Le comportement en culture suivant la méthode de Bass des plasmodiums de chimpanzé

PAR

J. RODHAIN et P. LASSMAN.

Dans une série de notes et de mémoires publiés dans ces Annales, l'un de nous, seul ou en collaboration avec P. Lassman, a relaté les résultats auxquels l'avait conduit l'étude des trois espèces de plasmodiums qui, en Afrique, parasitent le chimpanzé et le gorille.

Les essais que nous relatons ici se rattachent directement à cette étude. Le travail rapporte les résultats auxquels nous sommes arrivés en mettant en culture suivant le procédé de Bass (1), les 3 espèces de plasmodiums rencontrées chez *Pan satyrus verus* (*). Nos essais n'étaient pas entièrement terminés lorsque les événements de 1939 en vinrent interrompre le cours par le départ de l'un d'entre nous. Son absence nous oblige encore aujourd'hui à négliger, dans notre exposé, certains détails qui ne manquent pourtant pas d'intérêt.

***

Le but que nous avions en vue, en entreprenant ces expériences, était de voir si les trois espèces de plasmodium du chimpanzé morphologiquement identiques aux plasmodiums humains, se comporteraient en culture comme ces derniers, ou s'ils y montreraient des différences ayant un caractère de spécificité.

Le comportement des plasmodiums humains en culture est connu depuis que Bass, le premier, a décrit la méthode qui permet d'en suivre l'évolution asexuée en dehors du corps humain.

(*) *Pan troglodytes schweinfurthii giglioli (Pan satyrus verus).*

La technique originale de l'auteur américain a subi, entre les mains de divers expérimentateurs qui ont voulu contrôler ou améliorer ses résultats, une série de modifications portant sur le détail. Le principe de la méthode est resté toujours le même. Il consiste essentiellement à maintenir les globules rouges parasités dans du sérum humain glucosé, de préférence inactivé par un chauffage d'au moins 30 minutes à 56° et de placer le mélange en anaérobiose au moins partielle à la température de 37°-38°. Le sérum peut être prélevé après coagulation naturelle ou défibrination active. Le plasma citraté peut également convenir. La quantité de glucose employée a varié de 4 à 8 gouttes de solution glucosée à 24 p. c. pour 10 c.c. de sérum. Pour obtenir plusieurs générations, il importe de se défaire le mieux possible des leucocytes qui, dans le sang extravasé, phagocytent et détruisent activement les plasmodiums. De plus, il faut que la colonne de sérum surplombant la couche de globules rouges ait au moins 2,5 cm. de hauteur.

Le repiquage des cultures doit se faire après 48 heures. Notre méthode opératoire, inspirée de celle employée par Row (2), a été la suivante : Le sérum employé est obtenu par coagulation de 10 ou 15 c.c. de sang prélevé la veille de la mise en expérience. On y ajoute la quantité nécessaire de glucose et répartit dans des ballonnets à fond plat jusqu'à obtenir une colonne de 30 mm. de hauteur au moins. Le dessin ci-contre montre les ballonnets que l'un de nous a confectionnés au moyen de tubes en verre ordinaire de 5 mm. de diamètre. Le fond plat est désirable pour l'étalement des globules rouges infectés en couche mince uniforme, favorable à la multiplication des parasites. La partie cylindrique permet d'avoir une hauteur suffisante de sérum. L'étranglement supérieur est fait pour diminuer les risques de l'infection microbienne lors des examens successifs. La partie évasée supérieure est bouchée avec du coton.

Le sang parasité est pris aseptiquement à la veine du pli du coude puis introduit dans une ampoule stérile contenant des perles de verre. L'ampoule est aus-

sitôt scellée à la flamme et agitée pour défibriner le sang. La défibrination terminée, le sang est centrifugé. La sédimentation des globules obtenue, le sérum est pipeté avec la couche des leucocytes, surnageant les érythrocytes.

Les globules qui servent à ensemencer les petits ballonnets sont prélevés au milieu de la masse rouge et répartis de manière à garnir d'une couche érythrocytaire mince le fond plat du tube.

Chaque ballonnet ainsi ensemencé est placé dans un tube à pomme de terre dont le fond contient un mélange d'acide pyrogallique et de potasse caustique. Le tube est fermé ensuite avec un disque de paraffine dure pour assurer l'anaérobiose et maintenu à l'étuve à 38°.

Les cultures sont examinées après 12 à 18 heures en prélevant chaque fois avec une pipette pasteur stérile une très petite quantité de globules rouges, de quoi faire un étalement qui est fixé et coloré au Wright.

Pour augmenter les chances de réussite et permettre des examents répétés, nous avons, au cours de chaque expérience, ensemencé plusieurs ballonnets : de 3 à 5.

Nous avons mis successivement en culture du sang de chimpanzé parasité de *Plasmodium reichennowi, Plasmodium schwetzi* et *Plasmodium rodhaini* (malariae). A titre de comparaison et pour éprouver si notre *modus operandi* répondait aux exigences de la méthode de Bass, nous avons fait un essai avec du sang humain parasité de *Plasmodium falciparum*.

Nous rapporterons dans cet ordre les résultats de nos essais.

***

I. — *Essai de mise en culture du Plasmodium reichenowi.*

Au cours de nos premières tentatives, le sérum glucosé dans lequel nous introduisions le sang parasité provenait de l'animal infecté lui-même. Ultérieurement, voulant éprouver si le développement du *Plasmodium reichenowi* était influencé par le sérum humain, nous avons employé ce dernier comme partie liquide dans certains des ballonnets ensemencés. Dans l'expérience que nous relatons avec quelques détails ci-dessous, nous avons, de plus, ajouté à l'un de nos ballonnets des globules rouges humains.

Expérience XI. — Le sang du chimpanzé Thomas infecté de *Pl. reichenowi* est ensemencé le 30-IX-39 à 10 heures du matin dans 5 ballonnets. Le contenu des ballonnets placés immédiatement à la couveuse à 38° est constitué comme suit :

Tube 1 : sérum humain glucosé inactivé + glob. rouges Thomas.

Tube 2 : sérum humain glucosé inactivé + glob. rouges humains + glob. rouges Thomas.

Tube 3 : sérum chimpanzé glucosé inactivé + glob. rouges Thomas.

Tube 4 : sérum chimpanzé glucosé inactivé + glob. rouges Thomas.

Tube 5 : sérum chimpanzé glucosé inactivé + glob. rouges Thomas.

La formule parasitaire du sang de Thomas au moment de l'expérience était la suivante :

Formes jeunes comprenant : des mérozoïtes non encore vacuolisés et de petits anneaux avec 1 ou 2 points chromatiques (40 %).

Anneaux moyens : 21 %.

Grands anneaux et parasites plus globuleux contenus dans les globules rouges avec taches de Maurer : 39 %.

Il y avait donc certainement deux générations de parasites dans le sang du singe.

Pour suivre l'évolution des parasites, des frottis et des gouttes épaisses furent préparés à divers intervalles de certains des tubes.

Nous donnons ci-après les résultats des examens des frottis provenant du tube 5 qui fournit le meilleur développement.

Le sang ayant fourni le sérum avait été prélevé la veille, et pour 10 c.c. de sérum il avait été ajouté 8 gouttes d'une solution de glucose à 25 %.

TABLEAU I.

Sang prélevé après :	anneaux		Formule parasitaire %				Formes rétractées
			parasites		schizogonies		
	petits	grands	mi-adultes	adultes	paras. avec plusieurs blocs chrom.	éclatées	
12 heures	8	20	54	18	0	—	—
20 »	14	11	16	26	22	—	11
22 »	24	11	14	26	13	—	12
24 »	18	7	17	14	26	—	18
26 »	16	12	12	19	21	—	20
28 »	18	6	9	19	27	—	21
31 »	16	7	8	20	26	8	15 (*)
33 »	21	13	6	4	17	8	31 (**)
35 »	15	9	14	5	10	24	23
45 »	18	8	9	5	21	9	30

(*) Le nombre absolu de parasites n'est pas augmenté.

(**) Il y a une manifeste invasion des globules rouges par les mérozoïtes de la précédente schizogonie.

Ce tableau montre que les premières rosaces éclatées ont apparu entre 28 et 31 heures. Les mérozoïtes libérés (un certain nombre du moins) pénètrent dans les globules rouges ainsi que l'indique l'augmentation des petits anneaux et des formes rétractées. Leur ensemble atteint (31 + 21) 52 p. c. des parasites.

Cependant, il n'y a pas vraiment augmentation du nombre des parasites; il faut admettre qu'un pourcentage des formes jeunes nées ne se développent point.

Dans tous les frottis faits à partir de 20 heures après la mise en culture on rencontre dans les érythrocytes des formes « rétractées », c'est-à-dire qui ne prennent plus la forme annulaire, et dont nous ne pouvons constater l'évolution ultérieure. De plus, un certain nombre de mérozoïtes libérés de la rosace ne pénètrent pas dans les globules rouges. Au cours de l'observation dont le tableau donne le détail, il s'est produit après la 31e heure une invasion manifeste des globules rouges par les mérozoïtes nés dans la culture. Celle-ci souffrit des manipulations multiples qu'elle eut à subir pour l'établissement des frottis et ne put être observée plus loin.

Dans le tube 3 qui fut ouvert moins souvent, une évolution analogue se poursuivit; elle n'aboutit pas non plus à une réelle multiplication des plasmodiums. Le milieu se maintint stérile et dans un frottis fait le 21-9 à 9 heures nous avons encore rencontré, à côté de rares formes annulaires, deux belles formes de schizogonie. La culture avait donc vécu 8 jours. Dans le tube 4 des schizogonies existaient aussi le 19, mais l'infection parasitaire était éteinte, aucune forme jeune n'étant plus visible.

Quant aux tubes 1 et 2 qui avaient comme substratum liquide du sérum humain, les frottis faits après 22 heures montraient 99 p. c. de petits parasites rétractés et 1 p. c. de parasites mi-adultes avec grains et pigment, sans indice de division. Le nombre de parasites avait considérablement diminué ; les globules rouges étaient restés bien conservés, il n'existait ni hémolyse ni agglutination.

Les frottis faits après 30 heures de culture ont fourni la même image et ultérieurement aucune schizogonie ne put être observée.

L'influence du sérum humain sur l'évolution asexuée du *Plasmodium reichenowi* en culture paraît bien réelle, mais nous n'avons plus eu l'occasion de répéter cette expérience et nous nous abstiendrons provisoirement de conclure.

L'examen des frottis montrant des formes de division du *Plasmodium reichenowi* nous a permis de fixer le nombre de mérozoïtes auxquels aboutit la division asexuée du parasite.

En dehors des préparations provenant du tube 8 dans lequel un certain nombre des rosaces éclatées montrait, d'une façon très nette, le nombre de cellules-filles, nous avons disposé d'une série de préparations provenant d'autres essais.

Le tableau suivant réunit les résultats des numérations faites sur 23 rosaces éclatées rencontrées dans les frottis du tube 5 de l'expérience VII.

TABLEAU II.

Durée de la mise en culture du sang	Nombre de rosaces avec :						
	12	14	16	18	20	26	mérozoïtes
31 heures. . .	2	1	2	1	1	1	—
33 » . . .	—	1	1	1	2	—	—
35 » . . .	—	2	1	2	1	—	—
45 » . . .	1	1	—	1	—	—	—
Totaux . . .	3	5	5	5	4	1	23
%	13	21,3	21,3	21,3	17,39	4,3	—

Nous avons complété ces résultats en examinant 77 autres formes schizogoniques montrant la division complète du protoplasme et des noyaux. Sur l'ensemble des 100 formes examinées, les moyennes des mérozoïtes sont les suivantes :

TABLEAU III.

Nombre de mérozoïtes	Nombre de schizogonies	%
8	2	2
10	2	2
11	4	4
12	14	14
14	15	15
15	2	2
16	17	17
17	2	2
18	14	14
19	1	1
20	13	13
22	10	10
24	2	2
26	2	2

Ces résultats n'infirment pas ceux du tableau précédent et nous permettent de conclure que le nombre moyen de mérozoïtes fourni par la schizogonie du *Plasmodium reichenowi* en culture oscille entre 14 et 22 mérozoïtes. Quarante-huit pour cent des schizogonies donnent 12 à 16 mérozoïtes et 38 p. c. 18 à 22 mérozoïtes. Le nombre minimum étant de 8 et le maximum de 26.

***

En ce qui concerne la morphologie des parasites des cultures, ce qui frappe le plus c'est l'amoeboïsme de certaines formes s'accompagnant de l'apparition d'une deuxième vacuole. Elles s'observent le plus fréquemment dans les parasites mi-adultes avec ou sans pigment.

Ces formes rappellent, jusqu'à un certain point, les formes atypiques de *Plasmodium falciparum* dans le sang, signalées par Balfour (III Report Welcome Research Institute).

D'autres formes à double ou triple vacuole sont manifestement des parasites en voie de souffrance.

II. — *Essai de mise en culture du Pl. schwetzi.*

Deux expériences furent instituées, la première le 10, la deuxième le 11-XI-39.

Elles comprenaient toutes les deux 9 tubes, dont 3 avec sérum du chimpanzé Suzanne dont le sang était parasité et servit à l'ensemencement; 3 avec du sérum humain inactivé et 3 avec du sérum de *Papio jubilaeus* également inactivé.

Le premier essai donna un résultat entièrement négatif. Les premiers examens des tubes pratiqués après 36 heures montrèrent les parasites rétractés en obus et aucun développement ultérieur n'eut lieu. Sans doute une erreur de technique devait s'être produite, car le deuxième essai conduit à un résultat positif.

La formule parasitaire du sang de Suzanne au moment de l'ensemencement était la suivante :

Anneaux petits et moyens	7 %
Grands anneaux et formes amoeboïdes dans globules chargés de granulations de Schüffner	90 %
Formes plus âgées, sans indice de division nucléaire	3 %
	100 %

Le 12-XI, après 26 heures, les 3 tubes avec du sérum de chimpanzé montraient des formes en schizogonie. Celles-ci se retrouvaient également dans les tubes avec sérum humain et sérum de *Papio jubilaeus* lorsqu'ils furent examinés 30 heures après l'ensemencement.

L'évolution progressa jusqu'à la formation de rosaces mûres, mais n'alla pas plus loin.

La morphologie des parasites resta superposable à celle des formes du sang *in vivo*.

III. — *Essai de mise en culture du Pl. malariae* (rodhaini).

Une seule expérience fut instituée.

Le 30-XII-39, à 15 heures, le chimpanzé Suzanne montre des plasmodiums du type malariæ assez nombreux dans les frottis de sang.

Les plasmodiums sont âgés certainement de 24 heures, ils remplissent le 1/3 ou la 1/2 du globule rouge.

Ce sang est ensemencé dans 5 tubes dont 3 contiennent du sérum inactivé glucosé provenant de Suzanne et 2 du sérum inactivé humain.

Seul un des trois premiers tubes permit d'observer le développement ultérieur des parasites.

Le 2-I les frottis montraient de très belles schizogonies avec 7 et 8 blocs nucléaires, et une rosace éclatée avec 12 mérozoïtes libres.

Le 3-I les préparations montrèrent encore de rares schizogonies et nombre de parasites en voie de dégénérescence à côté de formes qui avaient l'aspect de macrogamètes types.

Aucun développement ultérieur des mérozoïtes issus des schizogonies n'eut lieu.

IV. — *Essai avec Pl. falciparum.*

La seule expérience que nous avons instituée à titre de comparaison et pour éprouver la valeur de notre *modus operandi* a donné un résultat positif.

Le sang d'un matelot chinois montrant de nombreux *Plasmodium falciparum* au stade petits anneaux servit à ensemencer une série de tubes avec serum humain inactivé.

Une première génération de mérozoïtes issus de belles schizogonies apparut après 8 heures et fournit des rosaces au 4e jour. Les cellules-filles nées de ces rosaces n'ont pas évolué.

Au cours de cet essai nous avons, 24 heures après le premier ensemencement, avant l'apparition des schizogonies, prélevé quelques gouttes de sang d'un tube et les avons ensemencées dans un tube neuf contenant du sérum de chimpanzé inactivé. Ce sérum n'a pas empêché l'apparition d'un certain nombre de schizogonies, mais le développement n'alla pas plus loin.

Nous n'avons plus eu l'occasion de répéter cette expérience. Les quelques schizogonies complètes dont nous avons dénombré les mérozoïtes avaient de 12 à 20 masses nucléaires.

DISCUSSION.

Depuis que Bass, le premier, put suivre d'une façon très précise, l'évolution des plasmodiums humains dans le sang glucosé *in vitro*, de nombreux auteurs, non seulement ont contrôlé ses observations, mais encore les ont étendues aux plasmodiums aviaires. Ils ont obtenu plus ou moins de succès. La majorité d'entre eux s'accorde à dire qu'il ne s'agit pas d'une vraie culture, qui suppose une augmentation progressive des parasites. Certains même ont défendu l'opinion que la division multiple qu'on peut poursuivre à des intervalles variables, ne correspond, en réalité, qu'à un retard de l'évolution chez certains

parasites, retard résultant des conditions anormales dans lesquelles se trouvent les plasmodiums.

Pour eux, il n'y a pas évolution d'une nouvelle génération. Ce point de vue ne paraît plus guère soutenable actuellement, des observations précises ayant permis de suivre l'évolution de parasites nés dans les cultures.

Il est vrai, pourtant, que l'augmentation des parasites ne progresse pas, mais ce fait peut s'expliquer, ainsi que nous l'avons fait remarquer lors de nos essais avec *Plasmodium reichenowi*, par la mort d'un grand nombre de mérozoïtes des nouvelles générations. Certains succombent avant d'avoir pu pénétrer dans les érythrocytes, d'autres dégénèrent dans ces derniers avant l'achèvement de leur complet développement. Les leucocytes, lorsqu'ils sont présents, en détruisent à leur tour. Ce sont des faits connus. Il est établi aussi que des repiquages indéfinis dans des tubes neufs n'ont pu être obtenus. Mais ce ne semble là qu'une question de technique. Ainsi, Chorine (3) en faisant passer un courant de CO_2 dans les tubes de culture a non seulement obtenu un développement de 100 p. 100 des parasites, mais aussi 5 générations sans cependant pouvoir maintenir la richesses des cultures.

En ce qui concerne les plasmodiums des singes, peu de tentatives paraissent avoir été réalisées. Seul, M. Bouilliez (4) signale avoir obtenu le développement du *Plasmodium inui* (?) jusqu'à formation de rosaces.

Ainsi que nous l'avons dit au début de notre travail, notre principal but en entreprenant les essais dont nous venons de relater les résultats, était de voir si, au cours du développement *in vitro*, les plasmodiums de chimpanzé montreraient des particularités morphologiques qui les distingueraient des plasmodiums correspondants humains.

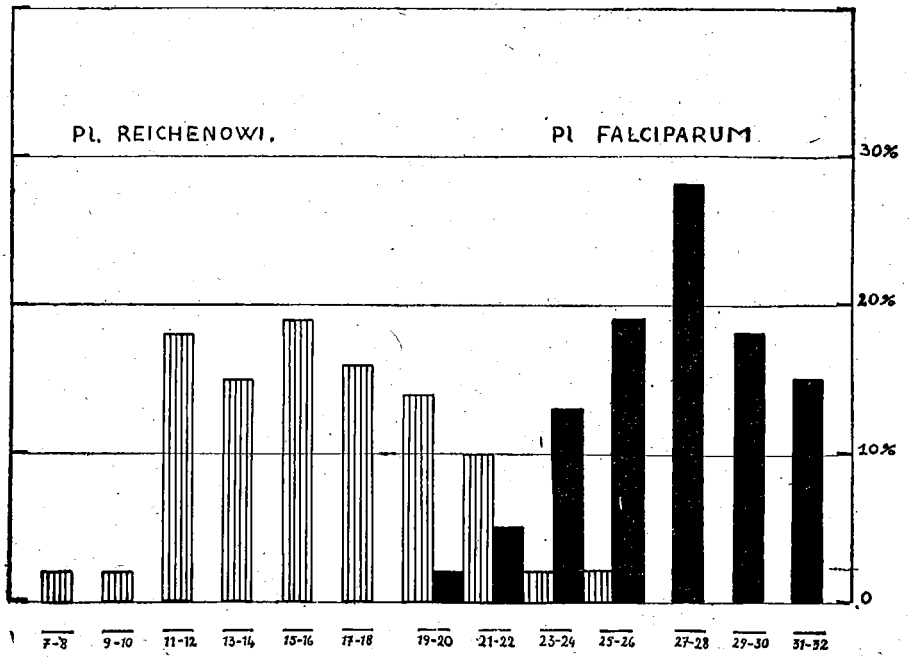
En ce qui concerne ces derniers parasites, les différents auteurs qui ont observé leur développement *in vitro*, sont d'accord pour dire que la morphologie dans les tubes de sang glucosé ne s'écarte pas de celle connue chez l'homme.

D'autre part, l'observation en culture de la schizogonie du *Pl. falciparum*, dont la division multiple se poursuit habituellement dans les organes internes, a permis de fixer, d'une ma-

nière précise, le nombre de mérozoïtes que fournit une rosace. J. G. Thomson et D. Thomson (5 et 6), qui ont eu leur attention spécialement attirée sur ce point, ont établi que le nombre de mérozoïtes formés varie de 20 à 32; 25 p. 100 des rosaces fournissant 28 mérozoïtes et 17 p. 100 26. Ziemann (7), d'autre part, donne comme moyenne de 14 à 18, le nombre le plus fréquent étant 16.

Pour le *Pl. reichenowi* nous avons obtenu un nombre moyen de mérozoïtes de 14 à 22; le nombre minimum étant de 8 et le maximum de 26.

Dans le graphique ci-dessous, nous avons réuni les données



NOMBRE DE MEROZOITES DANS LES ROSACES A MATURITE

fournies par J. G. Thomson et D. Thomson pour *Pl. falciparum* et celles obtenues par nous-mêmes pour *Pl. reichenowi*.

Les colonnes indiquent en hauteur le pour cent respectif du nombre de mérozoïtes inscrit à leur base. Les noires concernent le *Pl. falciparum*, celles en traits le *Pl. reichenowi*.

Il existe donc une différence manifeste dans le nombre de mérozoïtes que donnent les rosaces des deux parasites observés *in vitro*. Mais cette différence peut-elle être considérée comme ayant la valeur d'espèce. Elle n'aurait cette signification que si elle se manifestait constante dans différentes souches.

N'ayant expérimenté qu'avec une seule souche, nous n'attribuerons, au fait, qu'une portée relative. Il apporte un argument de plus à d'autres qui plaident pour la spécificité du parasite qui, entre nos mains, s'est invariablement montré non pathogène pour l'homme, comme *Pl. falciparum* s'est révélé non pathogène pour le chimpanzé.

Nous pourrions en dire autant pour le fait que l'adjonction de sérum humain aux globules rouges parasités de *Pl. reichenowi* a paru inhiber le développement de ces hématozoaires.

Mais cette constatation demande confirmation, ce d'autant plus que le sérum de *Papio jubilaeus,* animal réfractaire à l'inoculation de *Pl. schwetzi,* n'a pu empêcher l'évolution *in vitro* de ce dernier.

Quant à la morphologie même des formes parasitaires, elle ne diffère guère de celle observée dans les érythrocytes dans le sang circulant. Les petits anneaux peuvent avoir un ou deux points chromatiques, et, avec la croissance du plasmodium, apparaissent les taches de Maurer dans les globules rouges.

Le pigment noir montre une tendance précoce à se conglomérer en un bloc unique, comme c'est le cas pour *Pl. falciparum.* (Thomson-Ziemann).

Dans les frottis, nous n'avons pas observé la conglomération des formes en schizogonie sur laquelle ont insisté les auteurs anglais. Des examens à frais n'ont pas été faits aux moments propices.

Nous avons signalé l'amoeboïsme très accusé que montrent certaines formes jeunes avec un développement anormal de la vacuole. D'autre part, l'apparition de deux et quelquefois trois vacuoles semble être un signe de souffrance, les parasites qui le montrent étant destinés à périr.

La mise en culture du *Plasmodium schwetzi* a permis de constater l'évolution des parasites jusqu'à l'achèvement de la schizogonie, ce aussi bien en présence de sérum humain et de

sérum de babouin *Papio jubilaeus,* qu'au contact du sérum de chimpanzé. Ceci montre qu'il convient d'être réservé dans l'interprétation qu'on pourrait donner à l'action d'un sérum dans les cultures pour une discrimination spécifique du parasite.

En ce qui concerne le *Plasmodium malariae* (seu *Rodhaini*) du chimpanzé, l'évolution se poursuivit jusqu'à la formation de rosaces mais n'alla pas plus loin. Les circonstances de guerre ne nous ont pas permis de consulter in extenso le travail de Row qui, d'après le résumé de F. Mesnil (8), aurait constaté un grand nombre de mérozoïtes. Des 10 rosaces dont nous avons pu dénombrer les mérozoïtes, 6 avaient 8, trois 7 et une seule 12 mérozoïtes. La rétraction caractéristique des globules rouges parasités a rapidement disparu dans nos cultures et avec la croissance des parasites le protoplasme des érythrocytes pâlit et apparaît presque décoloré dans les frottis. Au cours de la dégénérescence qui atteint un grand nombre de parasites, ceux-ci prennent les aspects amoeboïdes très curieux, dans les globules nettement hypertrophiés et pâlis. La culture du *Plasmodium malariae* du chimpanzé nous a paru plus difficile à réaliser que celle des deux autres espèces. Parmi celles-ci, c'est le *Pl. reichenowi* qui évolua le plus rapidement dans le milieu selon Bass. Sous ce rapport, le parasite à gamétocytes allongés des anthropomorphes d'Afrique se comporte donc comme le *Pl. falciparum* de l'homme.

CONCLUSION

1). La méthode de Bass, pour la culture *in vitro* des plasmodiums appliquée d'après la technique de Row aux trois espèces de plasmodiums parasitant le chimpanzé a permis de suivre leur développement jusqu'à l'achèvement de la schizogonie.

Alors que le développement des Plasmodiums *schwetzi* et *rodhaini (malariae)* s'est arrêté à la formation des rosaces, celui du *Plasmodium reichenowi* s'est continué jusqu'à la troisième génération. Même dans ce dernier cas, il ne s'est pas agi d'une culture dans le vrai sens du mot, les divisions multiples n'ayant pu empêcher la diminution progressive du nombre de parasites.

2) La présence du sérum humain a paru inhiber le développement du *Plasmodium reichenowi,* alors que celui du *Plasmodium schwetzi* n'a pas été influencé ni par ce sérum humain, ni par celui du babouin *Papio jubilaeus,* animal absolument réfractaire au parasite du chimpanzé.

3) Le nombre moyen de mérozoïtes issus des schizogonies de Plasmodium reichenowi en culture, a varié de 12 à 26, la moyenne étant de 14 à 22. Ce nombre est différent de celui donné par J. G. Thomson et D. Thomson pour le *Plasmodium falciparum.*

En dehors de cette seule différence, il n'est pas apparu dans les cultures des modifications morphologiques qui permettraient de distinguer les plasmodiums de chimpanzé des plasmodiums humains correspondants.

Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, Anvers.

Samenvatting. — Met het oog op morphologische verschillen tusschen de Plasmodium van menschenapen uit Afrika en de menschplasmodiums vast te stellen, hebben schrijvers het behoud in bloedcultuur volgens Bass, der apenparasieten onderzocht.

De ontwikkeling van *Plasmodium schwetzi* en *Plasmodium malariae (rodhaini)* kon worden na gegaan tot het onstaan van een eerste generatie merozoïten. Deze echter groeiden verder niet. *Plasmodium reichenowi* behield zich anders, daar in de culturen het onstaan van een derde generatie kon worden gezien.

De morphologie der plasmodiums in de cultuur wijkt niet merkelijk af van deze bekent uit het bloed der chimpanzés.

Het eenig verschil welk kon worden vastgesteld is dat het gemideld aantal merozoïten van *Plasmodium reichenowi* ietwat kleiner is als dit van *Plasmodium falciparum.*

BIBLIOGRAPHIE.

1. Bass, C. C. — On the cultur of Malarial Plasmodies. *Jl. Trop. Med. and Hyg.,* 1911, t. XIV, p. 341.

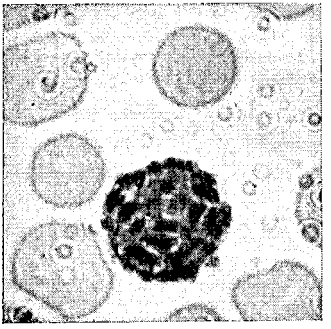


Fig. 1.

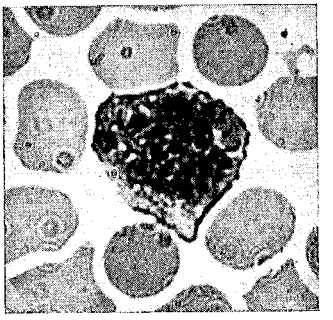


Fig. 2.

Fig. 3.

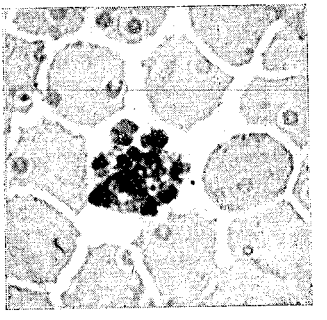


Fig. 4.

Explication de la planche.

Fig. 1. — *Pl. schwetzi.* Schizogonie après 25 heures de mise en culture. Sérum de chimpanzé.

Fig. 2. — *Pl. schwetzi.* Schizogonie après 25 heures de mise en culture. Sérum de Papio.

Fig. 3. — *Pl. reichenowi.* Rosace à 22 mérozoïtes après 57 heures de mise en culture.

Fig. 4. — *Pl. malariæ* seu *rodhaini.* Rosace à 8 mérozoïtes après 72 heures de mise en culture.

2. Row. — On a simplified technique of Bass's method of cultivation of malarial parasites *in vitro* and a few observations on the malarial parasites cultured by this technique. *Ind. Jl. Med. Res.*, 1917, t. IV, p. 388.

3. Chorine. — Essais de culture de *Plasmodium falciparum*. Action de l'acide carbonique. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1932, vol. XXV, p. 953.

4. Bouilliez, M. — Nouvelles recherches expérimentales sur un Plasmodium des singes. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, t. LXXIV, p. 1070.

5. Thomson, J. G. et Thomson, D. — The growth and sporulation of the benign and malignant tertian malarial parasites in the culture tube and in the human host. *Ann. Trop. Med. and Paras.*, 1913, t. VII, p. 509.

6. Thomson, J. G. et Thomson, D. — The cultivation of one generation of benign tertian malarial parasites *(Plasmodium vivax) in vitro* by Bass's method. *Ann. Trop. Med. Paras.*, 1913, t. VII, p. 153.

7. Ziemann. — Ueber die kultur der malariaparasieten und piroplasmen *in vitro*. *Arch. f. Schiffs u. Tropenhyg.*, 1913, t. XVII, p. 361.

8. Mesnil, F. — Résumé du travail de Row dans : *Bull. Inst. Past.*, 1917, t. 15, p. 226.