



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Contribution à l'étude morphologique du trophozoïte de plasmodium Berghei, Vincke et Lips 1948 et surtout de son système vacuolaire

Raimond, Catherine

Award date:
1985

Awarding institution:
Universite de Namur

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



FACULTÉS UNIVERSITAIRES N.D. DE LA PAIX
NAMUR
FACULTÉ DES SCIENCES

CONTRIBUTION A L'ETUDE MORPHOLOGIQUE
DU TROPHOZOITE
DE PLASMODIUM BERGHEI , VINCKE ET LIPS , 1948
ET SURTOUT DE SON SYSTEME VACUOLAIRE .

Mémoire présenté pour l'obtention du grade
de Licencié en Sciences
biologiques
par

R A I M O N D C A T H E R I N E
1984-1985

REMERCIEMENTS.

Je désire adresser mes remerciements au docteur J.M. JADIN qui a accepté de promouvoir ce mémoire, et qui m'a guidée et conseillée dans la réalisation de celui-ci.

Je remercie le Professeur P. Devos qui m'a permis l'accès à son laboratoire.

Qu'il me soit permis d'exprimer également ma gratitude envers le Professeur R. Leloup, qui m'a accueillie dans le laboratoire interfacultaire de microscopie électronique, Madame Ch. Chapeau-Devignon, Monsieur Houbion pour leur disponibilité.

Je tiens à exprimer mes remerciements au Professeur M. Wéry de l'Institut de médecine tropicale d'Anvers pour ses judicieux conseils et pour la souche de Plasmodium qu'il a mise à ma disposition.

Un merci tout particulier à Mademoiselle M.C. Wilem pour sa collaboration et sa sympathie.

J'ai fortement apprécié l'aide précieuse de Monsieur Collet pour l'iconographie de ce mémoire.

Je remercie enfin tous ceux qui, à leur manière, ont participé à la réalisation, la rédaction et l'impression de ce travail.

PLAN DU MEMOIRE

INTRODUCTION

- . Généralités 3
- . Historique concernant le début de l'étude du cycle évolutif du Plasmodium chez les vertébrés 6
- . Résumé des données actuelles concernant le cycle de P. berghei 13
- . Morphologie de P. berghei :
 - 1.1 - Le mérozoïte 15
 - 1.2 - la différenciation en trophozoïte mononucléaire 18
 - 1.3 - le trophozoïte 19
 - 1.4 - le schizonte 31

CHAPITRE 1 BUT DU TRAVAIL 35

CHAPITRE 2 MATERIEL ET METHODES 36

- 2.1 - Le parasite
- 2.2 - L'hôte vertébré
- 2.3 - Le maintien de la souche
- 2.4 - L'étude de P. berghei en microscopie optique
- 2.5 - L'étude de P. berghei en microscopie électronique 37
 - 2.5.1 - à transmission
 - 2.5.2 - à balayage

CHAPITRE 3 RESULTATS 38

- 3.1 - Etude de la souche , caractérisation de la souche
 - 3.1.1 - Tableau de mortalité
 - 3.1.2 - Courbe de parasitémie
- 3.2 - Etude en microscopie photonique de P. berghei 41
- 3.3 - Etude en microscopie électronique de P. berghei 43
 - 3.3.1 - Etude sur coupes isolées de trophozoïtes
 - 3.3.2 - Etude sur coupes sériées de trophozoïtes 85
- 3.4 - Etude en microscopie électronique à balayage 88

CHAPITRE 4 DISCUSSION ET CONCLUSIONS 90

BIBLIOGRAPHIE I

Abréviations utilisées pour l'iconographie .

- B : bras cytoplasmiques
- C : corps multilamellaire
- CA : capillaire sanguin
- CO : corps osmiophile
- CR : corps résiduel
- G : appareil de Golgi
- M : micropyle
- Mi : mitochondrie
- M.int : membrane interne
- M.ext : membrane externe
- MR : micronème
- N : noyau
- O : oedème
- R : reticulum endoplasmique
- RH : rhoptries
- V : vacuole
- VE : vésicule à pigment
- H: cellule hôte
- P: parasite

NB: LE TRAIT PLACE EN DESSOUS DE CHAQUE MICROPHOTOGRAPHIE
REPRESENTE UNE DIMENSION DE 0,5 μ M

GENERALITES.

Le paludisme est sans doute encore aujourd'hui, l'un des fléaux les plus dévastateurs de l'humanité.

Dans certaines régions, particulièrement en Afrique tropicale, la malaria contribue grandement au très haut taux de mortalité parmi les jeunes enfants.

Bien que le chiffre exact soit inconnu, pour l'Afrique uniquement, l'organisation mondiale de la santé évalue à 1.000.000 le nombre d'enfants âgés de moins de 5 ans succombant à la malaria.

Ceux qui y échappent sont encore, adultes, des victimes potentielles de cette maladie, qui les affligent alors d'incapacité de travail pendant de longues périodes.

Des mesures générales d'hygiène, combinées à l'utilisation très répandue d'insecticides et d'agents thérapeutiques, ont permis une réduction de l'incidence de la malaria.

Néanmoins, cette maladie continue à décimer des populations de régions tropicales et subtropicales (FIG 1)

L'étude des plasmodiums est loin d'être terminée. C'est un domaine très vaste où de nombreuses inconnues subsistent tant en ce qui concerne la biochimie, la physiologie, la morphologie que la réponse aux divers anti-malariques utilisés actuellement.

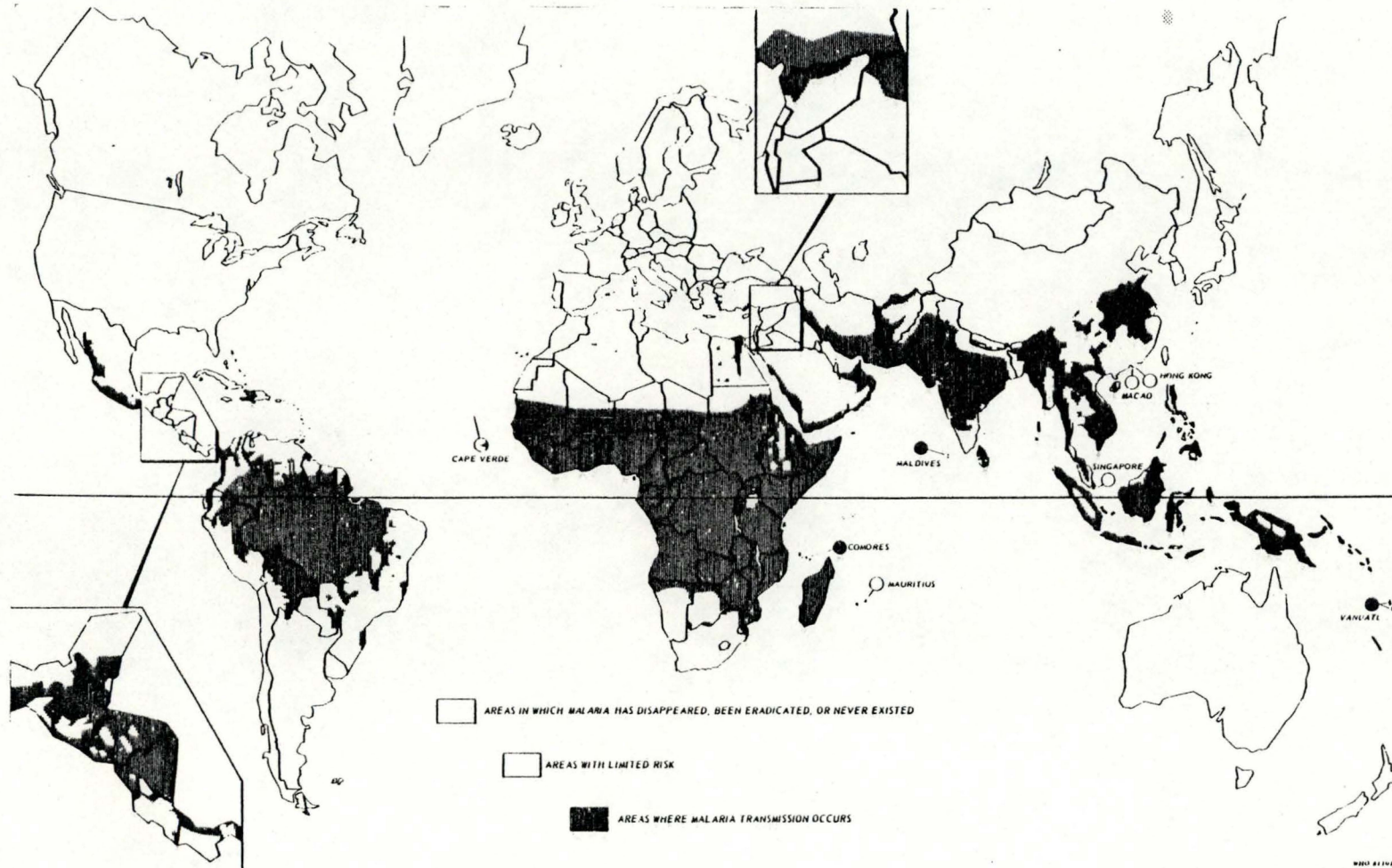
Vers les années 1960-1970, certains pensaient que la malaria serait éradiquée du monde dans les 10 à 20 ans à venir grâce à la chimiothérapie et la lutte anti-moustique.

En 1976, Trager réussit la première culture continue in vitro de P. falciparum. Certains envisageaient déjà la possibilité de vaccins anti-paludiques.

Cependant, dès 1965, on a découvert en Asie du Sud-Est et en Amérique latine des souches de P. falciparum résistantes aux 4 amino-quinoléines (dont la chloroquine anti malarique de synthèse très largement utilisée).

L'éradication du paludisme dans un avenir proche apparaît

FIG:1. Distribution of malaria in the world, 1980



OMS TDR/MAL/SC-SWG(80-83)/83.3

donc irréaliste, d'autant plus que le nombre de souches de plasmodium humain résistants aux nouveaux antipaludiques de synthèse, ne fait que croître.

Actuellement, la lutte contre la malaria porte sur :

- la lutte contre le vecteur dans les agglomérations;
- le dépistage et le traitement des porteurs de plasmodiums,
- la recherche de nouveaux antimalariques de synthèse, à longue durée d'action de type Méfloquine,
- la recherche de meilleures connaissances immunologiques pour obtenir une meilleure immuno-prophylaxie,
- des recherches en immuno-prophylaxie dans le but d'obtenir un bon vaccin.

Toute cette lutte ne peut se concevoir qu'en association avec des recherches sur le parasite lui-même.

Aussi, si nous pouvions contribuer ne serait-ce que dans une infime mesure, grâce à nos recherches, à mieux faire connaître la morphologie et le mode de vie de ce parasite, cela pourrait sans doute permettre de mieux le combattre.

Eric Vrielynck avait consacré en 1982-1983, son mémoire de licence en zoologie à l'étude en microscopie électronique de P. berghei. Nous avons repris certains aspects de ce travail en tentant d'apporter de nouvelles réponses à des questions incomplètement résolues à l'époque.

HISTORIQUE CONCERNANT LE DEBUT DE L'ETUDE DU CYCLE EVOLUTIF DU PLASMODIUM CHEZ LES VERTEBRES.

Après les très importantes découvertes de A. Laveran et de R. Ross ainsi que les travaux de B. Grassi, le cycle évolutif des plasmodiums chez leurs deux hôtes : l'invertébré et le vertébré, était en 1900 relativement bien connu à l'exception d'une seule phase.

Au début de ce siècle, le mystère persistait toujours en ce qui concerne le sort des sporozoïtes, entre le moment où ils sont inoculés par le moustique au vertébré, et le moment où les premiers parasites apparaissent dans les globules rouges.

- Que deviennent ces sporozoïtes (minces petits fils de 12 à 15 μm de long) pendant cette période d'incubation parasitaire d'une durée de quelques jours ?

- Comment ces très minces petits sporozoïtes peuvent-ils se transformer en anneau intraglobulaire d'environ 2 μm de diamètre ?

- Dès 1900, B. Grassi a émis l'avis que la transformation des sporozoïtes en trophozoïtes intraglobulaires (dont les noyaux ont des caractéristiques morphologiques déjà décelables par ces techniques cytologiques, très différent du noyau des sporozoïtes) n'est pas directe. Et sans en apporter de preuve, Grassi supposait comme évident l'existence d'un cycle évolutif des sporozoïtes pendant la période d'incubation parasitaire. Cependant, en 1902, F. Schaudinn, le grand cytologiste de réputation internationale avait décrit et dessiné la pénétration directe de sporozoïtes de plasmodium dans des globules rouges; il s'agissait de Plasmodium vivax.

"Magister dixit" : à la suite de cette affirmation d'un des plus grands zoologistes de l'époque, Grassi a abandonné son hypothèse concernant donc l'existence d'un cycle évolutif des sporozoïtes.

L'inhibition que Grassi a ressenti face à l'autorité écrasante de Schaudinn a eu pour effet de faire durer pendant plusieurs dizaines d'années l'énigme des premiers stades de développement des plasmodiums chez les vertébrés. Cependant une série d'observations se sont répétées qui ont mis chez les différents chercheurs qui se sont intéressés à ce problème, certains doutes quant à l'exactitude des observations de Schaudinn.

Ces différentes expériences ont été classées en 4 grands groupes d'après les auteurs qui se sont intéressés à l'historique de cette question et qui sont : L. Verney en 1938, C.G. Huff en 1947, P.C. Garnham en 1948, et E. Sargent en 1949.

1er Groupe d'expérience :

En 1921, Etienne et Edmond Sargent montrent que des sporozoïtes inoculés aux vertébrés ont une réaction très différente de celle des plasmodiums intraérythrocytaires quant à leur résistance à la quinine. Effectivement, ces sporozoïtes semblent tout-à-fait résistants à l'action de la quinine alors que les schizontes et les gamétocytes eux sont fortement sensibles à l'action de la quinine.

Ces travaux sont confirmés par ceux de W. Yorke et J. Macfie en 1924.

2e Groupe d'expérience en 1931 :

S.P. James fait les mêmes observations et soulève l'hypothèse que la quinine dont on connaît très bien à ce moment l'action contre les plasmodiums intraérythrocytaires, n'agit pas contre les formes parasitaires issues des sporozoïtes pendant la

période d'incubation malarienne parce que, pense-t-il, pendant cette période, ces plasmodiums seraient logés dans "les cellules des tissus".

3e Groupe d'expérience :

En 1934, M. Boyd et W. Stratman Thomas constatent que dans le cas de la malaria dite tierce bénigne, après la piqûre de moustique, le sang circulant n'est pas infectieux pendant l'incubation entre le moment de l'inoculation du parasite et le début de l'accès aigu.

En 1937, M. Siuca, L. Ballif, M. Chelaresco, M. Isanos et L. Glaser montrent qu'au cours d'une malariathérapie chez un paralytique général, dans le but d'implantations thérapeutiques de P.falciparum le sang qui est recueilli au cours des 5 premiers jours d'incubation après la piqûre infestante des moustiques, ne s'est pas montrée infectante chez des sujets sains et que ce n'est qu'à partir du 6e jour de l'incubation que ce sang devient infestant.

En 1935, un autre auteur, W. Kikuth montre qu'il y a une disparition rapide des sporozoïtes au point d'inoculation de ceux-ci.

En 1945, N.H. Fairley montre que dans le cas de P. falciparum et de P. vivax, la même constatation se répète.

4e Groupe d'expérience :

En fait, pendant 50 ans, de très nombreux chercheurs ont essayé de montrer la pénétration directe des sporozoïtes dans les globules rouges, ce que Schaudinn avait affirmé, et aucun des nombreux chercheurs qui ont essayé de répéter les expériences de Schaudinn n'y sont parvenus.

Il est vrai qu'à l'époque, les chercheurs avaient en fait très peu de modèles expérimentaux à leur disposition; la plupart des expériences étaient faites à partir de plasmodium d'oiseaux sauvages ou d'oiseaux domestiques.

Il n'y avait pas de possibilité d'expérimenter avec des plasmodiums humains. Aucune des 4 souches de plasmodiums humains n'étant dans des conditions expérimentales normales, transmissibles à un animal de laboratoire.

D'autre part, on ne connaissait pas à ce moment de plasmodium pathogène pour des vertébrés facilement utilisable en laboratoire.

Il faut cependant signaler qu'il y avait déjà eu, à l'époque, quelques rares travaux concernant des schizontes exoérythrocytaires. Ces travaux étaient faits à partir de plasmodium d'oiseaux.

C'est ainsi qu'en 1936, G. Raffaele observe que des schizontes exoérythrocytaires se retrouvent dans des organes internes et particulièrement dans le foie chez des moineaux italiens. Les schizontes qu'il observe mesurent de 18 à 20 μm de diamètre et peuvent contenir jusqu'à 40 noyaux.

Deux ans plus tard, en 1938, J. Rodhain décrit à Anvers, à l'Institut de Médecine Tropicale, des formes chez 1 souche de P. relictum provenant de pingouins malades au jardin zoologique d'Anvers, et il trouve des formes exoérythrocytaires dans "des cellules endothéliales, dans des monocytes, dans des hystiocytes du sang et dans des cellules à protoplasme vacuolaire".

En fait, ce n'est qu'en 1952 que les travaux remarquables d'I. Vincke de l'Institut Tropical d'Anvers ont permis de poursuivre une série de recherches excessivement importantes dans le domaine de la Malaria expérimentale et dans le

domaine de la chimiothérapie antipaludique. Ces travaux ont abouti à la découverte de deux espèces différentes de plasmodiums de rongeurs, ces travaux ont comme cadre la province du Shaba, anciennement la province du Katanga, au Zaïre.

Tout a commencé en 1937, lorsqu'à la tombée du jour, le 18 avril, le docteur A. Duren, se livrant à sa passion favorite : la pêche, capture sur lui un moustique un peu particulier qui sera par après reconnu comme étant une nouvelle espèce de moustique, que Edwards va décrire en le lui dédiant et en l'appelant Anopheles durenii.

Ce moustique ne pique pas l'homme mais est porteur d'ocystes et de sporozoïtes.

I. Vincke, de 1943 à 1948, va étudier particulièrement ce moustique, il est fort étonné de ne pas observer dans le tube digestif de ce moustique des globules rouges nucléés.

I. Vincke émet alors l'hypothèse que les plasmodiums qui se trouvent dans les globules rouges non nucléés présents dans ces moustiques doivent appartenir à des rongeurs ou à des insectivores, il va donc commencer l'examen systématique de tous les rongeurs qu'il peut rencontrer dans les galeries forestières.

De 1947 à 1949, il a examiné 358 rats, de ces rats seuls 2 Thamnomys seulement ont présenté des parasites abondants. Ces parasites constituaient la première souche de Plasmodium berghei qui fut isolée, elle a été transmise pour la première fois par Vincke à des souris blanches et à tous les rongeurs que Vincke a pu capturer à l'époque.

Rodhain va confirmer les observations de Vincke et va montrer que le plasmodium observé chez ces rongeurs est exactement le même que le plasmodium observé chez Anopheles durenii.

Ces travaux vont être présentés avec un succès très important au 4e congrès international de médecine tropicale et de malaria à Washington, en 1948.

En 1952, Vincke et ses collaborateurs trouvent chez un rat, un plasmodium qui lui n'est pas pathogène pour la souris mais bien pour le jeune rat de laboratoire.

Ce plasmodium est également transmis par A. durenii.

En fait, Vincke observait à ce moment-là, un nouveau type de plasmodium de rongeur, qui sera décrit sous le nom de Plasmodium vinckeia, depuis lors les 2 souches de Plasmodium berghei et Plasmodium vinckeia ont fait l'objet d'innombrables recherches en laboratoire. Mais très rapidement, un obstacle est apparu quant à la transmission cyclique de ce plasmodium.

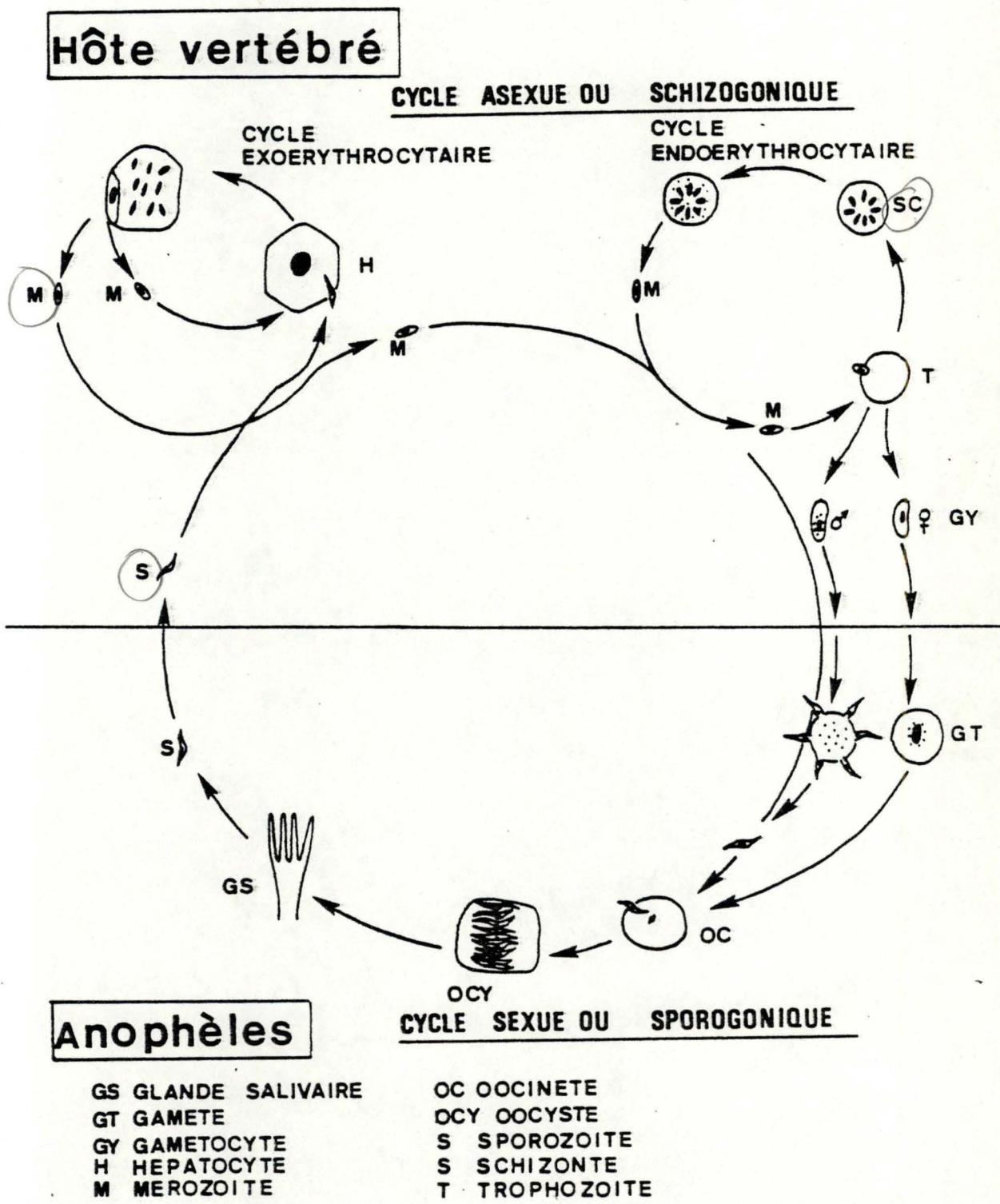
Effectivement, lorsqu'il y a de nombreuses transmissions du sang d'un animal infecté à un animal indemne, on observe plus l'apparition de gamétocytes (les souches ne sont plus capables d'extraflageller.)

En fait, le passage trop fréquent de la souche exalte le pouvoir pathogène de celle-ci.

Il fallait donc selon J. Jadin, M. Yoeli et G. Pierreux (en 1959) réduire le pouvoir pathogène de la souche et pour ce faire utiliser d'autres récepteurs.

Par exemple transmettre les plasmodiums à des jeunes hamsters ou à des jeunes Thamnomys, le faisant ces auteurs ont démontré que les gamétocytes sont susceptibles de donner des oocynètes qui deviendront des oocystes bourrés de sporozoïtes.

FIG:2.



RESUME DES DONNEES ACTUELLES CONCERNANT LE CYCLE DU
PLASMODIUM. (FIG 2)

Lorsqu'un moustique femelle prend un repas sanguin, des sporozoïtes parviennent dans le sang de l'hôte vertébré avec la salive du moustique.

Ils sont entraînés par le sang jusqu'au foie.

Ici commence leur multiplication asexuée, la schizogonie, dans les cellules du foie.

Le parasite croît dans ces cellules, se divise en un grand nombre de cellules filles ; les mérozoïtes.

Ceux-ci seront libérés lors de l'éclatement de la cellule du foie et pourront pénétrer soit dans une autre cellule du foie, soit dans des hématies du sang.

C'est pourquoi la schizogonie a lieu au début dans les cellules du foie seulement, mais plus tard également dans les hématies.

Lors de la désintégration des cellules, les mérozoïtes libérés attaquent d'autres hématies et se différencient en trophozoïtes, ensuite poursuivent ainsi leur schizogonie.

D'autres mérozoïtes encore pénètrent également dans les hématies, mais ils ne s'y divisent pas et forment des cellules reproductrices primordiales : macrogamétocytes, microgamétocytes.

A ce stade, les plasmodies ne peuvent poursuivre leur développement dans l'hôte vertébré.

Mais si un Anophèle pique cet hôte vertébré dont les globules sanguins renferment des cellules sexuelles parvenues à maturité, il peut alors s'en suivre un développement ultérieur.

Au cours de la piqûre, le sang passant par le canal de succion de la trompe piqueuse parvient immédiatement dans l'intestin moyen du moustique femelle.

Les formes évolutives asexuées des plasmodies qui ont été absorbées en même temps dégèrent rapidement et sont digérées. Les cellules sexuelles mûres, par contre, résistent

aux sucs digestifs de l'intestin du moustique et, dans les 10 à 20 premières minutes après l'absorption de sang, se transforment en cellules aptes à la fécondation.

Les cellules sexuelles femelles (macrogamétocytes) deviennent des "macrogamètes". Mais les cellules sexuelles mâles (microgamétocytes) donnent 4 à 8 petits "microgamètes" extrêmement mobiles.

Dans un délai de 20' à 2 heures après l'absorption de sang, la fécondation a lieu en général.

Environ 30' plus tard, la cellule fécondée qui au début est encore sphérique et sans mouvement, le zygote, se transforme en un corpuscule de forme allongée capable de se mouvoir, l'"occinète", dans lequel, au bout de quelques heures, les noyaux de gamètes fusionnent.

Environ 24 heures après l'absorption de sang, l'occinète commence à migrer vers la paroi intestinale à travers la cavité intestinale elle-même.

Il perfore le revêtement intestinal et pénètre, en se faufilant à travers les cellules de l'intestin, dans l'espace compris entre la muqueuse intestinale et la membrane élastique qui sépare la surface de l'intestin de la cavité du corps, là, il se transforme en oocyste.

Celui-ci croît peu à peu jusqu'à atteindre environ cent fois sa dimension primitive.

Au bout de plusieurs jours, elle éclate en libérant des milliers de cellules filles très mobiles, les sporozoïtes.

La quantité de sporozoïtes est énorme, et ils se meuvent indépendamment dans le liquide sanguin de l'insecte.

Si le moustique est gravement infesté les sporozoïtes pénètrent dans tous les organes.

Cependant, la majorité des sporozoïtes pénètre dans les glandes salivaires.

Ces sporozoïtes seront entraînés avec la salive hors des canaux salivaires et seront injectés directement à l'intérieur ou dans le voisinage d'un capillaire.

LA MORPHOLOGIE DE P. BERGHEI.

Le cycle asexuel dans le sang se produit en 22 à 25 heures, au terme desquelles la population parasitaire est asynchrone. Les réticulocytes et les cellules immatures rouges seraient préférentiellement infectés.

Quelles sont les différentes organelles rencontrées dans les différentes phases de la vie de ce parasite et quelles sont leurs fonctions respectives ?

1.1- Mérozoïte :

Il est de forme ovale, mesure $\pm 1,5 \mu\text{m}$ de longueur et $\pm 1 \mu\text{m}$ de diamètre.

Le mérozoïte est caractérisé par un noyau assez proéminent, des organelles cytoplasmiques et est entouré par une pellicule complexe. Voir schéma de la FIG: 3.3.1.55.

unsporeu fyc → selenia?

Détaillons ces quelques points :

- le noyau: est rond, situé au pôle inférieur du mérozoïte et est caractérisé par la présence de grandes quantités de matériel chromatique compact (cette caractéristique est observable chez toutes les espèces de plasmodiums de mammifères, de reptiles et d'oiseaux).

Cette hétérochromatine laisserait supposer que le noyau du mérozoïte serait plutôt inactif. L'hétérochromatine est décrite comme étant métaboliquement inerte (Fawcett 1966).

Quant à l'enveloppe nucléaire, elle est composée de 2 membranes dont l'externe est souvent garnie de ribosomes.

La distance entre ces deux membranes a été décrite dans la littérature par Rudzinska et Trager (1968) comme étant de $100 \mu\text{m}$

Des pores nucléaires ont été observés le long de l'enveloppe nucléaire.

- les organites cytoplasmiques : comprennent le "conoïde", des micronèmes, des rhoptries, un corps sphérique, des mitochondries, des ribosomes et du réticulum endoplasmique. La partie antérieure du mérozoïte a une forme de cône tronqué au bout duquel se retrouve deux ou trois anneaux apicaux appelé le "conoïde" par Hepler et al. (1966) et Aikawa (1966).

C'est Ladda, en 1969, qui confirme que le conoïde est bien la partie antérieure de ce mérozoïte, en étudiant la pénétration des mérozoïtes dans les cellules hôtes.

D'après ses observations, le mérozoïte pénétrerait par pression du conoïde contre la membrane de la cellule hôte, jusqu'à ce que le parasite soit complètement entouré par celle-ci.

Les micronèmes et les rhoptries sont situés dans la partie antérieure du mérozoïte et désignent pour les premiers : des petites formes rondes, opaques aux électrons précédemment appelés "dense bodies", pour les seconds : des plus grands corps en forme de poire, denses aux électrons, précédemment appelés "Paired organelles".

Quant à la fonction de ces structures, il semblerait que, comme les conoïdes, elles joueraient un rôle lors de la pénétration du parasite dans les cellules.

Une telle hypothèse est suggérée du fait que dès qu'ils pénètrent dans un globule rouge, ces éléments disparaissent (Aikawa 1970).

C'est sur cette base qu'en 1978, Aikawa étudie par microscopie électronique la pénétration du mérozoïte dans le globule rouge. Il en déduit que les rhoptries et les micronèmes initieraient l'invagination de la membrane de la cellule hôte et participeraient à l'invagination du plasmalemme de cette même cellule.

Des études histochimiques permettent de confirmer cette hypothèse. En effet, elles mettent en évidence la présence de protéines et d'hydrates de carbones dans les structures. Or, des expériences faites in vitro ont permis de montrer que de telles protéines causent des invaginations de membranes érythrocytaires.

Des mitochondries sont visibles dans la portion postérieure des mérozoïtes.

Elles sont composées d'une double membrane dont l'interne se replie et forme des crêtes; des études cytochimiques montrent qu'il y a activité de la déshydrogénase succinique et donc suggèrent que le parasite utilise le cycle de Krebs. (Howels et al., 1969).

Près de cette mitochondrie se trouve toujours un corps sphérique; il semblerait que celui-ci aurait une fonction de réservoir énergétique (Aikawa 1966).

Les ribosomes sont abondants dans le cytoplasme du mérozoïte.

- le complexe entourant le mérozoïte: est composé de 3 couches;

- 1) Une membrane externe fine de 7,5 nm (Aikawa 1967). Celle-ci est recouverte par une couche superficielle de 20 nm tant que le mérozoïte est en dehors de la cellule-hôte, mais n'est pas présente pour le mérozoïte dérivé de schizontes à l'intérieur des globules rouges.

Cette couche est dense aux électrons, compacte, fibrillaire et de nature protéinique (Miller et al. 1975).

Il semble que cette couche est formée ou tout du moins se densifie lorsque le mérozoïte est en contact avec le cytoplasme des cellules-hôtes (Aikawa 1970)

La fonction exacte de ce manteau n'est pas connue, il semblerait qu'il jouerait un rôle dans la réponse parasitaire aux réactions immunitaires de l'hôte. (Miller et al. 1975 Brooks et Kreier 1978).

- 2) une membrane interne fenestrée de 15 nm (Aikawa 1967) qui semble couvrir la surface entière du mérozoïte excepté la région antérieure de celui-ci. Cette membrane aurait un rôle de cytosquelette apportant une certaine rigidité au mérozoïte (Aikawa 1970).
- 3) une rangée de microtubules qui n'entoure pas l'entière-
té de la surface du mérozoïte érythrocytaire et qui assurerait une fonction de motilité chez le mérozoïte libre. (Aikawa 1966, 1967; Baker 1970; Hepler 1966).

1.2- Différenciation en un trophozoïte mononucléaire :

La pénétration du mérozoïte de P. berghei et de P. gallinaceum dans l'érythrocyte est décrite par Ladda et al.(1969) et l'étude morphologique détaillée de la pénétration de P. knowlesi est décrite par Aikawa et al.(1978).

De leurs observations, que peut-on affirmer ?

L'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes implique un nombre d'étapes distinctes.

Elles comprennent :

- 1) la reconnaissance et l'attachement du mérozoïte à la membrane érythrocytaire,
- 2) l'invagination de la membrane érythrocytaire autour du mérozoïte pour former une vacuole parasitophore,
- 3) la fermeture de la vacuole parasitophore après invasion du mérozoïte.

Aussitôt que le mérozoïte a pénétré le globule rouge, il se différencie de la façon suivante :

- . un arrondissement de la forme causée vraisemblablement par la perte de la membrane interne fenestrée,
- . il y a fonte des microtubules.

De plus, nous observons la perte : du conoïde, des rhoptries, et des micronèmes.

1.3- Le trophozoïte :

- Le trophozoïte a une forme irrégulière comparable à celle d'une amibe avec productions d'extensions et d'invaginations du cytoplasme, donnant lieu à des formes comparables à des anneaux.

- 1) - Les trophozoïtes du plasmodium en général sont limités par deux membranes unitaires selon Robertson.

La membrane interne est une membrane plasmique classique et la membrane externe provient de la vacuole parasitophore de la cellule-hôte (Ladda et al.1969).

En outre, en 1977, Langreth, par étude cytochimique en microscopie électronique des interactions membranaires hôte-parasite dans le paludisme, décèle chez P. lophurae la présence d'une activité d'adénosine triphosphatase à la surface interne de la membrane du stroma érythrocytaire et de la membrane parasitaire externe.

Elle constate également la présence de NADH-oxydase à la surface interne de la membrane érythrocytaire et de la membrane parasitaire externe.

La position respective des deux enzymes sur la membrane externe du parasite est l'inverse de ce que l'on aurait pu prévoir si cette membrane n'était qu'une membrane érythrocytaire invaginée.

Elle en conclu que la membrane externe, bien qu'elle provienne de la membrane érythrocytaire, a été modifiée par son association avec le parasite.

Dans le but de mieux connaître la nature des interactions membranaires entre le P. berghei et sa cellule-hôte, il serait intéressant de reproduire de telles expériences.

- 2) Le cytoplasme renferme un reticulum endoplasmique lisse et rare (Ladda R., Arnold J. et Martin C., 1966; Aikawa, 1979). Le cytoplasme est donc peu dense aux électrons.

- 3) - Les mitochondries : sont présentes dans les trophozoïtes érythrocytaires des parasites malariques d'oiseaux et de reptiles, celles-ci sont typiques des protozoaires. (Aikawa 1966; Aikawa et al. 1967; Aikawa et Jordon 1968; Huff 1969; Meszoely et Bahr 1970; Ristic et Kreier 1964; Rudzinska et Trager 1957; 1961; Rudzinska et Vickerman 1968).

Les parasites malariques de mammifères ne possèdent pas de vraie mitochondrie.

A leur place, ils contiennent une structure limitée par une double membrane, qui est considérée être l'équivalent d'une mitochondrie (Aikawa et al. 1966 b, 1969 a; Blackburn et Vinijchaikul 1970; Ladda 1969; Rudzinska et Trager 1968; Rudzinska et Vickerman 1968).

Cette structure ne possède pas les crêtes microtubulaires typiques trouvées chez les plasmodiums d'oiseaux et de reptiles excepté dans de rares occasions.

A la place, elle contiennent un matériel granuleux dispersé dans leur matrice (Aikawa 1971).

Blackburn et Vinijchaikul en 1970 observent chez P. berghei une structure limitée par une double membrane (dont l'interne s'invagine occasionnellement en formant des crêtes), qu'ils appellent "mitochondriôme".

4) - La structure multilamellaire :

Encore aujourd'hui de nombreuses controverses existent à propos de cette structure multilamellaire.

Cette organelle est décrite en 1958, 1965 pour les premières fois par Rudzinska et Trager.

En effet, ils observent une structure formée de membrane lisse, s'organisant de façon concentrique, et s'associant aux composants de la membrane des trophozoïtes.

Ils attribuent à celle-ci une fonction mitochondriale et même l'identifie comme étant une structure analogue aux mésosomes présents dans les cellules bactériennes.

En 1968, Theakston; Fletcher; et Maegraith, décrivent ce même genre de structure chez P. vinckei : (plasmodium de rongeur très semblable au P. berghei.)

Ils l'observe fréquemment attachée à la membrane limitante du trophozoïte, mais aussi à la membrane de la vacuole de nourriture, à la membrane nucléaire et même occasionnellement au Reticulum endoplasmique lors du stade préschizonte.

Finalement, il semble que cet organe serait soit attaché à la membrane unitaire interne du parasite, soit serait une invagination des 2 membranes unitaires dans le cytoplasme du trophozoïte (Theakston, Fletcher, Maegraith, 1968).

Elle apparaît quelque fois libre dans le cytoplasme, provenant sans doute du fait que l'attachement à la membrane est maintenu en dehors du plan de section.

Il est possible d'après Theakston, Fletcher et Maegraith que cette organelle puisse avoir comme fonction : soit celle permettant la prolifération des membranes, soit celle d'une mitochondrie, soit celle d'un type de Golgi, indispensable au transport à l'intérieur du parasite.

En 1968, Jadin, Creemers et Le Ray suggèrent une autre interprétation : ce corps serait le résidu de la vacuole alimentaire. Au cours de la digestion, le contenu de la vacuole alimentaire se répartit entre les phagosomes. Cette vacuole vidée ne serait pas rejetée ni même assimilée mais stockée comme le sont les déchets d'hémoglobine. La paroi de cette vacuole ainsi vidée se replie, offrant l'image d'une vacuole multimembranaire.

Howells en 1969, indique une éventuelle présence de cytochrome oxydase, décelée par étude cytochimique, dans la structure à double membrane concentrique aussi bien que le long de la membrane plasmique, cela lui permet de spéculer que ce corps pourrait être l'équivalent d'une mitochondrie. Cependant, en 1970, Blackburn et Vinijchaikul repoussent cette éventualité et considèrent que cette structure semblable à de la myéline devrait être très probablement un artéfact de fixation. Pourquoi le parasite comporterait-il deux structures dissemblables ayant même fonction ?

En effet, le parasite comporte bien, en plus de cette organelle multilamellaire, une structure mitochondriale contenant même occasionnellement des crêtes tubulaires.

En outre, la proximité de cette structure vis-à-vis d'une mitochondrie suggère une autre hypothèse provenant d'Aikawa 1966.

En effet, les mitochondries sont connues pour être localisées près d'une réserve de substrat facilement disponible.

Il en découlerait que cette structure multilamellaire pourrait jouer le rôle de réservoir énergétique pour la mitochondrie.

5) Appareil de Golgi :

Cette structure est très rarement mentionnée par les auteurs excepté dans le cadre de descriptions de la vacuole multilamellaire.

6) Noyau :

Le noyau dont la forme est ronde ou ovale a été particulièrement bien étudié par AIKAWA (1970).

7) Le micropyle :

C'est un épaissement annulaire de la paroi cellulaire en un point privilégié où se localiseraient des processus d'ingestion.

Son rôle éventuel sera étudié lors de l'étude de ce processus.

8) La vacuole nutritive :

Cette vacuole de grande dimension localisée classiquement au milieu du plasmodium sera revue en détail dans le paragraphe relatif au processus d'ingestion.

9) - Vésicules à pigment :

En 1965, Rudzinska, Trager et Bray, après observation de coupes isolées, montrent, dans le cytoplasme du plasmodium l'existence de vésicules contenant du pigment. Ils le considèrent comme le résidu de la digestion de l'hémoglobine. Et en s'appuyant sur le fait que certaines vésicules semblent encore contenir du stroma érythrocytaire associé à des structures cristallines imparfaites, ces auteurs proposent deux modèles de digestion chez les plasmodiums;

. le premier, auquel appartiennent P. falciparum et P. lophurae, pour lesquels l'HEMOZOÏNE (résidus de la digestion de l'Hémoglobine) s'accumule dans la vacuole nutritive,

. le deuxième, auquel appartiennent P. vivax, P. ovale, P. gonderi, et P. coatneyi, pour lesquels la digestion prenait place dans de petites vésicules d'endocytose provenant de vacuoles nutritives,

Le P. berghei appartient au deuxième modèle, en effet l'hémozoïne est absente des vacuoles nutritives, mais présente dans les petites vésicules baignant dans le cytoplasme parasitaire.

Très tôt, dans la période de croissance du trophozoïte, des petites vésicules contenant des granules de pigment denses aux électrons, sont trouvés autour des vacuoles nutritives. Dans des formes plus matures, les vésicules sont aussi trouvées en périphérie du trophozoïte et quelquefois, certaines vésicules ont leur membrane limitante en contact intime avec le plasmalemma du trophozoïte.

Dans les trophozoïtes plus âgés, juste avant la division, les pigments sont dispersés dans le cytoplasme (Theakston, Fletcher, Mægraith 1968 et Blackburn, Vinijchaikul 1970)

Les vésicules sont limitées par une simple membrane, cependant occasionnellement des vésicules montreraient des traces de double membrane.

Certains auteurs ont proposé ces vésicules comme l'organite dans lequel s'effectue la PROTEOLYSE de l'Hémoglobine.

La localisation des enzymes protéolytiques pouvait apporter une indication concernant la dégradation de l'Hémoglobine.

Slomianny et al. 1983, ont localisé chez P. chabaudi l'aminopeptidase.

Ils constatent un marquage au niveau des ribosomes, (confirmant l'origine parasitaire de l'enzyme) et au niveau des vésicules d'endocytose.

Ces mêmes auteurs ont également révélé de la même manière l'endoarylamidase.

Ils concluent à une intervention de l'enzyme dans le mécanisme de dégradation.

Cependant, une question surgit à nouveau; comment les enzymes protéolytiques ont pu gagner ces vésicules ?

Existe-t-il chez le plasmodium, des structures de type lysosomal ?

L'ambiguïté persiste toujours quant à l'existence de lysosomes chez Plasmodium.

En effet, en 1968, Theakston et al. et, en 1971, Aikawa et Thompson localisent l'enzyme marqueur des lysosomes : la phosphatase acide, au niveau du réticulum endoplasmique ainsi qu'au niveau des vacuoles nutritives chez P. berghei et P. gallinaceum.

En 1972, Scorza et al. infirment cette hypothèse mais détectent à la place une ARYL-SULFATASE, un autre enzyme lysosomal, auquel ils attribuent une origine érythrocytaire.

10) Processus d'ingestion

Le trophozoïte est un stade de développement intracellulaire. Ce stade est remarquable par le fait que le trophozoïte poursuit sa croissance aux dépens du cytoplasme de la cellule-hôte dont il ingère une portion.

De quelle manière le trophozoïte du P. berghei se nourrit-il ?

Aujourd'hui encore le procédé de nutrition est sujet à de grandes polémiques.

Aussi rappelons quels sont les différents moyens d'ingestion décrits dans la littérature (P. Charet et al. 1984)

- 1) endocytose avec formation de phagosome ou théorie de la phagotrophie,
- 2) Endocytose micropyle - dépendante,
- 3) Théorie de la micropinocytose centrale,
- 4) Théorie de l'endocytose facilitée par un système vacuolaire complexe.

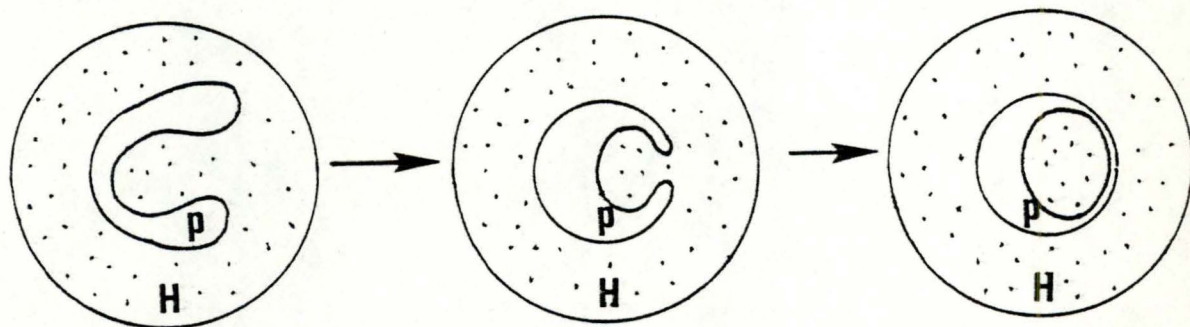
1. Endocytose avec formation de phagosome ou théorie de la phagotrophie.

En 1956, Fulton et Flewett montrent que les trophozoïtes envacuolisent de larges portions de stroma érythrocytaire.

En 1957, Rudzinska et Trager appliquent le terme de "phagotrophie" à ce type d'endocytose.

Phagotrophie qu'ils définissent comme étant l'invagination progressive du cytoplasme de la cellule hôte par le parasite, conduisant finalement à la formation de vacuoles nutritives. (FIG 3) Celles-ci ont une matrice aussi dense que le cytoplasme de l'hôte.

Critique : Ces observations sont fondées uniquement sur l'étude de coupes isolées de ces plasmodiums.



(FIG. 3)

2. Endocytose micropyle-dépendante :

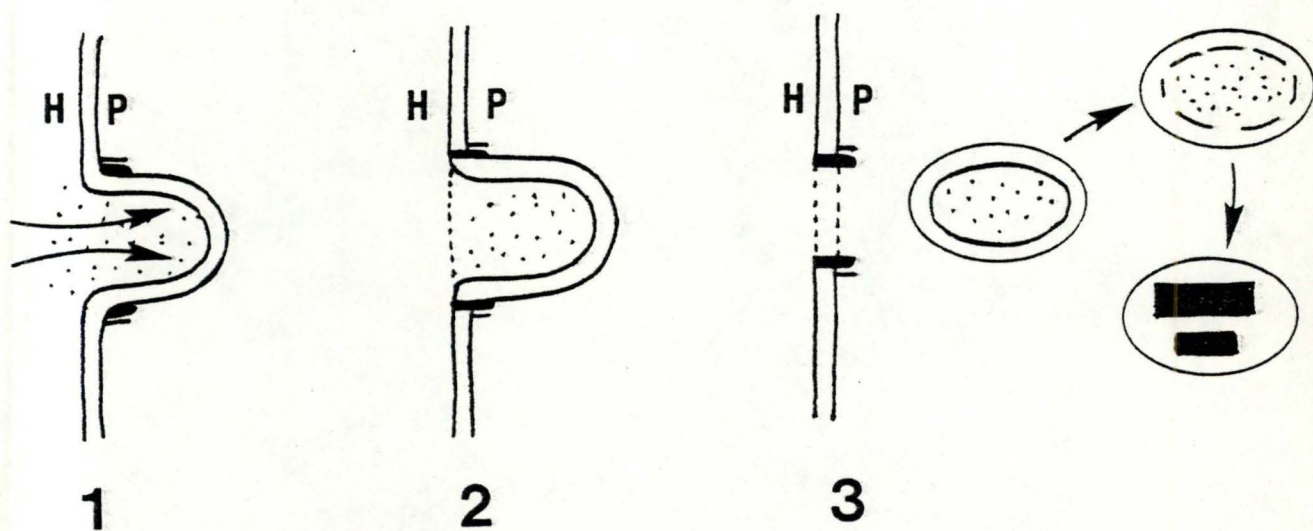
En 1966, Aikawa puis en 1968 Rudzinska et Trager émettent une nouvelle hypothèse basée cette fois sur l'observation du MICROPYLE (1).

Cette structure de forme annulaire provenant d'une différenciation du plasmalemme parasitaire jouerait, selon ces auteurs, un rôle de CYTOSTOME, et c'est par lui que transiterait une portion du cytoplasme de la cellule-hôte;

Comment cette structure annulaire est-elle capable d'ingérer du cytoplasme de la cellule-hôte ? (FIG. 4.)

Le mécanisme exact n'est pas encore clairement établi. Ils expliquent cependant, qu'il y aurait protrusion du cytoplasme de la cellule-hôte dans le cytostome créant ainsi une petite vacuole de diamètre identique à l'orifice cytostomal (1), aussitôt après sa formation, l'orifice est scellé par une membrane (2). Le phénomène peut se poursuivre, la vacuole se détache du micropyle et migre dans le cytoplasme permettant de cette façon la création de plusieurs vacuoles. (3).

Critique : ces observations sont fondées uniquement sur l'étude de coupes isolées de ces plasmodiums.



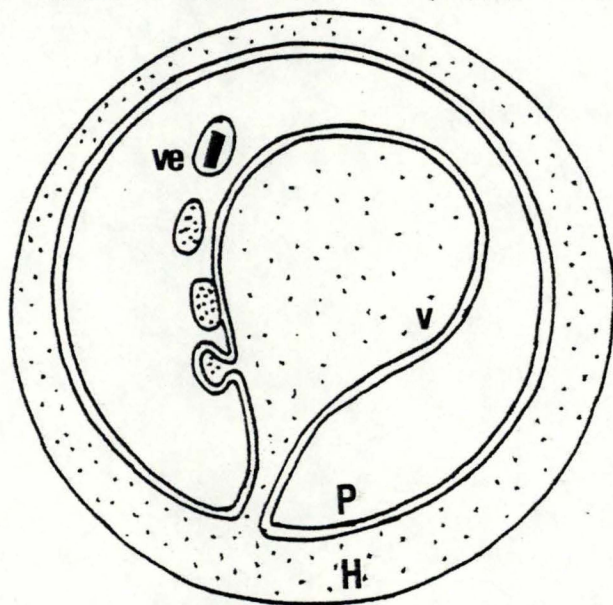
(FIG. 4)

Remarquons que le micropyle a été décrit chez d'autres sporozoaires (Garnham, 1960, 1962; Vivier et al., 1964; Cheissin et al. 1965).

Depuis 1966, cette structure est observée chez de nombreuses espèces de plasmodium (Howels et al. 1968; Scholtysech et 1970; Vivier et al. 1970; Porchet et al. 1971; Sinden et Garnham 1973; Langreth, 1976; Sinden, 1978).

3. Théorie de la micropinocytose centrale.

Un autre mécanisme de nutrition est proposé par Rudzinska en 1957 chez P. lophurae = la micropinocytose. Un mécanisme présentant le pincement de petites vésicules sur le pourtour de la vacuole nutritive. (FIG. 5)



(FIG. 5.)

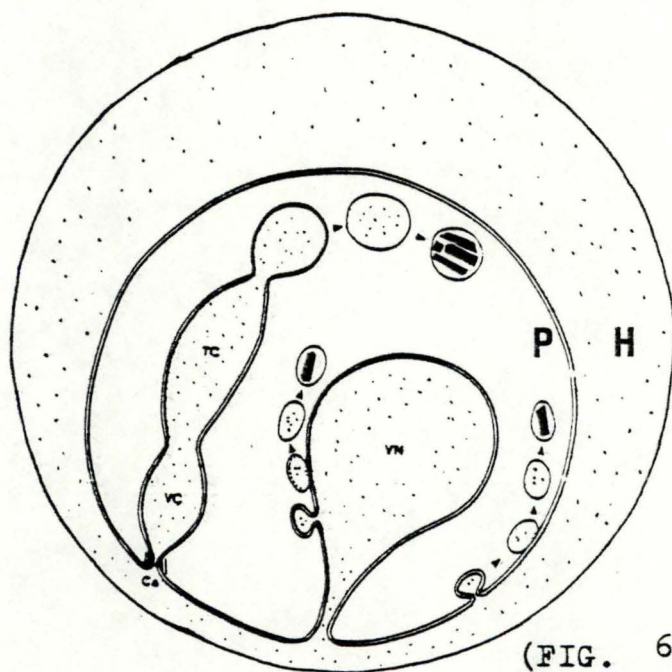
Critique : ces observations sont fondées uniquement sur l'étude de coupes isolées de ces plasmodiums.

4. Théorie de l'endocytose facilitée par un système vacuolaire complexe.

En 1982, Slomianny et Prensier à l'aide de coupes sériées suivies de reconstitutions tridimensionnelles, étudient l'ensemble du système vacuolaire des trophozoïtes de P. Chabaudi. Ils confirment les observations antérieures et précisent même qu'elles peuvent exister simultanément. Ils montrent que les grandes vacuoles nutritives ne sont jamais fermées. Selon eux, ces invaginations ont l'avantage d'augmenter fortement la surface de contact donc les possibilités d'échanges entre le parasite et le cytoplasme de la cellule-hôte.

Ils avancent l'hypothèse, sans le prouver, que les petites vésicules observées soit en périphérie du parasite, soit autour de la grande vacuole sont en fait des composants du système LYSOSOMIAL et qu'à ces endroits, l'endocytose se fait de façon classique.

D'autre part, ils donnent au micropyle la valeur d'un cytotome qui se prolongerait par un tube contourné parfois ramifié, et ce tube, ils l'ont appelé le tube cytotomal. (FIG. 6.)



(FIG. 6.)

Mais ils observent aussi, que le micropyle (cytostome selon eux) est une structure très provisoire qui ne serait formée et n'interviendrait qu'au début de l'invagination.

Selon leurs travaux, la micropinocytose périphérique serait prépondérante chez le trophozoïte jeune et deviendrait rare chez le trophozoïte âgé où il serait progressivement remplacé par un système CYTOSTOMAL de plus en plus fonctionnel.

1.4- Le schizonte :

La prolifération du réticulum endoplasmique dans le trophozoïte mature et dans la phase précoce du schizonte suggère l'augmentation de l'activité métabolique avant et durant la division, sans doute dû à l'utilisation de nourriture accumulée durant la phase trophozoïte à des fins de division et pour la formation du mérozoïte (Theakston, Fletcher, Maegraith 1968).

Le schizonte est généralement défini comme un parasite possédant plus d'un noyau.

Il est plus grand que le mérozoïte et même que le trophozoïte. Les 2 événements majeurs visibles durant la schizogonie sont ; la division nucléaire et la différenciation des organelles cytoplasmiques.

1) la division nucléaire :

Elle est accompagnée de changements morphologiques considérables.

Un des premiers changements est l'apparition d'un fuseau de fibres dans le noyau dans lequel se trouve une région opaque aux électrons localisée sur la membrane nucléaire.

Cette région opaque est interprétée comme étant une plaque centriolaire.

A chaque extrémité du fuseau se dressent des structures, denses aux électrons, pairées. Celles-ci sont des courtes barres mesurant approximativement 750 \AA de longueur et 740 \AA de largeur.

Ces structures apparaissent être des kinétochores et non des chromosomes, parce qu'ils ne peuvent pas être extraits par de la Dnase.

Mais entre ces kinétochores, des zones denses aux électrons mal définies peuvent être extraites par de la Dnase, suggérant de cette façon que celles-ci sont des chromosomes.

Au fur et à mesure que la division progresse, le noyau acquiert une forme semblable à une haltère.

Un nucléole apparaît et éventuellement les microtubules disparaissent.

Finalement, 2 noyaux sont formés.

Durant cette division nucléaire, la membrane nucléaire reste présente, excepté à l'endroit où la plaque centriolaire est localisée.

2) différenciation des organelles cytoplasmiques :

Pendant que la division nucléaire se produit, les mitochondries augmentent en taille, deviennent irrégulières formant même plusieurs bourgeons.

Finalement, elles subissent une fission, menant à une augmentation du nombre de mitochondries.

Les organelles cytoplasmiques disparues en début de croissance du trophozoïte, réapparaissent.

Les microtubules sous-pelliculaires et des précurseurs de rhoptries apparaissent en-dessous de la membrane interne.

Plus la formation en mérozoïte progresse, plus les précurseurs de rhoptries deviennent denses.

Les régions couvertes par une membrane interne commencent dès lors, à faire protrusion dans l'espace laissé par la vacuole parasitophore pour former de nouveaux mérozoïtes.

Avec la progression du bourgeonnement, les organelles incluant le noyau, la mitochondrie, le corps sphérique, le réticulum endoplasmique, les ribosomes migrent dans le mérozoïte.

Alors que les mérozoïtes se développent, la taille du schizonte original diminue pour n'être plus finalement qu'un corps résiduel rempli de pigments malariques.
(corps résiduel entouré d'une membrane unitaire).

Après la dispersion des mérozoïtes, par rupture de l'érythrocyte parasité, les corps résiduels sont ingérés par les macrophages du foie, de la rate et du sang. (Aikawa, Seed 1980).

CHAPITRE 1 - BUT DU MEMOIRE.

Notre but est d'étudier en microscopie électronique la structure du système vacuolaire chez les trophozoïtes intra-érythrocytaires de Plasmodium berghei , Vincke et Lips, 1948 .

On sait depuis longtemps que des formations vacuolaires volumineuses prennent naissance en certains points de la surface cellulaire . Ces zones privilégiées sont parfois marquées par des condensations annulaires très osmiophiles : le micropyle . C'est ainsi qu'une portion relativement importante du stroma de l'érythrocyte-hôte est ingéré à l'intérieur du trophozoïte lui conférant l'apparence d'une bague .

Notre but est de rechercher s'il s'agit en l'occurrence d'une vacuole alimentaire fermée ou d'une protrusion du cytoplasme de la cellule-hôte ? Cette étude est placée dans le cadre général de la cytophysiologie du trophozoïte .

CHAPITRE 2 - MATERIEL ET METHODES.

2.1. Le Parasite :

Au cours de ce travail, la souche de Plasmodium berghei ANKA, fournie par le Professeur M. Wéry de l'Institut de Médecine tropicale d'Anvers, a été utilisée.

2.2. L'hôte vertébré :

- . L'hôte utilisé est la souris de souche NMRI provenant de l'animalerie de la Faculté des Sciences F.U.N.
- . Ces souris étaient âgées d'environ cinq mois et avaient nourriture et boisson "ad libitum".
- . Il n'a pas été tenu compte du sexe des individus employés.

2.3. le maintien de la souche :

Il s'effectue par passage mécanique hebdomadaire consistant en une injection intrapéritonéale de sang de souris parasitée dilué dans un tampon phosphate salé à pH 7,4.

La quantité de solution injectée par souris est de 0,5 ml. Chaque souris reçoit en moyenne 100.000 parasites lors de l'injection.

2.4. Etude de P. berghei en microscopie optique :

Des frottis de sang ont été observés au microscope optique ZEISS 470600 (grossissement : 1.000 fois). Ceux-ci ayant été préalablement fixés au méthanol et colorés au GIEMSA.

2.5. Etude de P. berghei en microscopie électronique :

2.5.1. Pour la microscopie à transmission :

- . Fixation d'organes (Moëlle osseuse, rate, foie, rein, cerveau, poumon, moëlle épinière, sang); dans une solution 1 % OsO₄ dans du tampon Acétate Véronal Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ (Mérieux) 1 heure à 4° C.
- . Lavage dans du tampon acétate véronal Ca⁺⁺, Mg⁺⁺,
- . Déshydratation progressive dans de l'éthanol à concentration croissante.
- . Inclusion
- . Polymérisation
les sections sont effectuées par un ultratome Reichert Austria OMU 3
- . Coloration
 - les coupes semi-fines sont colorées au Bleu de toluidine,
 - les coupes ultra-fines sont colorées sur grille par l'acétate d'uranyle et le reynolds,
 - les grilles sont examinées au microscope électronique Philips EM 301
sous une différence de Potentiel de 60 KV

2.5.2. Pour la microscopie à balayage :

- . fixation au glutaraldéhyde à 2,5 %, passage sur filtre millipore en teflon (pores de 0,5 μ m),
- . déshydratation graduelle à l'acétone,
- . dessiccation par passage au point critique (appareil à CO₂)
- . ombrage à l'or par Sputtering à l'aide d'un appareil Balzers,
- . observation au microscope électronique à balayage JOEL J.S.M. 35

N.B. : l'étude morphologique entreprise au cours de ce travail a été faite à partir de plus d'un millier de microphotographies.

CHAPITRE 3 - RESULTATS.

3.1. Etude de la souche

Caractérisation de la souche

3.1.1. Tableau de mortalité :

<u>durée de vie</u> (en jours)	<u>pourcentage de mortalité</u>
0 - 5	5,3 %
6 - 10	31,6 %
11 - 20	42,1 %
➤ 21	21,0 %

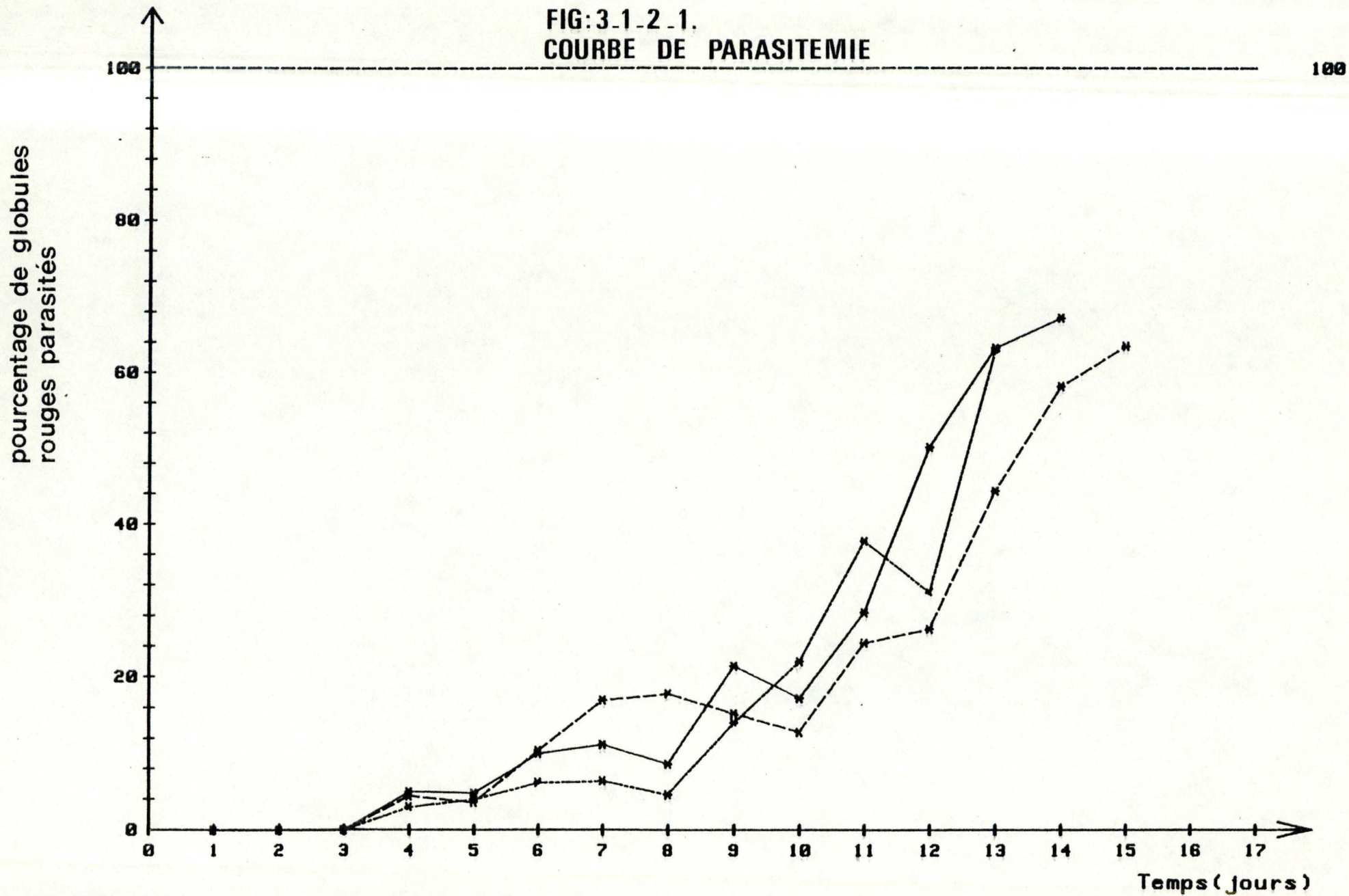
Nous constatons que la souche de P. berghei ANKA induit un taux de mortalité maximum dans la population de souris NMRI étudiée dans un intervalle de dix à vingt jours après l'inoculation.

3.1.2. Courbe de parasitémie (FIG. 3.1.2.1)

Nous avons suivi le pourcentage de globules rouges parasités chez plusieurs souris, du premier jour après l'inoculation jusqu'à la mort de celles-ci.

Nous observons chez ces souris trois phases dans l'évolution de la parasitémie :

FIG: 3-1-2-1.
COURBE DE PARASITEMIE



1. Un temps de latence pendant lequel on n'observe pas de globule rouge parasité.

Cette période d'incubation s'étend sur trois jours.

2. Une évolution de la parasitémie qui semble être fonction de l'individu étudié.

Nous observons cependant la présence d'un pic d'intensité variable aux environs du 7^e ou 8^e jour chez tous les individus.

3. La mort des souris aux environs du quinzième jour, alors que leur parasitémie varie entre 55 et 70 %.

3.2 - Etude en microscopie photonique de P.berghei .

Les trophozoïtes de P.berghei intraérythrocytaires présentent la forme classique en bague dont la lumière est occupée par la vacuole nutritive et dont la couronne est ornée par le noyau , seul organite aisément et intensément colorable au Giemsa (FIG.:3.2.1) .

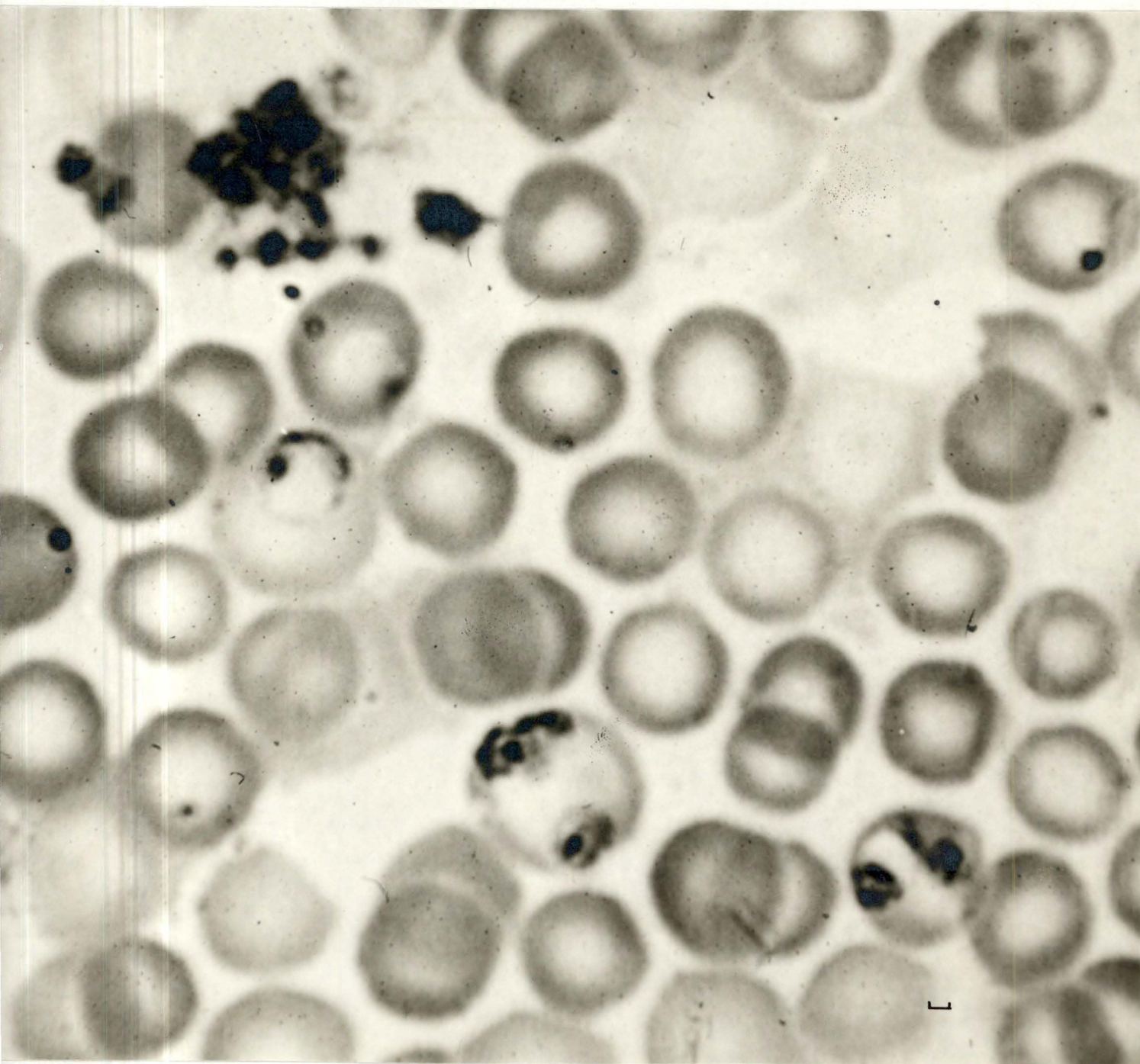


FIG. : 3.2.1

Frottis de sang de souris infestée de P.berghei ; certains trophozoïtes ont une forme en bague , d'autres sont en voie de division .

3.3. Etude en microscopie électronique de P. berghei.

3.3.1. Etudes sur coupes isolées.

Le trophozoïte.

1) la paroi cellulaire :

A la lueur de notre étude morphologique, nous observons que P. berghei est entouré par deux membranes;

une membrane externe : la membrane de la vacuole parasitophore de la cellule-hôte,

une membrane interne : la membrane plasmique du parasite.

Nous observons de minces bras cytoplasmiques chez certains parasites dans la vacuole parasitophore.

FIG. : 3.3.1.6, 3.3.1.36, 3.3.1.37.

2) le cytoplasme :

Il est composé d'un nombre élevé de particules de ribonucléoprotéines dont la majorité sont libres dans le cytoplasme. Le réticulum endoplasmique est rare et est composé pour la plupart de petites vésicules ou de petits canalicules liés à des ribosomes.

FIG. 3.3.1.17, 3.3.1.24a, 3.3.1.24b.

3) le système mitochondrial :

Il consiste habituellement en une simple structure en forme de tube, et fréquemment consiste même en une forme longue, boursoufflée à ses 2 extrémités, faisant penser à une haltère.

Elles sont composées d'une membrane externe et d'une membrane interne, cette dernière s'invagine dans la matrice mitochondriale en formant de mini replis.

La matrice du mitochondriome est peu dense aux électrons.

Dans celle-ci s'organise un réseau de fins filaments, ressemblant étrangement à des filaments de DNA décrits dans les chloroplastes et dans les mitochondries de mammifères.

Dans la plupart des trophozoïtes, on ne retrouve qu'un mitochondriome, cependant dans quelques cas, il semblerait qu'il y en ait 2 ou plus.

FIG. : 3.3.1.7, 3.3.1.8, 3.3.1.9, 3.3.1.10, 3.3.1.37.

4) le corps multilamellaire :

Elle est composée d'anneaux ou consiste en une spirale de double membrane unitaire lisse.

Elle est présente dans tous les stades de développements; excepté dans le schizonte mature où elle se trouve à l'extérieur de celui-ci.

FIG. : 3.3.1.15, 3.3.1.16, 3.3.1.17, 3.3.1.18, 3.3.1.24a, 3.3.1.24b.

5) l'appareil de Golgi :

L'appareil de Golgi n'a pas l'aspect morphologique classique il s'agit de quelques rares vacuoles à paroi lisse et de très petites dimensions.

FIG. : 3.3.1.7.

6) le noyau :

Il baigne dans le cytoplasme est de forme ronde ou légèrement ovale chez le jeune trophozoïte.

Il montre une matrice peu dense aux électrons, finement granuleuse et n'a pas de nucléole.

L'enveloppe nucléaire est limitée par une double membrane montrant plusieurs pores, chacun d'eux se trouvant obturé par une simple structure semblable à un diaphragme.

FIG. : 3.3.1.4, 3.3.1.6, 3.3.1.24b, 3.3.1.32.

7) le micropyle :

Nous n'avons observé que rarement cet organite, de plus nous n'avons pas pu mettre en évidence nettement la présence des densifications de membrane de part et d'autre de l'orifice. La structure observée est semi-circulaire et remplie de cytoplasme de la cellule-hôte.

FIG. : 3.3.1.1, 3.3.1.2, 3.3.1.3, 3.3.1.4, 3.3.1.18, 3.3.1.34.

8) la vacuole nutritive :

Au contraire du micropyle, nous observons fréquemment si pas toujours une ou plusieurs vacuoles nutritives souvent situées en périphérie.

Elles sont remplies de substance provenant de la cellule-hôte. Nous remarquons que celle-ci est de même densité que le cytoplasme de la cellule-hôte.

Chaque vacuole nutritive est limitée par une double membrane.

FIG. : 3.3.1.1, 3.3.1.2, 3.3.1.5, 3.3.1.14, 3.3.1.15, 3.3.1.16, 3.3.1.19, 3.3.1.24b.

9) Vésicules à pigment :

A l'intérieur de ces vésicules existent un ou deux cristalloïdes rectangulaires.

Ces cristalloïdes montrent une structure régulière en treillis occasionnellement ces structures contiennent des grains de pigment avec une substance ressemblant au cytoplasme de la cellule-hôte, et même parfois le contenu de ces vésicules est homogène similaire au cytoplasme de la cellule-hôte mais plus dense aux électrons.

FIG. : 3.3.1.11, 3.3.1.12, 3.3.1.13, 3.3.1.14, 3.3.1.19, 3.3.1.24b.

10) Corps osmiophile :

Ce sont des vésicules au cytoplasme dense aux électrons faisant penser à des microbodies.

FIG. : 3.3.1.5.

11) Sécrétions :

Nous observons à plusieurs reprises des sécrétions sous forme de très fines structures tubulaires, ou de grains de sécrétion dans la vacuole parasitophore ou à l'extérieur de la cellule-hôte.

FIG. : 3.3.1.25, 3.3.1.26, 3.3.1.27, 3.3.1.28, 3.3.1.29, 3.3.1.30, 3.3.1.31.

12) Protrusions:

Certains parasites de P. berghei semblent faire des protrusions vers l'extérieur des cellules-hôtes.

FIG. : 3.3.1.19, 3.3.1.20, 3.3.1.21, 3.3.1.22, 3.3.1.23.

13) Evolution de la schizogonie :

Nous avons pu observer une évolution de la schizogonie de P. berghei.

Les étapes seraient les suivantes :

- 1) observation d'un simple épaissement membranaire et présence de 2 noyaux.

FIG : 3.3.1.38

- 2) observation de plusieurs épaisissements membranaires et plusieurs noyaux avec la création d'un espace entre le parasite et le réticulocyte.

FIG : 3.3.1.39, 3.3.1.40, 3.3.1.41.

- 3) "crevasse" se créant permettant la séparation entre deux futurs mérozoïtes, où les micronèmes sont peu denses aux électrons.

FIG : 3.3.1.46.

- 4) les mérozoïtes sont en voie de formation avec un espace plus net entre le parasite et le réticulocyte.

On y observe des micronèmes et des rhoptries associés aux futurs mérozoïtes.

FIG : 3.3.1.42, 3.3.1.43, 3.3.1.44, 3.3.1.45, 3.3.1.54.

- 5) on observe la fission des mitochondries et l'apparition d'un corps résiduel.
FIG.: 3.3.1.47, 3.3.1.50.
- 6) on observe un mérozoïte libre dans la vacuole parasitophore et le corps multilamellaire largué dans la vacuole parasitophore.
FIG. : 3.3.1.48, 3.3.1.49, 3.3.1.50.
- 7) on observe la présence de plusieurs mérozoïtes libres dans la vacuole parasitophore et la réduction du parasite originel.
FIG. : 3.3.1.51.
- 8) nous observons la totalité des mérozoïtes libres dans la vacuole parasitophore et sans doute en voie d'expulsion.
FIG. : 3.3.1.52, 3.3.1.53.
- 9) nous observons un mérozoïte libre.
FIG. : 3.3.1.55.



FIG:3.3.1.1.

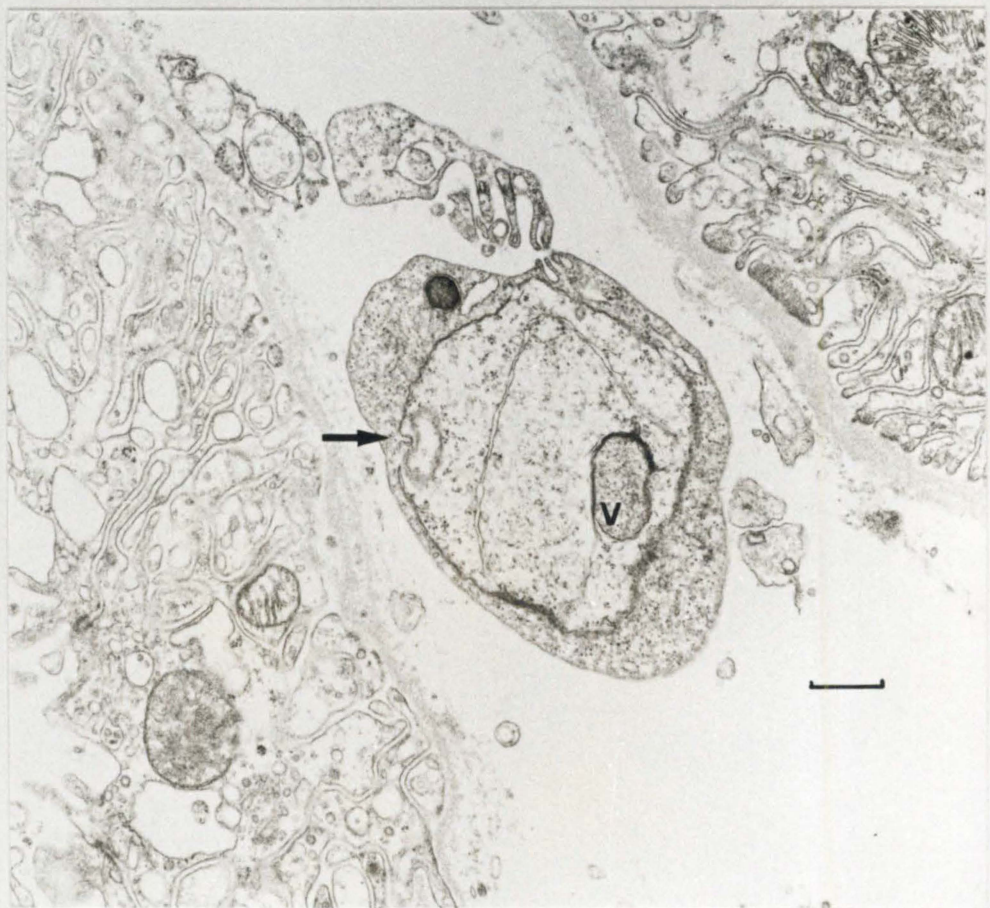


FIG:3.3.1.2

FIG. 3.3.1.3.

Section d'un réticulocyte dans la lumière d'un glomé-
rule rénal renfermant un P. berghei.
On y observe un micropyle (flèche) (G : 43200 X)

FIG. 3.3.1.4.

Section d'un réticulocyte médullaire renfermant un
P. berghei.
On y observe un micropyle (flèches) à proximité d'un
noyau (N)
(G : 78000 X)



FIG: 3.3.1.3.



FIG: 3.3.1.4.

FIG. 3.3.1.5.

Section d'un réticulocyte dans la lumière d'un glomé-
rule rénal.

Ce réticulocyte est parasité par un trophozoïte de
P. berghei.

On y observe un corps osmiophile (flèche) et une vacu-
ole nutritive (V)

(G : 33000 X)



FIG:3.3.1.5.

FIG. 3.3.1.6.

Section d'un réticulocyte de la rate.

Ce réticulocyte est parasité par un parasite en voie de division.

On y observe de minces bras cytoplasmiques (B) et la présence de plusieurs noyaux (N)

(G : 33000 X)



FIG: 3.3.1.6.

FIG. 3.3.1.7.

Section d'un réticulocyte localisé au niveau d'un glomérule rénal.

Ce réticulocyte est parasité par un trophozoïte de P. berghei.

On y observe une mitochondrie en forme de tube (MI) et du Golgi (G)

(G : 43200 X)

FIG. 3.3.1.8.

Section d'un globule rouge contenant deux parasites.

Dans l'un de ceux-ci, on y observe deux mitochondries (MI)

(G : 25200 X)

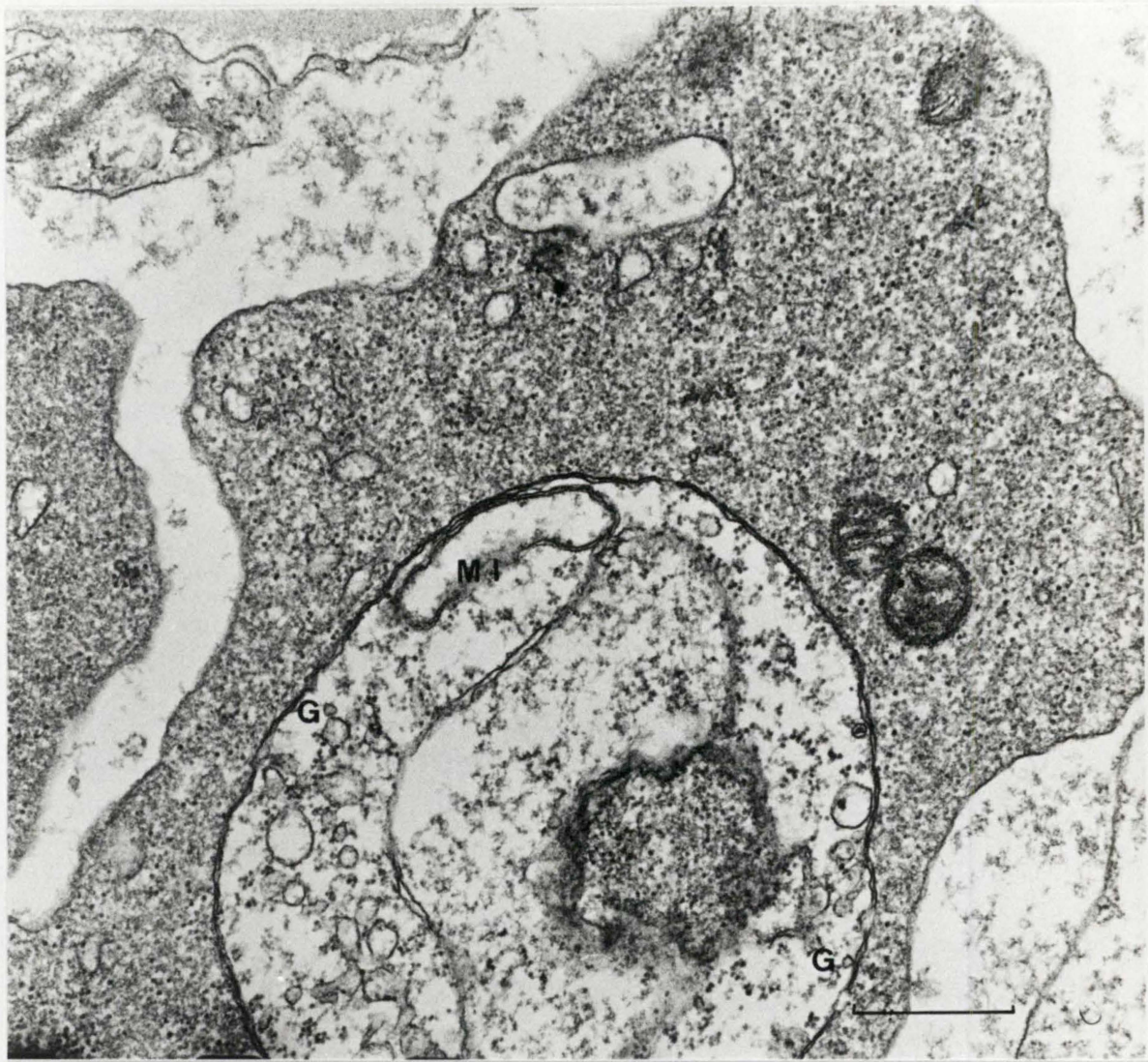


FIG:3.3.1.7.

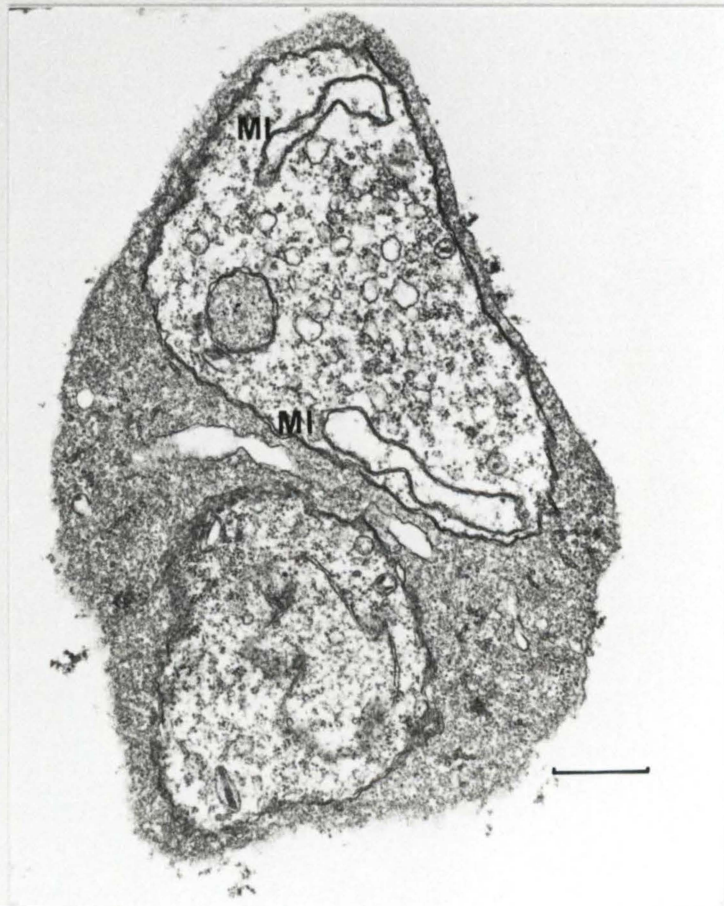


FIG:3.3.1.8.

FIG. 3.3.1.9.

Section de tissus hépatiques, montrant un globule rouge parasité par un trophozoïte de P. berghei.

On y observe plusieurs mitochondries (MI)

(G : 19800 X)

FIG. 3.3.1.10.

Section d'un réticulocyte médullaire.

Ce réticulocyte comprend trois trophozoïtes.

On y observe des mitochondries (MI) en forme d'Haltère.

(G ; 15600 X)

FIG:3.3.1.10.

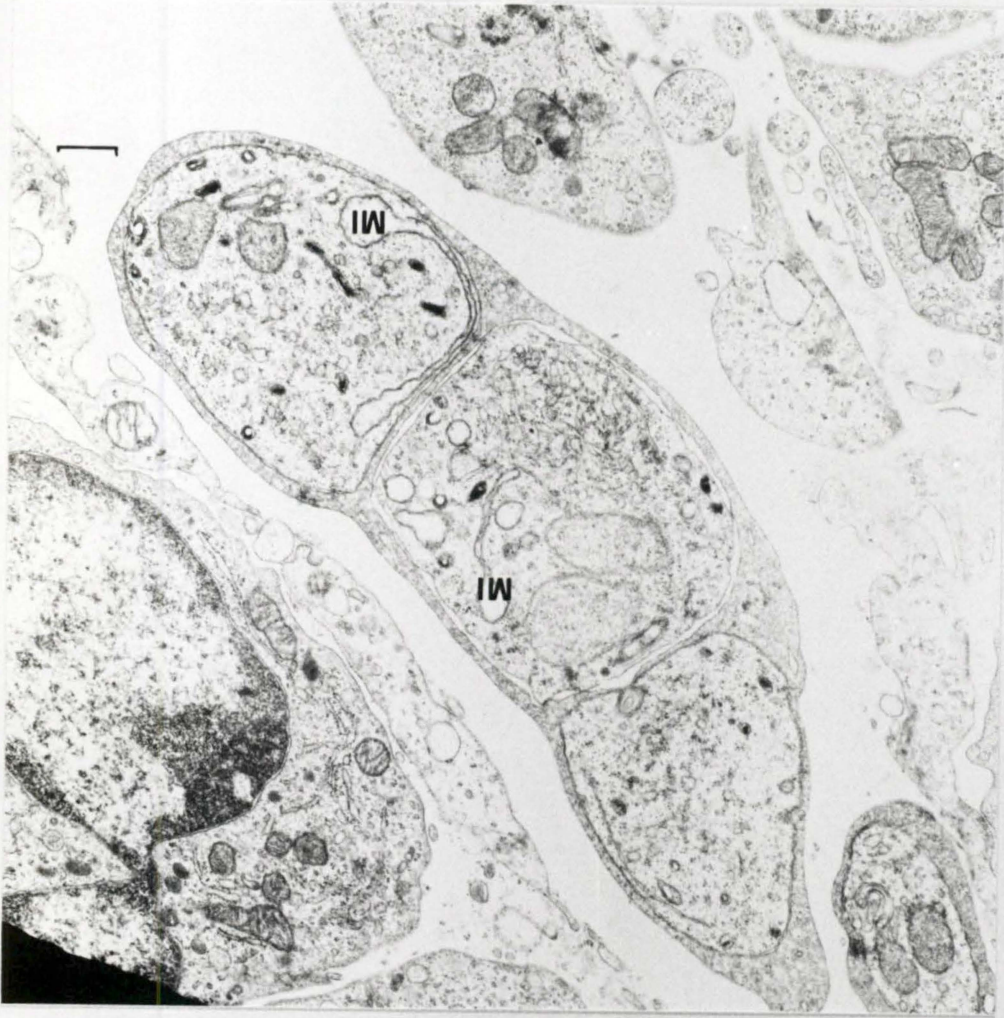


FIG:3.3.1.9.

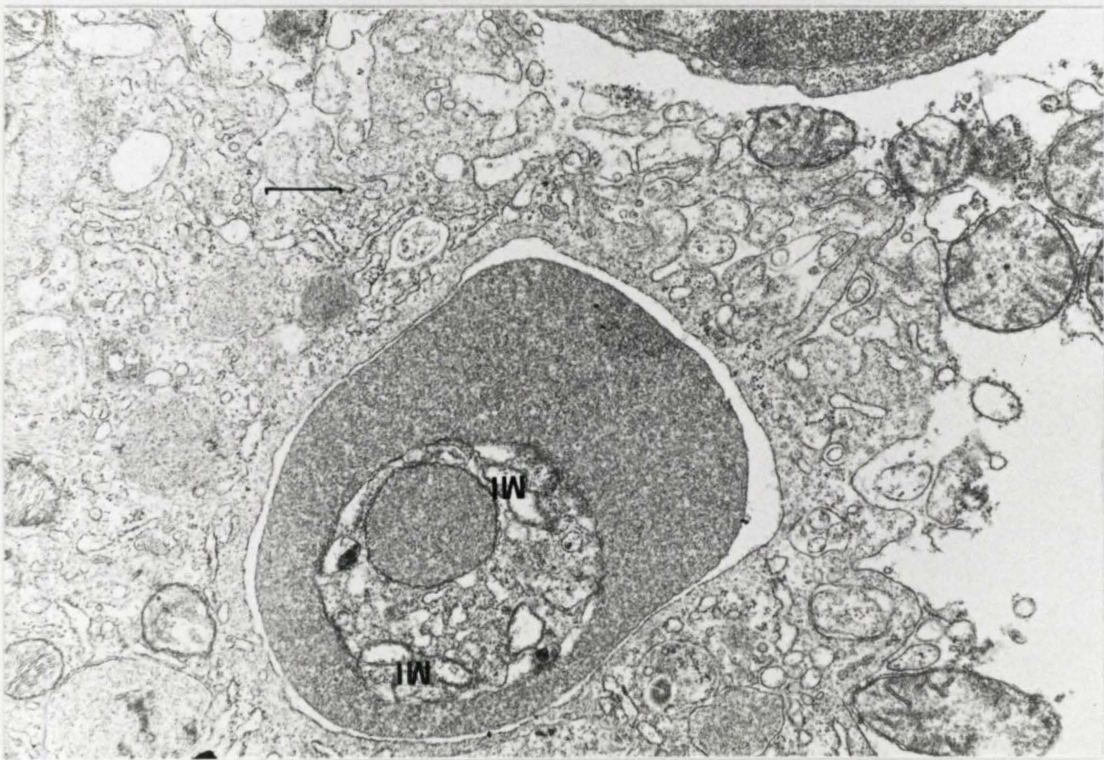


FIG. 3.3.1.11.

Section d'un globule rouge dans un vaisseau sanguin de la rate.

Ce globule rouge est parasité par un trophozoïte de P. berghei.

On y observe des Vésicules à pigment (VE)

(G : 15600 X)

FIG. 3.3.1.12.

Section d'un globule rouge dans un vaisseau sanguin de la rate.

Ce globule rouge est parasité par un trophozoïte de P. berghei.

On y observe des Vésicules à pigment périphériques et autour de la vacuole nutritive.

(G : 19800 X)

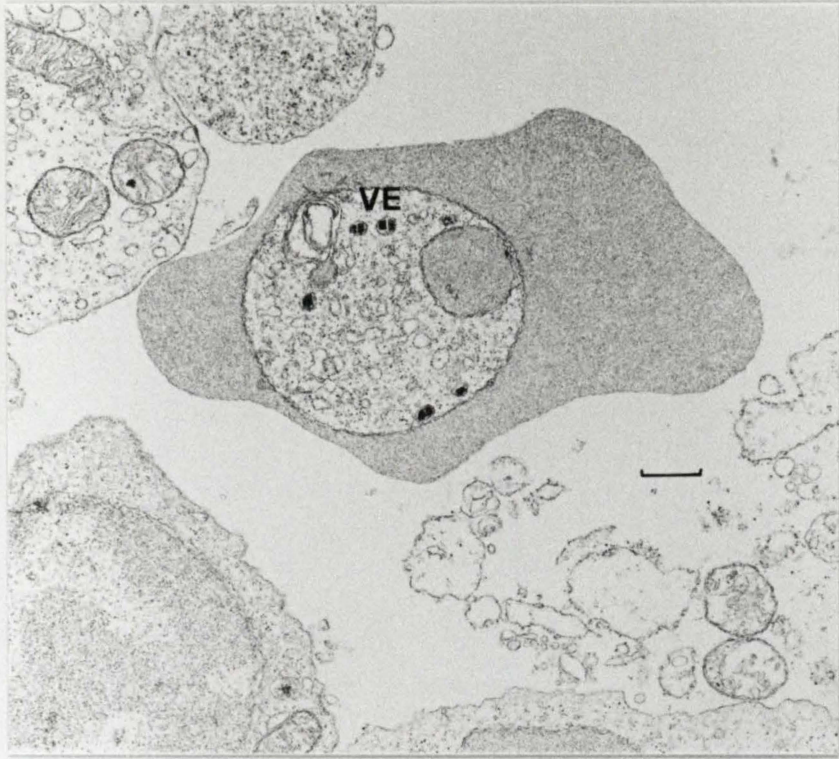


FIG: 3.3.1.11.

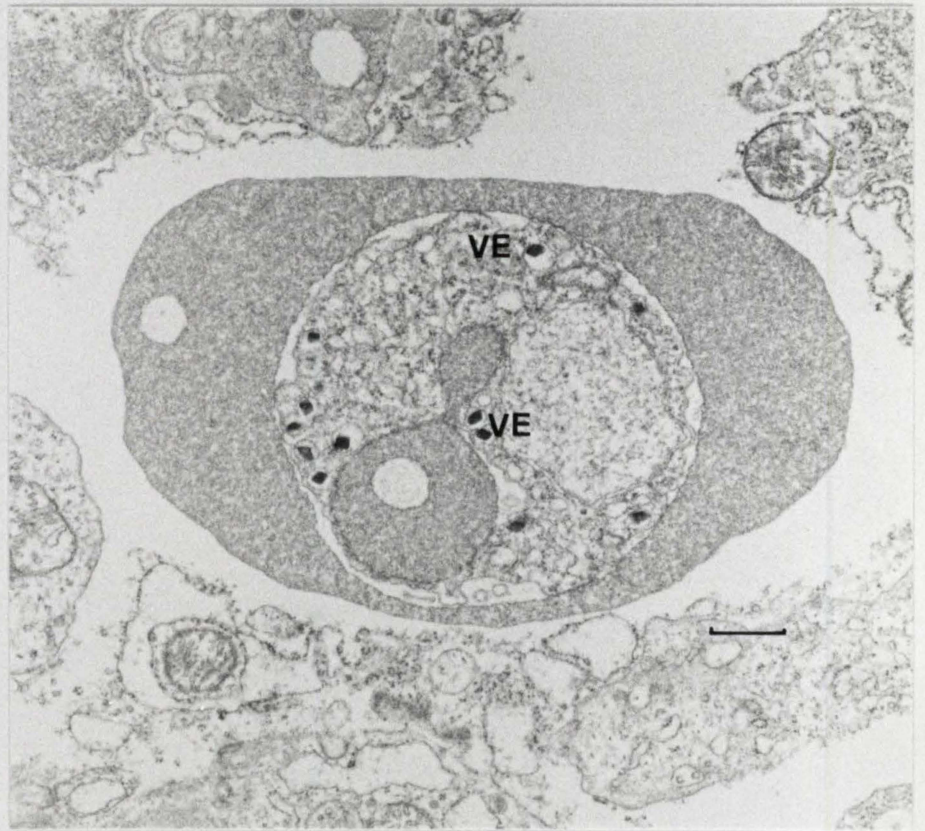


FIG: 3.3.1.12.

FIG. 3.3.1.13.

Section d'un réticulocyte dans la pulpe rouge de la rate.

Ce réticulocyte est parasité par un trophozoïte de P. berghei.

On y observe des Vésicules à pigment contenant un ou deux cristalloïdes à structures en treillis (VE), ainsi qu'un replis du parasite autour d'une petite portion du cytoplasme du réticulocyte (flèche).

(G : 60.000 X)

FIG. 3.3.1.14.

Section d'un réticulocyte dans la pulpe rouge de la rate.

Ce réticulocyte est parasité par un trophozoïte de P. berghei.

On y observe une Vacuole remplie de cytoplasme de la cellule hôte, cette Vacuole est limitée par une double membrane non complète (V), ainsi qu'une Vésicule à pigment limité par une simple membrane (VE).

Notons aussi la présence d'un replis d'une membrane interne (flèche).

(G : 96.000 X)



FIG:3.3.1.13.

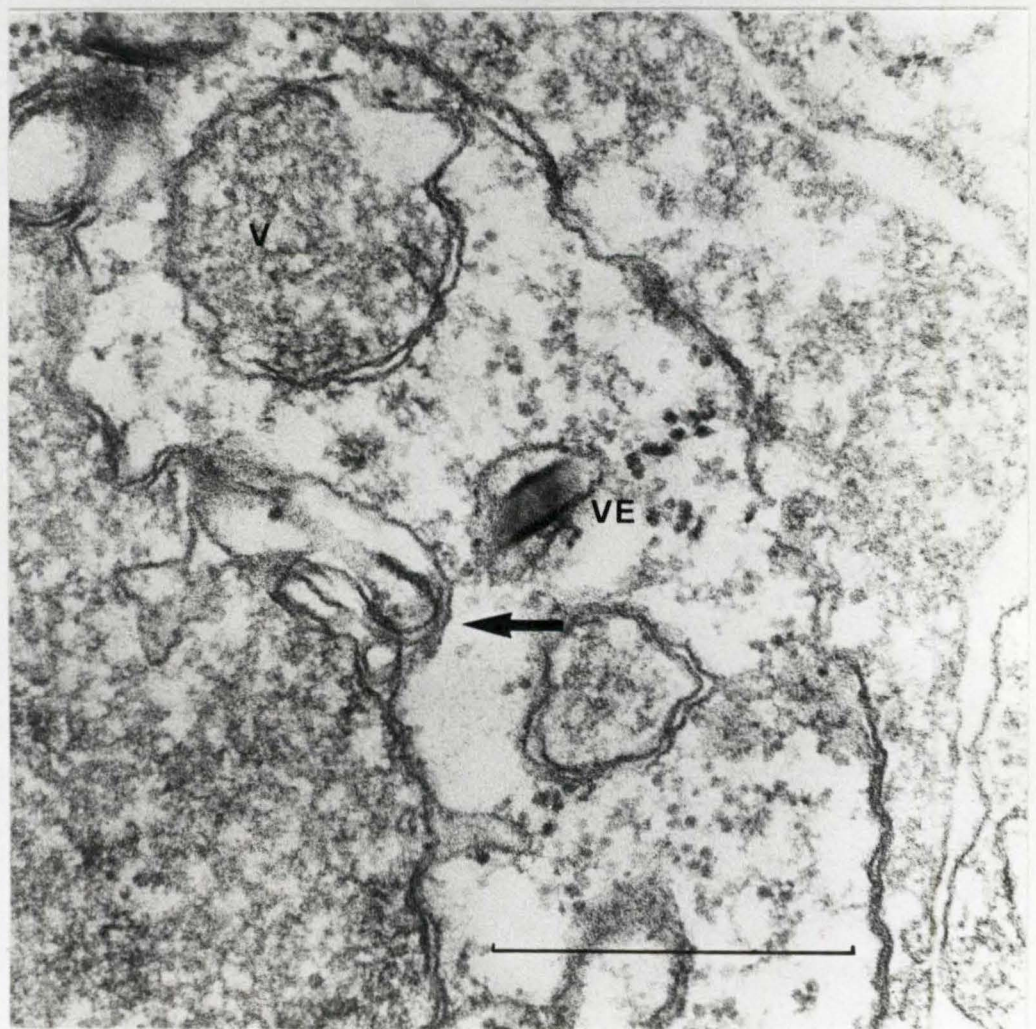


FIG:3.3.1.14.

FIG. 3.3.1.15.

Section d'un globule rouge de la rate.

Ce globule rouge renferme un trophozoïte de P. berghei

On y observe une Vacuole nutritive (V) et un corps multilamellaire attaché à la membrane plasmique (C)

(G : 15600 X)

FIG. 3.3.1.16.

Section de glomérule rénal montrant un réticulocyte infesté de P. berghei.

On y observe une Vacuole nutritive (V) et un corps multilamellaire (C)

(G : 43200 X)

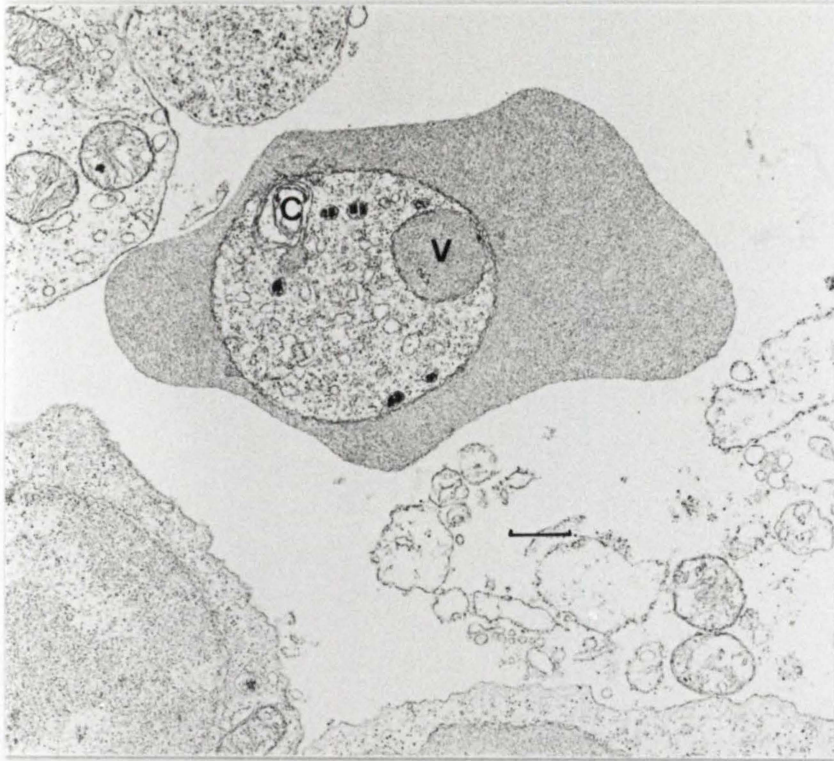


FIG:3.3.1.15.



FIG:3.3.1.16.

FIG. 3.3.1.17.

Section d'un globule rouge dans un sinusoïde hépatique.
Ce globule rouge est parasité par un trophozoïte de
P. berghei.

On y observe un réticulum endoplasmique vésiculeux (R)
et un corps multilamellaire (C)

(G : 15600 X)

FIG. 3.3.1.18

Section d'un réticulocyte médullaire renfermant un
trophozoïte de P. berghei.

On y observe un micropyle (flèche) et un corps multi-
lamellaire (C)

(G : 33000 X)

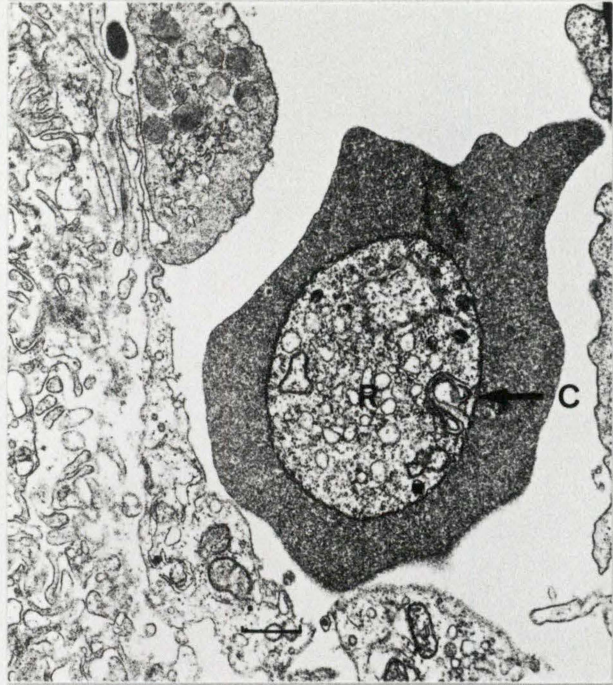


FIG:3.3.1.17.



FIG:3.3.1.18.

FIG. 3.3.1.19.

Section d'un globule rouge dans un sinusoiide hépatique. Ce globule rouge contient un trophozoïte de P. berghei le déformant et même faisant protrusion vers l'extérieur de celui-ci.

On y observe une Vacuole nutritive (V) et des Vésicules à pigment (VE)

(G : 25200 X)

FIG. 3.3.1.20.

Section d'un sinusoiide hépatique contenant un globule rouge parasité par un trophozoïte de forme annulaire. Ce parasite déforme le globule rouge.

(G : 15600 X)

FIG. 3.3.1.21

Section d'un globule rouge situé dans la lumière d'un sinusoiide hépatique.

Ce globule rouge renferme un trophozoïte remarquable par le fait qu'il présente une Protrusion (flèche) à l'extrémité de la cellule-hôte.

Ce trophozoïte s'apprête vraisemblablement à quitter le globule rouge.

(G : 15600 X)

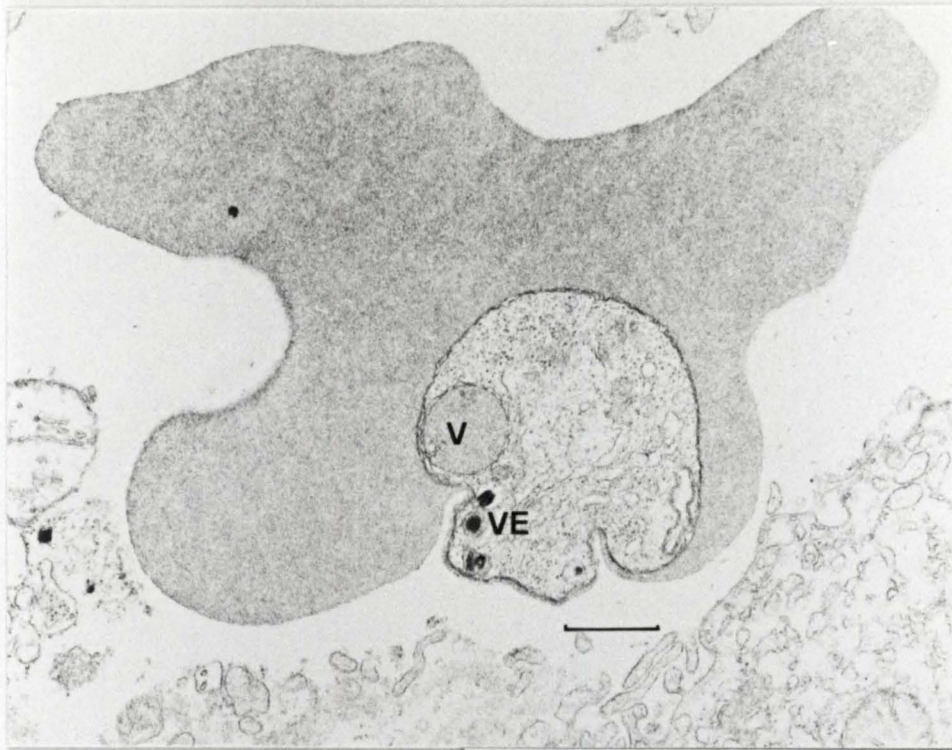


FIG: 3.3.1.19.

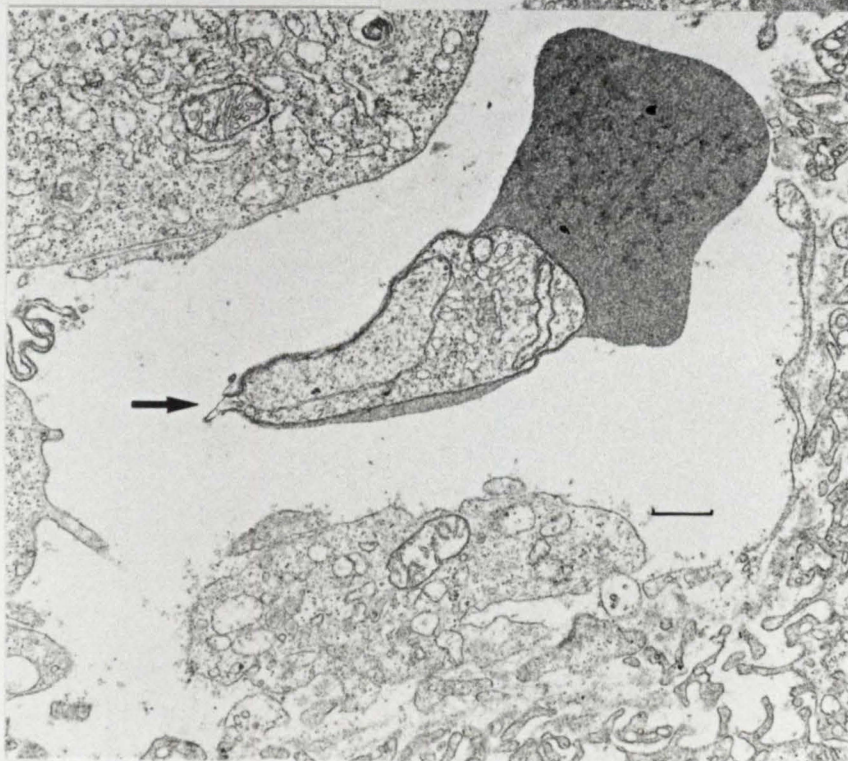
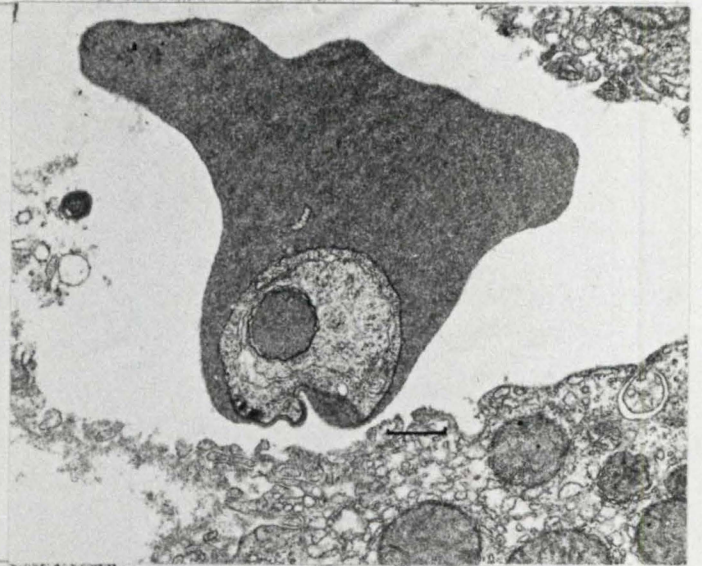


FIG: 3.3.1.20.

FIG: 3.3.1.21.

FIG. 3.3.1.22

Section d'un globule rouge de la rate.

Ce globule rouge est parasité par un trophozoïte de P. berghei qui le déforme.

(G : 19800 X)

FIG. 3.3.1.23

Section d'un globule rouge dans un sinusoiide hépatique.

Ce globule rouge est parasité par un trophozoïte.

On y observe des protrusions (flèche) faisant saillie vers l'extérieur de la cellule-hôte.

(G : 43200 X)

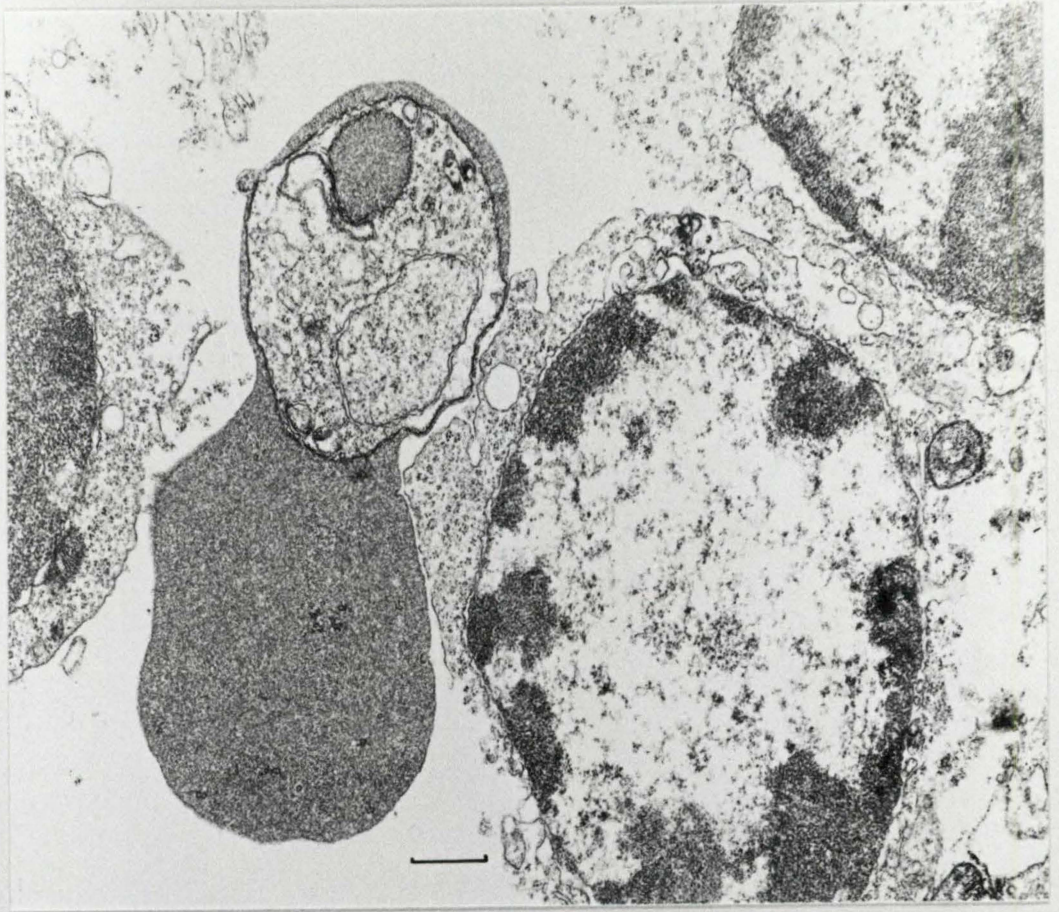


FIG: 3.3.1.22.

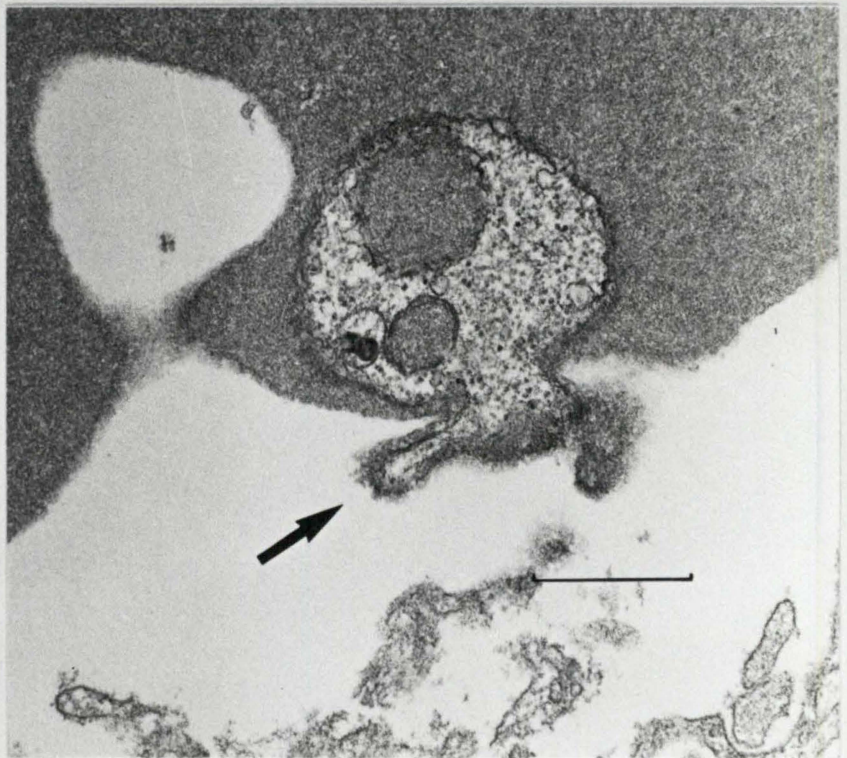


FIG: 3.3.1.23.

FIG. 3.3.1.24a

Détail du réticulum endoplasmique rugueux (R) d'un P. berghei.

On y observe aussi un corps multilamellaire (C)

(G : 33000 X)

FIG. 3.3.1.24b

Détail d'un réticulocyte parasité par un P. berghei.

On y observe un corps multilamellaire (C) attaché à la membrane plasmique, des vésicules à pigment (VE) une vacuole nutritive (V), et de nombreux grains de ribonucléoprotéines libres baignant dans le cytoplasme.

(G : 60000 X)



FIG: 3.3.1.24a.

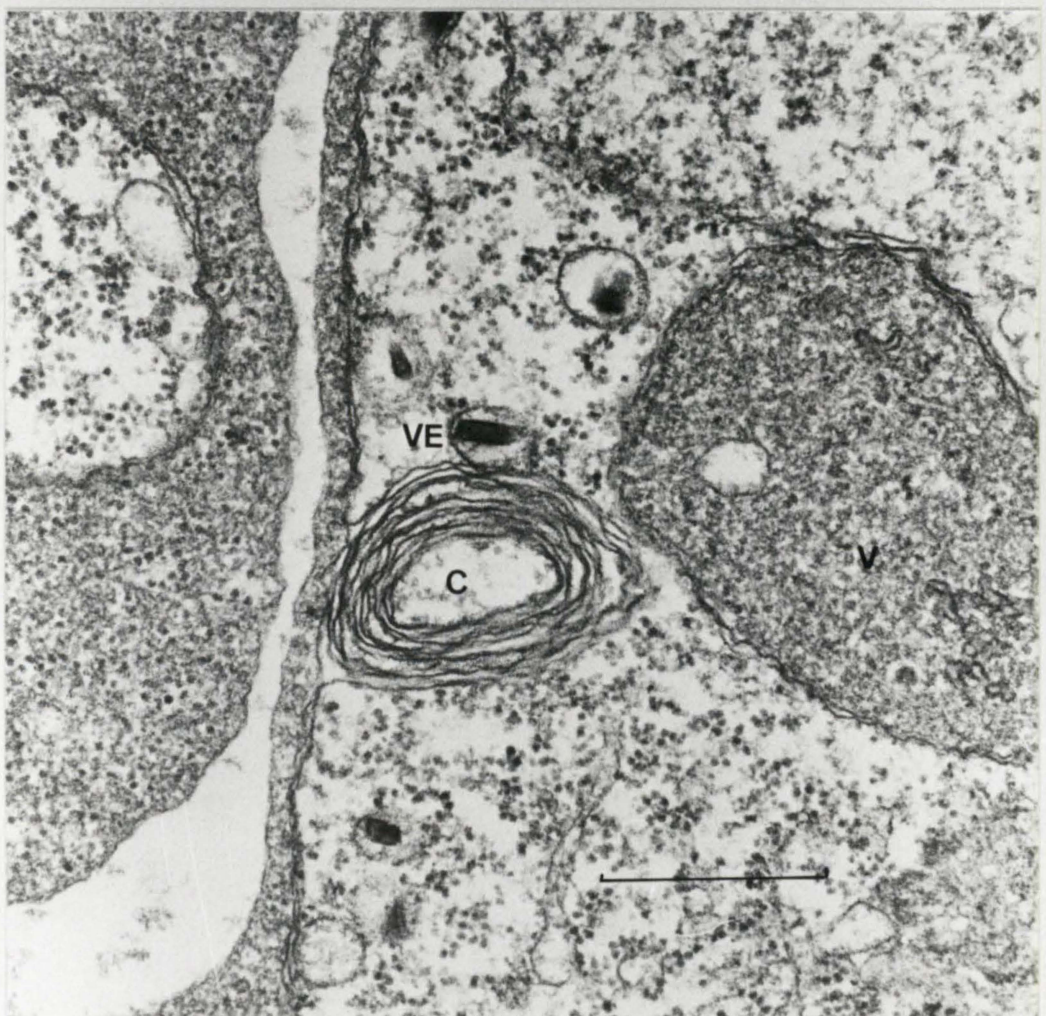


FIG: 3.3.1.24b.

52.
FIG. 3.3.1.25

Section d'un réticulocyte médullaire.

Ce réticulocyte est parasité par des trophozoïtes de P. berghei.

On y observe une vacuole parasitophore renfermant de très fines structures tubulaires (flèche).

(G : 19800 X)

FIG. 3.3.1.26

Section d'un globule rouge médullaire.

Ce globule rouge renferme plusieurs parasites de P. berghei dont un en voie de division (épaississement de la membrane).

On y observe de plus dans la vacuole parasitophore de très fines structures tubulaires (flèche)

(G : 19800 X)

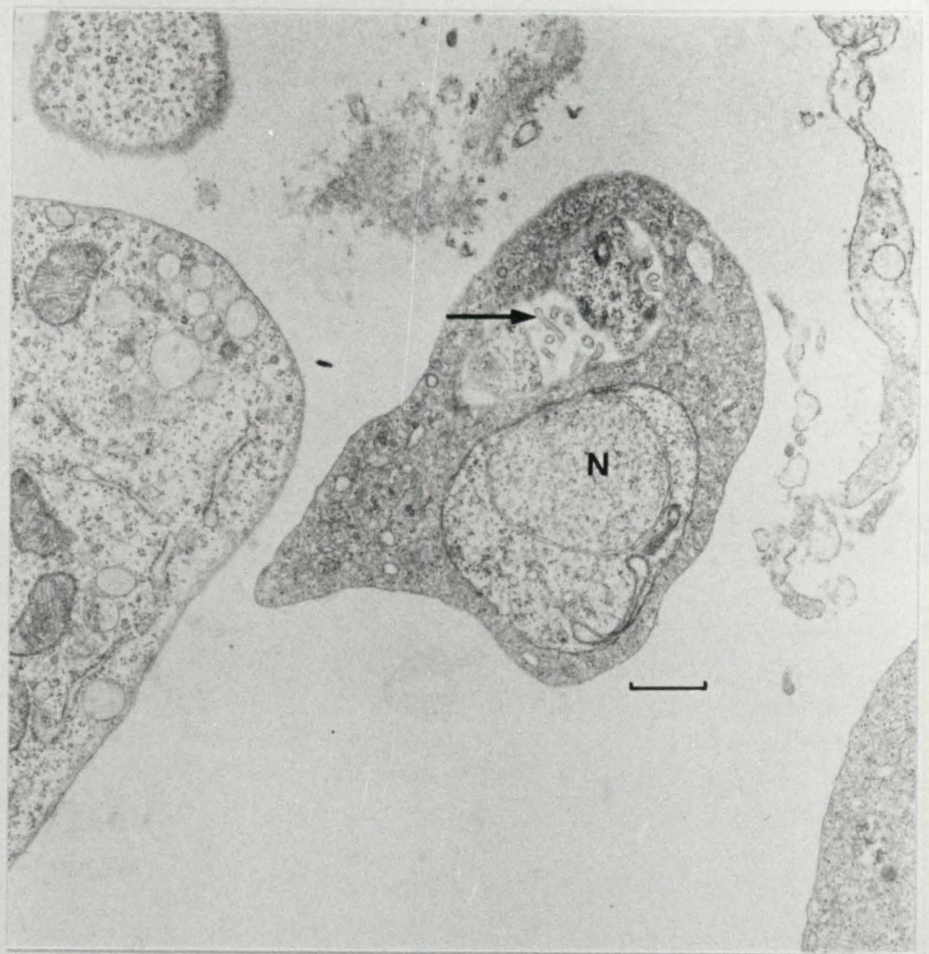


FIG: 3.3.1.25.

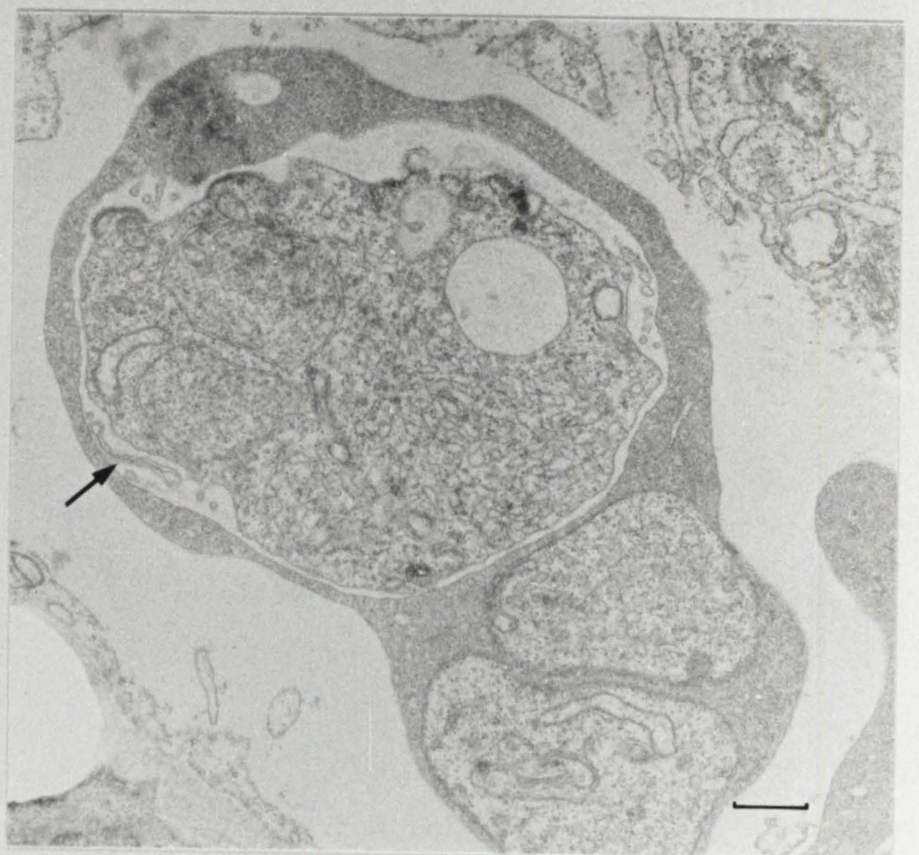


FIG: 3.3.1.26.

FIG. 3.3.1.27

Section d'un réticulocyte médullaire.

Ce réticulocyte contient deux trophozoïtes de P. berghei.

(G : 15600 X)

FIG. 3.3.1.28

Détail de la FIG.3.3.1.27. On y observe un noyau (N) en forme de fer à cheval.

Noter la présence de grains de sécrétion (flèche).

(G : 25200 X)



FIG: 3.3.1.27.

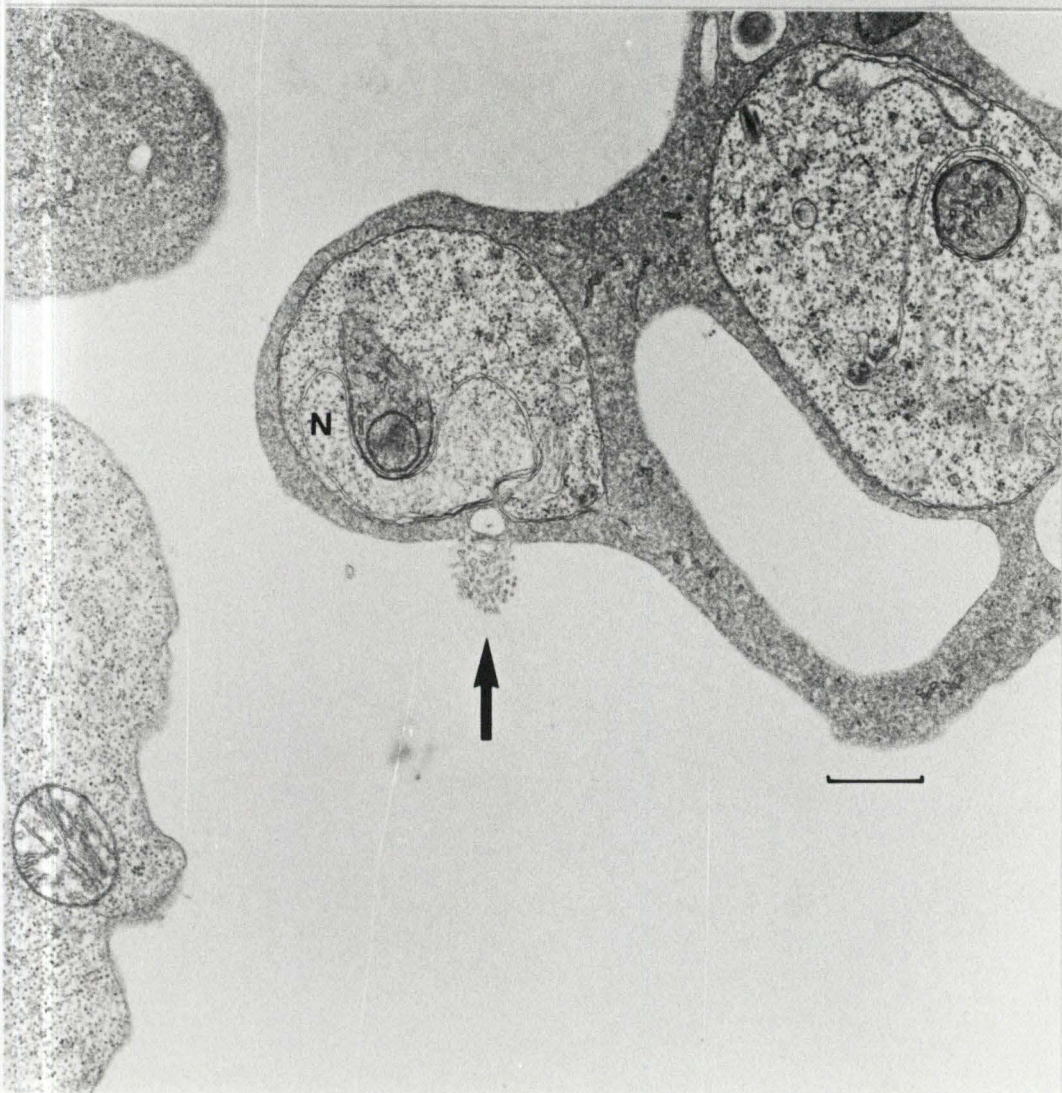
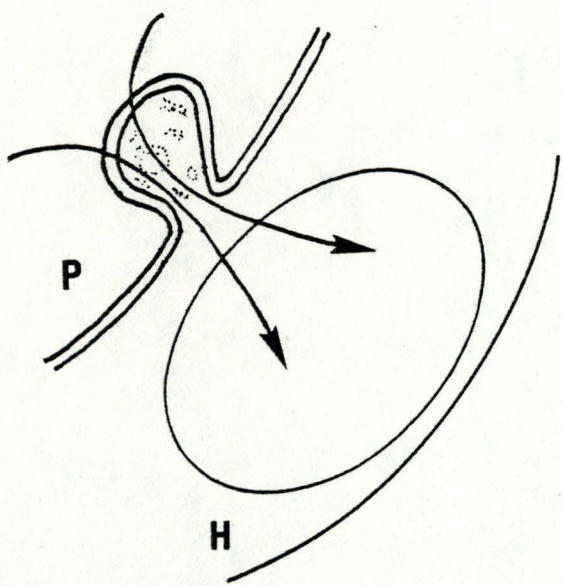


FIG: 3.3.1.28.

FIG. 3.3.1.29

Détail de la FIG.3.3.1.27. Le trophozoïte semble sécréter vers l'extérieur (flèche).

(Voir schéma explicatif). (G : 33000 X)



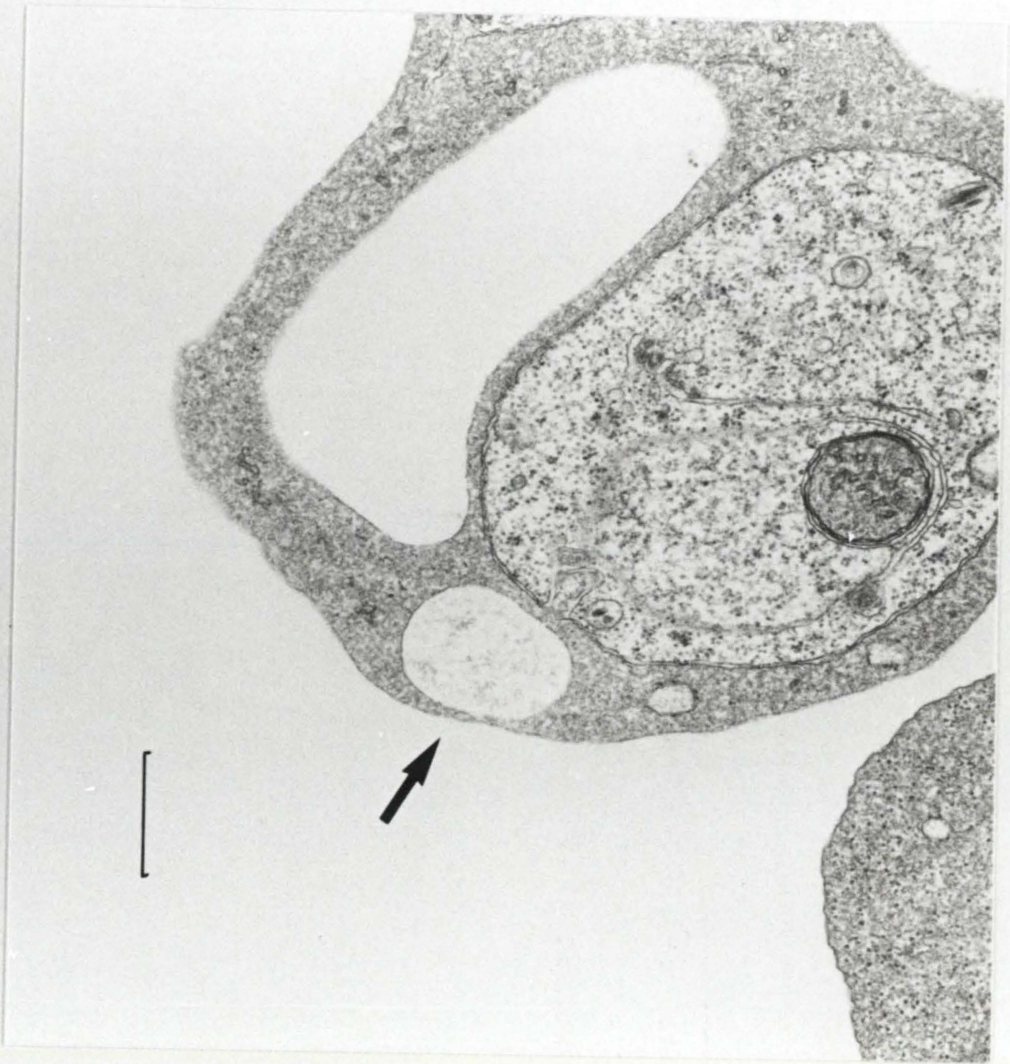


FIG: 3.3.1.29.

FIG. 3.3.1.30.

Section d'un réticulocyte médullaire.

Ce réticulocyte est parasité par des trophozoïtes de P. berghei. Des sécrétions sont apparentes à la périphérie de celui-ci. (flèche).

(G : 43200 X)

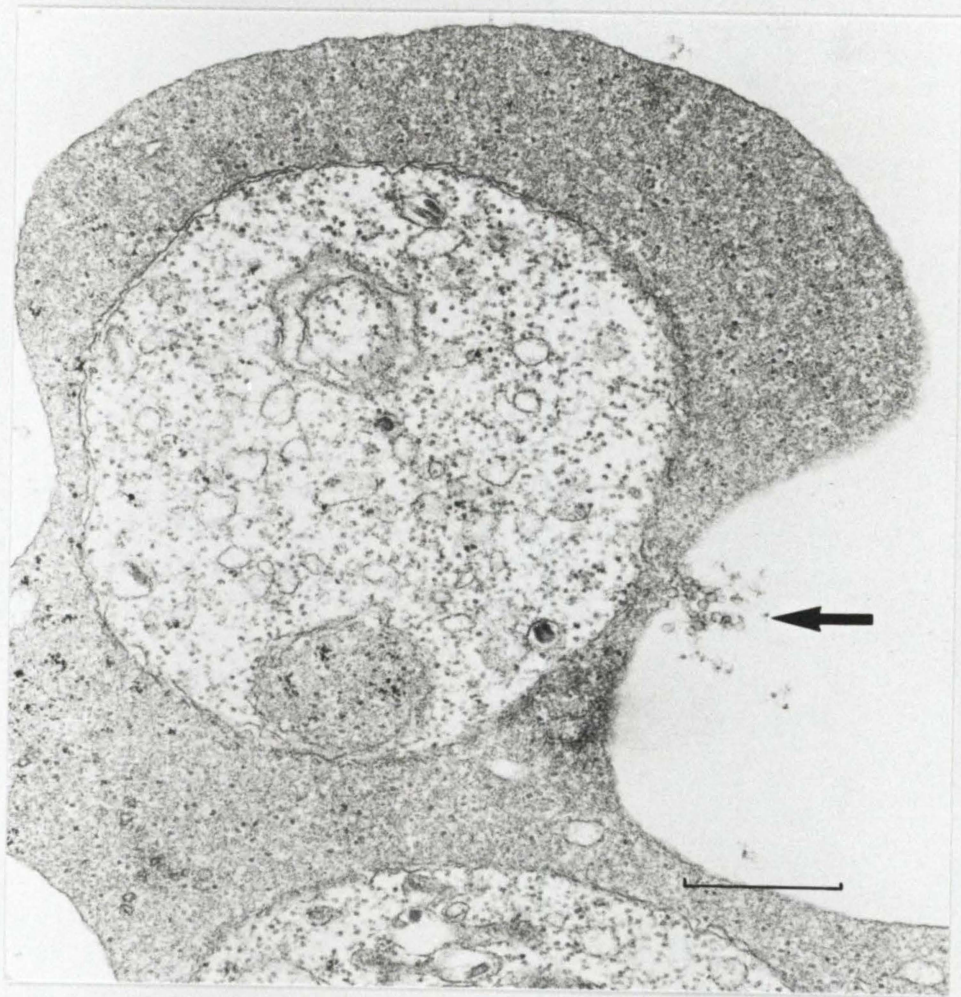


FIG: 3.3.1.30.

FIG. 3.3.1.31

Section d'un réticulocyte parasité par un P. berghei.
Nous y observons un micropyle rempli de très fines
structures tubulaires (flèche).

(G : 60.000 X)

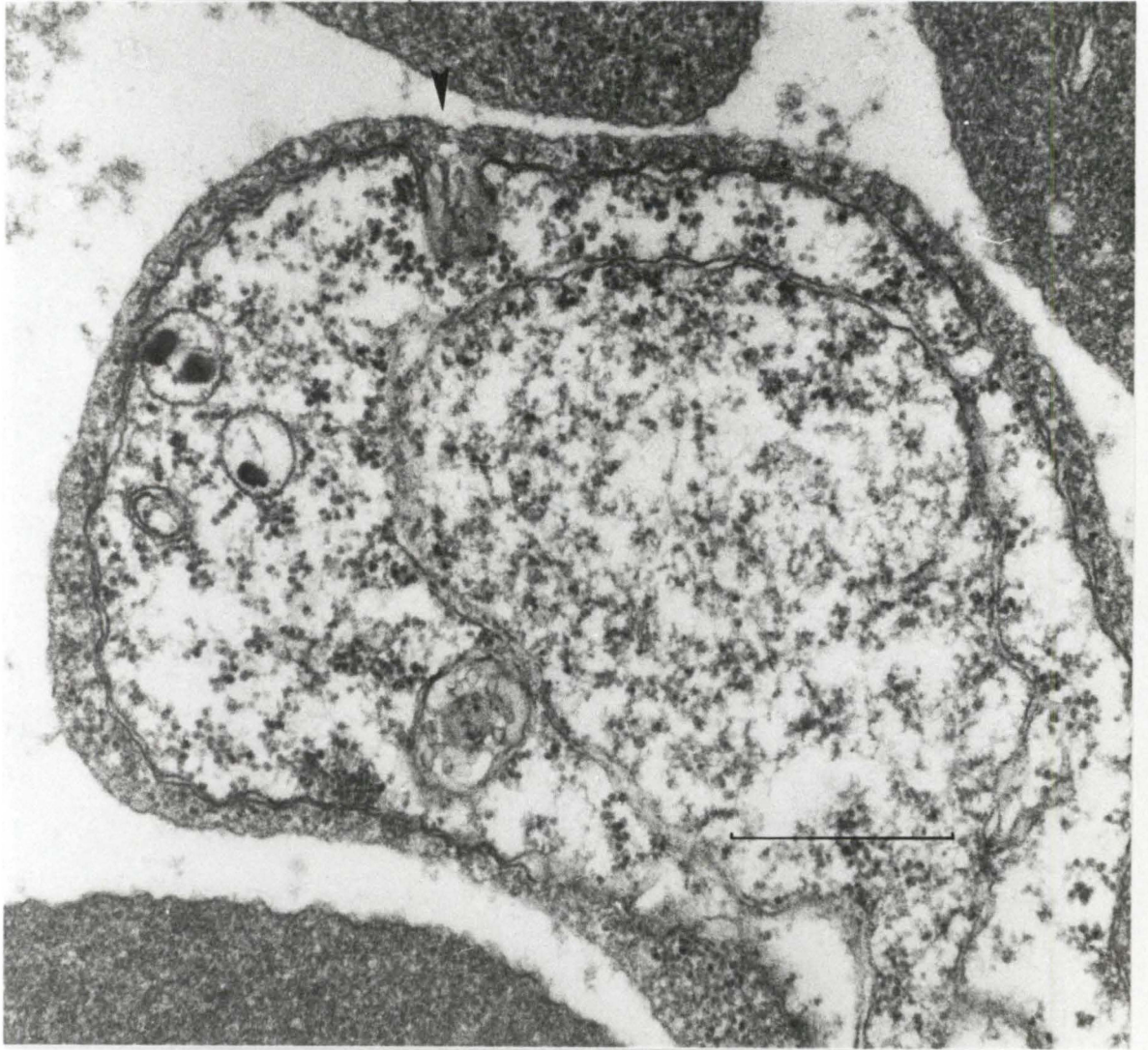


FIG: 3.3.1.31.

57
FIG. 3.3.1.32.

Section d'un réticulocyte dans la lumière d'un capillaire cardiaque.

Ce réticulocyte est parasité par un trophozoïte de P. berghei apparemment en voie de lyse.

Ce réticulocyte est remarquable par la présence de plusieurs particules virales de type C (flèche)

(G : 43200 X)

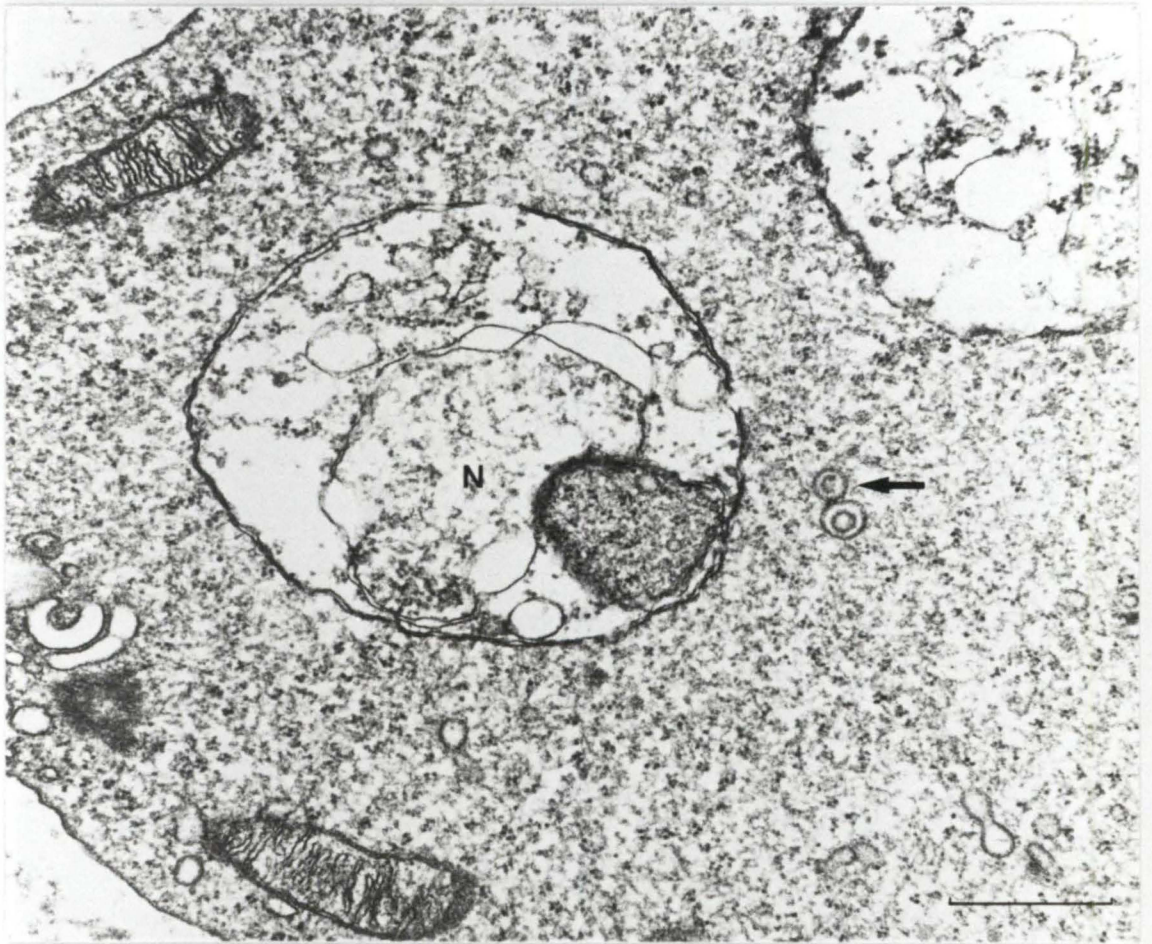


FIG: 3.3.1.32.

FIG. 3.3.1.33.

Section d'un réticulocyte dans un capillaire cardiaque.
Ce réticulocyte est parasité par un trophozoïte âgé et
en voie de lyse probable (cytoplasme peu dense (flèche)).
(G : 15600 X)

FIG. 3.3.1.34

Section d'un réticulocyte dans un capillaire cardiaque.
Ce réticulocyte est parasité par plusieurs parasites.
On y observe 2 micropyles (M) dans l'un d'eux.
(G : 19800 X)



FIG: 3.3.1.33.

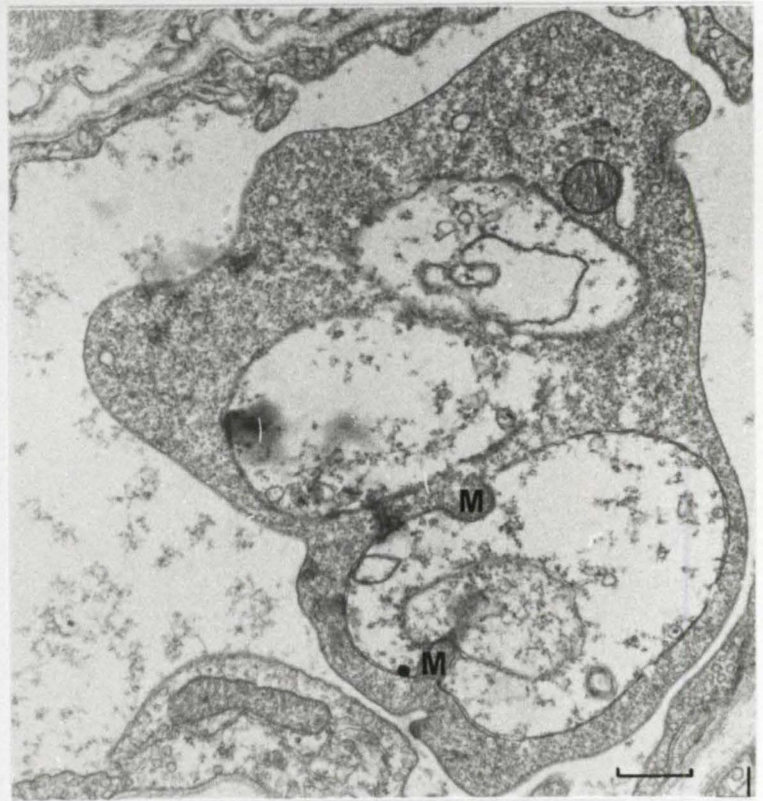


FIG: 3.3.1.34.

FIG. 3.3.1.35

Section d'un globule rouge dans un capillaire cardiaque.

(C.A.) -

On observe une accumulation de liquide dans les espaces intercellulaires (oedème : (O)).

(G : 15600 X)



FIG:3.3.1.35.

FIG. 3.3.1.36

Section d'un réticulocyte parasité par le P. berghei.
On y observe la membrane interne (M.INT.) et la mem-
brane externe (M.EXT.)

(G : 43200 X)

FIG. 3.3.1.37

Section d'un réticulocyte parasité par le P. berghei.
On y observe une mitochondrie en forme d'Haltère (MI),
la membrane interne (M.INT.) et la membrane externe
(M. EXT.)

(G : 96000 X)



FIG: 3.3.1.36.

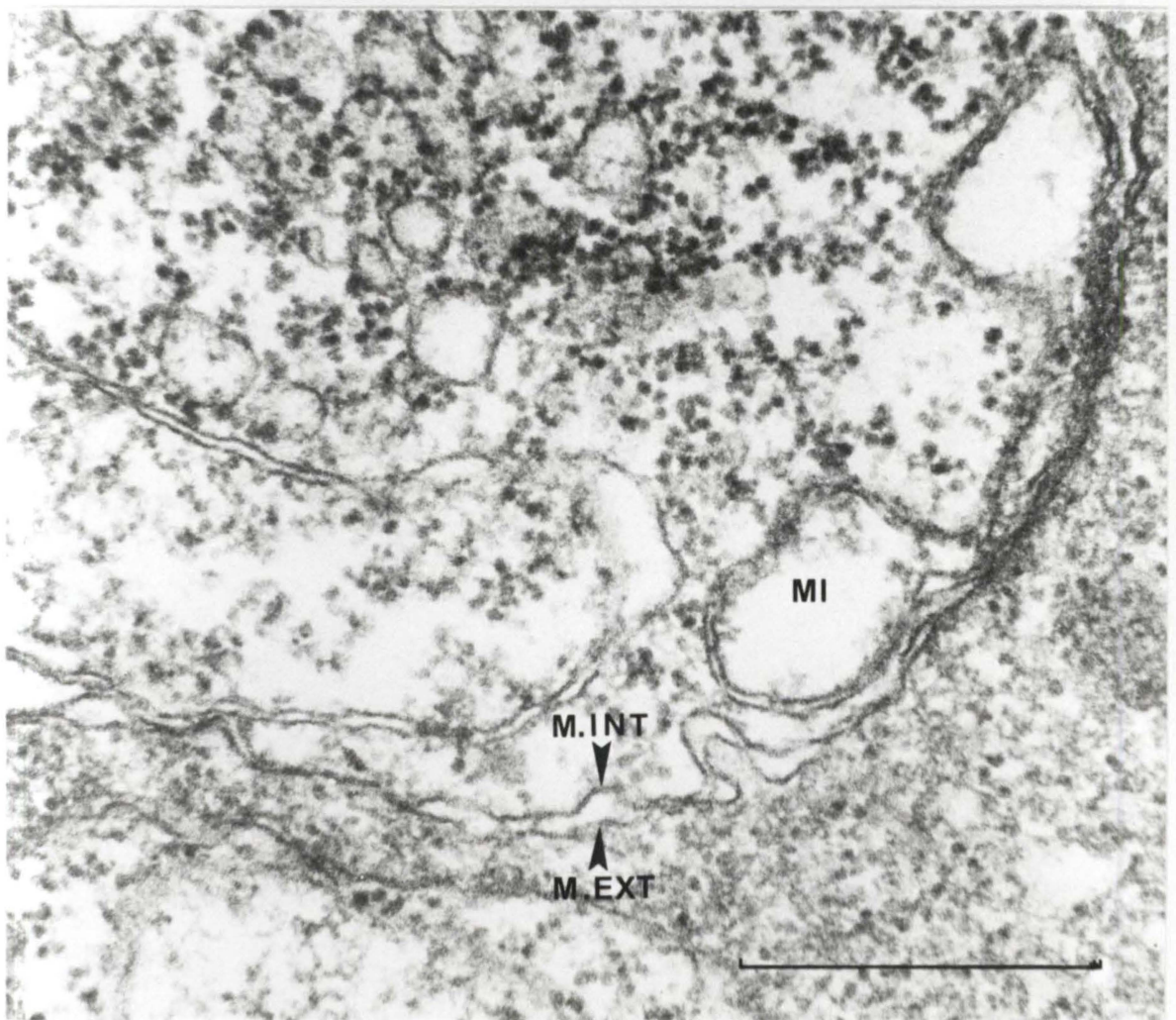


FIG: 3.3.1.37.

EVOLUTION DE LA
SCHIZOGONIE.

FIG. 3.3.1.38

Section d'un réticulocyte du poumon.

Ce réticulocyte est parasité par un P. berghei qui subit une schizogonie.

On y observe un épaississement localisé en périphérie du parasite et un petit espace laissé par la vacuole parasitophore (flèche).

On y observe aussi la présence de deux noyaux (N)
(G : 19800 X)

FIG. 3.3.1.39

Section d'un réticulocyte médullaire.

Ce réticulocyte est parasité par deux P. berghei dont l'un d'eux est en voie de schizogonie.

On y observe plusieurs noyaux (N) et plusieurs épaississements localisés qui commencent à faire protrusion dans l'espace laissé par la vacuole parasitophore (flèche).

(G : 15600 X)

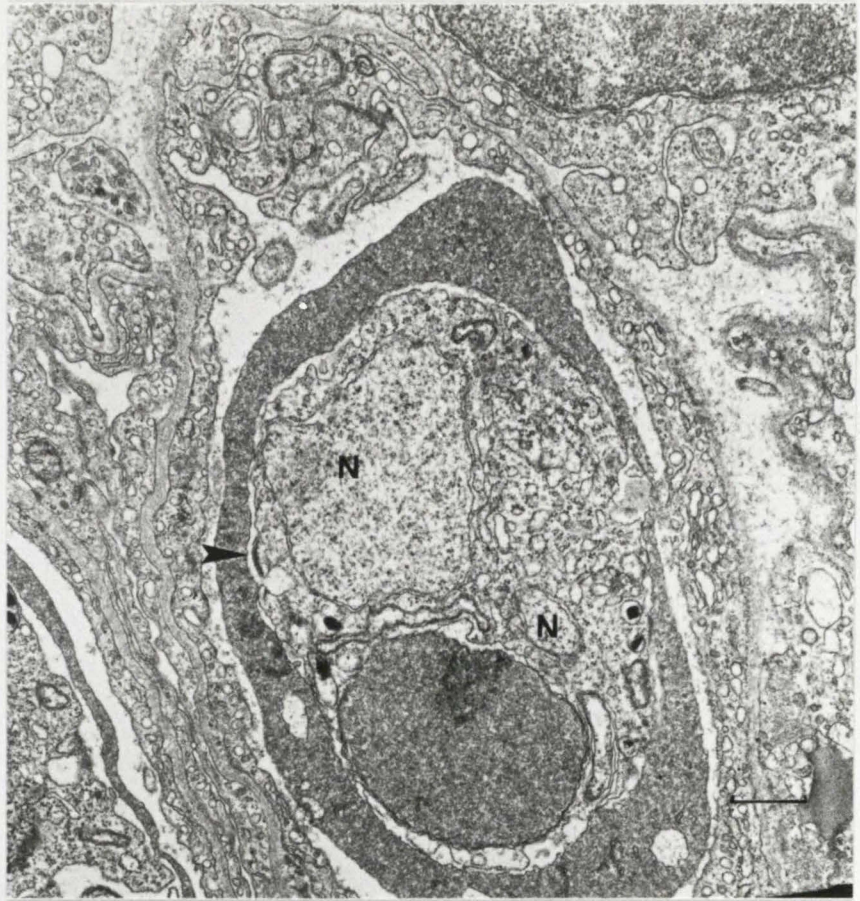


FIG: 3.3.1.38.

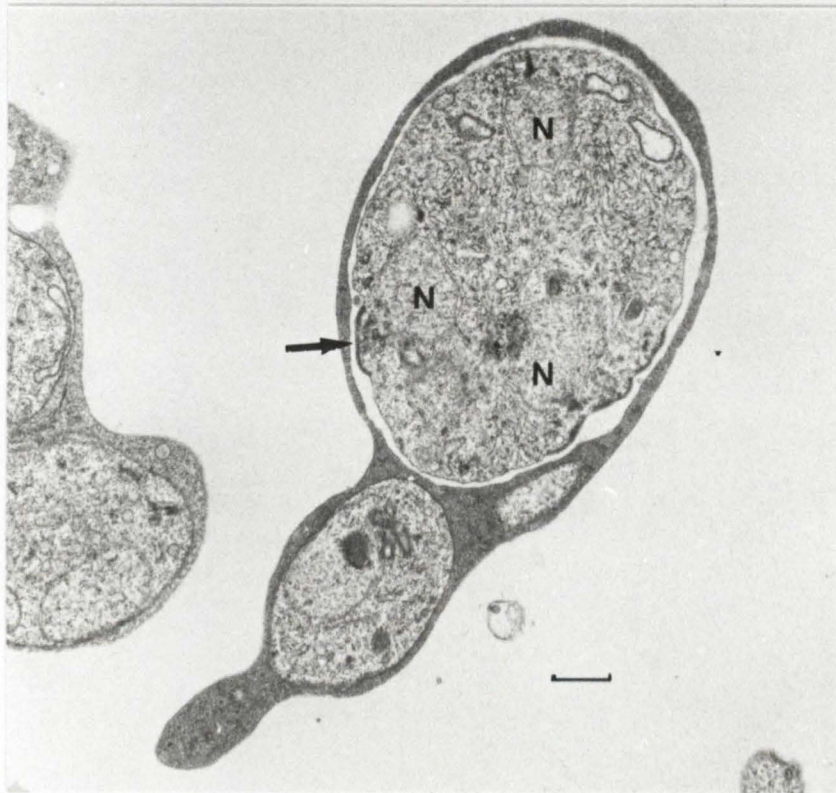


FIG: 3.3.1.39.

FIG. 3.3.1.40

Section d'un globule rouge du foie.

Ce globule rouge est parasité par P. berghei
en voie de schizogonie.

On y observe la présence de plusieurs noyaux (N)
et un épaississement localisé (flèche) dû à la
présence d'une membrane interne.

(G : 43200. X)

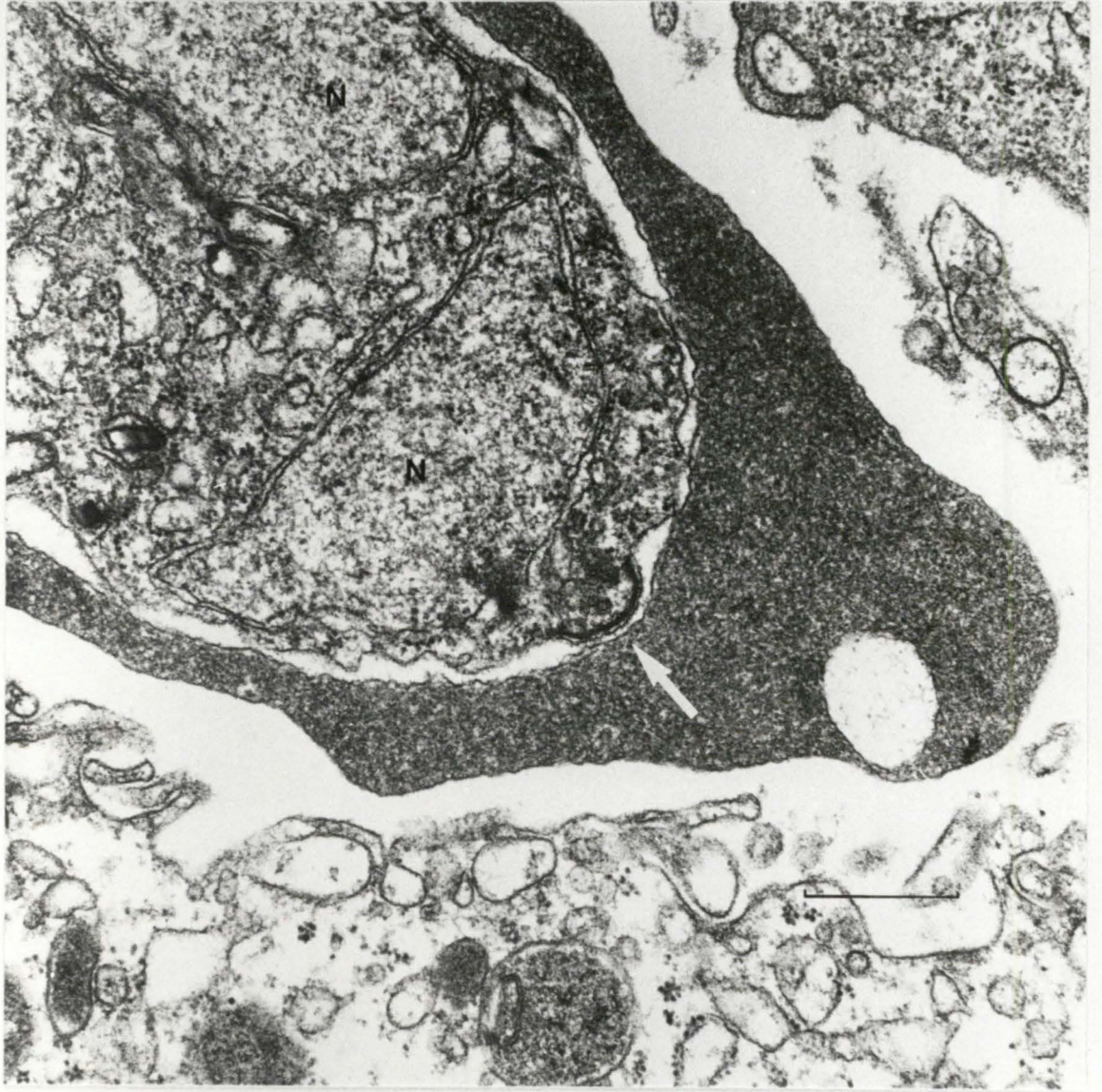


FIG:3.3.1.40.

FIG. 3.3.1.41

Section d'un globule rouge du poumon.

Ce réticulocyte est parasité par un P. berghei
en schizogonie.

On y observe plusieurs épaississements membranaires
faisant protrusion dans la vacuole parasitophore
(flèche)

ainsi que plusieurs noyaux (N)

(G : 19800 X)



FIG:3.3.1.41.

FIG. 3.3.1.42

Section d'un réticulocyte du poumon.
 Ce réticulocyte est parasité par un P. berghei.
 On y observe des mérozoïtes en voie de formation
 avec leur micronèmes (MR) et leur noyau (N) et
 de grands espaces laissés dans la vacuole parasi-
 tophore par les protrusions (flèches)
 (G : 33000 X)

FIG. 3.3.1.43

Section d'un réticulocyte du poumon.
 Ce réticulocyte est parasité par P. berghei.
 On y observe une forte densité de mérozoïtes
 en formation.
 (G : 43200 X)

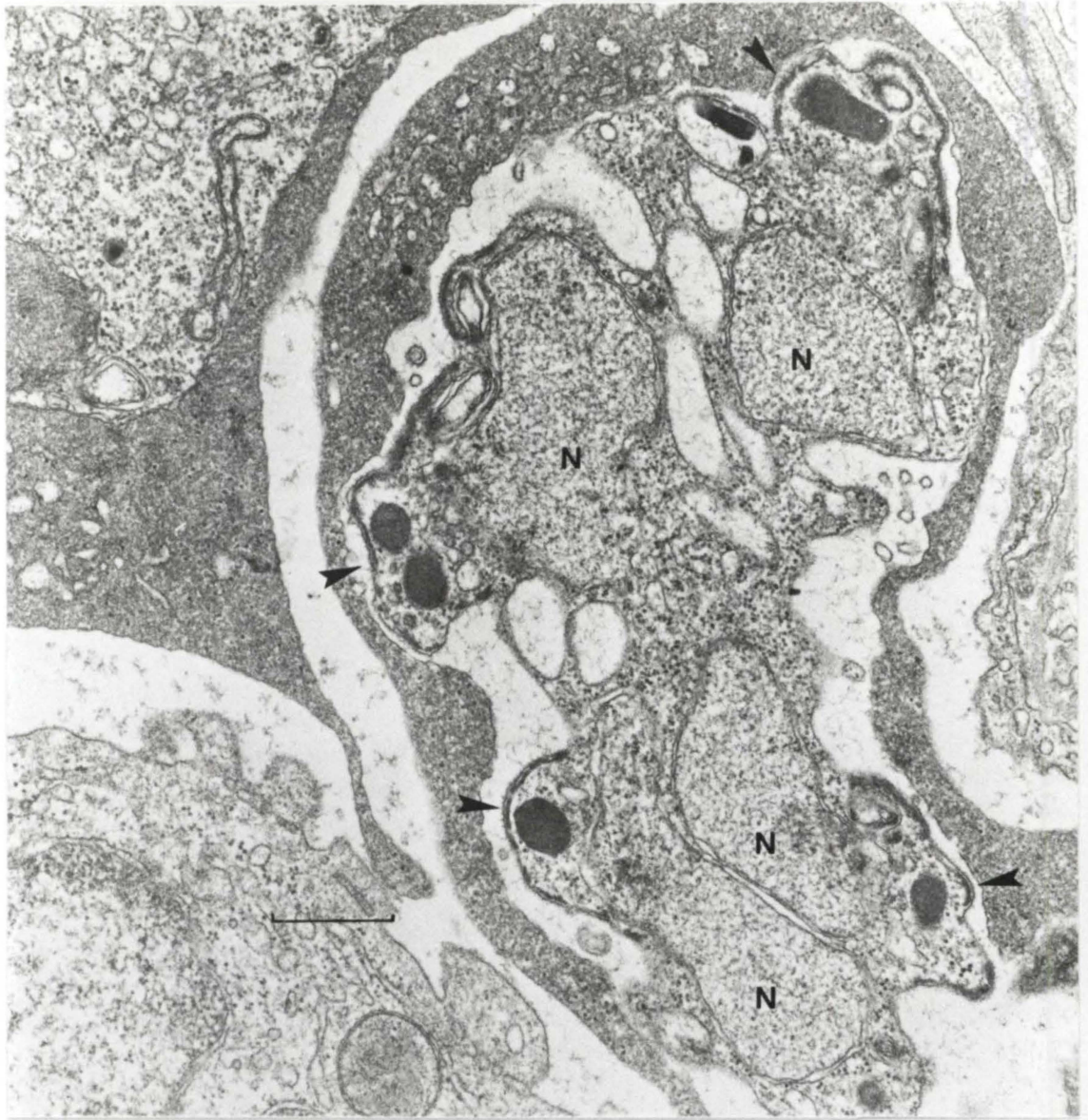


FIG:3.3.1.42.



FIG:3.3.1.43.

FIG. 3.3.1.44

Section d'un réticulocyte du poumon.

Ce réticulocyte est parasité par P. berghei.

On y observe l'organite en forme de poire (rh)
et plusieurs noyaux (N)

(G : 33000 X)

FIG. 3.3.1.45

Section d'un réticulocyte du poumon.

Ce réticulocyte est parasité par P. berghei

On y observe la présence d'un organite en forme de poire (rh) et plusieurs noyaux (N)

(G : 43200 X)

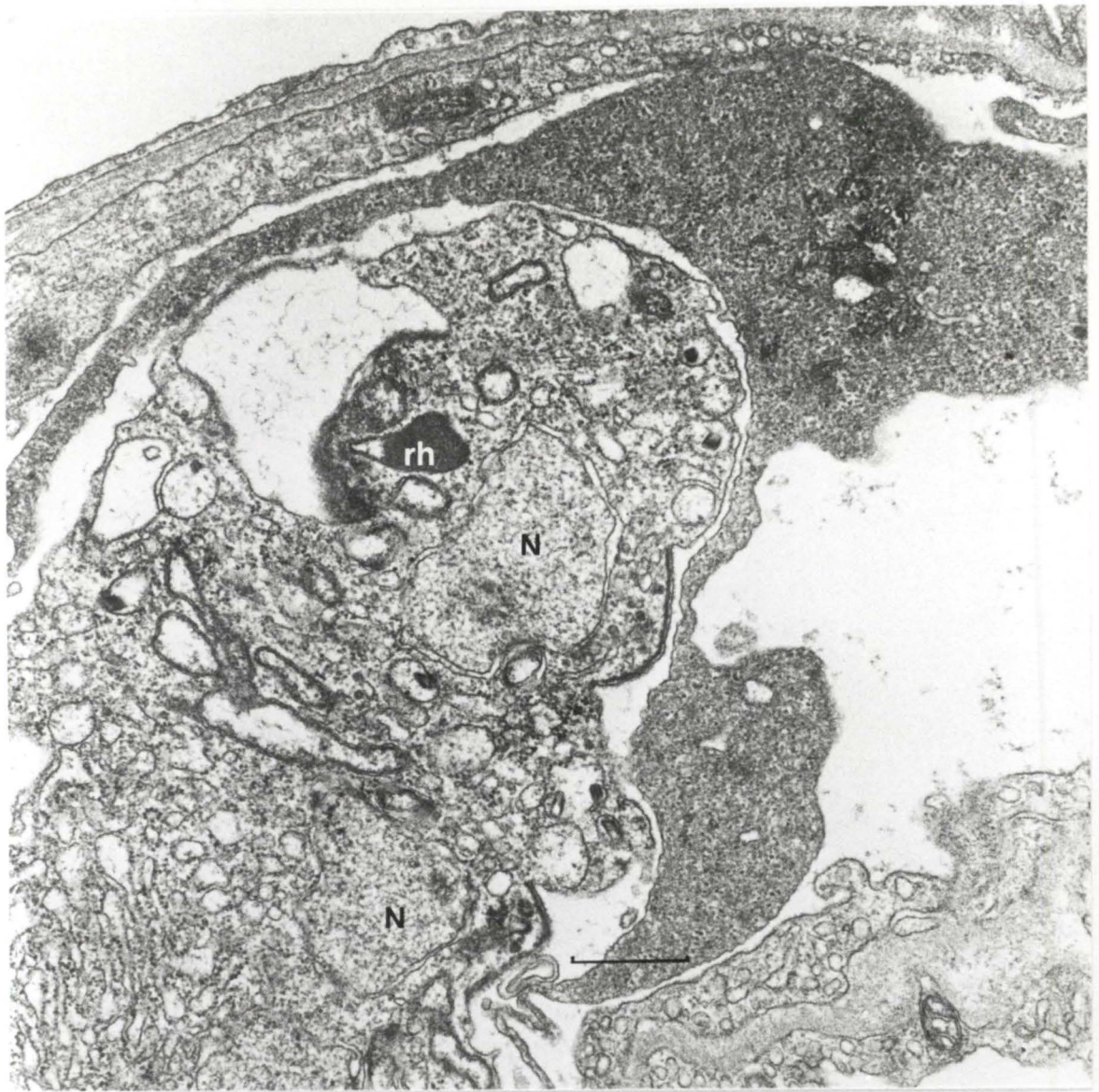


FIG: 3.3.1.44.

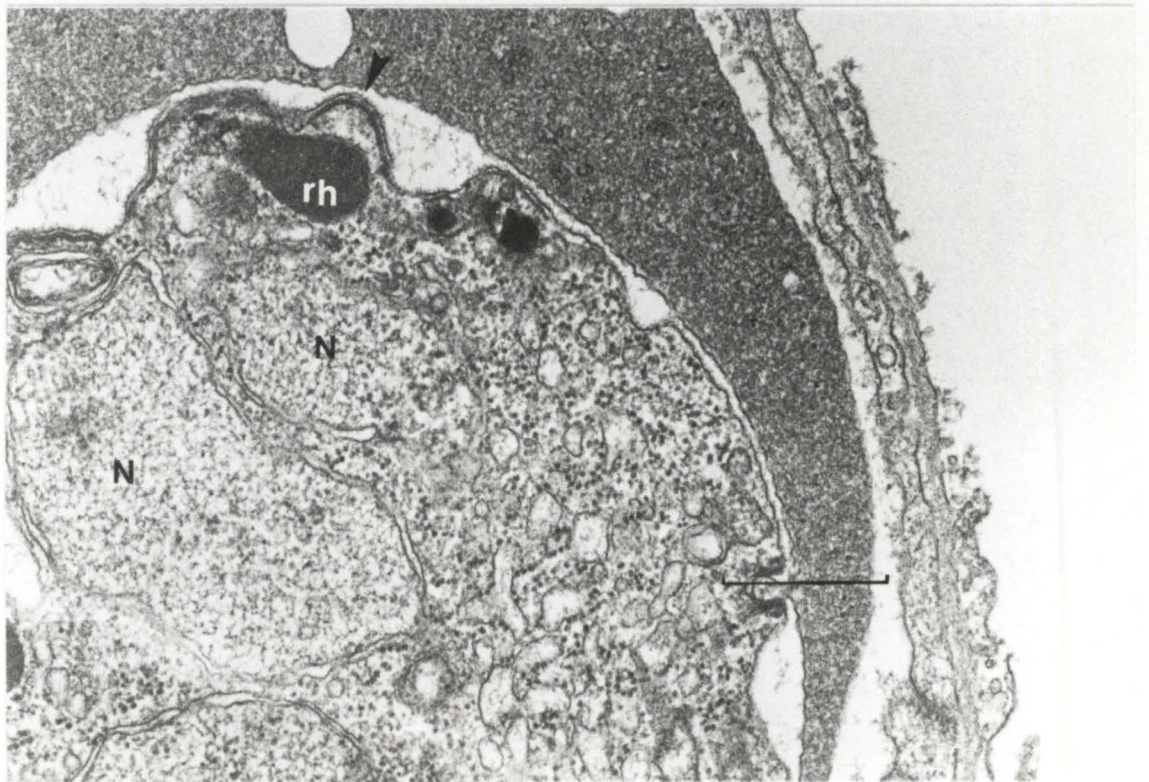


FIG: 3.3.1.45.

FIG. 3.3.1.46

Section d'un réticulocyte du poumon.

Ce réticulocyte est parasité par un P. berghei.

On y observe la formation de deux mérozoïtes

par création d'une "crevasse" (flèche).

(G : 43200 X)



FIG:3.3.1.46.

FIG. 3.3.1.47

Section d'un réticulocyte de la rate.

Ce réticulocyte est parasité par P. berghei

On y observe la formation de deux mitochondries filles (MI) suite à la fission d'une mitochondrie mère.

On y observe aussi le rassemblement de vésicules à pigment dans un corps résiduel (CR) ainsi que la présence de deux noyaux (N)

(G : 33000 X)



FIG: 3.3.1.47.

FIG. 3.3.1.48

Section d'un globule rouge du poumon.

Ce globule rouge est parasité par P. berghei.
On y observe la présence d'un mérozoïte libre
dans la vacuole parasitophore (flèche) et un
produit de sécrétion dont la morphologie fait
penser à un corps multilamellaire (C) largué
dans la vacuole parasitophore.

(G : 19800 X)

FIG. 3.3.1.49

Section d'un réticulocyte du poumon.

Ce réticulocyte est parasité par P. berghei.
On y observe la présence d'un mérozoïte libre
(flèche) dans la vacuole parasitophore, ainsi
que le corps résiduel (CR)

(G : 19800 X)

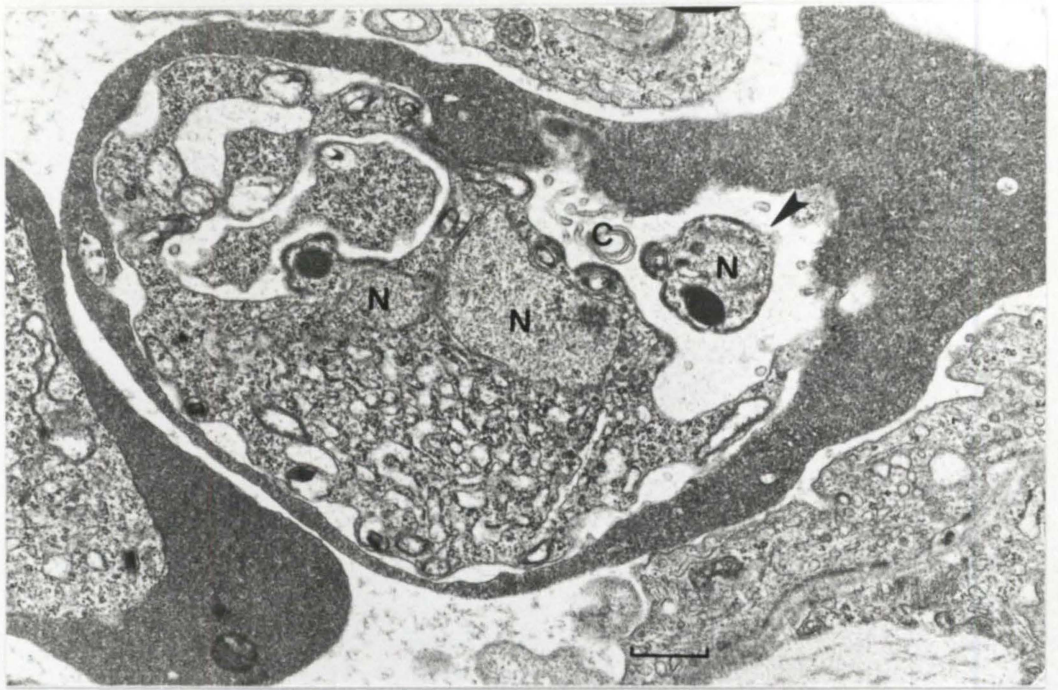


FIG: 3.3.1.48.

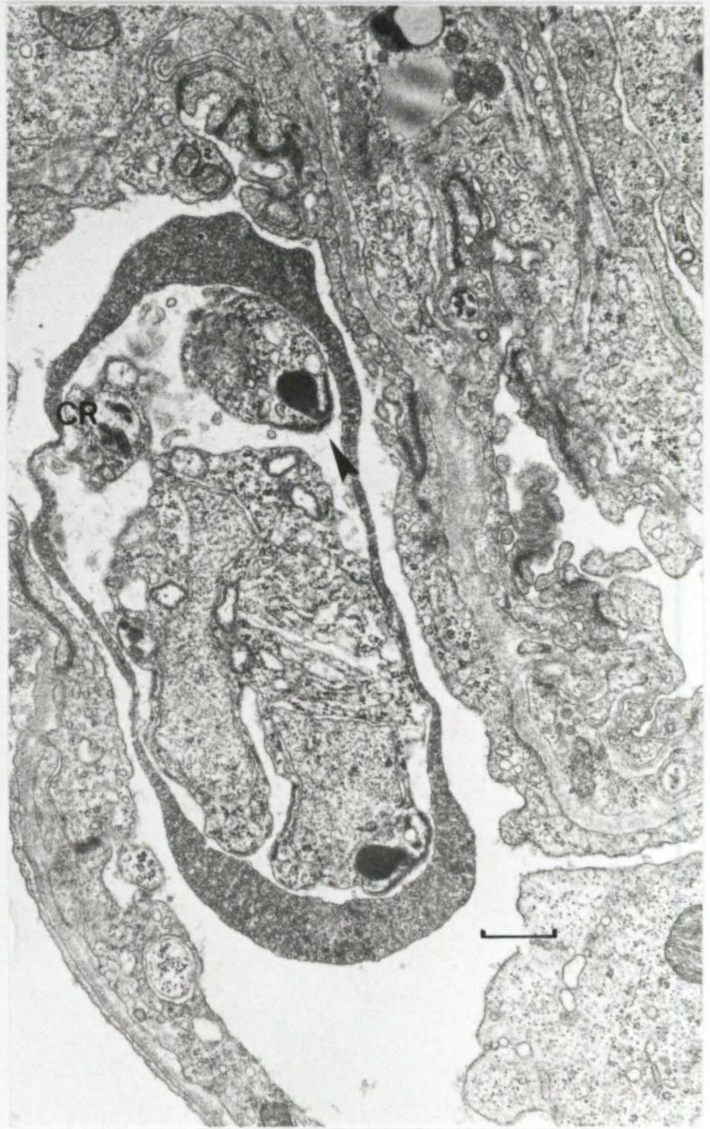


FIG: 3.3.1.49.

FIG. 3.3.1.50

Section d'un réticulocyte du sang.

Ce réticulocyte est parasité par P. berghei.

On y observe le corps résiduel (CR) et un mérozoïte libre.

(G : 60000 X)

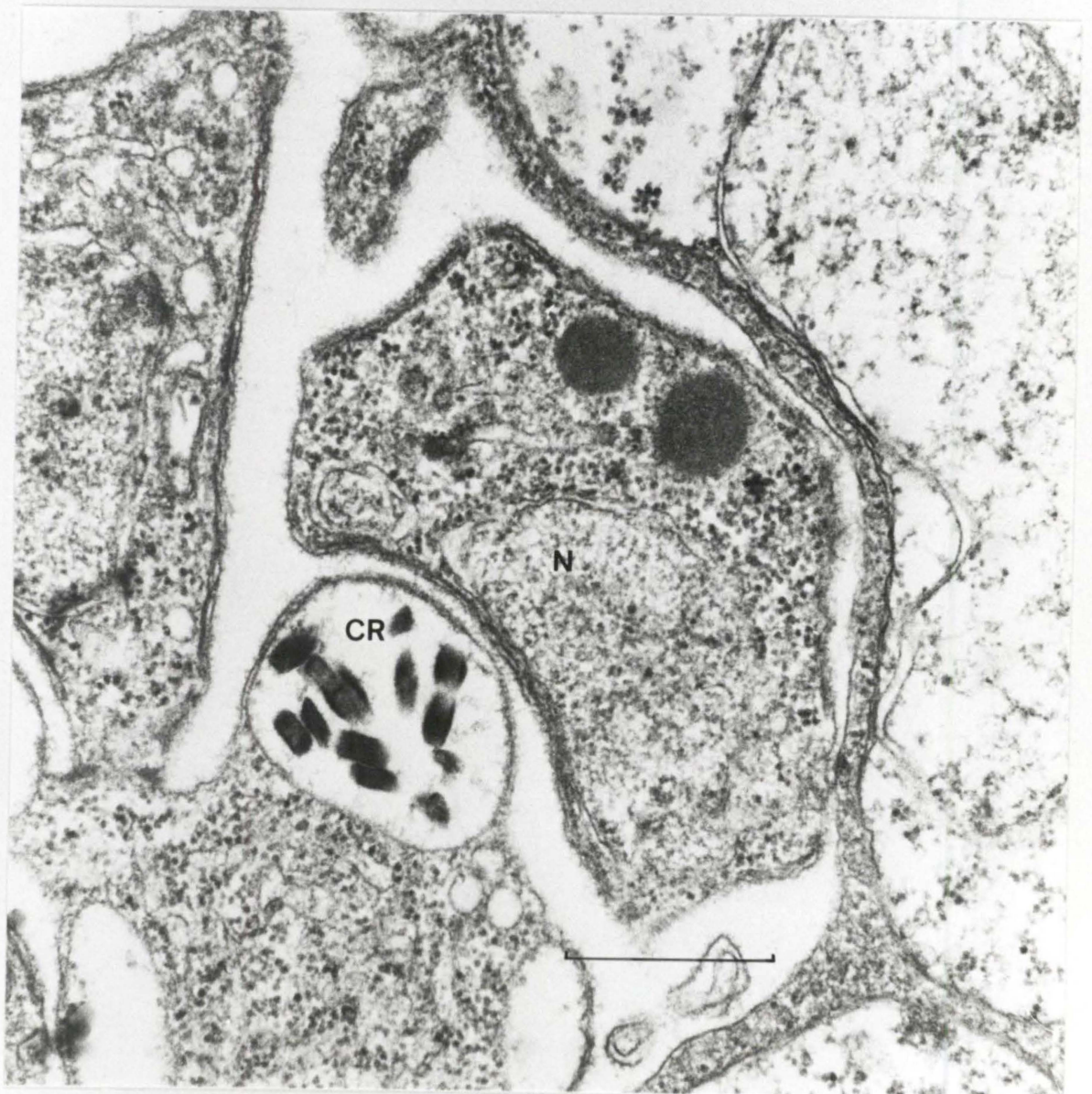


FIG:3.3.1.50.

FIG. 3.3.1.51

Section d'un réticulocyte du poumon.
Ce réticulocyte est parasité par P. berghei.
On y observe plusieurs mérozoïtes libres et
la diminution du parasite originel.
(G : 19800 X)

FIG. 3.3.1.52

Section d'un réticulocyte dans un glomérule rénal.
On y observe à l'intérieur de celui-ci des mérozoïtes
en voie d'expulsion (remarquons les micronèmes, flèche).
(G : 15600 X)



FIG:3.3.1.51.

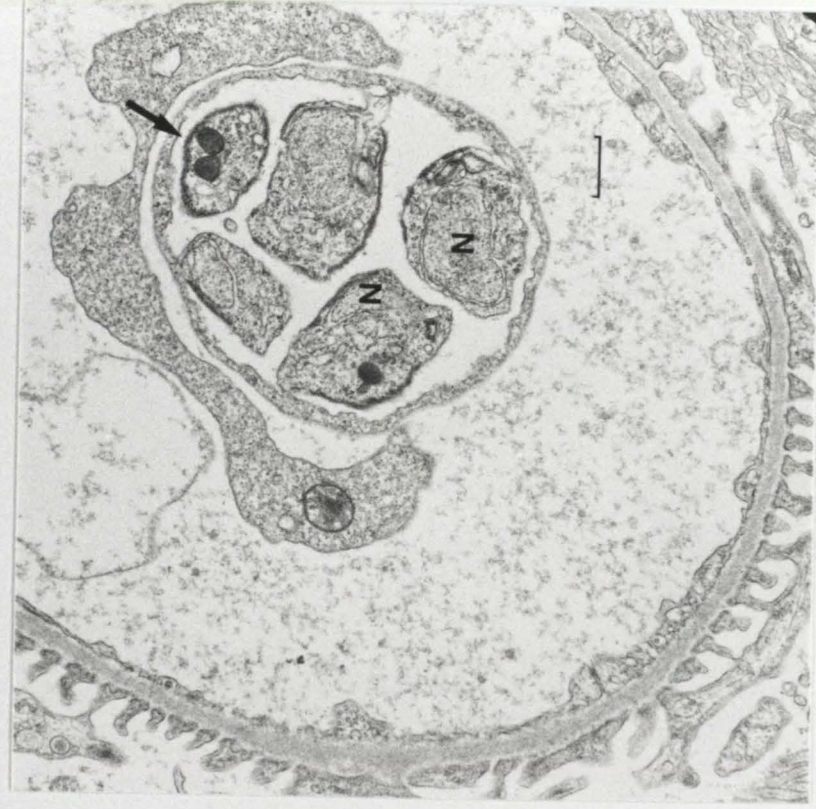


FIG:3.3.1.52.

FIG. 3.3.1.53

Section d'un réticulocyte du sang.

On y observe un mérozoïte libre.

(G : 78000 X)

FIG: 3.3.1.53.



FIG. 3.3.1.54

Section d'un réticulocyte du sang.

Ce réticulocyte est parasité par P. berghei.

On y observe un mérozoïte dans une vacuole parasitophore.

(G : 78000 X)

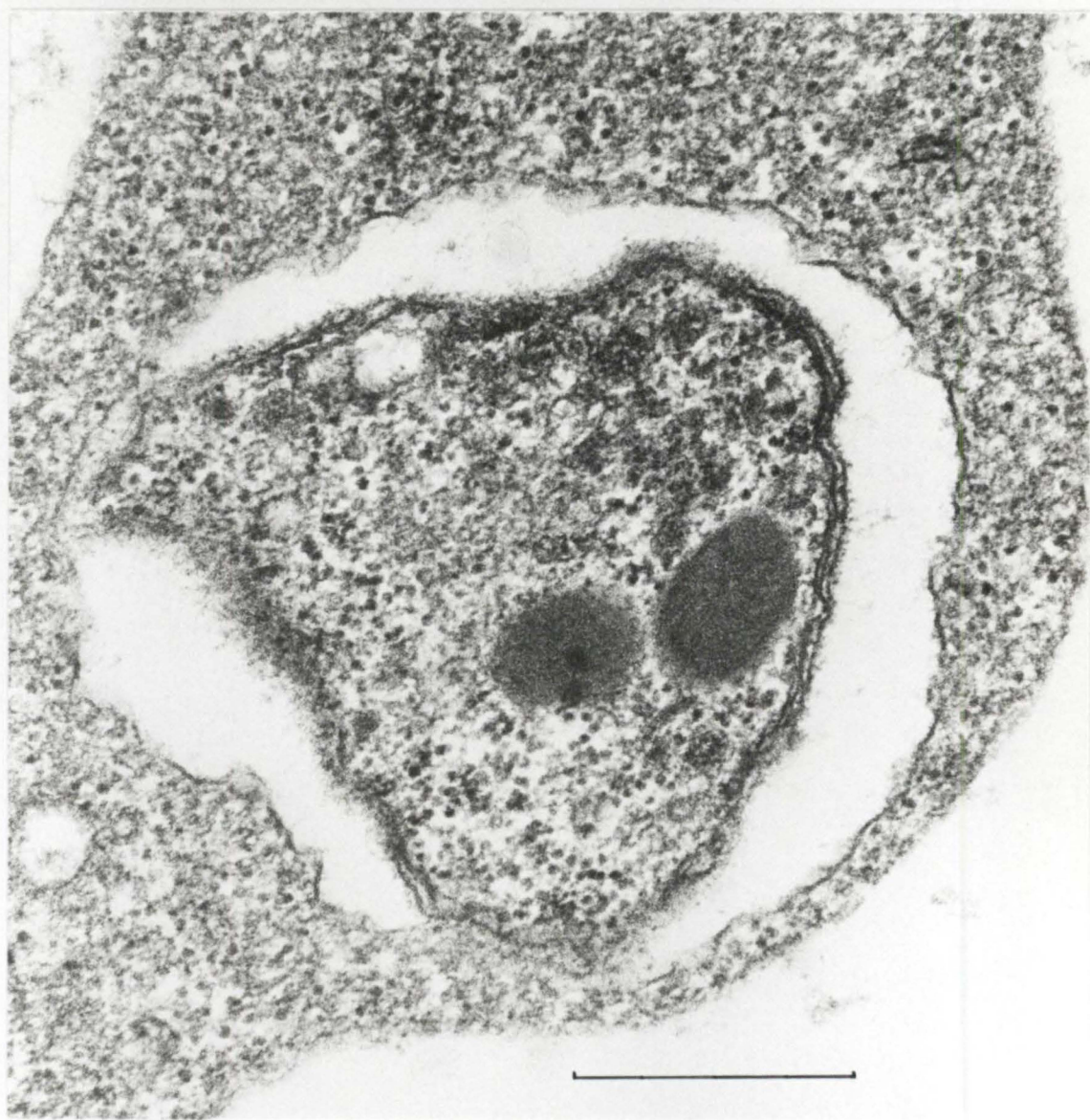


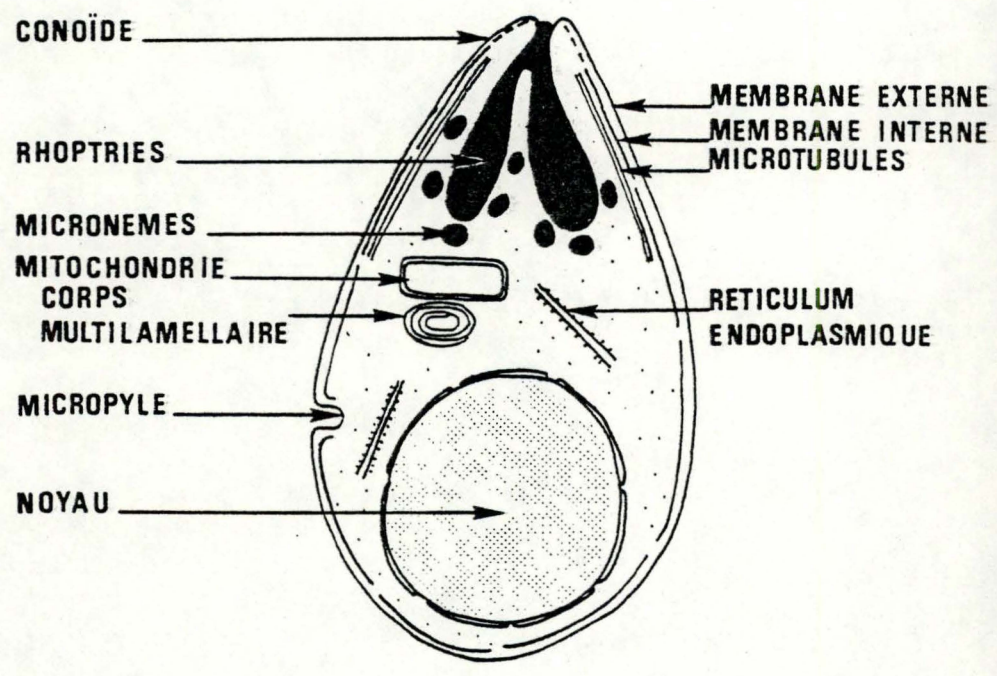
FIG:3.3.1.54.

FIG. 3.3.1.55

Section d'un vaisseau sanguin pulmonaire.

On y observe outre la présence d'un réticulocyte, la présence d'un mérozoïte libre dans la circulation (noyau visible (N)).

(G : 19800 X)



SCHEMA D'UN MEROZOITE

Correspondance figure ↔ Silena ?

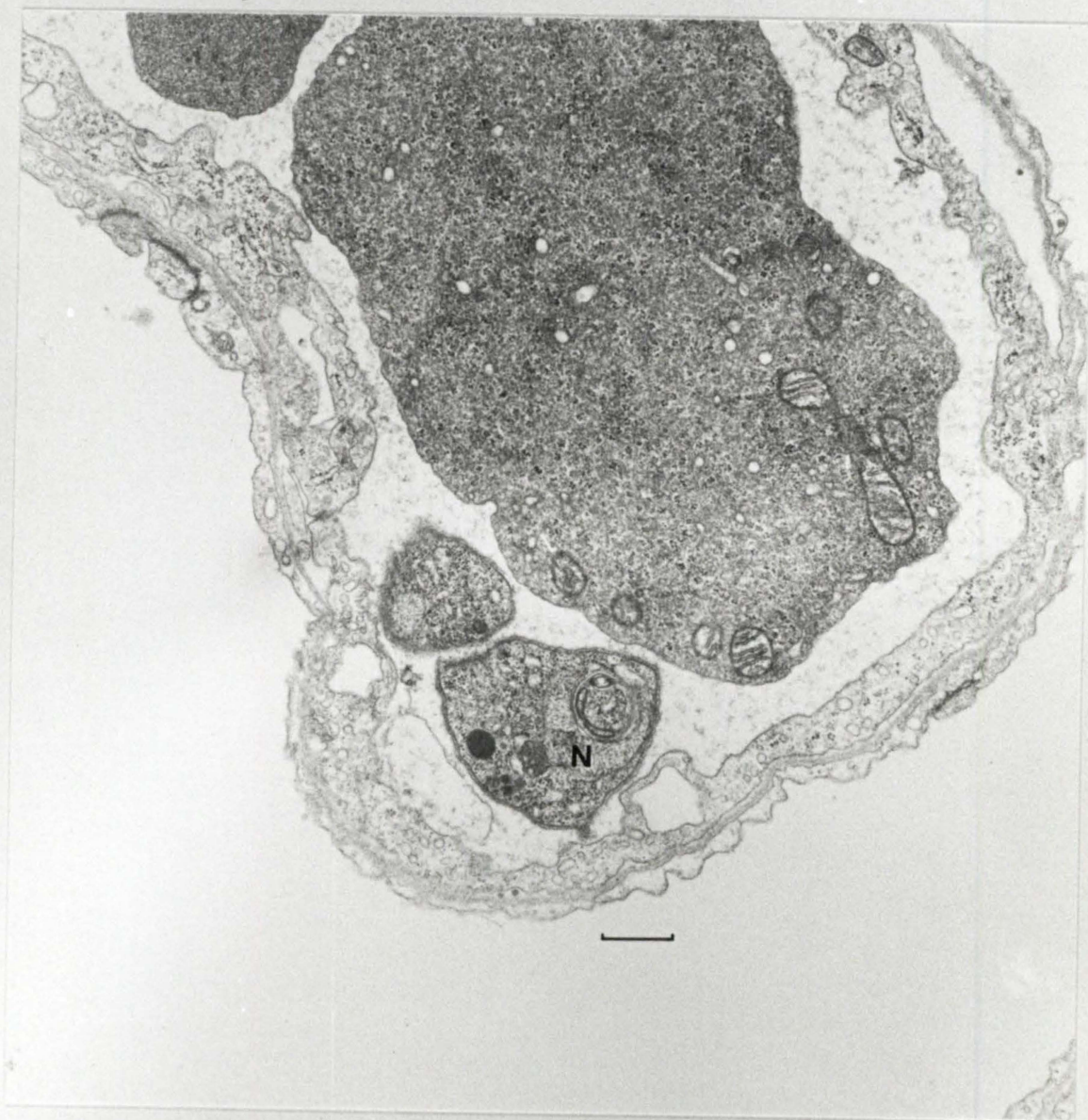


FIG:3.3.1.55.

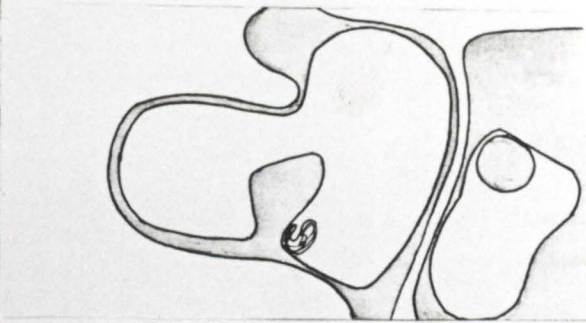
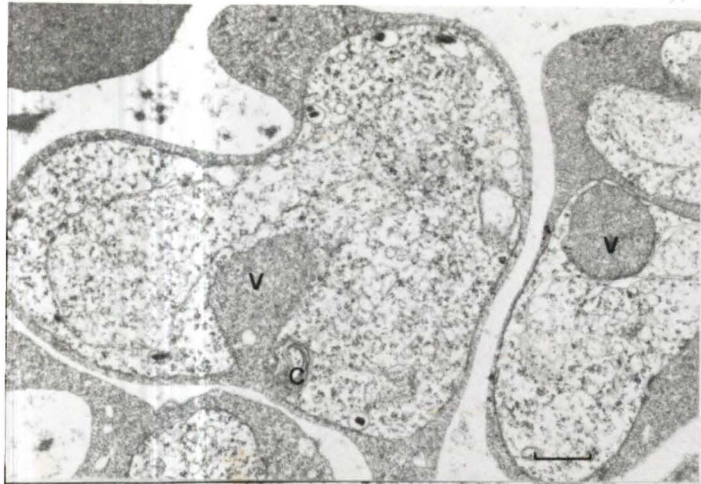
3.3.2 - Etude sur coupes s riees .

L'examen de coupes s riees de trophozoites de P.berghei intraérythrocytaires , montre de façon indubitable que le stroma du globule rouge pénètre dans le plasmodium en une large coul e cytoplasmique qui envahit profondément le trophozoite (FIG.:3.3.2.1 et FIG.:3.3.3.2) . Il est évident que sur certaines coupes isolées , cette abondante coul e de cytoplasme peut parfaitement être interpr t e comme une vacuole nutritive ferm e . Mais ce n'est qu'une illusion ! Car ainsi que l'attestent tous les documents iconographiques obtenus sur des dizaines de coupes de plasmodium , cette apparente vacuole nutritive n'est jamais ferm e sur elle-même ; elle est toujours en communication avec le cytoplasme de la cellule-hôte .

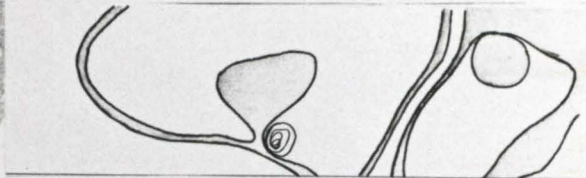
Le lieu de pénétration du cytoplasme érythrocytaire dans le trophozoite est parfois marqué par un épaississement annulaire de la paroi (micropyle) , mais ce n'est pas constant .

FIG:3.3.2.1.

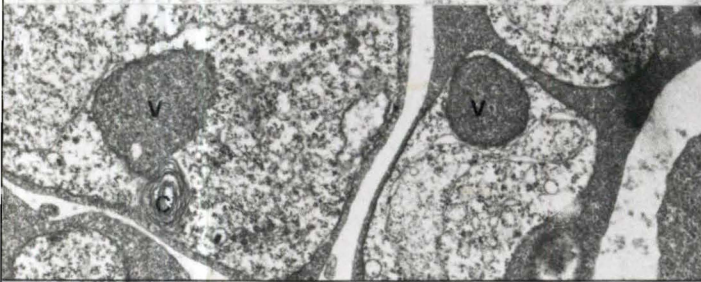
Série de sept coupes consécutives portant sur deux réticulocytes parasités par P.berghei (G.: 19.800) selon les sections examinées , certaines vacuoles (V) apparaissent complètement fermées au sein du parasite (A₃ , A₄ , A₅ , A₆ , A₇ et B₁ , B₂ , B₃ et B₄) , d'autres sont en relation avec le stroma de la cellule-hôte (A₁ , A₂ et B₅ , B₆ et B₇) . Il faut aussi noter la présence du Corps multilamellaire (C) attaché à la membrane plasmique du parasite . Ce Corps multilamellaire semble être en relation morphologique étroite avec la Vacuole nutritive (V) .



A1



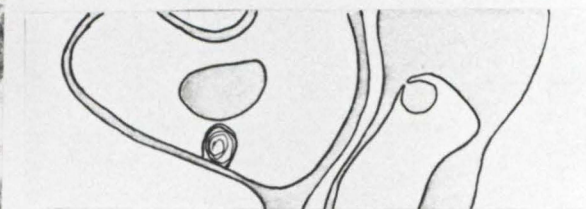
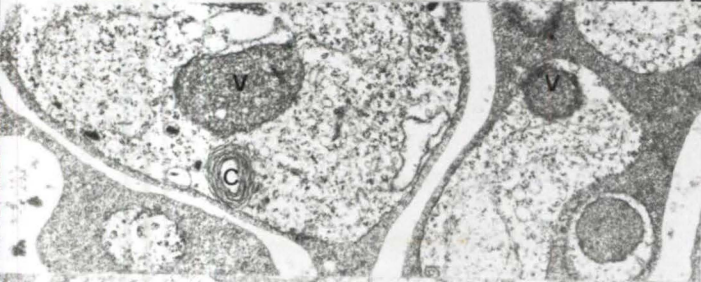
A2



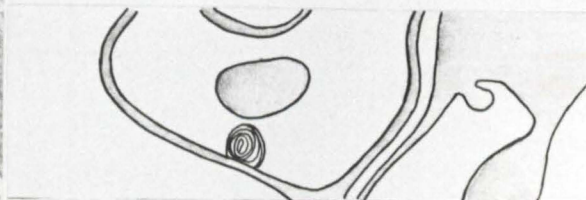
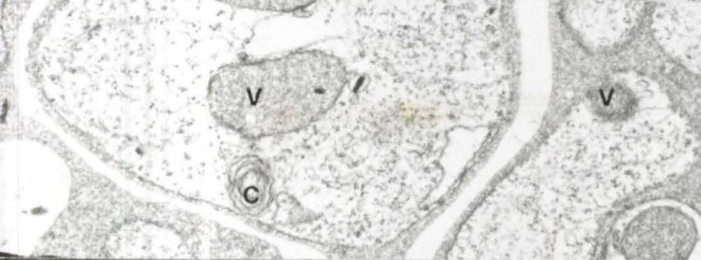
A3



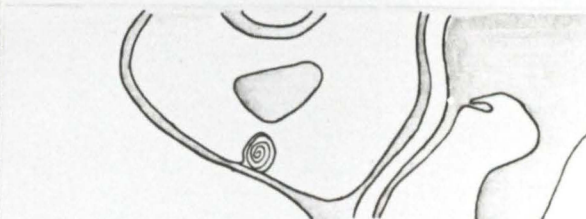
A4



A5



A6

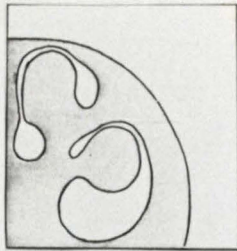


A7

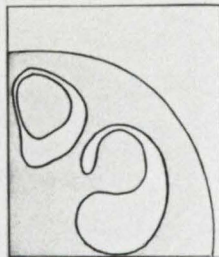
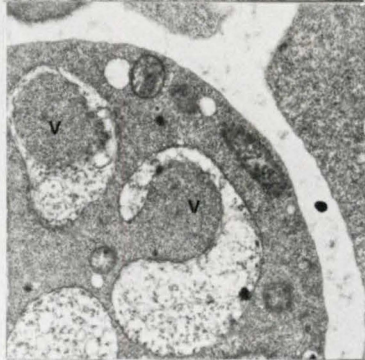
FIG:3.3.2.1.

FIG:3.3.2.2.

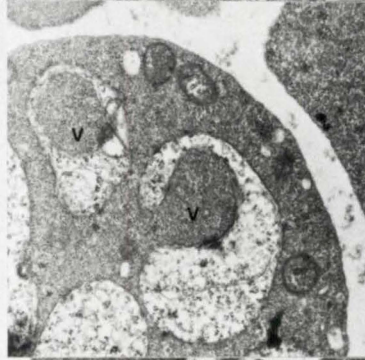
Série de six coupes consécutives portant sur un réticulocyte parasité par plusieurs P.berghei (G.: 25.200); selon les sections examinées , certaines vacuoles apparaissent complètement fermées au sein du parasite (A₂ , A₃ , B₄ et B₅) et d'autres sont en relation avec le stroma de la cellule-hôte par une ouverture de la membrane cellulaire (A₁ , B₁ , B₂ et B₃) . Le contenu de la vacuole apparaît toujours parfaitement semblable au stroma de la cellule-hôte et aucune évolution de ce contenu n'est discernable entre les vacuoles en correspondance avec l'extérieur et celles qui , sur coupes isolées , apparaissent fermées .



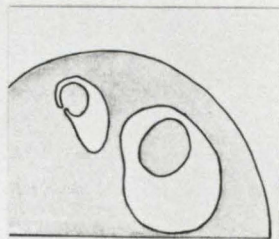
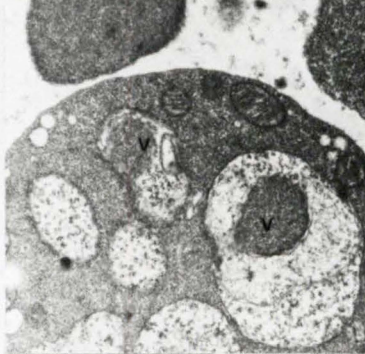
B1



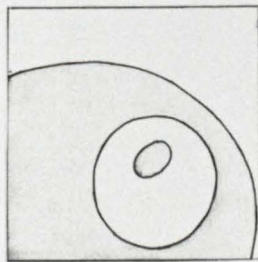
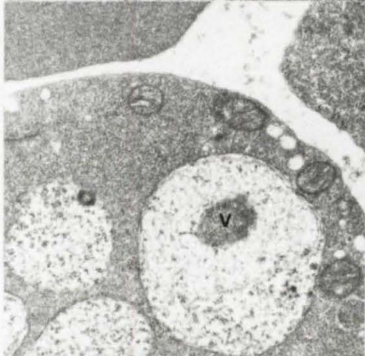
2



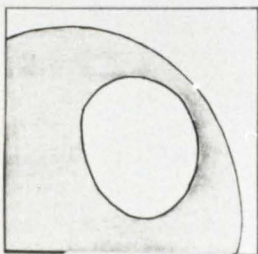
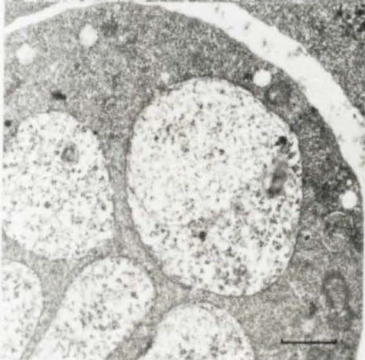
3



4



5



6

FIG:3.3.2.2.

3.4 - Etude en microscopie à balayage de P.berghei .

Les globules rouges parasités observés en microscopie électronique à balayage , présentent des protusions causées par P.berghei . Ces globules rouges ont l'aspect d'une sphère déformée , hérissée , n'ayant plus aucun rapport avec la forme initiale connue de disque biconcave (FIG. :3.4.1) .

En comparant ces images avec celles obtenues en microscopie électronique conventionnelle , on voit que ces protusions s'expliquent par la présence de trophozoïtes de P.berghei sous-jacents à la paroi des globules rouges et produisant parfois des expansions vers l'extérieur de la cellule-hôte . (FIG. : 3.3.1.19 , 3.3.1.20 , 3.3.1.21 , 3.3.1.22 ,3.3.1.23) .

FIG.: 3.4.1

Cette micrographie met en évidence l'aspect des globules rouges parasités par P.berghei ; ces globules n'ont plus leur morphologie primitive en forme de disque biconcave , mais présentent un aspect déformé avec des invaginations et une surface mamelonnée (G.:11.100) .

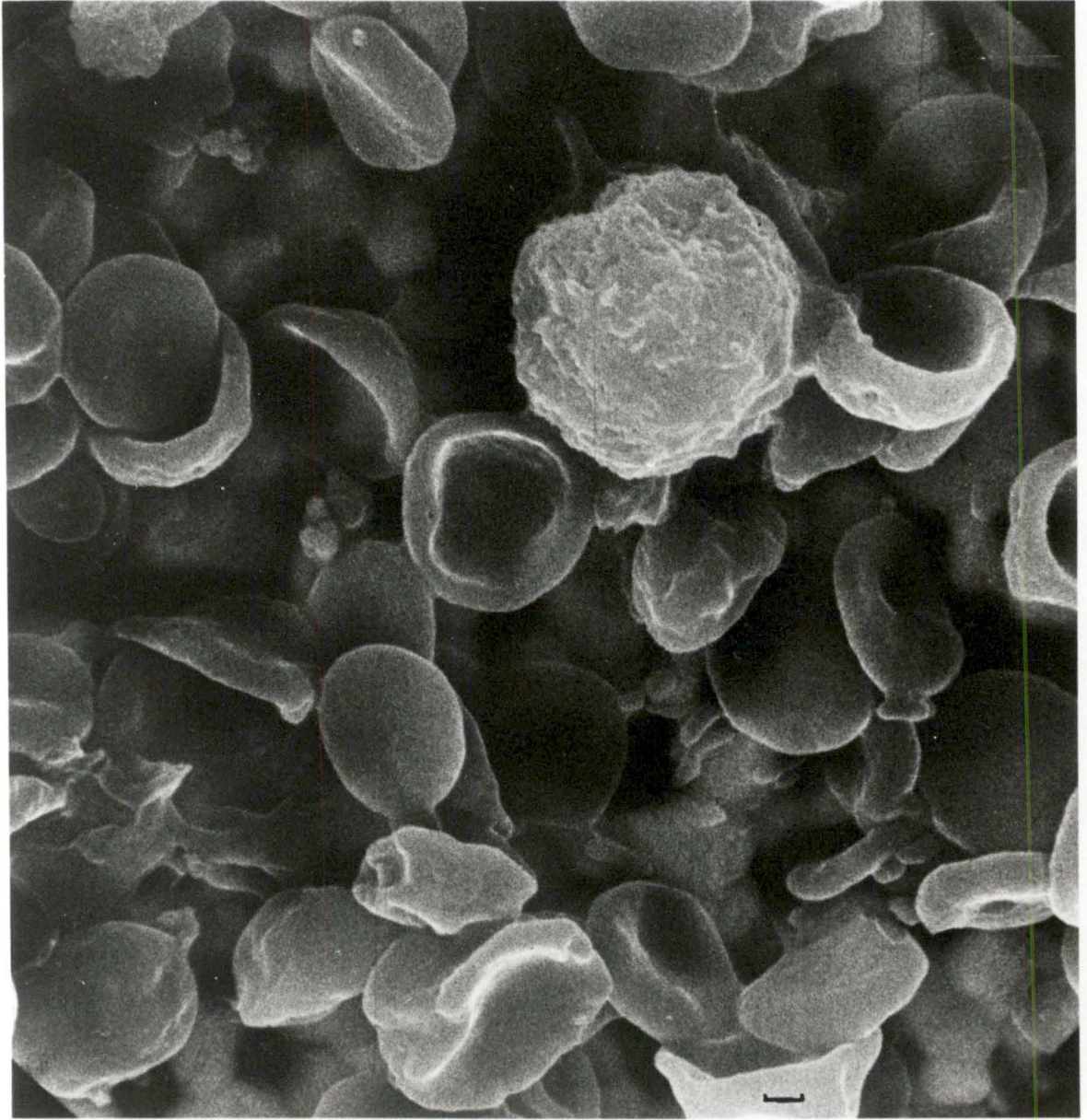


FIG:3.4.1.

CHAPITRE 4 - DISCUSSION ET CONCLUSIONS .

L'étude morphologique ultrastructurale devait apporter beaucoup d'informations concernant le mécanisme de la nutrition de P.berghei . Cependant , la visualisation des vacuoles dans le parasite n'indique en aucune manière quel est le lieu effectif du catabolisme , ni le moyen exact employé pour la digestion .

Les observations en microscopie électronique de P.berghei sur des coupes isolées , nous permettent de confirmer les caractéristiques générales de ce parasite publiées antérieurement , sauf en ce qui concerne certains points , comme la présence d'une mitochondrie unique ; en effet , il nous est arrivé d'observer plusieurs mitochondries . En 1970 , Blackburn et Vinijchaikul font déjà une telle constatation et l'expliquent en supposant qu'elle résulte de l'observation d'une coupe tangentielle d'une mitochondrie de forme courbe .

Nous avançons une autre hypothèse : il s'agirait de l'observation d'un trophozoïte en début de schizogonie , stade qui s'annoncerait par un dédoublement de sa mitochondrie .

A propos du corps multilammellaire , nous pouvons confirmer ce qui a été dit dans la littérature pour l'aspect morphologique tout au moins .

Quant à l'aspect fonctionnel , qui rappelons-le , n'a pas encore été éclairci , pour obtenir de plus amples informations , il serait indispensable de faire appel à des techniques telles que le fractionnement cellulaire et la cytochimie .

Les observations au microscope électronique faites sur des coupes sériées , nous ont montré que des coulées importantes de cytoplasme de la cellule-hôte s'enfoncent dans le plasmodium lui conférant ainsi une image de bague . Cela a pour effet d'augmenter considérablement la surface du contact entre le plasmodium et le cytoplasme de sa cellule-hôte .

Nous manquons encore de données quant aux détails du processus d'endocytose par le trophozoïte .

Au cours de ce travail , nous n'avons pu observer que très rarement l'appareil de Golgi . Il est d'ailleurs très peu mentionné dans la littérature .

Au point de vue des granules de sécrétions observés , il pourrait s'agir d'amas de protéines antigéniques .

Des lacunes énormes énormes restent à combler au point de vue biochimique pour mieux connaître ce parasite . Des éléments de réponse pourraient être apportés grâce aux techniques modernes de fractionnement cellulaire et d'enzymologie , en ce qui concerne principalement :

- l'appareil de Golgi
- le système lysosomal
- le corps multilamellaire
- les granules de sécrétion
- les vésicules à pigment .

En conséquence , une étude morphologique , à elle seule , ne pourra pas apporter de réponses complètes aux questions posées .

Dans un cadre plus général , il serait intéressant de pousser les études en pharmacologie en associant une étude systématique en biochimie fondamentale à une étude morphologique en microscopie électronique sur coupes sériées , à deux groupes d'animaux : d'une part des animaux infestés par P.berghei qui serait le groupe témoin , et d'autre part des animaux parasités par P.berghei subissant un traitement avec divers antimalariques .

Une telle étude comparative permettrait de mieux connaître l'effet des antimalariques actuels de manière à permettre la synthèse d'autres plus efficaces encore .

AIKAWA M. (1966)

The fine structures of the erythrocytic stages of three avian malarial parasites P. fallax, P. lophurae and P. cathemerium.

J. Trop. Med. Hyg., 15, 449-471.

AIKAWA M. (1967)

Ultrastructure of the pellicular complex of Plasmodium fallax.

J. Cell Biol., 35, 103-113.

AIKAWA M. (1971)

Parasitological Review.

Plasmodium : The Fine Structure of Malarial Parasites.

Exp. Parasit., 30, 284-319

AIKAWA, M., COOK R.T., SAKODA J.J. and SPRIZ H. (1969a)

Fine structure of erythrocytic stages of P. knowlesi : A comparison between intracellular and free forms.

Z. Schr. für Zellforsch und Mikrosk. Anat., 100, 271-284

AIKAWA M., COOK R., SAKODA J. and SPRINZ H. 1969

Fine structure of the erythrocytic stages of Plasmodium knowlesi : a comparison between intracellular and free forms.

Z. Schr. Zellforsch., 100, 271-284.

AIKAWA M., and JORDAN H. (1968)

Fine structure of reptilian malarial parasites.

J. Parasitol., 54, 1023-1033.

AIKAWA M., MILLER L.H., JOHNSON J., RABEGE J. (1978)

Erythrocyte entry by Malarial parasites.

A moving function between Erythrocyte and Parasite.

J. Cell Biol., 77, 72-82.

AIKAWA M., HUFF G.C., SPRINZ H. (1967)

Fine structure of the Asexual stages of Plasmodium elongatum.

J. Cell Biol. 34, 229-249

. AIKAWA M. et THOMPSON P.E. (1971)

Localization of acid phosphatase activity in Plasmodium berghei and P. gallinaceum : an electron microscopic observation.

J. Parasit., 3, 603-610.

. BAKER, J.R. (1970)

Fine structure of Plasmodium in relation to locomotion. Proceedings of the IInd International Congress of Parasitology Washington, D.C., 16.

. BLACKBURN W.R., KAMOLWAT M.D., VINIJCHAIKUL M.D. (1970)

Experimental Mammalian Malaria.

I. The asexual development of Plasmodium berghei.

Trophozoites in inbred Mice.

Lab. Invest., 22, 417-431.

. BLACKBURN W.R. and VINIJCHAIKUL K. (1970)

Experimental mammalian malaria.

I. The asexual development of P. berghei trophozoites in inbred mice.

Lab. Invest. 22, 417-429

. BROOKS C. and KREIER J.P. (1978)

Role of surface coat in *in vitro* attachment and Phagocytosis of P. berghei by peritoneal macrophages

Infect. Immun., 20, 827-835.

. BOYD M.F. and STRATMAN-THOMAS W.K. 1934.

Studies on benign tertian malaria.

F. Some observations on inoculation and onset.

Amer. J. Hyg., 20, 488-495.

. CHARET P., SLOMIANNY C., PRENSIER G., MOREAU S. (1984)

Plasmodium sp. et dégradation de l'Hémoglobine. Mécanisme et relations avec les antimalariques.

Ann. Biol., 23, 32-60

. CHEISSIN E.M., CHEYSIN E.M. et SNIGIREVSKAYA E.S. (19

Some new data on the fine structure of the mérozoites of Eimeria intestinalis.

Protistologica, 1, 121-128.

A M., BALLIF L., CHELARESCO M., SANOS M. et GLASER L.,

Contributions à l'étude de la tierce maligne expérimentale.
Le rôle infectant du sang au cours de l'incubation.

Malarial, 16, 85-90

LEY N.H., 1945.

Therapeutic suppression and prophylaxis in malaria.
Experimental investigation undertaken by medical
arch teams in Australia.

s. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg., 38, 311-355.

ETT D.W. 1966

The Cell, Its Organelles and Inclusions.

. Saunders Co, Philadelphia.

TON J.D. and FLEWELT, T.H. (1956)

relations of P. berghei and P. knowlesi
their respective red cell hosts.

ns. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 50, 150-156

NHAM P.C.C., 1948.

developmental cycle of Hepatocystes (Plasmodium) Kochi
the monkey host.

ns. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg., 41, 601-616.

NHAM P.C.C., BIRD R.G., BAKER J.R. et BRAY R.S.
D).

lectron microscope studies of motile stages of malaria
asites. I. The fine structure of the sporozoite of
moeba (Plasmodia) gallinacea.

ns. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 54, 274-278

ASSI B., 1900

udi di uno zoologo sulla malaria.

ti della R. Accad. dei Lincei.

m. della Classe di Scienze Fis.

t. et Nat., 3, 289-512.

LER, P.K., HUFF C.G. and SPRINZ H. (1966).

fine structure of the exoerythrocytic stages of P. Fallax

Cell. Biol, 30, 333-358.

. HOWELLS R.E., PETERS W., THOMAS E.A. (1968)

The Chemotherapy of rodent malaria, IV
Host-parasite relationship between haemozoin formation
and host-cell age in chloroquine and primaquine - resistant
strains of Plasmodium berghei.

Ann. Trop. Med. Parasit., 62, 271-275

. HOWELLS, R.E., PETERS W. and FULLARD J. (1969)

Cytochrome oxidase activity in a normal and some drug -
resistant strains of P. berghei - A cytochemical study. I.
Asexual erythrocytic Stages.

Mil. Med. 134, 893-915.

. HOWELLS R.E., PETERS W., et THOMAS E.A. (1968)

Host parasite relationship part 4 : the relationship
between haemozoin formation and host cell age in
chloroquine and primaquine resistant strains of
Plasmodium berghei.

Ann. Trop. Med. Parasit., 62, 271-276.

. HUFF C.G., 1947.

Life cycle of malaria parasites.

Ann. Rev. Microbiol., 1, 43-60

. HUFF C.G. (1969)

Parasitological review. Exoerythrocytic stages of avian
and reptilian malarial parasites.

Exp. Parasitol, 24, 383-421.

. JADIN J., YOELI M. and PIERREUX G. (1959)

Reapparition du processus d'exflagellation chez une souche
de P. berghei régulièrement entretenue par passage mécanique

Ann. Soc. Belge Méd. Trop. 39, 1 - 4.

. JADIN J.M., CREEMERS J., LE RAY D. (1968)

Ultrastructure et biologie de Plasmodium vinckei, Rodhain
1952.

I. L'absorption et la digestion de l'hémoglobine chez les
trophozoites.

Ann. Soc. belge Méd. Trop. 48, 497-502.

. JAMES S.P., 1931.

Some general results of a study of induced malaria in
England.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. 24, 477-538

KUTH W., 1935

immunologie expérimentale et la chimiothérapie du malarisme.

v. Malar., Suppl. 14, n° 6, 71-80.

LADDA R., ARNOLD J. and MARTIN D. (1966)

Electron microscopy of P. falciparum

. The structure of trophozoites in erythrocytes of human volunteers.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 60, 369.

LADDA R.L. (1969)

New insights into the fine structure of rodent malarial parasites.

Mil. Med., 134, 825-864.

LANGRETH S.G. (1976)

Feeding mechanism in extracellular Babesia microti and Plasmodium lophurae.

J. Protozool., 23, 215-233.

LANGRETH S.G. (1977)

Electron microscope cytochemistry of host-parasite membrane interactions in malaria.

BULL - O.M.S., 55, (2-3) : 171-178

MESZOELY C.A.M., and BAHR G.F. (1970)

Ultrastructural studies of P. gallinaceum.

Proceeding of the IInd International Congress of Parasitology, Washington D. , 236.

MILLER L.H., AIKAWA M., and DVORAK J.A. (1975)

Malaria (Plasmodium knowlesi) mérozoïtes : Immunity and the surface coat.

J. Immunol. 114, 1237-1242.

O.M.S. - Report on the Steering

Committees of the Scientific Working Groups on Malaria.

TDR/NAL/SC-SWG (80-83)/83.3

PORCHET-HENNERE E. et VIVIER E. (1971)

Ultrastructure comparée des germes infectieux (sporozoïtes, mérozoïtes, schizozoïtes, endozoïtes) chez les sporozoaires.

Ann. Biol, 10, 77-113.

. RAFFAELE G., 1936.

Potere infettante del sangue durante l'incubazione della malaria aviaria.

Riv. Malariol., 15, 309-317.

. RISTIC M. & KREIER J.P. - 1964.

The fine structure of Plasmodium gallinaceum as revealed by electron microscopy.

Ann. J. Trop. Med. & Hyg., 13, 509-514.

. RODHAIN J. 1938

Schizogonie sans pigment chez les pingouins infectés de Plasmodium praecox (relectum)

C.R.Séances Soc. Biol., 127, 368-371.

. RUDZINSKA M.A. AND TRAGER W. (1957)

Intracellular phagotrophy by malarial parasites : An electron microscope study of P. lophurae.

J. Protozool. 4, 190-199

. RUDZINSKA M.A., and TRAGER W. (1958)

Feeding mechanisms of P. malariae - Electron - microscope observations.

Wiad. Parazyt. 4, 618.

. RUDZINSKA M.A., TRAGER W., BRAY R.S. (1965)

Pinocytotic Uptake and the Digestion of Hemoglobin in Malaria Parasites.

J. Protozool., 12, 563-576.

. RUDZINSKA M.A., TRAGER W. & BRAY R.S. 1967.

Pinocytotic uptake and the digestion of hemoglobin in malaria parasites.

J. Protozool., 12, 563-576

. RUDZINSKA M.A. and TRAGER W. 1968

The fine structure of trophozoites and gametocytes in Plasmodium coatnevi

J. Protozool., 15, 73-88

- ZINSKA, M.A. and VICKERMAN, K. (1968)
 fine structure - In "Infections Blood diseases of
 and animals".
 1). WEISMAN AND M. RISTIC, Eds) 1, 217-306
 ad. Press, N. York.
- HOLTISECK E., et MEHLHORN H. (1970)
 trastructural study of characteristic organelles (paired
 ganelles, micronemes, micropores) of sporozoa and related
 ganisms.
 Parasitenk, 34, 97-127
- ORZA J.V., DESCORZA C., MONTEIRO M.C.C., 1972
 tochemicals observations of three acid hydrolases in
 food stages of malaria parasites.
 n. Trop. Med. Parasit, 66, 167-172.
- RGENT Et. & SERGENT Ed., 1922
 ude expérimentale du paludisme des oiseaux (Plasmodium
elictum).
 uite des recherches sur l'action de la quinine (XXIIIe
 te).
- ch. Inst. Pasteur Afr. Nord, 2, 320-329
- NDEN R.E. (1978)
 ll Biology dans Rodent Malaria.
 LLICK - KENDRICK R. and PETERS W.
 ., London, Academic Press 85-168.
- NDEN R.E. et GARNHAM P.C.C. (1973)
 comparative study at the ultrastructure of
asmodium sporozoites within the oocyst and
 livary gland, with particular reference to the
 cidence of the micropore.
 ans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 67, 631-637.
- LOMIANNY C., CHARET P. et PRENSIER G. 1983
 elation between haemoglobin degradation, action of
 chloroquine and maturity of the red blood cell infected
 y P. berghei.
 bl. Biochem. (Manuscript reçu en
 communication) .
- . THEAKSTON R. , FLETCHER K., MAEGRAITH B.G. 1968
 The Fine Structure of Plasmodium vinckei, a malaria
 parasite of Rodents.
 Ann. trop. Med. parasit, 62, 122-134.
- . VIVIER E., DEVAUCHELLE G., PETITPREZ A., PORCHET E.,
 PRENSIER G., SCHREVEL J., et VINCKIER D. (1970)
 Observations de cytologie comparée chez les sporozoaires.
 I. Les structures superficielles chez les formes végétative
 Protistologica, 6, 127-147.
- . VINCKE I. and LIPS M. 1948
 Un nouveau Plasmodium d'un rongeur sauvage du Congo :
P. berghei.
 Ann. Soc. Belge Méd. Trop. 28, 97-102.
- . VINCKE I. et LIPS M. (1952)
 Bibliographie du P. berghei (1948-1952)
 Inst. Rech. Sci. Afrique Centrale (5e rapp. ann.)
 157-165.
- . VERNEY L., 1938.
 Lo sviluppo dei parassiti malarici nel reticolo-
 endotelio.
 Ann. d'Ig., 48, 26-40
- . VIVIER E. et PETITPREZ A. (1972)
 Etude du système vacuolaire de l'Hématozoaire
Anthemiosoma garnhami à l'aide des coupes sériées et
 de reconstitutions tridimensionnelles.
 J. Ultrastruct. Res., 41, 219-237.
- . VIVIER E., SCHREVEL J., HENNERE (E) (1964)
 L'ultrastructure de la paroi de quelques sporozoaires,
 ses rapports avec certains organites cytoplasmiques, son
 rôle possible dans la nutrition.
 Proceed. Ist. Internat. Congr. Parasit, Rome, 1, 290-291
- . YORKE W. et MACFIE J.W.S. 1924
 Observations on malaria made during treatment of
 general paralysis.
 Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg., 18, 13-33.