ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Volume 60

1985

N° 4

© Masson, Paris, 1985.

Ann. Parasitol. Hum. Comp.,
1985, 60, n° 4, pp. 373-382.

MÉMOIRES ORIGINAUX

DESCRIPTION ET TRANSMISSION EXPÉRIMENTALE DE L'HAEMOPROTÉIDÉ *HEPATOCYSTIS LEVINEI* N. SP.

Parasite de Chiroptères australiens¹

I. LANDAU*, I. HUMPHERY-SMITH**, A. G. CHABAUD*, F. MILTGEN*,
B. COPEMAN*** et Y. BOULARD*.

RÉSUMÉ. Description d'*Hepaticystis levinei* n. sp. parasite de *Pteropus poliocephalus* du Queensland (Australie). La sporogonie obtenue expérimentalement chez *Culicoides nubeculosus* évolue en 6 à 7 jours.

L'infection des *Pteropus* sains débute 20 jours après l'inoculation des sporozoïtes, elle est élevée pendant un mois et demi puis décroît pour persister à un taux très faible. La plus grande infectivité pour les *Culicoides* est observée le 9^e jour après le début de la parasitémie et l'infectivité reste élevée pendant 2 mois.

H. levinei se distingue de l'espèce la plus proche, *H. garnhami* par des microgametocytes « en cocarde » et non « diffus » et, semble-t-il, par des schizontes hépatiques plus petits ; dans les 2 cas, les schizontes jeunes ont un aspect étoilé caractéristique. La sporogonie s'effectue à la surface de l'estomac ; les oocystes sont de grandes tailles et contiennent de très nombreux sporozoïtes qui ne pénètrent pas massivement dans les glandes salivaires du *Culicoïde*.

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

**Department of Parasitology, University of Queensland, St Lucia. 4067, Brisbane, Queensland, Australie.

***Graduate School of Tropical Veterinary Science, James Cook University, Townsville 4810, Queensland, Australie.

1. Travail effectué grâce à une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé. (Programme M2/181/70 B.)

Accepté le 20 juillet 1984.

Description of *Hepatocystis levinei* n. sp., a parasite of *Pteropus poliocephalus* from Queensland (Australia).

SUMMARY. Sporogony, experimentally induced in *Culicoides nubeculosus*, lasted 6-7 days. In clean *Pteropus*, gametocytemia occurred 20 days after inoculation of sporozoites; it remained at a high level for a month and a half, and then decreased to a low parasitemia which persisted throughout the experiment, i.e. 18 months. Infectivity to *Culicoides* was maximum at day 9 after beginning of parasitemia and a high level of infectivity lasted for 2 months.

H. levinei can be differentiated from the closely related *H. garnhami* by its microgametocytes with a nucleus "en cocarde" and not "diffuse" and also apparently by smaller hepatic schizonts. Both parasites have young schizonts with a characteristic star like shape. Sporogony is located at the surface of the gut; mature oocysts are big and produce large numbers of sporozoites which are not massively attracted by the salivary glands of *Culicoides*.

I — Modèles biologiques et méthodes

A — *Pteropus*

En décembre 1981, nous avons examiné deux lots de *Pteropus poliocephalus* Temminck, 1825, capturés dans la mangrove Burpengary des environs de Brisbane.

Le premier lot, examiné le jour de sa capture (3 décembre 1981), comprenait 2 mâles et 5 femelles toutes accompagnées d'un bébé âgé de 1 à 2 mois. Deux femelles étaient faiblement parasitées par un *Hepatocystis* et toutes les autres Chauve-souris étaient négatives. Le deuxième lot comprenait 7 *Pteropus* adultes, capturés depuis quelques semaines et maintenus en captivité à l'Université de Brisbane. Deux d'entre eux présentaient une parasitémie à *Hepatocystis*, l'une forte, l'autre légère.

Trois des 4 individus parasités et 4 *Pteropus* indemnes nous ont été envoyés au Muséum à Paris, le 22.12.81. Leur sang a été examiné au moins une fois par mois pendant 1 an et demi.

B — *Culicoides*

La souche de *Culicoides nubeculosus* élevés au laboratoire depuis plusieurs années a été fournie par J. Boorman. Après gorgeage sur *Pteropus* infecté, les Culicoïdes sont maintenus à 25° C et gorgés une deuxième fois sur Souris, le 3^e jour après le repas infectant. Ils ont à leur disposition un mélange d'eau et de miel.

Lorsque les oocystes sont mûrs, les Culicoïdes, sont broyés *in toto* avec un mélange de RPMI et de 20 % de sérum de veau fœtal dans un broyeur de Potter et injectés dans une veine alaire de *Pteropus* sains.

C — Transmissions

Deux transmissions consécutives ont été effectuées (tableau I).

II — Description

I - Sporogonie

L'exflagellation survient en moins de 4 minutes entre lame et lamelle.

Le développement apparemment normal d'oocystes chez *Culicoides nubeculosus* s'effectue chez environ un individu sur trois, les deux autres étant négatifs ou hébergeant des oocystes de très petite taille qui n'évoluent pas ou dégénèrent.

Les oocystes siègent comme chez les *Plasmodium* de Mammifères, entre l'épithélium et la membrane basale, faisant saillie à la surface extérieure de l'estomac (*Pl. I, 1*).

Les premiers oocystes mûrs sont observés le 6^e jour à une température de 27° C et le 7^e jour à 25° C. Ils contiennent de très nombreux sporozoïtes (*Pl. I, 3*).

TABLEAU I. — Expériences de transmissions effectuées

PLANCHE I. — Oocystes d'*H. levinei* à la surface de l'estomac de *Culicoides nubeculosus* :
 1 — oocystes immatures ; 2 — oocystes immatures et mûrs ; 3 — oocyste mûr photographié
 au contraste interférentiel.

PLANCHE II. — Schizontes hépatiques d'*H. levinei* chez *P. poliocephalus* :
1 — très jeune schizonte ; 2 — schizonte jeune en étoile ; 3 — schizonte mûr et rompu ;

Les sporozoïtes n'ont pas tendance à envahir les glandes salivaires après maturation des oocytes. Dans les frottis de la cavité abdominale séchés à l'air, fixés par le méthanol et colorés par le giemsa, ils mesurent $7,48 \pm 0,90 \mu\text{m}$, ils sont fins et ne se différencient pas morphologiquement des sporozoïtes de *Plasmodium*.

2 - Schizogonie exo-érythrocytaire (*Pl. II*).

La période préparente, après injection de sporozoïtes, a été de 21 à 24 jours dans les deux transmissions effectuées. Les premiers mérocystes doivent, donc, mûrir en une vingtaine de jours. La schizogonie continue à évoluer dans le foie, puisque des anneaux ont été observés dans le sang des Chiroptères infectés expérimentalement pendant un an, et des schizontes dans le foie de *Pteropus* 523 ZD, 12 mois après son inoculation.

Trois schizontes ont été trouvés dans le foie de cette Chauve-souris :

a — Un petit schizonte très immature (*Pl. II, 1*) : il siège dans un hépatocyte légèrement hypertrophié, dont le cytoplasme est très raréfié, mais le noyau apparemment normal. Il forme une masse dense très basophile, avec des noyaux petits arrondis et espacés.

b — Un schizonte de taille plus élevée que le précédent ($46 \mu\text{m} \times 28 \mu\text{m}$) et plus âgé (*Pl. II, 2*).

Il siège dans une loge mal limitée, creusée dans un hépatocyte ; ce dernier est hypertrophié, avec 2 noyaux d'aspect normal.

Le schizonte a la forme générale ovalaire, mais un contour très irrégulier. A partir du centre du schizonte rayonnent de nombreux lobes, mesurant jusqu'à $15 \mu\text{m}$ de long sur 3 à $4,5 \mu\text{m}$ de large ; le cytoplasme, réticulé, est plus clair que dans la forme précédente. Les noyaux sont régulièrement distribués dans les lobes et assez espacés.

c — Un reliquat de schizonte ayant libéré ses mérozoïtes (*Pl. II, 3*) ; seuls, persistent un squelette formé par l'enveloppe externe du schizonte entourant des plages de colloïde, ou quelques cytomères immatures ou dégénérés ; le contour de ce schizonte est très irrégulier, avec des lobes de forme et de taille variables. Des mérozoïtes sont visibles dans les capillaires avoisinants. L'aire occupée par cette forme mesure $200 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$: elle siège dans une zone amorphe, rose, elle-même entourée par un granulôme inflammatoire dense. L'ensemble mesure $650 \mu\text{m}$ de diamètre.

3 - Gamétocytémie

a — *Allure générale*

INFECTIONS EXPÉRIMENTALES (523 ZD et 525 ZD)

Ces deux Chiroptères sont restés négatifs entre le jour de leur arrivée et celui de leur inoculation expérimentale (respectivement 23 et 59 jours).

Nous décrivons ici la parasitémie la plus riche, celle de 523 ZD. Elle atteint 0,15 % lorsqu'elle est décelée, 24 jours après l'inoculation de sporozoïtes ; elle est

faite d'anneaux et de jeunes gamétocytes encore indifférenciés et dont la taille ne dépasse pas les 2/3 de celle de l'hématie hôte. Le lendemain, la parasitémie a doublé (0,30 %) et les premiers gamétocytes immatures différenciables en micro et macro-gamétocytes apparaissent.

A partir du 4^e jour, tous les stades sont observés. La parasitémie est de 0,8 % le 5^e jour, 1 % le 9^e jour, date à laquelle apparaissent les premiers microgamétocytes « en cocarde », 0,7 % le 13^e jour et le 19^e jour, 0,45 % le 42^e jour. La proportion de microgamétocytes en cocarde est élevée dès le 13^e jour et reste élevée. Elle varie entre 0,10 et 0,20 % entre le 54^e et le 100^e jour, puis décroît pour persister à un taux très faible jusqu'à l'autopsie. La majorité des parasites observés tardivement sont des gamétocytes mûrs, mais des anneaux et des trophozoïtes peuvent être observés occasionnellement.

La plus grande infectivité pour les Culicoïdes a été observée le 9^e jour après le début de la parasitémie ; l'infectivité est restée élevée pendant 2 mois, puis a diminué nettement en suivant la chute de la parasitémie.

TÉMOINS

Les deux *Pteropus* indemnes lors de leur arrivée et qui n'ont pas été inoculés avec des sporozoïtes sont restés négatifs pendant un an et demi. (Examen du sang une fois par mois.)

INFECTIONS NATURELLES

Les trois *Pteropus* infectés naturellement ont vu leur parasitémie baisser lentement jusqu'à un taux très faible.

Examinés, une fois par mois, de décembre 1981 à juin 1983, des éléments jeunes (anneaux ou trophozoïtes) ont été observés aux dates suivantes :

- *Pteropus* 527 ZD : décembre 1981, janvier 1982, avril 1982, avril 1983 ;
- *Pteropus* 528 ZD : décembre 1981, janvier 1982, avril 1982 ;
- *Pteropus* 529 ZD : décembre 1981, avril 1982, septembre 1982.

b — Morphologie (Pl. III)

Les petits anneaux ont un grand noyau dense et homogène, arrondi, en croissant ou parfois en cercle, une vacuole claire et une très fine bande de cytoplasme ; les infections doubles ne sont pas rares.

Les jeunes trophozoïtes ont un noyau encore bien limité, qui devient progressivement granuleux, moins dense, irrégulier avec des prolongements entourant des zones plus claires.

La forme générale du trophozoïte, occupant environ le 1/4 du volume de l'hématie, est allongée ou piriforme, non amiboïde.

PLANCHE III. — Gamétocytes d'*H. levinei* chez *P. poliocephalus* :
 1 — anneau ; 2-3-4 — jeunes trophozoïtes ; 5-6 — trophozoïtes âgés avec des lobes ; 7-8 — microgamétocytes immatures ; 9-10-11 — microgamétocytes mûrs à noyau en coquille ; 12-13 — macrogamétocytes jeunes ; 14-15 — macrogamétocytes mûrs.

Lorsqu'il atteint environ les 2/3 du volume de l'hématie, il devient souvent amiboïde avec de larges prolongements pouvant être repliés dans le globule rouge.

Le noyau est de grande taille, occupant jusqu'aux 2/3 du parasite, avec une chromatine en fins granules ou parfois réticulée. Le cytoplasme est grisâtre, peu dense, parsemé de petites vacuoles rondes; le pigment est invisible ou en fine poussière.

A maturité, les gamétocytes hypertrophient et remplissent complètement l'hématie-hôte, qui mesure 7,7 μm de moyenne.

Le *microgamétocyte* est reconnaissable assez tôt, alors qu'il est encore jeune; son noyau est grand et diffus, sans limites précises; sa coloration est rose, se dégradant et se continuant insensiblement par le bleu clair du cytoplasme. Le pigment chevauche le noyau.

En mûrissant, le microgamétocyte acquiert un noyau de grande taille bien limité, carré ou rectangulaire, avec quelques grains plus denses dispersés, qui se rassemblent progressivement vers le centre; le cytoplasme devient gris rose et le pigment est limité à la zone cytoplasmique. A maturité, le noyau en « cocarde » présente deux parties: le pourtour, rose homogène, bien limité, ayant parfois un ou deux diverticules, et le centre, occupé par un bloc de chromatine granuleux, dense, arrondi, bien limité; le cytoplasme est rose et le pigment est régulièrement réparti, ne chevauchant pas le noyau.

Le *macrogamétocyte* mûr a un noyau relativement grand (3 μm), granuleux, de forme plus ou moins géométrique, carrée ou rectangulaire. Le cytoplasme est bleu assez vif et le pigment marron jaunâtre.

III — Statut taxonomique

L'espèce la plus proche est *H. garnhami* Landau, 1981. Les schizontes des deux espèces ont la même forme étoilée et le schizonte mûr et rompu décrit plus haut est lobé comme ceux d'*H. garnhami*.

Les principales différences entre les deux espèces se trouvent dans la morphologie des gamétocytes: *H. garnhami* a des microgamétocytes de type « diffus » avec un grand noyau de structure homogène. Le parasite décrit ici a des microgamétocytes de type « en cocarde » avec noyau plus petit, composé de deux parties, une zone périphérique claire et un centre occupé par une masse chromatinienne dense et bien limitée.

Par ailleurs, la taille des schizontes hépatiques est vraisemblablement plus petite que celle d'*H. garnhami*: 2 schizontes immatures apparemment au même stade mesurent respectivement 46 μm chez notre parasite et 80 μm chez *H. garnhami*. Nous n'avons cependant pas pu comparer la taille des schizontes âgés car le seul schizonte mûr observé était rompu.

Nous estimons donc que l'espèce parasite de *Pteropus poliocephalus* est nouvelle; nous la nommons *Hepatocystis levinei* en l'honneur de N. D. Levine.

IV — Affinités zoologiques

Les 2 espèces proches *H. garnhami* et *H. levinei*, constituent chez les Mégachiroptères un couple auquel peut être opposé, chez les Microchiroptères, le couple *H. rodhaini* et *H. bainaë*.

H. levinei parasite de *Pteropus* à Brisbane a, comme son homologue *H. rodhaini* parasite d'*Hipposideros* en Malaisie, des gamétocytes en cocarde et des schizontes hépatiques de petite taille.

H. garnhami, parasite de *Cynopterus* en Thaïlande a, comme son homologue *H. bainaë*, parasite d'*Hipposideros* en Malaisie des gamétocytes de type diffus et des schizontes hépatiques de grande taille.

La différence essentielle est que le couple parasite de *Rhinolophoidea* a des schizontes hépatiques compacts ; le couple qui paraît homologue, parasite de Mégachiroptères, a au contraire des schizontes hépatiques remarquables par leurs nombreuses ramifications. Le même processus évolutif pourrait avoir eu lieu à deux reprises, chez *H. rodhaini*, à l'origine d'*H. bainaë*, chez les Microchiroptères et chez *H. levinei*, à l'origine d'*H. garnhami*, chez les Mégachiroptères.

REMERCIEMENTS. Nous sommes très reconnaissants au Dr D. E. Moorhouse pour les facilités qu'il nous a offertes dans son laboratoire de Brisbane.

BIBLIOGRAPHIE

- LANDAU I. : Description d'*Hepatocystis garnhami* n. sp., parasite du Chiroptère *Cynopterus sphinx* (Vahl) en Thaïlande. *Parasitological topics*. A presentation Volume to P. C. C. Garnham, Londres, 1981, 166-169.