ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome XLV

1970

N° 2

Annales de Parasitologie (Paris), t. 45, 1970, n° 2, pp. 169 à 182

MÉMOIRES ORIGINAUX

Influence du régime lacté sur des souches de *Plasmodium berghei* Vincke et Lips 1948

sensible ou résistante à la pyriméthamine chez la souris blanche

par B. VRAY ¹

Laboratoire de Parasitologie Animale (Directeur : Prof. Doc. R. VANBREUSEGHEM)

Faculté des Sciences, Université Libre de Bruxelles (Belgique)

Résumé

Divers types de régimes lactés carencés ou non en acide para-aminobenzoïque (ou PABA) et/ou en acide folique ont été donnés à des souris blanches infectées soit avec une souche de *P. berghei* sensible à la pyriméthamine soit avec une souche résistante à cette substance. Le type d'alimentation conditionne la parasitémie et la survie des souris : le régime lacté inhibe le développement de la souche normale mais surtout celui de la souche résistante. L'addition de PABA favorise nettement la croissance de la souche résistante mais pas celle de la souche sensible. En présence d'acide folique, on observe un développement relatif des deux souches. Outre les carences vitaminiques, certains facteurs comme la variabilité des souches de souris et de parasites, les phénomènes immunitaires, le métabolisme de l'hôte, etc... semblent aussi jouer un rôle très important.

(1) Aspirant auprès du Fonds National belge de la Recherche Scientifique.

Summary

Mice fed with milk diet deficient or not deficient in para-aminobenzoic acid (or PABA) and/or in folic acid, were infected either with a normal strain of *P. berghei* or with a pyrimethamine-resistant strain. Consequently, parasitemia and mice's death were modified. Milk diet inhibits the growth of both strains and has a stronger effect on the resistant strain. When the milk diet contains PABA, the resistant strain develops more rapidly than the normal strain. Folic acid added to milk diet promotes relative growth of both strains. Many factors as: variability of the strains of mice and parasites, immunity, host's metabolism and so on seem to be also very important.

I. Introduction

Les relations parasitaires entre *Plasmodium berghei* et la souris blanche sont susceptibles d'être modifiées selon le type de régime alimentaire imposé à l'hôte. B. Magraith, T. Deegan et T. Scherwood (1952) ont les premiers observé une parasitémie anormalement faible chez des rats et des souris infectés avec *P. berghei* et nourris exclusivement avec du lait. F. Hawking (1954) attribue cette diminution de la parasitémie à la déficience en acide para-aminobenzoïque (ou Paba) du lait ou de n'importe quel autre régime alimentaire. L'addition de Paba au régime déficitaire rétablit en effet la sensibilité de l'hôte au parasite. K. Jacobi et W. Kretschmar (1962), R. L. Jacobs (1964) et W. Kretschmar (1965) arrivent aux mêmes conclusions.

Le fait que la carence en Paba d'un régime alimentaire limite fortement la parasitémie est à mettre en rapport avec les observations de J. P. Thurston (1954) selon lesquelles des injections de Paba ou l'addition de cette substance à l'eau de boisson d'animaux infectés inhibent l'action antimalarique de la sulfadiazine.

R. Ferone et G. H. Hitching (1966) pensent que *P. berghei* n'utilise pas l'acide folique présent dans l'alimentation mais qu'il le synthétise « de novo » notamment à partir de Paba.

R. Ferone, J. J. Burchall et G. H. Hitching (1969) montrent que la pyriméthamine inhibe spécifiquement un enzyme (la dihydrofolique réductase) chez *P. berghei*. Cette inhibition arrête la réduction de l'acide folique en son métabolite actif : l'acide tétrahydrofolique et par conséquent la production d'acide thymidilique et la synthèse du D.N.A. indispensable à la reproduction du parasite.

D'après ces auteurs, il existerait donc un système métabolique que l'on peut schématiser comme suit :

Mais certains auteurs (J. Rhodain 1953, J. Schneider et G. Montezin 1953, P. Durand et M. Mathis 1955, J. Sautet et J. Caporalli 1955 et 1956) n'ont pas reconnu l'action inhibitrice du régime lacté sur l'infection à *P. berghei*.

D'autres ont déposé des conclusions plus nuancées : P. M. Carrescia (1955) montre que l'action inhibitrice d'un régime alimentaire dépourvu de Paba n'agit pas sur l'infection de toutes les souris soumises à ce régime. G. Fabiani et J. Orfila (1954) décrivent diverses évolutions de la parasitémie chez un groupe de souris soumises au même régime lacté. C. Jérusalem et W. Kretschmar (1967) concluent aussi que la croissance du parasite ne dépendrait pas uniquement de la teneur en Paba du régime alimentaire de l'hôte.

Les travaux de Jaswant Singh, S. P. Ramakrishnan, Satya Prakash et V. N. Bhatnagar (1954) et ceux de S. P. Ramakrishnan, Satya Prakash et G. P. Sen-Gupta (1956) indiquent qu'une souche de *P. berghei* peut devenir indifférente à la présence ou à l'absence de Paba dans un régime alimentaire.

Enfin, selon D. G. Godfrey (1957), l'influence des vitamines E et C n'est pas à écarter.

Il semble donc exister chez *P. berghei* un système métabolique comprenant le Paba et l'acide folique, système sensible à la sulfadiazine et à la pyriméthamine. Mais il y aurait d'autres facteurs tout aussi importants.

Nous avons repris l'étude de ce problème en soumettant des souris à divers régimes alimentaires riches en vitamines mais carencés ou non selon le cas en Paba et/ou en acide folique. Nous les avons infectées soit avec une souche sensible à la pyriméthamine, soit avec une souche résistante à la pyriméthamine. Cette seconde souche a donc la propriété de se développer même en présence d'un inhibiteur du système métabolique étudié. L'étude comparative de ces deux souches est susceptible d'apporter des indications intéressantes.

II. Matériel et Méthodes

Nous avons utilisé des groupes d'au moins 18 souris femelles GIF/TB, pesant de 18 à 22 g et âgées de 6 à 8 semaines. Chaque souris disposait d'une cage individuelle et recevait nourriture et boisson à volonté. Un grillage isolait les animaux de leur litière

et de leurs défécations afin de réduire la coprophagie. La température moyenne du local était de $23,2^{\circ}\text{C} \pm 0,8^{\circ}\text{C}$.

La souche de *P. berghei* dite « Anka » (1) a été soit régulièrement passée de souris à souris, soit conservée au cryostat. Elle est détruite par une injection sous-cutanée et quotidienne pendant 5 jours consécutifs de 25 mg/kg de pyriméthamine. Nous appelons cette souche la *souche I*.

A partir de cette souche, nous avons obtenu une souche pyriméthamine-résistante (la *souche II*) en augmentant progressivement les doses de pyriméthamine à chaque passage, de souris à souris. Cette seconde souche résiste à la dose de pyriméthamine donnée ci-dessus.

Les souris sont soumises au régime lacté pendant 7 jours avant de recevoir un inoculum contenant 6 millions de globules rouges parasités, injecté par voie intrapéritonéale au jour 0. Les frottis sanguins réalisés tous les deux jours sont colorés au May-Grünwald Giemsa. Nous comptons le nombre de globules rouges parasités parmi 1.000 globules rouges ainsi que le pourcentage de parasitémie. Pour chaque souris, nous calculons le pourcentage de parasitémie. Pour chaque groupe nous établissons la moyenne arithmétique de cette parasitémie. Ces valeurs sont portées en graphique avec, en abscisses, le temps en jours et en ordonnées, le taux de parasitémie en pour-cent. Quand le nombre d'animaux est devenu trop faible ou qu'il est difficile de faire un frottis sanguin, les taux de parasitémie ne sont plus portés en graphique.

Nous avons également calculé pour chaque groupe la moyenne de survie (m) et l'écart-type (s). Si l'écart-type a une valeur élevée, cela veut dire que les mortalités sont dispersées dans le temps. Une valeur faible indique au contraire un groupement des mortalités autour de la moyenne de survie.

L'évolution de la mortalité pour chaque groupe expérimental est représentée graphiquement avec, en abscisses, le temps en jours et, en ordonnées, le nombre total de souris mortes dans un groupe au jour considéré. Pour les deux groupes comportant 57 animaux, nous avons établi la courbe proportionnelle pour 19 souris afin de pouvoir les comparer, avec les réserves d'usage, aux autres courbes établies avec 18 animaux.

La consommation alimentaire journalière par souris et l'évolution du poids ont été également suivies.

Les régimes alimentaires sont les suivants :

Régime normal : aliment pour souris de « Protector ».

Régime lacté : lait en poudre « Régilait » enrichi d'un complexe vitaminique (« Supradyn » de Roche). Cette poudre est mélangée avec de l'eau avant l'addition des vitamines. Ce mélange est ensuite séché à l'étuve à 37°C jusqu'à ce qu'on obtienne des galettes solides que les animaux peuvent grignoter. La composition de ces deux aliments est détaillée dans le tableau I.

Le régime lacté précédent est additionné, selon les cas, de Paba, d'acide folique ou des deux. Les concentrations sont indiquées dans le tableau II. Elles ont été contrô-

(1) Obtenue du Professeur I. H. Vincke de l'Institut de Médecine tropicale d'Anvers que nous tenons à remercier vivement.

lées par dosage microbiologique (2). On remarquera que les concentrations vitaminiques sont élevées, ceci afin d'être à l'abri de toute hypovitaminose autre que celles étudiées.

Tableau I.

COMPOSITION DES RÉGIMES ALIMENTAIRES

<i>En gramme/100 g :</i>	<i>Régime normal</i>	<i>Régime lacté</i>
Protéines	36,5	36
Glucides	33,5	52
Lipides	2,5	0,8
Sels minéraux	9	7,7
Eau	12	3,5
Cellulose	6,5	—
<i>En mg/100 g :</i>		
Niacine (A)	0,6	150,012
(B 1)	0,2	41,35
Riboflavine (B 2)	0,4	11,53
(B 3)	8,0	—
Pyridoxine (B 6)	0,5	20,275
Cyanocobol. (B 12)	0,0015	0,0122
Acide ascorbique (C)	30	300,017
Calciférol (D 2)	0,00575	40
Tocoférol (E)	5	100,1
Biotine (H)	—	40,514
Acide nicotinique	5	100,1
Acide panthoténique	—	3,8
Inositol	—	200
Choline	—	—
<i>Acide folique</i>	0,13	—
<i>PABA</i>	0,075	—

Tableau II.

<i>En mg/100 g :</i>	Rn	R1 1	R1 2	R1 3	R1 4
Acide folique	0,13	—	—	10	10
PABA	0,075	—	75	—	75

(2) Nous tenons à remercier vivement M^{me} Dony et M. Rappe, de l'Association des Pharmaciens belges, pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apportée dans ce domaine.

III. Résultats expérimentaux

EXPÉRIENCES	PARASITÉMIE	MORTALITÉ
<i>A. Souche I :</i>	<i>Graphique A</i>	<i>Graphique C</i>
Rn (Régime normal) Rn	Courbe A 1	Courbe C 1
R1 (Régime lacté) R1 1	Courbe A 2	Courbe C 2
R1 + PABA R1 2	Courbe A 3	Courbe C 3
R1 + acide folique R1 3	Courbe A 4	Courbe C 4
R1 { + PABA + acide folique R1 4	Courbe A 5	Courbe C 5
<i>B. Souche II :</i>	<i>Graphique B</i>	<i>Graphique D</i>
Rn (Régime normal) Rn	Courbe B 1	Courbe D 1
R1 (Régime lacté) R1 1	Courbe B 2	Courbe D 2
R1 + PABA R1 2	Courbe B 3	Courbe D 3
R1 + acide folique R1 3	Courbe B 4	Courbe D 4
R1 { + PABA + acide folique R1 4	Courbe B 5	Courbe D 5

A. Souche I.

1° En régime normal A 1.

La parasitémie évolue rapidement selon une courbe ascendante du jour 2 au jour 8 et passe de 0,3 à 50 %. Un palier s'installe pendant 2 jours puis le développement reprend mais plus lentement. Les parasites sont présents dans le sang périphérique dès le jour 2.

Sur 57 souris, 37 meurent entre les jours 8 à 12 et 20 entre les jours 14 à 28. La survie moyenne est de 11,7 jours et l'écart-type est de 5,06. Nous avons noté un fort polyparasitisme et un affaiblissement marqué des souris qui perdent en moyenne 6 g en 12 jours.

2° En régime lacté A 2.

Chez les 23 souris de ce groupe, la parasitémie a évolué très différemment. Au cours des 12 premiers jours, elle augmente lentement jusqu'à un pic de 20 %, puis, elle diminue pour croître à nouveau et atteindre 65 %. Les courbes individuelles ont la même allure et les pics sont encore plus accentués car la courbe A 2 subit l'effet de la moyenne arithmétique. En outre, chez 4 souris, le parasite n'est apparu qu'au jour 8 et chez les autres au jour 4. La mortalité est plus étalée dans le temps (l'écart-type vaut 9,56) et l'évolution de la mortalité (courbe C 2) est plus lente. La perte de poids et la diminution de la consommation de la nourriture indiquent un affaiblissement proportionnel à l'évolution de la parasitémie.

3° *En régime lacté + Paba A 3.*

Ici aussi, la parasitémie se développe lentement (moins de 5 % au jour 10), puis elle augmente régulièrement. La survie moyenne est de 17,4 jours, l'écart-type vaut 8,30. Dès le jour 4, toutes les souris sont positives.

4° *En régime lacté + acide folique A 4.*

Cette fois, le développement du parasite est plus net. On observe la formation de pics dispersés dans le temps (jours 8 à 14). Toutes les souris sont positives au jour 2 et elles meurent entre les jours 7 et 23. La survie moyenne est de 16,0 jours. Les mortalités sont peu étalées dans le temps : l'écart-type vaut 5,6. Notons qu'une souris est restée négative jusqu'à sa mort au jour 14.

5° *En régime lacté + Paba + acide folique A 5.*

La parasitémie se développe aussi nettement que dans le cas précédent. Un pic apparaît au jour 10. La moyenne de survie est de 17,2 jours. La mortalité est très étalée dans le temps : l'écart-type vaut 10,34.

B. Souche II.

1° *En régime normal B 1.*

La souche résistante se développe d'une façon très semblable à la souche sensible. L'évolution est également marquée par un palier. La moyenne de survie est de 11,0 jours. Les 57 souris meurent entre les jours 6 et 23. L'écart-type vaut 4,9. Toutes les souris sont positives dès le jour 2.

2° *En régime lacté B 2.*

La parasitémie se développe très faiblement et parfois pas du tout, selon les individus. Elle n'atteint jamais de valeurs élevées. La courbe moyenne présente un aspect tout à fait particulier. Dans ce groupe de 23 souris, outre les animaux qui présentent une parasitémie plus ou moins nette, nous avons observé les cas suivants :

- a) chez 4 souris une parasitémie très faible pendant 14 jours (un parasite pour 20 champs microscopiques), puis une augmentation rapide conduisant à la mort en moyenne après 26,2 jours ;
- b) 12 jours après l'inoculation, deux souris étaient toujours négatives. Mises au régime normal, elles ont développé une forte parasitémie et sont mortes aux jours 21 et 30 ;
- c) 2 souris positives depuis 25 jours deviennent négatives. Après 15 jours, elles sont mises au régime normal pendant 4 jours et font une rechute. Finalement, remises au régime lacté, elles redeviennent négatives. Pour l'une d'elles, le sang périphérique inoculé à une souris saine induit une parasitémie mortelle. Elles meurent aux jours 58 et 60.

L'écart-type calculé, compte non tenu de ces deux dernières souris, vaut 8,18.

3° *En régime lacté + Paba B 3.*

La parasitémie se développe cette fois très rapidement sans former ni pic ni palier. Cette évolution est voisine de celle observée en régime normal. 13 souris meurent aux jours 8, 9 et 10 (voir courbe D 3). La survie moyenne est de 12,6 jours. L'écart-type vaut 5,56.

4° *En régime lacté + acide folique B 4.*

La parasitémie évolue un peu plus lentement que dans le cas précédent et forme un léger pic. La survie moyenne est de 13,0 jours et l'écart-type vaut 3,16.

5° *En régime lacté + Paba + acide folique B 5.*

La parasitémie est représentée par une courbe voisine de la précédente, la survie moyenne des souris est de 16,5 jours et l'écart-type vaut 6,78.

On trouvera un résumé des données numériques dans le tableau III.

Tableau III.

Régime	Souche I		Souche II	
	m	s	m	s
Rn	11,7	5,86	11,0	4,91
R1	19,5	9,50	24,0	8,18
R1 + PABA	17,4	8,30	12,6	5,56
R1 + acide folique	16,0	5,60	13,0	3,16
R1 { + PABA				
+ acide folique	17,2	10,34	16,5	6,78

SURVIE MOYENNE ET ÉCART-TYPE DES DIVERS GROUPES EXPÉRIMENTAUX

Légende :

m = survie moyenne.
s = écart-type.
Rn = régime normal.
R1 = régime lacté.

Souche I : sensible à la pyriméthamine.
Souche II : résistante à la pyriméthamine.

Quant à l'évolution des mortalités, d'une façon générale, on observe qu'elle est pratiquement parallèle à l'évolution de la parasitémie. Dans le tableau IV, on trouvera pour chaque souche et pour chaque régime le jour auquel 5, 10 et 15 souris sont mortes.

Tableau IV.

Régime	5 souris	10 souris	15 souris
Souche I :			
Rn	7,5	9	15
R1	9	25	27
R1 + PABA	9	20	24
R1 + acide folique	12	18	21
R1 { + PABA	9	16	30
+ acide folique			
Souche II :			
Rn	7,5	9	15
R1	20	28	30
R1 + PABA	9	9,5	20
R1 + acide folique	9	12	15
R1 { + PABA	10	16	25
+ acide folique			

IV. Discussion

Souche I (Sensible à la pyriméthamine).

Chez les souris soumises au régime normal, le parasite se développe rapidement en envahissant d'abord les globules rouges puis les réticulocytes dont le nombre augmente considérablement. Cette évolution correspond à celle décrite dans la littérature (I. Singer, 1954). On peut donc penser que le régime normal tel qu'il est défini dans le tableau I contient les éléments indispensables à la croissance du parasite.

Le régime lacté utilisé permet aussi le développement du parasite mais très différemment, car le taux de parasitémie reste longtemps faible. Il apparaît aussi un pic d'invasion des globules rouges puis des réticulocytes dont le nombre augmente considérablement. Il semble que le parasite ne puisse se développer pendant un certain temps. La reprise de la parasitémie serait due soit à l'augmentation du nombre de réticulocytes que le parasite envahit préférentiellement, soit à une adaptation aux conditions particulières du milieu. La survie des souris est élevée peut-être à cause de l'établissement progressif des défenses immunitaires, comme l'a montré P. M. Carrescia en 1955.

Contrairement aux résultats obtenus par M. Maigraith et al. (1952), nous n'avons pas observé un développement normal du parasite lors de l'addition de Paba au régime lacté. La survie moyenne est un peu plus courte (17,6 jours) et le parasite apparaît chez toutes les souris au plus tard au jour 4. Après le jour 10, la parasitémie se développe

rait vraisemblablement pour des raisons similaires à celles invoquées ci-dessus. Nous pensons pouvoir écarter l'hypothèse de concentrations inadéquates de Paba en fonction des données de R. L. Jacobs (1964), F. Hawking et R. J. Terry (1957), des essais préliminaires réalisés et de la quantité de nourriture journallement absorbée par les souris. Dans les limites de notre expérimentation, le Paba ne semble donc pas jouer un rôle prépondérant dans le développement du parasite.

Par contre, l'addition d'acide folique favorise nettement la parasitémie. La courbe de parasitémie et celle de la mortalité, l'écart-type et la survie moyenne en témoignent. Cependant, contrairement au Paba, l'acide folique est une vitamine pour la souris (E. L. R. Stokstad, 1954). Il nous est par conséquent difficile de dire si cette substance est utilisée directement par le parasite ou si, en favorisant la production de réticulocytes, elle favorise la parasitémie ou enfin si, métabolisée au niveau du foie en acide tétrahydrofolique, ce ne serait pas plutôt ce produit qui serait utilisé par le parasite.

En ajoutant à la fois du Paba et de l'acide folique au régime lacté, nous observons des valeurs et des courbes assez voisines des précédentes. Ceci semble indiquer que la présence de Paba n'a pas d'action.

Enfin, si le régime lacté avec ou sans Paba et/ou acide folique ne restitue pas la courbe obtenue en régime normal (bien que l'addition d'acide folique soit quand même favorable), il semble que d'autres substances (acides aminés, lipides, etc) auraient également un rôle à jouer qu'il est actuellement difficile de préciser.

Souche II (Pyriméthamine-résistante).

Soumises au régime normal, les souris infectées avec la souche II présentent une évolution de la parasitémie très semblable à celle décrite pour la souche normale.

Dans le cas du régime lacté, l'action inhibitrice est particulièrement nette : la parasitémie varie d'un individu à l'autre et elle reste faible. Comme G. Fabiani et J. Orfila (1954), nous avons observé pour la souche normale, mais surtout pour la souche résistante, des évolutions très diverses de la parasitémie : celle-ci reste faible, s'élève irrégulièrement, disparaît, etc... Nous avons également observé un paludisme latent que le retour au régime normal fait réapparaître. L'ensemble de ces observations suggère que la souche résistante est plus sensible au régime lacté que la souche normale. Il s'ensuit un développement lent ou anarchique qui favorise au cours du temps l'établissement des défenses immunitaires de l'hôte.

Lors de l'addition de Paba, la croissance de cette souche devient pratiquement normale. R. L. Jacobs (1964) avait observé qu'une souche pyriméthamine-résistante requerrait une plus grande quantité de Paba qu'une souche sensible. L'induction de la pyriméthamine-résistance semble donc impliquer l'utilisation du Paba. L'évolution de la parasitémie et de la mortalité, la survie moyenne et l'écart-type concordent avec les résultats obtenus pour le régime normal.

Le régime lacté additionné d'acide folique permet aussi au parasite de se développer mais un peu moins bien. L'évolution de la parasitémie est voisine de celle observée pour la souche sensible soumise au même régime, mais la survie moyenne est plus

faible ainsi que l'écart-type. Il y aurait donc une influence plus grande de la présence d'acide folique dans le régime lacté sur la parasitémie de la souche résistante.

Enfin, la présence de Paba et d'acide folique assure aussi le développement de la souche II mais la survie moyenne est plus élevée, ce qui est en contradiction avec les observations précédentes. Il semble y avoir une action complexe de ces deux substances sur le métabolisme général du parasite qu'il est difficile de préciser.

V. Conclusions

1° Le régime normal utilisé permet la croissance normale et semblable des souches I et II.

2° Le régime lacté inhibe le développement de la souche I mais surtout celui de la souche II. En outre, il apparaît divers types d'évolution de la parasitémie.

3° Le Paba semble être un métabolite indispensable de la souche résistante mais pas de la souche sensible.

4° Dans une certaine mesure, l'acide folique assure le développement des deux souches. Combiné avec du Paba, il induit une parasitémie caractérisée par des valeurs intermédiaires par rapport au régime normal et au régime lacté.

5° Les différences relevées au cours de ce travail entre les deux souches semblent dues uniquement au fait que l'une d'elles est résistante à la pyriméthamine.

6° Enfin, la revue de la littérature, dont nous n'avons donné ici qu'un très bref extrait, et les résultats obtenus nous inclinent à penser que l'influence d'un régime alimentaire sur l'évolution de la parasitémie à *P. berghei* chez la souris blanche ne peut s'expliquer uniquement en terme de carence vitaminique. Il semble que la variabilité des souches de souris et de parasites, les phénomènes immunitaires, le métabolisme général de l'hôte, la composition précise du régime alimentaire jouent un rôle important.

Bibliographie

- CARRESCIA (P. M.), 1955. — Infezioni da *P. berghei* in topi albini di varie età a dieta latte. Recidive e reinoculazioni. *Riv. Malar.*, 34, 93-97.
- DURAND (P.) et MATHIS (M.), 1955. — Evolution normale de l'infection à *P. berghei* chez la souris soumise au régime lacté. *Arch. Inst. Pasteur de Tunis*, 32, 313-316.
- FABIANI (G.), ORFILA (J.), 1954. — Action du régime lacté sur le paludisme expérimental de la souris blanche. *C.R. Soc. Biol.*, 148, 1239-1241.
- FERONE (R.), HITCHINGS (G. H.), 1966. — Folate cofactor biosynthesis by *P. berghei*. Comparison of folate and dihydrofolate as substrates. *J. Protozoology*, 13, n° 13, 504-506.
- FERONE (R.), BURCHALL (J. J.) et HITCHINGS (G. H.), 1969. — *P. berghei* dihydrofolate reductase: isolation, properties and inhibition by antifolates. *Molec. Pharm.*, 5, 49-59.

- GODFREY (D.-G.), 1957. — Antiparasitic action of the tarry cod liver oil upon *P. berghei* and its reversal by vitamin E. *Exp. Parasit.*, 6, 555-565.
- HAWKING (F.), 1954. — Milk, p-aminobenzoate and malaria of rats and monkeys. *Brit. med. J.*, 1, 425-429.
- HAWKING (F.), TERRY (R. J.), 1957. — *P. berghei*, milk diet, p-hydroxybenzoate. *Ztschr. Tropenmed. Parasit.*, 8, 151-157.
- JACOBI (K.), KRETSCHMAR (W.), 1962. — The milk treatment of malaria (*P. berghei*), infection in the mouse. *Ztschr. f. Tropenmed. Parasit.*, 13, n° 3, 286-304.
- JACOBS (R. L.), 1964. — Role of p-aminobenzoic acid in *P. berghei* infection in the mouse. *Exp. Parasitol.* 15, 213-225.
- JASWANT SINGH, RAMAKRISHNAN (S. P.), SATYA PRAKASH and BHATNAGAR (V. N.), 1954. — Studies on *P. berghei* Vincke et Lips, 1948, XX. A physiological change observed in sulfadiazine resistant strain. *Ind. J. Malarial.*, 8, 301-307.
- JERUSALEM (C.), KRETSCHMAR (W.), 1967. — Nucleic acid synthesis by *P. berghei* in mice on a milk diet. *Ztschr. f. Tropenmed u. Parasit.*, 28, n° 3, 193-210.
- KRETSCHMAR (W.), 1965. — The effect of stress and diet on resistance to *P. berghei* and malarial immunity in the mouse. *Ann. Soc. belge Med. trop.*, 45, 325-344.
- MAEGRAITH (B.), DEEGAN (T.), SCHERWOOD (E.), 1952. — Suppression of malaria (*P. berghei*) by milk. *Brit. Med. J.*, 2, 1, 389.
- RAMAKRISHNAN (S. P.), SATYA PRAKASH, SEN-GUPTA (G. P.), 1956. — Studies on *P. berghei* Vincke and Lips, 1948. XXIII. Isolation and observations on a « milk-resistant » strain. *Ind. J. Malar.*, 10, 175-182.
- RHODAIN (J.), 1953. — L'action de la diète lactée sur les infections à *P. berghei*, *P. vinckei* et *Babesia rhodaini* chez la souris. *Ann. Soc. belge Med. trop.*, 33, 245-257.
- SAUTET (J.) et CAPORALLI (J.), 1955. — Influence chez la souris blanche de divers régimes sur l'évolution de *P. berghei*. *Med. Trop.*, 15, 222-228.
- SAUTET (J.) et CAPORALLI (J.), 1956. — Nouvelles recherches sur l'influence de divers régimes préalables sur le traitement des affections expérimentales à *P. berghei* chez la souris blanche. *Méd. Trop.*, 16, n° 5, 654-662.
- SCHNEIDER (J.) et MONTEZIN (G.), 1953. — *P. berghei* et lait, absence d'action du régime lacté chez la souris. *Bull. Soc. Path. exot.*, 46, 947-952.
- STOKSTAD (E. L. R.), 1954, in : *The Vitamins*, Sebrell et Harris (éd.). Vol. III, New York, p. 171.
- SINGER (I.), 1954. — The course of infection with *P. berghei* in inbred CF 1 mice. *J. Infect. Dis.*, 94, n° 2, 237-240.
- THURSTON (J. P.), 1954. — The chemotherapy of *P. berghei*. II. Antagonism of the action of drugs. *Parasitology*, 44, 99-110.