

a 62081

WHO/Ma1/319  
25 octobre 1961

ORIGINAL : ANGLAIS

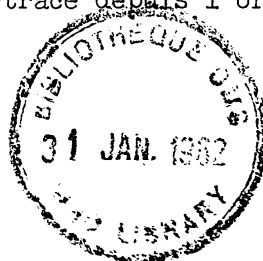
HISTORIQUE DE LA THEORIE ACTUELLE DU MECANISME D'INFESTATION  
DES MOUSTIQUES PAR LE PARASITE DU PALUDISME

par le

Dr L. M. Howard, Dr P.H., Research Fellow, Department of Pathobiology,  
School of Hygiene and Public Health, The Johns Hopkins University,  
Baltimore

Pour les espèces de Plasmodium qui ont été étudiées, la théorie la plus généralement admise de sporogonie (par exemple Huff, 1949; Faust & Russel, 1957) peut se résumer comme suit : après l'ingestion par un moustique de sang parasité, les érythrocytes infestés libèrent des gamétocytes mâles et femelles; le microgamétocyte exflagelle; le macrogamétocyte est fécondé par un microgamète et il en résulte une sphère qui est appelée zygote. Après un laps de temps variable, celui-ci se transforme en un organisme allongé migratoire, l'"ookinète" (oeuf mobile), qui se déplace dans le bol alimentaire. L'ookinète mûr pénètre sous forme d'un "vermicule" entre les cellules épithéliales de la paroi gastrique du moustique ou "s'arrondit" pour former un zygote sphérique. Le zygote, vermiculaire ou sphérique, passe ensuite de la face intérieure à la face extérieure de la paroi où il se loge et reste stationnaire sous la membrane basale. Dans cette position, et sous le nom d'"oocyste", il grandit périphériquement dans l'hémocèle pendant une période de 10 à 12 jours. La formation des spores a lieu à l'intérieur de l'oocyste. Les sporozoïtes mûrs apparaissent par éclatement de l'oocyste et passent dans les glandes salivaires.

Pour connaître les preuves expérimentales sur lesquelles repose cette théorie, en particulier quant au mécanisme d'infestation du moustique, l'historique de la théorie actuelle a été retracé depuis l'origine.



Les Mémoires de Ross (1923) contiennent un compte rendu détaillé des études sur la sporogonie du paludisme effectuées jusqu'en 1923. D'après cette source, il semble que Laveran ait été le premier à décrire le phénomène de l'exflagellation l'année où il découvrit le parasite du paludisme (1880). On ne comprenait alors ni l'origine, ni la signification de l'exflagellation. En 1894, Manson a suggéré que le flagelle pourrait agir à la manière d'une spore pour infester le moustique.

En 1895, les travaux de Ross sur Plasmodium falciparum lui permirent de pertinentes observations :

1. Après avoir laissé un moustique femelle adulte se gorger sur un paludéen dont le sang contient de nombreux croissants (gamétocytes), l'examen du contenu stomacal immédiatement après le repas révèle la présence d'une quantité de parasites sensiblement égale à celle que l'on observe dans le sang d'une ponction digitale récente du paludéen.
2. Quelques minutes après le repas, les croissants disparaissent en majorité rapidement et sont remplacés par des sphérules.
3. "Dans du sang pur (frais), au niveau du caillot marginal, les croissants changent beaucoup plus souvent qu'ailleurs; c'est pourquoi j'ai pensé que les modifications observées chez le moustique peuvent être dues à la coagulation du sang."
4. "Certainement, il est très rare de trouver des croissants dans l'estomac des moustiques après une demi-heure."
5. Les sphérules qui remplacent les croissants ont un contour parfaitement circulaire, d'environ 6 microns de diamètre.
6. L'exflagellation se produit à l'intérieur de l'estomac du moustique dans la demi-heure qui suit le repas.

A partir de ces données, Ross a conçu ce qu'il a appelé la métamorphose croissant-sphère-flagelle du parasite du paludisme dans l'estomac du moustique. A ce stade, il pensait que le flagelle était une sorte de spore, peut-être responsable de l'infestation du moustique.

En 1897, Ross découvrit les oocystes chez des spécimens d'Anopheles infestés par P. falciparum et par P. vivax. Il les appela "cellules pigmentées" et déduisit qu'elles devaient représenter un stade évolutif du parasite du paludisme à cause de leur pigment, de leur croissance, en fonction du temps et de leur absence chez le moustique témoin non infesté.

Les premiers oocystes qu'il signala étaient ceux de l'une des formes humaines à deux jours. "Il (le moustique) contenait un certain nombre de cellules pigmentées, toutes de la même taille et très petites (environ 8 microns), la taille d'un globule rouge et d'une sphère - croissant ordinaire avant émission de ses flagelles." Il décrivit l'augmentation de la taille des cellules comme suit : "6-8 microns à deux jours; 12-16 microns à quatre jours; jusqu'à 20 microns à cinq jours".

A ce stade, il n'y avait pas d'observation directe sur les phases du cycle comprises entre le flagelle et l'oocyste. Il était clair que la paroi de l'estomac s'infestait, mais le mécanisme de l'infestation et le stade parasitaire au moment de l'infestation n'étaient pas encore précisés.

La même année, MacCallum (1897) publia un rapport du Johns Hopkins Hospital qui semblait entièrement résoudre le problème. Il décrivit graphiquement le processus d'exflagellation chez Haemoproteus (Halteridium de Labbé) dans du sang de corneille fraîchement prélevé et identifia le flagelle comme responsable de la fécondation de la sphérule. MacCallum estimant que l'exflagellation avait la même signification chez le Plasmodium, sa description des phases postérieures à la fécondation chez Haemoproteus a été généralement acceptée sans confirmation expérimentale comme s'appliquant également au Plasmodium. Le zygote restait, disait-il, au repos de 15 à 20 minutes après la fécondation, puis apparaissait un corpuscule conique. "Cet organisme fusiforme se propulse d'un mouvement glissant, tournant parfois autour de son axe longitudinal, présentant à l'occasion des contorsions amiboïdes". MacCallum cependant écrivit expressément dans son article qu'il avait observé le phénomène de l'exflagellation deux fois dans du sang prélevé chez une femme atteinte de "fièvre

estivo-automnale" "...mais bien que dans les deux cas dans lesquels ce processus fut observé, la forme fécondée ait été longtemps surveillée, aucune forme analogue au vermiculus n'a été aperçue".

Néanmoins, cette analogie doit avoir semblé significative à Manson qui, pour le compte de Ross, publia un rapport intitulé "Recherches récentes du Surgeon-Major Ronald Ross sur le rôle du moustique dans le paludisme (Manson, 1898). Il concluait en ces termes :

"Sans aucun doute, ce qui est vrai pour l'Halteridium peut également s'appliquer à son proche parent, le Plasmodium humain; en effet, bien qu'il n'ait pas assisté à la transformation de la sphère plasmodiale en vermicule mobile, MacCallum a effectivement vu et décrit son imprégnation par le flagelle."

Ross confirma l'observation de MacCallum en décrivant les déplacements de six vermicules d'Halteridium prélevés chez les corneilles (Ross, 1923). Rien ne permet toutefois d'affirmer que Ross vit des vermicules mobiles dans aucune espèce de Plasmodium. Il écrivit à Manson : "Vous dites que si seulement vous pouviez trouver un vermicule pénétrant dans une cellule, il n'y aurait aucune difficulté à retracer l'évolution du vermicule par une dissection ordinaire et un lavage de l'estomac" et, dans une note en bas de la page (Mémoires, page 281), il ajoute : "par suite de la troisième interruption, je n'ai jamais eu le temps d'effectuer ce petit travail facile et intéressant".

Ainsi, d'après cette revue historique détaillée des recherches sur le paludisme jusqu'en 1923, Ross a accepté sans vérification expérimentale directe, la théorie selon laquelle la sphère fécondée du Plasmodium humain se transformerait en un vermicule mobile qui pénétrerait ensuite dans la paroi de l'estomac. L'idée que la théorie de la pénétration, de Ross, était basée sur un raisonnement plutôt que sur des preuves directes est suggérée par la phrase suivante qui figure dans la première édition (1916) du Textbook of Pathology de MacCallum : "A ce stade, il vint à Ross l'idée ... que le processus de fécondation et de formation d'un zygote mobile comme il vient d'être décrit doit avoir lieu dans l'estomac du moustique et que le

développement de cystes dans les parois de cet organe doit être dû à ce que le nouveau zygote actif peut se frayer un chemin jusque là et s'encapsuler." (MacCallum, 1916)

Les observations de MacCallum ont également été confirmées par deux contemporains de Ross qui ont fait des recherches importantes sur le paludisme, Koch et Grassi. Koch (1899) ne décrivit pas sa méthode de préparation, bien que dans un autre contexte, il ait mentionné les préparations en goutte pendante. Il décrivit le vermicule d'"Halteridium" comme animé de mouvements très lents d'étirement et de flexion, avec une propulsion lente et traînante ("sehr langsames Strecken und Krummen, sowie ebenso träge Drehbewegungen waren Alles, was sich erkennen liess"). A propos de "Proteosoma" prélevé chez des oiseaux de l'ordre des passereaux (Stieglitzen und Sperlingen), Koch affirma simplement que le vermicule s'étire de plus en plus et se fléchit (derselbe verlängert sich immer mehr und krummt sich ...). Il ne décrivit pas chez des parasites humains des mouvements analogues à ceux de Proteosoma et de Halteridium.

Dans sa monographie "Die Malaria", Grassi (1901) confirma les observations de MacCallum et de Koch. Ce document ne précise pas la méthode d'observation des vermicules. Pour décrire les vermicules de P. falciparum, Grassi utilise deux verbes : ("krummen, strecken") déjà employés par Koch, mais dans la description de Halteridium et de Proteosoma seulement. Il dit : "J'ai pu observer que les vermicules pouvaient avancer. A leur extrémité antérieure, le pigment manque ou est rare. Le vermicule se courbe (krummt sich), s'étire (streckt sich) et peut même ... pour autant que j'aie pu l'observer ... exécuter des mouvements de progression incomplets; en tous cas, il est très difficile d'observer ces mouvements en dépit des manipulations les plus attentives ...".

Quant à la théorie de la migration vermiculaire dans la paroi de l'estomac, Grassi (1901) écrit : "le mode de pénétration est difficile à observer; on peut toutefois trouver dans des coupes des vermicules à l'intérieur de la couche cuticulaire (bord interne en brosse) de l'épithélium, de même que dans l'épithélium lui-même ou à sa base".

"Environ 40 heures après le repas de sang, on peut déjà trouver des vermicules dans cette couche que j'appelle la couche musculaire (tunica elastica muscularis). Les amphiontes (oocystes) se trouvent dans cette couche qui leur fournit une excellente capsule."

Les illustrations de "Die Malaria" ne montrent pas de vermicules à l'intérieur de la couche musculaire. La figure 32 de la planche I représente des "amphiontes" plutôt que des vermicules. L'organisme allongé qui est dessiné ne se trouve pas à l'intérieur de la couche musculaire. On ne voit pas très bien s'il s'agit d'un vermicule dans la paroi ou d'une variété aplatie de deux autres "amphiontes" de forme ovale du même tableau.

Les conclusions de Grassi sont représentées dans la planche V du cycle, lequel (à quelques variations mineures près) continue d'être largement admis. En plaçant le vermicule avant l'oocyste dans l'évolution, il suit l'exemple de Ross (planche V, fig. 8, 9).

Trois ans après la publication de la monographie de Grassi, Stephens & Christophers (1904) publient "A Practical Study of Malaria". Ils jugèrent que l'emploi du terme "ookinète" pour désigner le zygote était justifié puisque "l'oeuf fécondé se déplace. Le stade vermiculaire peut s'observer sur les lames dans le cas de Halteridium, mais dans le cas des parasites du paludisme il n'est visible dans le sang provenant de l'estomac d'un moustique qu'après un laps de temps adéquat". Ces auteurs admettaient la motilité du vermicule mais n'affirmaient pas avoir observé celui-ci en mouvement. La notion de cette motilité se retrouve dans l'affirmation que "le vermicule s'ouvre ensuite un chemin à travers l'épithélium de l'estomac".

Wenyon (1926), dans sa Protozoologie, qui fait autorité en la matière, cite les "importants progrès" réalisés par MacCallum. Sa description du Plasmodium humain suit de près celle d'Halteridium par MacCallum, y compris l'utilisation de termes analogues tels que "glissement" bien que MacCallum se soit limité à observer des

étalements sur lame de sang de corneille fraîchement prélevé, dilué dans du sérum salé et non du sang solide coagulé in vivo, chez un moustique gorgé. Selon Wenyon "le corpuscule arrondi" (zygote récemment fécondé) contenant deux noyaux et des granulations pigmentaires, après une période de repos de 10 à 20 minutes, émet un prolongement cytoplasmique clair, ou pseudopode, qui augmente de taille jusqu'à apparition d'un vermicule allongé. Au dernier stade de ce processus, le vermicule ou ookinète s'éloigne en glissant ... l'ookinète, qui mesure 18-24 microns de long et 3-5 microns de large, glisse dans le contenu intestinal ... par des mouvements de contraction, de flexion et de reptation le zygote passe à travers le contenu intestinal en direction de l'épithélium. Ayant atteint la surface de l'épithélium intestinal, il pénètre par effraction dans une cellule ...".

Un an à peine plus tard, Knowles & Senior-White (1927) reprennent exactement les termes de Wenyon sans donner de nouvelles preuves. "Par des mouvements de contraction, de flexion et de glissement, à la manière d'une lente reptation, les zygotes ... se déplacent à travers le contenu de l'estomac du moustique en direction de l'épithélium intestinal." Ces auteurs ajoutent que "le zygote perfore, pour y pénétrer, la cellule épithéliale".

Sans fournir de nouvelles preuves, les études et textes suivants rappellent le mouvement actif et le caractère migratoire de l'ookinète : Manwell (1941), Huff (1949), Brumpt (1949), Russell (1952), Garnham (1952), Bolding (1952), Faust & Russel (1957). En parlant de Plasmodium vivax, Brumpt (1949) attribue à l'ookinète un "mouvement grégarinoïde". Shortt (1951) confirme le concept ancien de Wenyon selon lequel l'ookinète "glisse" dans le contenu intestinal.

Tout en affirmant la motilité du zygote, Garnham (1952) pose du moins la question : "Quelle est la nature de cette motilité ? Nous ne le savons pas ... Comment les microgamètes, les ookinètes et les sporozoïtes se déplacent-ils ? C'est un mystère : il n'y a ni fibres musculaires, ni organes de locomotion, ni mouvements amiboïdes."

## DISCUSSION

Du point de vue de la transmission du paludisme, la détermination par Ross du cycle chez le moustique a été de la plus grande importance. En ce temps là, il semblait indiscutablement moins important de déterminer le mécanisme précis par lequel la "sphérule" passait dans la paroi intestinale. Lorsque son contemporain MacCallum décrivit le zygote apparemment mobile d'Hémoproteus, Ross proposa la théorie de la pénétration vermiculaire dans le cas du Plasmodium, bien qu'il admît n'avoir pu observer ni la pénétration, ni la motilité vermiculaires.

Parmi les auteurs passés en revue, seul Grassi déclare avoir personnellement observé un vermicule mobile de Plasmodium, mais cet auteur lui-même, rappelons-le, souligne combien il est "difficile d'observer ces mouvements en dépit des manipulations les plus attentives".

Huff (1934), et MacKerras et al., (1948), ont écrit qu'ils ne réussissaient pas à découvrir des vermicules pénétrant dans la paroi intestinale, qu'il s'agît de Plasmodium aviaire ou humain. MacKerras (loc. cit.) déclare : "nous n'avons pas trouvé de vermicules dans les coupes, que ce soit dans les cellules cubiques ou dans leurs interstices; par contre, nous avons trouvé régulièrement après 48 heures, de petits cystes déjà complètement extérieurs aux couches épithéliales et musculaires; leurs mesures indiquaient que leur taille n'avait guère augmenté depuis le stade de "zygote". Bien que, après inclusion dans la paraffine, les coupes aient montré dans certains cas, dans le contenu intestinal, de rares vermicules pointant droit vers la surface ciliée, MacKerras et al. remarquent que ces images ne constituent pas une preuve directe d'un acte de pénétration.

D'autres interprétations du mouvement ont été dues surtout à l'étude de matériel fixe comme, par exemple, celle de Reichenow (1932) pour qui les vermicules apparaissent juste à la surface interne de la membrane péritrophique, parce qu'ils ne peuvent pas pénétrer à travers elle, et celle de Stohler (1957) selon laquelle les vermicules ne peuvent pas passer à travers la membrane péritrophique après un certain stade de son développement.

Ball & Chao (1960) ont décrit le développement in vitro de tous les stades de P. relictum chez le moustique.

La démonstration de ce cycle ayant été faite en phases distinctes et successives, il n'a pas été possible d'observer directement la progression des changements morphologiques avec la certitude qu'un certain organisme passait effectivement par les phases zygote, vermicule, oocyste.

Au terme de cet examen, il apparaît que quatre points essentiels concernant la progression et le mécanisme de l'infestation doivent encore recevoir une démonstration expérimentale pour les espèces de Plasmodium :

1. Peut-il être démontré par l'observation continue in vivo ou in vitro qu'un zygote sphérique particulier se transforme en organisme allongé, appelé vermicule ?
2. En excluant l'influence de formes passives, peut-il être démontré in vivo ou in vitro que les vermicules possèdent une motilité propre ?
3. Peut-il être démontré par l'observation in vivo ou in vitro que tel ou tel vermicule se transforme en un oocyste sphérique ?
4. Peut-il être démontré par des méthodes in vivo ou in vitro que les vermicules pénètrent dans la paroi intestinale ? Si la motilité vermiculaire ne peut pas être démontrée, ou si la motilité ne représente qu'un type de mouvement par trop élémentaire, par quel processus la paroi intestinale s'infeste-t-elle ?

#### RESUME

Les principales publications concernant le mécanisme et les stades successifs de l'infestation du moustique par Plasmodium ont été passées en revue afin de tracer l'historique des épreuves sur lesquelles repose la théorie actuelle.

C'est à Ross que revient le mérite de la théorie suivant laquelle le moustique est infesté par un vermicule migratoire qui se développe à partir du zygote sphérique fécondé et pénètre dans la paroi intestinale pour devenir l'oocyste

primaire. Ross attribue la description du rôle du vermicule de Plasmodium à MacCallum, lequel toutefois n'avait décrit la formation du vermicule et sa motilité que dans le cas de Haemoproteus. Ross précise qu'il n'a pas lui-même observé de vermicules de Plasmodium se déplaçant ou en cours de pénétration.

A l'exception de Grassi, les 28 auteurs passés en revue n'ont pas eux-mêmes observé chez les vermicules de Plasmodium une motilité propre ou un acte de pénétration.

Compte tenu de l'insuffisance des preuves publiées sur lesquelles repose la théorie actuelle de l'infestation, la présente étude donne à penser que cette théorie ne peut pas être considérée comme prouvée tant qu'elle n'aura pas été expérimentalement confirmée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Ball, G. H. & Chao, J. (1960) Exp. Parasit., 9, 47
2. Belding, D. L. (1952) Textbook of Clinical Parasitology, Appleton-Century-Crofts, Inc., New York, 2ème éd., 262
3. Brumpt, E. (1949) In Boyd, Malariology, W. B. Saunders, Philadelphie, 4, 78
4. Faust, E. C. & Russell, P. F. (1957) Clinical Parasitology, Lea and Febiger, Philadelphie, 6ème éd., 247
5. Garnham, P. C. C. (1952) Lectures on the Scientific Basis of Medicine, Univ. of London, vol. 2, 323
6. Grassi, B. (1901) Die Malaria. Studien eines Zoologen, Gustav Fisher, Jena, 153 and plates
7. Huff, C. G. (1949) In Boyd, Malariology, W. B. Saunders, Philadelphie, 55
8. Huff, C. G. (1934) Amer. J. Hyg., vol. 19, 1, 123
9. Knowles, R. & Senior-White, R. (1927) Malaria, Thacker, Spink & Co, 2, 37
10. Koch, R. (1899) Z. Hyg. Bd. 32, Separat-Abdruck, 9, 15
11. MacCallum, W. G. (1897) Lancet, II, 1240
12. MacCallum, W. G. (1916) A Textbook of Pathology, W. B. Saunders, Philadelphie, 1ère éd., 715
13. Mackerras, M. J. & Ercole, Z. W. (1948) Austr. J. exp. Biol., 26, 439
14. Manson, P. (1898) Brit. med. J., 18, 1, 1575
15. Manwell, R. D. (1941) In : Symposium on Human Malaria, Amer. Ass. Adv. Sci. (Wash.), 37
16. Matheson, R. (1945) Medical Entomology, Comstock Publishing Associates. Ithica, New York, 2ème éd., 337

17. Reichenow, E. (1932) Jena. Z. Med. Naturw., 67, 434
18. Ross, R. (1923) Memoirs, John Murray, London, 149, 229, 234, 264, 267, 281
19. Russell, P. F. (1952) Malaria, Blackwell Scientific Publ., Oxford, 6, 7
20. Russell, P. F., West, L. S. & Manwell, R. D. (1946) Practical Malariology, W. B. Saunders Co., Philadelphie, 33
21. Shattuck, G. S. (1951) Diseases of the Tropics, Appleton-Century-Crofts, Inc., New York, 16
22. Shortt, H. E. (1951) Brit. med. Bull., 8, 7
23. Stephens, J. W. W. & Christophers, S. R. (1904) A Practical Study of Malaria, Univ. Press of Liverpool, Williams and Norgate, London, 12, 54
24. Stohler, H. (1957) Acta trop. (Basel), 14, 302
25. Wenyon, C. M. (1926) Protozoology, Bailliere, Tindall and Cox, London, 910, 917

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

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

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

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