L'INFECTION A *PLASMODIUM RELICTUM* CHEZ LES PINGOUINS

Par J. RODHAIN

Nos premières observations sur le paludisme des pingouins datent de l'été 1936, lorsque, en autopsiant un *Spheniscus demersus*, ou manchot du Cap, adulte, mort après une courte indisposition apparente au Zoo d'Anvers, nous rencontrâmes, dans le sang du cœur, de nombreuses formes d'un *Plasmodium* à divers stades d'évolution.

L'inoculation au canari montra que cet oiseau était réceptif et le parasite put être étudié dans ses diverses particularités morphologiques et biologiques.

Une fois que notre attention fut attirée vers la sensibilité des pingouins au paludisme, nous avons systématiquement recherché la présence des *Plasmodium* dans le sang des sphéniscidés décédés ou vivants du jardin zoologique.

Nous avons recueilli ainsi, au cours de trois étés successifs, un ensemble d'observations qui ont heureusement complété nos premières constatations.

Nous avons poursuivi, en même temps, l'identification de l'hématozoaire que nous avons provisoirement laissé en suspens et avons établi qu'il appartient à l'espèce *Plasmodium relictum* Grassi et Feletti.

Dans le présent mémoire, nous exposerons successivement les diverses observations que nous avons pu réunir sur l'infection des pingouins par le *Plasmodium relictum* et les essais expérimentaux que nous avons réalisés en vue de l'identification de l'espèce parasitaire en cause.

I. — LE PALUDISME NATUREL DES PINGOUINS

Dans l'ensemble, au cours des trois étés de 1936, 1937 et 1938, nous avons diagnostiqué huit cas de paludisme chez les pingouins, se répartissant ainsi qu'il suit :

ANNÉE	DATE	N° DU CAS	OBSERVATIONS
1936 ..	22-VIII	Pingouin I, <i>Spheniscus demersus</i> .	Souche isolée sur canari en partant du sang.
1937 ...	26-VII 12-VIII	Pingouin II. Pingouin III.	Souche isolée sur canari en partant du broyage du tissu pulmonaire.
1938 ...	13-IX	Pingouin IV.	
	23-VIII	Pingouin V.	Traité à l'atébrine.
	25-VIII	Pingouin VI.	
	27-VIII	Pingouin VII, <i>Spheniscus humboldti</i> .	
		Pingouin VIII, <i>Spheniscus humboldti</i> .	Traité à l'atébrine.

Ainsi qu'il résulte de l'examen de ce tableau, l'infection fut nettement saisonnière, et il ne peut exister aucun doute concernant son origine : elle se contracte à Anvers même. Nous en possédons d'ailleurs une double preuve.

Après le décès du pingouin I, en août 1936, nous avons pu examiner le sang de douze manchots constituant toute la colonie des Sphéniscidés du Zoo. Aucun ne montra de parasites dans son sang. Or, l'été suivant, en 1937, trois nouvelles infections survinrent parmi eux.

De plus, le pingouin VI, mort le 25 août 1938 était âgé de quelques mois seulement et né à Anvers même. Son infection est bien une infection locale. Comme toutes les autres, elle trouve son origine dans les piqûres des nombreux *Culex pipiens* qui se nourrissent sur les oiseaux de la belle collection du Zoo. Les moustiques trouvent dans les abreuvoirs des animaux, comme aussi dans les étangs du jardin, des endroits de ponte et d'éclosion favorables pour leur multiplication.

Très régulièrement, les infections se sont produites depuis la fin juillet jusqu'à la fin août. Un seul cas, celui du pingouin IV, se déclara le 13 septembre, mais il faut admettre que le début de son infection remontait au mois précédent.

Les mois de juillet et août sont d'ailleurs, en Belgique, les seuls mois qui présentent les conditions de température vraiment favorables au développement des oocystes chez les *Culex*.

Nous avons résumé, dans le tableau ci-dessous, les principales données concernant l'abondance et les formes des *Plasmodium* chez les oiseaux naturellement infectés, dont nous avons pu faire l'autopsie.

TABLEAU I

DÉSIGNATION DU PINGOUIN	ÉTAT GÉNÉRAL AU MOMENT DU DÉCÈS	NOMBRE DE PROTO- ZOAIRES PIGMENTÉS DANS LE SANG DU CŒUR	NOMBRE DE SCHIZO- GONIES SANS PIG- MENT EXOÉRYTHRO- CYTAIRES, DANS LES FROTTIS DES DIVERS ORGANES	OBSERVATIONS
I.....	Non mani- festement amaigri.	Diverses for- mes très nombreuses.	Nombreuses.	Ce sont les schizogo- nies sans pigment du poumon qui ont établi le diagnos- tic.
II.....	<i>idem</i>	Nombreux.	Assez nom- breuses.	
III.....	<i>idem</i>	Extrêmement rares.	Rares.	
IV.....	<i>idem</i>	Très peu nom- breux.	Non rares.	Avait reçu un traitement à l'atébrine.
V.....	<i>idem</i>	Peu nombreux.	Non rares.	
VI.....	<i>idem</i>	Assez nom- breux.	Nombreuses.	
VII.....	<i>idem</i>	Absents.	Rares.	

Si l'on excepte le cas du pingouin VII qui sera discuté plus tard, on constate que le sang périphérique de tous les oiseaux, montrait des parasites pigmentés. C'est leur présence qui permet le diagnostic, sauf pour le pingouin III, chez lequel l'existence du paludisme fut reconnue par les formes de schizogonie sans pigment du poumon. Le premier examen du sang périphérique avait été négatif, il fut repris après, et ce n'est qu'au bout de plus d'une heure de recherche, qu'un unique *Plasmodium* fut trouvé.

Chez tous les pingouins indistinctement, furent recontrées les formes de schizogonie sans pigment exoérythrocytaires dans les frottis des organes, foie, rate, poumon, moelle, cerveau. Nous y reviendrons plus loin.

Clinique. — Contrastant avec l'état d'amaigrissement très marqué que nous avons observé chez six pingouins ayant succombé à l'aspergillose pulmonaire (*Aspergillus fumigatus*), la nutrition générale des animaux morts de paludisme était bonne. Chez les oiseaux décédés avec de nombreux parasites dans le sang (I, II et VI), nous avons noté une hypertrophie considérable de la rate avec une consistance molle.

Cette hypersplénie était notable aussi chez le pingouin IV ainsi que chez le pingouin VII qui ne montraient plus de formes de schizogonie pigmentées.

Chez les quatre premiers de ces oiseaux, le foie était manifestement congestionné et augmenté de volume, sans pétéchies d'ailleurs. Enfin, chez les manchots I, II et IV, existait une congestion manifeste des poumons.

Le tube digestif, chez tous, paraissait normal.

En dehors de l'infection parasitaire du sang et des organes, nous n'avons donc relevé aucune lésion apparente pouvant avoir déterminé le décès de ces oiseaux.

Peut-on conclure que tous ont succombé au seul paludisme ? Nous pouvons admettre avec certitude que les oiseaux intensément parasités (I, II et VI) doivent leur décès à l'infection plasmodiale, nous n'oserions en dire autant des autres, à moins d'attribuer à l'existence des schizogonies sans pigment un rôle pathogène considérable, ce qui n'est pas prouvé jusqu'ici, mais n'est nullement improbable.

Quoi qu'il en soit, la maladie apparente des oiseaux qui sont morts, a été toujours de courte durée. Leur état de nutrition était resté, en général, bon et le surveillant préposé à leur entretien a assuré n'avoir remarqué de signes d'indisposition que deux jours avant le décès.

L'infection paraît donc bien évoluer dans certains cas très rapidement.

II. — DESCRIPTION DU PLASMODIUM

1. Morphologie. — Nous n'avons rien à ajouter à la description que nous avons donnée dans ces *Annales* (1937), des formes parasitant les érythrocytes. Elle a été faite sur des étalements de sang pro-

venant de canaris infectés (pl. X). Nous la reproduisons textuellement :

a) *Gamétocytes*. — Les formes adultes sont régulièrement arrondies. Dans les frottis colorés au May-Grünwald-Giemsa ou au May-Grünwald-bleu-Borrel, les *macrogamétocytes* montrent un protoplasme fortement teinté en bleu, contenant un pigment noir en grains arrondis, relativement petits et peu nombreux.

Ces granulations pigmentaires parsèment tout le protoplasme ou bien sont rassemblées en un ou plusieurs petits amas sans se fusionner.

Le noyau, irrégulièrement arrondi, montre fréquemment un point caryosomique, visible souvent vers la périphérie.

Les dimensions des macrogamétocytes vont de $5\ \mu$, $25 \times 5\ \mu$, 25 à $5\ \mu$, $25 \times 7\ \mu$. Le noyau mesure de $3\ \mu$, $5 \times 2\ \mu$, 5 à $3\ \mu$, $5 \times 3\ \mu$, 5 . Le caryosome peut atteindre jusqu'à près de $0\ \mu$, 8 .

Les *microgamétocytes* ont le protoplasme moins dense, se colorant à peine et parsemé de grains de pigment plus nombreux que chez le macrogamétocyte. Le pigment montre une tendance manifeste à se conglomerer en gros granules constitués par la réunion de trois (ou plus) petits grains.

Le noyau arrondi, à chromatine plus lâche que celle du noyau du gamétocyte femelle, montre aussi parfois un granule fortement coloré. Celui-ci est plus petit que le point caryosomique du noyau du macrogamétocyte (pl. X, fig. 4).

Les dimensions du microgamétocyte vont de $5\ \mu$, 25 de diamètre à $4\ \mu$, $37 \times 7\ \mu$. Le noyau mesure $2\ \mu$, $18 \times 4\ \mu$ ou $2\ \mu$, $18 \times 3\ \mu$, 5 .

b) *Schizontes*. — Les rosaces de la schizogonie, lorsqu'elle est terminée, mesurent, quand le frottis ne les a pas déformées, de $3\ \mu \times 3\ \mu$ à $3\ \mu \times 4\ \mu$, et montrent l'amas de pigment rassemblé au milieu des mérozoïtes.

Le nombre de ces derniers varie de 8 à 20. Les schizontes avec 12 à 16 mérozoïtes sont les plus nombreux.

Nous reviendrons plus loin sur la morphologie des formes sans pigment qui parasitent les cellules du tissu réticulaire et endothélial.

2. Caractères biologiques. — Ainsi que nous l'avons montré antérieurement, le canari s'est montré réceptif pour le *Plasmodium* rencontré dans le sang des pingouins. Nous avons ainsi pu isoler deux souches : la première à partir du pingouin I, la deuxième à partir du pingouin III.

La première fut obtenue en inoculant $1/10^{\circ}$ de cm^3 de sang du

cœur du pingouin I dans les muscles d'un canari qui montra une infection sanguine après une incubation de 20 jours. La souche III fut isolée, un an après, en injectant une émulsion de tissu pulmonaire broyé du pingouin III à trois canaris, dont l'un mourut après 3 jours, un s'infecta, le troisième restant indemne.

Rappelons que le sang périphérique de ce pingouin paraissait, au premier examen, indemne de *Plasmodium*, mais des formes de schizogonies sans pigment furent trouvées, non rares, dans les frottis du poumon et du foie. C'est en vue de rechercher les relations pouvant exister entre les schizogonies sans pigment et les *Plasmodium* pigmentés du sang que les inoculations à trois canaris furent pratiquées.

Chez le canari l'infection est dans l'ensemble bénigne. — Sur 60 oiseaux infectés par la souche I, 2 seulement ont succombé ; tandis que sur 69 canaris infectés par la souche III plus virulente, 5 sont morts avec de nombreux parasites dans le sang. Dans les conditions normales, la durée de l'incubation a varié de 5 à 7 jours. La persistance des parasites dans la circulation périphérique n'excède habituellement pas 10 jours. Les *Plasmodium* ne sont franchement nombreux que durant 2 à 3 jours et les rechutes peu fréquentes.

Autres espèces aviaires. — Les tentatives d'inoculation du *Plasmodium* à d'autres espèces aviaires ont porté sur : deux poulets blancs de la race Leghorn, quatre canetons, une oie sauvage (*Anser cinereus*), deux *Sturnus pastor acridotherus*, cinq *Padda*. Seuls, un *Sturnus* et l'oie sauvage ont montré de très rares *Plasmodium* dans leur sang, durant deux jours.

Transmission par les moustiques. — Nos essais de transmission du *Plasmodium* par l'intermédiaire de moustiques n'ont porté que sur la souche pingouin III. Celle-ci, au moment de nos expériences, fournissait un plus grand nombre de gamétocytes que la souche I.

Nous avons opéré avec deux souches différentes de *Culex pipiens*, l'une provenant du Jardin Zoologique même, l'autre étant originaire de Waterschei en Limbourg, Belgique. La dissection de 11 *Culex*, souche Zoo, nourris sur 2 canaris porteurs de gamétocytes, montra une infection de 100 0/0. Les *Culex* du lot Waterschei n'étaient infectés que dans la proportion de 2 sur 6. Le tableau ci-dessous rend compte du résultat des essais :

TABLEAU II

Transmission du *Plasmodium* de pingouin par *Cu'ex pipiens*

I		II
<i>Culex pipiens</i> , SOUCHE ZOO, ANVERS, INFECTÉS SUR CANARIS 31 ET 33		<i>Culex pipiens</i> , SOUCHE WATERSCHEI, INFECTÉS SUR CANARI 53
Canari 38	Canari 39	Canari 59
Placé dans la cage à <i>Culex</i> la nuit du 5-IV.	Placé dans la cage à <i>Culex</i> la nuit du 21-IV.	Placé dans la cage aux moustiques infectés, la nuit du 8-VIII-38.
Ex. sang : 19 : 0	Ex. sang : le 28.	Le 16-VIII. Très nombreux parasites dans le sang.
20 : 0	Parasites très nombreux tous stades.	Mort le 18, intensément parasité.
21 : plasmodium peu nombreux.	Tué pour la recherche des schizogonies sans pigment.	
Les parasites augmentent jusqu'au 22.		
L'oiseau est tué pour la recherche des formes schizogoniques non pigmentées.		

Les infections massives, provoquées par les piqûres des moustiques, sont à mettre sur le compte des nombreux insectes infectés qui se sont nourris sur les oiseaux. Noter que l'incubation chez le canari 38, dont le sang fut examiné régulièrement, dura exactement 6 jours. Ces essais, qui furent entrepris surtout pour la recherche de l'apparition éventuelle de formes de schizogonies sans pigment, nous ont montré que le *Plasmodium* isolé des pingouins est très aisément transmissible par *Culex pipiens*. Ce sont, sans aucun doute, ces moustiques qui infectent les manchots au Zoo même.

III. — IDENTIFICATION DU PLASMODIUM DES PINGUINS

Comme nous l'avons fait remarquer dans notre première note concernant le *Plasmodium* des manchots, l'hématozoaire en cause appartient au groupe des parasites du paludisme aviaire qui ont les gamétocytes arrondis et qui déplacent le noyau des hématies envahies.

Transmissible au canari, c'est avec *P. relictum* et *P. cathemerium* qu'il doit être comparé.

Il se distingue de ce dernier, par l'aspect granuleux de son pigment, et c'est en réalité du *P. relictum* qu'il se rapproche le plus.

Ayant pu disposer, grâce à l'amabilité du Professeur Mühlens, de la souche de *Plasmodium praecox* entretenue à l'Institut für Schiff's und Tropenhygiene de Hambourg (1), nous avons pu réaliser des expériences d'immunité qui ont confirmé les indications données par la morphologie.

Dans une *première expérience*, 14 canaris, ayant subi depuis 2 à 3 mois une infection par *Plasmodium*, souche pingouin I ont été inoculés de sang contenant le *Plasmodium praecox*, souche Hambourg.

De ces oiseaux, un mourut prématurément, six se montrèrent complètement réfractaires à l'infection, leur sang restant indemne de parasites ; cinq qui avaient encore de très rares *Plasmodium* dans la circulation, en rapport avec leur état de prémunition, ne présentèrent pas d'augmentation des hématozoaires. On doit les considérer comme n'ayant pas réagi. Un seul fit manifestement une surinfection.

Une *deuxième expérience* porta sur 23 canaris ayant antérieurement subi une infection à *Plasmodium cathemerium* (souche W. Kikuth, Elberfeld). Huit de ces oiseaux furent inoculés de sang renfermant *Plasmodium relictum* (Hambourg) ; quinze reçurent en injection du sang contenant le *Plasmodium*, souche pingouin I.

Des huit premiers, deux restèrent indemnes ; les six autres s'infectèrent de *P. relictum*, mais firent des infections avec un retard manifeste sur le témoin. Chez un seul, les hématozoaires devinrent franchement nombreux.

Des oiseaux du deuxième lot, six restèrent indemnes, trois firent une infection normale, deux une infection légère, et quatre une infection très légère.

Dans une *troisième expérience*, nous avons soumis à l'inoculation du *Plasmodium*, souche pingouin I, un premier lot de 4 canaris ayant antérieurement fait du paludisme à *Pl. praecox*, souche Hambourg.

De ces oiseaux, deux restèrent indemnes de parasites, un montra de très rares hématozoaires qui peuvent être rattachés à son ancienne infection, car il n'était pas entièrement déparasité au moment de sa mise en expérience. Un seul fit une légère infection, comparée à celle du témoin qui fut sévère.

Un deuxième lot, comportant 8 canaris, anciens « *praecox* » traités de même, fournit les résultats suivants : le canari 8 mourut prématurément ; six restèrent indemnes de parasites ; un montra une apparition de *Plasmodium* peu nombreux, l'infection restant très légère comparée à celle du témoin.

(1) Nous tenons à remercier ici, notre collègue de Hambourg, pour sa grande obligeance.

Dans l'ensemble, cette deuxième série d'essais porta sur 12 canaris ayant antérieurement subi l'infection à *Plasmodium praecox* (souche Hambourg) et qui furent inoculés avec le *Plasmodium* souche pingouin I.

Huit ne contractèrent pas d'infection; deux montrèrent une légère recrudescence des parasites, leur parasitisme de prémunition étant resté apparent au moment de leur mise en expérience. Un seul montra réellement une infection nouvelle qui fut légère, comparée à celle que firent les témoins.

Une quatrième expérience comporta 6 canaris ayant antérieurement fait du paludisme, souche pingouin I, qui furent inoculés avec du sang riche en *Plasmodium*, souche pingouin III. De ces oiseaux, quatre restèrent indemnes de parasites, deux s'infectèrent mais avec un retard, l'un de 2 jours, l'autre de 7 jours sur les 2 témoins.

Le tableau ci-dessous résume ces divers essais.

TABLEAU III

ESPÈCE DE PLASMODIUM DE LA PRIMOINFECTION	ESPÈCE DE PLASMODIUM INOCULÉ	NOMBRE DE CANARIS INOCULÉS	NOMBRE DE CANARIS		OBSERVATIONS
			Restés indemnes	Ayant contracté l'infection	
<i>Plasmodium</i> pingouin I...	<i>Pl. praecox re-</i> <i>lictum</i> Ham- bourg.	14	12	1	1 mort prématurément.
<i>Pl. relictum</i> ...	<i>Pl. pingouin</i> I.	12	8	1	1 mort prématurément, résultat douteux pour 2.
<i>Pl. cathemerium</i>	<i>Pl. praecox re-</i> <i>lictum</i> Ham- bourg.	8	2	6	Infections retardées.
<i>Pl. cathemerium</i>	<i>Pl. pingouin</i> I.	15	6	9	Dont 6 font une infection légère, 3 une infection normale.
<i>Plasmodium</i> pingouin I...	<i>Pl. pingouin</i> III	6	4	2	Infections retardées.

De l'examen de ce tableau ressort clairement qu'il existe une immunité croisée réelle entre les souches pingouin I et la souche *Plasmodium praecox relictum* (de Hambourg).

D'un autre côté, les canaris en état d'infection chronique de *P. cathemerium*, ne sont que partiellement immunisés contre la souche pingouin I. Ce comportement est conforme à ce que Ed. et Et. Sergent avec A. Catanei ont établi dès 1931 et que Gingrich a confirmé en 1932 (1), pour *P. praecox relictum*.

Le fait que sur six canaris, en infection chronique de *Plasmodium* souche pingouin I, deux ont fait une superinfection lorsqu'ils ont été inoculés de *Plasmodium* pingouin III, semble indiquer qu'il s'agit de deux souches différentes de la même espèce. Elles ont d'ailleurs été isolées à une année de distance et la souche pingouin III s'est montrée manifestement plus virulente que la souche pingouin I.

Pour conclure, nous pouvons dire qu'au cours des essais d'immunité croisée, les souches de *Plasmodium*, que nous avons isolées chez les pingouins se sont comportées comme si elles appartenaient à l'espèce *Plasmodium praecox relictum* Grassi, dont elles possèdent la morphologie.

IV. — LES FORMES SCHIZOGONIQUES SANS PIGMENT EXOÉRYTHROCYTAIRES CHEZ LES PINGOUINS INFECTÉS DE *PLASMODIUM RELICTUM*

Dès l'autopsie, faite en août 1936, du premier *Spheniscus demersus*, nous avons remarqué, dans les frottis de divers organes, l'existence de nombreuses formes schizogoniques incluses dans des cellules du type monocytaire ou endothélial.

Elles nous avaient fait penser d'abord à une infection à toxoplasmes, et nous les avons mentionnées dans notre première note sur le paludisme des pingouins (Rodhain 1937).

Cependant, malgré des examens répétés, nous ne parvenions pas à découvrir les éléments hétéropolaires types, caractéristiques des toxoplasmes. De plus, les petites dimensions des blocs chromatiques de certaines schizogonies ne correspondaient pas non plus au diagnostic qui, au premier abord, avait paru s'imposer. C'est ce qui nous fit remettre la description de ces formes, en attendant de pouvoir compléter nos observations.

En novembre 1936, parut l'étude de G. Raffaële, signalant pour la première fois, chez des canaris infectés massivement au moyen de sporozoïtes de *Plasmodium relictum*, des formes de schizogonie

(1) Les essais de Kikuth, qui trouve qu'il n'y a pas d'immunité, sont un peu en désaccord.

dépourvues de pigment et évoluant dans les cellules du tissu réticulo-endothélial. Pour expliquer le double cycle schizogonique du *Plasmodium*, le professeur italien admet que la schizogonie sans pigment résulte du premier développement des sporozoïtes qui pénétreraient, non dans les globules rouges, mais dans les cellules du tissu réticulo-endothélial. Raffaële décrivait en même temps un double cycle analogue pour *Plasmodium elongatum*, fait que deux auteurs américains, Huff et Bloom, avaient, de leur côté, observé en 1935.

Lors de la publication de notre première étude sur le *Plasmodium* de pingouin, nous n'ignorions point ces travaux, mais l'abondance même des formes de schizogonie sans pigment, à côté d'une infection massive des globules rouges, entretenait dans notre esprit, un doute sur leur signification réelle.

La publication de S.-P. James et Tate annonçant, au début de l'été 1937, la découverte de formes analogues chez des poules infectées de *Pl. gallinaceum*, vint augmenter notre curiosité.

Dans une publication parue le 3 juillet 1937, quelques semaines après le travail des auteurs anglais, Brumpt confirme leur découverte des schizontes endothéliaux et soutient qu'il s'agit bien d'un stade évolutif du *Plasmodium gallinaceum*, car ces formes ne s'observent que chez des oiseaux infectés par ce germe et jamais chez les poussins neufs ou ayant succombé à la spirochétose aviaire. Cet auteur ne rencontre pas les formes endothéliales chez tous les poussins paludéens, mais, quand elles existent, il les trouve aussi bien chez les animaux inoculés avec du sang que chez les oiseaux ayant une infection naturelle par piqure de *Stegomyia*. Brumpt termine son travail en indiquant que le déterminisme de cette schizogonie endothéliale inconstante, ou qui peut-être s'effectue parfois dans des organes non-examinés, reste à établir.

Peu après ces communications, nous eûmes l'occasion de trouver trois nouveaux cas d'infection à *Plasmodium relictum* chez les pingouins, ce qui nous permit de constater chez tous les trois la présence de schizogonies sans pigment (Rodhain 1938). Nous les retrouvâmes dans la suite chez tous les autres sphéniscides paludéens, y compris l'oiseau infecté expérimentalement par inoculation de sang de canari. Le tableau I renseigne sur leur plus ou moins grande abondance.

D'une manière générale, elles étaient plus nombreuses chez les pingouins montrant une infection sanguine intense, cependant nous les avons retrouvées chez deux oiseaux naturellement infectés, chez lesquels les hématozoaires pigmentés étaient extrêmement rares ou

absents. Sous ce rapport, les observations du pingouin III et du pingouin VII méritent d'être relatées *in extenso*.

Pingouin III. — Apporté mort le 12 août 1937, en bon état de nutrition.

Un premier examen du sang du cœur ne montra pas de parasites. Les frottis du poumon et du foie révélèrent la présence de masses schizogoniques sans pigment, non rares. Ces formes furent trouvées aussi dans les frottis du muscle cardiaque. Avec l'idée de rechercher les relations pouvant exister entre les hématozoaires pigmentés et ces schizogonies sans pigment, trois canaris furent inoculés avec le produit de broyage du tissu pulmonaire du pingouin. Ainsi que nous l'avons relaté plus haut, un seul de ces oiseaux s'infecta, le 13^e jour après l'injection.

Le sang du pingouin III était extrêmement pauvre en parasites, car ce ne fut qu'au cours d'examens répétés et prolongés qu'une seule forme de division endo-érythrocytaire fut rencontrée. Comme le canari n'avait reçu qu'une trace minime de sang et s'infecta relativement vite, on peut admettre que son paludisme fut déterminé par les parasites exo-érythrocytaires. Ceux-ci ne furent d'ailleurs pas retrouvés chez le canari infecté qui fut autopsié au 6^e jour après l'apparition des *Plasmodium* dans son sang.

Pingouin VII. — Trouvé parasité, en même temps que le pingouin VIII, à l'occasion de l'examen des 13 sphéniscides vivant encore au Zoo, après la mort des pingouins V et VI.

Suivant nos conseils, les 2 oiseaux parasités furent traités à l'atébérine, à raison de 0 gr. 10 par jour.

Le pingouin VIII reçut du 27 ou 31 août 0 gr. 10 $\times$ 5, il guérit. Le pingouin VII absorba du 27 août au 3 septembre 0 gr. 10 $\times$ 6 d'atébérine, il mourut le 7 septembre. Il avait été enfermé durant le traitement dans un local confiné, ce qui certainement ne fut pas favorable à la cure. Quoi qu'il en soit, à l'autopsie il n'existait aucune lésion apparente des viscères, en dehors d'une légère augmentation du volume de la rate, dont la consistance était restée ferme.

Dans le sang, malgré de très longues recherches, nous n'avons pas trouvé de *Plasmodium* pigmenté. Les schizogonies sans pigment, au contraire, n'étaient pas rares dans le foie, les reins, le cerveau. C'était ce dernier organe qui en présentait le plus. Certaines des masses schizogoniques, montraient dans le protoplasme des granulations rouge violacé, rappelant les grains de *volutine* (1).

Chez cet oiseau donc, un traitement intensif à l'atébérine avait fait disparaître les *Plasmodium* de la circulation sanguine, mais

(1) Kikuth (1938) signale également l'existence de ces granulations dans les formes de schizogonie sans pigment d'une souche provenant d'un verdier. Raffaële, de son côté, les a trouvées principalement chez *Plasmodium relictum* (1938).

n'avait pas pu détruire encore les formes non pigmentées des cellules réticulo-endothéliales.

James et Tate (1938) ont fait des observations identiques chez des poulets infectés de *P. gallinaceum*, traités au moyen de la quinine, et Raffaële signale des observations analogues chez des poules infectées, ayant reçu 8 jours durant 0 gr., 05 d'atébérine *pro die*.

W. Kikuth et L. Mudrow (1938) ont élargi ces constatations pour *P. cathemerium* chez les canaris traités soit à la quinine ou à l'atébérine, soit à la plasmochine.

En opposition avec ces résultats très régulièrement positifs chez les pingouins impaludés, nous devons placer ceux constamment négatifs chez les sphéniscides ayant succombé à d'autres infections.

Durant la même période, été 1936 à été 1938, nous eûmes l'occasion d'autopsier, en dehors des pingouins malariens, 9 sphéniscides dont 6 morts d'aspergillose pulmonaire, 2 de pleurésie purulente, 1 de cause indéterminée. Chez aucun de ces 9 témoins, dont le sang était indemne de *Plasmodium*, nous n'avons pu déceler, dans les frottis des divers organes, de formes rappelant les schizogonies sans pigment des pingouins impaludés. Mais il est un autre contraste qui mérite d'être souligné. Notre attention étant attirée sur les schizogonies endothéliales, nous les avons recherchées chez les canaris infectés, aussi bien au moyen de la souche pingouin I, qu'au moyen de la souche pingouin III. Nous avons choisi pour cette recherche des oiseaux chez lesquels les parasites sanguins étaient particulièrement nombreux. Deux ont été tués au moment de l'acmé de leur infection, trois autres ont été examinés au moment de leur mort. Un fut sacrifié au 6^e jour de son infection, après une inoculation du produit de broyage de tissu pulmonaire du pingouin III. Chez aucun de ces canaris nous n'avons rencontré de schizogonie sans pigment.

Il en fut autrement chez trois canaris infectés au moyen de piqûres de moustiques (souche pingouin III). Deux d'entre eux, tués au 3^e jour après l'apparition des *Plasmodium* dans le sang, montraient, l'un de très rares schizogonies non pigmentées dans le foie, l'autre ces mêmes formes assez nombreuses dans le foie, plus rares dans la rate et les reins. Elles étaient très rares dans la moelle osseuse et absentes dans le cerveau. Quant au 3^e canari, mort avec de très nombreux parasites dans le sang, il en paraissait indemne. Ces constatations sont conformes à celles signalées d'abord par E. Brumpt (1937) dans le cas du *P. gallinaceum*, par Raffaële (1938) pour *Plasmodium praecox* et répétées ensuite par Tate et Kikuth (1938).

Chez les canaris, les formes de schizogonie sans pigment, lorsqu'il s'agit de *P. relictum*, ne se retrouvent que chez les oiseaux infectés au moyen de sporozoïtes.

La transmission de ces schizogonies non pigmentées par inoculation de sang de canari nous réussit pourtant d'emblée chez le pingouin.

Ces oiseaux coûtant très cher et ne pouvant que fort difficilement être tenus en vie en dehors des conditions particulières dans lesquelles on les garde dans les jardins zoologiques, notre expérience ne put porter que sur deux oiseaux.

Spheniscus humboldti I. — Est inoculé dans les muscles du thorax, le 15 novembre 1937, avec $1/2$ cm³ de sang du canari 14, constituant le 6^e passage de la souche pingouin III. Il succombe 4 jours après l'inoculation des suites d'une pleurésie purulente microbienne. Aucun parasite ne fut rencontré, ni dans le sang, ni dans les organes.

Spheniscus humboldti II. — A reçu le 29 novembre 1937, dans les muscles de la poitrine, $1/2$ cm³ de sang du canari 16, constituant le 8^e passage de la souche pingouin III.

Le 7 janvier, les premiers *Plasmodium* apparaissent dans le sang, et l'oiseau meurt le 10 janvier au matin. L'autopsie montra qu'il souffrait d'une mycose pulmonaire et le décès ne peut être uniquement attribué à son infection paludéenne.

Dans le sang du cœur, les *Plasmodium* étaient assez nombreux, les schizogonies non rares. Nous n'y avons pas vu de schizogonies sans pigment. Ces dernières furent trouvées rares ou très rares dans les divers frottis d'organes : foie, rate, poumon, moelle et cerveau. Elles étaient le plus abondantes dans le foie. Ces formes étaient morphologiquement, en tout semblables à celles trouvées chez les pingouins naturellement infectés.

Cette expérience prouve que, chez les pingouins, les formes de schizogonie sans pigment du *Plasmodium relictum* peuvent résulter d'une inoculation de formes pigmentées du sang.

Chez les sphéniscides donc, *P. relictum* se comporte, sous le rapport de la schizogonie exoérythrocytaire, comme *P. cathemerium* chez les canaris, et *P. gallinaceum* chez les poules.

D'après cela, il semble bien que, pour une même espèce de *Plasmodium*, la spécificité de l'hôte peut jouer un rôle dans l'abondance de la schizogonie dans les cellules monocytaires et endothéliales. Peut-être aussi, comme le fait observer Kikuth, la virulence des souches peut-elle intervenir.

D'après les observations de James et Tate (1938), l'âge des

oiseaux inoculés importe également. D'après eux, pour obtenir *régulièrement* le développement des formes exoérythrocytaires, il faut infecter de jeunes oiseaux n'ayant pas plus de 6 semaines d'âge. La très longue période d'incubation qui précédait, chez le *Spheniscus II*, l'apparition des formes sanguicoles, apparaît remarquable. Il semble logique d'admettre que, durant cette période de 38 jours, les parasites sont restés localisés dans les cellules du système réticulo-endothélial.

Si l'on considère l'ensemble de nos observations sur ces formes schizogoniques exoérythrocytaires chez les pingouins (tableau I), on est tenté de penser que, chez ces oiseaux, le stade de multiplication dans les cellules réticulo-endothéliales atteint au moins la même importance que celui de la schizogonie endo-érythrocytaire. Et c'est une autre particularité qui me paraît relever de la *spécificité de l'hôte parasite*.

Quel est, au point de vue pathogénique, la signification de cet envahissement du système réticulo-endothélial par les parasites ?

D'après Raffaële (1936), dans les infections par *P. elongatum*, les schizontes non pigmentés sont, dans les organes internes, toujours plus nombreux que les éléments pigmentés dans le sang. L'infection détermine une très grave anémie et l'intervention de la multiplication parasitaire réticulo-endothéliale dans la production de celle-ci apparaît incontestable.

Dans le cas de certaines souches de *P. cathemerium*, lorsque l'infection est produite par les piqûres des moustiques, le nombre de schizogonies sans pigment peut atteindre celui des schizogonies endoérythrocytaires. Ici aussi, on doit admettre que l'envahissement du système réticulo-endothélial par les parasites joue un rôle dans la gravité de l'affection.

Ce rôle devient plus important lorsque l'endothélium des capillaires du cerveau est envahi d'une manière massive, ce qui se produit parfois chez les poules infectées de *P. gallinaceum*, ainsi que S. James et Tate l'ont montré (1938).

R. Hegner et Fruma Wolfson (1938), dans une récente étude où ils mettaient encore en discussion la nature exacte de ces schizogonies non pigmentées, relèvent que les canaris, chez lesquels les « *Toxoplasma-like* » parasites accompagnent les hématozoaires pigmentés, vivent moins longtemps que les oiseaux infectés uniquement de formes endoérythrocytaires.

En ce qui concerne les pingouins trouvés infectés naturellement de *Plasmodium relictum*, l'abondance même des formes endothéliales chez les pingouins I et II et l'étude des organes de ces

oiseaux, nous ont convaincu que l'envahissement parasitaire de leur système réticulo-endothélial avait dû jouer un rôle important dans leur décès. Nous pouvons en dire autant du pingouin VI.

Notons de plus que, sauf chez les deux premiers pingouins, l'infection du sang circulant était peu intense, et justifie difficilement, à elle seule, les décès. Ceux-ci s'expliquent mieux par l'action conjuguée du double parasitisme endo-érythrocytaire et réticulo-endothélial.

Chez les pingouins I, II et VI, en dehors de la très forte congestion hépatique macroscopiquement apparente, l'état congestif du poumon attirait l'attention.

Sur les coupes du foie, la dilatation des sinusoides est générale : par places, leur lumière est entièrement occupée par les masses schizogoniques, hypertrophiant à l'extrême les cellules de Kupfer. Leur abondance est telle, qu'elles prédominent sur les parasites endo-érythrocytaires, pourtant nombreux.

Quant à la structure des poumons, riches en formes exoérythrocytaires, ainsi que le montre la figure 3 (pl. XI), elle est entièrement bouleversée. A côté de la congestion vasculaire intense, il existe une infiltration de cellules monocytoides dont un très grand nombre sont parasitées. La structure alvéolaire a disparu par place.

En l'absence de bactéries, il semble bien qu'on puisse conclure à une action relevant du parasitisme des masses plasmodiales sans pigment.

En dehors de ce rôle pathogène direct, il semble que, conformément aux vues de James, Raffaële, Kikuth, E. Brumpt, Bovet et L. Brumpt (1937), le parasitisme réticulo-endothélial des *Plasmodium* aviaires puisse être rendu responsable de l'échec de la prophylaxie médicamenteuse dite « causale », comme aussi des récidives.

D'après les observations de James, de Raffaële et de Kikuth (1938), ces formes parasitaires résisteraient davantage à l'action de la quinine et de l'atébérine que les formes endo-érythrocytaires. Nous avons nous-même relaté l'observation du pingouin VII qui succomba, débarrassé de ses *Plasmodium* sanguins, tout en conservant ses formes schizogoniques sans pigment.

Nous pouvons être bref sur la morphologie même des schizogonies sans pigment. Nous les avons déjà figurées antérieurement (pl. XI, fig. 1 et 2) et nous nous contenterons de dire que cette morphologie correspond à celle décrite par S. James et P. Tate (1938) pour *P. gallinaceum*, par W. Kikuth (1938) pour *P. cathemerium*, et G. Raffaële (1936) pour *P. relictum*, chez les canaris infectés par les mérozoïtes.

La disposition périphérique des mérozoïtes sur laquelle ont insisté James et Tate (1938) pour *P. gallinaceum*, se retrouve chez *P. relictum*.

Quant à la nature des cellules hôtes, nous pouvons répéter ce que nous avons écrit en décembre 1937. Les unes sont nettement endothéliales fixes, les autres sont des monocytes ou des histiocytes du sang, à protoplasme vacuolaire, qui, en dehors des masses parasitaires en division, montrent parfois en abondance du pigment phagocyté.

Dans le foie, ce sont les cellules étoilées des sinusoides qui sont surtout infectées. Fortement hypertrophiées, les cellules de Kupfer font saillie dans la lumière des vaisseaux dilatés.

Dans le cerveau, ce sont les cellules endothéliales qui sont parasitées chez les pingouins. Chez ces oiseaux aussi, la schizogonie peut atteindre un développement considérable et aboutir à remplir toute la lumière des capillaires, exactement comme S. James et P. Tate l'ont montré pour *P. gallinaceum* chez les poules (pl. XI, fig. 1 et 2).

La localisation endothéliale de la schizogonie exoérythrocytaire se rencontre, non seulement dans les capillaires étroits, mais encore dans les vaisseaux dont la lumière atteint 100 μ . On les voit alors très nettement bordant la paroi vasculaire.

RÉSUMÉ

L'étude de sept cas d'infections paludéennes survenues naturellement chez des manchots, *Spheniscus demersus* et *S. humboldti*, du Jardin Zoologique d'Anvers, a montré que le paludisme de ces sphéniscides relevait de *P. relictum*. L'identité spécifique reconnue déjà par la morphologie a été confirmée par des essais d'immunité croisée.

Indistinctement, chez tous les pingouins infectés, à côté des formes endo-érythrocytaires, existaient les schizogonies exoérythrocytaires, semblables en tous points à celles décrites d'abord par G. Raffaële chez les canaris infectés par des sporozoïtes de *Plasmodium relictum*.

Alors que, chez les canaris inoculés au moyen de sang parasité, les formes exoérythrocytaires n'ont pu être, jusqu'ici, retrouvées, elles sont apparues chez un pingouin (*Spheniscus humboldti*), infecté par injection de sang d'un canari, le *Plasmodium* étant au huitième passage chez cet oiseau.

La souche de *P. relictum* isolée des pingouins se comporte

donc, chez les sphéniscides, comme *Plasmodium gallinaceum* chez les poules et *P. cathemerium* chez les canaris. La spécificité de l'hôte peut ainsi influencer sur l'apparition des formes exoérythrocytaires, aussi bien que l'âge des oiseaux (James et Tate), et la virulence des souches (Kikuth). Il convient d'en tenir compte avant de formuler des conclusions sur l'évolution générale du parasitisme d'une espèce plasmodiale déterminée.

L'abondance même des formes exoérythrocytaires vis-à-vis des parasites endo-érythrocytaires est telle, chez les pingouins, qu'elle fait penser qu'en dehors d'une action pathogène locale cérébrale, l'envahissement parasitaire du système réticulo-endothélial joue un rôle d'ordre général dans la gravité de l'infection paludéenne chez les sphéniscides.

Deux pingouins reconnus infectés par examen du sang, ayant subi un traitement à l'atébrine, à raison de 0 gr., 10 *pro die*, l'un ayant reçu 0 gr., 50 du produit, guérit, l'autre, ayant absorbé 0 gr., 60 du médicament, succomba. Son sang ne contenait plus de parasites endo-érythrocytaires, mais les formes exoérythrocytaires avaient persisté, en petit nombre, dans les organes. Comme chez *P. gallinaceum* et *P. cathemerium*, les formes exoérythrocytaires de *P. relictum* apparaissent donc, chez les pingouins, plus résistantes à l'atébrine que les *Plasmodium* endo-érythrocytaires.

Jusqu'à quel point exactement cette moindre sensibilité pourrait-elle intervenir, soit pour rendre l'infection latente, soit pour provoquer des symptômes morbides, c'est ce qui reste à déterminer.

Il me reste, à la fin de ce travail, un agréable devoir à remplir, celui de remercier mes très dévouées assistantes et collaboratrices, Mlles Van Hoof, Héndrix et Henry, pour l'aide intelligente qu'elles m'ont apportée au cours de ces recherches.

BIBLIOGRAPHIE

- BRUMPT (E.). — Schizogonie parfois intense du *Plasmodium gallinaceum* dans les cellules endothéliales des poules. *C.R. Soc. Biol.*, CXXV, 1937, p. 810.
- BRUMPT (E.), BOVET (D.) et BRUMPT (L.). — Action des médicaments anti-paludiques sur l'infection de la poule par le *Pl. gallinaceum*. *Festschrift Bernhard Nocht*, 1937, p. 61.
- GINGRICH (W.). — Immunity to superinfection and cross immunity in malarial infections of birds. *Jl. prev. Med.*, VI, 1932.
- HEGNER (R.) et WOLFSON (F.). — Association of *Plasmodium* and *Toxoplasma* like parasites in birds. *Amer. Jl. Hyg.*, XXVIII, 1938, p. 437-454.
- HUFF (C. G.) et BLOOM (W.). — A malarial parasite infecting all blood and bloodforming cells of birds, *Jl. infect. dis.*, LVII, 1935, p. 314-36.

- JAMES (S. P.) et TATE (P.). — New knowledge of the lifecycle of malaria parasites. *Nature*, London, CXXXIX, 1937, p. 545.
- Exoerythrocytic schizogony in *Plasmodium gallinaceum* Brumpt 1935. *Parasitology*, XXX, 1938, p. 128-137.
- KIKUTH (W.). — Weiterentwicklung der Chemotherapie der Malaria. *Riv. di Malar.*, XVII, 1938, p. 411.
- KIKUTH (W.) et MUDROW (L.). — Die endothelialen Stadien der Malariaparasiten in Experiment und Theorie. *Ztrbl. f. Bakt., I, Originale*, CXLII, 1938, p. 114-132.
- RAFFAELE (G.). — Presumibili forme iniziale di evoluzione di *Plasmodium relictum*. *Riv. di malar.*, Sez. I, XV, 1936, p. 318-324.
- Il doppio ciclo schizogonico di *Plasmodium elongatum*. *Riv. di malar.*, XV, 1936, p. 309-317.
- La fase primaria dell'evoluzione monogonica dei parassiti malarici. *Riv. Malar.*, XVII, 1938, p. 331-341.
- RODHAIN (J.). — Une infection à *Plasmodium* chez *Spheniscus demersus* (Manchot du Cap). *Ann. de Paras.*, XV, 1937, p. 253.
- Schizogonie sans pigment chez les pingouins infectés de *Plasmodium relictum*. *C.R. Soc. Biol.*, CXXVII, 1938, p. 368.
- Schizogonie sans pigment chez un pingouin expérimentalement infecté de *Plasmodium præcox* (*relictum*). *C.R. Soc. Biol.*, CXXVII, 1938, p. 838.
- SERGEANT (Ed. et Et.) et CATANEI (A.). — Paludisme des oiseaux. Caractères spécifiques des *Plasmodium* aviaires. *Arch. Inst. Past. Algérie*, IX, 1931, p. 399.

Institut de médecine tropicale Prince Léopold, Anvers.

EXPLICATION DES PLANCHES X et XI

PLANCHE X (1)

FIG. 1 à 3. — *Sang de pingouin*. — 1. microgamétocyte ; 2. microgamétocyte et schizogonie ; 3. macrogamétocyte.

FIG. 4 à 7. — *Sang de canari*. — 4. macrogamétocyte ; 5. microgamétocyte ; 6. schizogonie et *Plasmodium* jeunes ; 7. schizogonie ; les mérozoïtes sont devenus libres.

N.-B. — Toutes les microphotographies ont été prises au même grossissement.

PLANCHE XI

FIG. 1 et 2. — Coupes de cerveau du *Spheniscus demersus* VI. Coloration au Giemsa. $\times 1400$: 1, stade final d'une schizogonie exoerythrocytaire saillant dans la lumière d'un capillaire ; 2, schizogonies exoerythrocytaires multiples dans un capillaire.

FIG. 3. — Poumon du *Spheniscus demersus* I. Infiltration de cellules monocytoïdes dont certaines avec schizogonies sans pigment.

(1) Reproduction de la pl. IV de ces *Annales*, XV, 1937, p. 258.