



a 64424

OBSERVATIONS RECENTES SUR LA TRANSMISSION CYCLIQUE DU PLASMODIUM BERGHEI<sup>1</sup>

par

I. H. Vincke, J. Bafort et M. Scheepers-Biva,  
Institut de Médecine tropicale, Anvers, Belgique

La transmission cyclique de Plasmodium berghei a fait dans le passé l'objet de nombreuses tentatives qui furent en général décevantes. On parvenait à la formation d'oocystes, même en grand nombre dans l'estomac, mais on avait très rarement observé des sporozoïtes dans les glandes salivaires. Les résultats avaient toujours été obtenus à une température ambiante de 26°C. Un jour, Yoeli a songé à abaisser la température aux environs de 20°C et réussit ainsi à assurer la transmission cyclique du parasite. L'idée d'expérimenter à une température inférieure résultait d'observations faites au cours d'un voyage au Katanga et de mesures de la température dans le biotope de la galerie forestière de la rivière Kisanga. Après de longues recherches, Yoeli (1965) s'est arrêté à une température uniforme de 21°C. Nous savions depuis longtemps que ces températures existaient dans différents biotopes mais ces phénomènes ne nous avaient pas particulièrement frappés puisque nous avons découvert une large répartition de P. berghei dont nous avons isolé des souches en divers lieux, soit : (voir fig. 1)

- a) aux environs d'Elisabethville à 1200 m d'altitude et à environ 12° de latitude sud (Kisanga et Kasapa);
- b) à Kanzenze, près de Kolwezi, à peu près à la même altitude mais légèrement plus au nord;

<sup>1</sup> Ce travail a bénéficié d'une subvention de l'Organisation mondiale de la Santé.

- c) sur les plateaux de Kundelungu - même latitude que Kansenze mais à 1700 m d'altitude;
- d) à Sandoa - aux environs de 1000 m d'altitude - entre 9 et 10° de latitude sud. Des Anopheles durenii ont été trouvés positifs mais la souche n'a pas été étudiée;
- e) à Kamina - 1200 m d'altitude et 9° de latitude sud;
- f) à Kamena - sur le plateau des Muhila - à 7°26 de latitude sud et 1000 m d'altitude;
- g) dans des galeries forestières - à 1000 m d'altitude, entre 5 et 6° de latitude - légèrement au nord d'Alberville sur la route Alberville-Kabanbare.

Nous n'avons pas relevé les températures dans tous les endroits mais nous pouvons conclure raisonnablement que P. berghei est transmis sous différentes conditions climatiques.

La plupart des souches que nous avons récoltées n'ont pas été conservées ni toujours étudiées longuement, mais nous pensions qu'elles appartenaient à une seule et même espèce.

Les diverses souches récoltées au Katanga n'offraient aucune différence ni morphologique ni dans leur virulence pour les rats et souris albinos. Depuis lors, Landau (1965) a trouvé P. chabaudi, une espèce voisine de P. vinckei et une sous-espèce de P. berghei. Nous nous demandons donc maintenant si nous n'étions pas en présence d'espèces ou de sous-espèces différentes. A l'époque d'ailleurs nous l'avons signalé : "Also it could be relied upon to find for three different murine species of animals, several species of Plasmodia". (Vincke, 1954)

Nos essais de transmission cyclique ont porté uniquement sur des souches récoltées aux environs d'Elisabethville.

On s'étonne qu'il existe un lien si étroit entre la température et la transmission de P. berghei; nous savons en effet que P. vivax et P. falciparum se

transmettent depuis 15°C jusqu'au-delà de 30°C (Boyd, 1949; McDonald, 1957). Sans doute à l'origine, lorsque la forêt primaire existait encore, tous ces parasites étaient-ils les mêmes; mais la différenciation et l'isolement des biotopes a permis la formation des espèces ou sous-espèces, dont la transmission cyclique était liée plus étroitement à la température. Une opinion semblable a été émise par Yoeli (in litteris).

Le trait de lumière qui a inspiré Yoeli a déterminé une orientation nouvelle à nos recherches. Disons dès à présent que nous pouvons confirmer tous les résultats de cet auteur. Cependant, nous apportons ici quelques faits nouveaux et nous visons à donner une vue d'ensemble des résultats que nous avons obtenus depuis un an.

## 1. Hôte définitif

Nous avons employé deux souches dont l'une avait été isolée par Yoeli (1964) et que nous avons reçue lorsqu'elle était à son 9ème cycle. A l'aide de cette souche nous avons accompli 10 cycles. Dans la suite, nous avons utilisé une nouvelle souche isolée dans la Kasapa par Bafort le 7 mars 1965 (souche ANKA = Anvers-Kasapa). Cette souche est actuellement à son 11ème cycle accompli exclusivement par piqûres d'anophèles. Nous avons eu recours à plusieurs espèces de moustiques tous élevés, sauf exception, de la même façon et conservés jusqu'à leur utilisation dans un insectarium maintenu à 26°C. Les expériences de transmission cyclique ont été accomplies dans un insectarium dont la température oscillait entre 18 et 21°.

### 1.1 Anopheles quadrimaculatus

Cet anophèle est très réceptif à l'infection. Le nombre d'oocystes varie cependant beaucoup. Lorsque l'infection est encore faible (aux environs de 10 parasites par champ microscopique) on peut observer un nombre appréciable d'oocystes (1-50). Lorsque l'infection est un peu plus avancée on observe un bon nombre d'estomacs où les oocystes couvrent la totalité de la paroi : ces oocystes dégénèrent

en majorité. Plusieurs lots ont été suivis d'une manière continue. Ainsi, pour des lots infectés à environ 90 %, l'on trouve des oocystes apparemment sains et déjà en division vers le 10ème jour. Assez rapidement apparaissent des formes qui semblent dégénératives. Le protoplasme devient granuleux, vacuolaire, les coques se vident et les formes en voie de maturation paraissent subir une lyse. La paroi s'amincit, de telle sorte que certaines formes ressemblent à des artefacts. Cette dégénérescence se manifeste à plusieurs stades. C'est ainsi que l'on trouve des coques vides très petites. Le pourcentage de moustiques infectés diminue progressivement ainsi que le nombre d'oocystes. Finalement, les oocystes disparaissent et tout est négatif vers le 24ème jour. Cependant, l'on aperçoit des sporozoïtes libres lors de la dissection d'estomacs dès le 12ème jour. Nous n'avons jamais réussi d'infection avec ceux-ci. La présence de sporozoïtes libres s'observe jusqu'au 21ème jour et au-delà, et en injectant ces derniers nous sommes parvenus à infecter des hamsters. Le nombre de sporozoïtes est toujours très élevé. Nous avons remarqué qu'après l'absorption d'un seul repas, tous les sporozoïtes ne se développaient pas en même temps. La diminution des oocystes n'est pas due à un passage dans les glandes salivaires, puisque la ~~dissection simultanée de celles-ci~~ révèle un index sporozoïtique extrêmement faible ainsi qu'un très petit nombre de sporozoïtes. Il y a donc à la fois une dégénérescence des oocystes et une difficulté de passage des sporozoïtes viables dans les glandes salivaires.

Lorsque l'infection du rat est plus avancée, le nombre d'anophèles infectés ainsi que le nombre d'oocystes par estomac diminue rapidement et un peu plus tard tout oocyste a disparu.

A. quadrimaculatus est donc un mauvais vecteur, mais il est probable qu'il peut servir à maintenir l'évolution cyclique pendant un temps indéfini pourvu qu'on l'emploie en très grand nombre. Son extrême voracité compense, dans une certaine mesure, son faible pouvoir de transmission. Pour les expériences citées ci-dessus, seuls des hamsters de 40 g environ furent employés.

## 1.2 Anopheles stephensi

Lorsque l'on choisit bien les conditions de température et de stade de la maladie chez le rongeur, 90 à 100 % des anophèles présentent des glandes salivaires fortement infectées. Ce résultat est supérieur à ce que nous rencontrons habituellement pour P. gallinaceum. Nos taux d'infections dépassent nettement ceux obtenus par Yoeli. Les conditions optimales actuelles peuvent être énoncées comme suit :

- a) les animaux employés sont des hamsters d'environ 40 g;
- b) la température de l'insectarium oscille entre 18 et 21°C;
- c) le hamster doit être employé vers le 6ème jour après la piqûre infectante, soit vers le 3ème jour de la parasitémie : il présente à ce moment-là une douzaine de parasites par champ microscopique.

Pour obtenir ce taux élevé il faut, soit éliminer les anophèles qui ne se sont pas nourris, soit les nourrir pendant trois jours consécutifs.

A. stephensi a le désavantage d'être moins vorace que A. quadrimaculatus dans les conditions actuelles d'expérience et son taux de survie est légèrement plus faible. Cette difficulté peut être aisément surmontée lorsqu'on dispose d'un insectarium à grand rendement.

Dans le but d'affamer nos anophèles, nous les avons à plusieurs reprises (A. stephensi et A. quadrimaculatus) nourris pendant une nuit entière dans la chambre chaude. Les cages furent ensuite maintenues dans la chambre froide et les résultats furent tous négatifs. Vanderberg (1965) a obtenu des résultats semblables mais nous pouvons préciser qu'il suffit de maintenir les moustiques pendant quelques heures à 26°C. Il est donc possible sinon probable que la transmission est arrêtée au stade ookinète sous l'influence d'une température trop élevée. Jusqu'à présent, dans les conditions favorables décrites plus haut, nous avons pleinement réussi la transmission pour 23 lots.

Au sujet du stade de la maladie chez les rongeurs, les mêmes expériences que pour A. quadrimaculatus ont été entreprises avec les mêmes résultats.

A. stephensi devient infectant à partir du 12ème jour. Il est probable que ce temps

se raccourcira ultérieurement : en effet, nous avons observé des sporozoïtes dans les glandes déjà au 9ème jour. Comme le hamster présente des gamétocytes infectants vers le 3ème jour, cela nous amènerait à un intervalle d'incubation minimum de 15 jours.

### 1.3 Anopheles atroparvus

Cet anophèle est vorace. Il s'infecte assez facilement, peut-être moins bien que A. stephensi, mais les sporozoïtes sont aussi abondants dans les glandes salivaires. Sa longévité est nettement supérieure à celle des autres espèces essayées et de ce fait l'on peut infecter avec un lot déterminé plusieurs animaux pendant de longues semaines (jusqu'au 42ème jour).

### 1.4 Anopheles gambiae

Pour A. gambiae nous n'avons pas encore suffisamment d'expérience car nous avons éprouvé des difficultés dans l'élevage et jusqu'à présent cet anophèle s'est montré peu vorace.

Néanmoins, nous pouvons dire d'ores et déjà, qu'il a été trouvé porteur de très nombreux sporozoïtes dans la moitié des cas; mais le nombre des moustiques examinés est trop faible pour autoriser une conclusion.

### 1.5 Aedes aegypti

Nous avons voulu répéter les essais de Raffaele (1965), mais nous n'avons jusqu'à présent obtenu aucun résultat.

## 2. Hôte intermédiaire

### 2.1 Le hamster (Mesocricetus auratus)

L'élevage de l'Institut comprend un mélange de hamsters dorés, de hamsters albinos et d'hybrides. Nous avons utilisé indifféremment les uns et les autres. La

plupart de nos expériences ont été accomplies avec cet animal (30 à 50 g). Nous avons toujours obtenu d'excellents résultats, tant pour l'infection du rat que pour celle du moustique.

## 2.2 Le rat blanc

Les résultats ont été très irréguliers au début dans les deux sens (moustique-rat et rat-moustique). Des séries de rats infectés à plusieurs stades ont été présentés à A. stephensi, sans qu'aucun de ceux-ci n'ait pris l'infection. Mais il s'agissait d'animaux de poids incertain (environ 50 g et plus). Dans la suite, nous avons employé des animaux plus jeunes (environ 30 g) avec de meilleurs résultats. On éprouve cependant des difficultés à faire piquer A. stephensi et A. gambiae.

## 2.3 La souris blanche (souche NMRI)

Avec A. stephensi l'infection réussit régulièrement dans les deux sens. Ceci paraît en contradiction avec nos expériences d'il y a 15 ans. Nous éprouvions des difficultés à infecter la souris blanche. Mais il s'agissait d'injection de sporozoïtes. Sans doute la charge est-elle beaucoup plus élevée lorsque l'on fait piquer directement un nombre relativement grand d'anophèles. A. stephensi est plus attiré par la souris blanche que par le rat.

## 2.4 Le merion (Meriones shawi)

Cet animal est très prometteur et nous pensons qu'il sera en tout point comparable au hamster.

## 2.5 Cotton Rat (Sigmodon h. hispidus)

Le cotton rat est facile à infecter. La maladie reste bénigne et la parasitémie faible et de courte durée. Néanmoins, nous avons réussi la transmission cyclique avec ce rat.

## 2.6 Thamnomys surdaster

L'infection réussit dans les deux sens même avec des animaux très vieux. L'élevage n'est pas assez fourni pour que nous puissions nous livrer à de nombreuses expériences.

## 3. Discussion et conclusions

Plusieurs facteurs interviennent dans la transmission cyclique de P. berghei et sans doute en est-il de même pour les autres espèces.

L'espèce d'anophèle. L'on a vu qu'il y avait des facteurs intrinsèques. Une espèce comme A. quadrimaculatus peut être très réceptive tout en présentant une barrière entre la paroi stomacale et le stade final infectieux. D'autres espèces, comme A. atroparvus, acceptent moins facilement les oocystes mais présentent une évolution plus complète. Enfin, certaines espèces comme A. stephensi et A. gambiae s'infectent facilement avec une évolution complète.

Il nous semble que ce facteur intrinsèque a une importance pratique et qu'il n'en est pas assez tenu compte dans les programmes d'éradication du paludisme, spécialement dans les zones difficiles.

La température. Son rôle est évident. Il est probable que sous des climats différents la transmission s'accomplit à des températures différentes ce qui pourrait constituer un facteur de discrimination entre les espèces et sous-espèces.

Le nombre et l'état des gamétocytes. Il semble y avoir une divergence très nette entre la qualité et la quantité des gamétocytes. La meilleure transmission a lieu dans les stades précoces de l'infection du vertébré. D'après les observations décrites ailleurs les extraflagellations sont plus nombreuses plus tard alors que le degré d'infection du moustique est nettement moindre sinon nul. Ces aspects réclament des recherches ultérieures. Les préparations que nous avons conservées n'ont pas encore subi un examen approfondi et nous n'avons pas encore établi la formule parasitaire.

Le développement des oocystes. Nous avons pensé au début que chez A. quadrimaculatus l'énorme quantité d'oocystes était la cause d'une dégénérescence de ceux-ci. Cette idée s'est avérée fautive puisque nous avons observé la même dégénérescence lorsque les oocystes étaient plus rares.

L'âge et l'espèce de l'hôte vertébré. Il y a des différences nettes d'après l'âge et l'espèce de l'hôte vertébré employé.

#### RESUME

La transmission cyclique de P. berghei a été observée dans des conditions diverses. Nous considérons le problème comme entièrement résolu en ce qui concerne A. stephensi et le hamster.

Ces observations alimentent la recherche fondamentale et lui fournissent un certain nombre de questions nouvelles; mais nous attirons l'attention des chercheurs de science appliquée sur leurs implications pratiques, en particulier pour l'étude des antipaludiques nouveaux.

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions notre dévoué personnel et en particulier Mlle S. Weisz, M. A. Heirman, M. M. Olyslager et M. G. Timperman pour l'aide assidue et précieuse qu'ils nous ont apportée au cours du présent travail et de tous nos travaux.

SUMMARY

A series of trials were carried out on the cyclical transmission of Plasmodium berghei using as invertebrate hosts Anopheles quadrimaculatus, A. stephensi, A. atroparvus, A. gambiae and Aedes aegypti and as vertebrate hosts the hamster (Mesocricetus auratus), the white rat, the NMRI strain of white mouse, Meriones shawi, the cotton rat (Sigmodon h. hispidus) and Thamnomys surdaster.

Although the parasite developed in Anopheles quadrimaculatus it could not be passaged into the vertebrate host. In the case of A. atroparvus the cycle was completed with difficulty, but with A. stephensi and A. gambiae there were no difficulties in completing the cycle, though in the former there were problems of colonization of the vector. No passage was obtained with Aedes aegypti.

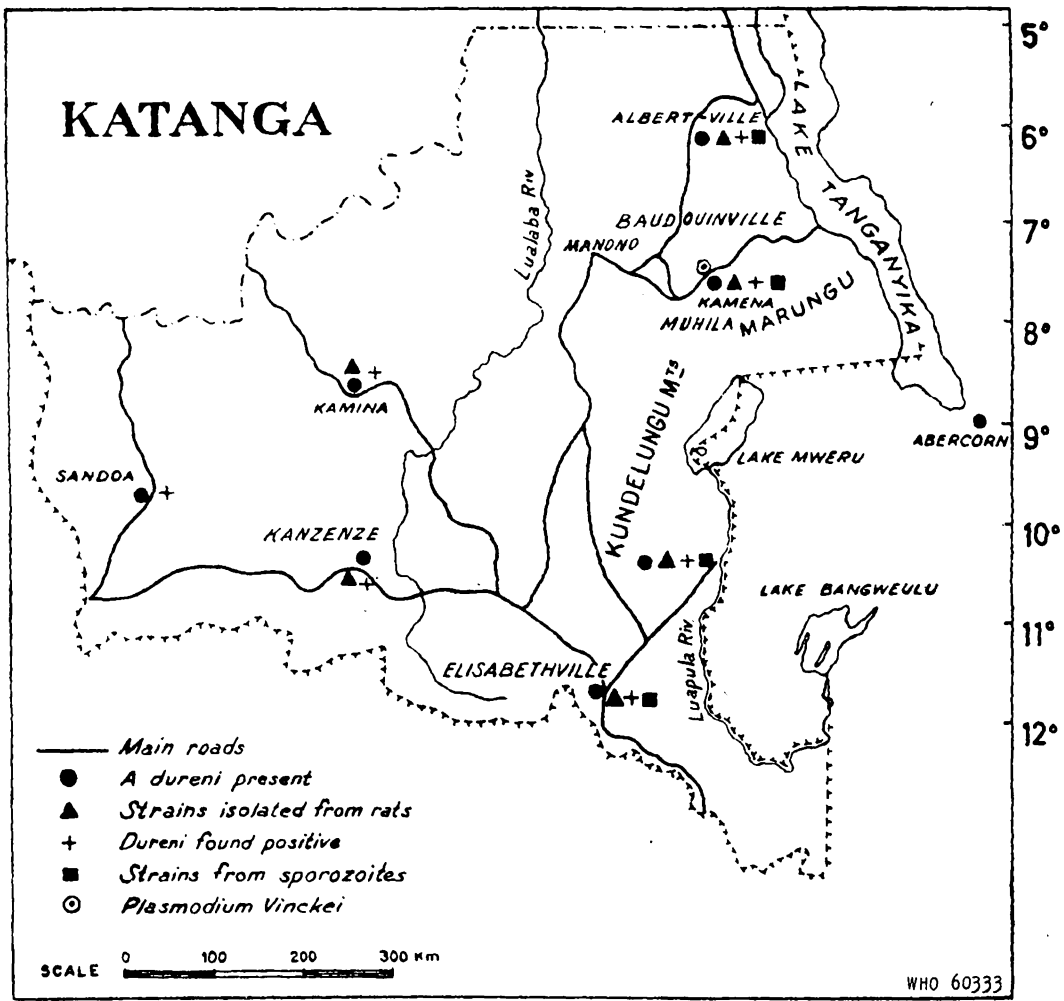
Hamsters of all types and Meriones were easily infected and became infective, as did the NMRI strain of white mice. In the case of white rats the results were inconclusive, and with the cotton rat, although a cyclical transmission was obtained, the parasitaemia was low and short-lasting.

The work of other authors in respect of the importance of temperature of the invertebrate host was confirmed and cyclical transmission has only been achieved in insectaria at temperatures between 18°C and 21°C.

It was considered that the most convenient and satisfactory host combination was Anopheles stephensi and hamsters.

BIBLIOGRAPHIE

- Boyd, M. (1949) *Malariology*, Saunders, Philadelphie
- Landau, I. (1965) C. R. Acad. Sc. Paris, 260, 3758
- Landau, I. & Chabaud, A. G. (1965) C. R. Acad. Sc. Paris, 261, 230
- MacDonald, G. (1957) *The Epidemiology and Control of Malaria*, Oxford University Press, London
- Raffaele, G. (1965) Riv. Malariol., 44, 1
- Vanderberg, J. & Yoeli, M. (1965) Ann. Soc. belge Méd. trop., 45, 3
- Vincke, I. H. (1964) Indian J. Malariol., 8, 245
- Vincke, I. H., Cheepers-Biva, M. & Bafort, J. (1965) Ann. Soc. belge Méd. trop., 45, 191
- Yoeli, M., Nawrot, R., Vanderberg, J. & Most, H. Amer. J. trop. Med. Hyg.  
(sous presse)
- Yoeli, M. (1965) Trans. Roy. Soc. Trop. Med., 59, 255



Le but des documents de la série WHO/Mal est le suivant :

- a) mettre le personnel de l'OMS, les instituts nationaux, les chercheurs et les travailleurs de la santé publique au courant de l'évolution des recherches sur le paludisme et des progrès de l'éradication du paludisme au moyen d'exposés succincts relatifs à quelques problèmes en cause;
- b) distribuer, aux catégories de lecteurs indiquées ci-dessus, les rapports d'opérations et autres communications qui présentent un intérêt particulier, mais qui ne sont pas normalement imprimés dans les publications de l'OMS;
- c) communiquer aux intéressés différents articles qui sont destinés à la publication mais qui, en raison de leur actualité, méritent d'être rapidement connus.

On notera que les résumés de travaux non publiés représentent souvent des rapports préliminaires d'investigations; les conclusions de ces travaux peuvent donc être sujettes à des révisions ultérieures.

La parution d'un article dans cette série ne constitue donc pas une publication officielle et un tel article peut donc, avec l'accord de l'auteur et de l'OMS, être publié dans un périodique de l'OMS ou ailleurs.

Les articles signés n'engagent que leurs auteurs. La mention des manufactures et des produits commerciaux n'implique pas que ces maisons ou leurs produits soient recommandés ou approuvés par l'Organisation mondiale de la Santé de préférence à d'autres.