

tants pour un deuxième exemplaire *Macaca fascicularis*.

Les gamétocytes sont présents dans le sang prélevé par moustique dès le jour 8, plus qu'ils n'étaient décelables chez le singe qu'à partir du 9^e jour. La gamétoctémie monte considérablement vers le jour 11 et atteint un pic de 38 gamétocytes par 10⁴ hématies le jour 13, tandis que chez le singe la gamétoctémie est plus de cinq fois plus basse. Cette discordance est surtout due à l'augmentation chez le moustique, des macrogamétocytes de type O. Ce pic correspond avec le maximum d'infectivité pour le moustique.

Le maximum de gamétoctémie (18 jours après la splénectomie) correspond paradoxalement à une

infectivité très faible pour le moustique (2, 1 moustiques infectés sur 10 ; $1 \pm 0,0$ oocystes).

Les faits rapportés précédemment pour *Plasmodium yoelii* semblent s'accomplir aussi chez *P. inui*. Cependant, tandis que, chez la première espèce, l'évolution morphologique la plus évidente est celle subie par le microgamétocyte, chez la deuxième, c'est le macrogamétocyte qui montre les modifications morphologiques les plus nettes. Chez *P. inui*, d'autre part, la « concentration » des formes fertiles dans l'intestin de l'Anophèle s'exerce presque exclusivement sur les macrogamétocytes.

Les gamétocytes de *P. inui* restent probablement infectants pendant 8 à 10 jours environ.

Observations sur la gamétoctogénèse de *Plasmodium falciparum* *in vitro*

J. LE BRAS*
D. THUILLIER*
J. F. TRAPE**

* Laboratoire de Parasitologie et Institut de Médecine et d'Épidémiologie Africaines, hôpital Claude-Bernard, 75019 Paris

** Laboratoire d'Entomologie Médicale, Services Scientifiques Centraux O.R.S.T.O.M., 93140 Bondy

Le comportement de 24 souches de *P. falciparum* a été observé *in vitro* pendant plusieurs semaines. Les échantillons de sang à l'origine de ces cultures ne comportaient que des trophozoïtes annulaires à l'exclusion de toute forme sexuée caractérisée.

12 souches ont présenté une gamétoctogénèse, soit dans les jours qui ont suivi la mise en culture, soit plus tardivement.

Le délai d'apparition des formes sexuées ne semble pas, pour les 20 souches africaines de cette étude, pouvoir être corrélé avec la région d'origine du *Plasmodium* infestant ; par contre, l'expérience palustre antérieure de l'hôte correspond 9 fois sur 11 à une production précoce de gamétocytes, alors que, dans 8 cas de primo-invasion chez des Européens, les gamétocytes ne sont pas apparus ou se sont formés au-delà de la première semaine de culture.

Pour 3 souches, le déclenchement de la gamétoctogénèse s'est assurément effectué *in vitro*, dans un cas après la 3^e semaine de culture. La sénescence de la lignée intraérythrocytaire asexuée ne peut donc pas être la seule cause de l'induction de la voie sexuée, le nombre de schizogonies entre l'accès de primo-invasion

et le début de la gamétoctogénèse variant de façon importante.

Un ou plusieurs facteurs déclenchants sont donc nécessaires pour entraîner la production des gamétocytes et l'on peut s'interroger sur la nature de la forme asexuée sensible à ces facteurs. Il est fréquent d'observer *in vitro* des hématies pluriparasitées renfermant 2 à 5 schizontes ou 2 à 4 gamétocytes immatures, mais un pluriparasitisme mixte n'est jamais rencontré. Les conditions de la culture sont probablement à l'origine de la fréquente pénétration simultanée de plusieurs mérozoïtes dans une hématie. Cette culture est effectuée en présence d'érythrocytes humains sédimentant en couche mince dans une boîte de Pétri. Dans ces conditions, les mérozoïtes restent groupés à leur libération et peuvent pénétrer en même temps dans une hématie proche. Cette hypothèse rend compte du développement simultané et synchrone soit de plusieurs schizontes soit de plusieurs gamétocytes selon que la rosace dont ils sont issus est asexuée ou sexuée. Le trophozoïte en maturation est donc probablement le stade sensible au(x) facteur(s) déclenchant la gamétoctogénèse et formera un schizonte soit sexué, soit

asexué. Le stade inductible n'est peut-être pas le même pour toutes les espèces, car, chez *Plasmodium vivax*, on observe parfois *in vivo* une rosace et un gamétocyte simultanément présents dans la même hématie.

La mise en observation d'une gamétocytogenèse synchrone déclenchée dès le début de la culture d'une souche de *P. falciparum* a permis de mesurer le délai de maturation des gamétocytes. Entre le premier stade différenciable de la lignée sexuée (stade II de la gamétocytogenèse) et la forme mûre en croissant (stade V), il s'écoule un délai minimum de 8 jours.

La maturité, évaluée par la capacité des gamétocytes mâles à ex-flageller, est obtenue au 13^e jour de l'évolution sexuée. Observée en microscopie à fond noir sur un échantillon de la culture placé entre lame et lamelle, l'ex-flagellation survient après 30 à 40 mn, temps nécessaire à l'alcalinisation spontanée de la préparation par départ du gaz carbonique dissous.

La poursuite du cycle plasmodial chez l'anophèle a été recherchée chez deux espèces, *A. gambiae* et *A. stephensi*, vectrices naturelles de *P. falciparum*. Pour chaque essai, 50 femelles à jeun de 3 à 7 jours sont mises en présence de l'échantillon de culture (1,4 ml) placé dans une chambre thermostatée à 38° C, et se gorgent à travers une peau de souris fraîchement sacrifiée. Les anophèles gorgés sont ensuite placés à 26° C dans un insectarium à 70 % d'humidité. La dissection, effectuée entre le 14^e et le 20^e jour suivant le repas infestant, permet d'observer un développement folliculaire variable avec une fois sur quatre la présence d'œufs. Dans une première série d'infestations portant sur 180 anophèles, il n'a pas été observé d'ocystes, ni de sporozoïtes.

Une des difficultés de l'essai de passage de souche

chez l'anophèle est le maintien en attente des gamétocytes parvenus à maturité, la maturation n'étant que rarement synchrone. Une fraction des gamétocytes mûrs s'active spontanément *in vitro* (circularisation), peut-être même lors des opérations de renouvellement de milieu. Cette sortie prématurée de quiescence des gamétocytes les rend alors non infestants.

Pour apprécier les facteurs susceptibles de moduler la production sexuée *in vitro*, il est nécessaire de mesurer le taux de conversion des formes asexuées. On peut, pour cela, estimer la proportion relative de gamétocytes de stade II dans une culture et de jeunes trophozoïtes non différenciés 2 jours plus tôt dans la même culture.

La production de gamétocytes est optimale en l'absence de renouvellement des hématies avec le milieu RPMI 1640 enrichi par addition de 50 % de sérum humain. Une production similaire peut cependant être obtenue avec un autre milieu (NCTC 135) ou avec un autre sérum (lapin). Le sérum de lapin permettant d'obtenir des gamètes mûrs, un facteur sérique humain n'est donc pas indispensable au développement de la voie sexuée.

A l'heure actuelle, aucun facteur déclenchant spécifique n'a pu être mis en évidence. Deux éventualités restent envisageables :

— simple commutation du cycle après un certain nombre de schizogonies sous la dépendance d'un facteur génétique dont l'expression pourrait être accélérée ou retardée en fonction des conditions d'environnement ;

— intervention d'un signal externe au parasite qui déclencherait la gamétocytogenèse à partir d'une forme asexuée.

Interactions hôte-parasite dans le cycle érythrocytaire des *Plasmodium*

L. PEREIRA DA SILVA

Unité de Parasitologie Expérimentale, Institut Pasteur, 28 rue du Docteur-Roux, 75725 Paris Cedex 15

La phagocytose est toujours envisagée comme un mécanisme central de défense des organismes animaux par l'ingestion et la destruction intracellulaire des agents pathogènes. On oublie souvent qu'elle fournit le moyen de pénétration chez les cellules d'une

série de parasites à habitat intracellulaire. C'est bien le cas particulier des plasmodies parmi les sporozoaires en général.

La localisation des plasmodies à l'intérieur des phagosomes pendant tout son cycle érythrocytaire est