le 2^e jour ; deux schizontes ont été trouvés dans la biopsie du 8^e jour.

Description

A 5 jours, les schizontes siègent dans des hépatocytes non altérés. La taille moyenne de 7 schizontes est de 20 μ m (18 à 22 μ m). La plupart des schizontes présente un aspect chronique : les noyaux sont espacés et relativement peu nombreux ; ils sont tantôt simples et de très petite taille, tantôt plus grands, ronds, bien limités, avec, sur un fond rose, un à deux granules ronds plus denses ; ils sont entourés d'un espace clair, bien limité. Le cytoplasme est peu dense, bleu clair et homogène, ou grisâtre et finement granuleux, parsemé de petites vacuoles. Quelques formes plus aiguës ont été observées, avec des noyaux plus nombreux que précédemment et un cytoplasme plus dense.

Les 2 schizontes trouvés à 8 jours ont la même taille qu'à 5 jours : l'un d'entre eux est très proche des formes chroniques précédentes, l'autre est très clair avec un cytoplasme rose pâle et des noyaux ronds, petits, prédominant au centre du schizonte.

L'aspect chronique de certains schizontes évoque celui des formes hépatiques décrites par Landau et coll. (1968) chez des *Thamnomys* sauvages paludéens capturés en R.C.A.

IV — Parasitémie chez l'hôte naturel *Atherurus africanus*

A — Allure générale de l'infection

1 — Infections naturelles

L'infection naturelle de 2 Porc-épics provenant du Gabon a été suivie pendant 2 mois 1/2 en effectuant des frottis tous les 15 jours. L'intensité de l'infection et la morphologie du parasite ont peu varié pendant cet espace de temps. La parasitémie est restée faible et monomorphe (anneaux et trophozoïtes). Aucun gamétocyte n'a été observé.

FIG. 1. — Schizontes préérythrocytaires âgés de 5 jours dans le foie d'*Atherurus africanus*.

La splénectomie d'un Porc-épic naturellement infecté, provenant du Congo, a été suivie d'une parasitémie aiguë, comparable à celle obtenue dans les infections expérimentales (cf. plus loin), mais l'animal est mort d'une infection bactérienne au cours de cet accès et n'a pu être suivi longtemps.

2 — Infections expérimentales

a) Infection par inoculation de sporozoïtes

L'Athérure 24 PI, jeune, capturé au Gabon, a été infecté avec des sporozoïtes après une période d'observation de 2 mois 1/2, pendant laquelle son sang, examiné environ tous les 15 jours, est resté négatif. Il a reçu, par voie intra-péritonéale, un broyat de 250 thorax d'*Anopheles stephensi* fortement infectés.

Six jours après l'inoculation de sporozoïtes, quelques anneaux peuvent être observés dans les frottis ; dès le 9^e jour, les parasites sont trouvés aisément. La parasitémie monte, pour atteindre 0,3 % le 17^e jour ; elle reste comprise entre 0,1 et 0,8 % entre le 17^e et le 27^e jour, puis elle baisse et reste constante (environ 0,1 %) pendant un mois, les examens ayant alors cessé.

La parasitémie est essentiellement constituée par des anneaux et des trophozoïtes de petite taille ; quelques rares gamétocytes et des schizontes ayant 8 à 16 noyaux ont été observés entre le 21^e et le 27^e jours, et quelques hématies polyparasitées, les 25^e et 27^e jours. Les premiers schizontes à 4 noyaux ont été décelés le 24^e jour. Puis l'infection devient rapidement chronique (anneaux, trophozoïtes et rares schizontes à 4 noyaux).

b) Infection par inoculation de sang d'Athérure, suivie de splénectomie

L'Athérure adulte 151 PI, capturé au Gabon, était négatif lors de son arrivée au laboratoire. Il a été maintenu en captivité pendant un an, puis il a reçu une inoculation intra-péritonéale de sang parasité des Porc-épics 23 et 26 PI, et a subi une splénectomie un mois plus tard. Il est toujours bien portant, 2 ans après sa splénectomie, et son sang est examiné environ une fois par mois depuis 18 mois.

Les premiers parasites ont été décelés le 28^e jour après l'inoculation, et la splénectomie a été effectuée le lendemain. La parasitémie a alors augmenté rapidement et la chronologie de l'infection sera exprimée en nombre de jours après la splénectomie. Le taux de parasitémie était de 0,25 % le 4^e jour, 2,5 % le 13^e jour, 3,6 % le 21^e jour, 6,4 % le 24^e jour et 10 % le 42^e jour, moment où l'infection a commencé à décroître très lentement. Deux ans plus tard, elle est de 0,025 %.

Une infection concomitante à *Eperythrozoon* s'est développée peu après la splénectomie et a été supprimée par deux injections de Novarsenobenzol (70 mg les 13^e et 14^e jours).

Deux types de schizogonie se succèdent en se chevauchant pendant quelques jours. Jusqu'au 21^e jour, tous les schizontes observés ont un nombre élevé de noyaux (8 à 16). A partir du 21^e jour, apparaissent les schizontes caractéristiques à 4 noyaux. Les deux types coexistent pendant une semaine, puis, seuls les schizontes à 4 noyaux persistent indéfiniment. Il est à noter cependant que, quelle que soit l'intensité de l'infection, les schizontes sont relativement rares dans le sang périphérique.

Les gamétocytes coexistent avec les schizontes à nombreux noyaux. Ils sont nombreux et infectants dès le 3^e jour après la splénectomie et restent nombreux jusqu'aux environs du 8^e jour, puis leur nombre diminue progressivement. Un mois après la splénectomie, ils sont rares, alors que la parasitémie est élevée, et on n'en observe que très exceptionnellement par la suite (une seule observation de 2 microgamétocytes dans un frottis à 10 mois).

Enfin, c'est également en début d'infection, entre le 6^e et le 13^e jour après la splénectomie, qu'une réticulocytose importante, de nombreuses hématies à ponctuations basophiles et des infections multiples d'une même hématie apparaissent. Leur nombre diminue alors que la parasitémie augmente encore.

Depuis presque deux ans, les frottis effectués à des intervalles de temps de 1 à 2 mois montrent une parasitémie très monomorphe (anneaux, trophozoïtes et quelques schizontes à 4 noyaux) ; elle était de 0,01 % à 1 an et de 0,025 % à 2 ans.

c) *Infection par inoculation de sang de Souris*

L'Athérure 445 CC, capturé au Congo-Brazzaville, et arrivé au Muséum en mai 1968, a été examiné lors de son arrivée et 5 mois plus tard, sans qu'aucune parasitémie n'ait été décelée. Il a été inoculé par voie intra-péritonéale avec du sang de Souris splénectomisée fortement infectée par la souche 197 CC de *P. atheruri*.

Des frottis de sang ont été effectués les 11^e, 21^e, 23^e et 26^e jours après l'inoculation. A 11 jours, le sang est négatif. Le 21^e jour, on note des anneaux et des trophozoïtes ; un schizonte à huit noyaux a été observé. Le 23^e jour, la parasitémie est de 0,7 % ; le sang contient des anneaux, des trophozoïtes, des gamétocytes jeunes, des infections multiples ; un schizonte à 10 noyaux a été trouvé. Le 26^e jour, la parasitémie a diminué (0,25 %) : elle est faite essentiellement de trophozoïtes ; le nombre d'infections multiples a diminué, un schizonte à 10 noyaux et plusieurs à 4 noyaux ont été trouvés.

B — Description

Le parasite envahit essentiellement des globules rouges mûrs, qui ne sont pas altérés. Chez les animaux splénectomisés, on le rencontre également dans des hématies à ponctuations basophiles, mais il ne semble pas avoir de prédilection pour ces cellules.

Par ailleurs, on est frappé par le nombre de vacuoles digestives observées dans tous les stades. Une étude ultrastructurale a été faite et sera publiée par ailleurs par Boulard et coll.

— *Anneaux* (fig. 2 : 1 à 4) : ils sont polymorphes ; le noyau, relativement grand, peut être rond, en croissant ou en plusieurs masses inégales, parfois reliées par un petit pont de chromatine. Le cytoplasme est très fin.

— *Jeunes trophozoïtes* (fig. 2 : 5 à 12) : ils sont peu denses ; le noyau est souvent central, entouré par une vacuole qui peut être subdivisée par des travées de cytoplasme. Le cytoplasme est grisâtre, avec un liseré plus foncé en périphérie ; il émet parfois quelques fins prolongements. L'ensemble est peu coloré et il n'y a pas de pigment visible.

FIG. 2. — *P. atheruri* dans le sang d'*Atherurus africanus* pendant la phase aiguë ; 1 à 15 : anneaux et trophozoïtes ; 16 à 20 : infections multiples par anneaux et trophozoïtes dans des hématies mûres ; 21 à 23 : infections multiples par anneaux et trophozoïtes dans des hématies à ponctuations basophiles ; 24 : schizonte immature ; 25 : schizonte mûr à 12 mérozoïtes ; 26 : schizonte avec noyaux à centre clair ; 27 : jeune gamétocyte.

Anneaux et jeunes trophozoïtes ont, à juste titre, été comparés par plusieurs auteurs à des « anneaux piroplasmiformes » (fig. 3 : 11 à 14).

La majorité des trophozoïtes âgés (fig. 2 : 13 à 15) atteint au plus le tiers du volume de l'hématie. Ils peuvent être amiboïdes et contiennent un pigment très fin.

— *Schizontes* : Les deux types de schizontes, ceux de la phase aiguë avec 8 à 16 noyaux et ceux de la phase chronique avec 4 noyaux, sont également rares dans le sang périphérique.

FIG. 3. — *P. atheruri* dans le sang d'*Atherurus africanus* (1 à 10 : phase aiguë ; 11 à 16 : phase chronique) — 1 à 4 : macrogamétocytes ; 5 à 10 : microgamétocytes ; 11 à 14 : trophozoïtes « piroplasmiformes » ; 15-16 : schizontes à 4 noyaux.

a) Schizontes avec 8 à 16 noyaux (*fig. 2: 24 à 26*) : ils sont très polymorphes ; leur taille peut atteindre les 2/3 de celle de l'hématie ; les formes immatures ont des noyaux de grande taille, périphériques, groupés à un ou deux pôles du schizonte. Le cytoplasme, grisâtre ou bleu, est vacuolé ; il est souvent fragmenté en 2 à 3 masses nucléocytoplasmiques reliées entre elles. La maturation du schizonte est souvent progressive et l'on observe fréquemment quelques mérozoïtes détachés du reste du schizonte encore immature. Le pigment, en amas grossier, est rarement central. Pendant la phase intermédiaire entre infection aiguë et chronique, les schizontes, comme les gamétocytes (cf. plus loin) tendent à devenir plus petits ; ils ont, par ailleurs, moins de noyaux qu'en début d'infection.

Quelques schizontes de morphologie très particulière (*fig. 2, 26*) peuvent être rencontrés pendant la phase aiguë. Ils sont de petite taille (1/3 de l'hématie), très denses, avec, à maturité, 12 mérozoïtes en moyenne, serrés, entourant une masse noire de pigment central ; la morphologie des noyaux est caractéristique : ils sont de grande taille, tantôt allongés le long du bord du mérozoïte, qui paraît entouré d'une bande de chromatine plus ou moins continue, tantôt irréguliers et creusés d'un centre clair.

b) Schizontes à 4 noyaux (*fig. 2: 15, 16*) : ils sont très petits. Les mérozoïtes sont tantôt triangulaires, en croix ou en éventail, tantôt arrondis et libres dans l'hématie ; le pigment forme un granule noir ou peut être absent.

— *Gamétocytes* (*fig. 3: 1 à 10*).

Les jeunes gamétocytes ne remplissent que les 2/3 de l'hématie hôte. Ils ont un cytoplasme grisâtre. Les microgamétocytes jeunes peuvent déjà parfois être reconnus à leur noyau très granuleux, mieux limité et plus grand que celui des autres gamétocytes jeunes.

Les gamétocytes atteignent des tailles de 9 μm ; généralement, ils remplissent complètement ou presque l'hématie hôte, qui est hypertrophiée (taille moyenne des hématies mûres normales : 7 à 7,5 μm) ; ailleurs, ils paraissent rigides, déformant l'hématie, ou même donnant l'impression d'être posés sur elle. Ces formes de grande taille n'ont été observées que le 4^e jour après la splénectomie, où elles sont rares, et le 6^e jour, où elles sont nombreuses et où l'infectivité du sang pour les Anophèles est la plus élevée.

A mesure que l'infection progresse, la taille des gamétocytes diminue et la plupart d'entre eux coiffe un pôle du globule rouge et ne dépasse pas la moitié de la taille de cette cellule.

Tous les stades (0, I, II, III) décrits par Landau et coll. (1978) chez les gamétocytes du groupe *vivax* ont été observés.

V — Parasitémie chez les rongeurs de laboratoire

1 - *Meriones unguiculatus*

A — *Allure générale de l'infection*

La période prépatente varie de 3 à 10 jours ; elle est généralement plus longue lorsque l'inoculum est du sang d'Atherure ayant une infection chronique que s'il

s'agit de sang de Mérieux ou de Souris blanche avec une infection aiguë. La parasitémie atteint un maximum de 1 à 3,5 %, 5 à 6 jours après la fin de la période prépatente. Elle diminue alors brutalement et devient fluctuante pendant 2 à 3 semaines, avec quelques recrudescences et des périodes où le sang est négatif à l'examen direct. Un à deux mois après l'inoculation, les frottis de sang deviennent négatifs et les animaux n'ont pas été suivis au-delà de cette période.

La schizogonie est asynchrone et, contrairement à ce qui est observé chez l'Athérure, de nombreux schizontes circulent dans le sang périphérique.

Les gamétocytes sont présents dans tous les frottis de sang, mais leur nombre est le plus élevé lorsque la parasitémie est à son maximum.

FIG. 4. — *P. atheruri* dans le sang de *Meriones unguiculatus* (1 à 18) et de la Souris blanche (19-20). — 1 à 6 : anneaux et trophozoïtes dans des hématies à ponctuations basophiles ; 7, 8, 9 : schizontes immatures ; 10 : schizonte presque mûr avec un mérozoïte se détachant (flèche) ; 11 : schizonte partiellement mûr avec 2 mérozoïtes (flèche) et 6 noyaux ; 12 : schizonte mûr ; 13 à 16 : microgamétocytes ; 17-18 : macrogamétocytes ; 19 : anneau dans un réticulocyte ; 20 : trophozoïte dans un globule rouge mûr.

Le nombre d'hématies à ponctuations basophiles et de réticulocytes augmente dès la période prépatente et reste élevé pendant toute la durée de l'infection.

B — Description (fig. 4 : 1 à 8)

Une anisocytose et une poikilocytose se développent au cours de l'infection.

P. atheruri peut évoluer dans tous les types de globules rouges jeunes ou vieux ; les anneaux et les jeunes trophozoïtes ont cependant une prédilection marquée pour les réticulocytes et les hématies à ponctuations basophiles.

Les anneaux et les jeunes trophozoïtes ont généralement un noyau simple, relativement grand, arrondi ou en croissant et une mince bande de cytoplasme entourant une vacuole claire.

Les trophozoïtes atteignent plus de la moitié du volume de l'hématie, avant de se diviser. Ils sont arrondis ou ovalaires et à contour régulier, non amiboïde. Le noyau, latéral, est granuleux et bien limité ; le cytoplasme peu dense, de teinte grisâtre, contient plusieurs vacuoles claires, de taille variable, souvent localisées à proximité ou directement au contact du noyau ; celui-ci est souvent entouré par une zone claire. Le pigment apparaît tardivement, sous forme de 1 à 5 granules ronds, noirs, de taille inégale, parfois assez gros.

— *Schizontes* : Les schizontes immatures ont de grands noyaux irréguliers et un cytoplasme parsemé de vacuoles et qui présente souvent des invaginations. Ils peuvent évoluer de façon régulière vers la maturité en formant une rosace, mais, dans beaucoup de cas, ils se fragmentent en 2 ou 3 masses nucléocytoplasmiques ; des mérozoïtes se détachent parfois du reste du schizonte encore immature.

Les schizontes presque mûrs sont très denses, rouge foncé, avec des noyaux serrés et un gros granule de pigment généralement excentrique. Le nombre de mérozoïtes varie de 12 à 16.

Quelques schizontes de type particulier, comparables à ceux décrits plus haut chez l'Athérure, ont été observés : ils ont, comme chez l'Athérure, un noyau creusé d'un centre clair, et une masse de pigment noir centrale.

— *Gamétocytes* : ils ont les mêmes caractères morphologiques que ceux décrits chez l'Athérure. Comme pour ces derniers, les formes remplissant le globule rouge s'observent rarement ; les prégamétocytes et les formes paraissant dégénérées, plus petites, sont fréquentes tout au long de l'infection. Des gamétocytes remplissant l'hématie étaient présents chez les deux Mériens mentionnés plus haut (cf. Sporogonie), le jour où leur sang a été très infectant pour des Anophèles (50 à 100 oocytes par estomac).

Il semble donc vraisemblable que ces gamétocytes de grande taille soient infectants.

2 - Souris blanches (fig. 4 : 19, 20)

Jusqu'en 1981, nous avons utilisé des Souris blanches provenant d'un élevage non standardisé du Muséum.

A partir de 1981, nous avons commencé à utiliser également des Souris « Swiss ». Les infections par *P. atheruri* (souche 197 CC ou 23-26 PI) sont très comparables chez les Souris de ces 2 élevages.

Les Souris blanches non splénectomisées restent souvent négatives. Parfois elles présentent des infections inapparentes, qui sont révélées après une splénectomie faite même 2 à 3 semaines après l'inoculation.

6 Souris « Nues » inoculées avec du sang de Souris blanche fortement infectée sont restées négatives pendant 2 mois.

Les Souris blanches splénectomisées s'infectent aisément et font des parasitémies atteignant 3 à 4 %.

Afin de déterminer les conditions les plus favorables à l'isolement de souches du Porc-épic chez la Souris blanche, nous avons fait varier la date de la splénectomie en fonction de celle du passage.

Dans les *tableaux I et II* ont été consignés : le nombre de Souris blanches infectées, la durée de la période prépatente et la date de la splénectomie ; voie d'inoculation : intra-péritonéale ; souche : 23-26 PI.

TABLEAU I. — Infection des Souris blanches inoculées avec du sang d'Athérure porteur d'une infection chronique ; examen des Souris : 2 fois par semaine pendant 2 mois.

Date de la splénectomie*	Nb. de souris inoculées	Nb. de souris infectées	Période prépatente en jours
— 7	3	0	—
— 6	6	1	30
— 5	6	1	17
— 4	6	2	17, 30
— 2	5	0	—
— 1	5	0	—
0	5	5	19, 19, 19, 30, 33
+ 1	5	0	—
+ 2	5	3	21, 24, 32
souris non splénectomisées	13	0	—

*Nombre de jours avant ou après l'inoculation.

TABLEAU II. — Infection des Souris blanches inoculées avec du sang de souris porteuse d'une infection aiguë ; examens de sang : 2 fois par semaine pendant 1 mois 1/2.

Date de la splénectomie*	Nb. de souris inoculées	Nb. de souris infectées	Période prépatente en jours
— 2	5	2	7, 7
— 1	5	1	42
0	5	4	7, 7, 7, 15
+ 1	5	0	—
+ 2	5	0	—
souris non splénectomisées	5	0	—

* nombre de jours avant ou après la splénectomie.

Dans les deux expériences, le plus grand nombre de réussites a été obtenu lorsque la splénectomie et l'inoculation sont faites le même jour. La période prépatente est plus brève lorsque l'inoculum est du sang de Souris ayant une infection aiguë que lorsqu'il s'agit de sang d'Athérure avec une infection chronique.

Comme chez le Mérion, l'infection se déroule en plusieurs vagues (la première étant la plus élevée), séparées par des intervalles de temps où la parasitémie est faible, puis par des périodes de plus en plus longues, où le sang est négatif à l'examen direct.

La recrudescence de la parasitémie la plus tardive a été observée chez des Souris infectées depuis 3 mois. Une réticulocytose apparaît ; les hématies à ponctuations basophiles observées chez l'Athérure et le Mérion sont exceptionnelles chez la Souris blanche.

La morphologie de *P. atheruri* chez la Souris blanche est la même que chez le Mérion.

3 - *Calomys callosus*

Cette espèce a été infectée en 1968 avec la souche 197 CC. L'élevage ayant été supprimé par la suite, nous n'avons pas pu l'inoculer avec la souche gabonaise.

Les premiers passages de sang d'Athérure à des *Calomys* n'ont réussi que sur des animaux splénectomisés ; après 2 passages sur *Calomys* splénectomisés, des *Calomys* intacts ont pu aisément être infectés.

Leur parasitémie a atteint des taux de 4 à 4,5 % ; elle n'a pas été suivie au-delà d'un mois. Les seules différences notées entre l'infection du Mérion ou de la Souris blanche et celle du *Calomys* sont : le nombre plus élevé de gamétocytes et de schizontes à nombreux noyaux ; chez ce dernier, les schizontes ont fréquemment de 16 à 20 noyaux.

VI — Discussion

A — Allure de l'infection

Au début de l'expérimentation, lorsque les différences entre la morphologie du parasite chez l'Athérure et chez la Souris blanche, ou le *Calomys*, ont été constatées, nous avons cru que la nature de l'hôte déterminait la morphologie du parasite (Landau et coll., 1969). Ultérieurement, nous avons interprété le phénomène en supposant qu'il y avait coexistence de 2 espèces et que l'une d'elles, peu apparente chez le Porc-épic, était celle qui se développait chez la Souris.

Les nouvelles expériences nous permettent d'interpréter l'ensemble des résultats et de comprendre qu'il y a une seule espèce pouvant se présenter sous deux aspects différents, selon l'état immunitaire de l'hôte. Chez l'Athérure neuf, chez l'Athérure splénectomisé, chez les Rongeurs de laboratoire utilisés, le parasite se développe sous une forme aiguë (trophozoïtes de grande taille ; schizontes à nombreux noyaux ; gamétocytes ; infectivité pour les Anophèles). Ce n'est que chez l'hôte naturel, l'Athérure, que l'on observe, environ 3 semaines après le début de l'infection patente, l'apparition de petits trophozoïtes donnant naissance à des schizontes à 4 noyaux.

En 1 à 2 semaines, ce type de parasitémie s'installe de façon exclusive et persiste pendant des années.

B — Mécanismes de pérennité

Dans la nature, beaucoup de Sporozoaires évoluent en 2 phases : une phase aiguë, gamétogène et transmissible par le vecteur, et une phase chronique, qui maintient l'infection d'une année à l'autre ; les mécanismes de chronicité et les adaptations permettant à un parasite de persister chez son hôte d'une année à l'autre sont variés : — hypnozoïtes chez *P. cynomolgi* (Krotoski et coll., 1980) ; — schizontes chroniques tissulaires chez *Leucocytozoon simondi* (Desser, Fallis et Garnham, 1968) et chez les Plasmodium de Muridés de République Centrafricaine (Landau, 1973) ; — schizogonie sanguine chronique chez *P. malariae* et *P. atheruri*.

Quel que soit le mécanisme de chronicité, il aboutit à des rechutes de la phase aiguë. Le fait que la splénectomie déclenche chez l'Athérure une rechute de la phase aiguë laisse supposer que, dans la nature, et par un mécanisme que nous ignorons encore, ce soit une baisse de l'immunité de l'hôte qui déclenche la rechute.

C — Intérêt de *P. atheruri* comme modèle expérimental

L'étude des mécanismes de rechute dans le paludisme nécessite le plus souvent l'entretien des parasites sur leur véritable hôte naturel, ce qui représente une difficulté importante.

Comme de nombreuses espèces et, en particulier, celles de Primates, *P. atheruri* et son hôte *Atherurus africanus* ne se prêtent pas à une expérimentation facile et peu coûteuse. Cependant, la morphologie caractéristique de la forme chronique constitue un élément nouveau chez l'hôte immunisé, qui devrait permettre de progresser dans l'étude de ces problèmes (cultures *in vitro*, etc.).

BIBLIOGRAPHIE

- DESSER S. S., FALLIS A. M., GARNHAM P. C. C. : Relapses in ducks chronically infected with *Leucocytozoon simondi* and *Parahaemoproteus nettionis*. *Canad. J. Zool.*, 1968, 46, 281-285.
- KROTOSKI W. A., KROTOSKI D. M., GARNHAM P. C. C., BRAY R. S., KILICK-KENDRICK R., DRAPPER C. C., TARGETT G. A. T., GUY M. W. : Relapses in Primate Malaria : discovery of two populations of exoerythrocytic stages. Preliminary note. *Br. Med. J.*, 1980, 23, 153-155.
- LANDAU I. : Diversité des Mécanismes assurant la pérennité de l'infection chez les Sporozoaires Coccidiomorphes. *Mém. Mus. Natn. Hist. Nat.*, Sér. A, 1973, Zool., 77, 62 p.
- LANDAU I., ADAM J. P., BOULARD Y. : A malaria parasite of the brush-tailed porcupine in *Calomys* and white mice. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1969, 63, 8-9.
- LANDAU I., CHABAUD A. G. : Schizogonie hépatique secondaire dans le paludisme spontané des Rongeurs. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, 1968, 266, sér. D, 1730-1733.
- LANDAU I., MILTGEN F., CHABAUD A. G. : Les différents types de gamétocytes chez les Hémosporidies 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., MILTGEN F., CHABAUD A. G., BACCAM D. : Études 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.
- VAN den BERGHE L., PEEL E., CHARDOME M., LAMBERCHT F. L. : Le cycle asexué de *Plasmodium atheruri* n. sp. du porc-épic *Atherurus africanus centralis* au Congo belge. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 1958, 38, 971-976.