

Morphologie, chimiosensibilité et réactions immunitaires de souches de *Babesia bigemina* (Smith et Kilborne 1893) mises en évidence par splénectomie de bovins

par J.-P. RAYNAUD

avec la collaboration technique de Gilbert RASAONA

INTRODUCTION

Après la mise au point d'une méthode de splénectomie d'utilisation facile chez les bovins adultes (1) nous avons essayé de réaliser une prospection systématique des hématozoaires des bovins à Madagascar. Les résultats obtenus font l'objet d'une autre publication.

Pour l'observation des crises parasitaires successives, après splénectomie, nous suivons le plan classique :

— sortie de *Babesia bigemina* : traitement au trypan bleu à faible dose — technique de A. DONATIEN et F. LESTOQUARD (2) — lorsque les parasites sont nombreux et que les signes cliniques de la maladie se précisent.

— sortie de *Babesia bovis* : traitement au Zothelone (Specia),

— multiplication intense de *Gonderia mutans* : traitement à l'Antimosane (Bayer),

— apparition d'*Eperythrozoon wenyoni*, et accès parasitaire important : traitement au Novarsenobenzol (Specia).

— enfin pour *Anaplasma marginale*, une à deux doses de Terramycine (Pfizer), suivant la gravité de l'affection, suffisent à sauver l'animal.

Nomenclature

La classification suivie est celle, unanimement reconnue aujourd'hui, de W. O. NEITZ (3).

La majorité des bovins, métissés ou zébus,

porte *B. bigemina* ; ceci nous a permis de faire des remarques intéressantes sur la biologie du germe. Nous nous proposons d'étudier ici :

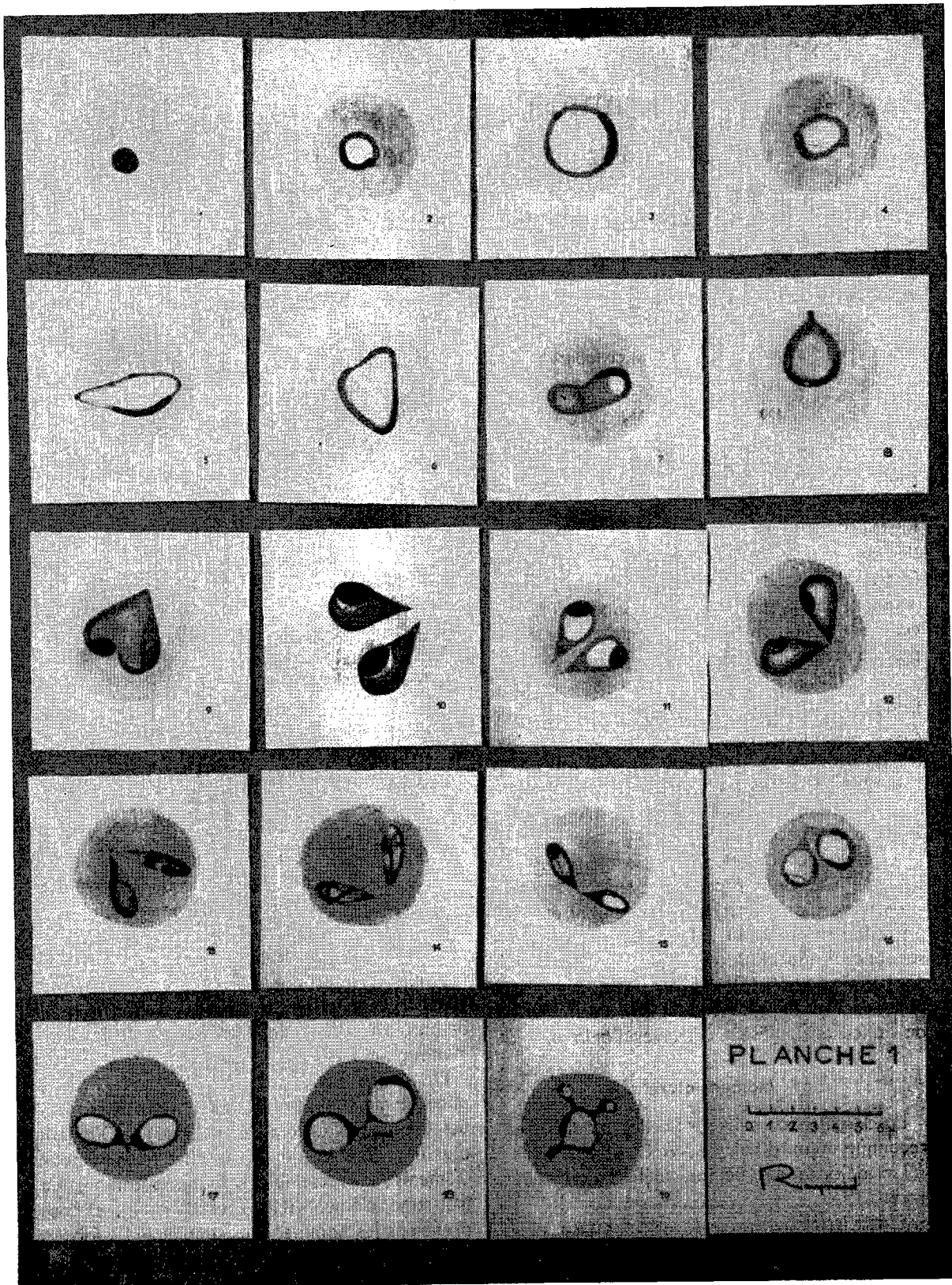
- la morphologie du parasite,
- sa sensibilité au trypan bleu,
- l'immunité conférée par un accès parasitaire guéri, et testée par inoculation de souches hétérologues.

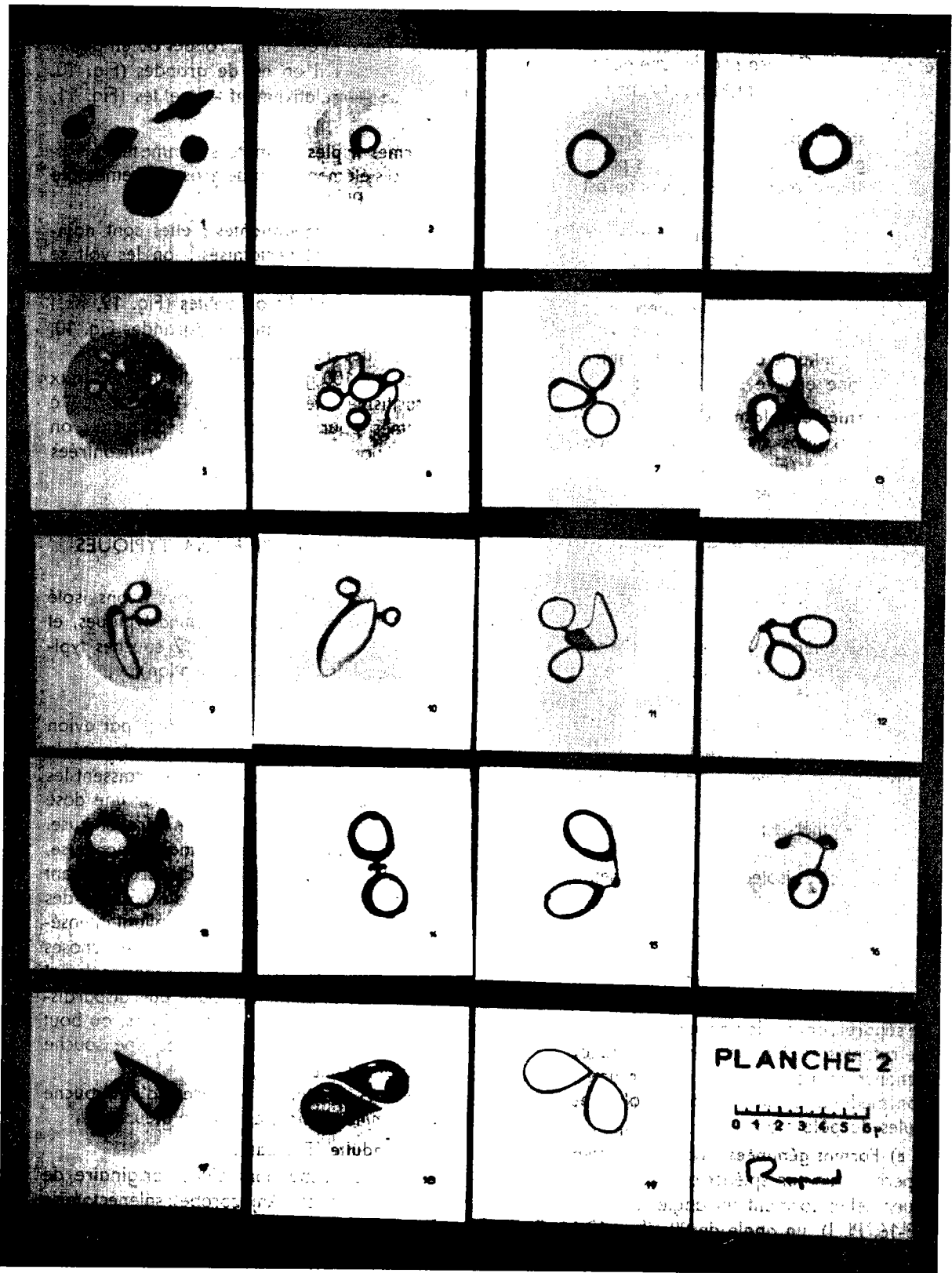
Sémantique

B. bigemina est caractérisé par ses formes doubles. Si l'on s'en réfère au dictionnaire de la langue française de Littré (1877), *bigéminé* a pour étymologie latine *bis* (deux) et *geminus* (double). Le Grand Larousse Encyclopédique, édition 1960, indique même :

« *Bigéminé* : se dit en particulier de feuilles dont le pétiole commun se divise en deux pétioles secondaires portant chacun une paire de folioles, comme dans la sensitive. — Architect. : Se dit d'une baie divisée en quatre parties ». Le terme *bigéminé* est impropre, mais consacré par l'usage. Dans la description des formes doubles et semblables il est cependant préférable de la nommer « géminées ».

De même pour « *trigéminé* » : « Terme de minéralogie : qui offre la combinaison de six solides identiques deux à deux (Littré) ». D'autant plus que dans la plupart des dites formes, deux éléments se ressemblent, par opposition, au troisième élément (Fig. 7 et 8, Pl. II), et nous préférons les nommer plus simplement « formes triples ».





Techniques

Les frottis de sang sont fixés au May-Grunwald, et colorés au Giemsa rapide, une goutte par ml. d'eau distillée tamponnée à pH 7, pendant 25 minutes.

L'infestation parasitaire est chiffrée en « nombre de globules rouges parasités pour 1.000 » : lorsqu'elle est importante nous nous astreignons à parcourir tous les champs d'un axe longitudinal, car les globules parasités sont pratiquement tous entraînés sur la fin du frottis.

Pour classer chacun des germes dans les groupes caractérisés par les chercheurs de l'Institut Pasteur d'Algérie (4, page 124), il nous a fallu en détailler la description. Le tableau suivant nous donne entière satisfaction :

a) Formes anaplasmoïdes : gros grains intraglobulaires sans structure visible, de couleur violet-pourpre (Fig. 1, Pl. I).

b) Formes rondes :

— Régulières : nous ne comptons comme telles que les formes parfaitement rondes ; elles sont petites si leur taille est inférieure au rayon de l'hématie (Fig. 2, Pl. I) ou grandes au-dessus (Fig. 3, Pl. I).

— Irrégulières : pratiquement rondes avec un petit appendice qui les rapproche des formes en poire isolée (Fig. 4, Pl. I).

c) Formes elliptiques :

— Régulières : peuvent être véritablement ellipsoïdes, ovalaires ou triangulaires (Fig. 5-6, Pl. I).

— Irrégulières : qui sont contournées (Fig. 7, Pl. I).

— En poires isolées, grandes ou petites (Fig. 8, Pl. I).

d) En voie de division binaire : il est très rare de trouver la forme « idéale » de division longitudinale (Fig. 9, Pl. I), sans trace de septum médian. Plus souvent, les deux poires qui vont se séparer, ont sur la partie acuminée, une bande de cytoplasme densifié, commune, tandis qu'une échancrure nette, prolongée par une fine cloison médiane sépare les deux volumineux granules du pôle mousse.

e) Formes géminées : nous nous sommes vite aperçus que sur splénectomisés il fallait distinguer celles formant un angle aigu (Fig. 10-11-13-16, Pl. I), un angle de 90° (Fig. 12-14, Pl. I),

et un angle compris entre 90 et 180° (Fig. 15-17-18, Pl. I). Dans ces trois groupes, les formes géminées peuvent être fines, rondes ou en poire, et dans celles-ci il en est de grandes (Fig. 10, Pl. I) et de — relativement — petites (Fig. 11, Pl. I).

f) Formes triples : comptées comme telles lorsque les trois éléments sont de grosseur semblable (Fig. 7-8-11, Pl. I).

g) Formes bourgeonnantes : elles sont nombreuses sur les splénectomisés ; on les voit se développer aussi bien à partir de formes rondes, grandes (Fig. 5, Pl. II) ou petites (Fig. 19, Pl. I et Fig. 6, Pl. II), qu'elliptiques, (grandes Fig. 10, Pl. II) ou petites (Fig. 9, Pl. II)

On compte 100 germes pour un frottis à taux de parasitisme inférieur à 1 p. 1000, et 200 à 500 germes pour un frottis plus parasité ; on inscrit le pourcentage de formes rencontrées dans les 7 groupes caractérisés.

SOUCHES DE *B. BIGEMINA* TYPIQUES

(Nous devons préciser que nous avons isolé et traité 13 souches de *B. bigemina* typiques, et atypiques. L'étude détaillée de 2 souches typiques sert de base à cette publication).

1° Sur veau (Tableau I).

A 32 est un jeune zébu de 51 kg reçu par avion des Comores (île d'Anjouan). Splénectomisé le 20 septembre, deux jours après apparaissent les *B. bigemina* dont l'accès est coupé par une dose de 0,2 g de trypan bleu en injection intraveineuse. Vingt heures après l'injection médicamenteuse, les parasites ont complètement disparu. Pendant 16 jours leur disparition est totale ; alors, des gamétocytes de *G. mutans* se multipliant intensément (tous les globules sont, à peu de choses près, parasités) les *B. bigemina* réapparaissent en nombre faible pendant 2 jours, puis disparaissent, sans traitement pendant 14 jours, au bout desquels le veau est inoculé avec une souche non typique (*vide infra*).

Le veau A 32 était donc porteur d'une souche de *B. bigemina* sensible au trypan bleu.

2° Sur adulte (Tableau II).

A 34 est un zébu hors d'âge, originaire de Mangamila (district d'Anjozorobe), splénectomisé le 23 septembre. Six jours après, le 29 septembre

TABLEAU I - Souche typique de <i>B. bigemina</i> sur veau A 32.	
Date	22 sept.
Température	37°7
Parasitisme	< que 1 p. 1000
<u>ANAPLASEOÏDES</u>	1 p. 100 (15)
<u>RONDES</u>	18 p. 100
régul. grandes	9 (3,4)
petites	7 (2,8)
irrégul. grandes	2
petites	
<u>ELLIPTIQUES</u>	21 p. 100
régul. grandes	6 (4,5/1,7)
petites	9 (3,9/1,7)
irrégul. grandes	4
petites	
poire grande	2 (3,4/2,3)
petite	
<u>EN VOIE DE DIVISION</u>	0
<u>GEMINÉES</u>	54 p. 100
angle aigu	
fines	9 (3,9/1,1)
poires	35 (3,9/1,7)
rondes	8 (2,2/1,7)
angle de 90°	
fines	
poires	1
rondes	1
de 90° à 180°	
fines	
poires	
rondes	
<u>TRIPLES</u>	1 p. 100
<u>BOURGEONNANTES</u>	5 p. 100

injection de trypan bleu

apparaissent les *B. bigemina* en nombre faible. le 30 octobre, il y a moins de 1 globule parasité pour mille, le 1^{er} octobre, 4,2 globules parasités pour 1000 ; le 2 octobre, température 39°5 et 10,5 globules parasités pour 1000. L'animal reçoit 0,6 g de trypan bleu en injection intraveineuse 22 heures après, les parasites sont en nombre très faible et presque tous dégénérés (Fig. 19, Pl. II). A partir du lendemain, il n'y a plus aucun parasite et cela pendant 1 mois. L'animal est alors inoculé avec une souche atypique.

A 34 était donc porteur d'une souche de *B. bigemina* sensible au trypan bleu.

3° Remarques.

Lors d'accès suivant la splénectomie,

— a) Les formes bourgeonnantes sont beaucoup plus nombreuses qu'au cours d'une maladie naturelle : 3 à 5 p. 100 des formes observées, alors que les auteurs de l'Institut Pasteur d'Algérie (4) les donnent comme très rares.

— b) Contrairement à ce qu'écrit G. CURASSON (5), l'angle des poires géminées n'est pas toujours aigu. Nous avons rencontré plusieurs formes opposées à 90° (1 à 3 p. 100) et quelques-unes entre 90 et 180°.

— c) Il est souvent difficile de classer un parasite comme faisant partie des formes bourgeonnantes ou triples. A partir des formes rondes ou elliptiques, les bourgeons grossissent alors que la cellule mère se rapetisse ; il arrive même un stade où les formes à division angulaire de 90° ou au-dessus, ont, au point de convergence, un gros résidu (Fig. 12-13, Pl. II) ou un granule (Fig. 15, Pl. II). Nous avons même vu de rares formes de division dissymétrique (Fig. 16, Pl. II).

— d) Les grandes formes en poire peuvent se trouver en opposition (Fig. 18, Pl. II) ce qui a été constaté depuis fort longtemps par LAVERAN et NICOLLE (6), et nous avons vu de ces grandes poires se croisant (Fig. 17, Pl. II).

— e) Les formes libres sont des poires où le cytoplasme est devenu homogène (Fig. 1, Pl. II), s'arrondit parfois ou se réduit pour disparaître, laissant un granule semblable à une forme anaplasmoïde intraglobulaire ; c'est ce qu'avaient trouvé NUTTALL et GRAHAM SMITH (7).

— f) Les vacuoles sont très marquées sur les parasites les plus petits. Elles sont d'un blanc éclatant (« comme si le globule était percé à l'emporte-pièce » suivant la description d'Edmond SERGENT (4) pour *Babesiella berbera*) sur les petites formes rondes, les bourgeons, ou les formes géminées. Sur certains parasites de grand format, la plage centrale, de teinte rosée, est comme trouée (Fig. 5-7, Pl. I), et même déchirée en plusieurs endroits (Fig. 5, Pl. II).

— g) Après action de faibles doses de trypan bleu, les *B. bigemina* ont disparu en 22 heures. S'ils persistent, mais généralement moins de 48 heures, toutes les formes géminées sont pratiquement supprimées (Tableau II). Presque tous les parasites survivants à ce moment sont dégéné-

TABLEAU II - Souche typique de *B. bigemina* sur adulte A 34

Date	30 sept.	1 oct.	2 oct.	3 oct.
Température	38°	39°	39°5	39°1
Parasitisme	< que 1 p.1000	4,2 p.1000	10,5 p. 1000	très faible
<u>ANAPLASMOIDES</u>	0	0	0,4 p. 100 (1,5)	
<u>RONDES</u>	16 p. 100	9,5 p. 100	8 p. 100	19 p. 100
régul. grandes	10	6	4 (3,4)	1
petites	1	1	1,6 (1,7-2,8)	7
irrégul. grandes	4	1,5	1,2	
petites	1	1	1,2	11
<u>ELLIPTIQUES</u>	27 p. 100	38 p. 100	41,2 p. 100	71 p. 100
régul. grandes	16	25,5	30,8(4,5/1,7-2,5)	40
petites	2	2,5	3,6(3,9/1,7-2,2)	17
irrégul. grandes	5	4,5	2,4	4
petites		1,5	1,6	4
poire grande	4	4	2,8 (3,9/2,7)	1
petite				5
<u>EN VOIE DE DIVISION</u>	10 p. 100	3 p. 100	0,4 p. 100	
<u>GEMINEES</u>	42 p. 100	44 p. 100	42,8 p. 100	9 p. 100
angle aigu				
fines	8	4,5	2,8 (3,5/3,9/1,1)	5
poires	31	35	36 (3-3,9/1,7-2)	1
rondes	1	1,5	2 (1,7-2,2)	
angle de 90°				
fines	1	2		1
poires		0,5	1,2	
rondes		0,5	0,8	2
de 90° à 180°				
fines	1			
poires				
rondes				
<u>TRIPLES</u>	2 p. 100	2,5 p. 100	3,2 p. 100	1 p. 100
<u>BOURGEONNANTES</u>	3 p. 100	33 p. 100	4 p. 100	

injection de trypan bleu

rés, vacuolisés ; on ne distingue plus qu'un liseré de couleur foncée, qui en délimite les contours (Fig. 19, Pl. II). Le trypan bleu supprime l'accès parasite, plus nettement encore que dans les cas de maladie naturelle ; il ne stérilise pas l'organisme puisque les rechutes, de faible intensité et sans hyperthermie, ne sont pas exceptionnelles.

— h) Une constatation importante est à noter pour les formes rondes ; les petites sont constituées d'un anneau mi-partie cytoplasme dense, mi-partie chromatine (Fig. 2, Pl. I) entourant une vacuole claire. Sur les formes de 2,5 μ environ, la chromatine se fragmente en 2 ou 3 noyaux bien distincts (Fig. 3, Pl. II) ou 4 noyaux (Fig. 4, Pl. II) ; il n'est pas douteux que celles-ci aboutissent aux formes bourgeonnantes (Fig. 19,

Pl. I), particulièrement nombreuses sur splénectomisés. Leur ressemblance est grande, d'une part avec certaines grandes formes intraglobulaires de L.-P. DELPY, dans sa description du cycle schizogonique de *B. bigemina* (8), d'autre part avec les dessins de R. ROUSSELOT (9) du *Lushia bovis* trouvé par l'auteur au Soudan.

SOUCHES DE *B. BIGEMINA* ATYPIQUES

1° Sur veau (Tableau III)

A 30 est un veau de deux mois, originaire de la banlieue de Tananarive (Anosizato) ; acheté après le sevrage, il pèse 45 kg ; il est splénectomisé le 4 septembre et les *B. bigemina* apparaissent le 7, soit trois jours après. Le 8 la tempéra-

TABLEAU III - Souche atypique de *B. bigemina* sur veau A 30.

Date	7 sept.	8 sept.	14 sept.	16 sept.	17 sept.	18 sept.	26 sept.	27 sept.	28 sept.	29 sept.	
Température	38°2	38°9	38°1	38°5	38°6	38°9	38°2	38°7	38°6	38°1	
Parasitisme	< que 1 p. 1000	5 p. 1000	< que 1 p. 1000	< que 1 p. 1000	2 p. 1000	5,5 p. 1000	< que 1 p. 1000	3,5 p. 1000	4,2 p. 1000	5,3 p. 1000	
ANAPLASMOIDES	0	0	2 p. 100	3 p. 100	2 p. 100	0,5 p. 100	2 p. 100	0,5 p. 100	1 p. 100	0,5 p. 100 (1,5)	
RONDES	19 p. 100	13 p. 100	17 p. 100	29 p. 100	27 p. 100	24 p. 100	25 p. 100	24 p. 100	25,5 p. 100	26,5 p. 100	
régul. grandes	2	2		15	14	10,5	11	10	9,5	12 (2,8-3,4)	
petites	16	5	8	8	6	4	8	9,5	12,5	13 (1,5-2,8)	
irrégul. grandes	1	6	5	5	5	5,5	9	1,5		0,5	
petites			4	1	2	4	3	3	3,5	1	
ELLIPTIQUES	23 p. 100	37 p. 100	33 p. 100	25 p. 100	28 p. 100	31 p. 100	34 p. 100	30 p. 100	29,5 p. 100	25,5	
régul. grandes	8	11	14	8	13	17	13	13	12	7 (2,8-4/1,7-2,5)	
petites	10	2	5	5	5	6,5	10	10,5	10	13 (2,3-2,8/1,5-2,2)	
irrégul. grandes	1	12	12	8	6	2,5			1,5	1,5	
petites		2		1	2	2			3	2,5	
poire grande	2	8	2	2	1,5	2,5	5	2,5	0,5	0,5 (3,4/2,3)	
petite	2	2		1	0,5	0,5	3	1,5	2,5	1	
EN VOIE DE DIVISION	2 p. 100	0	1 p. 100	0	1 p. 100	1 p. 100	0	0	0	0	
GEMINEES	48 p. 100	40 p. 100	41 p. 100	39 p. 100	37 p. 100	38 p. 100	34 p. 100	38,5 p. 100	41 p. 100	41 p. 100	
angle aigu											
fines	10	11	12	10	14	13,5	21	13,5	11,5	6 (2,8-3,4/1,1-1,5)	
poires	24	15	20	18	16,5	19	10	17,5	18,5	25 (2,8-3,9/1,7-2,3)	
rondes			1	1	1,5	2,5		1,5	4,5	5,5 (2,3/2,8)	
angle de 90°											
fines		2	2	5	2,5	1,5			3,5		
poires	10	6	3	4	2	1	3	4	3,5		
rondes	4	2	1	1	0,5	0,5		0,5	0,5	0,5	
de 90° à 180°								1,5	2,5	4	
fines											
poires			1								
rondes		4	1								
TRIPLES	4 p. 100	4 p. 100	3 p. 100	1 p. 100	2 p. 100	3 p. 100	1 p. 100	2 p. 100	1 p. 100	2 p. 100	
BOURGEOINIANTES	4 p. 100	6 p. 100	3 p. 100	3 p. 100	3 p. 100	2,5 p. 100	4 p. 100	5 p. 100	2 p. 100	4,5 p. 100	

injection de trypan bleu

injection de Zoethelone

ture est de 38°9, l'infestation de 5 globules rouges parasités pour mille. Après le frottis on lui injecte 0,2 g de trypan bleu par voie intraveineuse. Le 9, il n'y a plus aucun parasite, et la température est tombée à 37°9. Le 13, 1 poire géminée à angle aigu et d'aspect vacuolaire. Le 14, la réinfestation est faible ; après le frottis on injecte 0,2 g de trypan bleu. Le 15, la température est de 38°5, on trouve 75 *Babesia* sur le frottis. Le 16, température de 38°5, moins de 1 globule parasité pour mille. Le 17, température 38°6, 2 globules parasités pour 1000. Le 18, température 38°9, et 5,5 parasites pour 1000 ; après le frottis, l'animal reçoit 0,2 g de trypan bleu. Le 19, onze parasites sur un frottis, mais ils ne sont pas dégénérés. Les parasites disparaissent les 20, 21, 22. Le 23, ils réapparaissent et le 24, 14 parasites sur un frottis. Le 25, 4 anaplasmoïdes, 16 rondes, 18 elliptiques, 50 géminées et 6 triples. Le 26, moins de 1 globule parasité pour 1000. Le 27, température 38°7 et 3,5 globules parasités pour 1000. Le 28, température 38°6, infection à 4,2 pour mille, et le lendemain 5,3 globules parasités sur 1000. Concluant à l'inefficacité du trypan bleu, nous administrons au veau 2 ml de Zothelone, par voie sous-cutanée, en 2 fois, dans la journée. Le lendemain il n'y a plus de *B. bigemina*, et ce, pendant 50 jours après lesquels l'examen quotidien est arrêté.

A) Passage de la souche « A 30 » sur adulte splénectomisé (Tableau IV).

Pour étudier son comportement sur adulte, la souche est passée sur un jeune Friesland de 212 kg (A 26), qui avait été splénectomisé deux mois auparavant, et n'avait jamais présenté de *B. bigemina*. Le 29 septembre avant le traitement de A 30, on inocule 1 ml de sang infectant par voie sous-cutanée à A 26. Le 5 octobre, soit 6 jours après, la température est de 38°2, il y a moins de un globule parasité sur mille. Le 6 octobre, la température est de 39°5 et le parasitisme de 14 pour 1000. On injecte à A 26 0,6 g de trypan bleu par voie intraveineuse. Le 7, la température est de 38°8 et la parasitémie de 2,7 pour 1000. Le 8, 38°4 et 5,7 parasites pour 1000. Le 9, la température est de 40°, les muqueuses ictériques et les urines faiblement teintées ; le parasitisme est de 9 pour 1000. Après le frottis, A 26 reçoit 0,6 g de trypan bleu. Le lendemain, la température est descendue à 37°9 et le parasitisme à

1,8 pour 1000. Le 11, les urines sont franchement colorées en rouge, l'ictère est interse, la température de 39°8 et le parasitisme de 46 pour 1000. On injecte alors 6 ml de Zothelone par voie sous-cutanée, en trois fois dans la journée. Le lendemain les parasites ont disparu et la température est basse ; cet état persiste pendant plus d'un mois.

B) Réactions immunitaires de la souche A 30.

Le 9 octobre, 5 ml de sang de A 26 sont inoculés à 2 zébus adultes ayant révélé après splénectomie des souches de *B. bigemina* typiques sensibles au trypan bleu.

Il s'agit de :

— A 34 (étudié ci-dessus, splénectomisé le 23 septembre, guéri de son accès à *B. bigemina* par 0,6 g de trypan bleu le 2 octobre ; l'inoculation de sang de A 26 est donc faite 7 jours après guérison de l'accès.

— A 33, zébu hors d'âge originaire de Mangamila (district d'Anjozorobe) et splénectomisé le 23 septembre, comme A 34 ; il a fait du 25 au 27 septembre une sortie importante de *B. bigemina*, disparue sans rechute notable après 0,6 g de trypan bleu ; l'inoculation du sang de A 26 lui est faite 12 jours après guérison de l'accès.

Quatre jours après l'inoculation, les deux zébus ont montré de nombreuses figures de régénération des globules rouges (polychromatophilie, corps de Jolly, cellules à ponctuations basophiles...) qui sont allées en se multipliant intensément pendant 5 jours, pour disparaître ensuite progressivement ; nous n'avons trouvé aucun parasite pendant cette réaction médullaire. Il s'agit donc d'une excellente réaction immunitaire pour un parasite dont la virulence était augmentée par passage sur adulte splénectomisé.

La conclusion à tirer des réactions d'immunité effectuées sur adultes splénectomisés, est la stricte appartenance à l'espèce « *bigemina* » de ces souches qui en diffèrent par la chimiosensibilité et quelques nuances morphologiques que nous étudierons avec le parasite isolé sur adulte.

2° Sur adulte (Tableau V).

A 39 est un zébu hors d'âge originaire d'Ambatolampy (district d'Antsirabe). Il est splénectomisé le 23 octobre ; 5 jours après, apparaissent les *Babesia* ; le 28, moins d'un globule parasité pour 1000. Après le frottis, on injecte 0,6 g de trypan bleu par voie intraveineuse, mais le lendemain,

TABLEAU IV - Passage de la souche A 30 sur adulte splénectomisé

Date	5 oct.	6 oct.		7 oct.	8 oct.	9 oct.		10 oct.	11 Oct.
Température	38°2	39°5		38°8	38°4	40°		37°9	39°8
Parasitisme	< que 1 p.1000	14 p. 1000		2,7 p. 1000	5,7 p. 1000	9 p. 1000		1,8 p. 1000	46 p. 1000
<u>ANAPLASHOIDES</u>	2 p. 100	0		2 p. 100	1 p. 100	1 p. 100		2 p. 100	3 p. 100
<u>RONDES</u>	18 p. 100	26,4 p. 100		18 p. 100	20,5 p. 100	23,5 p. 100		24,5 p. 100	19,8 p. 100
régul. grandes	13	6,8		3,5	7,5	5		5	3,6
petites	5	14		9,5	10	16,5		16	13,3
irrégul. grandes		0,8		1,5	0,5	1		1	1,6
petites		4,8		3,5	2,5	1		2,5	1,3
<u>ELLIPTIQUES</u>	19 p. 100	31,2 p. 100		28,5 p. 100	30 p. 100	33 p. 100		35 p. 100	26,7 p. 100
régul. grandes	7	12,4		7,5	8,5	10,5		19,5	10,3
petites	9	9,6		12	15	17,5		11	12,6
irrégul. grandes	1	2,4		2	1	0,5			0,6
petites	1	1,2		2,5	2,5	0,5		1	1,3
poire grande	1	4,4		1	1	2		1,5	0,3
petite		1,2		3,5	2	1,5		2	1,6
EN VOIE DE DIVISION	0	0,8 p. 100	injection de trypan bleu	2 p. 100	1 p. 100	0,5 p. 100	injection de trypan bleu	1 p. 100	2 p. 100
<u>GEMINEES</u>	44 p. 100	38,4 p. 100		45 p. 100	42,5 p. 100	40 p. 100		33 p. 100	43,3 p. 100
angle aigu									
fines	18	12,8		17,5	15	17,5		14	21,6
poires	23	15,6		19	17	13		11	16,3
rondes	2	2		1	2				0,6
angle de 90°									
fines	1	2,4		3,5	5	6		3	1
poires	4	2,2		1	1,5	0,5		2	1,3
rondes	2	2		0,5		2		1	1,6
de 90 à 180°									
fines				2	0,5			0,5	0,3
poires								1	
rondes	6	1,2		0,5	1	1		0,5	0,6
<u>TRIPLES</u>	2 p. 100	1 p. 100		0,5 p. 100	1,5 p. 100	1 p. 100		0,5 p. 100	1,6 p. 100
<u>BOURGEONNANTES</u>	3 p. 100	2,2 p. 100		4 p. 100	3,5 p. 100	1 p. 100		4 p. 100	3,6 p. 100

TABLEAU V - Souche atypique de
B. bigemina sur adulte 39

Date	28 oct.		29 oct.	
Température	38°6		38°7	
Parasitisme	← que 1 p. 1000		45,7 p. 1000	
<u>ANAPLASMOIDES</u>	3 p. 100		0,2 p. 100	
<u>RONDES</u>	13 p. 100		16,7 p. 100	
régul. grandes	5		6	
petites	7		8,1	
irrégul. grandes			0,9	
petites	1		1,7	
<u>ELLIPTIQUES</u>	27 p. 100		45,1 p. 100	
régul. grandes	10		30,2	
petites	3		10,5	
irrégul. grandes	4		0,2	
petites	4		1,4	
poire grande	1		1,4	
petite	5		1,4	
<u>EN VOIE DE DIVISION</u>	4 p. 100		0,2 p. 100	
<u>GEMINEES</u>	47 p. 100		35,4 p. 100	
angle aigu				
fines	27		12,8	
poires	15		14,8	
rondes			1,1	
angle de 90°				
fines	3		1,4	
poires			2,6	
rondes			1,4	
de 90 à 180°				
fines	1		0,2	
poires	1		0,2	
rondes			0,9	
<u>TRIPLES</u>	2 p. 100		0,2 p. 100	
<u>BOURGEONNANTES</u>	4 p. 100		2,6 p. 100	

injection de trypan bleu

injection de Zothelone

l'infestation parasitaire est de 45,7 globules pour 1000. On lui injecte alors 6 ml de Zothelone par voie sous-cutanée, en 3 fois dans la journée. Le 30 on peut compter 4 formes anaplasmoïdes et le 31, 3 anaplasmoïdes et 1 ronde régulière petite ; par la suite, aucune rechute à *B. bigemina*.

Réactions d'immunité de la souche A 39.

A 32 est le veau dont l'accès de *B. bigemina* typique a été étudié ci-dessus. 32 jours après sa guérison, grâce au trypan bleu, le 29, on lui injecte 60 ml de sang de A 39 par voie intra-veineuse. L'incubation est de 5 jours et l'infestation débute faiblement pour passer à 4,3 globules parasités pour 1000 le lendemain, 5 pour mille le 7 novembre et 3,8 pour mille le 8 ; le 9, sans

aucun traitement, elle cesse définitivement. Dès le début de la rechute, les figures de régénération du sang sont nombreuses, puis elles diminuent et disparaissent en même temps que les parasites. Nous avons d'ailleurs remarqué que dans un frottis où il y a pratiquement autant de globules « normaux » que de polychromatophiles, cellules à ponctuations basophiles, érythroblastes, il est très rare de trouver des *Babesia* parasitant ces globules « jeunes ». Le protozoaire semble ne vivre que dans les cellules à hémoglobine.

Dans ce faible accès de rechute, sans signe clinique, sans hyperthermie, les parasites avaient au plus fort de l'infection une morphologie de souche atypique exactement superposable à l'infection du donneur A 39. L'accès de rechute, faible, étant disparu de lui-même, il s'agit d'une réaction d'immunité.

3° Remarques.

Il n'y a pas de différence entre une souche isolée sur veau, puis passée sur adulte splénectomisé : la répartition des formes dans les différents groupes est la même, les dimensions du parasite sont semblables.

Mais on peut noter que si l'infection croît lentement chez le veau, elle est explosive chez l'adulte. La « résistance innée des jeunes bovins âgés de quelques semaines » (4) n'atténue que l'intensité de l'infection ; il ne paraît pas y avoir de modification de la morphologie du parasite.

Pour ces souches atypiques dans la répartition des éléments parasitaires et la résistance au trypan bleu, l'immunologie précise qu'il ne s'agit que de variétés de l'espèce *Babesia bigemina*.

DISCUSSION

1° Sur le pourcentage des différentes formes (Tableau VI) nous voyons qu'il est intéressant de considérer la répartition des éléments géminés. Pour cela nous avons extrait des tableaux I à V le nombre de géminées pour cent parasites, en séparant les infestations faibles (moins de 1 pour 1000) des fortes nous avons constaté que les chiffres obtenus sont semblables dans les deux cas, et nous en donnons les moyennes.

L'originalité des souches résistantes au trypan bleu consistant dans le pourcentage élevé de

Géminées à angle aigu			
- fines	6	16	14,1
- poires	34,2	18	17
- rondes	3,1	0	1,5
Géminées à angle de 90°			
- fines	0,7	1,6	2,7
- poires	0,6	5,3	1,9
- rondes	0,5	2	1,3
Géminées de 90 à 180°			
- fines	0,2	0,3	0,2
- poires	0	0,3	0,1
- rondes	0	1,3	0,9
<u>Poires à angle aigu</u>	3,1	0,6	0,7
Autres formes géminées	SOUCHES TYPIQUES	SOUCHES ATYPIQUES avant tout contact avec le trypan bleu	SOUCHES ATYPIQUES après traitement par le trypan bleu

formes fines ou rondes, et surtout le nombre de figures de division à 90 et 180°, nous avons établi le rapport : $\frac{\text{Poires à angle aigu}}{\text{Autres formes géminées}}$, il est de 3,1 pour les souches typiques.

Pour les souches atypiques, il nous a semblé normal de distinguer les pourcentages établis avant tout traitement au trypan bleu (et pour ce chapitre nous n'avons pas tenu compte de la souche A 30 passée sur adulte, et qui pouvait être un parasite entraîné au contact avec le trypan bleu), et les pourcentages dans les rechettes après traitement. La distinction entre infestations faibles et fortes est, là aussi, inutile. Les moyennes établies avant tout contact avec le trypan bleu et après traitement sont comparables. Dans ces deux cas le rapport :

$\frac{\text{Poires à angle aigu}}{\text{Autres formes géminées}}$ est de 0,6 et 0,7.

Pour ce qui est du pourcentage des différentes formes géminées il existe une différence nette entre souches typiques et atypiques. Cette différence peut être objectivée par le rapport

$\frac{\text{Poires à angle aigu}}{\text{Autres formes géminées}}$ élevé pour les souches typiques, très faible pour les autres. Il est important de noter que les valeurs sont semblables avant tout contact du parasite avec le trypan bleu ; on peut donc, à l'examen des frottis quotidiens successifs, prévoir la sensibilité ou la résistance au trypan bleu ; c'est ce que nous avons vérifié de nombreuses fois.

2° Dimensions des parasites. Les souches atypiques présentent plus de formes petites. Si l'on additionne les pourcentages de : petites formes rondes régulières ou non, petites formes elliptiques régulières ou non, petites poires, la moyenne des résultats est de :

- souche typique veau : 16.
- souche typique adulte : 6.
- souche atypique veau : 21,2.
- la même passée sur adulte : 29,6.
- souche atypique adulte : 21.

Nous avons été amenés à comparer les dimensions de ces souches atypiques à celles des *Babesia major*. De la description donnée par les auteurs

de l'Institut Pasteur d'Algérie (4) il n'y a pas de confusion possible. Mais les reproductions d'articles de KNUTH et de KNUTH, MEISSNER dans l'ouvrage de C. C. CERNAIANU (10) nous permettent de penser que le parasite trouvé dans les rares cas cliniques de « rupture de rate » pourrait bien n'être qu'un *B. bigemina* atypique, et ne faut-il attribuer qu'à une coïncidence fortuite la similitude entre une *Babesia* dont le pouvoir pathogène est la rupture de la rate, et une *Babesia* modifiée par l'opération chirurgicale de la splénectomie ?

3° Formes triples et bourgeonnantes : leur nombre est comparable pour toutes les souches.

4° Action du trypan bleu. Le trypan bleu est très efficace pour les souches où la majorité des formes géminées est représentée par la figure caractéristique de poire géminée à angle aigu. Ce sont ces formes qui sont les plus sensibles au médicament (voir le pourcentage des formes circulantes après traitement, Tableau II). L'inefficacité du trypan bleu peut être relative (Tableaux III et IV) ou absolue (Tableau V) ; dans les deux cas, la morphologie est à peu près identique ; les données morphologiques permettent de prévoir la sensibilité ou la résistance au médicament. Nous avons trouvé intéressant de voir que ce caractère « sensibilité au trypan bleu » dont les auteurs de l'Institut Pasteur d'Algérie avaient fait un élément de diagnostic de genre (*Piroplasma-Babesiella*), reposait sur des éléments morphologiques précis à l'intérieur de l'espèce *bigemina*.

5° Immunologie. Sur adultes splénectomisés, 7 et 12 jours après guérison d'un accès aigu, la prémunition vis-à-vis de souches hétérologues, est absolue.

CONCLUSION

Sur 30 bovins splénectomisés, nous avons étudié les souches de *Babesia bigemina* apparues quelques jours après l'opération. Quinze animaux ont dû être traités au trypan bleu qui reste le seul médicament utilisé expérimentalement pour la séparation de *Babesia bigemina* des autres espèces de *Babesia*.

Influence de la splénectomie sur les accès à *B. bigemina* : en comparant avec les chiffres donnés par tous les auteurs classiques, nous avons remarqué que la splénectomie augmente le nombre des formes bourgeonnantes et triples, qui sont à l'origine des formes géminées se divisant à 90 ou 180°.

Nous avons pu distinguer :

— **13 souches typiques** par la morphologie (les petites formes rondes ou elliptiques sont peu nombreuses, les poires divisées à angle aigu forment la majorité des formes géminées) et la sensibilité au trypan bleu.

— **2 souches atypiques**, où les petites formes rondes et elliptiques sont nombreuses, tandis que les poires divisées à angle aigu ne sont qu'en minorité parmi les formes géminées. La sensibilité au trypan bleu est faible ou nulle. Les animaux guéris d'accès de *B. bigemina* typiques sont bien prémunis contre les souches atypiques.

Institut d'élevage et de médecine vétérinaire
des pays tropicaux.

Laboratoire central de l'Élevage de Madagascar
Service d'entomo-protozoologie.

RÉSUMÉ

Des souches de *Babesia* apparues après splénectomie de 30 bovins sont étudiées du point de vue de leur sensibilité au trypan bleu. *Babesia bigemina* est ainsi isolé. Treize souches typiques et deux souches atypiques sont distinguées et les animaux guéris de babesiellose à *B. bigemina* typiques sont prémunis contre les souches atypiques.

SUMMARY

Morphology, Chemo-sensitivity and Immunity Tests of *Babesia bigemina* strains revealed through splenectomy of bovine

Strains of *Babesia* appearing after splenectomy of 30 bovines are being studied from the point of view of their response to Trypan blue. *Babesia bigemina* is thus isolated. Thirteen typical and two aty-

pical strains have been identified, and the animals, cured from babesiellosis caused by typical *Babesia bigemina* have been protected against atypical strains.

RESUMEN

Morfología, quimiosensibilidad y reacciones inmunizantes de la especie de protozoarios *Babesia bigemina* (Smith y Kilborne 1893), puestas en evidencia con la esplenectomía de los bovinos

Medios de *Babesia* aparecidos después de la esplenectomía de 30 bovinos, son estudiados desde el punto de vista de su sensibilidad al azul tripano. *Babesia bigemina* es así aislada. Trece especies típicas y dos especies atípicas fueron identificadas y los animales curados de babesiasis de origen *B. bigemina* típica tienen premunición contra las especies atípicas.

BIBLIOGRAPHIE

1. RAYNAUD (J. P.). — Une méthode de splénectomie des bovins adultes par résection de la 12^e côte gauche. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1961, 14 (3) : 321-7.
2. DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.). — Sur l'emploi du trypan bleu dans le traitement des piroplasmoses des ruminants. *Bull. Soc. Path. exo.*, 1927, 20 (1) : 64-77.
3. NEITZ (W. O.). — Classification, transmission and biology of Piroplasms of domestic animals. *Ann. New-York Acad. Sci.*, 1956, 64 (5) : 56-115.
4. SERGENT (E.), DONATIEN (A.), LESTOQUARD (F.). — Etudes sur les piroplasmoses bovines. *Institut Pasteur d'Algérie*, Alger, 1945.
5. CURASSON (G.). — *Traité de protozoologie vétérinaire et comparée*. Tome III : Sporozoaires. Vigot Frères édit., Paris.
6. LAVERAN (A.) ET NICOLLE (M.). — Contribution à l'étude de *Piroplasma bigeminum*. *C. R. Soc. biol.*, 1899, 51 : 748.
7. NUTTAL (G. H.) et GRAHAM SMITH (G. S.). — The mode of multiplication of *Piroplasma bovis*, *P. pitheci* in the circulating blood compared with that of *P. canis* with notes on other species of *Piroplasma*. *Parasitology*, 1 (2) : 134-42.
8. DELPY — (L.-P.). — Description de formes schizogoniques de *Babesia bigemina*, comparaison avec des formes identiques décrites par Dschunkowsky (E.) 1937 sous le nom de *Lushia Bovis* n. sp. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 1946, 21 (5-6) : 225-34.
9. ROUSSELOT (R.). — *Notes de Parasitologie tropicale*, tome I, 1953. Vigot Frères édit., Paris.
10. CONSTANTIN et CERNAIANU (C.). — *Piroplasme si Piroplasmoze*, 1958, 2. Academici Republici Populare Romini, édit. Bucarest.