

Essai d'adaptation du *Plasmodium vinckei* au rat blanc,

PAR

J. RODHAIN.

(Reçu pour publication le 15 mai 1954.)

Dans une étude antérieure sur la spécificité biologique du *Plasmodium vinckei* Rodhain, nous avons signalé que le rat blanc n'était pas réceptif à l'infection déterminée par l'hématozoaire et que chez l'animal privé de sa rate le paludisme évoluait d'une manière bénigne et de peu de durée.

Avant de passer à cette époque n'avaient porté que sur trois animaux nos essais. Dans la suite, ayant porté nos essais sur de très nombreux animaux, il nous fallut constater leur grande réceptivité au *Plasmodium vinckei* des rongeurs d'Afrique.

Devant ce fait nous avons pensé qu'il serait peut-être possible d'exalter la virulence du parasite pour les animaux adultes par passages successifs sur rats.

Nous relatons dans le présent travail les divers essais que nous avons réalisés. Au cours de toutes nos expériences nous nous sommes servis pour l'infection, de sang prélevé à la queue des rats parasités, chaque animal recevant la valeur de deux gouttes de liquide injecté directement dans le péritoine.

Après nos premiers essais montrant la réceptivité des rats au *Plasmodium vinckei* nous avons voulu vérifier à nouveau comment se comportait vis-à-vis du parasite le rat normal mi-adulte en comparaison des animaux splénectomisés.

Le tableau I résume cet essai.

L'examen des résultats consignés dans ce tableau fait ressortir une grande différence vis-à-vis de ceux que nous avons relatés dans l'étude sur la spécificité biologique mentionnée plus haut et qui remonte à avril 1952.

En effet, à cette époque, les 3 rats splénectomisés mis en expérience avaient tous survécu et n'avaient montré qu'un parasitisme très peu accusé, par contre les trois animaux : rats 12-13-15 du tableau ci-dessus succombent à leur infection. Il faut tenir compte de ce que, depuis nos premiers essais, le *Plasmodium vinckei* prélevé dans

TABLEAU I.

Désignation des animaux	Date de l'inoculation et origine de l'inoculum	Date de l'apparition des premiers parasites	Résultat et durée de l'évolution
Rat 12 Splénectomisé	5.IX.53 sang souris 228 +++ 0,25 cc.	8.IX.53 +	8 jours. † Sang ++++. Globules rouges nucléés et réticulocytes. Urine rosée.
Rat 13 Splénectomisé	10.IX.53 sang rat 12 +++	12.IX.53 + =	13 jours. † Sang +. Très forte réaction réticulocytaire. Foie paludéen.
Rat 14 normal	10.IX.53 sang rat 12 +++	12.IX.53 + ≡	L'infection reste très faible. Sang négatif à partir du 15-9; réinoculé massivement avec du sang de souris ++++, ne fait pas d'infection apparente.
Rat 15 Splénectomisé	18.IX.53 sang rat 13 +++	21.IX.53 +±	12 jours. † Fait infection aiguë. Réaction réticulocytaire intense. Foie paludéen. Urine rosée. Cylindres épithéliaux.

Signification des abréviations.

- + Extrêmement rares.
- ≡
- + Très rares.
- =
- ± Rares.
- + 1 parasite par champ.
- +± plus de 1, jusque 4 parasites par champ.
- ++ 10 à 20 parasites par champ.
- +++ 20 à 30 parasites par champ.
- ++++ au delà de 30 parasites par champ
- † Mort.

le sang de la souris 228 a subi plus de 100 passages et peut de ce fait avoir exalté sa virulence.

Cependant, le rat normal ne fait encore qu'une infection pauciparasitaire et de très courte durée.

A partir des rats 13 et 15, qui constituaient un premier passage

du plasmodium sur rat splénectomisé, nous inoculons 3 ratons pesant de 25 à 32 grammes.

Le tableau II résume les résultats obtenus.

TABLEAU II.

Designation des ratons	Date de l'inoculation et origine de l'inoculum	Date de l'apparition des premiers parasites	Durée de l'infection	Résultats
Raton 16 30 gr	18.IX.53 sang rat 13 +++	21.IX.53 ±	10 jours. Infection aiguë avec polyparasitisme des érythrocytes	† Rate hypertrophiée 3/0,9. Foie paludéen.
Raton 20 32 gr	28.IX.53 sang rat 15 +++	30.IX.53 +	10 jours. Infection aiguë.	† Rate hypertrophiée. Foie paludéen.
Raton 21 29 gr	Idem	Idem	7 jours. Infection aiguë.	† Dévoré par voisin.

L'examen de ce tableau montre la grande réceptivité des jeunes animaux lorsqu'ils sont inoculés de sang de rats splénectomisés riche en parasites.

L'infection a pris chez les 3 animaux une évolution aiguë avec parasitisme intense aboutissant à la mort.

Dans les essais qui sont résumés dans le tableau III, les animaux ont reçu du sang de jeunes rats non splénectomisés; ils constituent le début d'une série de passages successifs de raton à raton.

Ce tableau résume les essais des dix premiers passages sur ratons; ils ont porté sur 27 animaux.

Le poids exact de 23 d'entre eux a été noté avant leur mise en expérience : Six pesaient de 24 à 29 gr, six de 30 à 35 gr, cinq de 36 à 40 gr, trois de 41 à 45 gr, un 47 gr et deux 60 gr.

Si nous considérons le décours et la durée de l'infection en tenant compte du poids, nous constatons que des 6 animaux pesant moins de 40 gr tous ont succombé à la suite d'un parasitisme intense qui les a emportés en 7 à 10 jours.

Des 6 ratons pesant de 30 à 35 gr 2 seulement sont morts et des 5 dont le poids était de 36 à 40 gr un seul a succombé.

Quant aux 6 animaux qui au moment de leur mise en expérience avaient un poids dépassant 40 gr tous ont guéri.

Déjà ces résultats devaient nous faire présumer que les animaux adultes resteraient peu susceptibles à l'infection. Nous avons voulu

TABLEAU III.

Désignation des animaux	Date de l'inoculation et origine de l'inoculum	Date de l'apparition des parasites	Décours et durée de l'infection	Résultats
Raton 17	23.IX.53 Sang raton 16 + ±	24.IX.53 +	Bénigne 9 jours	Guérison. Le parasitisme du sang n'a pas excédé + ± 1 ^{er} passage.
Raton 18	idem	24.IX.53 ±	Bénigne 9 jours	Idem.
Raton 19	25.IX.53 Sang raton 16 + + + +	28.IX.53 + ±	Aiguë 8 jours	† Parasitisme intense. Hypertrophie splénique. Urine rosée. Cylindres rares. Rate 3/0,8. 1 ^{er} passage.
Raton 22 26 gr	2.X.53 Sang raton 19 + + + +	5.X.53 + ±	Aiguë 8 jours	† Rate 2,5/0,8. Urine rosée.
Raton 23 37 gr	2.X.53 Sang raton 19 + + + +	5.X.53 + ±	Subaiguë 11 jours	Guérison accompagnée de très forte réticulose.
Raton 24 39 gr	7.X.53 Sang raton 22 + + ±	9.X.53 ±	Subaiguë 9 jours	Guérison accompagnée de très forte réticulose.
Raton 25 40 gr	7.X.53 Sang raton 22 + + ±	9.X.53 + ≡	Bénigne 7 jours	Guérison, parasites restant toujours rares dans le sang.
Raton 26 37 gr	14.X.53 Sang raton 24 + +	16.X.53 ±	Bénigne 9 jours	Guérison. Parasitisme maximum + ±.
Raton 27 45 gr	14.X.53 Sang raton 24 + +	16.X.53 + =	Subaiguë 9 jours	Guérison. Parasitisme + + + jusqu'au 8 ^e jour.
Raton 28 32 gr	21.X.53 Sang raton 27 + + ±	24.X.53 + ±	Aiguë 8 jours	† Rate peu hypertrophiée 2,7/0,6. Foie paludéen.
Raton 29 25 gr	21.X.53 Sang raton 27 + + ±	24.X.53 + ±	Aiguë 8 jours	Rate peu hypertrophiée 2,7/0,6. Foie paludéen.
Raton 30 35 gr	27.X.53 Sang raton 29 + + + +	30.X.53 ±	Très légère 6 jours	Splénectomisé, fait une rechute mortelle.
Raton 31 43 gr	idem	30.X.53 + =	Très légère 4 jours	Idem.

TABLEAU III (suite).

Désignation des animaux	Date de l'inoculation et origine de l'inoculum	Date de l'apparition des parasites	Décours et durée de l'infection	Résultats
Ratton 32 50 gr	idem	30.XI.53 + ≡	Très légère 4 jours	Splénectomisé, fait une rechute bénigne dont il guérit.
Ratton 33 44 gr	6.XI.53 Sang raton 31 + ≡	9.XI.53 + ≡	Aiguë 10 jours	† Rate 2,5/0,5.
Ratton 34 47 gr	7.XI.53 Sang raton 31 ±	10.XI.53 + ≡	Aiguë 9 jours	†
Ratton 35 40 gr	9.XI.53 Sang raton 31 +±	12.XI.53 +±	Aiguë 9 jours	†
Ratton 36 43 gr	12.XI.53 Sang raton 31 +++± après splénectomie	16.XI.53 +++	Subaiguë 11 jours	Guérison. Très forte réaction réticulocytaire.
Ratton 37 47 gr	14.XI.53 Sang raton 35 +++±	ne s'est pas infecté		Réinoculé avec sang raton 38. Fait une infection bénigne.
Ratton 38 39 gr	idem	16.XI.53 +	Aiguë 7 jours	† Rate 3/1.
Ratton 39 31 gr	16.XI.53 Sang raton 33 +++±	19.XI.53 + =	Bénigne 11 jours	Guérison.
Ratton 40 49 gr	18.XI.53 Sang raton 38 +++	21.XI.53 +	Aiguë 9 jours	† Rate 2,6/0,8.
Ratton 41 31 gr	idem	idem	idem	†
Ratton 42 60 gr	23.XI.53 Sang raton 41 ++++	26.XI.53 ±	Très bénigne 7 jours	Maximum parasites +±.
Ratton 43 43 gr	idem	26.XI.53 +±	Subaiguë 15 jours	Guérison. Très forte réticulocytose et apparition de globules rouges nucléés. A fait l'objet d'examens spéciaux.

nous en assurer et en vue de diminuer les réactions défensives nous avons soumis les animaux inoculés à l'action de la Cortisone (*).

Le tableau IV résume ces essais.

L'examen des résultats de cette expérience montre qu'après 10 passages par raton le *Plasmodium vinckei* n'a guère augmenté de virulence pour les rats dont le poids dépasse 40 gr.

Il est vrai que les rats 2, 3 et 5 qui ont reçu du sang d'un 10^e passage sur raton font une infection apparente pauci-parasitaire d'une durée de 4 à 7 jours alors que les animaux témoins 1 et 4 inoculés de sang de souris très riche en parasites ne montrent pas de plasmodiums dans le sang. Il y a semble-t-il bien un gain, mais il est minime.

D'autre part il n'y a aucune différence notable dans l'infection des rats soumis à l'influence de la Cortisone d'avec celle des animaux normaux. Cette constatation vient en confirmation des résultats signalés par H. Galliard et Coll. et ceux obtenus par Schneider et al. en ce qui concerne les infections déterminées par *Plasmodium berghei* et *Pl. vivax*.

Malgré le peu de résultat obtenu après 10 passages nous avons continué nos expériences. Arrivés au 23^e passage nous avons renouvelé l'essai de réceptivité pour les animaux d'un poids dépassant 100 gr.

L'expérience a porté sur 3 rats adultes, deux d'entre eux ont montré de très rares parasites dans le sang pendant 3 jours; le troisième pendant un jour seulement. Ici encore, le gain obtenu est vraiment d'importance minime.

Au moment où nous écrivons cette note, nous sommes arrivés au 36^e passage et continuerons l'essai jusqu'au 50^e sans grand espoir de réussite, car l'allure des infections chez les animaux dépassant 35 gr ne s'est pas modifiée.

Nous en trouvons la démonstration dans l'expérience résumée dans le tableau V.

Dans cet essai nous avons déterminé le nombre de parasites inoculés à chaque animal.

Le donneur, le raton 96 constituait le 33^e passage; son sang était très riche en plasmodiums : 43 % des érythrocytes étant parasités, Chaque rat en expérience a reçu dans le péritoine 2/10es. de cc d'une dilution de sang dans de l'eau physiologique héparinée, contenant 756.800 parasites.

(*) Nous ignorions à ce moment les résultats obtenus par le Professeur Galliard et ses collaborateurs ainsi que ceux que viennent de publier J. Schneider et collaborateurs.

TABLEAU IV.

Désignation des animaux	Date de l'inoculation	Origine de l'inoculation	Date apparition premiers parasites	Décours et durée de l'infection	Résultats	Observations
Rat 1 100 gr	27.XI.53	Sang souris 266 + + + +	—	—	Aucune infection apparente	Les rats 1 à 3 ont reçu du 23.XI au 7.XII une injection quotidienne de 5 mg de Cortisone totalisant 65 mg.
Rat 2 100 gr	Idem	Sang raton 43 + + ± 10 passages	30.XI.53 + ≡	Parasites très rares 4 jours	Survit	
Rat 3 80 gr	Idem	Idem	Idem	Parasites très rares 7 jours	Survit	
Rat 4 85 gr	Idem	Sang souris 266 + + + +	—	—	Aucune infection apparente	Sert de témoin au rat 1.
Rat 5 85 gr	Idem	Sang raton 43 + + ± 10 passages	30.XI.53 + ≡	Bénigne parasitisme 6 jours maximum +	Infection bénigne pauciparasitaire Guérit	Sert de témoin aux rats 2 et 3.
Raton 50 40 gr	30.XI.53	Sang raton 43 + + + +	3.XII.53 ±	Pauciparasitaire 6 jours	Infection bénigne Guérit	Témoins. Constituent 11 ^e passage.
Raton 51 25 gr	Idem	Idem	3.XII.53	8 jours	Subaiguë Guérit	

TABLEAU V.

Désignation des animaux	Date de l'inoculation et origine de l'inoculum	Date de l'apparition des parasites	Décours et durée de l'infection	Résultat
Raton 98 72 gr	30.III.54 Sang raton 96 + + + +	1.IV.54 + ≡	Bénin 9 jours	Survit
Raton 99 60 gr	Idem	Idem	Bénin 8 jours	Survit
Raton 100 34 gr	Idem	Idem	Bénin	Survit
Raton 101 40 gr	Idem	Idem	Bénin 9 jours	Survit

Ainsi que le montre le tableau V, les premiers plasmodiums ont apparu dans le sang dès le 2^e jour après l'inoculation. Mais contrairement à ce que nous attendions, leur augmentation ne fut que très relative et ne dépassa jamais ++ soit 10 parasites par champ microscopique en frottis mince. Tous ont survécu.

Si le parasitisme chez le raton 100 de 34 gr persista plus longtemps que chez les autres, il ne fut pourtant pas plus élevé.

Ce n'est là, au fond, que l'expression de la réceptivité très relative du rat blanc au *Pl. vinckei* dont les infections chez la souris n'atteignent pas aussi régulièrement l'intensité que celles provoquées par *Pl. berghei*.

Avant de terminer il nous faut décrire succinctement l'image hématologique de l'infection chez les animaux pesant de 25 à 30 grammes. A la fin de nos essais, sur un total de 16 ratons de 25 à 30 gr treize ont succombé et 3 ont survécu à l'infection malarienne. Tous avaient reçu dans le péritoine 2 gouttes de sang riche en parasites, contenant en moyenne 1.000.000 de parasites.

Dans ces conditions les premiers plasmodiums apparaissent dans le sang déjà le 2^e jour; ils sont toujours présents au 3^e jour suivant l'inoculation et dès ce moment on peut noter la présence de gamétocytes. Le plus souvent on peut compter alors jusque 10 parasites par champ microscopique en frottis mince.

Chez les animaux qui succombent ils augmentent rapidement; au 5^e jour on peut compter plus de 20 plasmodiums par champ avec de nombreuses formes en division. Au 7^e jour le nombre d'érythrocytes

parasités peut dépasser 50 %. En général les réticulocytes ont augmenté en nombre ainsi que les leucocytes. La mort survient du 7^e au 10^e jour.

Chez les rares animaux qui survivent, l'augmentation des parasites est moins spectaculaire et s'arrête au 6^e ou au 7^e jour pour diminuer rapidement. En même temps s'établit une réticulocytose intense accompagnée de l'apparition de globules rouges nucléés. Le processus de réparation sanguine l'emporte sur la destruction, le pourcentage des réticulocytes parasités restant loin en dessous de celui des normocytes envahis par les plasmodiums. Le phénomène est très analogue à celui qui se produit chez les souris qui surmontent leur infection.

Nous en donnons un exemple ci-dessous :

Raton 43. Poids : 30 gr.

23.XI.53. Reçoit dans le sang 2 gouttes de sang de la queue du raton 41 très riche en plasmodiums + + + +.

26.XI.53. Parasites + ±.

27.XI.53. Parasites + + +.

30.XI.53. Parasites + + + +, très nombreux réticulocytes.

1.XII.53. Parasites + + +, très nombreux réticulocytes, quelques globules rouges nucléés.

2.XII.53. Parasites + ±.

3.XII.53. Parasites ±.

4.XII.53. Parasites +
≡

6.XII.53. 0.

7.XII.53. 0.

9.XII.53. 0.

Le 1.XII.53 le nombre de parasites dans le sang dépasse encore 20 par champ microscopique. Le nombre de globules rouges est tombé à 932.000 par mm³. La proportion des globules rouges basophiles (réticulocytes à divers stades) atteint 58,4 %.

Ces érythrocytes basophiles sont parasités dans la proportion de 23 % alors que les normocytes le sont dans la proportion de 78 %.

L'anisocytose est très prononcée. Le nombre de globules rouges nucléés atteint 4,9 %.

Le dénombrement des leucocytes donne 22.000.

Malgré le parasitisme intense existant au 1.XII.53, l'apparition du grand nombre de réticulocytes nous faisait prévoir la guérison.

Le lendemain 2.XII.53, la diminution des plasmodiums est très notable. Les parasites paraissent souffrir. Le contour plasmatique est mal dessiné, les masses chromatiques des formes adultes ou mi-adultes sont réduites en volume.

Il existe de plus de la phagocytose du pigment malarien par des cellules à grand noyau et peu de protoplasme basophile du type histiocytaire.

Chez les animaux dépassant 30 gr ce processus est fréquent et chez les rats dépassant 35 g il est presque de règle. La réticuloose est précoce et intense; elle s'accompagne de la diminution des plasmodiums.

Un fait enfin qui nous paraît encore digne d'être signalé c'est l'influence qu'eût la splénectomie sur l'infection avortée de 3 rats au cours de l'expérience qui constituait le 6^e passage. Craignant de perdre les parasites pour effectuer le 7^e passage nous avons pratiqué la splénectomie qui fut suivie de rechute de l'infection, ainsi que le montre le détail de cet essai relaté ci-dessous.

TABLEAU VI.

Date des examens successifs du sang	Désignation des animaux inoculés le 27.X.53 de 2 gouttes de sang du raton 29 avec Plasmodiums +++			Observations
	Rat 30 35 gr	Rat 31 43 gr	Rat 32 60 gr	
30.X .53	±	+	+	Les rates enlevées étaient manifestement légèrement hypertrophiées. Dans les frottis par apposition nous n'avons pas trouvé de parasites.
31.X .53	+	+	+	
2.XI.53	+	0	0	
3.XI.53	≡	Splénectomisés		
4.XI.53	0	0	0	
5.XI.53	0	+	0	
6.XI.53	0	≡	0	
7.XI.53	0	+	0	
9.XI.53	0	±	0	
10.XI.53	—	±	—	
12.XI.53	+	+++±	+	
13.XI.53	≡	+++±	±	
14.XI.53	+	+++±	—	
16.XI.53	±	++++	++	
18.XI.53	+++±	†	+++	
19.XI.53	++++		±	
21.XI.53	†		≡	
23.XI.53			0	
25.XI.53			0	
27.XI.53			0	

Survit.

Ces résultats sont très comparables à ceux que nous avons obtenus avec le *Plasmodium berghei* chez le « cotton rat » et ceux connus chez le rat adulte avec le même hématozoaire. Ils montrent une fois de plus le rôle de la rate dans la défense contre les parasites paludéens.

Résumé et conclusions. — 1° Les jeunes rats de moins de 30 grammes sont réceptifs à l'infection déterminée par le *Plasmodium vinckei*. Ils font un paludisme aigu auquel ils succombent dans des proportions atteignant 90 %.

Cette léthalité diminue fortement dès que le poids des animaux dépasse 30 grammes et devient exceptionnelle chez les rats de 40 grammes.

2° Chez les rats mi-adultes splénectomisés l'infection peut prendre un caractère aigu entraînant la mort ou évoluer d'une manière subaiguë aboutissant à la guérison.

3° Après 33 passages successifs par ratons, la réceptivité des rats adultes au parasite n'a subi qu'une modification insignifiante, le parasitisme reste très faible et de courte durée. La splénectomie peut en modifier le décours.

Samenvatting en besluiten. — 1° De jonge ratten van minder dan 30 g zijn vatbaar voor de besmetting veroorzaakt door *Plasmodium vinckei*. Ze maken een acute malaria door, waaraan ze bezwijken in een verhouding die 90 % kan bereiken.

Deze sterfte vermindert sterk zodra het gewicht van de dieren 30 g overtreft en ze komt slechts bij uitzondering voor bij ratten van 40 g.

2° Bij de half-volwassen gesplenectomiseerde ratten kan de besmetting een acuut karakter aannemen dat de dood voor gevolg heeft, ofwel kan ze zich op een minder acute wijze ontwikkelen en eindigen met genezing.

3° Na 33 opeenvolgende « passages » bij jonge diertjes, heeft de vatbaarheid van de volwassen ratten voor de parasiet slechts een onbeduidende verhoging ondergaan; het parasitisme blijft zeer zwak en van korte duur. De splenectomie kan het verloop in een acuut stadium veranderen.

Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, Anvers.
Directeur : A. Dubois.

BIBLIOGRAPHIE.

1. Coradetti. — Particolari fenomeni immunitari nell'infezione da *Pl. berghei*. (Vincke & Lips.) Riv. di Malariol, 1950, 29, 349-356.

2. Galliard, H. & Lapiere, J. — Infection à *Plasmodium berghei* chez le rat blanc. Bull. Soc. Path. Exot., 1951, 44, 185-194.
3. Galliard, H., Lapiere, J., La-rivière, M. & Berdonneau, R. — Cortisone et hormone corticotrope (ACTH) dans les parasitismes à protozoaires sanguicoles. C. R. Académie des Sciences, 1953, 236, pp. 1308-1310.
4. Rodhain, J. — La spécificité biologique du *Plasmodium vinckei* Rodhain. Ann. Inst. Past., 1953, 84, p. 672.
— Le comportement du « cotton rat » vis-à-vis du *Plasmodium berghei*, Vincke & Lips. Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 1949, 29, 483; et 1951, 31, 289.
5. Schneider, J. — Cortisone et paludisme. Action nulle dans des essais sur *Pl. berghei*, *Pl. gallinaceum* et *Pl. vivax*. Bull. Soc. Path. Exot., 1953, 46, 1016.