

ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Volume 62

1987

N° 1

© Masson, Paris, 1987.

Ann. Parasitol. Hum. Comp.,
1987, 62, n° 1, pp. 5-7.

MÉMOIRES ORIGINAUX

OBTENTION *IN VITRO* DE SCHIZONTES DE *PLASMODIUM CYNOMOLGI BASTIANELLI* DANS DES HÉPATOCTES DE *MACACA RHESUS*¹

P. MILLET*, J.-B. JIANG**, Z.-R. LUN**, R. S. BRAY***,
E. U. CANNING***, I. LANDAU*

RÉSUMÉ. Des cultures primaires d'hépatocytes de singe Rhésus ont étéensemencées avec des sporozoïtes de *P. c. bastianelli*. Malgré l'importance des contaminations, 2 schizontes ont été observés à 6 jours et à 11 jours.

Mots-clés : *Plasmodium cynomolgi*. Culture *in vitro*. Stades hépatiques. Primate.

***In vitro* development of schizonts of *Plasmodium cynomolgi bastianelli* in hepatocytes of *Macaca rhesus*.**

SUMMARY. Primary cultures of Rhesus monkey were infected with sporozoites of *P. c. bastianelli*. Despite a high level of contamination, two schizonts were seen at days 6 and 11.

Key-words : *Plasmodium cynomolgi*. *In vitro* cells culture. Hepatocytic stages. Primate.

En septembre 1985, des expériences sur la schizogonie exoérythrocytaire de *Plasmodium cynomolgi bastianelli* ont été effectuées à Guangzhou (Chine Populaire), par 3 équipes : le laboratoire de Parasitologie (Département de Biologie de l'Uni-

* Laboratoire de Zoologie-Vers, associé au CNRS, 61, rue de Buffon, F 75231 Paris Cedex 05.

** Parasitology laboratory, Department of Biology, Zhongshan (Sun Yat Sen) University, Guangzhou, R. P. de Chine.

*** Imperial College at Silwood Park, Ascot, Berks. SL5 PY U. K.

Accepté le 29 juin 1986.

1. Travail ayant reçu l'appui financier du programme spécial PNUD/Banque mondiale OMS de Recherche et de Formation concernant les maladies tropicales.

versité Zhongshan), une équipe de Imperial College (Londres), et une équipe du Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris).

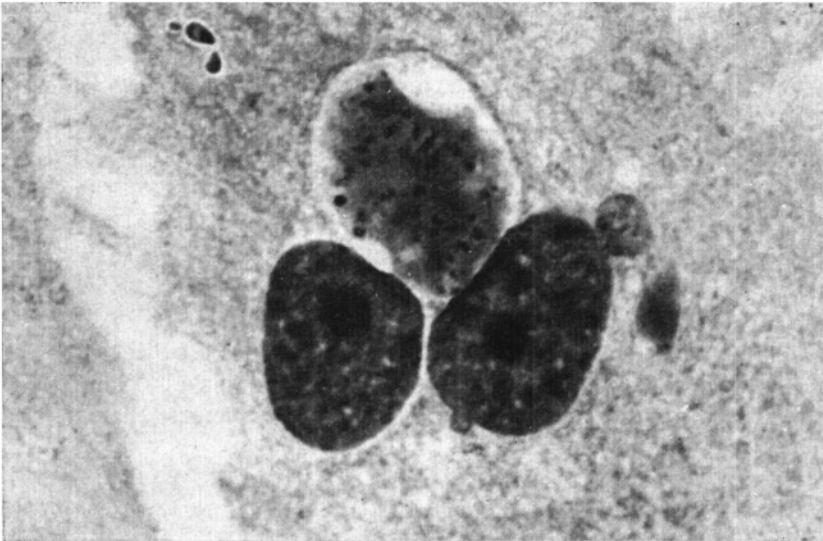
Le travail présenté ici est une tentative préliminaire de culture de *P. c. bastianelli* dans des hépatocytes de Singe rhésus.

Les cellules ont été obtenues par perfusion enzymatique d'une biopsie de foie prélevée sur un *Macaca rhesus* âgé d'environ 1 an, pesant 1,5 kg. La méthode de perfusion est décrite par Guguen-Guillouzo et coll. (1983). Deux types de cultures ont été réalisés : a) les cellules occupent toute la surface d'une boîte de Pétri de 35 mm de diamètre (environ 500 000 hépatocytes) (Lambiotte et coll., 1981 ; Mazier et coll., 1982) ; b) les cellules forment 2 disques de 5 mm de diamètre (environ 8 000 hépatocytes) disposés sur le fond d'une boîte de Pétri de 35 mm de diamètre (Millet et coll., 1985).

Après 24 heures de culture, les cellules sontensemencées avec des sporozoïtes de *P. c. bastianelli* obtenus par broyage de glandes salivaires d'*Anopheles dirus*. Les Moustiques ont été gorgés 14 jours plus tôt sur Singe rhésus infecté depuis 20 jours par inoculation de sang parasité.

Nous avons infecté 5 boîtes de Pétri contenant 500 000 cellules avec 60 000 sporozoïtes chacune, et 20 boîtes de Pétri, contenant chacune 2 disques cellulaires avec 30 000 sporozoïtes par disque.

Toutes les cultures ont malheureusement été contaminées, à des degrés divers, par des levures, et, malgré l'utilisation d'antibiotiques (200 UI de pénicilline, 0,2 mg/ml de streptomycine), par des bactéries. Nous avons pourtant pu observer, dans des cultures en disque fixées au méthanol pur et colorées au Giemsa, 1 schizonte après 6 jours de développement, et un autre après 11 jours.



Schizonte de *P. cynomolgi bastianelli* âgé de 11 jours en culture, dans un hépatocyte binucléé.

A 6 jours, le schizonte mesure 18 μm de diamètre ; il est accolé au noyau de l'hépatocyte. Les noyaux, au nombre d'une vingtaine, rassemblés au centre du parasite, sont petits et denses. Le cytoplasme est bleu pâle, granuleux.

Au 11^e jour, le schizonte mesure 20 \times 25 μm . Il est accolé aux 2 noyaux de l'hépatocyte. Les noyaux, au nombre de 20, sont de grande taille, rose pâle, chacun possédant de 2 à 4 grains chromatiniens ronds, bien limités et denses. Le cytoplasme est bleu grisâtre, homogène (*fig. 1*).

La recherche d'hypnozoïtes par immunofluorescence n'a pas été faite.

Le faible nombre de schizontes obtenus et leur développement retardé sont vraisemblablement liés aux contaminations.

Lorsque les problèmes de stérilité seront résolus, nous espérons obtenir le développement complet de *P. cynomolgi* dans des hépatocytes de Singe, comme celui de *Plasmodium vivax* a été obtenu dans des hépatocytes humains (Mazier et coll., 1985).

BIBLIOGRAPHIE

- GUGUEN-GUILLOUZO C., BAFFET G., CLEMENT B., BEGUE J.-M., GLAISE D., GUILLOUZO A. : Human adult hepatocytes: isolation and maintenance at high level of specific functions in a co-culture system. In: *Isolations, characterisation and use of hepatocytes*. Elsevier Sciences Publishing Co., Amsterdam, 1983, 105-110.
- LAMBIOTTE M., LANDAU I., THIERRY N., MILTGEN F. : Développement de schizontes dans des hépatocytes de Rat adulte en culture, après infestation *in vitro* par des sporozoïtes de *Plasmodium yoelii*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1981, 293, 431-433.
- MAZIER D., LANDAU I., DRUILHE P., MILTGEN F., GUGUEN-GUILLOUZO C., BACCAM D., BAXTER J., CHIGOT J.-P., GENTILINI M. : Cultivation of the liver forms of *Plasmodium vivax* in human hepatocytes. *Nature*, 1984, 307, 367-369.
- MILLET P., LANDAU I., BACCAM D., MILTGEN F., PETERS W. : La culture des schizontes exo-érythrocytaires des *Plasmodium* de Rongeurs dans les hépatocytes. Un nouveau modèle expérimental pour la chimiothérapie du paludisme. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1985b, 301, 403-406.