UNE NOUVELLE ESPÈCE PLASMODIALE CHEZ UN LÉMURIEN : *PLASMODIUM COULANGESI* N. SP.

J.-P. LEPEPERS*, L. RABETAFIKA**, I. LANDAU***, W. PETERS****

RÉSUMÉ. La splénectomie d'une femelle *Lemur macaco macaco* faiblement parasitée par des Hémosporidae et par un Trypanosome, a entraîné une augmentation importante de la parasitémie endoglobulaire.

Elle a permis d'individualiser trois espèces.

L'une est inconnue ; elle est décrite sous le nom de *Plasmodium coulangesi* n. sp. Elle est caractérisée par le nombre constant et faible (6) de mérozoïtes dans le schizonte mûr, la disposition du pigment, éloigné de la masse parasitaire à laquelle il paraît relié par un fin prolongement cytoplasmique, l'hématie hôte dont la forme, la taille et la coloration ne sont pas modifiées.

L'autre dénommée pour l'instant *Plasmodium* sp. a déjà été observée par Garnham et Uilenberg (1975) chez le même hôte et désignée sous le nom de *Plasmodium girardi* Buck et coll., 1952.

Enfin, la dernière n'est représentée que par des gamétocytes qui correspondent à ceux de *Plasmodium lemuris* Huff et Hoogstraal, 1963.

Mots-clés : *Plasmodium coulangesi* n. sp. *Lemur macaco macaco*. Madagascar.

A new *Plasmodium* species from a Lemur: *Plasmodium coulangesi* n. sp.

SUMMARY. The splenectomy of a female *Lemur macaco macaco*, showing a scanty blood infection by Haemosporidians and a Trypanosome was followed by a dramatic increase of the rate of intra-erythrocytic parasitaemia.

Three species of *Plasmodium* were then identified.

The first species was unknown; it is described in this paper and named *Plasmodium coulangesi* n. sp. It is characterised by—the low (6), constant number of merozoites in mature schizonts,—the disposition of the pigment, well apart from the parasitic mass to which it is linked by a tiny wisp of cytoplasm,—the normal host erythrocyte, the shape, size and colour of which are unaltered.

The second species was provisionally designated as *Plasmodium* sp.; it was previously seen in the same host by Garnham and Uilenberg in 1975 and designated by these authors as *Plasmodium girardi* Buck, Coudurier et Quesnel, 1952.

Only gametocytes of the last species were found; they are similar to those of *Plasmodium lemuris* Huff and Hoogstraal, 1963.

Key-words : *Plasmodium coulangesi* n. sp. *Lemur macaco macaco*. Madagascar.

* Institut Pasteur de Madagascar, Boîte Postale 1274, Antananarivo, Madagascar.

** Laboratoire de Zoologie, Université de Madagascar, Antananarivo, Madagascar.

*** Laboratoire de Protozoologie et Parasitologie comparée, École Pratique des Hautes Études et Laboratoire de Zoologie (Vers) associé au CNRS, Muséum National d'Histoire Naturelle, 61, rue Buffon, F 75231 Paris Cedex 05.

**** London School of Hygiene and Tropical Medicine, Keppel Street, Londres.

Accepté le 13 décembre 1988.

Introduction

Le paludisme des Lémuriens intéresse à divers titres de nombreux chercheurs. C'est un animal rare, un peu mythique, qui est endémique à Madagascar et dont certaines espèces présentent la particularité d'héberger des plasmodies spécifiques. Mais toujours, que ce soit en captivité ou dans la nature, les parasitémies observées sont extrêmement faibles, de l'ordre de 0,01 à 0,03 %.

En 1982, un programme d'étude associant le Laboratoire de Zoologie de l'Université de Madagascar et l'Institut Pasteur de Madagascar a été mis en route avec la collaboration du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris et de la London School of Hygiene and Tropical Medicine.

Le travail a débuté en 1983 et 1984 par la recherche des espèces de Lémuriens susceptibles d'héberger des Hématozoaires du paludisme. A cette époque, 97 animaux ont été examinés et 111 en 1987.

Sur les 208 Lémuriens ainsi répertoriés, seules deux espèces, *Lemur macaco macaco* et *Lemur rubriventer* ont été trouvées porteuses d'Hématozoaires (Rabetafika et coll., 1985 ; Rapport I. P. Madagascar, 1988).

Deux *Lemur rubriventer* sur trois se sont révélés positifs, mais il s'agit de Lémuriens rares et difficiles à capturer.

Par contre, 94 *Lemur macaco macaco* sur 168 présentent des Hématozoaires, soit 56 %. Malgré la faible densité parasitaire, il nous a semblé que, parmi les deux espèces présentes, il en existait probablement une nouvelle. Désirant mieux observer ces formes intra-érythrocytaires et nous appuyant sur d'anciennes expériences qui montraient que la splénectomie augmentait les parasitémies, nous avons effectué cette opération sur une femelle *Lemur macaco macaco* en captivité.

Avant de décrire nos observations, il convient de rappeler brièvement les travaux antérieurs (Une liste bibliographique a été publiée par Coulanges et coll., 1978.)

En 1952, Buck et coll. décrivent deux nouvelles espèces plasmodiales chez un *Lemur fulvus rufus* splénectomisé. Ils nomment les parasites *Plasmodium girardi* et *Plasmodium foleyi*.

En 1963, Huff et Hoogstraal décrivent une autre espèce observée sur un frottis exécuté en 1948 chez un *Lemur macaco collaris* et la nomment *Plasmodium lemuris*.

En 1970, Uilenberg pense avoir retrouvé *Plasmodium girardi* chez *L. m. macaco* et *L. f. fulvus* et émet l'hypothèse que *Plasmodium lemuris* et *Plasmodium foleyi* constitueraient une seule et même espèce.

Enfin, en 1975, Garnham et Uilenberg reprenant toutes les observations antérieures confirment les observations de Uilenberg sur *Plasmodium girardi* et mettent en synonymie *Plasmodium lemuris* et *Plasmodium foleyi*.

Conduite de l'expérience

L'animal, une femelle adulte *Lemur macaco macaco* Linné, 1766, en captivité à l'Institut Pasteur de Madagascar et provenant de la région d'Ambanja, a été splénectomisée le 13.3.1988, jour J0. Elle présentait à ce moment une parasitémie inférieure à 0,01 %, faite de trophozoïtes jeunes et âgés. Elle a été suivie quotidiennement pendant 70 jours par des frottis sanguins prélevés à l'oreille incisée au vaccinostyle.

Le graphique de la *figure 1* montre l'évolution de la parasitémie dans le temps. La croissance de celle-ci s'est effectuée rapidement de façon quasi exponentielle.

A J5, nous avons été certains de l'existence de deux parasites différents.

A J11, alors que la parasitémie atteignait 12 % et pour éviter la mort probable de l'animal par envahissement complet de ses hématies, nous l'avons traité par une injection de 50 mg de formiate de quinine, renouvelée le lendemain.

Monté à 14,5 % à J12, le taux a ensuite décro pour se stabiliser à partir de J22 aux environs de 0,01 %.

Les deux formes parasitaires se sont développées en même temps et les parasitémies respectives de chacune d'elles ont toujours été à peu près identiques. Quelques gamétocytes d'une troisième espèce ont également été détectés.

FIG. 1. — Évolution de la parasitémie chez *Lemur macaco macaco* splénectomisé. SP = splénectomie ; TQ = traitement par la quinine.

Par la suite, nous avons observé deux nouveaux pics, beaucoup plus faibles, à J41 et à J58, qui ont régressé spontanément sans traitement.

Au cours du premier pic, trois espèces plasmodiales ont donc été individualisées. L'une ressemble fortement au parasite décrit par Garnham et Uilenberg (1975) sous le nom de *Plasmodium girardi* et que nous désignerons ici sous le nom de *Plasmodium* sp. Elle montre toutes les formes intra-érythrocytaires classiques du genre *Plasmodium*. L'autre ne présente que des gamétocytes fort rares semblables à ceux de *Plasmodium lemuris*.

Enfin, une dernière espèce est inconnue de la littérature jusqu'à ce jour et nous la décrivons et nommons ici *Plasmodium coulangesi* en l'honneur du Docteur P. Coulanges, directeur de l'Institut Pasteur de Madagascar et initiateur de ce programme.

Les deuxième et troisième pics n'ont montré qu'un seul type de parasite ; il correspond à celui que nous avons désigné sous le nom de *Plasmodium* sp. Nous verrons qu'il s'agit d'une nouvelle espèce (Landau et coll., 1989).

L'animal suivi depuis dix mois par des prélèvements hebdomadaires présente toujours un taux très faible sans avoir refait de pic décelable. Cette femelle a par ailleurs eu un bébé mâle qui n'a pas montré jusqu'à présent d'Hématozoaires dans son sang périphérique.

Description des espèces plasmodiales observées au cours de cette expérience

1 — PLASMODIUM COULANGESI N. SP.

Le matériel type est un schizonte mûr, marqué sur un frottis de sang déposé au Muséum et enregistré sous le numéro PX 119.

Il est apparu dans les jours qui ont suivi la splénectomie. Sa présence est certaine à J2 puisque nous avons décelé ce jour-là les schizontes caractéristiques.

Les hématies parasitées par les stades asexués ne sont jamais déformées quel que soit le stade, tout au plus pourrait-on noter une très discrète diminution de volume sans décoloration ni granulation dans le stroma.

Il est important de noter pour ce parasite, l'existence dans toutes les formes intra-érythrocytaires non sexuées, d'un rapport nucléo-cytoplasmique souvent très élevé et dans tous les cas largement supérieur à 1.

a — *Le trophozoïte jeune* est petit, sa taille ne dépasse pas le 1/10^e de l'hématie. Le noyau est dense, plus ou moins arrondi, avec une bordure de cytoplasme bleuté non vacuolé.

Dans les formes très jeunes, le grain de pigment est inexistant, mais il apparaît rapidement et il est toujours éloigné de la structure du parasite auquel il est relié par un voile bleuté à peine visible.

Avant l'apparition du pigment, la différence avec les trophozoïtes jeunes des autres espèces est difficile à faire.

b — *Le trophozoïte plus âgé* devient plus caractéristique. Il occupe $1/5^e$ à $1/6^e$ d'une hématie qui ne présente toujours pas de granulations. L'aspect général du parasite donne parfois l'impression d'une image « en montgolfière » ou « en parachute » (*Planche I*, p. 170). En effet, le noyau volumineux, rouge, de forme géométrique quadrangulaire ou en triangle, possédant une chromatine compacte et abondante, semble maintenir par un triangle de cytoplasme peu dense et non vacuolé un gros grain de pigment noir très dense.

c — *Le schizonte* est très caractéristique lorsqu'il atteint sa forme mature de « rosace » à 6 noyaux (*Planche I*, 2 et 3, p. 170).

Il occupe environ la moitié de la surface d'une hématie de volume conservé, toujours exempte de déformation, de décoloration et de granulations. Les noyaux des six mérozoïtes sont toujours caractéristiques avec une chromatine dense de forme géométrique.

Le cytoplasme toujours très peu abondant semble parfois absent. Le grain de pigment noir d'aspect massif est toujours présent.

Des images de schizonte rompu avec les mérozoïtes et le pigment éparpillés dans le globule rouge sont fréquentes (*Planche I*, 4, p. 170).

d — *Les gamétocytes* (*Planche I*, 5, 6, 7 et 8, p. 170).

Parmi les cinq types de gamétocytes observés sur les frottis, il nous a paru légitime d'attribuer à *Plasmodium coulangesi* ceux qui, comme les stades asexués, n'entraînent pas d'altérations de l'hématie.

— *Caractères communs aux deux sexes.*

Ils sont allongés, avec une longueur de 7 microns, supérieure au diamètre d'une hématie normale, et une largeur de 5 à 6 microns. Leur contour est irrégulier et ils remplissent presque tout l'érythrocyte qui subsiste sous forme d'un petit arc souvent décoloré.

Le pigment abondant est fait de granulations régulières prenant le plus souvent l'aspect de grains de riz noirs plus ou moins rassemblés dans les formes jeunes. Ils sont plus dispersés dans les formes âgées.

Le cytoplasme présente des granulations roses ou rouge vif, voire violacées (grains azurophiles), réparties sur l'ensemble du parasite ou parfois regroupées sur une aire plus ou moins étendue.

— *Caractères différentiels.*

. Le gamétocyte mâle possède un cytoplasme gris bleu dans lequel s'étale un très grand noyau qui couvre environ les $8/10^e$ du parasite. La chromatine est filamenteuse et elle s'étend sur toute la longueur en présentant de petits amas chromatiniens en « grains de chapelet ».

Un grand corpuscule chromatinien accessoire est toujours présent. Il est homogène et se situe volontiers en périphérie.

. Le gamétocyte femelle a un cytoplasme bleu vif dans lequel s'individualise un noyau plus condensé, piriforme, en goutte d'eau avec des amas chromatiniens plus denses.

Le corpuscule chromatinien accessoire est absent.

2 — *PLASMODIUM* SP. (Planche I, 9 à 13, p. 170)

Plasmodium sp. sera décrit de façon détaillée dans l'article suivant et nous résumons ici ses principaux caractères afin de pouvoir le comparer à *Plasmodium coulangesi* :

- trophozoïtes non amiboïdes ;
- schizontes mûrs à 20 mérozoïtes ;
- gamétocytes mesurant 5 à 6 μm et siégeant dans une hématie le plus souvent décolorée ; granule chromatinien accessoire présent chez le microgamétocyte et grains azurophiles rares ;
- hématie hôte non hypertrophiée mais parfois décolorée et surtout très déformée, en « feuille de houx » ou en « oursin ».

3 — *PLASMODIUM* LEMURIS

Un microgamétocyte a été observé. Il s'agit d'un élément de grande taille, irrégulier, allongé, d'environ 12 μm de long sur 7 de large. L'hématie hôte reste encore visible sous forme d'une bande bordant l'un des côtés du parasite. Les éléments sanguins voisins, érythrocytes et polynucléaires, sont accolés au gamétocyte.

Le noyau est rouge, central, bien délimité, condensé en goutte d'eau. Le cytoplasme est gris bleu, ciel d'orage, avec des granulations de pigment réparties sur toute sa surface et deux ou trois mottes de pigment noir plus dense.

Discussion

Plasmodium coulangesi n. sp. est bien une nouvelle espèce plasmodiale de *Lemur macaco macaco* Linné, 1766. Il se différencie de toutes les autres espèces connues chez les Primates par le nombre faible (6) et fixe de mérozoïtes des schizontes mûrs.

Plasmodium sp. a déjà été observé et partiellement décrit par Garnham et Uilenberg (1975) sous le nom de *P. girardi*. Ces auteurs ont décrit comme espèce unique les formes trouvées chez deux Lémuriens différents, *L. m. macaco* et *L. j. fulvus* sans préciser chez quel hôte se trouvaient les stades décrits. Nous retrouvons des caractères communs entre nos observations et leur description comme par exemple les déformations caractéristiques de la cellule hôte, en « feuille de houx » ou en « oursin ». Cependant des différences importantes existent qui seront détail-

lées dans le prochain article. Elles ne peuvent s'expliquer, à notre avis, que si l'on admet que *Lemur fulvus* et *Lemur macaco* hébergent en fait des parasites différents qui n'avaient pas été séparés dans la description de Garnham et Uilenberg (1975).

Enfin, le macrogamétocyte isolé que nous avons rattaché à *P. lemuris* est très proche de ceux illustrés par Huff et Hoogstraal dans leur description de ce parasite.

Conclusion

Les expériences de splénectomie chez les Lémuriens sont pleines de surprises ; elles ont révélé (Buck et coll., 1952 ; Uilenberg, 1970 et nous-même) que les infections naturelles sont polyparasitaires et qu'il existe chez les Lémuriens une pluralité d'espèces insoupçonnée jusqu'à présent.

Celle-ci est vraisemblablement liée au fait que chaque espèce de Lémurien vit dans un biotope différent (Petter et coll., 1977) et nous nous attendons, lorsque nous poursuivrons l'inventaire des hôtes et de leurs parasites, à rencontrer de nouvelles espèces de *Plasmodium*.

RÉFÉRENCES

- BUCK G., COURDURIER J., QUESNEL J. J. : Sur deux nouveaux *Plasmodium* observés chez un Lémurien de Madagascar splénectomisé. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1952, 46, 1.
- COULANGES P., ZELLER H., PETTER J.-J. : Bactéries, virus, pathologie et pathologie expérimentale des lémuriens malgaches, bibliographie analytique. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1978, 47, 221-249.
- GARNHAM P. C. C., UILENBERG G. : Malaria parasites of Lemurs. *Ann. Parasitol. Hum Comp.*, 1975, 50, 409-418.
- HUFF C. G., HOOGSTRAAL H. : *Plasmodium lemuris* n. sp. from *Lemur collaris* E. Geoffroy. *J. Infect. Dis.*, 1963, 112, 233-236.
- PETTER J.-J., ALBIGNAC R., RUMPLER Y. : Mammifères lémuriens (Primates prosimiens) in *Faune de Madagascar*, ORSTOM, CNRS, 1977, 44, 513 p.
- RABETAFIKA L., FONTENILLE D., ALBIGNAC R., RAKOTOFIRINGA S., COULANGES P. : Contribution à l'étude du paludisme des lémuriens. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 1985, 52, 85-100.
- RAPPORT DE L'INSTITUT PASTEUR DE MADAGASCAR, 1988. Le Paludisme des lémuriens, 54, 2.
- UILENBERG G. : Quelques protozoaires parasites de Mammifères sauvages à Madagascar. *Ann. Parasitol. Hum Comp.*, 1970, 45, 183-194.
-

PLANCHE I. — Les Plasmodies de *Lemur macaco macaco*.

- 1 à 8 : *Plasmodium coulangesi* ; 1 : anneau ; 2-3 : schizontes à 6 noyaux, presque mûrs ; 4 : schizonte mûr, rompu dans le globule rouge ; 5-6 : macrogamétocytes ; 7-8 : microgamétocytes.
- 9 à 13 : *Plasmodium percygarnhami* ; 9 : schizonte à deux noyaux et pigment dans une vacuole ; 10 : schizonte immature à 6 noyaux ; 11 : schizonte mûr à 20 noyaux ; 12 : macrogamétocyte ; 13 : microgamétocyte.
- 14 à 20 : *Plasmodium bucki* ; 14 : anneau ; 15 : trophozoïte jeune avec tache satellite de type Maurer et globule rouge rosé ; 16 : jeune schizonte ; 17 : schizonte mûr à 34 noyaux ; 18 : jeune macrogamétocyte ; 19 : macrogamétocyte avec tache de Maurer périphérique ; 20 : microgamétocyte.
- 21 à 24 : (?) *Plasmodium lemuris* ; gamétocytes dans des hématies hypertrophiées et rosées
1 : jeune gamétocyte ; 2-3 : macrogamétocytes ; 4 : microgamétocyte.