

## Observations sur la gamétogenèse du *Plasmodium berghei*

PAR

Guy MICHIELS.

Boursier de l'I. B. E. R. S. O. M.

(Reçu pour publication le 11 février 1963.)

---

### Introduction.

On avait constaté depuis fort longtemps que certains protozoaires lors de passages mécaniques, perdaient leurs gamétocytes.

Une des premières constatations de ce genre remonte à 1932 et concerne le *Theileria dispar* (Sergent, Donatien et Parrot).

Par après Rodhain et Vincke retrouvèrent le même phénomène pour le *Plasmodium berghei*. Kortenweg signalait cependant en 1930 qu'une souche de *Plasmodium vivax* passée mécaniquement conservait encore tous ses gamétocytes après 54 passages. Il pense que l'abondance de gamétocytes dépend de la souche de plasmodium employée et n'est pas influencée par l'élimination de l'hôte vecteur.

En 1948 ces expériences furent reprises par Bijmer et Kraan. Si ces auteurs admettent l'influence défavorable de l'élimination du moustique sur la production des gamétocytes ils n'en accordent pas moins aussi une grande importance à la souche de plasmodium.

Plus près de nous, Jadin et Meir Yoeli montrèrent qu'il était possible de faire réapparaître des gamétocytes capables de donner des extraflagellations chez une souche de *Plasmodium berghei* entretenue mécaniquement depuis trois ans et ce par passages répétés sur jeunes hamsters et sur jeunes thamnomyes.

Ayant testé de manière régulière, lors de nos essais de transmission cyclique du *Plasmodium berghei*, le pouvoir d'extraflagellation de notre souche, nous nous sommes trouvés à la tête d'un abon-

---

Ce travail a été accompli sous la direction du professeur I. Vincke au laboratoire de paludologie de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers.

Il a pu être mené à bien grâce au Fonds National de la Recherche Scientifique.

dant matériel sur la gamétogenèse et l'extraflagellation. Ce matériel, trié, analysé puis complété nous a permis d'étudier l'extraflagellation de ce plasmodium lors de passages mécaniques successifs, rapprochés et espacés et d'en extraire des données numériques.

### Technique.

1) La souche employée est la souche SP 11 de *Plasmodium berghei*, reçue grâce à l'obligeance du gouvernement du Katanga et à celle du docteur de Waersegger. Elle nous a été fournie le 7 février 1961 sur un thamnomyes infecté par deux glandes salivaires positives d'*A. durenii* trouvé à Kasapa.

2) Les passages rapprochés ont été effectués sur rats et souris blancs âgés de 15 à 21 jours. L'inoculation a été faite de manière uniforme, soit un inoculum (voie intra-pétonéale) d'un quart de goutte de sang d'un animal dont les globules rouges sont parasités pour moitié.

3) Quant aux passages espacés ils ont été réalisés grâce à des rats réservoirs. Ce sont des rats en période métacritique, cliniquement guéris, ne montrant plus de parasites à l'examen microscopique mais dont le sang reste infectant pendant une longue période.

De tels animaux sont obtenus soit en laissant évoluer naturellement la maladie, soit en aidant la guérison à l'aide de doses sub-curatives (1/10 mg) de Nivaquine injecté par voie sous-cutanée.

4) Neige carbonique : mélanger le sang de l'animal à du glucose et à de l'héparine de manière à avoir une concentration de 5 p. cent de glucose et 1 p. cent d'héparine. Soit pour 1 ml de sang 0,01 ml d'héparine pure et 0,2 ml de glucose à 25 p. cent. Mettre en tube de verre, puis sceller.

5) Extraflagellation : faite à température de 25° C dans une chambre humide. Observation après 15', décompte sur 100 champs microscopiques (objectifs 40 — oculaire 10) sur une goutte pendante constituée pour une moitié de sang, pour l'autre moitié de sérum physiologique liqueminé à 1/200°.

### Résultat.

Le sang des deux premiers passages mécaniques successifs a été mélangé, hépariné et mis dans de la neige carbonique de façon à obtenir une température constante de — 70° C. Ce sang fut retiré sept mois plus tard et inoculé au rat 905 (tableau I).

TABLEAU I.

Date	Passage
23 février 1961 ... ..	Thamnomyes (Po) subinoculé à un jeune rat (P1)
27 février 1961 ... ..	Thamnomyes (Po) subinoculé à une jeune souris (P1)
2 mars 1961 ... ..	Thamnomyes (Po) subinoculé à trois jeunes rats (P1)
7 mars 1961 ... ..	Souris (P1) subinoculée à deux jeunes souris (P2)
8 mars 1961 ... ..	Rat (P1) subinoculé à deux jeunes rats (P2)
24 mars 1961 ... ..	Tous les P1 et P2 ont eu leur sang mélangé et mis en neige carbonique
24 octobre 1961 ... ..	Ce sang est injecté au rat 905

N.B. : Le chiffre après la lettre P indique le nombre de passages mécaniques qu'a subi la souche.

Ce rat 905 fut à la base d'une première série d'expérimentations au cours de laquelle nous avons étudié l'extraflagellation lors des passages mécaniques successifs au travers de trois lignées d'animaux bien distinctes :

- a) souris adultes;
- b) souris nourrissons;
- c) rats nourrissons.

Dans ces expériences notre souche n'a jamais été en contact avec une quelconque substance chimique. Les résultats ont été mis sous forme de tableaux (tableaux II, III, IV) où nous retrouverons :

- l'âge de la souche en jours, le passage et le nombre d'animaux expérimentés;
- le nombre de numérations d'extraflagellations effectuées par animal (faites à intervalle de 24 heures);
- le nombre maximum d'extraflagellations présentées par chaque animal de chaque série, nombre donné par champ microscopique. Ces résultats, lorsqu'ils étaient nombreux ont été groupés en séries.

TABLEAU II.

Passages successifs de souris adultes à partir du rat 905 (P2-3).

Age de la souche en jours	Passage	Nombre d'animaux expérimentés	Nombre de numérations effectuées par animal	Nombre maximum d'extra par champ
273	P3-4	—	—	—
332	P4-5	—	—	—
343	P5-6	2	2	1 et 5,4
357	P6-7	3	1	entre 3,2 et 18,8
372	P7-8	3	5	entre 2,2 et 3,7
380	P8-9	3	2	entre 0 et 0,12
396	P9-10	5	4	entre 0,05 et 1,25
409	P10-11	2	1	0 et 0,02
417	P11-12	3	3	entre 0,01 et 0,4
424	P12-13	Pas d'observations		—
431	P13-14	1	5	0,08
438	P14-15	2	5	0 et 0,01
446	P15-16	2	3	0 et 0,01
452	P16-17	2	3	0
459	P17-18	1	4	0
467	P18-19	3	2	0
476	P19-20	2	2	0
483	P20-21	1	2	0
487	P21-22	4	4	0

Aucune extraflagellation n'a été effectuée pour les deux premiers passages.

TABLEAU III.

Passages successifs de souris nourrissons à partir du rat 905 (P2-3).

Age de la souche en jours	Passage	Nombre d'animaux expérimentés	Nombre de numérations effectuées par animal	Nombre maximum d'extra par champ
286	P3-4	2	4	3,5 et 18
295	P4-5	6	Pas d'observation	—
308	P5-6	1	5	8,5
315	P6-7	5	4	0
		6	4	entre 1 et 8
350	P7-8	3	2	entre 1,4 et 3,6
366	P8-9	4	3	entre 4 et 12
372	P9-10	6	4	entre 6,2 et 17,4
380	P10-11	2	3	6,7 et 8,5
388	P11-12	4	3	entre 1,1 et 6,2
396	P12-13	2	3	14,3 et + de 20
		6	3	entre 2,2 et 9,7
402	P13-14	7	2	0
		1	2	0,01
409	P14-15	1	1	11
417	P15-16	2	2	2,8 et 19,2
425	P16-17	2	2	0 et 4,2
431	P17-18	1	1	0,08
438	P18-19	2	3	1,7 et 4,3
446	P19-20	2	3	0,02 et 4,8
452	P20-21	2	3	2,4
462	P21-22	2	4	0,9 et 2,4
467	P22-23	3	3	entre 0 et 0,08
477	P23-24	3	2	entre 0,01 et 0,04
487	P24-25	4	3	0,01 ou 0,02
496	P25-26	3	3	0
506	P26-27	3	3	0

TABLEAU IV.

Passages successifs de rats nourrissons à partir du rat 905 (P2-3)

Age de la souche en jours	Passage	Nombre d'animaux expérimentés	Nombre de numérations effectuées par animal	Nombre maximum d'extra par champ
350	P3-4	11	4	+ de 20
		4	3	entre 10 et 20
		11	3	entre 1 et 10
365	P4-5	6	3	entre 14 et + de 20
		10	3	entre 2,3 et 10,2
377	P5-6	2	4	+ de 20
		6	3	entre 5,4 et 9,1
		12	4	entre 0,05 et 1,7
380	P6-7	3	3	entre 6,2 et 16,5
		4	2	entre 1,3 et 3,3
388	P7-8	2	8	+ de 20
		8	3	entre 3,4 et 7
		1	3	0,9
402	P8-9	2	3	6,8 et 10,2
		4	4	+ de 20
409	P9-10	3	3	entre 15 et + de 20
		9	4	entre 2,7 et 7,1
417	P10-11	2	3	7,5
425	P11-12	2	2	0 et 2,4
431	P12-13	1	5	8,5
438	P13-14	2	3	0,05 et 5
445	P14-15	2	3	3,3 et 7,2
452	P15-16	3	3	entre 0 et 0,5
459	P16-17	2	4	0 et 0,12
467	P17-18	4	3	entre 0 et 0,28
476	P18-19	3	2	0,01
487	P19-20	4	3	entre 0 et 0,08
495	P20-21	2	3	0
503	P21-22	3	2	0

*N. B. :* Les maxima d'extraflagellation observés et repris dans les trois tableaux précédents ne correspondent pas nécessairement avec les maxima véritables. Certains animaux, employés pour les expériences de transmission cyclique mourant souvent précocement en cours d'expériences.

Nous avons étudié parallèlement ces extraflagellations sur une très longue période de temps, grâce à l'emploi de rats réservoirs qui nous ont permis d'effectuer des passages mécaniques successifs espacés au maximum (tableau V).

Les résultats repris dans ce tableau ont été obtenus chez des animaux dans leur jeune âge et en période patente; les passages se faisaient ultérieurement durant la période métacritique.

A ce sujet, il faut noter que le nombre minimum de passages pouvant se faire sur une période donnée, dépend de la période métacritique, qui elle même dépend des facteurs suivants :

a) du nombre d'essais de subinoculations et de la quantité de sang employé (respectivement dans nos expériences : une fois par mois — 10 à 20 gouttes de sang par animal).

b) de l'animal employé : Vincke, Peeters et Frankie, qui ont étudié cette question, ont trouvé des périodes métacritiques de l'ordre de :

- 78 jours pour l'*Aethomys*;
- 128 jours pour le *Praomys*;
- 148 jours pour le *Thamnomys*;
- 149 jours pour le *Dipodillus campestris*;
- 150 jours pour le rat blanc;
- un an pour le mérion.

Quant à nos propres animaux (rats blancs) ils ont été infectants jusqu'au 98, 102, 160, 190, 196, 205, 235 et 293<sup>e</sup> jours.

TABLEAU V.  
Passages successifs de rats réservoirs à partir du *Thamnomys* Po.

Age de la souche en jours	Passage	Nombre d'animaux expérimentés	Nombre de numérations effectuées par animal	Nombre maximum d'extra par champ
54	P1	5	2	(*)
60	P2	7	2	(*)
247	P3	3	5	entre 15 et + de 20 entre 2 et 8
		3	2	
483	P4	1	7	+ 20 entre 1 et 5
		4	5	
521	P5	5	3	entre 0,8 et 3 entre 5,6 et 12,6
		5	3	
640	P6	3	3	entre 0,32 et 0,9 entre 2 et 7,2
		4	2	
755	P7	3	4	entre 16,5 et + de 20 entre 5,6 et 8,4 entre 0,3 et 0,8
		4	3	
		7	3	

(\*) On s'est contenté d'observer la présence des extraflagellations sans les compter.

D'autres résultats ont été obtenus à différentes dates chez de nombreux animaux également infectés par des rats réservoirs. Donnés à titre indicatif ils ont été brièvement résumés sous forme de deux petits tableaux concernant, l'un, les rats nourrissons, l'autre, les souris nourrissons (tableaux VI-VII).

TABLEAU VI.

Subinoculations de sang de rats réservoirs à des rats nourrissons.

Age de la souche en jours	Passage	Nombre d'animaux expérimentés	Nombre de numérations effectuées par animal	Nombre maximum d'extra par champ
353	P5-6	2	4	+ 20
		7	4	entre 6,8 et 15,6
		12	4	entre 0,05 et 1,7
357	P7-8	2	8	+ 20
		6	3	entre 3,4 et 7
		2	3	11 et 14,5
380	P6-7	2	3	12,7 et 16,5
		5	2	entre 1,3 et 6,2
422	P4-5	6	4	entre 14 et + de 20
		9	3	entre 2,3 et 9,6
765	P8	2	5	14,5 et plus de 20
		8	5	entre 0,8 et 2,4

TABLEAU VII.

Subinoculations de sang de rats réservoirs à des souris nourrissons.

Age de la souche en jours	Passage	Nombre d'animaux expérimentés	Nombre de numérations effectuées par animal	Nombre maximum d'extra par champ
388	P3-4	6	6	entre 16 et + de 20
		2	9	2,5 et 7,9
409	P3-4	4	3	entre 12,3 et + de 20
		9	3	entre 2,1 et 9
462	P4	2	6	16,5 et + de 20
		10	8	entre 1,7 et 7,4
534	P5	3	3	entre 1,4 et 6,6
750	P8	1	6	14,5
		4	6	entre 6,3 et 8,4

Le nombre d'extraflagellations est irrégulier et varie beaucoup de passage à passage et d'animal à animal d'un même passage. Quant au moment où survient le nombre maximum d'extraflagellations, il varie également d'un animal à l'autre.

En général il se place cependant lorsque 40 à 60 p. cent des globules rouges sont parasités.

Voici à titre d'exemple quelques séries d'extraflagellations de différents passages mécaniques (tableaux VIII à XI).

### *Discussion.*

Les extraflagellations par passages successifs sur souris adultes sans jamais être très abondantes, diminuent rapidement pour disparaître vers le 16<sup>me</sup> passage. Elles persistent plus longtemps chez les animaux nourrissons (19<sup>me</sup> passage pour les rats; 24<sup>me</sup> pour les souris) où elles sont également beaucoup plus nombreuses.

Quoiqu'il en soit, après une période relativement courte, toutes les extraflagellations avaient disparu. Au contraire, nous constatons que lorsqu'on diminue le nombre de passages au maximum, grâce à l'emploi de rats en période métacritique, on obtient encore de nombreuses extraflagellations après une très longue période. C'est ainsi qu'une souche âgée de 755 jours montrait encore après 7 passages d'abondantes extraflagellations, alors qu'après 25 passages et 496 jours dans le cas le plus favorable on n'observait plus aucune extraflagellation lors des passages successifs rapprochés (tableau III et V).

Encore convient-il de remarquer que dans ce dernier cas le sang était resté au préalable environ 210 jours dans de la neige carbonique.

Nous n'avons pas d'explication satisfaisante permettant d'éclaircir cette différence de comportement.

Bornons-nous à constater pour le moment que la prolifération successive et monstrueuse des formes végétatives va de pair avec la diminution de la gamétogénèse, ce que nous évitons en partant d'animaux en période métacritique.

Nous avons recherché, pour avoir une idée de la manière dont évoluait la maladie au cours des passages successifs, le nombre de jours s'écoulant entre le tout début de l'infection et la mort chez la souris adulte et la souris nourrisson, compte tenu du fait que la mortalité des souris infectées par le *Plasmodium berghei* est de 100 p. cent (tableau XII).

Au fil des passages successifs et à l'intérieur d'un même passage existent des animaux qui meurent plus rapidement que d'autres.



TABLEAU VIII.

Passages 3-4 effectués avec une souche âgée de 750 jours.

Nombre de jours après inoculation	Souris nourrissons											
	3004		3005		3006		3007		3008		Nombre extra par champ	
	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ		
7	G + + + + +	0,3	G + + + + +	16,5	G + + + + +	0,1	G + + + + +	2,15	G + + + + +	0		
8	F + + + + + + + + + +	0	F + + + + +	9,6	F + + + + + + + + + +	1,28	F + + + + +	0,5	F + + + + +	0,3		
9	F + + + + +	0,02	F + + + + +	0,1	F + + + + +	0,35	F + + + + +	0,1	F + + + + +	3,5		
10	F + + + + + + + + + +	2,92	F + + + + +	0,6	F + + + + +	5,9	F + + + + + + + + + +	7,3	F + + + + + + + + + +	8,2		
11	F + + + + +	2,7	F + + + + +	0	F + + + + +	7,2	F + + + + +	1,6	F + + + + + + + + + +	8,4		
12	F + + + + +	0,3	F + + + + +	0	F + + + + +	0,5	F + + + + +	0,15	F + + + + +	3,5		
14	F + + + + +	6,3	F + + + + +	0,01	F + + + + +	0	F + + + + +	6	F + + + + +	0,04		
15	F + + + + +	0	F + + + + +	0	F + + + + +	0,05	F + + + + +	0	F + + + + +	0		
16	F + + + + +	0	F + + + + +	0	F + + + + +	0,01	F + + + + +	0	F + + + + +	0		

F = frottis

G = goutte épaisse

+ = moins d'un parasite par champ

+ + = de 1 à 10 parasites par champ

+ + + = plus de 10 parasites par champ

+ + + + + = plus de 50 % des globules rouges sont parasités (frottis uniquement)

TABLEAU IX.  
Passage 8 effectué avec une souche âgée de 750 jours.

Nombre de jours après inoculation		Rats nourrissons											
		3016		3017		3018		3019		3020			
		Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ		
5	G + + + +	0	G + + + +	0	G + + + +	0,06	G + + + +	0,01	G + + + +	0,14			
6	F <u>+ + + +</u> + + + +	0,3	F <u>+ + + +</u> + + + +	0,03	F + + + +	0,12	F + + + +	0,3	F <u>+ + + +</u> + + + +	0,01			
7	F + + + +	plus 20	F + + + +	0,16	F + + + +	1	F + + + +	0,2	F + + + +	1,9			
8	F + + + +	7	F + + + +	0,50	F <u>+ + + +</u> + + + +	1,2	F + + + +	2,5	F <u>+ + + +</u> + + + +	0,8			
10	F + + + + +	0	F + + + +	1,9	F + + + + +	0,24	F + + + + +	0,12	F + + + +	0,02			
11	F + + + + +	0,7	F + + + + +	0,13	F + + + + +	0,24	F + + + + +	0	F + + + + +	0,04			
12	F + + + + +	0	F + + + + +	0	F + + + + +	0	F + + + + +	0,03	F + + + + +	0			

TABLEAU X.

Passages 9-10 effectués avec une souche âgée de 397 jours.

Nombre de jours après inoculation	Rats nourrissons											
	1531		1532		1533		1534		1535			
	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ		
4	F + + + +	1,2	F + + + +	0,7	F + + + +	3,4	F + + + +	plus 20	F + + + +	0		
5	F + + + + +	plus 20	F + + + +	10,2	F + + + + +	plus 20	F + + + +	6,8	F + + + +	12,2		
6	F + + + + +	plus 20	F + + + + +	1,6	F + + + + +	12,5	F + + + +	14,2	F + + + + +	plus 20		
7	F + + + + +	8,3	F + + + + +	2,7	F + + + + +	3,5	F + + + + +	10,2	F + + + + +	10,3		
8	F + + + + +	4,2	décédé		F + + + + +	0,12	F + + + + +	0,56	F + + + + +	9,4		

TABLEAU XI.

Passages 3-4 effectués avec une souche âgée de 385 jours.

Nombre de jours après inoculation	Souris nourrissons											
	1508		1509		1512		1513		1515			
	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ	Degré d'infection	Nombre extra par champ		
6	F ++	0,13	F +	0	F +/+ ++	0	F +	0	F +	0		
7	F +++	3,8	F +	0	F ++	0,52	F +++	1,2	F +	0		
8	F +++	12,4	F +	0,02	F +++	1,4	F +++	1,6	F +	1,3		
9	F +++	plus 20	F +	0,01	F +++	5,6	F +++	17,7	F ++	4,8		
11	F ++++	4,5	F ++	1,8	F +++	6	F ++++	8,9	F +++	0,02		
12	F ++++	9,2	F ++	7,9	F ++++	5,5	F ++++	12,3	F +++	0,5		
13	F ++++	4,4	F ++	3,6	F ++++	10,6	décédé		F +++ ++++	2,5		
14	décédé		F +++	1,7	F ++++	0,9			F +++ ++++	9		
15			F +++	1,7	F ++++	0,08			F +++ ++++	6,3		

TABLEAU XII.

Passage	Souris adulte		Souris nourrisson	
	Nombre d'animaux	Durée de la maladie	Nombre d'animaux	Durée de la maladie
3 <sup>e</sup> au 8 <sup>e</sup> ... ..	8	de 8 à 11 j.	11	de 5 à 10 j.
	11	de 13 à 19 j.	12	de 12 à 16 j.
			6	de 20 à 22 j.
9 <sup>e</sup> au 14 <sup>e</sup> ... ..	10	de 9 à 14 j.	2	de 5 à 7 j.
	3	17 j.	17	de 9 à 15 j.
	1	28 j.	1	18 j.
15 <sup>e</sup> au 20 <sup>e</sup> ... ..	11	de 5 à 9 j.	12	de 5 à 8 j.
	4	de 14 à 16 j.	9	de 10 à 17 j.
21 <sup>e</sup> au 22 <sup>e</sup> ... ..	1	7 j.	8	de 18 à 23 j.
	4	de 10 à 14 j.		
	2	23 et 24 j.		
23 <sup>e</sup> au 25 <sup>e</sup> ... ..	—	—	3	8 j.
	—	—	6	de 13 à 16 j.

Il est possible que lorsque la période patente est plus courte, les extraflagellations n'atteignent pas des valeurs fort élevées. Nous n'avons cependant pas encore suffisamment de données pour être catégorique sur ce point.

Notons pour terminer, et cela a été fait au début de nos expériences, qu'il était possible de substituer de la neige carbonique aux rats réservoirs puisque après 7 mois, le sang conservé à  $-70^{\circ}\text{C}$  avait gardé des parasites vivants ayant donnés par subinoculations une souche riche en gamètes et en extraflagellations (rat 905 a une telle origine).

Cette méthode ne peut donner de résultats favorables que si nous parvenons à garder constamment une telle température, la moindre diminution même temporaire se révélant néfaste.

Nous remercions le docteur P. Janssen, docteur du laboratoire de recherche « Dr. C. Janssen » à Beerse, pour les rats et les souris qu'il a eu l'amabilité de nous fournir,

Résumé. — Une souche fraîche de *Plasmodium berghei* a été observée pendant deux ans. Lorsque l'on procède à des passages

*successifs sur souris blanches adultes, les extraflagellations ne s'obtiennent plus après le 16<sup>me</sup> passage. Sur rats et souris nourrissons ce pouvoir est respectivement prolongé jusqu'au 20<sup>me</sup> et 25<sup>me</sup> passage. Lorsqu'on diminue le nombre de passages en transmettant le plasmodium à partir de rats en période métacritique, on obtient encore de nombreuses extraflagellations après deux ans.*

Samenvatting. — Een nieuwe stam van Plasmodium berghei werd gedurende twee jaren gevolgd. Bij achtereenvolgende transmissie's op volwassen witte muizen werden geen extraflagellatie's meer bekomen na de 16<sup>de</sup> transmissie. Bij jonge ratten en muizen bleef dit vermogen respectievelijk behouden tot de 20<sup>ste</sup> en 25<sup>ste</sup> transmissie. Wanneer men het aantal transmissie's beperkt door gebruik van ratten in metakritische periode bekomt men nog talrijke extraflagellatie's na twee jaar.

Summary. — A fresh strain of Pl. berghei has been kept under observation for 2 years. When attempts at successive passages were made in adult white mice exflagellation was not obtained after the 16th passage. In suckling rats and white mice this power was prolonged to the 20th and 25th passages respectively. If the number of passages is reduced when transmitting the plasmodium from rats in the metacritic period numerous extraflagellations can still be obtained after 2 years.

Zusammenfassung. — Ein frischer Stamm von Pl. berghei wurde über 2 Jahre beobachtet. Wenn man fortlaufende Passagen auf erwachsenen weissen Mäusen durchführt, ist nach der 16. Passage keine Geisselbildung mehr zu beobachten. Bei Babymäusen und -ratten verlängert sich diese Zeitspanne bis zur 20 bzw. 25. Passage. Vermindert man die Anzahl der Passagen, indem man das Plasmodium von Ratten in der metakritischen Phase überträgt, so erhält man noch nach 2 Jahren zahlreiche Geisselbildung.

Resumen. — Una cepa fresca de Pl. berghei ha sido observada durante dos años. Cuando se procede con pases sucesivos sobre ratones blancos adultos, las extraflagelaciones no se obtienen más allá del 16º pase. Sobre rata y ratones lactantes éste poder se prolonga, hasta el 20º y 25º pase, respectivamente. Cuando disminuye el nº de pases transmitiendo el plasmodio a partir de ratas en periodo metacrítico, se obtiene todavía numerosas extraflagelaciones después de dos años.

BIBLIOGRAPHIE.

- Bijlmer, J. and Kraan, H., 1948, Is the Gametocyte Production of *Plasmodium vivax* influenced by elimination of the mosquito passage? Jl. of Trop. Med. and Hygiene, november, p. 222.
- Jadin, J. et Pierreux, G., 1959, Réapparition du processus d'extraflagellation chez une souche de *Plasmodium berghei* régulièrement entretenue par passage mécanique. Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 6, 847.
- , —, Evolution parallèle d'une souche de *Plasmodium berghei* chez la souris et le jeune hamster doré de Syrie. Ann. Soc. belge de Méd. trop., 1963, 1, 47.
- Korteweg, P. C., 1930, Wien klin. Wochenschr., xliii, 801.
- Rodhain, J. et Vincke I., 1951, Essai d'évolution de *Plasmodium berghei* Vincke et Lips chez *Anophèles maculipennis* (var. atroparvus). Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 2, 297-302.
- Rodhain, J., Wanson, M. et Vincke, I., 1955, Nouveaux essais d'évolution de *Plasmodium berghei* Vincke et Lips chez diverses espèces d'anophèles. Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 203.
- Sergent, Edm., Donatien, A., Parrot, L. et Lestoquard F., 1932, Suppression expérimentale de la production sexuée chez un hématozoaire *Theileri dispar*. C. R. Acad. Sci., 195, 1054.
- Sergent, Edm. et Poncet, Alice, 1956, Etude expérimentale du paludisme des rongeurs à *Plasmodium berghei*. Arch. Institut Pasteur Algérie, 34, 139.
- Vincke, I., Recherche sur le complexe *Anopheles durenti*, *Plasmodium berghei* et *Thamnomys surdaster* dans les galeries forestières du Katanga. Extr. des « Comptes rendus des travaux du Congrès Scientifique » (Commémoration du 50<sup>e</sup> anniversaire du C. S. K.).
- Vincke, I., Peeters, E. et Frankie Gh., 1953, Essai d'étude d'ensemble sur le *Plasmodium berghei*. Inst. Roy. Col. Belge, XXIV, 4.
-