

50376  
1982  
191

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE

50376

1982

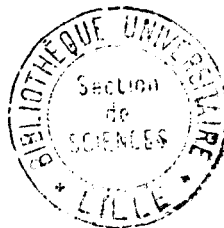
191

# THÈSE DE TROISIÈME CYCLE

Protistologie-Parasitologie et Biologie Cellulaire

Leïla BENAZZOU

## ETUDE ULTRASTRUCTURALE COMPAREE DE LA SCHIZOGONIE CHEZ *PLASMODIUM FALCIPARUM* (LAVERAN 1880) ET *PLASMODIUM CHABAUDI* (LANDAU 1965)



Présentée le 8 JUILLET 1982 devant la Commission d'Examen

JURY:

M. E. VIVIER  
G. PRENSIER  
E. PORCHET  
A. DHAINAUT

Président  
Rapporteur  
Examineurs.

## S O M M A I R E

	pages
INTRODUCTION	1
MATERIEL ET METHODES	
I - Rappel sur le cycle biologique de <u>Plasmodium sp.</u>	3
II - Matériel biologique	4
III - Méthodes	
A - Entretien des parasites	4
B - Essais de synchronisation	4
1 - Traitement par le D-Sorbitol	5
2 - Mise en culture du sang parasité	8
C - Microscopie photonique	9
D - Microscopie électronique	9
RESULTATS.	
I - Phase de croissance intraérythrocytaire	11
A - Le Jeune trophozoïte	11
B - Le trophozoïte adulte	12
C - La cellule hôte	12
II - Phase schizogonique	13
A - Les divisions nucléaires ou mitose schizogoniques	14
1 - Formation du Fuseau intranucléaire	14
a - Appareil mitotique	
+ Le pôle Fusorial	14
+ Les Fuseaux de division	15
+ Les cinétochores	15

	pages
b - Formation du Fuseau	15
2 - Evolution du Fuseau (stades ante "métaphase" et "anaphase")	16
3 - Involution de l'appareil Fusorial ("Télophase").	16
B - Génèse des mérozoïtes	17
1 - Le complexe interne	18
2 - Les rhoptries	19
3 - Les microtubules sous-pelliculaires	19
4 - Appareil de golgi	20
5 - Développement des bourgeons de mérozoïtes	20
6 - Les micronèmes	21
7 - Libération des mérozoïtes dans la vacuole parasitophore	22
8 - Organisation structurale du mérozoïte	22

## DISCUSSION

I - Phase de croissance	24
II - Les mitoses schizogoniques	26
A - Le centre cinétique	27
B - Chromosomes et cinétochores	28
C - Microtubules Fusoriaux	29
D - Essai d'interprétation des mitoses schizogoniques chez <u>Plasmodium</u>	30

	pages
III - Phase de différenciation des mérozoïtes	32
A - Structures caractéristiques	
1 - Le plasmalemme	33
2 - Le complexe membranaire interne	33
3 - Les microtubules sous-pelliculaires	34
4 - Les rhoptries	35
B - Intégration nucléaire et organites cytoplasmiques classiques	36
C - Genèse des micronèmes	37

#### ETUDE APRES CRYOFRACTURE DE P. CHABAUDI

I - Aperçu sur l'architecture moléculaire de la membrane plasmique	38
II - Terminologie	38
III - Résultats	
A - Stade végétatif	38
1 - membrane plasmique érythrocytaire	38
2 - membrane de la vacuole parasitophore	39
3 - membrane plasmique du parasite	39
B - Schizonte	39
C - Mérozoïtes intraérythrocytaires	39
1 - membrane externe	40
2 - Complexe membranaire interne	40
3 - structures apicales	40

IV - DISCUSSION

A - Stade trophique	40
B - Le schizonte	41
C- Le mérozoïte intraérythrocytaire	41

CONCLUSION GENERALE	44
---------------------	----

BIBLIOGRAPHIE.

I N T R O D U C T I O N

Tout parasite présente en général au cours de son cycle évolutif une forme de dessimination sinon une reproduction asexuée qui assure son maintien et sa prolifération chez l'hôte.

Ainsi, au sein des Sporozoaires parasites, certains s'enkystent (Exemple de la majorité des Grégarines) tandis que d'autres subissent des multiplications asexuées ou schizogoniques. C'est le cas des Coccidies et parmi elles des Hémosporidies.

Ce groupe de parasites hétéroxènes se multiplient dans les globules rouges du sang de divers vertébrés (Reptiles, Oiseaux et Mammifères).

L'agent de la malaria (Hémosporidie Plasmodidae) est connu par son action pathogène souvent mortelle, chez l'homme. Sa prolifération dans le sang revêt un caractère rythmique se traduisant par l'éclatement périodique des hématies (par hémolyse) et la libération des formes infectieuses, accompagnée de celle de substances toxiques responsables des poussées de fièvre, c'est l'accès palustre.

Le Plasmodium fut observé pour la première fois, dans le sang humain, par LAVERAN en 1880. Le nom de genre Plasmodium lui fut attribué par MARCHIAFAVA et CELLI en 1885, à la suite de leur étude morphologique de la schizogonie érythrocytaire. D'autres formes du parasite ont été découvertes, en 1934 par RAFFAELE qui décrit la forme tissulaire des Palustres aviaires ; et en 1948 par ROSS et GARNHAM qui découvrirent la forme pré-érythrocytaire de P. cynomolgi dans le foie de singe rhésus. Dans la même année, VINCKE et LIPS observèrent le premier Plasmodium de Rongeurs ; qui s'est avéré par la suite un matériel modèle pour les études biologiques du paludisme des mammifères.

Plus tard, et à la suite de nombreuses observations des différents stades du parasite chez l'Anophèle, le cycle biologique de Plasmodium sp. fut défini.

Deux phases sont à distinguer dans ce cycle :

- Une phase sexuée sporogénique évolue dans le canal intestinal et les glandes salivaires de l'hôte invertébré.
- Une phase asexuée schizogonique qui se divise en deux cycles, pré-érythrocytaire dans le foie, puis érythrocytaire dans le sang de l'hôte vertébré.

La phase asexuée érythrocytaire est caractérisée par la succession répétée de cycles où une phase de prolifération active du parasite aboutit à la libération de formes infectieuses ou mérozoïtes, par éclatement des globules rouges toutes les 24 ou 48 heures.

.../...

L'étude morphologique ultrastructurale des différentes formes intraérythrocytaires y compris le schizonte, a fait l'objet de nombreux travaux. Cependant les rapports sur le déroulement de la phase schizogonique restent relativement fragmentaires (AIKAWA 1971, 1972 ; BAFORT, 1971 ; KILLBY et Al., 1969 a; STERLING et Al., 1972 ; SEED et Al., 1976 ; LANGRETH et Al., 1978), surtout en ce qui concerne l'origine et le mode de genèse des structures spécifiques du germe infectieux.

Par une étude ultrastructurale comparée, nous essayerons de suivre l'évolution schizogonique, avec ses deux séquences principales: la division nucléaire et la différenciation des mérozoïtes, chez deux Plasmodium de mammifères, P. falciparum (palustre humain) et P. chabaudi, (palustre de rongeurs, décrit par LANDAU en 1965, dans le sang de Thamnomys rutilans (Peters) de la région de BANGUI dans le Centre Afrique) facilement entretenu au laboratoire, par passages mécaniques chez la souris blanche.

La mise au point de la technique de cryofracture donne un nouvel accès à l'étude des Sporozoaires favorisant une vision tridimensionnelle, accompagnée d'une approche macromoléculaire de leur système membranaire, et permettant ainsi de mieux comprendre l'organisation et l'architecture des membranes, en relation avec leurs rôles dans la nutrition, le déplacement et les réactions immunitaires.

Les résultats apportés dans ce sens intéressent surtout le germe infectieux de Coccidies (PORCHET - HENNERE et Al. 1977, 1981 ; DUBREMETZ 1978, 1979) et confirmant une fois de plus, l'unité de structure du germe infectieux des Sporozoaires déjà établie en ultrastructure (revue de PORCHET - HENNERE et VIVIER 1971). En revanche, des images médiocres sont présentées par MESZOELY et Al. (1972) et Mc LAREN et Al. (1977) sur la schizogonie de Plasmodium.

Dans le but d'une étude comparative et complémentaire, nous essayerons de donner un aperçu sur la structure des différentes membranes de schizontes matures de P. chabaudi après une évolution in vitro.



MATERIEL ET METHODE

**MOUSTIQUE**  
cycle *sexue*

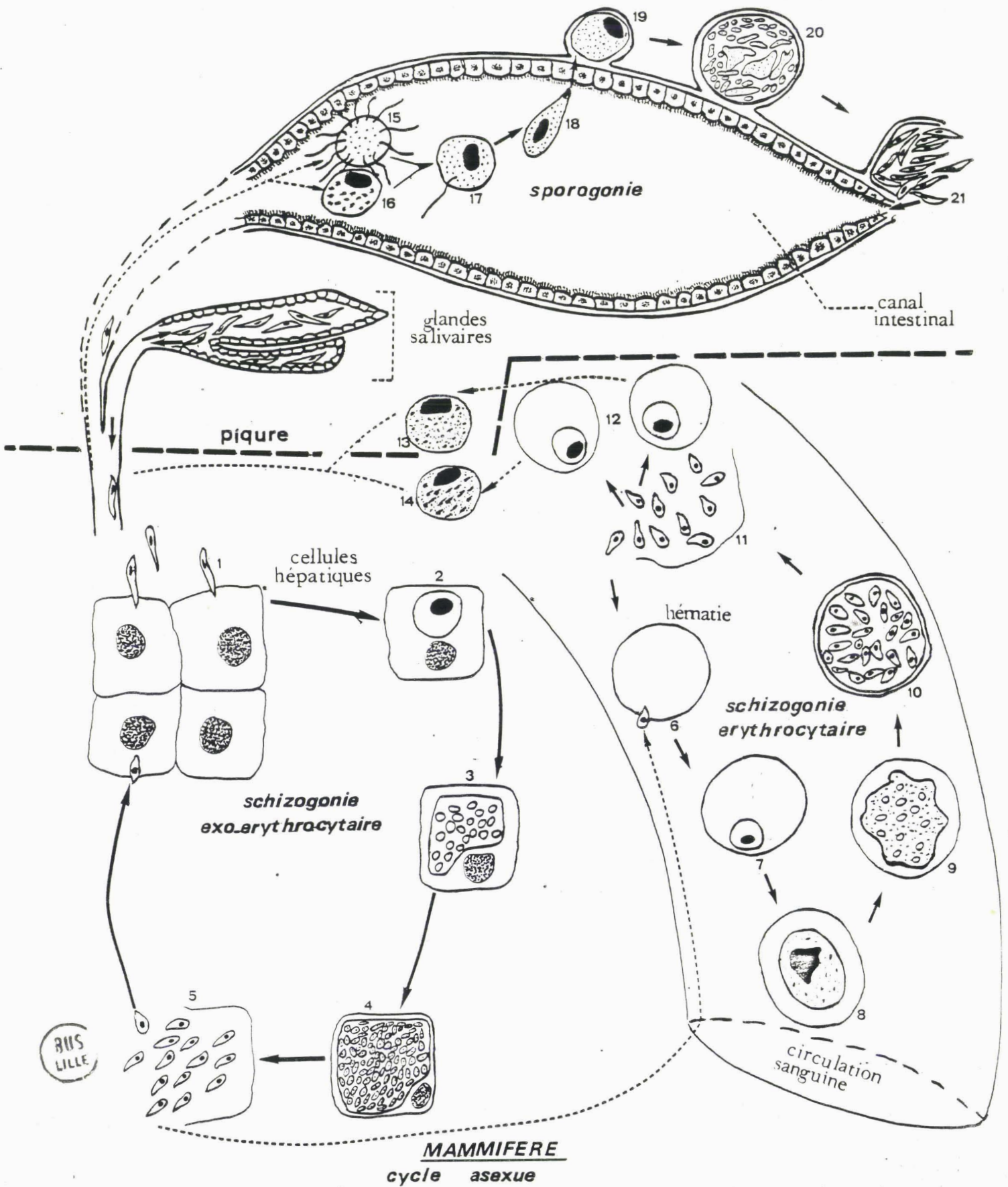


fig. A - Cycle biologique de *Plasmodium* sp.

# I - RAPPEL SUR LE CYCLE BIOLOGIQUE DE Plasmodium Sp.

( Fig. A )

Le cycle évolutif de Plasmodium Sp se partage entre deux hôtes ;

- le premier, un vertébré (Reptiles, oiseaux ou mammifères) abrite la phase de reproduction asexuée.

- le second, un invertébré (Moustique) assure la phase de reproduction sexuée.

Lors de son injection par le moustique vecteur, dans la circulation sanguine, le sporozoïte gagne d'abord le foie (st. 1) et dans une cellule hépatique, il s'accroît et se multiplie (st. 2 et 3). A la fin de cette phase de prolifération active, des milliers de schizozoïtes, dit pré - érythrocytaires (st. 4) sont libérés. Ceux-ci peuvent redémarrer le cycle tissulaire, comme ils peuvent passer dans le sang où le cycle érythrocytaire débute par l'invasion des hématies (st. 6), à l'intérieur desquelles les mérozoïtes, en ingérant l'hémoglobine, se développent en trophozoïtes (st. 7 et 8).

Ces derniers, au terme de leur croissance, ont une forme quasi-sphérique et le noyau de grande taille va subir un certain nombre de divisions ou mitoses schizogoniques aboutissant à l'élaboration des mérozoïtes dont le nombre varie suivant les espèces (théoriquement 8 chez P. chabaudi, mais on trouve en général 6 à 7, et jusqu'à 32 chez P. falciparum) (st. 10). Dans les cellules érythrocytaires, les cycles schizogoniques se poursuivent, terminés toutes les 24 ou 48 heures par l'éclatement des hématies, la libération des parasites et l'infection d'autres globules.

Certains mérozoïtes, après pénétration dans la cellule érythrocytaire se différencient en gamétocytes (st. 13 et 14) qui en cas de piqûre, sont ingérés par le moustique lors de son repas de sang. Dans le canal intestinal, les microgamétocytes subissent l'exflagellation et donnent les gamètes mâles (st. 15) alors que les macrogamétocytes évoluent en gamètes femelles (st. 16). L'oeuf ou ookinète (st. 17) résultant de la fécondation migre à travers l'épithélium intestinal (st. 18) et s'enkyste sous la lame basale (oocyste st. 19). A l'intérieur de l'oocyste, des di-

visions actives du noyau aboutissent à la différenciation des sporozoïtes (st. 20). A la fin de la sporogénèse, l'oocyste éclate et libère les sporozoïtes (st. 21) qui vont s'accumuler dans les glandes salivaires du moustique, en attente d'une nouvelle piqure.

## II - MATERIEL BIOLOGIQUE :

Des souris parasitées par Plasmodium chabaudi nous ont été aimablement fournies par l'U. 42 de L'I. N. S. E. R. M. La souche pure provient du Professeur WALLIKER d'EDIMBOURG.

Les cultures de Plasmodium falciparum nous ont également été fournies par l'U. 42 de L'I. N. S. E. R. M. Différentes souches sont utilisées : Camp, FCR<sub>3</sub> et TABIBOU.

## III - METHODES :

### A - Entretien des parasites :

La souche de Plasmodium chabaudi est maintenue par passages mécaniques successifs chez la souris. Le sang est pris en phase descendante de parasitémie, soit par ponction du sinus veineux de l'oeil à l'aide d'une micropipette préalablement héparinée, soit par pression des veines de la queue. Le sang est récupéré dans du PBS ou dans du MEM stérile. Une quantité moyenne de 0,3 ml (sang parasité + milieu physiologique) est injectée aux souris saines par voie intraveineuse (dans les veines de la queue) ou par voie intrapéritonéale.

### B - Essais de synchronisation :

Le cycle asexué de Plasmodium chabaudi dans le sang des Rongeurs (souris) est de 24 heures. La phase de croissance caractérisée par l'évolution des stades anneaux en trophozoïtes adultes est longue et peut durer jusqu'à 17 heures.

En revanche la phase de multiplication et de différenciation des mérozoïtes est assez rapide et se déroule, en général, entre 24h et 7h du matin. La parasitémie atteint son maximum 7 à 8 jours après l'injection des parasites (le pourcentage de parasitémie maximale peut varier entre 60 et 80%). La chute de parasitémie se traduit par le développement d'un grand nombre de gamétocytes et une forte anémie à laquelle fait suite une immunité probable des souris.

Pour vérifier le synchronisme du cycle, des contrôles sont faits pendant 24 heures, sur une souris présentant une parasitémie de 30%. Sur des frottis pris à intervalles irréguliers des comptages de stades intraérythrocytaires sont pratiqués sur 100 hématies parasitées. Les résultats sont rapportés dans le tableau suivant (Fig. B. ) (voir page 6).

Ce résultat nous donne une idée sur la durée d'évolution des différents stades intraérythrocytaires. Cependant, il contredit l'affirmation du cycle synchrone, rapportée par LANDAU et Al. , (1978) et AIKAWA et Al. , (1980). Cette asynchronie est marquée par une grande disproportionnalité entre le pic des trophozoïtes et celui des schizontes, et qu'une simple observation des frottis en microscopie photonique ne peut laisser entrevoir. Ceci est vrai, surtout en phase de croissance où un décalage de 2 ou 3 heures, dans le développement de deux trophozoïtes est indécélable. Ce n'est pratiquement qu'au moment de la schizogonie que cela devient évident.

De façon à obtenir au même moment un pourcentage assez élevé de schizontes, nous avons tenté de synchroniser d'avantage le cycle de P. chabaudi.

#### I - Traitement par le D - Sorbitol :

Le D - Sorbitol a pour effet de détruire les stades avancés (Trophozoïtes adultes et Schizontes) et seuls sont préservés les stades anneaux et jeunes trophozoïtes. La technique utilisée est celle de MREMA et Al (1979).

Un volume v de sang bien parasité (parasitémie de 50 à 60%) est centrifugé à 350g pendant 5 minutes. Un volume égal d'une solution aqueuse de sorbitol à 5% est additionné au culot, le tout est remis en suspension pendant 5 minutes puis lavé 2 fois dans le MEM après centrifugation de 5 minutes à 350g.

.../...

	9 <sup>h</sup> 30	11 <sup>h</sup> 30	12 <sup>h</sup> 30	14 <sup>h</sup> 30	16 <sup>h</sup>	19 <sup>h</sup>	22 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	5 <sup>h</sup>	6 <sup>h</sup>	7 <sup>h</sup>	8 <sup>h</sup> 30	9 <sup>h</sup> 30
<b>Stades</b>														
anneaux	36	29	25	25	27	12	17	23	41	38	31	37	26	34
<b>Jeunes</b>														
Trophozoïtes	46	44	50	36	43	31	29	23	23	40	50	41	45	56
<b>Trophozoïtes</b>														
adultes	17	24	24	36	27	46	48	29	22	16	16	21	27	9
<b>Schizontes</b>														
	2	3	2	3	3	2	6	25	14	6	3	1	2	1

FIG. B.



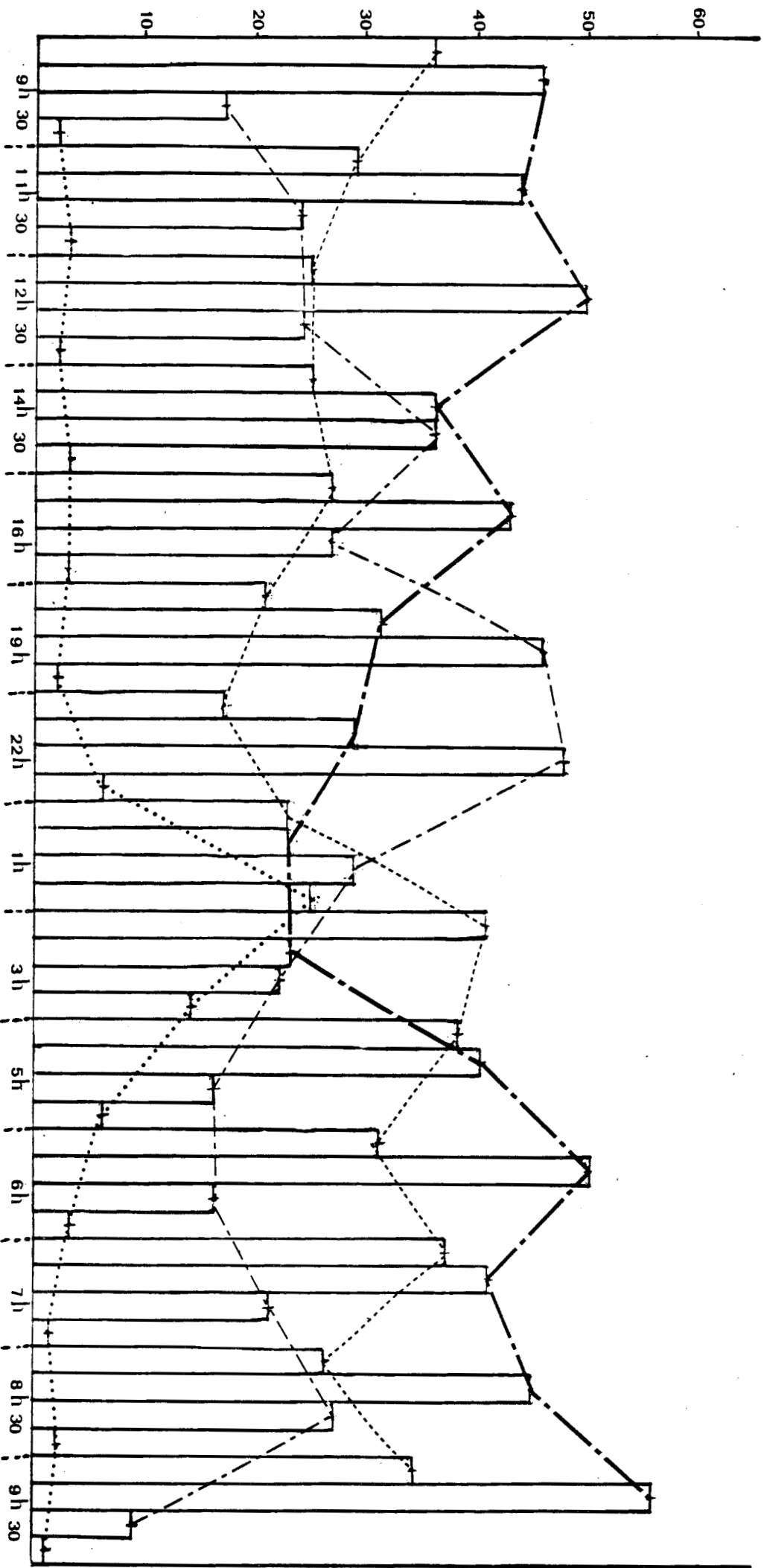


fig. B - Cycle Intraérythrocytaire normal de P. chabaudi

BUS LILLE

Le culot final est remis en suspension dans le MEM avant d'être injecté à des souris saines, par voie intraveineuse.

- Résultat : (Fig. C)

	14 h	18 h	22 h	2 h	3 h	5 h
Stades Anneaux	82	26	14	37	79	90
Trophozoïtes	18	73	86	54	20	9
Schizontes	0	1	0	9	1	1

Le résultat obtenu n'étant pas concluant vu le faible nombre de schizontes qui reste toujours en forte disproportionnalité avec celui des trophozoïtes et un possible décalage à l'observation entre les deux contrôles de 2 h et 3 h peut expliquer l'absence d'un pic de schizontes proportionnel à celui des trophozoïtes, étant donné que la phase finale de la schizogonie est très rapide. De plus, il est possible qu'il y ait accolement des hématies parasitées par des schizontes aux parois des vaisseaux (essentiellement au niveau du foie et de la rate), d'où leur rareté dans le sang périphérique (LANDAU 1965). Le captage des schizontes par les macrophages (observation personnelle) est aussi une éventualité à envisager.



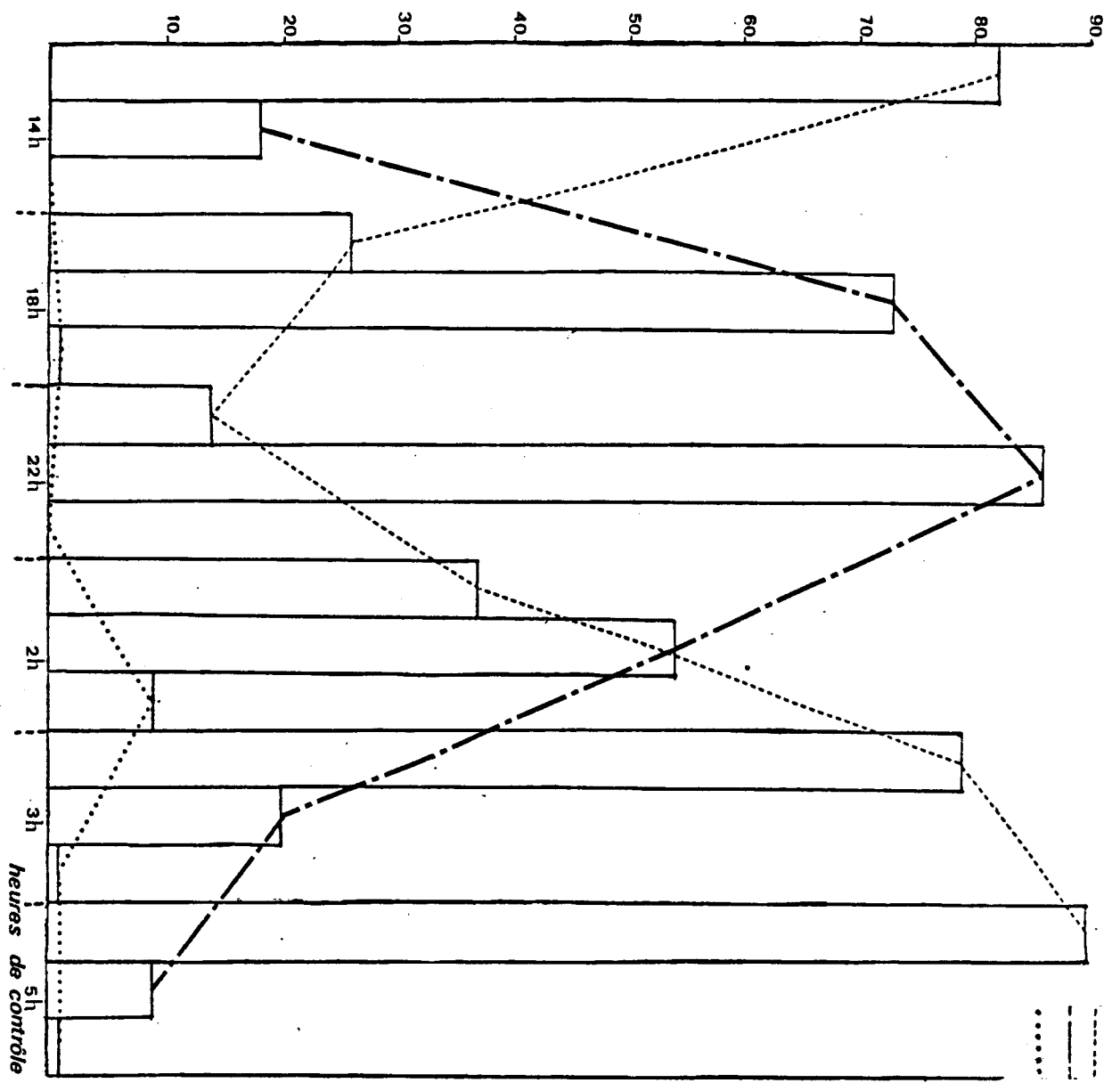


fig.C- Traitement par le D-sorbitol

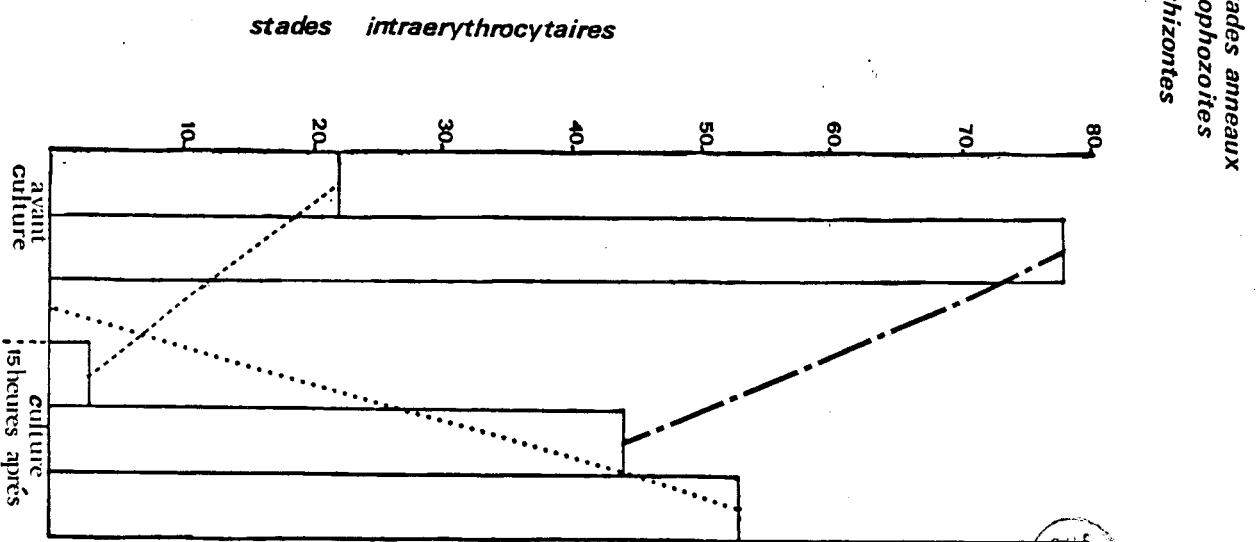


fig.D- évolution in vitro



2 - Mise en "culture" de sang parasité.

Du sang fortement parasité (parasitémie d'environ 60%) par P. chabaudi est prélevé par ponction du sinus orbital et lavé dans le MEM (centrifugation pendant 2 minutes à 1200 tr/mn).

Le culot remis en suspension dans : MEM + 5% de sérum veau  
+ AB. (pénicilline et dehydrostreptomycine)

est réparti dans des petites boîtes de Pétri (2 ml par boîte) qui sont mises en présence de 5% de CO<sub>2</sub> dans un récipient hermétique placé à 37° C pendant 15 à 16 heures (de 18 h 30 jusqu'à 9 h du matin).

Après 15 heures, le contenu des boîtes est centrifugé dans des tubes Beckman (5 mn à 2500 tr/mn). Un frottis de contrôle est réalisé à partir du haut du culot enrichi en parasites.

- Résultat : (Fig. D) - (comptage fait sur 100 hématies parasitées)

	Anneaux	Trophozoïtes	Schizontes
18 h 30			
Avant culture	22	78	0
9 h			
Frottis de culture	3	44	53

Cette méthode nous a permis d'obtenir un grand nombre de schizontes qui ont été fixés pour l'étude de la schizogonie en transmission classique et après cryofracture

Une telle accumulation des schizontes en culture est probablement due à un retard dans l'éclatement des hématies et qui serait régité par les

variations de pressions partielles d'oxygène et de gaz carbonique, ainsi que l'absence, in vitro, de contraintes mécaniques qui sont provoquées in vivo par le passage dans les capillaires. Il y a aussi, la différenciation des mérozoïtes qui semble être plus lente qu'in vivo (les stades les plus fréquemment rencontrés en coupes fines montrent un début de gènése des mérozoïtes), ceci pouvant être dû à une insuffisance du milieu de culture.

Pour vérifier l'intégrité des mérozoïtes libérés dans le milieu de culture, le sang après 16 heures d'incubation, est réinjecté à des souris saines qui après 8 jours montrent une parasitémie normale (pourcentage approximatif de 70%).

C - Microscopie photonique.

Les contrôles de parasitémie sont réalisés sur frottis, fixés par le bleu de méthylène - éosine (May Grunwald) pendant 8 mn, colorés ensuite par le Giemsa pendant 10 mn, puis lavés à l'eau courante.

D - Microscopie électronique.

- Coupes fines -

Le sang parasité est centrifugé à 3000 tr/mn pendant 1 mn. Le culot obtenu est traité suivant la technique classique de double fixation au glutaraldéhyde 2,5% en tampon Cacodylate de sodium 0,1 M (pH = 7,2) ou en tampon phosphate 0,1 M (pH = 7,2), (sans différences notables dans le cas de P. chabaudi, par contre pour P. falciparum, la fixation est meilleure en tampon phosphate) pendant 2 heures à 4° C.

Le lavage est suivi d'une post - fixation d'1 heure dans l'acide osmique à 1% dans le même tampon. L'inclusion est pratiquée dans l'épon. Les coupes effectuées au PORTER BLUM ou au REICHERT OMU2 sont recueillies sur grilles (100 mesh) préalablement recouvertes d'une membrane de parlodion à 0,8%. Les coupes sont ensuite contrastées à l'acétate d'uranyle à 2% en solution alcoolique 50° pendant 5 mn, puis au citrate de plomb pendant 2 à 3 mn.

- Coupes séries :

Des rubans d'une vingtaine de coupes chacun sont récupérés sur des grilles à barreaux longitudinaux ou sur des grilles à un trou, membranées et carbonées

- Cryofracture :

Le sang prélevé à la queue de la souris est recueilli dans des tubes capillaires et centrifugé pendant 5 mn à 4000 tr/mn. Le culot est récupéré, par soufflage, dans la glutaraldéhyde 2,5% en tampon 0,1 M (pH = 7,2) à 4° C. Après rinçage dans le tampon cacodylate, les culots de sang sont plongés dans un bain de glycérol à 30%, et sont ensuite posés sur des portes - échantillons adaptés au dispositif pour doubles répliques BALZERS. Les culots subissent alors une congélation immédiate pendant 30 secondes à la température de liquéfaction de l'azote liquide ( - 210° C), puis sont conservés dans l'azote liquide. Les fractures sont effectuées à - 120° C sous un vide de 10<sup>-4</sup> mm Hg. Les répliques sont réalisées dans un appareil BALZERS BAF 300 équipé d'un système d'évaporation à faisceau d'électrons et d'un quartz de mesure étalonné pour un dépôt de Carbone - platine de 2 nm et pour une épaisseur de carbone de 25 nm. Les répliques sont recueillies sur une solution d'eau de javel, puis lavées dans l'eau distillée d'où elles sont récupérées sur des grilles scotchées 300 mesh.

Répliques et coupes fines sont examinées aux microscopes électroniques Hitachi HU II et JEOL 100 cx.

RESULTS

## I - PHASE DE CROISSANCE INTRAERYTHROCYTAIRE.

Dans cette partie, les deux espèces étudiées, Plasmodium chabaudi et Plasmodium falciparum seront traitées simultanément en précisant à chaque fois les différences ou particularités pouvant exister au sein de chaque espèce.

Le mérozoïte de Plasmodium sp. après invasion de la cellule érythrocytaire acquiert une forme sphérique (fig. I). La perte des organites antérieurs caractéristiques (Rhoptries, micronèmes et complexe apical) simplifie son organisation ultrastructurale. Une membrane unique le plasmalemme limite le cytoplasme riche en ribosomes. Le noyau de structure classique, a une position légèrement périphérique (fig. I et 4).

Une fois à l'intérieur de l'hématie, le parasite englobe une grande quantité d'hémoglobine, par ouverture d'une vacuole digestive dans le stroma érythrocytaire, d'où l'aspect en anneau observé en microscopie photonique.

Le jeune parasite se trouve logé dans une vacuole formée par invagination de la membrane érythrocytaire lors de la pénétration du mérozoïte. Un espace vide de 7,5 nm sépare le plasmalemme de la membrane de la vacuole parasitophore (fig. 2, 4, IO et II)

Cette forme en anneau qui marque le début de la phase intraérythrocytaire va aussitôt évoluer en jeune trophozoïte d'abord, ensuite en trophozoïte adulte prêt à subir la schizogonie

### A - Le jeune trophozoïte

Le Plasmodium se nourrit en partie d'hémoglobine qu'il ingère par ouverture de vacuoles dans le cytoplasme hôte (fig. 2, 3), et par le cytostome sorte de micropore formé par une invagination ampullaire des deux membranes, plasmique et vacuolaire, et doublé à sa base par deux densifications en pilier (fig. 6). Sur une section tangentielle (fig. II), le cytostome montre deux anneaux denses, concentriques reliés par des stries rayonnantes perpendiculaires. Le diamètre du cytostome est de 180 - 220 nm

Le jeune trophozoïte a une forme irrégulière quelques vacuoles digestives, limitées par deux membranes, apparaissent dans le cytoplasme, elles sont de

taille variable.

Les pigments d'hémozofne, correspondant aux produits de dégradation du hème de l'hémoglobine, se présentent sous forme de cristaux denses à aspect réfringent, essentiellement localisés en périphérie du cytoplasme chez P. chabaudi (fig 2, 4) alors que chez P. falciparum, ils occupent une grande vacuole uni-membranaire à contenu faiblement dense aux électrons. (fig II, I2)

Les ribosomes dispersés dans le cytoplasme deviennent peu abondants, alors que le réticulum endoplasmique granulaire se développe (fig 4, II).

Le noyau est limité par une enveloppe nucléaire classique présentant de nombreux pores de 60 nm. Le nucléoplasme de texture fibrillaire est homogène et peu dense aux électrons. Une structure nucléolaire excentrée caractérise le noyau de P. falciparum (fig IO, I2).

### B - Le trophozoïte adulte.

Chez P. chabaudi, le trophozoïte adulte occupe en coupe plus de 2/3 de la surface de la cellule érythrocytaire (3,9 x 2,4 µm). Le noyau de forme elliptique augmente de taille (1,2 µm x 0,7 µm). La membrane nucléaire externe bourgeonne des vésicules de 40 à 50 nm de diamètre qui fusionnent en petits sacs donnant ainsi naissance à un dictyosome d'origine nucléaire (fig 5, I3)

Le cytoplasme est très riche en ribosomes, soit libres, soit associés au réticulum endoplasmique qui se présente en lames courtes aplaties et ramifiées en un important réseau étendu à tout le volume cytoplasmique (fig 5, 8, 9, I3)

Les vacuoles digestives sont plus nombreuses. De même on remarque une augmentation des grains de pigment.

Des structures plurimembranaires sont fréquentes dans le cytoplasme. Certaines de forme allongée et au contenu clair sont souvent contiguës au noyau ; alors que d'autres, de forme vésiculaire se localisent en périphérie entre le noyau et le plasmalemma. (fig 5)

Les mitochondries, de forme allongée sont fréquemment associées aux vacuoles digestives. A leurs extrémités bourgeonnantes apparaissent parfois des crêtes ampullaires. Le contenu des mitochondries est finement fibrillaire et faiblement dense aux électrons (fig 2, 5, 8, 9).

Il est à noter que le trophozoïte de P. falciparum de plus grande taille présente un noyau de forme irrégulière. Les grains de pigment, plus nombreux sont toujours groupés dans une grande vacuole limitée par une membrane unitaire. (fig I2)

Le réticulum endoplasmique, moins abondant que chez P. chabaudi, montre des lamelles plus fines et moins ramifiées. (fig II, I2) Les mitochondries, de forme plutôt globuleuse ont un contenu clair et ne présente pas de crêtes.

### C - La cellule hôte

P. chabaudi parasite aussi bien les réticulocytes, (caractérisés par la présence d'organites cytoplasmiques classiques tels que mitochondries, réticulum endoplasmique, ribosomes) (fig 3) que les érythrocytes mûres, mais l'infestation de ces derniers est beaucoup plus fréquente et constitue même le cas général. La présence du parasite dans l'hématie ne l'endommage apparemment pas, même dans le cas de poly-parasitisme. Toutefois, des figures d'altération apparaissent dans le cytoplasme érythrocytaire et se caractérisent par de petites lamelles et vésicules au contenu clair (fig. 61 )

La membrane plasmique de la cellule hôte reste cependant intacte

Dans le cas de P. falciparum, et surtout sur la souche Camp, les altérations de l'hématie sont plus accentuées ; et en plus des figures lamellaires, il y a tout le contour membranaire qui forme des sortes de boursouflures ou "Knobs" (fig I4, 35, 58) qui s'accrochent aux parois des vaisseaux provoquant ainsi l'éclatement précoce des hématies

## II - LA PHASE SCHIZOGONIQUE

Cette phase est caractérisée par les divisions nucléaires et la genèse des différents organites aboutissant à la formation des mérozoïtes.

Un jeune schizonte est en quelque sorte un gros trophozoïte dont le noyau est entré en mitose. Le cytoplasme devient plus dense par accroissement de la quantité de ribosomes en relation avec l'extension du réticulum endoplasmique. Celui-ci se présente alors, en longues lamelles éfilées et parallèles entre elles, formant un empilement au centre du schizonte et sur sa périphérie (fig. 7). A leurs extrémités, les lamelles se terminent en ramifications étendues à tout le cytoplasme

Au cours de cette phase, le noyau va subir un certain nombre de mitoses en fonction du nombre de mérozoïtes formés. Ainsi chez P. chabaudi, les mitoses sont généralement au nombre de 3 (8 mérozoïtes formés en moyenne) mais dans



certains cas il peut se différencier jusqu'à 10 mérozoïtes, alors que chez P. falciparum, les mitoses sont au nombre de 5 (jusqu'à 32 mérozoïtes formés).

La différenciation des mérozoïtes encore plus précoce accompagne les deux dernières divisions.

#### A - Les divisions nucléaires ou mitoses schizogoniques

Comme il n'existe apparemment pas de différences pour le déroulement des divisions nucléaires entre les deux espèces de Plasmodium étudiées, nous avons décrit les différentes phases de la mitose à partir des observations faites chez P. chabaudi et P. falciparum.

Les différentes figures mitotiques observées ont été groupées en trois phases décrites successivement suivant l'ordre d'évolution d'une mitose classique.

#### I - Formation du fuseau intranucléaire :

##### a - Appareil mitotique :

##### + Le pôle fusorial :

Aucune structure centriolaire ou apparentée à un centriole ne surmonte le noyau de Plasmodium.

Au cours des divisions, le pôle fusorial est constitué par du matériel dense à structure finement granulaire, logé dans une sorte de pore nucléaire d'environ 75 nm de diamètre (fig I5, I6, I7, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 28). Un léger soulèvement de cette zone délimite le centre de convergence des microtubules et correspond au centre cinétique (selon la terminologie de HOLLANDE 1972).

L'aspect du centre cinétique varie suivant le plan de coupe et le plus souvent il se présente en une plaque dense encastrée dans l'enveloppe nucléaire, rappelant ainsi le centrocône des Coccidies typiques et qui chez Plasmodium se trouve plus ou moins marqué suivant le stade d'évolution mitotique. (fig I6, I7, 20, 24, 25, 31).

Du côté cytoplasmique, des plages denses, parfois de forme circulaire, surmontent le pôle fusorial (fig I6, 20, 21, 24, 25). Par ailleurs, une formation vésiculaire à contour densifié d'environ 40 nm de diamètre est fréquemment observée au dessus du centre cinétique. Les coupes sériées excluent la structure cylindrique de cette formation et par là même l'existence de centriole. (fig; 31).

+ Les fuseaux de division :

Les fuseaux sont constitués de trois sortes de microtubules, ceux qui joignent les deux pôles ou microtubules polaires, d'autres plus courts forment les héli-fuseaux dont un certain nombre de microtubules s'attachent sur les cinétochores: ce sont les fibres cinétochoriennes alors que d'autres divergent dans le nucléoplasme (fig. 15, 23).

Les microtubules ont un diamètre de l'ordre de 20 nm, et nous avons pu dénombrer, sur des coupes transversales, approximativement, une douzaine de microtubules chez P. chabaudi et une trentaine chez P. falciparum, (fig. 18 a-b-c, 19). Cette différence est peut être due au fait que l'on s'adresse à deux phases mitotiques différentes.

+ Les cinétochores :

Chez les deux espèces de Plasmodium, les cinétochores se caractérisent par des formations aplaties de structure pentalaminée, trois bandes sombres séparées par deux bandes claires. Les dimensions des cinétochores sont de 80 sur 40 nm. La bande centrale, plus large, est parfois subdivisée en deux bandes de 12 nm chacune (fig. 17, 20). En coupe transversale, les cinétochores se présentent sous forme d'amas peu denses répartis entre les sections transversales de microtubules fuscaux, et sont apparemment au nombre de 12 chez les deux Plasmodium (fig. 18 a-b-c, 19).

b - Formation du fuseau :

Nous n'avons pu observer de figures d'initiation de la mitose et les images les plus précoces montrent un héli-fuseau de 0,25 sur 0,15  $\mu\text{m}$  (fig. 23). Les microtubules émanent d'un centre cinétique localisé au niveau d'une invagination de l'enveloppe nucléaire. Certains microtubules s'interrompent au niveau des cinétochores. Ces derniers paraissent en relation avec un matériel peu dense de texture fibrillaire et qui correspond peut-être aux chromosomes. Le reste des microtubules traversent cette masse pour se perdre dans le nucléoplasme qui garde son aspect homogène faiblement dense aux électrons.

Au voisinage du centre cinétique, un pore nucléaire dense correspond probablement à un second centre cinétique résultant de la duplication du premier (fig. 23).

sur d'autres sections obliques, le noyau montre deux centres cinétiques à proximité l'un de l'autre (fig. 21, 22) et il semble de ce fait qu'il y ait duplication du centre cinétique avant la formation du fuseau intranucléaire.

## 2 - Evolution du Fuseau : (stades anté "métaphase" et "anaphase")

Les deux pôles fusoriaux distants de 400 nm s'éloignent de part et d'autre de l'axe médian (fig. 24).

Une aire cytoplasmique osmiophile associée à des densifications ribosomales, marque la zone entre les 2 pôles. Le centre cinétique montre une section en tronc de cône de 75 nm de large, dense et finement granulaire, et limitée à sa base par une fine bande claire discontinue. Les microtubules semblent émerger de cette "bande". Les cinétochores s'alignent de part et d'autre de l'axe médian des 2 pôles fusoriaux.

Des figures mitotiques plus évoluées présentent un soulèvement en cupule de l'enveloppe nucléaire entre les 2 pôles fusoriaux espacés de 500 à 600 nm (fig. 25, 26). Un microtubule polaire semble joindre les 2 pôles favorisant sans doute l'éloignement des deux centres cinétiques alors que d'autres microtubules s'interpénètrent à mi-chemin des pôles pour diverger dans le nucléoplasme (fig. 26) en direction du pôle opposé.

La poussée des microtubules polaires provoque une évagination de l'enveloppe nucléaire type centrocône, au niveau du pôle fusorial (fig. 25) facilitant ainsi l'éloignement des deux pôles du fuseau.

Nous n'avons pu observer les cinétochores en plaque métaphasique mais des images de stades ultérieurs montrent le noyau avec 2 pôles fusoriaux diamétralement opposés (fig. 29, 30). Les microtubules émanent de chaque pôle, soit en direction du pôle opposé, soit pour se perdre dans le nucléoplasme ou encore pour s'arrêter au niveau des cinétochores qui se trouvent à distance variable de la plaque équatoriale. Ce stade évoque l'image d'un début d'anaphase, après la plaque métaphasique, c'est la migration polaire des cinétochores.

## 3- Invololution de l'appareil Fusorial (= Télaphase)

Les figures 27 et 28 présentent une phase mitotique finale (fin d'anaphase) précédant la disparition complète des microtubules fusoriaux ; deux hémifuseaux opposés de 200 nm sur 160 nm. Les cinétochores encore attachés

à de courts microtubules se trouvent à proximité des pôles (fig. 28).

L'évolution mitotique se termine par une involution totale des microtubules cinétochoriens avec parfois persistance des microtubules polaires. (fig. 16, 31, 32)

Au niveau du pôle fusorial, une structure osmiophile en forme de cône, plus ou moins développée, se trouve en continuité avec la plaque centriolaire, (fig. 16, 17, 20, 31, 32, 36).

L'ensemble constitue un centrocône comparable à celui des Coccidies typiques (DUBREMETZ, 1973).

La base du centrocône est délimitée par de petites unités à allure circulaire, et auxquelles s'attachent les cinétochores disposés en couronne. De courts segments microtubulaires sont parfois visibles entre les unités circulaires et les cinétochores (fig. 16, 17), et il semble en conséquence que ces formations constituent la zone d'émergence des microtubules fusoriaux.

Cette figure mitotique subsiste jusque dans les noyaux de mérozoïtes au stade final de leur différenciation (fig. 56, 57).

La séparation de noyaux fils n'a pu être observée. Cependant, certains schizontes montrent des noyaux à aspect lobé et il se peut qu'il y ait une certaine lobulation du noyau à la suite de chaque mitose et précédant la séparation totale de noyaux fils. Seulement le phénomène est semble-t-il moins accentué que dans le cas des mitoses sporogoniques chez le moustique et où le noyau fortement lobé peut montrer plusieurs fuseaux mitotiques. Cette différence est vraisemblablement à mettre en relation avec le nombre de mérozoïtes et de sporozoïtes formés au cours de la schizogonie érythrocytaire (nombre limité) ou de la sporogonie (nombre très élevé).

#### B - La genèse des mérozoïtes :

Comme nous l'avons déjà signalé, la genèse des mérozoïtes est très précoce, que ce soit chez P. chabaudi ou chez P. falciparum. Les premiers signes d'individualisation des germes sont visibles dès l'amorce des divisions nucléaires et leur évolution se déroule parallèlement aux mitoses successives

Ainsi, les jeunes schizontes dont les noyaux sont disposés en périphérie, montrent déjà les ébauches d'organites antérieurs qui prennent place entre le pôle fusorial et le plasmalemme (fig. 31, 32, 33, 41 ). Des segments denses du complexe interne tracent l'emplacement des futurs bourgeons de mérozoïtes. Des vésicules sphériques peu denses viennent se loger sous le complexe interne

Du côté nucléaire se retrouve le centrocône, couronné à sa base de cinétochores dont le nombre varie de 3 à 5 (suivant le plan de coupe)

L'évolution de ces différents organites donnera lieu à un bourgeonnement progressif du plasmalemme, en regard du pôle fusorial qui constitue, en quelque sorte, l'axe de symétrie du futur mérozoïte, et déterminera la mise en place des structures antérieures.

Le bourgeonnement du plasmalemme n'est pas suivi par la membrane de la vacuole parasitophore qui englobe d'un trait régulier le schizonte.

## I - Le complexe membranaire interne

Sous le plasmalemme et en regard du centre cinétique, une courte lamelle dense, bimembranaire prend naissance, à 13 nm environ de la membrane plasmique et correspond à l'ébauche du complexe interne (fig 32, 33, 36, 41).

Cette pellicule interne présente une épaisseur de 9 à 12 nm, l'espace intermembranaire est de 4,5 nm. Chaque membrane est constituée de deux feuillettes denses espacés de 2,7 nm environ.

Le réticulum endoplasmique est à l'origine des membranes du complexe interne. Les cisternes ergastoplasmiques très abondantes dans la zone de bourgeonnement des mérozoïtes (fig 36 c<sub>1</sub>, 38 ) perdent leurs ribosomes et s'aplatissent de façon à former deux membranes étroitement accolées qui viennent se placer sous le plasmalemme, parallèlement à celui-ci (fig 39, 40 a<sub>1</sub>-a<sub>2</sub>).

Les coupes sériées (37, 37 a<sub>3</sub>-b<sub>3</sub>-c<sub>3</sub>-d<sub>3</sub>-e<sub>3</sub>- f<sub>3</sub> ) permettent de mettre en évidence la continuité entre le réticulum endoplasmique agranulaire et la pellicule interne dont l'extension est assurée par coalescence de vésicules aplaties ayant pour origine le réticulum.

L'interruption antérieure du complexe interne est marquée par un léger infléchissement (fig 36 c<sub>2</sub>, 37) au niveau de l'apex du futur mérozoïte, limité par une membrane unique ; le plasmalemme

Chez P. falicparum, les segments bimembranaires internes possèdent une structure similaire à ceux de P. chabaudi

Sur la périphérie du schizonte, à 12,5 nm du plasmalemme, des vésicules aplaties du réticulum endoplasmique sont en continuité avec les fragments bimembranaires plus denses de la pellicule interne (fig 33, 43, 44) et correspondent probablement à un aplatissement très marqué des vésicules aplaties du réticulum endoplasmique.

## 2 - Les rhoptries.

Au nombre de 2 chez les deux espèces de Plasmodium, elles se présentent sous forme de vésicules denses à contenu finement granulaire d'un diamètre de l'ordre de 200 nm. Les rhoptries s'attachent à l'apex du mérozoïte par l'intermédiaire d'un pédoncule de 28 nm environ. Il semble, d'après les plans de coupes obtenues que l'une des rhoptries se développe plus vite que l'autre.

La rhoptrie prend naissance sous forme d'une vésicule unimembranaire au contenu clair qui semble provenir de la coalescence de vésicules bourgeonnant à partir du réticulum endoplasmique (fig 37). Dans la partie antérieure du futur mérozoïte, des lamelles du réticulum endoplasmique lisse émettent des vésicules (fig 36 c<sub>T</sub>, d<sub>T</sub>, e<sub>T</sub>), et la fusion de celles-ci forme la vésicule de la future rhoptrie. Ainsi la figure 49 montre une liaison étroite entre la lamelle ergastoplasmique et l'ébauche vésiculaire de la rhoptrie en cours de densification. Cette observation se trouve confirmée par les images obtenues en coupes sériées. Celles-ci permettent de montrer assez précisément la continuité entre le réticulum endoplasmique, les vésicules bourgeonnées par celui-ci et la vésicule initiale (fig 36 c<sub>T</sub>-d<sub>T</sub>-e<sub>T</sub>, 37, 45). De même, il est possible d'observer la relation entre cette vésicule initiale et un ensemble de vésicules d'environ 34 nm de diamètre, à contour peu dense, naissant d'un bourgeonnement de la membrane nucléaire externe (fig 42, 49, 50)'

Par ailleurs, la condensation du contenu vésiculaire est progressive. En effet, les rhoptries en cours de différenciation montrent une densification hétérogène ; la périphérie de la vésicule est dense, alors qu'ils subsistent, au centre, de petites plages claires parmi les corpuscules granulaires plus ou moins osmiophiles (fig 46, 47). Au cours de l'évolution de la rhoptrie son contenu se densifie et devient homogène.

### 3 - Les microtubules sous-pelliculaires :

L'apparition précoce, des microtubules sous-pelliculaires, accompagne les divisions nucléaires en cours. Ainsi une section transversale d'un schizonte de P. falciparum montre une quinzaine de microtubules fusoriaux (fig 51, 52) : et juste au dessus, entre le noyau et le complexe interne, à 13 nm de celui-ci, une rangée de 20 microtubules sous-pelliculaires de 22 nm de diamètre. Une légère incurvation de l'une des extrémités de la pellicule interne est à noter au niveau de la ligne microtubulaire.

Le niveau d'insertion des microtubules n'a pu être observé.

Chez P. chabaudi, les microtubules sous-pelliculaires de 18 nm de diamètre, semblent beaucoup moins nombreux que chez P. falciparum et nous n'avons

jamais observé plus de 3 microtubules (fig 25, 53).

#### 4 - Appareil de Golgi :

Dès le stade de trophozoïte adulte, la membrane nucléaire externe émet des vésicules de 38 nm de diamètre qui fusionnent pour former des saccules golgiens (fig 5, 13).

Au cours des divisions nucléaires, au voisinage de chaque pôle fusorial, se développe un petit dictyosome toujours à partir du bourgeonnement de la membrane nucléaire externe (fig 24, 25, 27, 32, 35, 36, 37, 42) et semble jouer un rôle essentiel dans la genèse des organites antérieurs du germe.

Les saccules golgiens participent probablement au développement des membranes internes (fig 24, 32, 35, 36, d<sub>1</sub>) et de plus, la différenciation des rhoptries au voisinage du dictyosome (fig 42, 45, 49, 50) laisse penser à une intervention de celui-ci dans la synthèse et le transfert des précurseurs de rhoptries.

#### 5 - Développement des bourgeons de mérozoïtes :

Parallèlement à l'extension du complexe interne<sup>et</sup> au développement des rhoptries, la membrane plasmique s'évagine en formant des sortes de dômes dans la vacuole parasitophore. La membrane de celle-ci garde, par ailleurs, un contour régulier et ne suit pas le mouvement du plasmalemma (fig 34, 35, 54, 58, 60).

Chez P. chabaudi, cette différenciation accompagne une dernière division suivie de la séparation des noyaux fils des futurs mérozoïtes, et dont une moitié, se trouve déjà englobée par le dôme plasmique (fig 54, 57).

Au niveau de l'apex, les extrémités du complexe interne incurvées, présentent une zone densifiée qui correspond aux points d'insertion des deux anneaux polaires (fig 57, 58).

Les rhoptries à contenu plus dense s'allongent en massue dont la zone effilée s'engage dans l'interruption antérieure du complexe interne, en direction de la membrane plasmique apicale (fig 58, 60, 65).

Certains organites cytoplasmiques comme les mitochondries, ribosomes et réticulum endoplasmique se retrouvent dans la partie postérieure du futur mérozoïte (fig 58, 60, 61).

Le centrocyone est encore présent, de même que les cinétochores toujours bien individualisés et regroupés à la base du centre cinétique (fig 56, 57) Une densification cytoplasmique coiffe celui-ci .

Chez P. falciparum (fig 55) le dôme coiffe un noyau en cours de dernière division, et les deux noyaux en séparation présentent l'aspect caractéristique de la phase finale de division . De ce fait, un bourgeonnement secondaire sera à l'origine des deux mérozoïtes finalement différenciés à partir de ce même bourgeon . Ce bourgeonnement secondaire est peut être dû au nombre assez élevé de mérozoïtes formés chez P. falciparum ,

Les protubérances ainsi différenciées vont subir une phase finale d'évolution.

Un allongement vers l'extérieur, fait émerger le complexe apical constitué des deux anneaux polaires qui se présentent en deux bandes annelées denses de 19 nm d'épaisseur, séparées par un espace clair de 10 nm (fig 57, 58; 65) . Quelques microtubules sont présents à ce niveau .

- les rhoptries, devenues très denses aux électrons acquièrent leur forme finale en poire allongée et surmontées d'un court pédoncule qui se perd sous les anneaux polaires .

Le noyau, au fur et à mesure de la poussée vers l'extérieur, du mérozoïte, migre dans la protrusion et se trouve presque complètement englobé par la membrane plasmique suivie au cours du bourgeonnement par le complexe membranaire sous-jacent.

L'extension des membranes internes est vraisemblablement assurée par les lamelles du réticulum endoplasmique avec la participation probable des vésicules golgiennes bourgeonnées à la face externe de la membrane nucléaire et constituent le dictyosome du futur germe ,

Du côté de la vacuole parasitophore, le plasmalemma est surmonté d'une structure finement filamenteuse et qui constitue le revêtement membranaire ou "cell-coat",

#### 6 - Les micronèmes :

Présentés par des inclusions denses de petite taille (75 à 100 nm) et de forme variable (généralement en navettes),

L'apparition des micronèmes est relativement tardive et la formation de leurs précurseurs a lieu au cours de la phase de différenciation finale du mérozoïte .

Dans la moitié antérieure du mérozoïte, un petit dictyosome surmonte



le noyau (fig 62, 63, 65) et au dessus du bourgeonnement de ce dernier, des vésicules unimembranaires à contenu finement granulaire et plus ou moins condensées, sont à l'origine des micronèmes dont certains apparaissent localisés au dessus des vésicules, au voisinage de l'apex, leur contenu est très osmiophile. Ce schéma montre qu'il y a une gradation postéro-antérieure dans la formation des micronèmes à partir des vésicules golgiennes de sécrétion.

Sur des stades plus évolués, situés au niveau de l'apex, les micronèmes s'allongent et différencient un petit pédoncule en direction des anneaux polaires. (fig. 58, 66).

#### 7 - Libération des mérozoïtes dans la vacuole parasitophore

Le schizonte, à la suite de la différenciation des mérozoïtes, est réduit à une masse cytoplasmique centrale, communiquant avec chacun des mérozoïtes par un étranglement plus ou moins large de la membrane plasmique (fig 58, 59, 60). Celle-ci forme une densification à ce niveau, suivie du détachement du mérozoïte et sa libération dans la vacuole parasitophore (fig 59, 61, 62, 64).

La masse cytoplasmique restante constitue le corps résiduel où se groupent des vacuoles unimembranaires à pigments, ainsi que des restes d'organites cytoplasmiques (mitochondries, ribosomes, réticulum endoplasmique) (fig 54, 55, 59, 60).

#### 8 - Organisation structurale du mérozoïte

Le mérozoïte, arrivé à maturité, est libéré dans le milieu extérieur (le plasma) par lyse de l'hématie. Son organisation ultrastructurale est analogue à celle de tous les germes infectieux de Sporozoaires (PORCHET-HENNERE et VIVIER 1971).

Le mérozoïte de forme ovoïde (fig 63, 66) (1,5  $\mu\text{m}$  sur 0,8  $\mu\text{m}$  pour P. chabaudi et 1,9  $\mu\text{m}$  sur 1,1  $\mu\text{m}$  pour P. falciparum) est légèrement tronqué à l'extrémité antérieure, alors que l'extrémité postérieure est bien arrondie, et présente:

- Une membrane externe : le plasmalemme de 7 nm d'épaisseur enveloppe la totalité du germe. A 20 nm de la membrane plasmique, s'étendent deux membranes étroitement associées qui constituent la pellicule interne de 14 nm d'épaisseur et dont on sait (Vivier et Al 1972, Dubremetz et Al 1978 et Porchet-Henneré et Al. 1977) qu'elle est constituée par des vésicules très aplaties jointives qui s'interrompent à l'extrémité antérieure pour former deux repliements en forme

de crochet, densifiés sur l'intérieur

Le noyau, localisé dans le tiers postérieur du mérozoïte a une forme arrondie chez P. chabaudi ( 1 µm de diamètre) alors qu'il apparait plus allongé chez P. falciparum et son contenu nucléoplasmique est plus dense. Des structures membranaires peut-être artéfactuelles, sont souvent associées au noyau (fig 63, 64, 65). A la face antérieure du noyau, l'enveloppe nucléaire émet par sa membrane externe de nombreuses vésicules qui fusionnent pour former le dictyosome (fig 65).

A l'avant du dictyosome 2 types d'inclusions occupent la zone apicale : - les micronèmes, à différents stades de leur évolution, sont constitués de vésicules sphériques peu denses, au-dessus du dictyosome alors qu'au niveau de l'apex, ils prennent une forme en navettes très osmiophiles et pédonculisés

A l'extrémité antérieure, 2 grosses inclusions à contenu dense et homogène sont limitées par une membrane. Ces organites en forme de poire constituent les 2 rhoptries dont le pédoncule vient se terminer au niveau de la membrane externe du mérozoïte.

Deux anneaux polaires délimitent l'apex du mérozoïte, et constituent la zone d'insertion des microtubules sous-pelliculaires.

Les mitochondries de forme assez allongée présentent une membrane interne plus dense. La matrice ne montre aucune structure mitochondriale caractéristique, mais de fins filaments faiblement denses marquent surtout la périphérie.

Quelques lamelles du réticulum endoplasmique occupent la moitié postérieure ainsi que de nombreux ribosomes.

DISCUSSION

Comme c'est le cas général chez les Sporozoaires (Porchet-Hennéré 1972), deux phases sont à distinguer au cours de la schizogonie de Plasmodium sp :

- une phase de dédifférenciation et de croissance,
- une phase de multiplication et de génèse des mérozoïtes

#### I - PHASE DE CROISSANCE :

La phase de croissance intraérythrocytaire constitue l'étape préparatoire à la formation des mérozoïtes.

L'invasion de la cellule érythrocytaire et la perte aussitôt après, des différentes structures caractéristiques du mérozoïte (complexe apical, organites antérieurs, microtubules sous-pelliculaires et pellicule interne) est un phénomène rapide (Aikawa, 1977) auquel fait suite le stade trophique dont la durée relative est longue. De ce fait, l'ultrastructure de cette phase a été décrite chez les nombreuses espèces de Plasmodium d'Oiseaux et de Mammifères par AIKAWA, (1966, 1971) ; HOWELLS, (1970b) ; KILLBY et Al. , (1969a, 1971) ; LADDA et Al, (1966) ; LANGRETH et Al, (1977, 1978) ; LANGRETH, (1975) ; MESZOELY et Al, (1970) ; RUDZINSKA et Al, (1958, 1968) ; SCALZI et Al, (1968) ; SEED, (1976) ; STERLING et Al., (1972) et TRAGER et Al., (1966)

Une activité métabolique croissante accompagne l'évolution du trophozoïte. Dans le cytoplasme vierge du jeune parasite où seuls les ribosomes dominant, apparaissent des vacuoles bimembranaires à contenu dense analogue au stroma érythrocytaire. Les vacuoles nutritives ou digestives constituent l'un des mécanismes qu'emploie le parasite pour sa nutrition (RUDZINSKA et Al 1957, 1959), l'autre étant l'ingestion de l'hémoglobine par le cytostome (AIKAWA et Al., 1966).

L'ouverture des vacuoles digestives dans le cytoplasme érythrocytaire a suggéré diverses interprétations, RUDZINSKA et TRAGER, (1959) pensent que ce sont des vacuoles de phagocytose alors que KILLBY et Al., (1969) et THEAKSTON et Al , (1968) interprètent ces éléments comme centre de bourgeonnement d'autres vacuoles unimembranaires. Quand à COX et Al., (1966) ils suggèrent la possibilité de formation de vacuoles pinocytiques sur ces vacuoles qui augmentent la surface du parasite. Chez les Plasmodium d'Oiseaux, le mécanisme normal de nutrition est cystostomal (AIKAWA et Al , 1966 ; LANGRETH, 1976). SLOMIANNY (sous presse) confirme l'hypothèse de COX et Al , (1966) et montre qu'il y a en fait augmentation de la surface d'échange hôte-parasite par les "vacuoles digestives" mais que la dégradation de l'hémoglobine s'effectue par pinocytose. Ce processus semble régresser en phase schizogonique,

Les mitochondries, très souvent en étroite association avec les vacuoles digestives, et de forme plus ou moins allongée, sont limitées par deux membranes dont l'interne est doublée d'un contenu finement filamenteux, plus dense et présente rarement des crêtes.

L'évidence de ces structures mitochondriales fut établie par des études cytochimiques qui ont permis la révélation d'activités enzymatiques à ce niveau (HOWELLS et Al. , 1969 et THEAKSTON et Al. , 1969-1970) Une telle configuration des mitochondries constitue une caractéristique générale des stades intraérythrocytaires des Plasmodium de Mammifères (AIKAWA 1971 ; HOWELLS, 1970). Toutefois, des crêtes mitochondriales ont été observées chez P. brasilianum (STERLING et Al. , 1972), P. malariae (SMITH et Al. , 1972) et P. falciparum (LANGRETH et Al. , 1978). Cependant, il semble que la présence ou l'absence de crêtes mitochondriales soit fonction de l'activité métabolique du parasite en relation avec le milieu physiologique qui l'héberge (HOWELLS, 1970 ; CANNING et SINDEN, 1973).

Des organites multilamellés (RUDZINSKA et TRAGER, 1959) se développent également pendant cette phase de croissance. Certains de ces organites évoquent des structures "myéliniques" (plusieurs membranes à aspect spiralé) et sont très souvent localisés au voisinage du noyau, alors que d'autres présentent des formations vacuolaires à allure d'artéfacts et qui contiennent des membranes. Elles se trouvent associées à d'autres systèmes membranaires comme l'enveloppe nucléaire ou le plasmalemme et parfois aux mitochondries.

Ces structures de taille et de position variables ont été décrites sous diverses appellations : corps multilamellés (BODAMMER et BAHR, 1970), membranes spiralées (LADDA et Al. , 1969), formes myéliniques (COX et VICKERMAN , 1966) et organites à membranes concentriques . (THEAKSTON et Al. , 1968a ; AIKAWA et Al. , 1964).

Différentes interprétations sont relatives à ces structures, mais il semble que la fonction de ces organites dépend de leur localisation au sein du parasite. Ainsi les formes myéliniques participent peut être à l'élaboration des membranes internes, alors que les autres formes associées aux différents organites (mitochondries, noyau et plasmalemme) interviendraient comme réservoir d'énergie, dans le métabolisme du parasite (LANGRETH et Al. , 1978) ,

Au cours de l'évolution du jeune trophozoïte, le système ergastoplasmique subit un remarquable développement et nous pouvons noter les formes ergastoplasmiques vésiculaires et aplaties du trophozoïte, qui s'organisent en fines lamelles parallèles, disposées au centre du schizonte et sur le côté.

Le réticulum endoplasmique, décrit pour la première fois par PORTER en 1954, est un système de lamelles aplaties dont le nombre et la disposition varient en fonction de la nature et l'activité cellulaire. Sa structure ainsi que sa composition

chimique lui confèrent des rôles de synthèse (protéiques et membranaires), de transfert (de substances et électrolytes à travers la cellule) et de stockage. Ainsi, l'importante élaboration du réticulum endoplasmique granulaire est à mettre en relation avec l'activité métabolique croissante du trophozoïte adulte et du schizonte en phase de différenciation. De plus, la continuité de cet organite avec la membrane nucléaire externe ne peut que témoigner de l'importance des échanges nucléo-cytoplasmiques par transfert dans les cavités du réticulum endoplasmique.

Les ribosomes en grande abondance se présentent sous forme dispersée ou en polysomes, associés au réticulum endoplasmique. Des formes en rosettes sont parfois rencontrées au niveau du noyau. L'étude des ribosomes isolés des stades érythrocytaires de Plasmodium knowlesi par COOK et AL, (1971) montre des caractéristiques similaires à celles des ribosomes des cellules d'Eucaryotes. La densité croissante des ribosomes ne peut que traduire l'importance des synthèses protéiques du parasite en évolution

## II - LES MITOSES SCHIZOGONIQUES :

Chez les protistes comme chez les Eucaryotes supérieurs, les divisions cellulaires sont assurées par le mécanisme fondamental et général qu'est la mitose ; définie par la division du noyau en deux ou plusieurs noyaux (ils sont génétiquement identiques à la cellule mère dont ils sont issus).

Chez les Protozoaires, le phénomène de mitose revêt divers aspects selon le groupe considéré, mais garde par ailleurs une caractéristique commune visualisée dans la persistance de l'enveloppe nucléaire durant la mitose, d'où le nom de cryptomitose attribué par HOLLANDE, (1972) à ce type de division.

Les études ultrastructurales des mitoses schizogoniques et sporogoniques révèlent une certaine originalité dans les divisions nucléaires des Sporozoaires avec toutefois des variations au niveau de la structure de l'appareil mitotique qui constitue le centre moteur de la division nucléaire.

Chez les Hémosporidies et plus particulièrement les Plasmodium, les études concernent essentiellement les divisions gamogoniques et sporogoniques (CANNING et AL. 1973 ; SINDEN et AL. , 1976, 1978 ; HOWELLS et AL. , 1971 ; SCHREVEL et AL. , 1977), alors que les données sur les mitoses schizogoniques restent fragmentaires (AIKAWA, 1966-1971 ; KILLBY et AL. , 1968 ; HOWELLS 1970 ; LANGRETH et AL. , 1978)

Notre discussion traitera les différents constituants de l'appareil mitotique et leur interrelation ainsi qu'un essai d'interprétation du mécanisme de la mitose schizogonique chez Plasmodium.

A - Le centre cinétique :

Terminologie établie par HOLLANDE (1972) et qu'il définit comme "une entité autoreproductible douée de continuité génétique conférant à la cellule sa polarité et susceptible sinon de présider à la synthèse des protéines constitutives des microtubules fusoriaux, du moins de régir d'une façon réversible la polymérisation et la structuration de ces protéines.

Chez les Eucaryotes - (animaux) - supérieurs, le centre cinétique extracellulaire est représenté par des formations typiques et bien structurées, les centrioles qui induisent la synthèse de microtubules et polarisent les divisions nucléaires. Par contre, chez les Eucaryotes inférieurs, cette configuration est remplacée par un centre cinétique qui, extra ou intranucléaire, peut revêtir divers aspects suivant le groupe considéré (voir KUBAI 1975, et FEBVRE 1977) ; en conséquence des appellations différentes lui ont été attribuées telles que mixoplasme (AIKAWA, 1966 - 1971), plaque centriolaire (AIKAWA et BAUDOUIN, 1968) morphoplasme (HOLLANDE et Al., 1972) matrice nématopoéitique (FAURE - FREMIET, 1970) et "microtubule organizing centers" par les anglo-saxons (PICKETT-HEAPS, 1972 ; COSS et PICKETT - HEAPS, 1973). Pour éviter toute confusion structurale et fonctionnelle deux désignations générales sont actuellement adoptées : centre cinétique (HOLLANDE 1972) et "Spindle pole body" (AIST et WILLIAMS 1972, cité par KUBAI, 1975).

La plaque centriolaire de Plasmodium fut mentionnée par AIKAWA (1971), AIKAWA et Al., (1968) ; HOWELLS et Al., (1971) ; CANNING et Al., (1973) ; SCALZI et Al. (1968) ; STERLING et Al., (1972 - 1978).

Chez P. chabaudi et P. falciparum, le centre cinétique est constitué par une masse intranucléaire microgranulaire et dense, de forme le plus souvent tronconique et sous - jacente à la plaque dense localisée au niveau du pore nucléaire. La base de cette masse est limitée par des sous - unités vésiculaires auxquelles s'attachent soit les cinétochores, soit les microtubules cinétochoriens selon la phase mitotique considérée. Des densifications cytoplasmiques analogues à celles décrites par SCHREVEL et Al. (1977), se trouvent en continuité avec le centre cinétique.

Aucune structure centriolaire n'est associée au centre cinétique de Plasmodium, comme c'est le cas chez d'autres hémospories (AIKAWA et Al., 1970 ; BAFORT, 1971 ; STERLING et Al., 1972), certains Grégarines (DESPORTES 1970, MOLON - NOBLOT et Al. 1980) et Coccidies (DUBREMETZ, 1973). Cependant une formation vésiculaire dense surmonte le noyau, dans l'axe fusorial, et n'apparaît qu'au cours des divisions mitotiques. Cette structure ne semble jouer aucun rôle dans la division

nucléaire, puisque seul le centre cinétique est supposé responsable de l'induction des divisions chez les Protozoaires (HOLLANDE, 1972 ; KUBAI, 1975). Aurait-elle néanmoins, une fonction probable dans l'évolution future du mérozoïte en gamétoocyte ?

#### B - Chromosomes et cinétochores

Le noyau de Plasmodium présente un nucléoplasme d'aspect homogène et peu dense et ne montre aucune structure apparentée à des chromosomes qui doivent toujours se présenter sous forme de fibres diffuses.

La structure nucléolaire présente chez P. falciparum, fait défaut chez P. chabaudi et il semble que ce soit une caractéristique générale des noyaux de Plasmodium de Rongeurs.

AIKAWA et Al., (1972) par des techniques cytoplasmiques mettent en évidence la présence d'une zone chromatinienne sur la périphérie des noyaux interphasiques de P. berghei et P. gallinaceum, alors que les noyaux en métaphase montrent une région chromosomique équatoriale faiblement organisée. La même année, BAHR et MIKEL, par des méthodes de cytochimie quantitatives montrent que l'ADN chez le Plasmodium de Rongeurs ne présente que 20% de la matière nucléaire et possède une faible organisation en fibrilles torsadées de 15 nm de diamètre. Toutefois, des chromosomes bien condensés tels qu'ils se présentent chez les Grégarines et Coccidies n'ont pu être observés. Cependant, le cas de Plasmodium est comparable à celui du Champignon Saccharomyces cerevisiae (PETERSON et RIS, 1976) où les chromosomes, non condensés ne sont pas visibles.

L'existence selon BAJER et MOLE-BAJER (1972) d'un chromosome par cinétochore a permis d'envisager une estimation du nombre de chromosomes à partir de celui des cinétochores. De cette manière, on a envisagé 5 à 10 chromosomes chez P. berghei (CANNING et Al., 1973) ; 8 chez P. falciparum (SINDEN et Al., 1978) et 8 également chez P. b. berghei (SCHREVEL et Al., 1977). Chez P. chabaudi comme chez P. falciparum, le nombre de cinétochores observés sur une section est de 4 à 5, alors qu'en coupe transversale, les cinétochores sont au nombre de 12 chez les deux espèces.

Les cinétochores de Plasmodium, de structure pentalaminée, se trouvent bien individualisés par rapport à ceux d'autres Sporozoaires. Et comme l'ont mentionné MOLON-NOBLOT et Al., (1980) cet aspect est vraisemblablement à mettre en relation avec la texture peu condensée des chromosomes de Plasmodium ne nécessitant pas un grand nombre de microtubules par cinétochore, (un microtubule par cinétochore comme l'ont envisagés DUBREMETZ, 1973 ; CANNING et Al 1973 ; SCHREVEL et



Al. 1977), comme c'est le cas des Grégarines par exemple (DESPORTES 1970 ; MOLON - NOBLOT et Al., 1980 ; PRENSIER, 1981).

Par leur structure et leurs dimensions, les cinétochores de Plasmodium diffèrent de ceux des organismes supérieurs (JOKELAINEN, 1967) et des Coccidies, à structure trilaminée (DUBREMETZ, 1973). La liaison cinétochore - centre cinétique est assurée par les microtubules cinétochoriens, seulement la zone d'attache des microtubules sur les cinétochores n'est pas bien définie.

En fin d'anaphase, les cinétochores forment une couronne à la base de la structure centrocônique granulaire, et s'y attachent par l'intermédiaire de sous-structures vésiculaires très petites. Un schéma analogue fut décrit par SCHREVEL et Al., (1977) chez P. b. berghéi, alors que dans un contraste marqué, les cinétochores chez les Dinoflagellés hypermastigines se trouvent encastrés dans l'enveloppe nucléaire (HOLLANDE et CARUETTE VALENTIN, 1970, 1972).

DUBREMETZ, (1973) note chez E. nécatrix la fusion des cinétochores en une seule couche trilaminée, en fin de mitose, et qui précède leur disparition progressive ; alors que chez Plasmodium, les cinétochores restent bien différenciés et séparés jusqu'à la fin des mitoses, et il y a même persistance du schéma décrit ci-dessus dans le noyau de mérozoïte à un stade avancé de sa différenciation

La présence précoce des cinétochores en début de prophase fut constatée par plusieurs auteurs (BRINKLEY et STUBBELFIELD, 1970 ; BAJER, 1973, et ROSS, 1973). DUBREMETZ, (1973) supposent que les cinétochores se trouvent déjà différenciés à la prophase au niveau du manchon fibrillaire initial.

Chez Plasmodium, la présence précoce des cinétochores au niveau du centre cinétique n'est pas improbable, mais rien ne peut-être confirmé étant donné le manque de figures mitotiques initiales. Par contre leur persistance d'une mitose à la suivante est très vraisemblable.

### C - Microtubules Fusoriaux.

Trois types de microtubules constituent le complexe fusorial de P. chabaudi et P. falciparum.

1 - microtubules interpolaires qui joignent les deux pôles fusoriaux ou microtubules continus (peu nombreux).

2 - microtubules chromosomaux qui s'attachent sur les cinétochores

3 - Un 3ème type de microtubules qui divergent dans le nucléoplasme

et s'y perdent (BRINKLEY et CARIWRIGHT, 1971 ; Mc INTOSH et LANDIS, 1971)

Ces microtubules (de diamètre identique) prennent probablement naissance au niveau du centre cinétique puisque, c'est à partir de celui-ci qu'est initié le fuseau (HOLLANDE, 1972 ; KUBAI, 1975). Dans la masse microgranulaire dense, souvent décrite aux pôles fusoriaux (FAURE - FREMIET, 1970), la synthèse des fibres fusoriales continues est vraisemblablement induite par le contact nucléocytoplasmique à travers le pore nucléaire. Ce contact, se traduit chez *Plasmodium* par une forte densification cytoplasmique ainsi que la présence de polysomes à ce niveau, témoignant ainsi d'une activité de synthèse protéique. La polymérisation se ferait au niveau de la masse intranucléaire du centre cinétique

Pour les microtubules cinétochoriens, leur synthèse est probablement initiée au niveau des cinétochores, leur rôle dans ce sens ayant été clairement démontré par PEPPER et BRINKLEY, 1979). Le passage à travers le pore nucléaire, des substances constitutives des microtubules dans les cinétochores induirait la synthèse des fibres chromosomiales à leur niveau.

Il semble que la polymérisation des fibres cinétochoriennes précède celle des fibres continues qui ne sont bien visibles qu'au début d'anaphase, au moment de migration des hémifuseaux. Il est donc possible qu'elles aient un rôle essentiel dans la séparation des chromosomes.

#### D - Essai d'interprétation des mitoses schizogoniques chez *Plasmodium*

(Représentée sur les schémas de la fig. E)

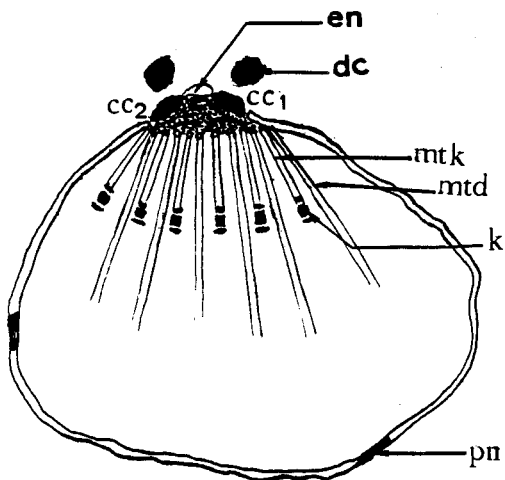
Selon HOLLANDE, (1972) les mitoses schizogoniques de *Plasmodium* correspondent à une cryptomitose à héli-fuseau, dépendant du centre cinétique, très probablement intranucléaire, quoique plusieurs auteurs décrivent chez *Plasmodium*, un centre cinétique encastré dans l'enveloppe nucléaire. Certaines images : fig. 36 a<sub>1</sub>-b<sub>1</sub>-a<sub>2</sub>, 37 a<sub>3</sub>, 40) laissent entrevoir une disposition plutôt intranucléaire. Le centre cinétique est apparenté à un centrocône qui, bien que moins marqué, rappelle celui des Coccidies typiques (DUBREMETZ, 1973).

La succession des mitoses sans caryodièrèse n'a pas été observée. Cependant, il semble que la séparation des noyaux fils est tardive et ne survienne qu'en fin de télophase

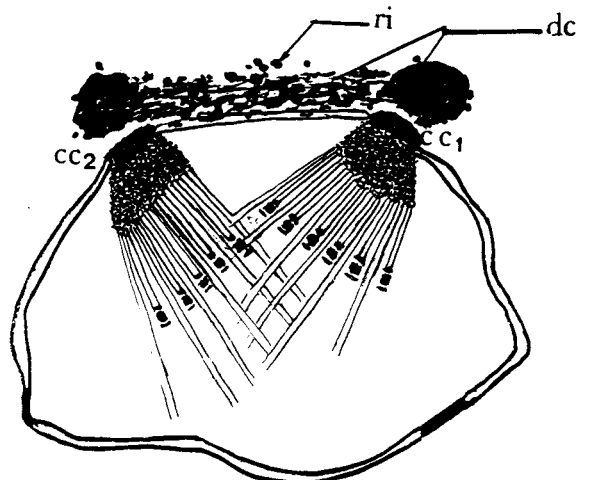
La duplication des centres cinétiques et des cinétochores doit se dérouler simultanément, et les deux hémifuseaux ainsi formés vont s'éloigner l'un de l'autre, pour former un fuseau bipolaire. Entre les deux centres cinétiques en séparation se trouve une plage cytoplasmique dense parsemée de ribosomes

Fig. E - Schéma interprétatif des mitoses  
schizogoniques chez Plasmodium

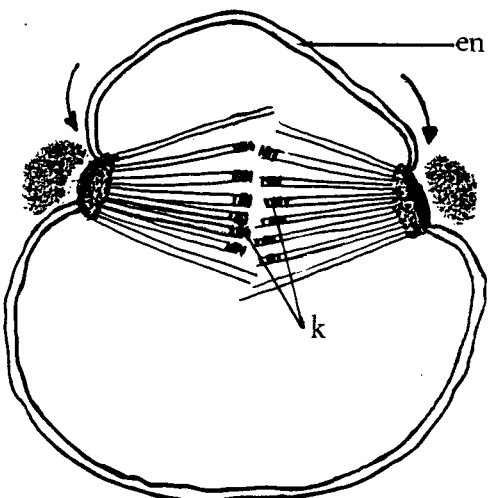
- a - Duplication des centres cinétiques et formation des hémifuseaux constitués de microtubules cinétochoriens (mtk) et microtubules divergents (mtd).
- b - Séparation des deux hémifuseaux et formation d'une zone cytoplasmique dense (dc) entre les 2 pôles.
- c - Les cinétochores (k) en plaque métaphasique. Les centres cinétiques se trouvent dans des invaginations de l'enveloppe nucléaire (Flèches). Celle-ci est soulevée en cupule entre les 2 pôles.
- d - Migration polaire des cinétochores et apparition des microtubules continus (mtp).
- c - Fin "d'anaphase" : rapprochement des cinétochores **des** pôles par les microtubules polaire (mtp), qui provoquent le soulèvement en cône de l'enveloppe nucléaire, au niveau du centre cinétique.
- f - "Télophase" avec résorption totale des microtubules cinétochoriens. Les cinétochores forment une couronne à la base de la structure centrôconique, tout en gardant leur individualité morphologique.



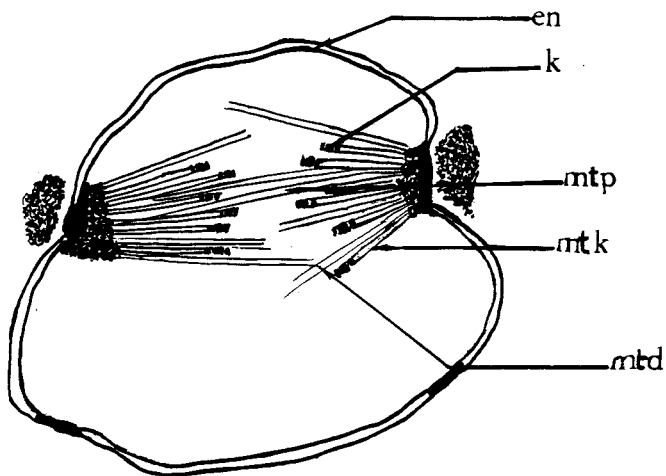
a



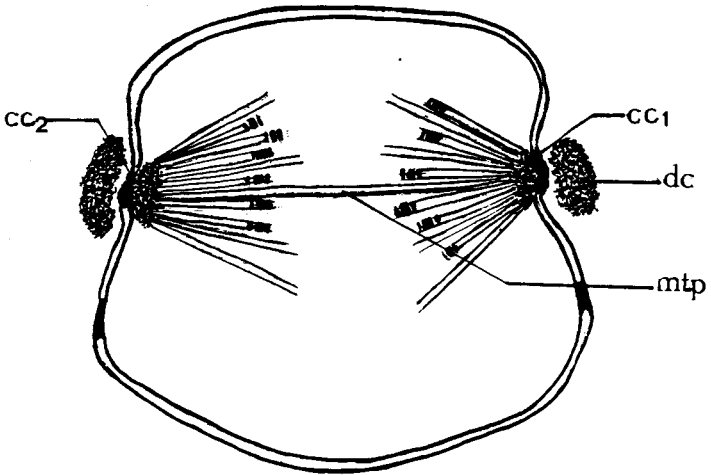
b



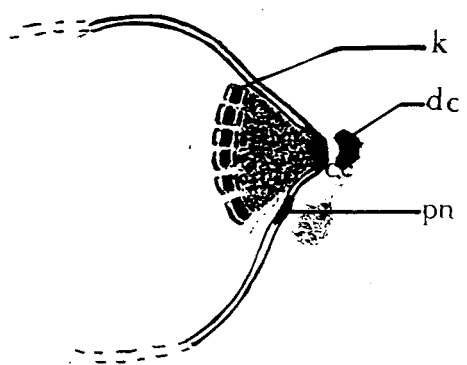
c



d



e



f



L'éloignement progressif des pôles fusoriaux entraîne un léger soulèvement en cupule de l'enveloppe nucléaire intervenant probablement dans la séparation des centres cinétiques par synthèse membranaire.

Lorsque les deux pôles se trouvent diamétralement opposés, les deux fuseaux s'orientent parallèlement l'un à l'autre formant ainsi le fuseau mitotique continu. Les deux centres cinétiques se trouvent alors dans de légères invaginations de l'enveloppe nucléaire formées probablement à la suite du soulèvement continu de l'enveloppe nucléaire entre les deux pôles.

Une disposition post-métaphasique, met en évidence les cinétochores en voie de migration polaire (ils sont disposés à distance variable de part et d'autre de la plaque équatoriale).

Le raccourcissement des fibres cinétochoriennes ainsi que l'élongation des microtubules polaires, rapprochent les cinétochores des pôles fusoriaux, selon un schéma qui rappelle l'anaphase d'une mitose classique. D'autre part, la poussée des microtubules polaires entraîne une évagination de l'enveloppe nucléaire au niveau des pôles et formation des structures centrocôniques.

L'involution totale des microtubules cinétochoriens, ainsi que l'alignement des cinétochores à la base du centrocône marquent la "télophase" mitotique de Plasmodium, les cinétochores persistent pour la mitose suivante.

L'étude ultrastructurale basée sur les seules descriptions morphologiques reste insuffisante mais constitue une voie préparatoire indispensable à la bonne compréhension des phénomènes mitotiques chez les Sporozoaires en général.

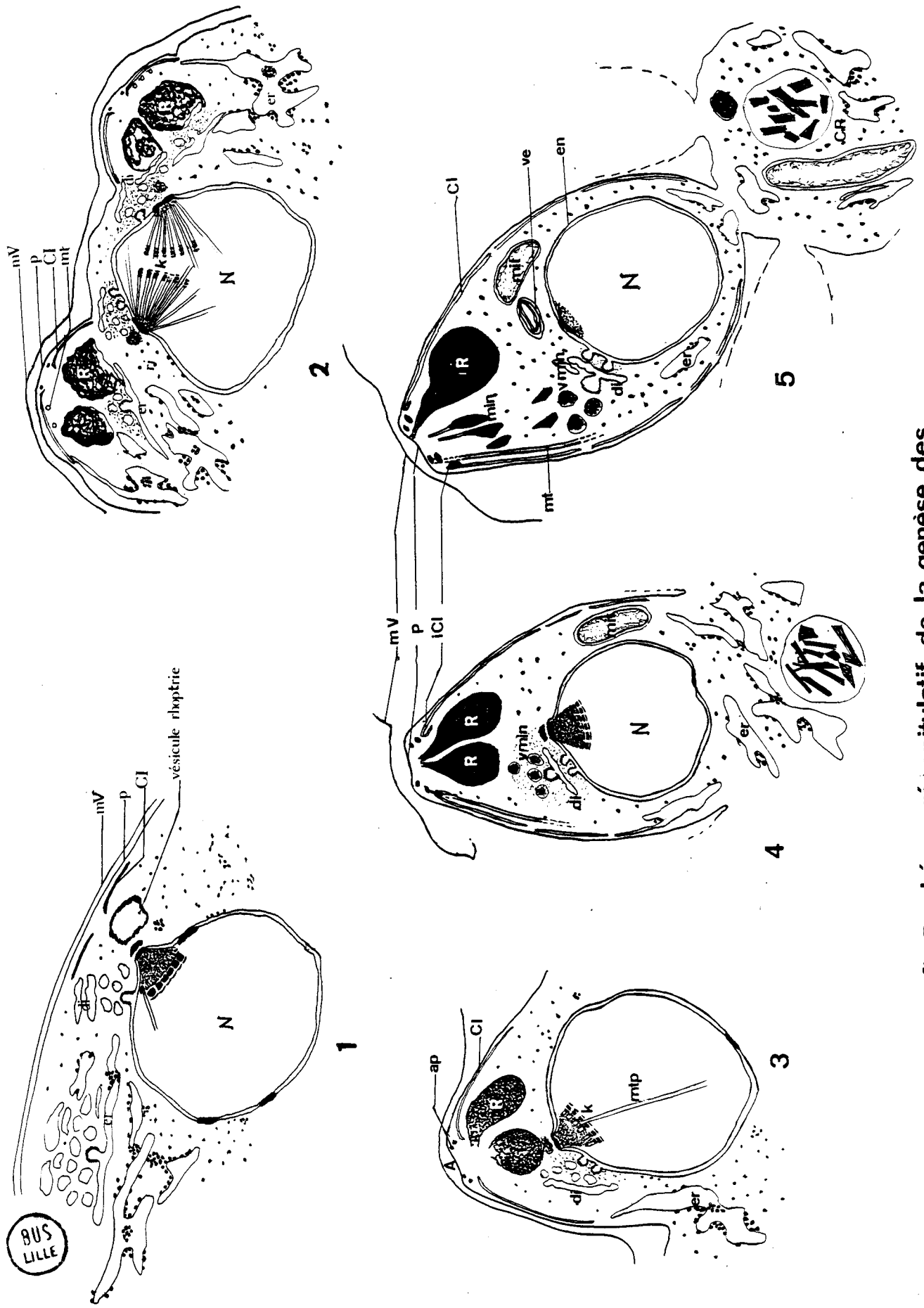


fig.F.-schéma récapitulatif de la genèse des mérozoïtes au cours de la schizogonie chez *Plasmodium*

### III - PHASE DE DIFFERENCIATION DES MEROZOITES

La schizogonie érythrocytaire et exoérythrocytaire de divers *Plasmodium* fut étudiée par AIKAWA, (1966-1971) ; HEPLER et Al. , (1966) ; SCALZI et Al. , (1968) ; KILLBY et Al. , (1969 a) ; LADDA (1969) et LANGRETH et Al. , (1978). Cependant, les modalités de genèse des différents organites restent toujours imprécises.

L'étude de la différenciation des mérozoïtes de *P. chabaudi* et *P. falciparum* nous a permis de mettre en évidence la précocité de leur genèse ainsi que le rôle important du réticulum endoplasmique et du Golgi dans l'édification des organites antérieurs et du complexe membranaire interne.

Le mode d'individualisation des mérozoïtes de *Plasmodium* relève d'une exogénèse typique (PORCHET - HENNERE et RICHARD, 1971) comme c'est le cas chez les *Eimeria* (DUBREMETZ, 1975).

Sous le plasmalemme, et dans l'axe du pôle fusorial, apparaissent les premières ébauches du germe (complexe interne et rhoptries) qui vont induire, par la suite, un bourgeonnement de la membrane plasmique dont l'extension dans la vacuole parasitophore se fera vers l'extérieur de la masse cytoplasmique du schizonte mère qui lui a donné naissance.

La genèse des mérozoïtes est très précoce et démarre pratiquement dès la première ou seconde division mitotique. Les ébauches du futur germe apparaissent toujours en association avec les pôles du fuseau intranucléaire (SCALZI et Al, 1968, AIKAWA, 1971 ; SCHREVEL et Al, 1977), et il est vraisemblable que le centre cinétique, non seulement initié la genèse des mérozoïtes, mais polarise également la mise en place des différents organites du germe (SINDEN et Al. , 1978) comme le cas pour les centrosomes de *Toxoplasma* ; (VIVIER, 1970 ; DUBREMETZ et VIVIER 1971) et le complexe centriole-centrosomes des *Eimeria* (DUBREMETZ, 1975).

L'induction précoce et presque simultanée des divers organites du mérozoïte ne nous permet pas de préciser la séquence de leur apparition. En revanche, nous pouvons distinguer trois étapes successives au cours de l'individualisation des germes :

I - Apparition des organites caractéristiques (complexe interne, microtubules sous-pelliculaires et rhoptries)

2 - Intégration du noyau et organites cytoplasmiques classiques dans le bourgeon différencié du futur mérozoïte.

3 - Synthèse des micronèmes dans le mérozoïte mature

#### A - Structures caractéristiques

##### I - Le plasmalemme :

La membrane plasmique du schizonte est à l'origine du plasmalemme du mérozoïte comme c'est le cas de tous les germes infectieux de Sporozoaires (PORCHET - HENNERE, 1972) Par conséquent, la membrane plasmique du schizonte subit probablement une extension lors de la schizogonie.

##### 2 - Le complexe membranaire interne :

Chez P. chabaudi et P. falciparum, une couche dense sous-jacente au plasmalemme caractérise l'ébauche du complexe interne qui, lorsque la résolution est suffisante, apparaît constitué de deux membranes plus ou moins accolées démontrant la structure vésiculaire du complexe interne (PORCHET - HENNERE et Al., 1977 - 1981; DUBREMETZ et Al, 1978, 1979)

La synthèse des membranes internes est assurée par le réticulum endoplasmique remarquablement développé dans le schizonte. Une intervention des vésicules golgiennes bourgeonnées par la membrane nucléaire externe, dans l'élaboration du complexe interne est très probable du moins dans la région antérieure du germe.

L'origine ergastoplasmique de la pellicule interne est semble t-il commune à divers groupes de Sporozoaires. Ainsi dans le cas de l'endogénèse de Toxoplasma, VIVIER et PETITPREZ, (1970) montrent que les membranes internes se forment par infléchissement de celles de la cellule mère, qui ne sont autres que des lamelles aplaties du réticulum endoplasmique. Le même mécanisme est décrit chez des genres voisins comme Besnoitia (SHEFFIELD, 1966) Frenkelia, (KEPKA et SCHOLTYSECK, 1970) et Sarcocystis (SENAUD, 1967). PRENSIER (1970-1981) démontre lors de la sporogénèse de Diplauxis hatti, la mise en place d'une lame aplatie du réticulum dès le début des divisions mitotiques et qui est à l'origine du premier segment bimembranaire interne, auquel d'autres lamelles viennent s'accoler lors de l'élaboration du sporozoïte, confirmant ainsi l'hypothèse de REGER, (1967) à propo



de la structure en vésicules aplaties de la pellicule interne. Cette hypothèse avancée par VIVIER et Al., (1968-1970) est confirmée par la suite chez d'autres Sporozoaires (PORCHET - HENNERE et Al, 1971 ; DUBREMETZ, 1975 ; DUBREMETZ et Al, 1979). Ces auteurs supposent aussi, une origine ergastoplasmique pour le complexe interne, et DUBREMETZ, (1975) suggère une participation plus importante des saccules golgiens dans l'édification du complexe interne d'E. nécatrix.

Chez P. chabaudi et P. falciparum, la pellicule interne présente également la structure en lamelles aplaties, seulement les niveaux de jonction entre vésicules ne sont pas évidents, par contre, la couche bimembranaire montre souvent des interruptions. (AIKAWA, 1966, 1967, 1980).

Au niveau de l'apex, le complexe membranaire interne interrompu forme un rebord épaissi que surmontent les deux anneaux polaires.

Certains auteurs décrivent trois anneaux polaires alors que les images observées n'en montrent que deux, le troisième correspond en fait à l'interruption antérieure des membranes internes caractérisée par un épaississement à ce niveau.

Les anneaux polaires constituent le niveau d'insertion des microtubules sous-pelliculaires, mais leur origine ne peut-être située.

### 3 - Les microtubules sous-pelliculaires :

Face à la pellicule interne se différencient précocement les microtubules sous-pelliculaires qui constituent une fois de plus un trait de caractère commun à tous les germes de Sporozoaires (PORCHET - HENNERE et VIVIER, 1971).

Chez Plasmodium Sp les mérozoïtes des Plasmodium mutins ne possèdent qu'un faible nombre de microtubules par rapport aux mérozoïtes des Plasmodium aviaires, sauriens et de primates, qui peuvent avoir jusqu'à 26 microtubules (SINDEN, 1978). Cette remarque confirme nos observations sur P. falciparum qui présente déjà 22 microtubules à un stade très précoce, et P. chabaudi qui en possède un faible nombre.

La répartition des microtubules chez les mérozoïtes de Plasmodium est irrégulière et rappelle leur distribution asymétrique chez les Sporozoïtes, qui se caractérisent par un nombre égal à  $(n + 1)$  microtubules répartis successivement sur  $2/3 - 1/3$  (VANDERBERG et Al, 1967 ; BAFORT, 1971 ; AIKAWA et STERLING, 1974 ; SINDEN et GARNHAM, 1973).

Les microtubules sous-pelliculaires semblent apparaître en même temps que le complexe interne, mais nous ne pouvons rien avancer quand à leur genèse

PORCHET - HENNERE et Al., (1971) observent chez Aggregata eberthi une convergence des microtubules vers les centrioles et supposent une participation de ce dernier dans leur synthèse. DUBREMETZ, (1975) montre chez E. necatrix que la naissance des microtubules est associée à un anneau discontinu de structure périodique constitué de II unités correspondant aux II paires de microtubules

Pour le mérozoïte de Plasmodium, une éventuelle participation du centre cinétique dans la synthèse des microtubules sous-pelliculaires est à concevoir, par rapprochement avec la démonstration de PRENSIER (1981) qui confirme le rôle du centre cinétique non structuré dans la synthèse des microtubules sous-pelliculaires

DUBREMETZ, (1975) et DUBREMETZ et Al., (1979) décrivent une association entre les structures en écailles du complexe interne et les paires de microtubules sous-pelliculaires, et mettent ainsi en évidence l'évolution parallèle de ces deux structures. Par ailleurs, l'apparition très précoce des microtubules chez P. chabaudi et P. falciparum laisse supposer que leur mise en place finale s'effectue ici également parallèlement à l'extension du complexe interne.

#### 4 - Les Rhoptries :

Organites en massues présents chez tous les germes infectieux de Sporozoaires (SCKOLTYSECK et Al 1970 ; PORCHET-HENNERE et VIVIER 1971). Garnham les a décrit sous le terme de "paired organelles" chez le sporozoïte de Plasmodium

L'évolution morphologique des rhoptries et leur densification progressive est actuellement bien décrite , de même que leur genèse au sein du mérozoïte.

Aussitôt après l'apparition de l'ébauche du complexe interne, la rhoptrie prend naissance sous forme d'une vésicule, bourgeonnée par une lame particulière du réticulum endoplasmique, entre le noyau et le dictyosome dont les vésicules de la face de formation participent probablement à la synthèse des précurseurs de rhoptries. L'activité golgienne est semble-t-il à l'origine de l'élaboration des rhoptries chez les germes de Sporozoaires (VIVIER et Al, 1972 - 1974 ; VIVIER 1979, DUBREMETZ, 1975 ; PORCHET-HENNERE, 1977), LANGRETH et Al (1978) décrivent un enchaînement entre le dictyosome et la rhoptrie chez P. falciparum, et supposent une intervention des vésicules golgiennes dans la condensation des "paired organelle" PRENSIER, (1981) confirme de telles suggestions en montrant la formation à partir de la face externe du dictyosome, de la rhoptrie unique de D. hatti

En fin de genèse les deux vésicules de rhoptries de Plasmodium s'étirent et différencient, à travers les anneaux polaires, leur pédoncule qui vient s'aboucher à la surface plasmique apicale.

Certains auteurs (KILLEJIAN, 1976 ; BANNISTER et Al, 1977) suggèrent une participation des rhoptries dans le processus d'invasion de la cellule hôte par le germe de Plasmodium. Toutefois, le rôle des rhoptries ne dépasse pas le stade hypothétique et reste discuté.

#### B - Intégration nucléaire et organites cytoplasmiques classiques

Après la dernière mitose, le noyau du futur mérozoïte présente la structure centrocônique caractéristique pointée vers l'apex du bourgeon germinale. L'extension de la pellicule du futur germe (plasmalemma + complexe membranaire interne) englobe progressivement le noyau qui s'engage dans la protrusion développée, en même temps que la mitochondrie. Les autres organites cytoplasmiques (réticulum endoplasmique, ribosomes) sont englobés par la suite dans la région postérieure du mérozoïte.

Chez P. falciparum, un corps sphérique plurimembranaire est associé au noyau du mérozoïte mûre. LADDA et Al, (1966) et LANGRETH et Al, (1978) décrivent la même structure chez P. falciparum. Chez P. chabaudi, c'est une sorte de vésicule plurimembranaire, moins développée que les structures multimembranaires de P. falciparum et qui est associée en général à la mitochondrie (AIKAWA, 1971) Cependant, le rôle de ces structures n'est pas précisé ; et il apparaît que la pénétration d'une ou plusieurs vacuoles plurimembranaires, dans le germe en différenciation est assez fréquente (PORCHET - HENNERE, 1972).

#### - Appareil de Golgi

C'est un organite rarement décrit chez le trophozoïte intraérythrocytaire de Plasmodium, alors qu'il se différencie assez tôt avant même le début des mitoses schizogoniques, chez P. chabaudi et P. falciparum

Le dictyosome se forme par coalescence de vésicules émises par la membrane nucléaire externe, à proximité du pôle fusorial. Au cours des mitoses schizogoniques, un dictyosome est associé à chaque pôle fusorial, et bien qu'il soit peu développé par rapport au dictyosome d'autres sporozoaires, son rôle est également très important dans la genèse des organites du mérozoïte de Plasmodium.

Chez le mérozoïte de Plasmodium, l'appareil de Golgi est représenté par un seul dictyosome situé à l'avant du noyau, comme c'est le cas par ailleurs chez tous les groupes de Sporozoaires, excepté les Piroplasmes (PORCHET - HENNERE et VIVIER 1971)

C - Génèse des micronèmes :

Les micronèmes caractérisent la plupart des germes infectieux de Sporozoaires et sont même présents en abondance chez certains groupes tels les Coccidies (PORCHET - HENNERE et VIVIER 1971 ; SCHOLTYSECK et MEHLORM, 1970 ; DUBREMETZ, 1975)

Certains auteurs (STERLING et Al., 1972) décrivent des connections topographiques entre rhoptries et micronèmes chez P. brasilianum et supposent une fonction unique pour les deux organites, à la suite de l'interprétation suggérée par SCHOLTYSECK et Al, (1970) à propos du complexe rhoptrie-micronèmes

Chez P. chabaudi et P. falciparum, les micronèmes se forment indépendamment des rhoptries et à un stade assez tardif correspondant à la phase finale de maturation du germe. Ils sont issus de vésicules sphériques, formées à la face externe du dictyosome, et acquièrent une forte densification au cours de leur migration dans la partie apicale où ils s'allongent en forme de navette et se pédiculisent à travers les anneaux polaires pour déboucher à l'apex du mérozoïte avec les rhoptries.

Cependant une fonction unique, sinon complémentaire des deux organites antérieures ne peut être exclue par les seules descriptions morphologiques, et comme l'avaient signalés PORCHET - HENNERE et VIVIER (1971), une étude dynamique du système rhoptrie-micronèmes s'impose. L'étude du mécanisme de pénétration des germes infectieux dans la cellule hôte laisse cependant supposer des fonctions différentes non simultanées pour ces deux types d'organites (PRENSIER 1981 chez D. hatti ; DUBREMETZ et Al, 1981 chez Toxoplasma)

ETUDE APRES CRYOFRACTURE

DE

PLASMODIUM CHABAUDI

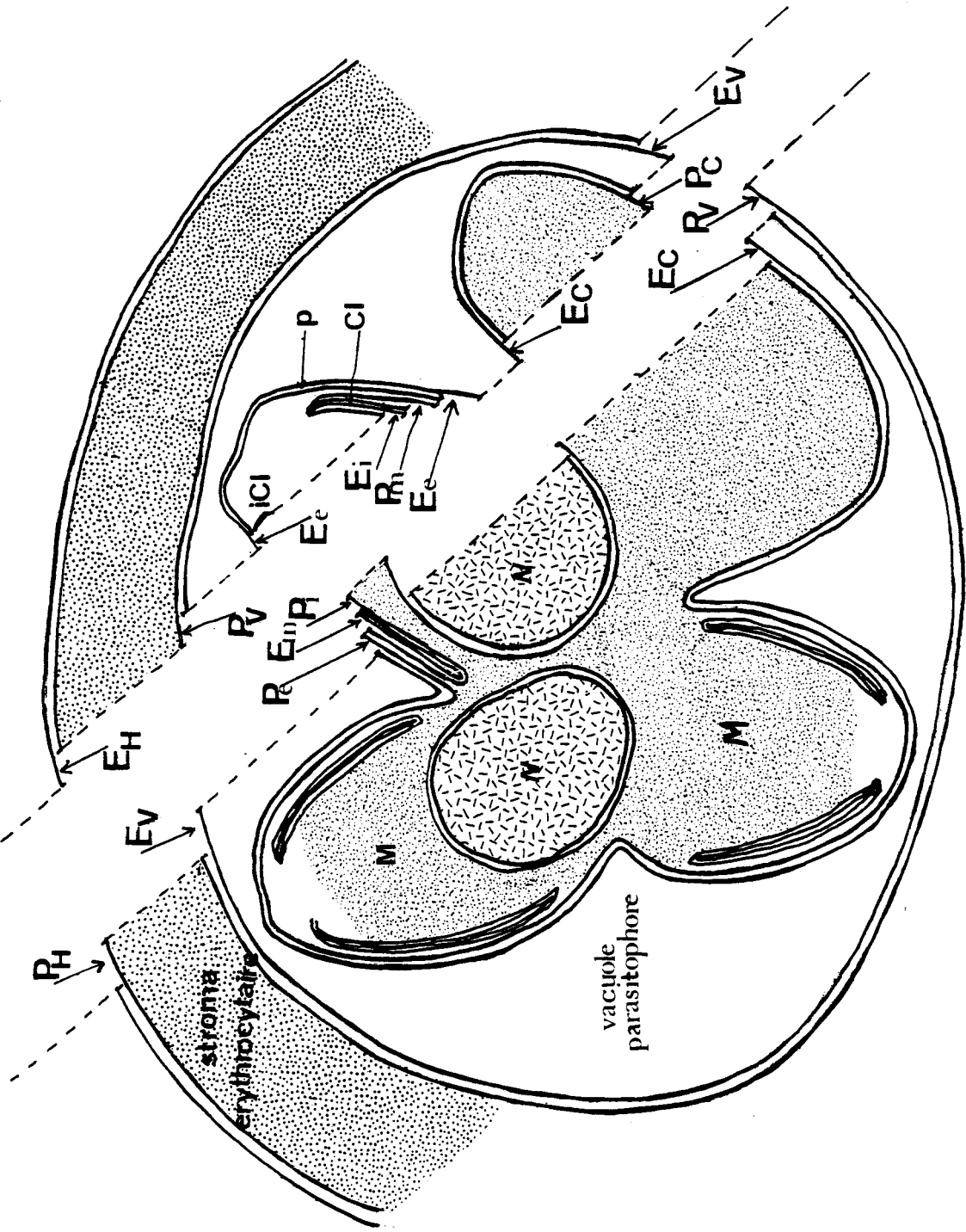


fig. H - Schema montrant la succession des différentes faces révélées par la cryofracture d'un schizonte de P. chabaudi en cours de genèse

## I - APERÇU SUR L'ARCHITECTURE MOLECULAIRE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE

(D'après SINGER et NICOLSON 1972)

La structure en mosaïque fluide de la membrane plasmique présente :

- Deux couches lipidiques à pôles hydrophobes en vis à vis des pôles hydrophiles en contact avec le hyaloplasme ou milieu extérieur
- De part et d'autre de la bicouche se trouvent les protéines périphériques hydrosolubles, alors que les protéines hydrophobes sont enchassées plus ou moins profondément dans la bicouche lipidique et constituent les protéines intégrées.

La technique de cryofracture permet une étude plus concrète des complexes membranaires. En effet, le plan de fracture passe entre les deux couches lipidiques (facilement clivables) mettant ainsi en évidence la composition en particules intramembranaires (qui correspondent aux protéines intégrées) des deux feuillets membranaires.

## II - TERMINOLOGIE (fig. H)

Selon la nomenclature de BRANTON et Al. (1975), le feuillet membranaire adjacent au cytoplasme est désigné par face P, alors que son complémentaire est la face E.

Pour la distinction des différents plans de fracture des membranes étudiées, nous avons attribué différents indices pour chaque type de membrane :

- + membrane plasmique érythrocytaire : PH et EH (Hématie)
- + membrane de la vacuole parasito-  
phore : PV et EV (Vacuole)
- + membrane plasmique du parasite : PC et EC (chabaudi)

Pour le complexe interne du mérozoïte, les indices e, m et i sont attribués successivement aux membranes externe, moyenne et interne (DUBREMETZ et Al 1978)

## III - RESULTATS

### A - Stade végétatif :

I - Membrane plasmique érythrocytaire : (fig 3) 2

Une densité élevée en particules intramembranaires (PI M) distingue

la face PH de sa complémentaire E H.

Les particules sont de taille comparable et de répartition homogène sur les 2 faces de la membrane érythrocytaire.

2 - Membrane de la vacuole parasitophore : (fig. I, 2, 3)

Elle dérive de l'invagination de la membrane plasmique érythrocytaire au cours de la pénétration du parasite.

La densité des PIM est faible sur la face P, mais reste cependant supérieure à la face E, comparée à la membrane érythrocytaire.

3 - Membrane plasmique du parasite : (fig. I, 2, 3)

On trouve beaucoup plus de PIM sur la face P, que sur la face E du plasmaleme du trophozofte.

B - Schizonte.

Il semble intervenir une diminution de la densité des PIM sur les deux faces PH et EH de la membrane plasmique érythrocytaire. Les faces de la membrane plasmique du parasite ainsi que celle de la vacuole parasitophore ne montrent aucun changement notable au niveau de la composition en PIM (fig. 5, IO, II).

A l'intérieur du schizonte (fig. 4) certains noyaux ont leur membrane externe en relation avec les lamelles du réticulum endoplasmique.

Les segments du complexe interne ne sont pas bien évidents, par contre l'aspect vésiculaire des rhoptries est bien visible avec au centre un début de différenciation du pédoncule.

C - Mérozofites intraérythrocytaires :

Ils présentent une pellicule trimembranaire constituée d'une membrane externe, le plasmaleme et de deux membranes internes qui forment le complexe membranaire interne.

.../...



#### I - Membrane externe :

Elle correspond au plasmalemme du trophozoïte et du schizonte, et présente toujours la dissymétrie  $P_e > E_e$  avec une répartition uniforme des PIM (fig. II, I2).

#### b - Complexe membranaire interne :

Une certaine hétérogénéité dans la taille des PIM caractérise la face  $P_m$  de la pellicule interne : Certaines particules sont plus proéminents, mais sans localisation particulière, elles sont dispersées ; le reste des particules, de petite taille, occupent la partie antérieure du mérozoïte où apparaissent quelques alignements grossiers de PIM (fig. I3, I4).

Sur la face  $P_i$  (fig. I2) les particules de taille homogène sont uniformément réparties.

Les faces  $E_m$  et  $E_i$  ont un aspect lisse et sont dépourvues de PIM (fig. I2, I3).

#### c - Structures apicales :

A l'extrémité apicale du mérozoïte, le plasmalemme forme une sorte de calotte tronconique présentant une faible dépression centrale (fig. 7, 8, II).

Au dessous de cette calotte et au niveau du bouffet formé par l'interruption du complexe interne (fig. 8, 9, IO) sont présents 3 à 4 structures cylindriques d'environ 45 nm de diamètre et correspondent probablement aux pédoncules des rhoptries et micronèmes.

Un bourgeon de mérozoïte bien différencié (fig. 6) montre la rhoptrie en forme de poire allongée caractéristique.

### 4 - DISCUSSION

#### A - Stade trophique

L'invasion de la cellule érythrocytaire par P. chabaudi entraîne des perturbations dans la membrane plasmique érythrocytaire qui subit un remaniement important au niveau de l'invagination qui est à l'origine de la vacuole parasitophore.

L'abaissement important de la densité de PIM au niveau de la membrane vacuolaire, témoigne du profond bouleversement que subit la composition en protéines intégrées à ce niveau. Par ailleurs, il semble que ce remaniement membranaire débute aussitôt après association du parasite avec la cellule érythrocytaire (LANGRETH 1977, AIKAWA et Al. 1981).

Parallèlement à l'abaissement du taux de protéines, une augmentation des stérois a été notée (SLOMIANNY et Al. 1981) au niveau de la membrane de la vacuole parasitophore, et selon ELIAS et Al. (1979), des variations dans la composition des stéroles membranaires agissent sur la perméabilité, la fluidité et l'activité enzymatique des membranes cellulaires.

La membrane vacuolaire, bien qu'elle dérive de la membrane plasmique de l'hématie, possède une composition en protéines et stérois qui se trouvent modifiée par la pénétration du parasite. Ce dernier semble induire de tels changements en vue de l'adapter à sa vie intraérythrocytaire.

#### B - Le schizonte :

La réduction dans la densité des particules intramembranaires dans la membrane de l'hématie parasitée par un schizonte a été notée aussi par Mc LAREN et Al, (1977). Il est probable que cette réduction des PIM soit en relation avec une altération membranaire causée par la croissance du parasite et selon HERMANN (1969), il y a accroissement de la fragilité osmotique dans les érythrocytes infestés.

En revanche, l'apparition des PIM dans les deux faces de la membrane de la vacuole parasitophore notée par Mc LAREN et Al, (1977, 1979) n'est pas confirmée sur notre matériel où la membrane de la vacuole parasitophore présente un aspect uniforme au cours de l'évolution du parasite et constitue apparemment une membrane inerte suivant étroitement l'extension de la membrane plasmique du parasite. La composition, peu modifiée, en PIM de cette dernière suggère une synthèse membranaire uniforme pendant le bourgeonnement et la différenciation des mérozoïtes.

#### C - Le mérozoïte intraérythrocytaire.

Le mérozoïte de P. chabaudi a une organisation ultrastructurale similaire à celle de tous les germes infectieux de Sporozoaires, (PORCHET - HENNERE et VIVIER 1971). Il possède une pellicule trimembranaire dont les lamelles aplaties de la couche interne s'interrompent à la partie apicale.

tronquée. Cette dernière, présente deux anneaux polaires d'où partent quelques microtubules sous-pelliculaire.

Le mérozoïte, tel qu'il se présente dans la cellule mère après cryo-fracture, semble avoir une architecture en PIM assez simplifiée, comparée aux germes infectieux de Sporozoaires étudiés par DUBREMETZ et Al. (1978-1979) et PORCHET - HENNERE et Al. (1977-1982).

L'étude apportée par ces auteurs révèle une certaine originalité dans la structure moléculaire de la pellicule des Coccidies (au sens large). Les caractéristiques communes résident dans :

1 - la présence d'une rosette apicale au niveau de l'extrémité antérieure du plasmalemme. Diverses interprétations sont suggérées pour cette formation qui constitue probablement un site cellulaire de reconnaissance, (DUBREMETZ 1978) où être en relation avec la fonction sécrétrice des organites sous-jacents (rhoptries et micronèmes) par analogie avec les rosettes de ciliés associées aux trichocystes et "extrusomes" (PLATTNER et Al. 1973, BEISSON et Al. 1976 et BARDELE 1976).

2 - Organisation des PIM au niveau des faces Pm et Pi. Ces particules dessinent des alignements doubles espacés par des lignées simples dont le nombre varie suivant les espèces étudiées. Les doubles alignements constituent l'expression membranaire des microtubules sous-pelliculaires.

3 - Des lignes de suture au niveau des plaques du complexe membranaire interne, et, confirme l'association entre écailles membranaires et paires de microtubules sous-pelliculaires démontré par DUBREMETZ (1975) et DUBREMETZ et Al. (1979) chez E. nécatrice et E. bovis. Ainsi, le nombre de plaques est de moitié celui des microtubules. Chez le sporozoïte de P. yoelii (DUBREMETZ et Al. 1979) une seule suture traduisant la structure en cylindre enroulé du complexe interne.

Nous n'avons distingué aucune des caractéristiques de la pellicule du zoïte décrites ci-dessus, chez le mérozoïte de P. chabaudi dont les images de cryofracture rappellent par contre, celles publiées par MESZOELY et Al. (1972) chez P. gallinaceum et Mc LAREN et Al. (1979) chez P. knowlesi ; et qui représentent aussi des images de mérozoïtes intraérythrocytaires.

Donc pour confirmer la composition et l'organisation des PIM des différentes faces de la pellicule du mérozoïte de P. chabaudi, l'étude du germe libre s'impose car il se peut que les membranes du mérozoïte n'acquière leur organisation finale qu'au moment de la libération du germe, et dans ce cas, une telle organisation serait en relation avec le déplacement et le pouvoir de réinvasion du mérozoïte, Mais il se peut également que l'architecture moléculaire du mérozoïte diffère de celle du sporozoïte de Plasmodium (alignement grossier

et une seule suture) ainsi que des zoïtes de Coccidies (alignement fin et plusieurs sutures qui reflètent la structure en vésicules) et, serait alors fonction de son pouvoir de motilité dans le milieu extérieur, compte tenu de l'interprétation suggérée par DUBREMETZ et Al. (1979) et qui associe la direction préférentielle des PIM, parallèlement à l'axe du zoïte et le mode de glissement de ce dernier.

Ainsi une étude approfondie du système membranaire s'avère indispensable puisqu'elles accomplissent probablement d'importantes fonctions biologiques durant la vie du parasite.

CONCLUSION

GENERALE

L'étude ultrastructurale de la schizogonie menée en parallèle chez P. chabaudi et P. falciparum nous a permis d'approfondir deux points importants :

- Le mécanisme des mitoses schizogoniques
- La genèse des germes infectieux ou mérozoïtes.

Ces deux phénomènes sont précédés par une phase de dédifférenciation et de croissance intraérythrocytaire du parasite et qui se caractérise par le développement et l'accroissement de divers organites cytoplasmiques témoignant d'une importante activité métabolique de la cellule parasite.

I - Les divisions mitotiques de type cryptomitose à hémifuseaux selon HOLLANDE (1972) sont polarisées par un centre cinétique de type centro-cône. L'appareil fusorial constitué de microtubules continus et de microtubules cinétochoriens assure la ségrégation des chromosomes présents sous forme diffuse. Le déroulement de la mitose se fait selon le mécanisme mitotique classique. Néanmoins, certaines étapes restent à préciser, tel la duplication du centre cinétique et l'initiation de la mitose. La séparation des hémifuseaux est vraisemblablement assurée par les microtubules polaires qui persistent jusqu'à résorption totale des microtubules cinétochoriens. Les coupes sériées nous ont permis de déterminer le nombre et la structure des cinétochores identiques chez les deux espèces de Plasmodium. A la fin de la mitose, les cinétochores gardent leur individualité morphologique et persistent d'une mitose à la suivante, et jusque dans le mérozoïte.

Les phénomènes de caryodière n'ont pas été observés, mais ils semblent analogues à ceux des mitoses sporogoniques (SCHREVEL et Al. 1977) avec toutefois une lobulation des noyaux moins marquée étant donné le nombre limité de mérozoïtes formés.

2 - La différenciation des mérozoïtes est très précoce, et les premiers signes de genèse apparaissent pratiquement avec le début des divisions.

Le centre cinétique semble déterminer la mise en place des différentes structures du futur mérozoïte, d'abord l'ébauche du complexe interne, ensuite les autres organites spécifiques des germes de sporozoaires (microtubules sous-pelliculaires, rhoptries et micronèmes).

Les microtubules induits probablement par le centre cinétique évoluent parallèlement au complexe membranaire interne. Celui-ci dérive du

réticulum endoplasmique et des vésicules golgiennes.

Les rhoptries qui s'individualisent aussitôt que la pellicule interne, résultent d'une activité golgienne en relation avec le réticulum endoplasmique.

Les bourgeons préfigurant les mérozoïtes se forment par exogénèse dans la vacuole parasitophore, et englobent progressivement les noyaux en fin de division.

Les micronèmes se forment tardivement par activité golgienne, le dictyosome, dans ce cas, est en relation avec le bourgeonnement de la membrane nucléaire externe.

Nous pouvons en conclure que l'analyse ultrastructurale de la schizogonie chez *Plasmodium*, fait ressortir des lacunes nombreuses, surtout en ce qui concerne les modalités de déclenchement que ce soit des divisions mitotiques ou de la genèse des germes infectieux ainsi que le mode d'action de diverses structures, (centre cinétique, ergastoplasme, appareil de Golgi) dans l'individualisation des organites spécifiques du mérozoïte. Par conséquent, seule une étude dynamique, basée sur les données morphologiques, pourra combler ces lacunes et élucider diverses hypothèses. Sur le rôle des structures antérieures du germe infectieux, dans l'invasion de la cellule hôte.

L'étude des schizontes mûres, de P. chabaudi, à évolution in vitro, par la technique de cryofracture, nous a donné une idée sur l'architecture moléculaire de la pellicule interne des mérozoïtes, qui s'avère différente des structures similaires décrites pour les autres germes infectieux de Sporozoaires.

Cependant une étude parallèle de schizonte et mérozoïtes libres in vivo est indispensable pour toute confirmation à ce propos.

BIBLIOGRAPHIE



- AIKAWA M., 1966. The Fine structure of the erythrocytic stages of the three avian malarial parasites, P. fallax, P. lophurae, and P. cathemerium. Am. J. of Trop. Med. and Hyg., 15, p. 449-471.
- AIKAWA M., 1967. Ultrastructure of the pellicular complex of Plasmodium fallax J. Cell. Biol., 35, p. 103-113.
- AIKAWA M., 1971. Parasitological review.  
Plasmodium : the fine structure of malarial parasite  
Exp. Parasit., 30, p. 284-320.
- AIKAWA M., 1977. Variation in structure and function during the life cycle of malarial parasites  
B.W.H.O., 55, p. 137-154.
- AIKAWA M. et BEAUDOIN L.R., 1968. Studies on nuclear division of a malarial parasite under pyrimethamine treatment.  
J. of Cell. Bio., 39, p. 749-754.
- AIKAWA M. COCHRANE A.H., NUSSENZWEIG R.S. et RABBEGE J., 1979. Freeze - fracture study of malaria sporozoites : antibody - induced changes of the pellicular membrane.  
J. of Protozool., 26, (2), p. 273-279.
- AIKAWA M., HEPLER P.K., HUFF C.G. et SPRINZ H., 1966.  
The feeding mechanism of avian malarial parasites.  
J. of Cell. Biol., 28, p. 355-373.
- AIKAWA M., HUFF C.G. et SPRINZ H., 1966.  
Fine structure of the asexual stage of Plasmodium elongatum.  
J. Cell. Biol., 54, p. 229-249.
- AIKAWA M., MILLER L.H. RABBEGE J.R. et EPSTEIN N., 1981.  
Freeze - fracture study on the erythrocyte membrane during malarial parasite invasion  
The J. Cell. Biol., 91, p. 55-62

AIKAWA M. et SEED T., 1980

Morphology of Plasmodia. in "Malaria" (1), KREIER J.P. ed.,  
New York, Academic Press., p. 285-344.

AIKAWA M. et STERLING C.R., 1974.

Intracellular parasitic protozoa. Academic Press. New York.

BAFORT J.M., 1971.

The biology of rodent malaria with particular reference to Plasmodium  
vinckei vinckei RHODAIN 1952. Extrait des Ann. Sco. Belge. Med. trop.,  
51, p. 1-204.

BAHR G.F. et MIKEL U., 1972.

The arrangement of DNA in the nucleus of Rodent malaria parasites.  
Proc. of. the Hetm. Soc. of Washington, 39, p. 362-372.

BAJER A.S., 1973.

Interaction of microtubules and mechanism of chromosome movement  
(zipper hypothesis) 1. General principal. Cytobios, 8, p. 139-160.

BAJER A.S. et MOLE-BAJER J., 1972.

"Spindle Dynamics and chromosome movement".  
Int. Rev. Cyt. (supp. 3) p. 271.

BANNISTER L.H., BUTCHER G.A. et MITCHEL G.H., 1977.

Recent advances in understanding the invasion of erythrocytes by  
merozoites of Plasmodium.  
B.W.H.O., 55, p. 161-165.

BEAUDOIN R.L. et STROME C.P.A., 1973.

Plasmodium lophurae : the ultrastructure of the exoerythrocytic stages  
Exp. Parasit., 34, p. 313-336.

BRANTON D., BULLIVANT S., GILULA N.B., KARNOVSKY M.J., MOOR H., MUHLETHALER K.,  
NORTHCOTE D.H., PACKER L., SATIR P., SPETA V., STAEHLIN L.A., STEERE R.L. et  
WEINSTEIN R.S., 1975.

Freeze etching nomenclature.  
Science, 190, p. 55-56.

- BRINKLEY B.R. et CARTWRIGHT J., 1971.  
Ultrastructural analysis of mitotic spindle elongation in mammalian cell in vitro. Direct microtubule counts.  
J. Cell. Biol., 50, 416-431.
- BRINKLEY B.R. et STUBBLEFIELD E., 1970.  
Ultrastructure and interaction of the kinetochore and centriole in mitosis and meiosis. in "Advances in cell Biology", PRESCOTT D.M., GOLDSTEIN L. and Mc CONKEY E.  
Appleton Century crafts, New-York, 1, 119-185.
- CANNING U.E. et SINDEN R.E., 1973.  
The organization of the ookinete and observations on nuclear division in oocysts of Plasmodium berghei.  
Parasitology, 67, p. 29-40.
- COOK R.T., ROCK R.C. AIKAWA M. et FOURNIER M.J., 1971.  
Ribosomes of the malarial parasite, Plasmodium knowlesi. I. Isolation activity and sedimentation velocity.  
Comp. Biochem. Physiol., B 39, p. 897-911.
- COOMBS G.H. et GUTTERIDGE W.E., 1975.  
Growth in vitro and metabolism of Plasmodium vinckei chabaudi  
J. of Protoz., 22 (4), p. 555-560.
- COSS R.A. et PICKETT-HEAPS J.D., 1973.  
Gametogenesis in the green alga Oedogonium cardiacum. I. The cell division leading to Formation of spermatids and oogonia.  
Protoplasma, 78, p. 21.
- COX F.E.G. et VICKERMAN K., 1966.  
Pinocytosis in Plasmodium vinckei.  
Ann. Trop. Med. Parasit., 60, p. 293-296.
- DESPORTES I., 1970.  
Ultrastructure des Grégarines du genre Stylocephalus : La phase enkystée.  
Ann. Sc. Nat. Zool. et Biol. Ani. 12<sup>e</sup> série T. XII, F. 2, p. 76-166.

DUBREMETZ J.F., 1971.

L'ultrastructure du centriole et du centrosôme chez la Coccidie Eimeria necatrix. Etude au cours de la schizogonie  
J. Microsc., 12, p. 453-458.

DUBREMETZ J.F., 1973.

Etude ultrastructurale de la mitose schizogonique chez la Coccidie Eimeria necatrix (Johnson 1930).  
J. ultr. Res., 42, p. 354-376.

DUBREMETZ J.F., 1975.

La genèse des mérozoïtes chez la Coccidie Eimeria necatrix. Etude ultrastructurale.  
J. Protoz., 22 (1), p. 71-84.

DUBREMETZ J.F., DISSOUS C. et FERREIRA E., 1981.

Toxoplasma gondii : Libération d'une protéine 25 KD associée à l'invasion de la cellule-hôte.  
20<sup>e</sup> Colloque G.P.L.F., PARIS, Juin 1981.

DUBREMETZ J.F. et ELSNERY Y., 1979.

Ultrastructural study of schizogony of Eimeria bovis in cell cultures  
J. Protoz., 26 (3), p. 367-376.

DUBREMETZ J.F. et TORPIER G., 1978.

Freeze - Fracture study on the pellicle of an Eimerian sporozoïte (Protozoa - Coccidia).  
J. Ultr. Res., 62, p. 94-109.

DUBREMETZ J.F., TORPIER G., MAUROIS P., PRENSIER G. et SINDEN R., 1979.

Structure de la pellicule du sporozoïte de Plasmodium yoelii : étude par cryofracture  
C.R. Acad. Sci. t. 288, p. 623-626.

DUBREMETZ J.F. et VIVIER E., 1971.

Etude ultrastructurale du centriole et du centrosôme chez les Coccidies Eimeria et Toxoplasma.  
1<sup>st</sup> European Multicolloquy of Parasitology, RENNES.

ELIAS P.M., FRIEND D.S. et GOERKE J., 1979.

Membrane sterol heterogeneity : Freeze-Fracture detection with saponins and Filipin.

J. Hist. Cytoch., 27 (9), p. 1247-1260.

FAURE FREMIET E., 1970

Microtubules et mécanismes morphopoïétiques.

Ann. Biol., 9 (12), p. 1-61.

FEBVRE J., 1977.

La division nucléaire chez les Acanthaires. I. Etude ultrastructurale de la mitose. Comparaison avec la caryocinèse d'autres organismes

J. Ultr. Res., 60 (3), p. 279-295.

FERREIRA E. et DUBREMETZ J.F., 1981.

Etude ultrastructurale de l'invasion de la cellule-hôte par Toxoplasma gondii

20<sup>e</sup> colloque G.P.L.F. PARIS, Juin 1981.

GARNHAM P.C.C., 1966.

"Malaria parasites and other haemosporidia".

Blackwell Scientific Publications - OXFORD.

GRASSE P.P., 1953.

Traité de zoologie

T.I., fasc. 2, ed. Masson et C<sup>ie</sup>.

HEPLER P.K., HUFF C.G. et SPRINZ H., 1966.

The fine structure of the exoerythrocytic stages of Plasmodium fallax.

J. Cell. Biol., 30 (2), p. 333-258.

HERMAN R., 1969.

Osmotic Fragility of normal duck erythrocytes as influenced by extract of Plasmodium lophurae, P. lophurae-infected cells and plasma.

J. Parasit., 55, p. 626-632.

HOLLANDE A., 1972.

Le déroulement de la cryptomitose et les modalités de la ségrégation des chromatides dans quelques groupes de Protozoaires.

Ann. Biol. T. XI, fasc. 9-10, p. 427-466.

HOLLANDE A. et CARUETTE-VALENTIN J., 1970.

Interprétation générale des structures rostrales des Hypermastigines et modalités de la pleuromitose chez les Flagellés du genre Trichonympha

C.R. Acad. Sci. PARIS, Ser. D, 270, p. 1476-1479.

HOLLANDE A. et CARUETTE-VALENTIN J., 1972.

Le problème du centrosome et la cryptopluromitose atractophorienne chez Lophomonas striata

Protistologica, 8, p. 267-278.

HOWELLS R.E., 1970 a. Mitochondrial changes during the life cycle of Plasmodium berghei.

Ann. Trop. Med. Parasit., 64 (2), p. 181-187.

HOWELLS R.E., 1970 b. Electron microscope observations on the development and schizogony of the erythrocytic stages of Plasmodium berghei.

Ann. Trop. Med. Parasit., 64, p. 305-307.

HOWELLS R.E. et DAVIES E.E., 1971.

Nuclear division in the oocyst of Plasmodium berghei.

Ann. Trop. Med. Parasit., 65 (4), p. 451-459.

JOKELAINEN P.T., 1969.

The ultrastructure and spatial organization of metaphase kinechore in mitotic rat cells.

J. Ultr. Res., 19, p. 19-44.

KEPKA O. et SCHOLTYSECK E., 1970.

Weitere untersuchungen der Feinstruktur von Frenkelia spec. (=M - organisms).

Protistologica, 6, p. 249-266

KILEJIAN A., 1976.

Does a histidine-rich protein from Plasmodium lophurae have a function in merozoite penetration.

J. Protozo., 23, p. 272-277.

KILLBY V.A.A. et SILVERMAN P.H., 1969 a.

Fine structural observations of erythrocytic stages of Plasmodium chabaudi, Landau, 1965.

J. Protozool., 16 (2), p. 354-370.

KILLBY V.A.A. et SILVERMAN P.H., 1971.

Ultrastructure of an unusual erythrocyte form of Plasmodium berghei

J. Protozool., 18, p. 51-57.

KUBAI D.F., 1975.

The evolution of the mitotic spindle.

Int. Rev. Cyt., 43, p. 167-227.

LADDA R.L., AIKAWA M., et SPRINZ H., 1969.

Penetration of erythrocytes by merozoites of mammalian and avian malarial parasites.

J. Parasitol., 55, p. 633-644.

LADDA R.L., ARNOLD J. et MARTIN D., 1966.

Electron microscopy of Plasmodium falciparum, the structure of trophozoite in erythrocytes of human volunteers.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 60 (3), p. 369-375.

LANDAU I., 1965.

Description de Plasmodium chabaudi n.Sp., parasite de rongeurs africain

C. R. Acad. Sci., PARIS, 260, p. 3758-3761.

LANGRETH S.G., 1975.

Trophozoite growth in an intraerythrocytic malaria parasite, Plasmodium lophurae.

J. Cell. Biol., 67, p. 234 a.

- LANGRETH S.G., 1977.  
Electron microscope cytochemistry of host parasite membrane interactions in malaria.  
B.W.H.O., 55, p. 169-172.
- LANGRETH S.G., REESE R.T., JENSEN J.B. et TRAGER W., 1977.  
Development of human malaria parasites in continuous culture.  
J. Cell. Biol., 75, p. 94 a.
- LANGRETH S.G., JENSEN J.B., REESE R.T. et TRAGER W., 1978.  
Fine structure of human malaria in vitro.  
J. Protozool., 25, p. 443-452.
- Mc INTOSH J.R. et LANDIS S.C., 1971.  
The distribution of spindle microtubules during mitosis in cultured human cells.  
J. Cell. Biol., 49, p. 468-497.
- Mc LAREN D.J., BANNISTER L.H., TRIGG P.I. et BUTCHER B.A., 1977.  
A freeze fracture study on the parasite-erythrocyte interrelationship in Plasmodium knowlesi infections.  
B.W.H.O., 55, p. 197-201.
- Mc LAREN D.J., BANNISTER L.H., TRIGG P.I. et BUTCHER G.A., 1979.  
Freeze-fracture study in the interaction between the malaria parasite and the host erythrocyte in Plasmodium knowlesi infection.  
Parasitology, 79, p. 125-139.
- MESZOELY C.A.M., BAUDOIN R.L., ERBE E.F. et STEERE R.L., 1975.  
Studies on the pellicular complex of the exoerythrocytic merozoites of the avian malarial parasite (Plasmodium lophurae).  
33 rd Ann. Proc. Electron. Microscopy. Soc. Amer.
- MESZOELY C.A.M., STEERE R.L. et BAHR G.F., 1972.  
Morphologic studies on the Freeze-etched avian malarial parasite Plasmodium gallinaceum  
Proc. Helm. Soc. Washington, 39, p. 149-162.



MOLON-NOBLOT S. et DESPORTES I., 1980.

Etude ultrastructurale des mitoses gamogoniques de la grégarine Grebnickiella gracilis GR. parasite de la Scolopendre Scolopendra cingulata L. Considérations sur les mitoses schizogoniques des Sporozoaires (Apicomplexa).  
Protistologica, XVI (3), p. 395-411.

MREMA J.E.K., CAMPBELL G.H., JARAMILLO A.L., MIRANDA R. et RIECKMANN K.H., 1979

Harvest of Plasmodium falciparum mérozoïtes from continuous culture  
B.W.H.O., 57, p. 63-68.

PEPPER D.A. et BRINKLEY B.R., 1979.

Microtubules initiation at kinetochores and centrosomes in lysed mitotic cells. Inhibition of site specific nucleation by tubulin antibodies.

J. Cell. Biol. 82, p. 585-591.

PETERSON J.B. et RIS H., 1976.

Electron microscopic study of the spindle and chromosome movement in the yeast Saccharomyces cerevisiae

J. Cell. Sci., 22, p. 219-242.

PICKETT-HEAPS J.D., 1969.

The evolution of the mitotic apparatus : an attempt at comparative ultrastructural cytology in dividing plant cells.

Cytobios, 1, p. 257-280.

PORCHET-HENNERE E., 1972.

Considérations générales sur les processus de schizogonie chez les Sporozoaires à la lumière des données de la microscopie électronique  
Ann. Biol., T. XI, Fasc. 9-10, p. 413-423.

PORCHET-HENNERE E., 1977.

Etude ultrastructurale de la schizogonie chez la Coccidie Globidium gilruthi.

Protistologica, 13 (Fasc. 1), p. 31-52.

PORCHET-HENNERE E. et RICHARD A., 1971.

La schizogonie chez Aggregata eberthi. Etude en microscopie électronique.

Protistologica, T. VII. (Fasc. 2), p. 227-259.

PORCHET-HENNERE E. et TORPIER G., 1977.

Etude du germe infectieux de Sarcocystis tenella et Toxoplasma gondii par la technique du cryodécapage.

Z. Parasitenkd, 54, p. 101-124.

PORCHET-HENNERE E., TORPIER G. et RICHARD A., 1982.

Etude après cryofracture du mérozoïte de la Coccidie Aggregata eberthi

Z. Parasitenkd., 66, p. 257-271.

PORCHET-HENNERE E. et VIVIER E., 1971.

Ultrastructure comparée des germes infectieux (Sporozoïtes, mérozoïtes schizozoïtes, endozoïtes) chez les Sporozoaires.

Ann. Biol., 10, p. 77-113.

PRENSIER G., 1970.

Structure de la paroi du Sporoblaste et origine du complexe interne du sporozoïte de Diplauxis hatti

C.R. Acad. Sci., 271, p. 2329-2331.

PRENSIER G., 1972.

Apparition d'un fuseau de division lié aux membranes ergastoplasmiques lors de la mitose chez Diplauxis hatti.

J. Microsc. Biol. Cell., 14, p. 82 a-83 a.

PRENSIER G., 1975.

Etude de la mitose sporogonique par la technique des coupes sériées chez Diplauxis hatti parasite coélomique de Perinereis cultrifera Grube (Reproduction - infestation de l'hôte - Contrôle hormonal de la croissance).

Thèse d'Etat - Université de LILLE I.

REGER J.F., 1967.

The fine structure of the Gregarine Pyxinoïdes balani, parasitic in the barnacle Balanus tintinnabulum.

J. Protozool., 14, p. 488-496.

ROBINSON J.M. et KARNOVSKY M.J., 1980.

Evaluation of the polyene antibiotic filipin as a cytochemical probe for membrane cholesterol.

J. Histo. Cytoch., 28, (2), p. 161-168.

ROOS U.P., 1973.

Light and electron microscopy of rat kangaroo Cells in mitosis. II - Kinetochore structure and function.

Chromosoma, 41, p. 195-220.

RUDZINSKA M.A., 1969.

The fine structure of malaria parasites.

Int. Rev. Cyt., 25, p. 161-199.

RUDZINSKA M.A. et TRAGER W., 1957.

Intracellular phagotrophy by malaria parasites : An electron microscope study of Plasmodium lophurae.

J. Protozoo., 4, p. 190-199.

RUDZINSKA M.A. et TRAGER W., 1959.

Etude des parasites du paludisme en microscopie électronique

Triangle, IV, (3), p. 97-104.

RUDZINSKA M.A. et TRAGER W. 1961.

The role of the cytoplasm during reproduction in malarial parasite (Plasmodium lophurae) as revealed by electron microscopy

J. Protozool. 8, (3), p. 307-322.

RUDZINSKA M.A. et TRAGER W., 1968.

The fine structure of trophozoïtes and gametocytes in Plasmodium coatneyi.

J. Protozool., 15, p. 73-88.

SCALZI H.A. et BAHR G.F., 1968.

An electron microscopic examination of erythrocytic stages of two Rodent malarial parasites : Plasmodium chabaudi and Plasmodium vinckei  
J. Ultr. Res., 24, p. 116-133.

SCHOLTYSECK E. et MEHLHORN H., 1970.

Ultrastructural study of characteristic organelles (paired organelles, micronemes, micropores) of sporozoa and related organisms.  
Z. Parasitenk., 34, p. 97-127.

SCHREVEL J., ASFAUX-FOUCHER G. et BAFORT J.M., 1977.

Etude ultrastructurale des mitoses multiples au cours de la sporogonie du Plasmodium b. berghei  
J. Ultr. Res., 59, p. 332-350.

SEED T., STERLING C.R., AIKAWA M. et RABBEGE J., 1976.

Plasmodium simium : Ultrastructure of erythrocytic phase.  
Exp. Parasitol., 39, 262-276.

SENAUD J., 1967.

Contribution à l'étude des Sarcosporidies et des Toxoplasmes.  
Protistologica, 3, p. 167-232.

SHEFFIELD H., 1966.

Electron microscope study of the proliferation form of Besnoitia jellisoni.  
J. Parasit., 52, p. 583-594.

SHERMAN I.W., COX R.S. HIGGINSON B., Mc LAREN D.J. and WILLIAMSON J., 1975.

The ribosomes of simian malaria , Plasmodium knowlesi. I. isolation and characterization.  
J. Protozoo., 22, p. 568-572.

SINDEN R.E., 1978.

Cell Biology. in "Rodent Malaria", Killick Kendrick R. and Peters W. eds., London, Academic Press, p. 85-168.

- SINDEN R.E., CANNING E.U., BRAY R.S. et SMALLEY M.E., 1978.  
Gametocyte and gamete development in Plasmodium falciparum.  
Proc. Roy. Soc. London B, 201, p. 375-399.
- SINDEN R.E., CANNING E.U. et SPAIN B.J., 1976.  
Gametogenesis and fertilization in Plasmodium yoelii nigeriensis :  
A transmission electron microscope study.  
Proc. Roy. Soc. London B., 193, p. 55-76.
- SINDEN R.E. et GARNHAM P.C.C., 1973.  
A comparative study on the ultrastructure of Plasmodium sporozoites  
within the oocyst and salivary glands. with particular reference to  
the incidence of the micropore  
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 67, p. 631-637.
- SINDEN R.E. et STRONG K., 1978.  
An ultrastructural study of the sporogonic development of Plasmodium  
falciparum in Anopheles gambiae.  
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 72, p. 477-491.
- SLOMIANNY C. BENAZZOU L., PRENSIER G. et TORPIER G., 1981.  
Etude de l'évolution des membranes chez Plasmodium chabaudi par  
cryofracture  
20<sup>e</sup> Colloque G.P.L.F. PARIS - Juin 1981.
- SMITH D.H. et THEAKSTON R.D.G., 1970.  
Comments on the ultrastructure of human erythrocytes infected with  
Plasmodium malariae.  
Ann. Trop. Med. Parasita., 64, p. 329.
- STERLING C.R., 1972.  
Ultrastructural study of gametocyte and gametogenesis of Haemoproteus  
netchnikovi.  
J. Protozool., 19, p. 69-76.
- STERLING G.R., AIKAWA M. et NUSSENZWEIG R.S., 1972.  
Morphological divergence in a mammalian malarial parasite : the fine  
structure of Plasmodium brasilianum.  
Proc. Helm. Soc., 39, p. 109-129.

TERZAKIS J.A., 1971.

Transformation of the Plasmodium cynomolgi oocyst.  
J. Protozool., 18, p. 62-73.

THEAKSTON R.D.G., FLETCHER K.A. et MAEGRAITH B.G., 1968.

The fine structure of Plasmodium vinckei, malaria parasite of rodents.  
Ann. Trop. Med. Parasitol., 62, p. 122-134.

THEAKSTON R.D.G., HOWELLS R.E., FLETCHER K.A., PETERS W., FULLARD J. et  
MOORE G.S., 1969.

The ultrastructural distribution of cytochrome oxidase activity in  
Plasmodium berghei and P. gallinaceum.  
Life Sciences, 8, p. 521-529.

THEAKSTON R.D.G., FLETCHER K.A. et MAEGRAITH B.G., 1970 b.

Ultrastructural localization of NADH and NADPH - deshydrogenase in  
the erythrocytic stages of the rodent malaria parasite, Plasmodium  
berghei.  
Life Sciences, 9, p. 421-429.

TRAGER W., RUDZINSKA M.A. et BRADBURY P.C., 1966.

The fine structure of Plasmodium falciparum and its host erythrocytes  
in natural malarial infection in man.  
Bull. W.H.O., 35, p. 883-885.

VANDERBERG J. et RHODIN J., 1967.

Differentiation of nuclear and cytoplasmic fine structure during  
sporogonic development of Plasmodium berghei.  
J. Cell. Biol., 32, p. C<sub>7</sub>-10.

VIVIER E., 1970.

Observations nouvelles sur la reproduction asexuée de Toxoplasma gondii  
et considérations sur la notion d'endogenèse.  
C.R. Acad. Sci., 271, p. 2123-2126.

VIVIER E., 1979.

Données nouvelles sur les Sporozoaires. Cytologie - Cycle - Systéma-  
tique  
Bull. Soc. Zool. de France. 104, n°4 p. 345-381.

VIVIER E., DEVAUCHELLE G., PETITPREZ A., PORCHET-HENNERE E., PRENSIER G.  
SCHREVEL J. et VINCKIER D., 1970.

Observations de cytologie comparée chez les Sporozoaires. I - Les structures superficielles chez les formes végétatives. *Protistologica*, VI Fasc. 1, p. 127-150.

VIVIER E. et PETITPREZ A., 1968.

Le complexe membranaire superficiel et son évolution lors de l'élaboration des individus fils chez Toxoplasma gondii. *J. Cell. Biol.*, 43, p. 329-342.

VIVIER E. et VICKERMAN K., 1974.

Divisions nucléaires chez les Protozoaires. In DE PUYTORAC P. et GRAIN J.  
Eds. *Actualités Protozoologiques*. V-1, p. 161-177.  
Université de CLERMONT-FERRAND.

ANNEXE  
PLANCHES



## Abréviations utilisées

A	Apex
ap	Anneaux polaires
cc	centre cinétique
CI	Complexe interne
CH	Cellule Hôte
CR	Corps résiduel
Cy	Cytostome
K	Cinétochores
di	Dictyosome
en	enveloppe nucléaire
F	Fuseau mitotique
iCI	interruption du complexe interne
M	Mérozoïtes
min	micronèmes
mit	mitochondrie
mt	microtubules sous-pelliculaires
P	membrane plasmique du parasite
mV	membrane de la vacuole parasitophore
pe	membrane plasmique érythrocytaire
N	Noyau
nu	nucléole
pn	pore nucléaire
pi	pigments
er	Reticulum endoplasmique
ri	ribosomes
R	Rhoptrie
SM	Structures multilamellées
Vd	Vacuole digestive
ve	vésicule plurimembranaire
Vpi	Vacuole pigmentaire.

Planche I.      P. chabaudi

- Figure 1 :      Forme sphérique du mérozoïte après invasion de la cellule érythrocytaire - Noter les vésicules golgiennes en régression (tête de flèche).  
x 40.000.
- Figure 2 :      Le jeune trophozoïte présente une grande vacuole digestive limitée par deux membranes - Les cristaux d'hémozoïne localisés sur la périphérie .  
La mitochondrie de forme allongée est placée contre la vacuole digestive.  
x 50.000.
- Figure 3 :      P. chabaudi parasitant un réticulocyte où apparaît différents organites cytoplasmiques.  
x 36.000
- Figure 4 :      Le jeune trophozoïte à un stade de croissance plus avancé. Il est entouré par deux membranes. Les grains d'hémozoïne toujours localisés en périphérie du cytoplasme - Noter le début de développement de l'ergastoplasme.  
x 40.000.





Planche II. P. chabaudi

- Figure 5 : Trophozoïte adulte : noter le développement des différents organites cytoplasmiques ainsi que la formation d'un dictyosome à partir de la membrane externe de l'enveloppe nucléaire.  
Apparition des structures plurimembranaires contigues au noyau.  
x 57.000.
- Figure 6 : Section longitudinale du cytostome, limité à sa base par deux piliers denses (têtes de flèche)  
x 40.000.
- Figure 7 : Organisation du réticulum endoplasmique en fines lamelles parallèles au centre du Schizonte.  
x 28.000.
- Figures 8 et 9 : Bourgeons mitochondriaux (tête de flèche) présentant des crêtes ampullaires. La matrice présente quelques ribosomes  
- les cisternes ergastoplasmiques montrent des couches plurimembranaires (flèches).  
Fig. 8 x 70.000  
Fig. 9 x 40.000.





Planche III      P. falciparum.

Figure 10 :      Jeune trophozoïte montre l'ouverture d'une vacuole à partir du cytostome (flèche courbe)  
- noter les groupements nombreux de ribosomes en polysomes.  
x 28.000.

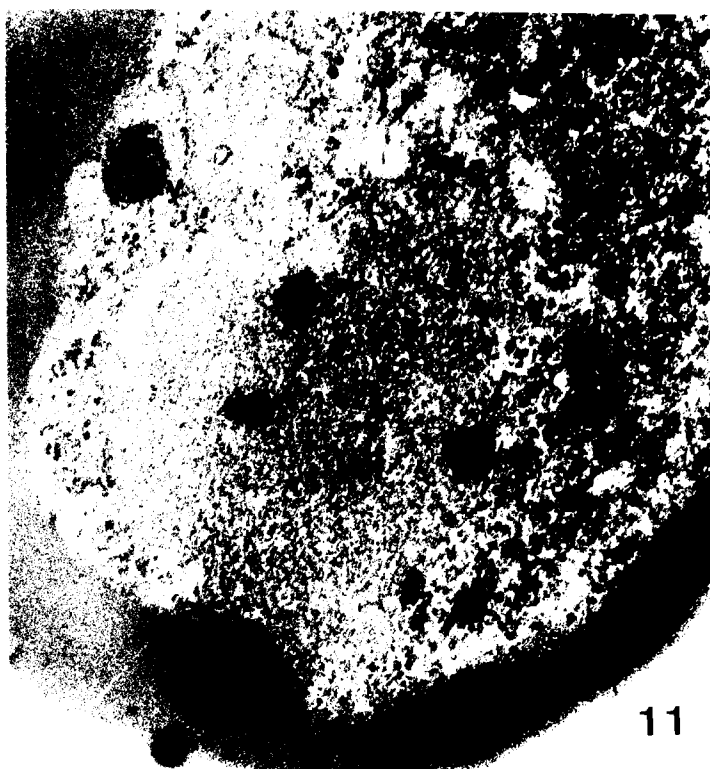
Figure 11 :      Aspect du cytostome sur une section tangentielle au jeune trophozoïte.  
Les grains de pigments sont groupés dans une grande vacuole pigmentaire.  
x 60.000.

Figure 12 :      Trophozoïte adulte : le noyau de forme irrégulière présente un nucléole. Le réticulum endoplasmique est présenté par de petites lamelles fines.  
x 27.000.

Figure 13 :      Le dictyosome formé à partir du bourgeonnement de la membrane nucléaire externe  
x 60.000.

Figure 14 :      Des figures lamellées (petites flèches) et les "knobs" (tête de flèche) nombreux, formés sur la membrane érythrocytaire, traduisent l'altération de la cellule érythrocytaire par le parasite.  
x 24.000.





THIS  
LITTLE

## Planche IV

- Figure 15 : Noyau en division de P. chabaudi.  
Entre les microtubules polaires (○) et microtubules divergeants (□), des zones nucléoplasmiques faiblement denses aux électrons (aster: ) et qui correspondent peut être aux chromosomes.  
x 94.000.
- Figure 16 : Figure de "télophase " chez P. chabaudi.  
Les microtubules cinétochoriens (Δ) semblent émerger à partir d'unités vésiculaires (flèches).  
Le centre cinétique forme une structure centrocônique surmonté par des densifications cytoplasmiques, sphériques (étoile)-  
Un microtubule polaire (○) est encore visible.  
42.000.
- Figure 17 : Centrocône couronné à la base par 4 cinétochores.  
Des fragments de microtubules cinétochoriens (Δ) s'attachent encore sur les cinétochores. Un centre cinétique (tête de flèche) apparait, à proximité du premier  
x 70.000.
- Figure 18 : a, b, c, : sections successives chez P. chabaudi mettant en évidence 12 cinétochores dispersés entre une dizaine de microtubules fusoriaux  
x 55.200.
- Figure 19 : Fuseau mitotique en coupe transversale chez P. falciparum. La section permet de dénombrer 12 cinétochores (tête de flèche) et une trentaine de microtubules (flèches).  
x 56.000
- Figure 20 : "Télophase" chez P. falciparum. Les microtubules cinétochoriens sont totalement résorbés. Une densification cytoplasmique (étoile) surmonte le centrocône. Un pore nucléaire dense (centre cinétique ?) (tête de flèche) au voisinage du pôle  
x 48.000



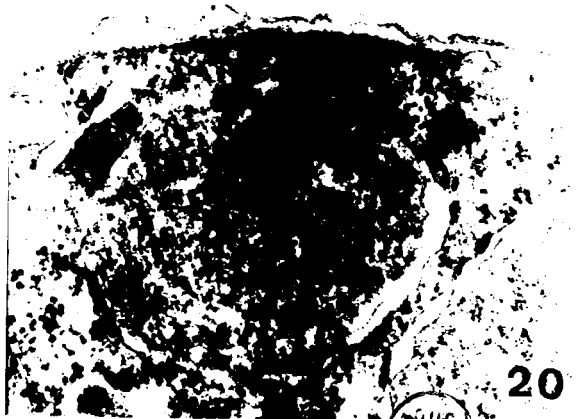
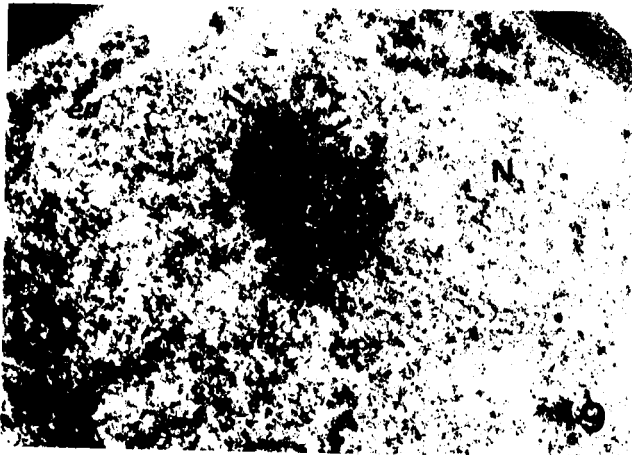
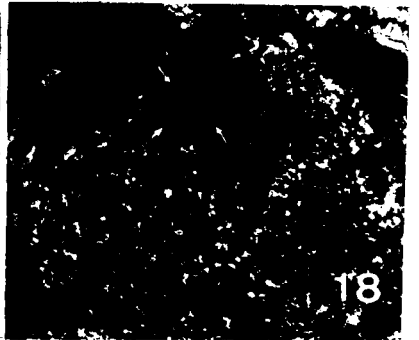
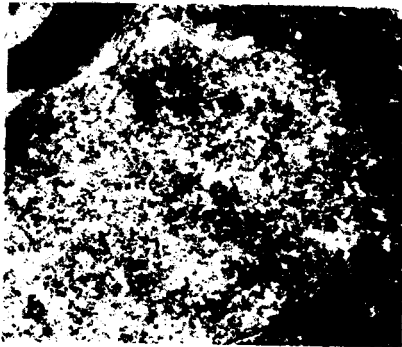
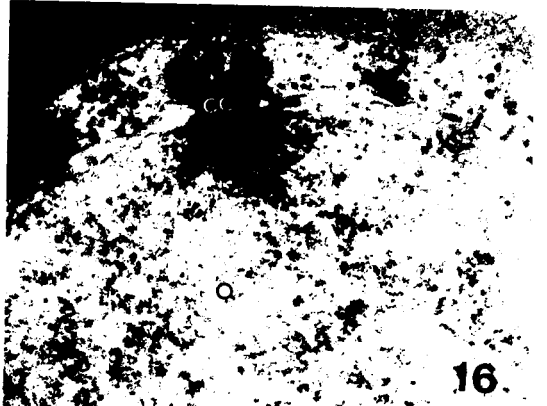


Figure 21 et 22 : A proximité du centre cinétique, un autre centre cinétique (flèche) résultant probablement de la duplication du premier.

x 60.000.

Figure 23 : Hémifuseaux constitués de microtubules divergents ( $\square$ ) et de microtubules cinétochoriens ( $\Delta$ ).

Les cinétochores (flèche) s'attachent à une masse faiblement dense aux électrons (aster).

Au voisinage du pôle fusorial, une plaque dense (tête de flèche) correspond probablement au 2<sup>e</sup> centre cinétique.

x 80.000

Figure 24 : Eloignement des pôles fusoriaux. Les cinétochores sont disposés de part et d'autre de la plaque équatoriale.

Des densifications cytoplasmiques (étoile) surmontent les centres cinétiques dont l'un présente une section tronconique. La membrane nucléaire externe bourgeonne des vésicules à l'origine du dictyosome (aster).

x 60.000.

Figure 25 : Stade mitotique plus avancé. Le microtubule polaire ( $\odot$ ) relie les 2 pôles - Noter le soulèvement en cupule de l'enveloppe nucléaire (grosse tête de flèche).

En regard du centre cinétique, le bourgeon du futur mérozoïte montre le complexe interne (flèche), les microtubules sous pelliculaires (tête de flèche) et la rhoptrie. Noter le dictyosome (aster) formé au voisinage du pôle fusorial.

81.000.

Figure 26 : Alignement des centres cinétiques. Les cinétochores sont en migration polaire (petites flèches).

x 60.000.

Figures 27 et 28 : Fin "d'anaphase" avec séparation des deux hémifuseaux et rapprochement vers les pôles, des cinétochores. Noter le dictyosome en formation (aster).

Fig. 27 x 60.000

Fig. 28 x 100.000



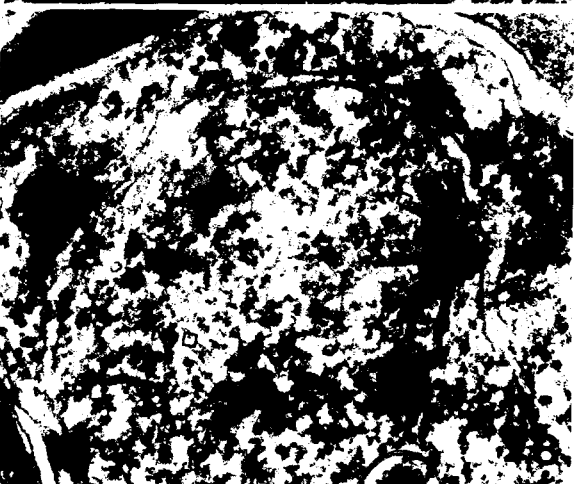
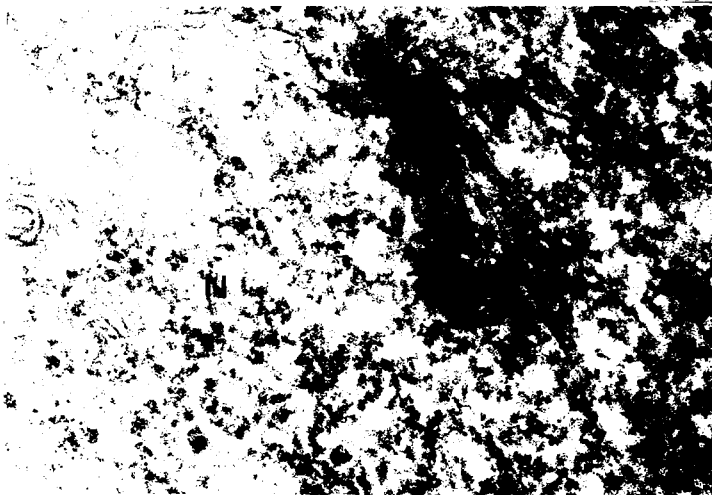
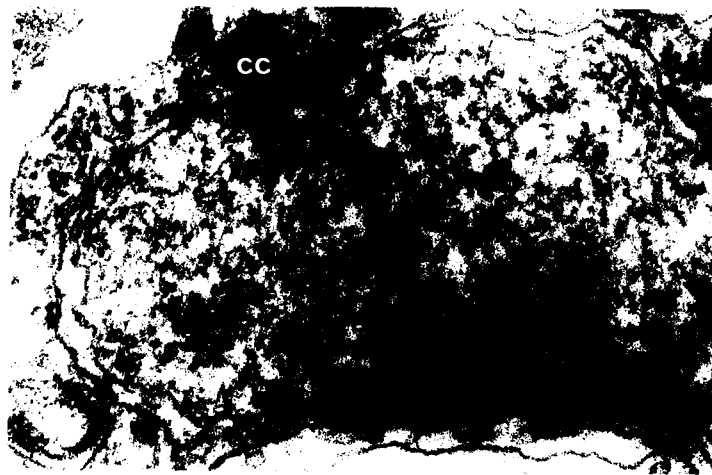


Figure 29 : Jeune schizonte en début de mitose.  
Le noyau montre une figure "d'anaphase".  
x 57.500.

Figure 30 a, b, c, d : Coupes successives au niveau du noyau du même schizonte mettant en évidence le fuseau anaphasique, les cinétochores sont à distance variable de part et d'autre de la plaque équatoriale les centres cinétiques (b et c : flèches) montrent une légère invagination de l'enveloppe nucléaire.  
x 94.000.



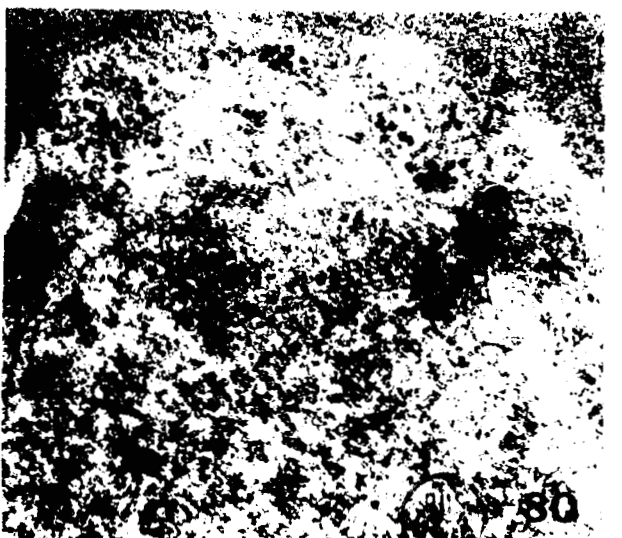
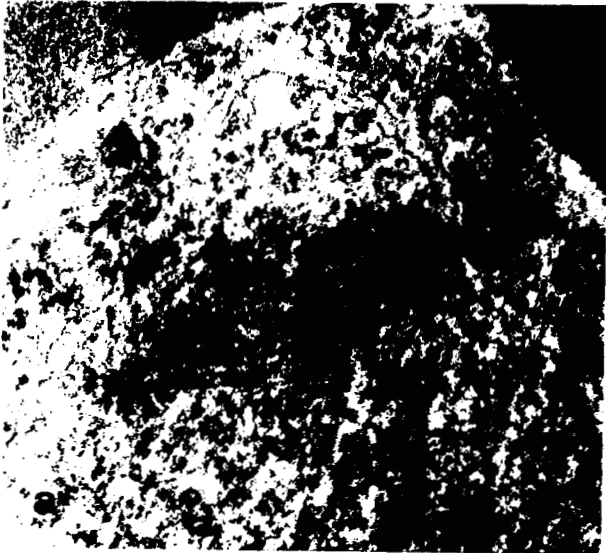


Planche VII      P. falciparum

Figure 31 :      Coupes sériées dans un plan oblique au niveau de noyau en fin "d'anaphase" (grosse flèche). Le pôle fusorial (fig. d) montre la structure en centrocône

Noter les 2 structures vésiculaires denses (petites flèches : fig. è) qui surmontent les centres cinétiques des deux noyaux.

Le microtubule polaire (0) relie les deux pôles fusoriaux (fig. 4).

x 36.000.



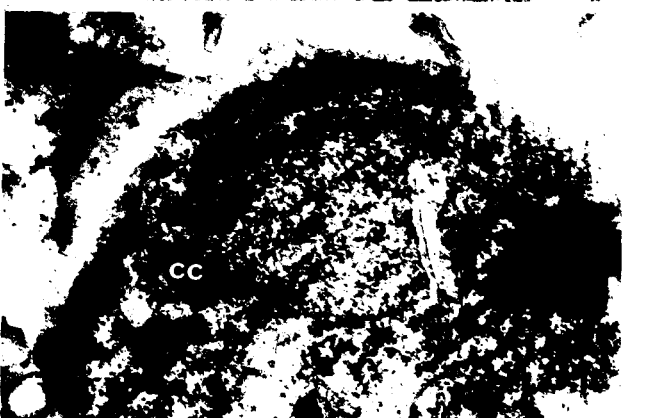
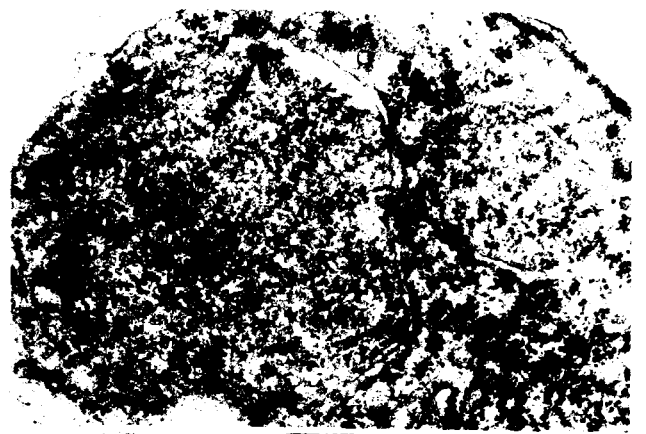


Planche VIII

Figure 32 : Jeune schizonte de P. chabaudi en début de genèse  
Entre le pôle fusorial et le plasmalemme apparaissent les ébauches du complexe membranaire interne (tête de flèche) et des vésicules de rhoptries.  
x 56.000.

Figure 33 : Jeune schizonte de P. falciparum.  
Les noyaux localisés sur la périphérie.  
Sous le plasmalemme, les segments du complexe interne (tête de flèche).  
Noter l'aspect du réticulum endoplasmique qui est moins marqué que chez P. chabaudi.  
x 33.600.







32



33



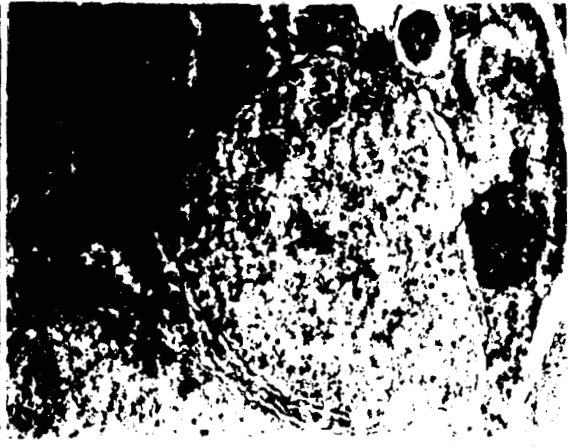
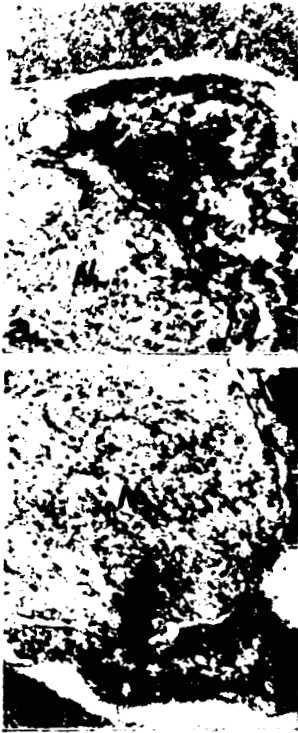
Planche IX

- Figure 34 : P. chabaudi.  
Début de bourgeonnement des mérozoïtes.  
Les bourgeons se différencient dans l'axe du pôle fusorial (flèches).  
Noter les vésicules plurimembranaire au voisinage du noyau.  
x 50.000
- Figure 35 : P. falciparum. (Souche Camp)  
Bourgeonnement des futurs mérozoïtes.  
Noter le dictyosome bien formé, parallèlement au complexe interne.  
La membrane plasmique érythrocytaire montre de nombreux "knobs" (têtes de flèche)  
x 52.500.



Planche X

- Figure 36 : Schizonte de P. chabaudi
- $a_1 - e_1$  Coupes sérieées au niveau du noyau N1. en "Télophase"  
et le noyau N3.  
Antérieurement au noyau nombreuses vésicules bour-  
geonn es par la membrane nucléaire externe et par  
des lamelles du réticulum endoplasmique en relation  
avec le complexe interne et les vésicules de rhoptrie.
- $a_2 - e_2$  : Coupes sérieées au niveau du noyau N2 mettant en  vi-  
dence l'origine ergastoplasmique du complexe inter-  
ne et des rhoptries.  
x 57.500.



## Planche XI

Figure 37 : Schizonte de la fig. 36.

La relation : réticulum endoplasmique - vésicules bourgeonnées par la membrane nucléaire externe et la vésicule de rhoptrie, apparait antérieurement au noyau N3 (flèche). les deux segments du complexe interne (tête de flèche) montre 2 infléchissements à l'origine de l'interruption antérieure de la pellicule interne.

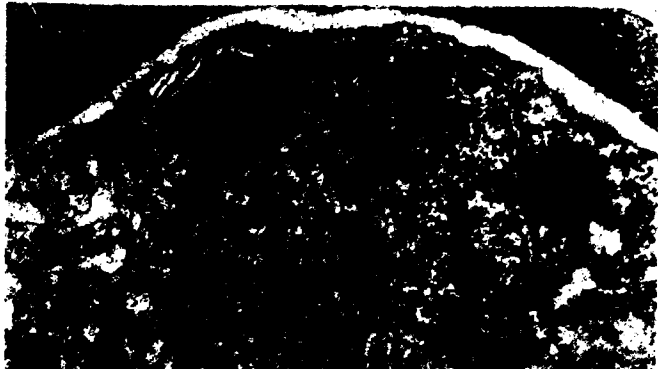
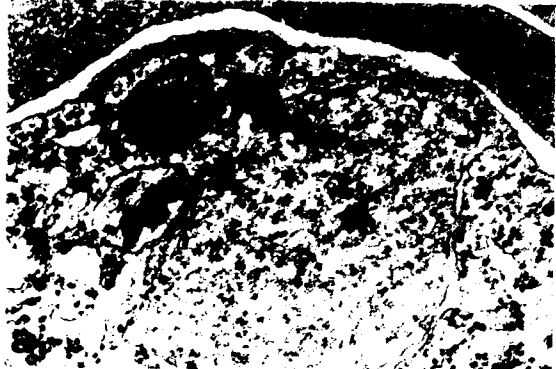
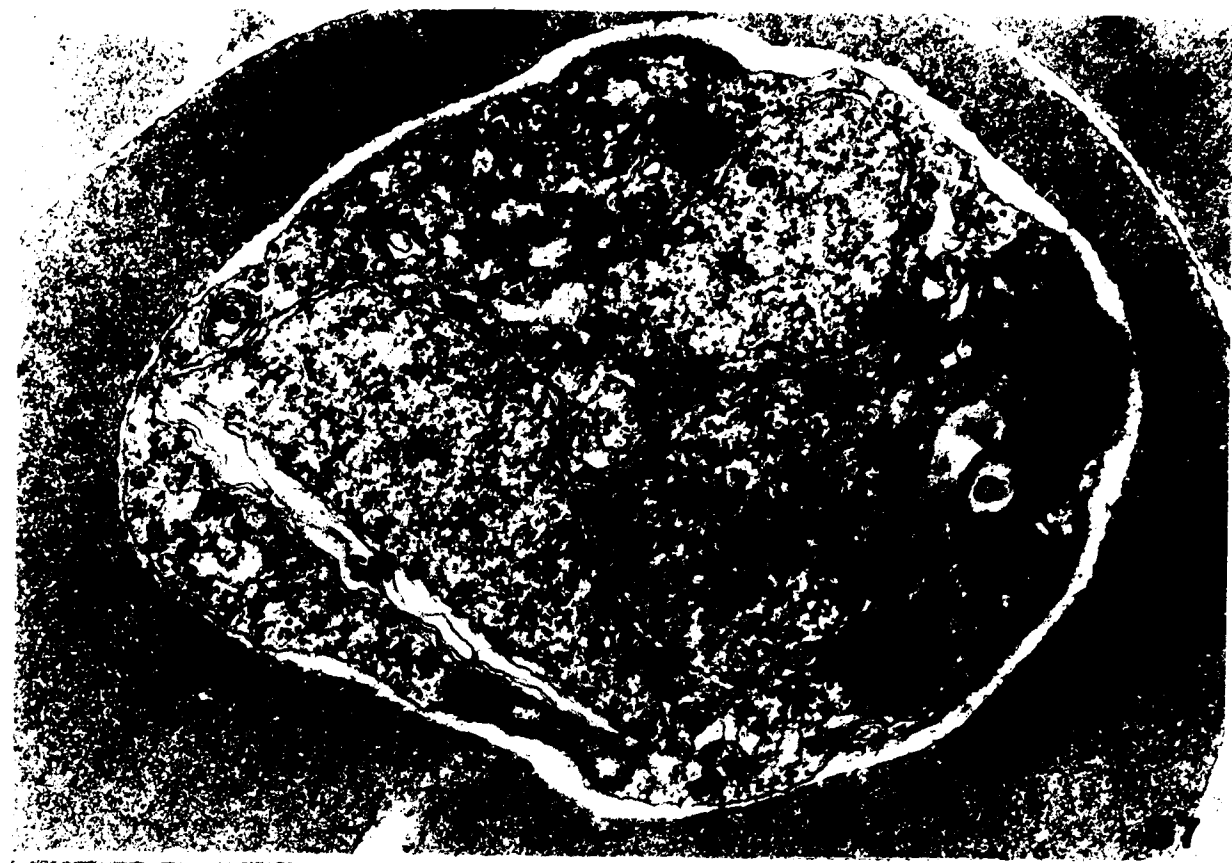
Antérieurement au noyau N2, noter la lame du réticulum endoplasmique qui vient se placer sous le plasmalemma (tête de flèche).

x 57.500.

$a_3 - f_3$  : Coupes sériées au niveau du noyau N3 en début "d'anaphase" (Fig.  $e_3$ ).

Noter la continuité entre le réticulum endoplasmique et le complexe interne (tête de flèche).

x 57.500.



- Figure 38 : Lamelles du réticulum endoplasmique agranulaire bourgeonnent des vésicules nombreuses (aster) dans les zones antérieures au noyau où se différencient le complexe interne et les rhoptries.  
x 92.000.
- Figure 39 : La lame du réticulum en continuité avec le complexe interne qui montre 2 membranes constituées chacune de 2 feuilletts (tête de flèche)  
x 115.000.
- Figure 40 a et b : 2 coupes successives montrent la différenciation par l'ergastoplasme des lamelles agranulaires (flèche courbe) qui viennent se placer sous le plasmalemma pour former la pellicule interne.  
x 115.000.





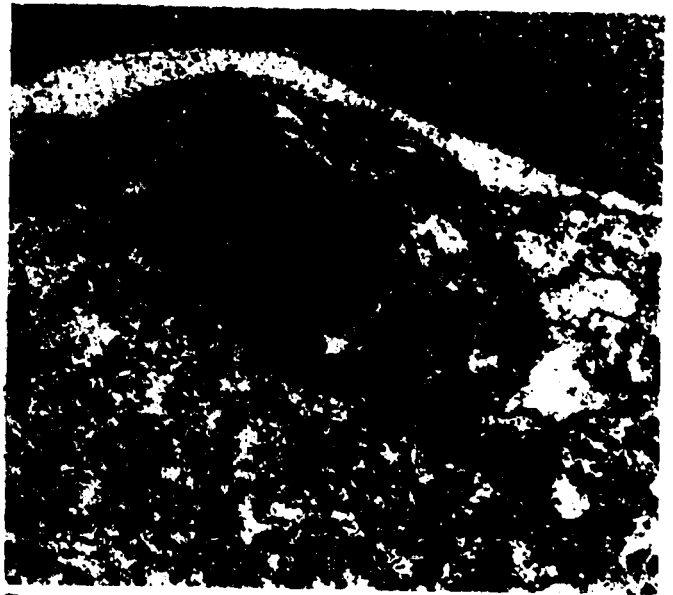
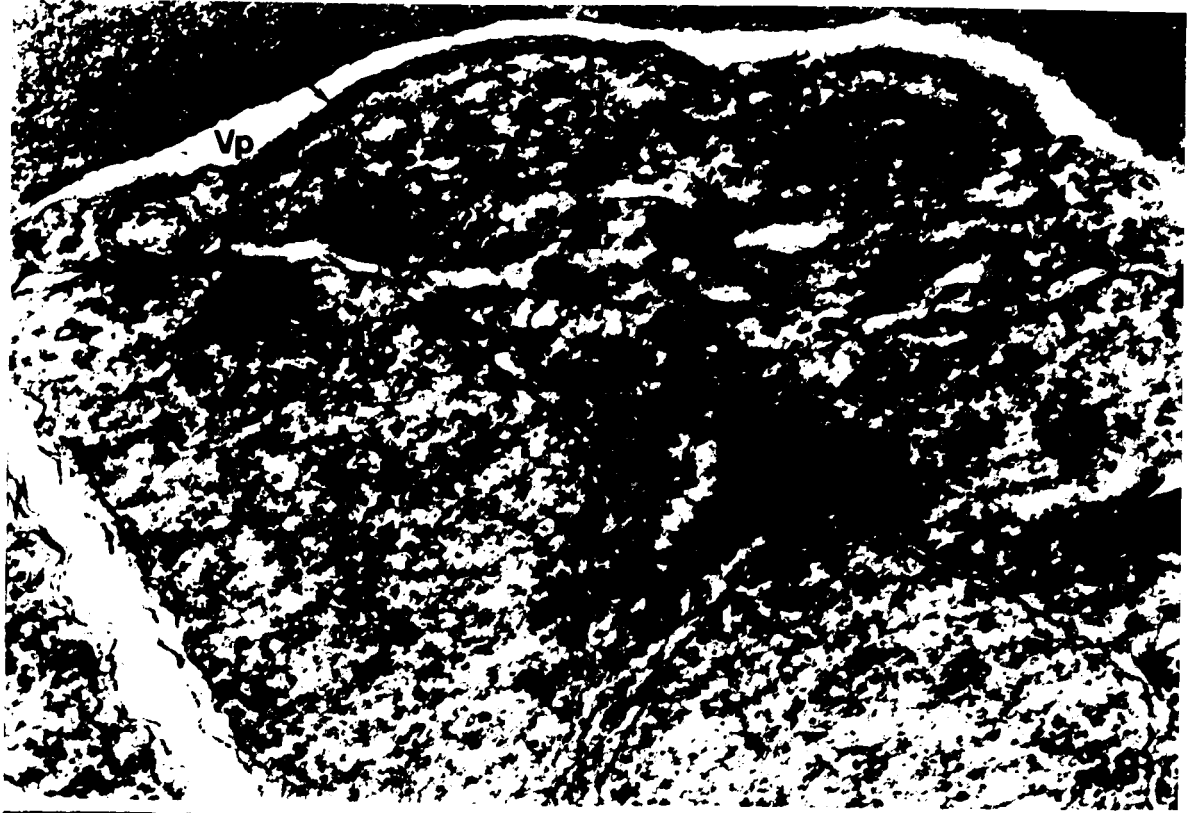


Planche XIII     P. falciparum

Figure 41 :     Schizonte en début de g n se  
x 37.000.

Figure 42 :     Au voisinage du pôle fusorial (tête de flèche),  
la membrane nucléaire externe émet des vésicules  
(flèche)   l'origine du dictyosome que surmonte la  
rhoptrie.  
x 40.000.

Figure 43 et 44 :     Les lamelles du complexe interne en continuité  
avec des vésicules aplaties du réticulum endoplas-  
mique (tête de flèche).  
x 40.000.





41



42

LIFE

Figure 45 : Relation entre bourgeonnement de la membrane nucléaire (aster), le réticulum endoplasmique et la vésicule de rhoptrie.  
x 117.500.

Figure 46 et 47 : 2 coupes successives montrent la densification progressive des rhoptries par petites plages (têtes de flèche).  
x 103.500

Figure 49 et 50 : De nombreuses vésicules à contour dense sont émises par la membrane nucléaire externe (aster), au niveau des rhoptries au cours de différenciation  
Fig. 49 x 70.000  
Fig. 50 x 60.000.





## Planche XV

- Figure 51 : Section transversale au niveau d'un bourgeon de mérozoïte de P. falciparum.  
Noter la différenciation précoce des microtubules sous-pelliculaires.  
x 54.000.
- Figure 52 : A plus fort grossissement, noter les incurvations du complexe interne (têtes de flèche).  
x 108.000.
- Figure 53 : Deux microtubules sous-pelliculaires sont visibles sous la densification du complexe interne d'un jeune bourgeon de mérozoïte de P. chabaudi.  
Le noyau est en phase mitotique finale.  
x 81.000.
- Figure 54 : P. chabaudi  
Les bourgeons des futurs mérozoïtes forment des dômes dans la vacuole parasitophore. Les grains de pigments se groupent dans des vacuoles unimembranaires.  
x 35.000.
- Figure 55 : P. falciparum  
Le dôme abrite 2 noyaux en séparation (flèche) après une dernière mitose, et sera à l'origine de deux bourgeons secondaires de mérozoïtes.  
x 60.000.
- Figure 56 : Le noyau à moitié intégré dans le bourgeon du mérozoïte de P. chabaudi. Il montre le centrocône ( $\Delta$ ). Les cinétochores gardent toujours leur individualité morphologique.  
x 70.000
- Figure 57 : La séparation de 2 noyaux encore reliés par la membrane nucléaire externe (flèche) chez P. chabaudi  
La partie apicale est déjà différenciée.  
x 35.000.

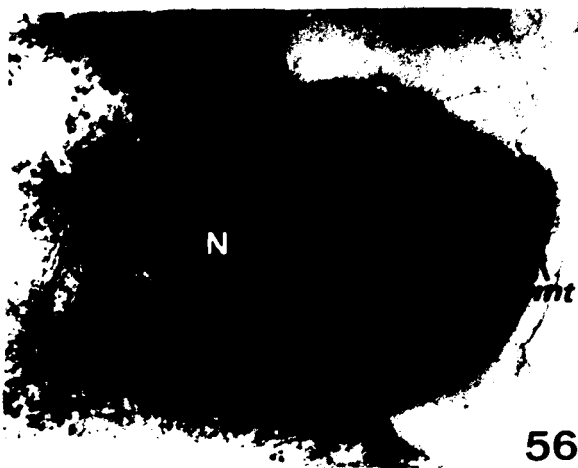
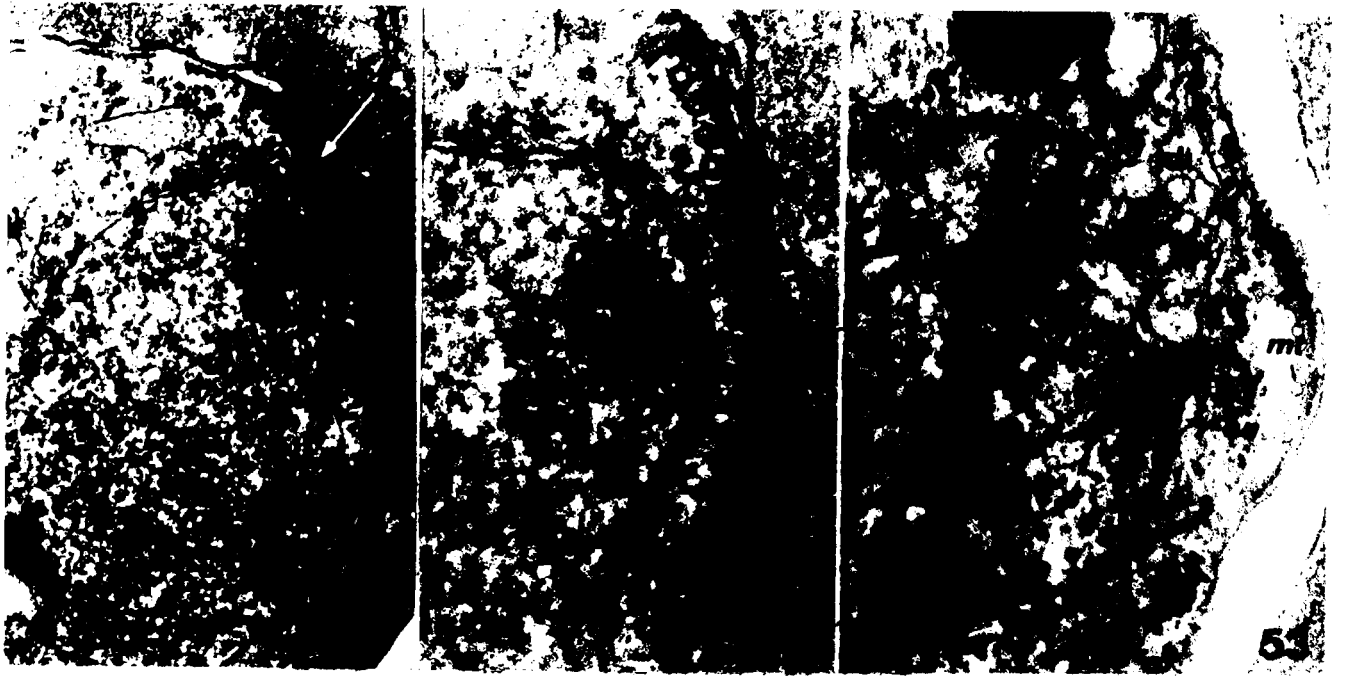


Planche XVI

- Figure 58 : Schizonte mûture de P. falciparum.  
La cellule hôte montre une altération poussée .  
Les mérozoïtes sont complètement différenciées.  
x 40.000.
- Figure 59 et 60 : Etranglement (tête de flèche) des mérozoïtes  
à la surface du corps résiduel chez P. falciparum  
(fig. 59) et P. chabaudi (fig. 60)  
x 24.000. x 28.000.
- Figure 61 : Mérozoïtes de P. chabaudi complètement formés. Les  
mitochondries sont placées dans la moitié anté-  
rieure.  
Des figures multilamellées (têtes de flèche) se  
forment dans le stroma érythrocytaire .  
x 40.000.
- Figure 62 : Mérozoïte de P. chabaudi libéré dans la vacuole  
parasitophore. Les micronèmes surmontent le dictyo-  
some formé par bourgeonnement de la membrane nuclé-  
aire (aster).  
x 80.000.





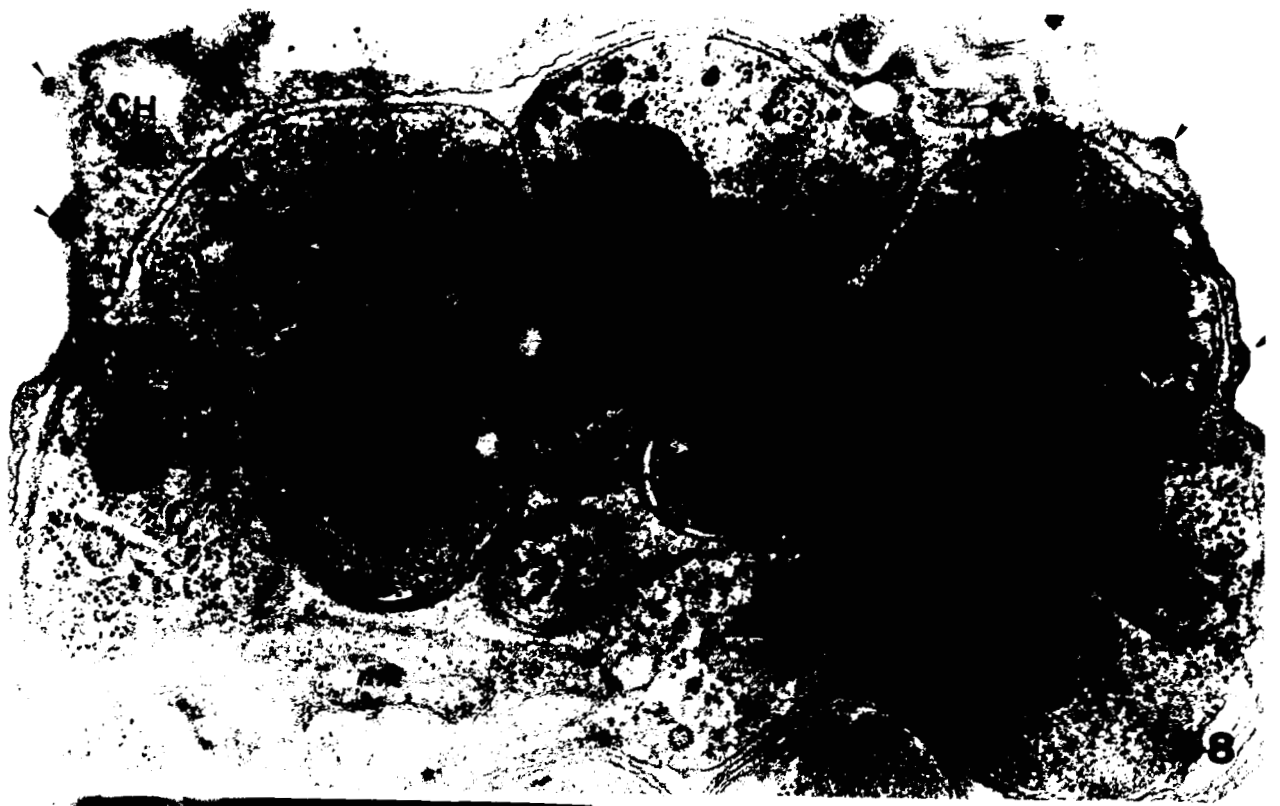
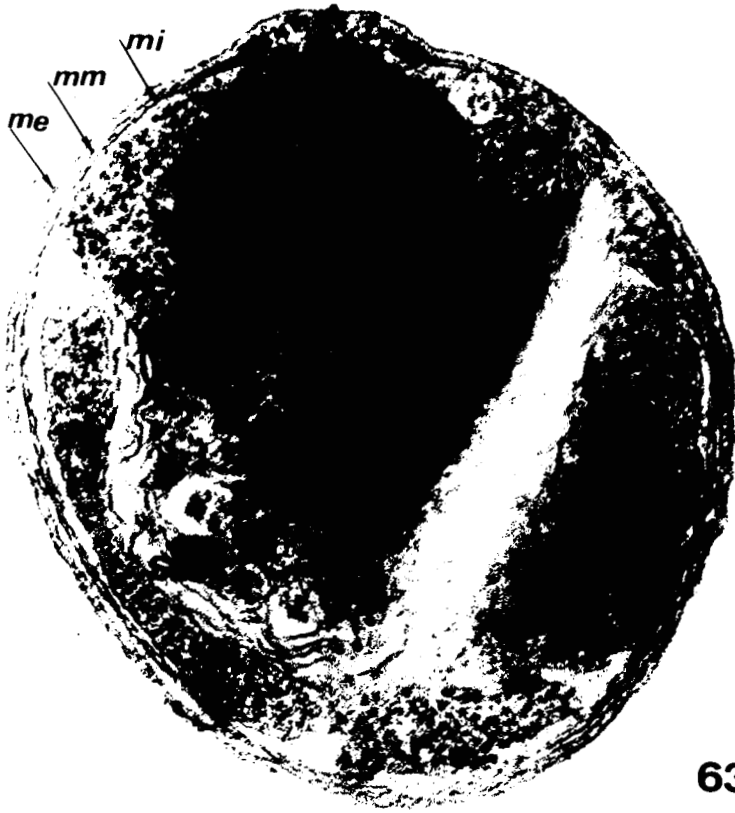


Planche XVII

- Figure 63 : P. falciparum  
Mérozoïte libre dans le milieu plasmatique  
Noter le repliement en crochet du complexe interne au niveau de l'interruption antérieure (tête de flèche).  
x 52.000.
- Figure 64 : Mérozoïte de P. falciparum montre une densification à l'extrémité postérieure et qui correspond à la zone d'attache à la cellule mère.  
x 28.000.
- Figure 65 : Genèse des micronèmes à partir de l'appareil de Golgi (tête de flèche).  
x 52.000.  
Noter les structures plurimembranaires associées au noyau du mérozoïte de P. falciparum.
- Figure 66 : Mérozoïte libre de P. chabaudi.  
Les micronèmes très denses différencient, au voisinage des rhoptries, un pédoncule (flèche). Le complexe membranaire interne montre des interruptions (têtes de flèches).  
x 54.000.





63



64



65



66

Planche A

Figure 1 et 2 Trophozoïte de P. chabaudi après cryofracture.  
Les 2 répliques montrent les 2 faces complémentaires du plasmalemme du parasite et de la membrane de la vacuole parasitophore.

Fig. 1 x 62.500

Fig. 2 x 75.000.

Figure 3 Les trois plans de fracture successives d'une hématie parasitée.

x 75.000.

Figure 4 Schizonte à 2 noyaux. Noter la continuité de l'ergastoplasme avec l'enveloppe nucléaire, ainsi que le début de différenciation des rhoptries.

x 72.000.



2



## Planche B

- Figure 5 Schizonte montre le début de bourgeonnement des mérozoïtes (flèches)  
x 30.800.
- Figure 6 Mérozoïte en fin de genèse. Noter la forme en poire caractéristique de la rhoptrie.  
x 49.000.
- Figure 7 Le plasmalemme qui forme une sorte de calotte à l'apex du mérozoïte. Celle-ci est marquée par une légère dépression centrale. (flèche)  
x 35.000.
- Figure 8 Coupe longitudinale de la partie apicale du mérozoïte  
x 102.000.
- Figures 9 et 10 Au niveau de l'apex, les points de sortie des rhoptries et micronèmes (flèches).  
Noter le bourrelet (tête de flèche) correspondant à l'interruption du complexe membranaire interne.  
Fig. 9 x 56.000                      Fig. 10 x 46.000.

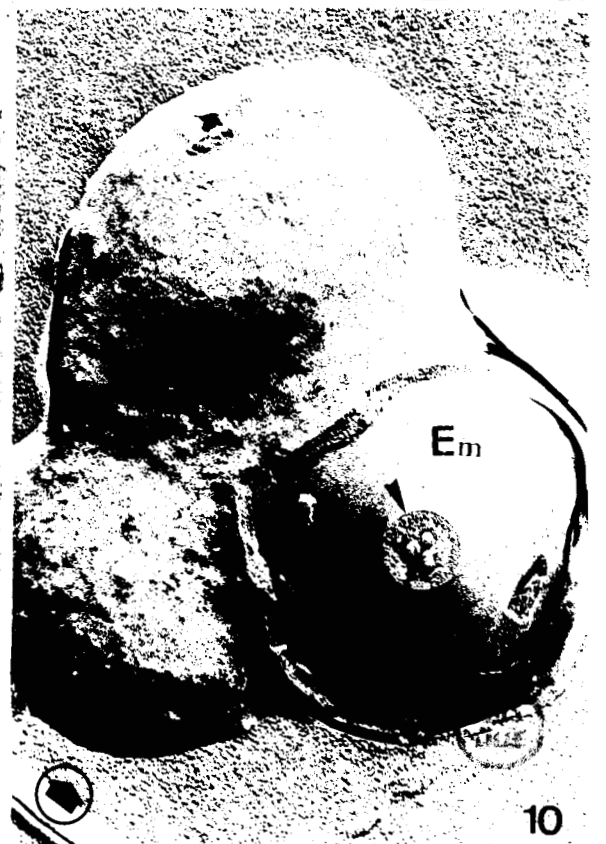
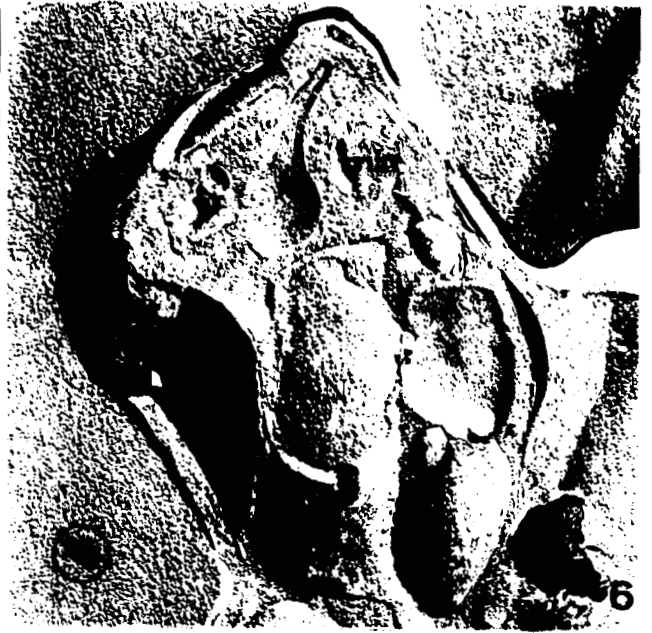


Planche C

Figure 11 Schizonte mûture montre 4 mérozoïtes  
x 42.000.

Figures 12, 13, 14 Les différentes faces de fractures du mé-  
rozoïte intraérythrocytaire  
Noter sur la figure 12, le rétrécissement (flèche)  
qui relie encore le mérozoïte à la cellule mère  
x 84.000.





