REVUE CRITIQUE

SUR LES RAPPORTS DES PLASMODIES PALUDIQUES ET DES PIROPLASMES AVEC LES RÉTICULOCYTES

Par H. SIMONS

Autant que j'ai pu m'en rendre compte en passant en revue la bibliographie, il n'y a, en dehors des plasmodies du paludisme de l'homme et des singes, aucun autre groupe de protozoaires parasites des hématies dont on ait recherché les rapports avec les réticulocytes, afin de savoir s'ils parasitent ces éléments ou non.

Comme l'a montré brièvement P. Nicolle (1937), on confond très souvent, dans la littérature hématologique, les réticulocytes avec les cellules du système réticulo-endothélial, ainsi que les termes réticulose et réticulocytose. Il n'est donc peut-être pas inutile de définir d'abord clairement les réticulocytes : ce sont des hématies immatures renfermant une « substance granulo-filamenteuse » (Israel et Pappenheim 1894, Césaris-Demel 1907) ; on les a nommées autrefois hématies granulo-réticulo-filamenteuses (Sabrazès 1910), hématies granuleuses, granulofilocytes (Moldawsky 1929), etc. Le terme plus bref : *réticulocytes*, est dû à Krumbhaar (1922). On sait maintenant que les réticulocytes jouent un rôle très important dans les processus de régénération après anémies primaires ou secondaires et après les hémorragies.

Laur (1932) donne, pour le sang normal de l'homme, la proportion de 0,3 à 0,8 réticulocytes pour 100 hématies. Trachtenberg arrive aux proportions de 0,3 à 1,45 p. 100 chez l'homme et de 0,35 à 1,45 p. 100 chez la femme ; Brückner (1929) trouve 0,1-0,5 p. 100 chez 50 individus sains ; P. Nicolle (1936) pour l'homme 0,2 à 1 p. 100, pour le lapin adulte environ 3 p. 100, pour le cobaye 2,5 à 3 p. 100, pour le rat 3-4 p. 100, tandis que ces éléments n'existent pas chez le taureau, la vache et l'âne adulte. Chez les veaux nouveau-nés, on trouve 0,5 p. 100 de réticulocytes. Pour se docu-

menter rapidement et à fond sur la question des réticulocytes, on lira avec fruit les monographies de Laur (1932) et de Nicolle (1936).

D'après les renseignements que j'ai pu obtenir, l'observation la plus ancienne concernant les rapports des plasmodies du paludisme avec les réticulocytes est celle de Sabrazès (1910), chez un marin ayant contracté en Afrique occidentale un paludisme à *Plasmodium falciparum* et qui n'avait jamais été traité par la quinine. Il y avait environ 3 p. 100 de réticulocytes et ceux-ci n'étaient jamais infectés, bien que les parasites aient été si nombreux que Sabrazès écrit : « ...le sang recélait énormément d'hématozoaires endoglandulaires. Les schizontes en anneau... étaient si nombreux, que nous comptions plusieurs et parfois une dizaine par champ d'immersion ».

Les autres données de la littérature sont contradictoires. Nocht et Mayer (1918, cités par Malamos) disent, sans fournir de chiffres, que les parasites du paludisme attaquent aussi les réticulocytes. Récemment (1936), ces deux savants n'ont pas accordé aux réticulocytes une affinité particulière pour les parasites. Leurs indications, qui n'ont trait qu'à la tierce bénigne, sont les suivantes : « Habituellement, ce sont les hématies mûres qui sont attaquées par les parasites, mais ceux-ci peuvent aussi pénétrer, quand ils ont l'occasion dans les formes jeunes. Les hématies polychromatophiles et basophiles, ainsi que les hématies nucléées, peuvent être parasitées. » Eaton (1934) et Jacobsthal (1936) affirment que ces parasites pénètrent de préférence dans les réticulocytes. Eaton explique, dans la tierce bénigne, que les réticulocytes seuls sont sensibles aux plasmodies et que tout ce qui augmente le nombre des réticulocytes doit favoriser l'extension du paludisme. Dans un cas, il trouve 20 p. 100 des réticulocytes et seulement 1,8 p. 100 des hématies mûres parasitées, dans quatre autres cas 20 à 50 p. 100 des réticulocytes parasités. Jacobsthal va plus loin encore puisqu'il trouve au Guatemala presque 95 p. 100 des réticulocytes parasités. Shushan, Blitz et Adams (1937) affirment que les parasites de la tierce ont une préférence pour les réticulocytes, tandis que *Plasmodium falciparum* parasite plutôt les hématies adultes. Le cas intéressant de Yang et Berglund (1929), avec 23 p. 100 de réticulocytes parasités dans la tierce bénigne, ne donne malheureusement aucun détail sur le comportement des parasites dans ces éléments.

Récemment, Hegner (1938) a publié une étude approfondie sur l'attaque des réticulocytes et des normocytes par les trois plasmodies humaines et par le *Plasmodium knowlesi* du *Macacus rhesus*. Hegner soutient très énergiquement que les parasites annulaires se rencontrent de préférence dans les réticulocytes. Ce

serait surtout le cas du *Plasmodium vivax*, puis de *P. falciparum* et de *P. malariae*, tandis que *P. knowlesi* attaquerait également les normocytes et les réticulocytes. Hegner en donne la preuve par un tableau dans lequel il introduit la notion de « fréquence relative » des parasites dans les réticulocytes. Sous le nom de « fréquence relative », il comprend le nombre qui représente combien de fois il y aurait plus de réticulocytes parasités que des normocytes, si les deux éléments étaient en quantité égale. Les valeurs de fréquence relative ainsi calculées sont mathématiquement fausses, parce qu'elles méconnaissent totalement le problème parasitologique. Il s'agit très nettement de savoir « comment se comporte une quantité donnée de plasmodies (à l'état de sporozoïtes ou de mérozoïtes) vis-à-vis d'un mélange de normocytes (N) et de réticulocytes (R) ». Une préférence pour les réticulocytes est donc très simplement définie par le fait que plus de 50 p. 100 des parasites pénètrent dans ces éléments. S'il en pénètre 100 p. 100, c'est une sélectivité absolue pour les réticulocytes. Le calcul de la sélectivité pour les réticulocytes par la « fréquence relative » (Hegner), tel qu'il a été employé par Schüffner et de Graaf (1937) et tout récemment par Kitchen (1938), est entièrement faux. Le pourcentage d'infection des hématies mûres (normocytes) doit être normalement inférieur à celui des réticulocytes, parce que les parasites ont en face d'eux beaucoup plus de normocytes que de réticulocytes. La pénétration des parasites (P) dans les réticulocytes (R) est définie uniquement par le rapport R/P, c'est-à-dire par le nombre qui indique combien il y a de fois plus de réticulocytes que de parasites sous la forme de sporozoïtes (ou mérozoïtes) : de même la valeur R/N est le nombre qui indique combien il y a de fois plus d'hématies mûres (normocytes) que de réticulocytes.

J'ai calculé cette valeur R/P d'après les tableaux donnés par les auteurs susnommés. Kitchen a, comme premier auteur, donné une longue série d'observations portant sur deux cas de tierce bénigne, tandis que les autres n'ont qu'une observation pour quatre espèces de plasmodies (Hegner) ou seulement une observation par malade (Schüffner et de Graaf). Le tableau de ces derniers auteurs présente malheureusement quelques grosses erreurs de calcul dont la démonstration nous entraînerait trop loin.

Si nous étudions maintenant les résultats de ces quatre auteurs par le calcul du pourcentage correct de sélectivité pour les réticulocytes, conformément à la définition donnée plus haut, nous pouvons prouver qu'en réalité toute une partie de leurs cas ne présente aucune sélectivité. Ainsi le tableau de Schüffner et de Graaf (tierce

bénigne) montre que dans le cas 3 S. il n'y a que 10,2 p. 100 ; dans le cas 5 Lg. il n'y a que 1,9 p. 100 ; dans le cas 6 S. v. Z. il n'y a que 15,7 p. 100 et dans le cas 7 Sr. seulement 16 p. 100 de l'ensemble des parasites ayant envahi les réticulocytes. Les deux cas de tierce maligne et un cas de tierce bénigne à la p. 562 présentent 7,4, 10,4 et 53,3 p. 100 de tous les parasites dans les réticulocytes. Parmi ces 7 cas de paludisme, il n'y a qu'un seul cas de tierce bénigne qui montre une très légère préférence absolue de 53,3 — 50 = 3,3 p. 100, tandis que le calcul incorrect de la fréquence relative prouverait une sélectivité pour ces 7 cas. Pour Hegner, on peut extraire ces chiffres directement de son tableau 1, 7^e rangée. Le cas de tierce bénigne montre seul une forte préférence pour les réticulocytes, avec 89 — 50 = 39 p. 100, tandis que pour *P. falciparum*, *P. malariae* et *P. knowlesi* il n'y a que 4, 11 et 0,83 p. 100 du nombre total de parasites qui présentent une sélectivité pour les réticulocytes. Hegner commet en outre l'erreur considérable de prendre les chiffres de Malamos (1937) pour l'infection des réticulocytes par *P. falciparum* et *P. vivax* comme un pourcentage, alors que, dans le texte original, il est dit expressément : « compté pour mille sur 1.000 parasites ». Hegner arrive ainsi à une comparaison complètement fautive avec ses chiffres.

Kitchen a obtenu de tout autres résultats. Dans son cas 232, avec 22 jours d'observation, on voit 19 fois pénétrer dans les réticulocytes plus de la moitié de toutes les plasmodies (57,0-98,5 p. 100) ; 3 fois il n'y a pas de préférence (18,6, 25,5 et 42,6 p. 100). Le cas 233, avec 23 jours d'observation, montre 15 fois une sélectivité pour les réticulocytes avec 51,7-100 p. 100 du total des parasites, tandis que 8 fois il n'y a aucune préférence (9,8-50 p. 100). Le cas de Kitchen avec 51,7 p. 100 et celui de Schüffner et de Graaf avec 53,3 p. 100 sont très près de la limite de la préférence absolue pour les réticulocytes. Aussi, à cause des très grandes sources d'erreur qu'on rencontre dans la numération des réticulocytes, on peut au moins considérer ces résultats comme douteux. Déjà Davidson (1931), dans ses recherches classiques sur la substance basophile des hématies, a fait remarquer que les réticulocytes manifestent une grande adhérence au verre. Aussi peut-il arriver : « qu'on peut trouver des amas de 100 cellules; par exemple, sans un seul réticulocyte, cependant qu'en un autre point du champ on peut voir 3 ou 4 réticulocytes pour 30 à 40 cellules » (p. 137). Pour éviter ces erreurs, il faut effectuer la numération dans des champs aussi éloignés que possible les uns des autres.

Brückner (1929) et son collaborateur Spatz (cité par Brückner)

ont rendu le grand service de découvrir combien la mise en évidence des réticulocytes dépend de l'emploi de divers colorants et de leur pH, de la température et surtout de la durée de la dessiccation à l'air, les résultats pouvant être très différents le même jour et pour la même goutte (!) de sang. Un chercheur qui travaille sur les réticulocytes ne doit pas ignorer les travaux techniques fondamentaux de Brückner, ni ceux de Klima et Rosegger (1934) et de Spiridonovitch (1923), travaux qui, malheureusement, sont restés jusqu'ici inconnus des malariologues. Il en est de même pour le travail si important de Ramsey et Warren (1933) qui, à la suite de recherches statistiques, rejettent complètement la coloration à sec des réticulocytes.

Il est surprenant que la sélectivité pour les réticulocytes présente des valeurs beaucoup plus élevées chez Hegner et surtout chez Kitchen que chez Schüffner et de Graaf. En se basant sur les recherches de Brückner, on peut avec sûreté en trouver la cause dans la différence des techniques employées par ces auteurs. Hegner colore à sec avec le bleu crésyl brillant et le Giemsa ; Schüffner et de Graaf opèrent de même dans deux cas, mais colorent en chambre humide dans 7 autres cas. Kitchen emploie la coloration de Wright. Comme nous savons par Brückner qu'on obtient à pH 6,6-7 et en atmosphère saturée de vapeur d'eau « la plus grande quantité d'hématies granuleuses » colorables vitalement (p. 432), le travail de Schüffner et de Graaf qui remplit ces conditions me paraît présenter le maximum de certitude. Ils ont ainsi trouvé par leur méthode le maximum de réticulocytes, par conséquent aussi de réticulocytes non parasités, et sont arrivés à une faible valeur de préférence pour ces éléments. Ces auteurs, de même qu'auparavant Rodenhuis (1921), ont reconnu que pour la tierce bénigne les procédés à sec sont très incertains. Il faut donc faire les plus grandes réserves au sujet des résultats d'Hegner et de Kitchen. Du reste, chez ce dernier auteur, le nombre énorme d'infections doubles fait tout de suite penser qu'il a eu deux ou même plusieurs générations de parasites, étant donné surtout que ses deux malades n'ont jamais été traités par la quinine ou autres médicaments pendant les 50 et 54 jours employés aux recherches. Il faut ici faire ressortir la remarque faite par Hingst (1938) que, dans la tierce bénigne, une quantité relativement faible de plasmodies sporulent dans le sang périphérique et que le maximum de production des mérozoïtes a lieu dans les organes internes et dans la moelle osseuse. Il arrive ainsi continuellement dans le sang périphérique de nouvelles cellules, dont un nombre relativement élevé de réticulocytes (surtout dans les phases de régénération après

plusieurs accès) qui peuvent déjà être parasités par une ou plusieurs autres générations de mérozoïtes. Il faut noter aussi le fait établi par Young et Osgood (1935) que, dans la moelle osseuse, le pourcentage des réticulocytes est à peu près le double de celui du sang.

En faveur de la sélectivité des réticulocytes, on ne peut pas, comme le fait Hegner, admettre avec Craik (1920) (1) ou Roberts (1922) que les réticulocytes sont moins résistants que les hématies mûres (normocytes). On peut, à ce sujet, trouver, par exemple, l'affirmation contraire chez Zucker et Kesten (1928). Des recherches personnelles, encore inédites, au moyen du taurocholate de bleu de méthylène, en donnent une confirmation.

Malamos (1937), à Hambourg, n'a pu confirmer les résultats d'Eaton et Jacobsthal ni pour les *P. vivax* et *P. falciparum* ni pour les *P. knowlesi* et *P. cynomolgi* du singe. Il a trouvé, dans deux cas de tierce bénigne, de 4 à 5 p. 100 de réticulocytes infestés avec les stades les plus variés ; dans trois cas de tierce maligne, de 0 à 0,5 et 4,5 p. 100 avec seulement des anneaux ; pour *P. knowlesi* 0,2 à 1,4 p. 100 ; pour *P. cynomolgi* 0 p. 100. Greig (1938) a confirmé, par son expérience personnelle, les observations de Malamos. Sydentricker et Vryonis (1935) ont vu, après traitement quinquinique et en employant la coloration vitale au bleu de crésyl-brillant, les jeunes anneaux de *P. vivax* et de *P. falciparum* pénétrer dans les hématies non réticulées.

Baserga (1937) et tout récemment Hingst (1938) refusent toute sélectivité des réticulocytes pour le *Plasmodium vivax*. Pour Hingst l'attaque des réticulocytes par les plasmodies dépend de la « loi des moyennes », et c'est aussi mon avis.

Je me propose de traiter au point de vue mathématique tout le problème des réticulocytes dans le paludisme dans un travail plus détaillé, surtout en utilisant les données de Kitchen et probablement de Schüffner et de Graaf. J'ai aussi l'intention de m'étendre sur les questions hématologiques et physiologiques qui s'y rattachent ainsi que sur le problème des infections doubles.

En ce qui concerne les piroplasmes, on ne trouve ni dans les monographies classiques de Schuberg et Reichenow (1912), de Vélú (1922), ni dans les monographies plus récentes de Lestoquard (1936), aucune donnée sur ce thème. Donatien (1926) dit simplement dans son *Diagnostic des piroplasmoses* que « le nombre des hématies parasitées parfois extrêmement faible peut atteindre

(1) A ce sujet, Craik a traité expérimentalement ses malades atteints de tierce bénigne par une préparation de plomb qui devait agir d'une manière non contrôlable sur la résistance des réticulocytes.

100 p. 100 » (p. 26). On peut en conclure indirectement que les réticulocytes peuvent aussi être parasités par les piroplasmes, en supposant que Donatien considère le chiffre 100 p. 100 comme réellement précis. Néanmoins, il faut de nouveau considérer que d'après les observations de P. Nicolle (1936, p. 2), les taureaux et vaches adultes n'ont pas de réticulocytes et que Donatien, au cas où il en serait de même dans la piroplasmose des bovidés, n'aurait vu que des hématies adultes infectés dans la proportion de cent pour cent.

Les choses étant en cet état, j'ai eu la bonne fortune de pouvoir étudier, dans le laboratoire du Prof. Brumpt et grâce à son aimable permission, trois cas de piroplasmose expérimentale dans leur rapport avec les réticulocytes. Le premier cas a trait à un chien, qui mourut d'une infection expérimentale extraordinairement intense à *Piroplasma canis* ; l'autre à un jeune taureau ayant une forte infection double à *P. bigeminum* et *P. argentinum*. Le taureau mourut aussi, mais son autopsie montra que la cause de la mort était un morceau de fil de fer qu'il avait avalé, qui avait traversé l'estomac, pénétré dans le péricarde et amené la mort de l'animal par septicémie secondaire. Le troisième cas a trait à un chien infecté par *Piroplasma gibsoni*, porteur d'assez nombreux parasites et atteint d'une forte anémie, qui vivait encore au moment de mes recherches.

J'ai pu examiner le sang du chien à *Piroplasma canis*, immédiatement avant et immédiatement après la mort (sang du cœur) ; dans ce dernier cas, j'ai pu examiner aussi le sang des reins. J'ai étudié le sang périphérique du taureau quelques heures avant sa mort et le matin qui a suivi sa mort, arrivée dans la nuit (sang du cœur et des reins). Quant au chien à *P. gibsoni*, je l'ai examiné à un moment où il commençait à se remettre un peu de son anémie grave, mais où il présentait encore d'assez nombreux parasites.

Dans ces trois cas de piroplasmose, le résultat remarquable a été qu'aucun réticulocyte ne renfermait de piroplasmes. Le cas le plus frappant est le chien à *P. canis*, chez lequel, dans les préparations ordinaires au Giemsa, on trouvait environ une hématie parasitée sur 4 ou 5 et renfermant plusieurs parasites et chez lequel le pourcentage des réticulocytes était très élevé.

Le fait que j'ai trouvé aussi des réticulocytes chez le taureau montre que les constatations négatives citées plus haut de P. Nicolle s'expliquent parce que cet auteur n'a examiné que des vaches et des taureaux normaux. Par suite de l'anémie causée par les piroplasmes, et peut-être à cause de la septicémie secondaire produite par la blessure par le morceau de fil de fer, on peut penser qu'il y a

eu une mise en circulation d'une masse de réticulocytes dans le sang aux dépens de la moelle osseuse.

Chez le chien à *Piroplasma canis*, la numération directe des réticulocytes avec la cellule à compter a donné 22,6 p. 100, tandis que le sang des reins n'a donné que 4,8 p. 100 (chiffres rapportés au nombre total des hématies fourni par une deuxième numération).

Le taureau avait moins de 0,5 p. 100 réticulocytes dans le sang périphérique (ce qui correspond à peu près aux chiffres de P. Nicolle pour les veaux nouveau-nés) et encore bien moins dans le sang des reins. Par suite de cela, j'ai abandonné la numération directe et j'ai compté sur les frottis. Pour le chien à *Piroplasma canis*, les chiffres de réticulocytes trouvés par numération directe et par numération sur frottis correspondaient bien. Pour le chien à *P. gibsoni*, je n'ai malheureusement pu faire aucune numération de réticulocytes. Il en avait pourtant bien moins que l'autre chien, mais notablement plus que le taureau.

Pour mettre en évidence les réticulocytes, j'ai employé surtout des préparations fraîches, exécutées au moyen de ma méthode au bleu de méthylène à la saponine. Cette méthode a été récemment décrite (1938) et j'ai publié dans ces *Annales* (1938) une note complémentaire dans laquelle j'ai démontré son utilité particulière pour le diagnostic rapide des piroplasmes et des réticulocytes.

Je mélange sur une lame une anse de sang frais (de 2 mm. de diamètre) avec 4-6 anses de colorant (ou bien je traite de la même manière le sédiment du sang lavé par la solution physiologique), puis je dépose une lamelle et j'examine d'abord avec un fort objectif à sec, puis à l'immersion. En outre, j'examine des frottis *non fixés* de sang frais et de sang sédimenté par centrifugation. Je laisse les frottis sécher à l'air pendant quelques minutes puis je les recouvre avec une lamelle sur laquelle j'ai préalablement déposé une petite goutte de bleu à la saponine. Cette technique a été indiquée d'abord par Sabrazès (1908) pour sa solution aqueuse de bleu de méthylène à 1/500, puis décrite en 1912 par Schilling-Torgau, qui n'avait pas eu connaissance de la publication de Sabrazès.

Mon procédé d'hémolyse par le bleu à la saponine donne des images beaucoup plus claires parce qu'il agit en solution isotonique et non en milieu hypotonique. Les réticulocytes sont très distinctement colorés et leur coloration, de même que celle des leucocytes, des thrombocytes et des parasites, se produit instantanément.

Occasionnellement, j'ai étudié aussi la coloration complémentaire par le Giemsa. Pour cela, j'étale sur la plus petite surface possible de la lame une ou deux anses du mélange indiqué plus haut

de colorant avec du sang frais ou sédimenté. Je laisse sécher à 25-28°, je fixe pendant une minute par l'alcool méthylique, je lave à froid à l'eau distillée et je colore pendant 30-40 minutes par la dilution ordinaire de Giemsa. Les réticulocytes ne sont pas si bien conservés que dans les préparations fraîches ou dans les frottis ; pourtant, ils sont suffisamment colorés pour permettre de rechercher s'ils renferment éventuellement des parasites. Les piroplasmes sont généralement plus arrondis que dans les préparations ordinaires au Giemsa ; il en résulte que le contraste entre le protoplasme et le noyau est beaucoup plus net.

Je dois bien insister ici sur ce que je ne considère comme décisives ni les colorations complémentaires par le Giemsa, ni surtout les doubles colorations, quelles qu'elles soient, lorsqu'on veut rechercher si des plasmodies ou des piroplasmes pénètrent ou non dans les réticulocytes. Il me semble qu'on courra le danger que la coloration vitale agisse comme mordant, par exemple pour le Giemsa et qu'ainsi on mette en évidence des structures qui n'ont rien de commun avec la substance granulo-filamenteuse des réticulocytes colorable vitalement. Déjà Jacobsthal, ainsi qu'Eaton et Hegner, un des principaux partisans de la pénétration sélective des plasmodies dans les réticulocytes, convient lui-même que dans sa coloration « tous les réticulocytes ne sont pas mis en évidence avec une absolue certitude ». Pour sa double coloration, il a employé successivement le bleu de Löffler et le colorant de Giemsa. Lui-même soupçonne que le bleu de Löffler pourrait agir comme mordant pour le Giemsa ; il écrit : « Il est surprenant que la coloration de Giemsa soit si rapide ; cela provient vraisemblablement d'un mordantage par le bleu de Löffler. » Je ne crois pas impossible qu'Hegner ait été aussi victime de confusion due à sa double coloration par le bleu de crésyl-brillant et le Giemsa. Il conseille lui-même la prudence et dit au sujet des constatations de Jacobsthal : « Le haut pourcentage des parasites dans les réticulocytes est surprenant si on le compare avec les résultats des autres investigateurs, spécialement de ceux qui ont étudié *P. falciparum*. En étudiant ces espèces, il est nécessaire d'avoir présente à l'esprit l'existence des granulations de Schüffner et des taches de Maurer qui peuvent être confondues avec la substance réticulaire. Voici les résultats des recherches actuellement en train que j'ai entreprises avec le prof. agrégé Mollaret à l'Hôpital de la Salpêtrière sur les paralytiques généraux soumis à la malariathérapie : nous avons étudié jusqu'ici, au moyen de ma méthode au bleu à la saponine, trois malades inoculés avec la tierce bénigne et non traités par la

quinine. Nous nous sommes basés sur la division, due à Moldawsky (1929), admise aussi plus tard par Grodnitzky (1930), des réticulocytes en trois groupes (pseudo-nucléés, forme réticulaire, forme granuleuse). Or, nous n'avons jamais vu de formes annulaires ou de formes amiboïdes dans les réticulocytes des deux premiers groupes. Nous avons vu le troisième groupe parasité occasionnellement, mais la finesse remarquable des granulations nous a porté à soupçonner qu'il s'agissait plutôt de ponctuations basophiles ou plus vraisemblablement de granulations de Schüffner. En aucun cas, dans notre observation, ce troisième groupe très douteux des « réticulocytes granuleux » n'a présenté un parasitisme « sélectif » de la part des plasmodies.

Dans les trois piroplasmoses citées plus haut, ce troisième groupe de réticulocytes n'a jamais été parasité chez les deux chiens ; le deuxième groupe était le plus fréquent, mais toujours libre de parasites ainsi que le premier. Chez le taureau, je n'ai trouvé aucune forme pseudo-nucléée ; quant aux deux autres groupes de réticulocytes, ils n'étaient, comme nous l'avons dit plus haut, jamais parasités.

RÉSUMÉ

1° La notion numérique théorique, introduite par Schüffner et de Graaf, Hegner et Kitchen, de « fréquence relative » des plasmodies dans les réticulocytes, est à rejeter comme source d'erreur, parce qu'elle est *mathématiquement* inexacte. La sélectivité des plasmodies vis-à-vis des hématies mûres et immatures ne peut théoriquement être représentée que par le pourcentage de la totalité des parasites qui ont pénétré dans les deux catégories de cellules. Il n'y a préférence que si plus de 50 p. 100 des parasites se trouvent dans une des sortes de cellules. Si on calcule ainsi les données récentes des chercheurs qui affirment une préférence pour les réticulocytes, on trouve, chez Schüffner et de Graaf, sur 7 cas (dont deux à *P. falciparum*), un seul cas douteux (tierce bénigne), chez Hegner, sur 4 cas, un seul cas (tierce bénigne), et chez Kitchen, sur 55 observations (ayant trait à deux cas de tierce bénigne), seulement 44 fois une préférence arithmétiquement certaine. Chez Hegner et Kitchen, on trouve des fautes de technique déjà connues par Rodenhuis et par Schüffner et de Graaf. Chez Kitchen, le nombre si élevé d'infections doubles et l'absence de traitement de ses deux malades pendant 50 et 54 jours, porte à croire qu'il a rencontré deux ou plusieurs générations de parasites.

La répartition des plasmodies dans les deux catégories d'hématies (mûres et immatures) dépend du rapport R/P, c'est-à-dire du nombre qui exprime combien il y a de fois plus de réticulocytes que de parasites sous la forme de mérozoïtes, et aussi du rapport R/N, c'est-à-dire du nombre qui exprime combien il y a de fois plus de normocytes (hématies mûres) que de réticulocytes.

2° En nous basant sur la classification des réticulocytes, de Mol-dawsky-Grodnitzky, en formes pseudo-nucléées, réticulaires et granuleuses, le prof. agrégé Mollaret et moi avons trouvé, dans trois cas de tierce bénigne non traitée, en employant la méthode saponine-bleu de méthylène (Simons), qu'il n'y avait jamais de parasites dans les deux premiers groupes. Les formes granuleuses se sont montrées très rarement parasitées, mais la finesse des granulations nous a amené à soupçonner qu'il s'agit, dans ce cas, de granulations basophiles, ou, plus vraisemblablement, de granulations de Schüffner.

3° La proposition de Malamos : « Il ne peut être question d'une préférence spéciale des parasites du paludisme pour les réticulocytes », est confirmée. Les constatations de Malamos ne sont pas compatibles avec celles d'Hegner, car ce dernier a lu par erreur pour cent au lieu de pour mille.

4° Trois cas de piroplasmose expérimentale (un chien à *Piroplasma canis*, un chien à *P. gibsoni* et un jeune taureau avec une infection double à *P. bigeminum* et *P. argentinum*), examinés avec la méthode de Simons au bleu de méthylène-saponine, n'ont jamais montré de parasitisme dans les réticulocytes. L'état entièrement réfractaire des réticulocytes vis-à-vis de *P. canis* est particulièrement frappant, parce que le chien présentait une très forte réticulocytose (22,6 p. 100) et parce que dans les préparations au Giemsa, examinées à l'immersion, presque chaque 4-5 hématie est en partie remplie par plusieurs parasites.

Bien entendu, on ne peut encore tirer aucune loi de ces trois cas. Ils prouvent pourtant que, dans certains cas, les piroplasmes (peut-être tous ?) paraissent très nettement fuir les réticulocytes, et que les plasmodies du paludisme de l'homme et des singes, suivant les observations de Sabrazès, Malamos, Greig, Sydenstricker et Vryonis, Nocht et Mayer (1936), Baserga, Hingst, Mollaret et Simons, etc., ne manifestent pas une préférence spéciale pour ces éléments.

5° Avant de reprendre de nouvelles recherches, tous les malarialogues qui s'intéressent au problème des réticulocytes doivent étu-

dier soigneusement les très importantes recherches techniques de Davidson, Klima et Rosegger, Spiridonovitch, et avant tout de Brückner. Il faut aussi tenir compte des observations statistiques de Ramsey et Warren sur la supériorité de la technique humide pour la mise en évidence des réticulocytes.

6° L'auteur prépare un mémoire plus détaillé dans lequel il doit analyser mathématiquement les tableaux de Kitchen et probablement de Schüffner et de Graaf et d'Hegner. Il doit aussi traiter des questions d'hématologie et de physiologie, ainsi que le problème des infections doubles.

BIBLIOGRAPHIE

- BASERGA (A.). — Sull'infestazione dei reticulociti da parte dei plasmodi della malaria. *Riv. di malariol.*, XVI, 1937, p. 38-41.
- BRUECKNER (H.). — Ueber die Bedeutung der « Vitalfaerbung » fuer die Diagnose der Bleivergiftung. *Arb. kaiserl. Gesundh. Amt*, LX, 1929, p. 421-429.
- Arbeiten ueber die basophile Substanz in den jugendlichen roten Blutkörperchen. III. Ueber die Wirkung der Fixierung und ueber den Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration der Farbloesungen auf die Darstellbarkeit der basophilen Substanz. *Arb. kaiserl. Gesundk. Amt*, LX, p. 430-441.
- CÉSARIS-DEMEI (A.). — Studien ueber die roten Blutkoerperchen mit den Methoden der Faerbung im frischen Zustande. *Folia Haematol.*, IV, Suppl. 1, 1907, p. 1-32.
- CRAIK (R.). — A note on the erythrocytes in malaria: *Lancet*, XCVIII, 1920, p. 1110.
- DAVIDSON (L.-S.-P.). — La substance basophile de l'érythrocyte. *Le Sang*, V, 1931, p. 129-162.
- DONATIEN (A.). — *Le diagnostic des piroplasmoses*, Alger, 1926, pp. 70.
- EATON (P.). — Susceptibility of red cells to malaria. A preliminary note. *Amer. Journ. Trop. Med.*, XIV, 1934, p. 431-37.
- GREIG (E.D.W.). — Analyse de la publication de Malamos. *Trop. Dis. Bull.*, XXXV, 1937, p. 27.
- GRODNITZKY (B.). — *La substance granulo-filamenteuse des hématies : sa coloration vitale : sa valeur diagnostique et pronostique*. Thèse de médecine, Paris, 1930.
- HEGNER (R.). — Relative frequency of ring-stage plasmodia in reticulocytes and mature erythrocytes in man and monkey. *Amer. Journ. Hyg.*, XXVII, 1938, p. 690-718.
- HINGST (H.-E.). — Erythrocyte Susceptibility to *Plasmodium vivax* Grassi and Feletti, 1890. *Amer. Journ. Trop. Med.*, XVIII, 1938, p. 361-372.
- ISRAËL et PAPPENHEIM. — Ueber die Entkernung der Saeugetiererythroblasten. *Virchow's Arch.*, CXLIII, 1892, p. 419.
- JACOBSTHAL (E.). — Die Infektion der Retikulozyten durch Malariaplasmodien. *Klin. Wochschr.*, XV, 1936, p. 942.

- KITCHEN (S.-F.). — The infection of reticulocytes by *Plasmodium vivax*. *Amer. Journ. Trop. Med.*, XVIII, 1938, p. 347-359.
- KLIMA (R.) et ROSEGER (H.). — Untersuchungen ueber die Faerbbarkeit, Resistenz und Formeigenheiten der menschlichen Reticulocyten. *Fol. Haematol.*, LI, 1934, p. 414-426.
- KRUMBHAAR (E.B.). — Reticulosis : Increased percentage of reticulated erythrocytes in the peripheral blood. *Journ. Lab. and Clin. Med.*, VIII, 1922, p. 11-19.
- LAUR (C. M.). — *Les réticulocytes et les réticulocytoses*. Paris, 1932, 160 p. G. Doin et C^{ie}.
- LESTOQUARD (F.). — *Les piroplasmes du mouton et de la chèvre*, Alger, 1926, p. 104.
- MALAMOS (B.). — Malaria und Reticulocyten. *Klin. Wochschr.*, XVI, 1937, p. 885-887.
- MOLDAWSKY (J. W.). — Morphologie, diagnostische und prognostische Bedeutung der Granulofilocyten (vitalgefaerbte Erythrocyten). *Medizin. Welt*, III, 1926, p. 1068-1070 ; 1099-1100.
- NICOLLE (P.). — *Contribution à l'étude des variations physiologiques et pathologiques du taux réticulocytaire chez le lapin*. Tunis, 1936, p. 205.
- Signification biologique des réticulocytes. *La Médecine*, sept. 1927, p. 6.
- NOCHT (B.) et MAYER (M.). — *Die Malaria*, Berlin, 1936, p. 172.
- RAMSEY (R.) et WARREN (Ch.-O.). — The rate of respiration in erythrocytes. II. The rate in mature rabbit erythrocytes. *Quart. Journ. Exper. Physiol.*, XXII, 1933, p. 49-56.
- ROBERTS (S.-R.). — The influence of malaria on the circulation. *Amer. Journ. Trop. Med.*, II, 1922, p. 463-474.
- RODENHUIS (J.). — Dubbel-en superinfecties by Malaria tertiana. *Geneesk. Tijd. v. Ned. Indie*, LXI, 1921, p. 123-129.
- SABRAZÈS (J.). — Utilité pour l'examen du sang de la coloration au bleu de méthylène, en solution aqueuse à 1/500. *Gaz. hebdom. des sc. méd. de Bordeaux*, 29 nov. 1908.
- Hématozoaires du paludisme (formes tropicales) ; leur non-pénétration dans les hématies granulo-réticulo-filamenteuses contraste avec l'abondance des autres hématies parasitées ; mise en évidence de ces faits par notre coloration au bleu de méthylène à 1/500 entre lame et lamelle, sur frottis desséchés ; leur importance au point de vue de la régénération du sang dans les accès de malaria. *Gaz. hebdom. des sc. méd. de Bordeaux*, XXXI, 1910, p. 3.
- SCHILLING-TORGAV (V.). — Arbeiten ueber Erythrocyten (II-VII). *Fol. Haematol.*, XIV, 1912, p. 95-248.
- SCHUBERG (A.) et REICHENOW. — Ueber Bau und Vermehrung von *Babesia canis* im Blute des Hundes. *Arb. kaiserl. Gesundh. Amt*, XXXVIII, 1912, p. 415-434.
- SCHÜFFNER (W.) et DE GRAAF (W.). — Besondere Eigenschaften der Malaria-plasmodien. *Festschrift fuer Nocht*, Hamburg, 1937, p. 559-564.
- SHUSHAN (M.), BLITZ (O.) et ADAMS (C. C.). — The rôle of reticulocytes in malaria. *Journ. lab. and clin. med.*, XXII, 1937, p. 364-370.
- SIMONS (H.). — Nouvelle méthode de coloration et de diagnostic des protozoaires sanguicoles dans les gouttes épaisses. *Bull. soc. path. exot.*, XXXI, 1938, p. 100-106.

- SIMONS (H.). — Nouvelles applications du mélange colorant saponine-bleu de méthylène à l'étude des protozoaires sanguicoles. *Ann. parasitol.*, XVI, 1938, p. 334-340.
- SPIRIDONOVITCH (R.). — Some studies on the vital stain blood cells. *Proc. soc. exper. biol. med.*, XX, 1923, p. 365.
- SYDENSTRICKER (V. P.) et VRYONIS (G. P.). — Vital staining of malaria parasites. A preliminary note. *Journ. lab. and clin. med.*, XX, 1935, p. 1094-1096.
- TRACHTENBERG (F.). — Reticulocytenstudien. I. Mitteilung: Zahl und Differenzierungsformel der Reticulocyten beim Normalen. *Fol. Haematol.*, XLVI, 1931, p. 1-16.
- VELU (H.). — Les piroplasmes et les piroplasmoses. *Mém. soc. sc. natur. du Maroc*, II, 1922, pp. 285.
- YANG (C. S.) et BERGLUND (H.). — Difference in Reticulocyte behaviour in anemia from malaria and in pernicious anemia. *Proc. soc. exper. biol. med.*, XXVI, 1929, p. 417-418.
- YOUNG (R.-H.) et OSGOOD (E.-E.). — Sternal marrow aspirated during life. *Arch. Internal. Med.*, LV, 1935, n° 2.
- ZUCKER (T. F.) et KESTEN (H.-D.). — A study of saponin hemolysis of reticulocyte-containing blood. *Amer. Journ. Physiol.*, LXXXVIII, 1928, p. 280-287.

Institut de Parasitologie de la Faculté de médecine de Paris

(Directeur : Prof. E. Brumpt).