

# *Haematoxenus veliferus*, n. g., n. sp., parasite incertae sedis du sang de bovins à Madagascar

par G. UILENBERG

## RÉSUMÉ

L'auteur décrit un nouveau parasite, *Haematoxenus veliferus*, g. n., sp. n., trouvé associé aux érythrocytes de bovins à Madagascar.

L'aspect morphologique est caractéristique par l'existence d'un délicat voile attaché au parasité. Certains éléments sans voile appartiennent peut-être à cette espèce. L'organisme semble influencé par la splénectomie. Il ne semble pas être pathogène. La classification en est incertaine.

Dans le cadre des recherches sur les maladies à hématozoaires, nous faisons fréquemment des splénectomies sur des bovins. Récemment nous avons eu l'occasion d'opérer sur un lot de veaux en provenance du Centre de Recherches Zootechniques de Kianjasoa, situé à environ 180 km à l'Ouest de Tananarive. Le sang de ces veaux était, après l'opération, examiné quotidiennement.

Un des veaux, B 30, est splénectomisé le 16 avril 1964. A partir du 20 avril nous observons dans le sang de très rares structures, associées aux érythrocytes, que nous considérons au début comme des petites formes en virgule de *Theileria mutans* (THEILER, 1906), parasite très répandu à Madagascar. Le nombre de ces structures augmente quelque peu à partir du 4 mai. Ce n'est que le 12 mai que nous nous rendons compte que l'infestation, que nous considérons comme due à *Theileria*, reste limitée à de minces bâtonnets et virgules, sans que d'autres formes, typiques de *Th. mutans*, n'apparaissent. En même temps nous observons des bâtonnets portant une sorte de voile, que nous n'avons jamais vus, et dont nous ne trouvons aucune mention dans la bibliographie. (Il est vraisemblable que ces dernières formes étaient présentes dès le début de l'infestation, mais que nous ne

les avons pas remarquées). Le nombre de ces structures augmente, jusqu'à un maximum d'environ 0,5 à 1 pour 100 d'érythrocytes infestés. Il y a toujours un seul organisme par globule rouge. Nous tentons de prouver la nature parasitaire des structures, en inoculant le sang de B 30 à un autre veau. Le résultat en est positif, et nous pouvons conclure à l'existence d'un nouveau parasite. Depuis, nous avons trouvé le même micro-organisme dans le sang de deux autres bovins, indépendamment de B 30.

Nous donnerons d'abord la description morphologique, ensuite les observations faites sur les animaux, et finalement une discussion sur ce nouveau micro-organisme.

## MORPHOLOGIE (Voir fig. 1 à 3)

Nous proposons le nom *Haematoxenus veliferus*, nom qui indique l'aspect des formes typiques de ce parasite ( $\alpha\lambda\mu\alpha$  = sang ;  $\xi\epsilon\nu\omicron\varsigma$  = hôte ; velum = voile ; ferus = portant).

En effet, la plupart des formes typiques sont composées d'un bâtonnet d'aspect variable, à partir duquel un voile (ou queue) délicat prend son départ. Coloré suivant Giemsa, le micro-organisme peut soit se présenter entièrement coloré comme la chromatine des *Babesia*,

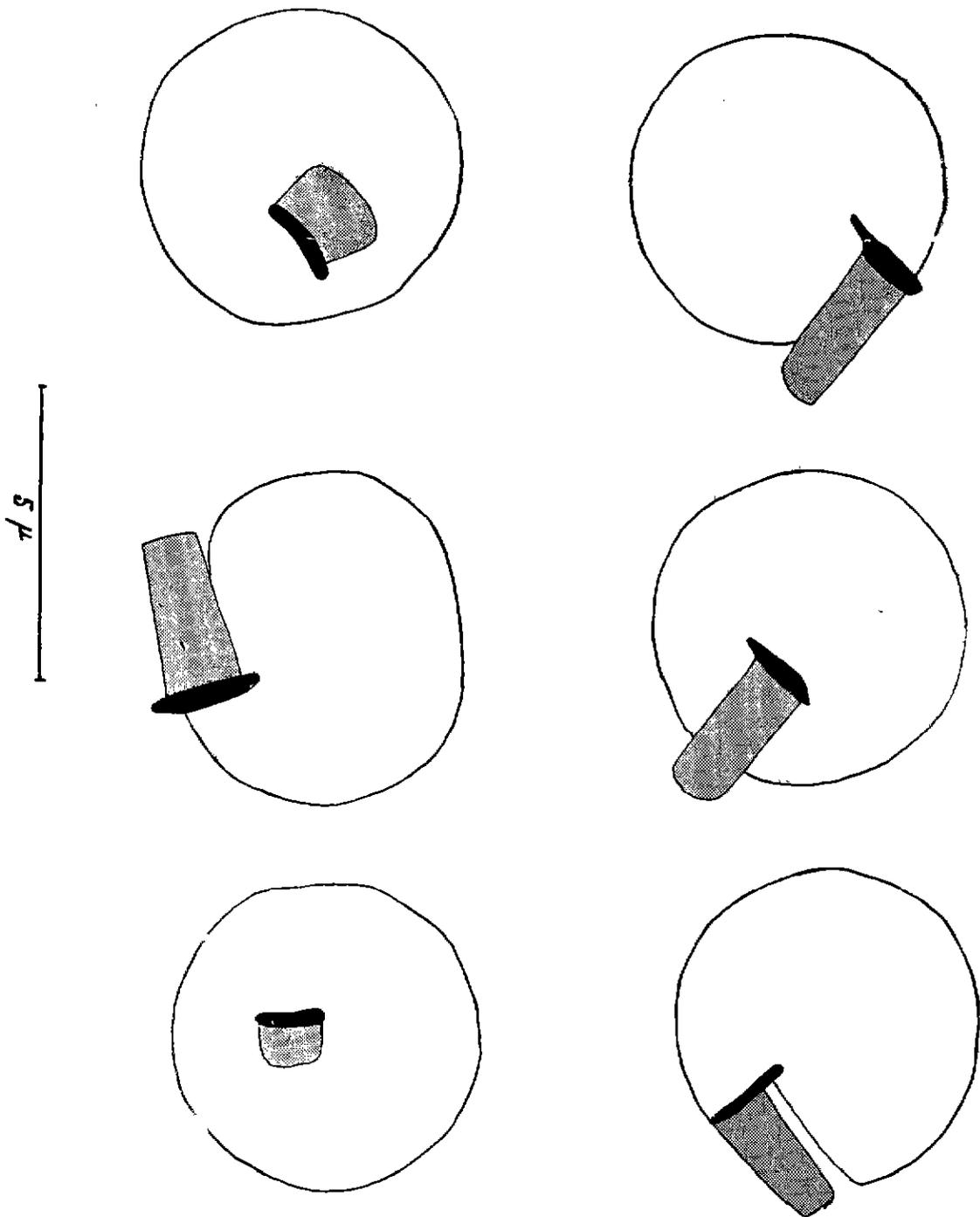


Fig. 1. — *Haematoxenus veliferus*. Bâtonnets entièrement colorés comme la chromatine.

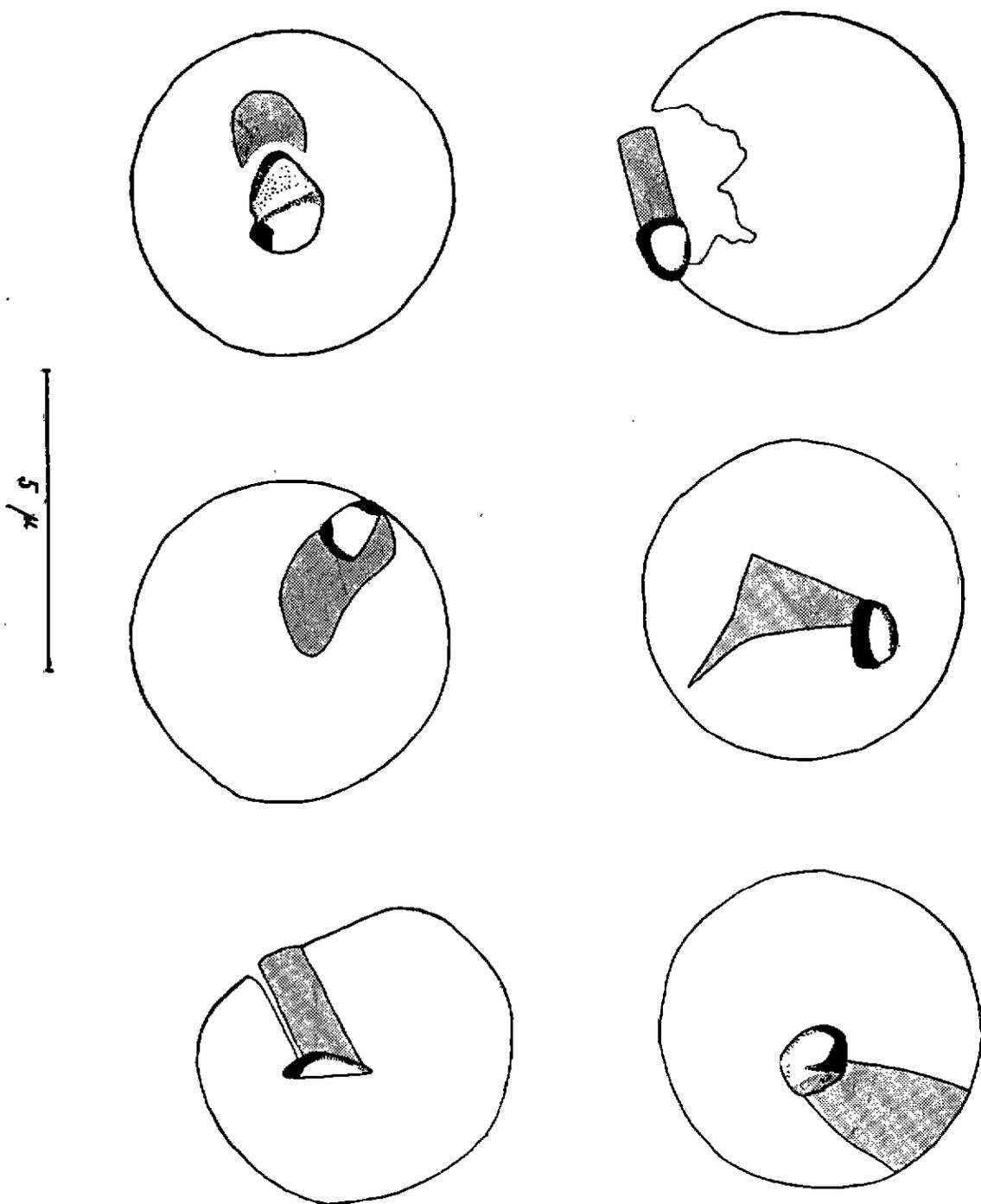


Fig. II. — *Haematoxenus veliferus*. Formes vélifères, ressemblant à *Theileria* et *Babesia*

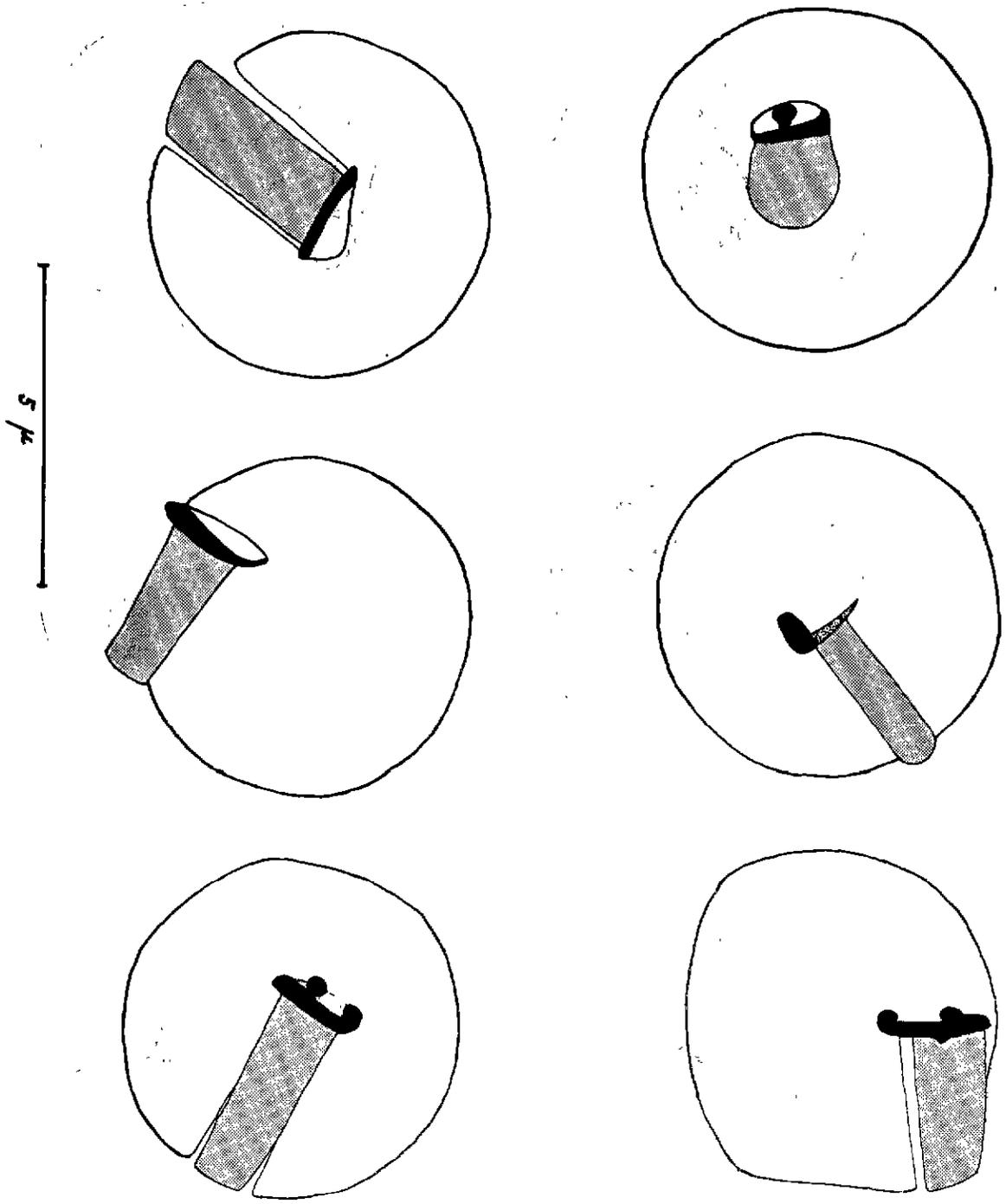


Fig. III. — *Haematoxenus veliferus*. Diverses formes

*Theileriae*, etc. (voir fig. 1), soit présenter une partie claire, et de ce fait ressembler parfois plus ou moins à une *Theileria* ou même à une petite *Babesia*, tout en portant un voile (voir fig. 2). L'on voit des bâtonnets droits, réguliers, d'autres sont en virgule ; certains montrent des excroissances (voir fig. 3). D'autres formes sont ovales, même (rarement) rondes.

La longueur de la plupart des parasites varie entre 1 et 2  $\mu$  avec une moyenne d'approximativement 1,5  $\mu$ , les plus grands ne dépassent pas 2,5  $\mu$ , les plus petits sont d'environ 0,75  $\mu$ . L'épaisseur est difficile à mesurer sur des organismes de si petite taille ; les dessins en donnent une indication.

Le voile, qui prend son origine sur l'organisme, est très délicat ; la couleur varie entre la couleur des érythrocytes (en légèrement plus foncée) et un violet clair. Le voile prend son départ presque toujours latéralement sur le bâtonnet et est en général moins large que la longueur de celui-ci. La longueur du voile varie entre environ 1 et 3,5  $\mu$ . Les dessins indiquent mieux que toute description l'aspect variable que peuvent avoir le parasite et le voile, ainsi que la localisation en rapport à l'érythrocyte infesté. L'aspect de l'organisme avec son voile est très caractéristique.

Nous n'avons pas, avec certitude, observé de formes libres entre les hématies ; l'organisme est toujours associé à celles-ci. Nous ne savons pas s'il est situé sur ou dans l'érythrocyte ; le parasite et la queue ne sont souvent pas dans le même plan que l'hématie ; dans d'autres cas le micro-organisme semble s'y trouver, mais non toujours le voile. Rarement le voile semble couvrir une partie du parasite.

Une zone de l'érythrocyte, le long des bords du voile de l'organisme, est souvent incolore (lysée ?) (Voir certains des dessins).

Nous parlerons plus loin d'éléments sans voile, ressemblant souvent à des petites formes de *Theileria*, et dont nous ne sommes pas certains s'ils appartiennent à l'espèce *H. veliferus* ou s'il s'agit d'une infestation concomitante de *Theileria mutans*, infestation qui serait alors atypique.

Nous n'avons pas observé d'infestation multiple d'un érythrocyte par les formes pourvues d'une bande ; très exceptionnellement il y a dans

une hématie un organisme vélifère et un élément theileriforme sans voile.

#### Autres colorations que celle de Giemsa :

Les formes typiques sont positives au Gram (quelquefois entre positives et négatives, mais jamais vraiment négatives) ; même le voile prend le Gram. Par contre, certaines des petites formes sans voile, ressemblant à des petites *Theileriae*, ne se colorent pas avec le Gram, ce qui donnerait une indication qu'ils n'appartiennent pas à cette nouvelle espèce (*Th. mutans* s'est également montrée négative au Gram).

*H. veliferus* ne se colore pas au bleu de méthylène ordinaire (à 1 pour 100, coloration de 5 minutes).

Il se colore assez bien avec la thionine phéniquée de NICOLLE (coloration de 5 ou 10 minutes). Le voile est également coloré.

Le bleu de STÉVENEL (méthode de PRIESTLEY et MEHDI, 1 minute) le colore, y compris le voile ; l'organisme ressort d'ailleurs moins sur l'érythrocyte qu'avec la thionine, puisque le globule devient assez foncé et le contraste est donc moins net.

Nous n'avons pas retrouvé *H. veliferus* sur des frottis colorés par la réaction de FEULGEN ; il est possible que la substance positive à la réaction soit si petite que nous ne l'ayons pas remarquée. (Les *Babesiae* et *Theileriae* ne possèdent également que peu de substance Feulgen-positive, que l'on retrouve toutefois sur le frottis.)

Ajoutons que, dans le sang frais entre lame et lamelle, nous n'avons pas retrouvé cet organisme.

#### OBSERVATIONS SUR DES ANIMAUX

Comme nous l'avons dit, l'organisme est apparu sur un veau splénectomisé, B 30. Le veau était de race Renitelo (un mélange d'Afrikander, de Limousin et de Zébu local), âgé à la date de sa splénectomie (16/4/64) d'environ 6 mois. Les premiers éléments theileriformes sont apparus dans son sang 4 jours après l'opération, les premiers organismes typiques, pourvus de voile, ont été observés avec certitude 26 jours après la splénectomie (mais, comme nous l'avons dit, peuvent avoir existé plus tôt). L'infestation du sang a graduellement augmenté, pour atteindre,

au début de juin, un maximum de 0,5 à 1 pour 100 d'érythrocytes infestés ; ce maximum s'est maintenu pendant trois semaines et a ensuite graduellement diminué, en persistant toutefois jusqu'à sa mort, plus de trois mois après la splénectomie, mais le nombre de parasites était devenu faible. Une injection de neovarsphénamine (Novarsénobenzol) n'a pas eu d'influence sur le taux de parasitémie (1 g de Novarsénobenzol en intraveineuse, le veau pesant environ 100 kg).

En même temps que les formes vélicifères, nous avons observé sur B 30, ainsi que sur les veaux B 38 et V 5 (voir plus loin), de petits organismes sans voile : bâtonnets en virgule se colorant entièrement comme la chromatine, mais aussi de petites formes ayant un noyau à une extrémité, tandis que la couleur du reste est claire, comme le cytoplasme des *Theileriae* et *Babesiae* ; ces structures ressemblent souvent tout à fait à de petites *Theileriae* (mais également à certaines formes vélicifères). Il est donc possible que ces trois veaux soient également porteurs de *Th. mutans*. Toutefois, nous n'avons pas observé de formes plus grandes, que l'on voit toujours dans les infestations à *Th. mutans*, ni de formes en croix, typiques de *Theileria*. De plus, les taux de parasitémie de ces formes sans voile augmentent et diminuent plus ou moins en même temps que les organismes à voile. Nous pensons donc que ces organismes theilériiformes pourraient également appartenir à l'espèce *H. veliferus*, mais nous n'en sommes pas encore certains.

Nous avons également remarqué, tant sur B 30 que sur V 5, à de très rares occasions, des organismes sans voile, ressemblant à des formes rondes de *Babesia argentina* (Lignières, 1909) (un seul parasite par hématie) ; nous avons pu prouver que B 30 n'était pas porteur de *B. argentina* : une inoculation de sang contenant cet hématozoaire lui a donné un accès thermique et parasitaire, pour finir en une babésiellose cérébrale mortelle.

Le veau B 30 était aussi porteur d'*Eperythrozoon teganodes* Hoyte, 1962, parasite qui a fait une apparition fugace pendant trois jours, environ quatre semaines après la splénectomie.

#### Veau V 5 :

Il s'agit d'un veau de race Rana (race sans bosse, vraisemblablement descendue de bovins

européens importés anciennement), né le 1<sup>er</sup> février 1964 au laboratoire, à l'abri de tiques. Le veau ne montre aucun hématozoaire, jusqu'à sa splénectomie, le 28 avril. *E. teganodes* apparaît dans son sang le 20 mai, accès important, qui dure plusieurs jours. Aucun autre parasite sanguin n'est observé. V 5 est inoculé, le 28 mai, avec 100 cc de sang de B 30, en sous-cutanée. Des formes caractéristiques d'*H. veliferus* sont observées dans son sang à partir du 5 juin, en très faible nombre au début ; le taux de l'infestation augmente graduellement et atteint un maximum d'environ 0,5 à 1 pour 100 d'érythrocytes infestés au début de juillet ; ce taux se maintient actuellement depuis trois semaines. L'on observe également les petits organismes theilériiformes sans voile, dont nous avons déjà parlé.

#### Veau B 38 :

Veau de race Renitelo, en provenance, comme B 30, de Kianjasoa, est splénectomisé le 9/7/64, à l'âge de 8 mois. Des formes typiques d'*H. veliferus*, pourvues de voile, apparaissent dans son sang 4 jours après l'opération ; le taux augmente graduellement jusqu'à ce jour. L'on observe en même temps les petites formes sans voile, ressemblant à de petites *Theileriae*, que nous avons mentionnées auparavant ; aucune forme plus grande de *Th. mutans* n'est remarquée.

#### Bovin non splénectomisé :

Nous recevons le 2 juillet 1964, aux fins de diagnostic, un taurillon malade, de race zébu local, âgé d'environ un an et demi, en provenance de Miarinarivo (à 100 km à l'Ouest de Tananarive). Dans le sang périphérique nous trouvons de rares *H. veliferus* caractéristiques, pourvus de voile, en même temps que quelques *Th. mutans* typiques et de très rares *Babesia bigemina* (SMITH et KILBORNE, 1893). (La cause de la maladie est la rage et la forme cérébrale de la piroplasmose vraie, à *B. bigemina*.)

Nous n'avons pas réussi à transmettre *H. veliferus* à un veau splénectomisé, indemne de tout hématozoaire, avec du sang de B 30, congelé à — 70° pendant 6 jours.

Un jeune bélier de race Mérinos, inoculé avec 100 cc de sang de B 30, ne montre pas d'*H. veli-*

*ferus*. Il est ensuite splénectomisé et inoculé avec 50 cc de sang de V 5, contenant le parasite. L'on ne le trouve pas dans le sang du mouton, pendant une période d'observation d'un mois après la splénectomie.

Le parasite ne semble pas être pathogène. Seul le veau V 5 a eu une hyperthermie de 40°2, pendant 2 jours, 8 jours après l'inoculation du sang de B 30, en même temps qu'*H. veliferus* commençait à apparaître dans le sang de V 5, mais nous ne pourrions affirmer, sur ce fait isolé, que le parasite a été l'origine de la fièvre.

## DISCUSSION

En l'absence de toute connaissance sur la biologie et la multiplication d'*H. veliferus*, nous n'avons aucune idée quant à la classification de cet organisme. Nous ne pouvons dire s'il doit être classé parmi les protozoaires ou s'il se rapproche des bactéries. Certains éléments à voile ont l'aspect de protozoaires (*Theileria*, même (rarement) *Babesia*), d'autres ressemblent à des bacilles ou des *Haemobartonellae*. S'il était prouvé que les petits organismes theilériiformes, dépourvus de voile, appartiennent à la même espèce, nous aurions peut-être affaire à un nouveau protozoaire non pigmenté du sang. Pour l'instant, il semble inutile de spéculer sur la question.

Quant aux organismes avec lesquels nous aurions pu confondre *H. veliferus* :

Les formes à voile et même certains éléments bacilliformes sans voile sont morphologiquement si différentes de *Th. mutans*, qu'il n'y a aucun doute possible quant à leur identité différente.

Nous avons considéré la possibilité que nous avions affaire à une infestation par *Haemobartonnella bovis* (DONATIEN et LESTOQUARD, 1934), parasite non encore observé à Madagascar ; l'existence de formes caractéristiques à voile, l'absence d'infestations multiples des érythrocytes, le fait qu'*H. veliferus* prend le Gram, tandis que les *Haemobartonellae* sont négatives au Gram (WEINMAN, 1957), ainsi qu'une comparaison aux descriptions d'*H. bovis* de DONATIEN et LESTOQUARD (1934) et d'ADLER et ELLENBOGEN (1934), nous ont montré qu'il n'en est rien.

Nous avons également pensé à la description d'*Haemobartonnella microti* TYZZER et WEINMAN, 1939, dont certaines formes portent une bande (TYZZER et WEINMAN, 1939) mais les différences avec les *Haemobartonellae* (coloration au Gram, absence d'infestations multiples, aspect protozoaires de certains éléments, etc..) sont importantes.

Nous pensons dans ce contexte également aux formes d'*Anaplasma marginale* THEILER, 1910, portant des queues et des voiles, qu'ont observées entre autres BOYNTON (1932), ESPANA e. a. (1959), MADDEN (1962), KREIER et RISTIC (1963a et 1963b) et ESPANA et ESPANA (1963), toutefois avec des techniques spéciales. KREIER et RISTIC (1963b) font même des nouvelles espèces de ces formes.

Ajoutons encore que *Th. mutans* et *E. teganodes* se sont montrés négatifs au Gram, tandis qu'*A. marginale* prenait le Gram.

*H. veliferus* semble se multiplier après l'ablation de la rate.

Puisque nous ne pouvons assimiler ce parasite à aucun genre connu, nous croyons devoir en faire un genre nouveau ; il est possible que des recherches ultérieures sur sa biologie montrent que l'on puisse le rapprocher d'un genre existant.

Les modes de multiplication et de transmission naturelle sont inconnus. L'absence d'infestations multiples et de formes extra-cellulaires montreraient que le parasite ne se multiplie vraisemblablement pas dans le sang périphérique. Une biopsie du foie et d'un ganglion prescapulaire de V 5 ne nous ont rien appris, de même que l'autopsie de B 30.

**Nature du voile :** Il est souvent très délicat, parfois à peine plus foncé que l'érythrocyte infesté. Fait-il partie du parasite, ou consiste-t-il en cytoplasme érythrocytaire altéré, en train d'être digéré par le parasite ? La dernière hypothèse pourrait expliquer le fait que l'érythrocyte montre souvent une lacune autour du voile, comme si l'hémoglobine y avait été lysée.

Des frottis de sang, colorés suivant Giemsa, contenant *H. veliferus* ont été envoyés aux collections de l'Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux à Maison-Alfort (France), du Veterinary Institute, Beit Dagan (Israël), du Veterinary Research Institute d'On-

derstepoort (Afrique du Sud), et du Department of Parasitology, University of Queensland, Brisbane (Australie). Nous tenons d'autres frottis à la disposition des chercheurs intéressés.

Nous remercions Messieurs G. RASAONA et

G. ANDRIANJAFY de leur excellente collaboration technique.

Tananarive, le 30 juillet 1964

Laboratoire Central de l'Elevage,

Service d'Entomologie-Protozoologie.

### SUMMARY

*Haematoxenus veliferus*, n. g., n. sp.,

blood parasite *Incertae sedis* of bovines in Madagascar

The author describes a new parasite, *Haematoxenus veliferus*, g. n., sp. n., found associated with the bovine erythrocytes in Madagascar.

The morphological appearance is characteristic by the presence of a delicate velum attached to the parasite. Certain organisms that do not possess a velum may also belong to this species. This organism seems to be influenced by splenectomy. It does not appear to be pathogenic. Its classification is uncertain.

### RESUMEN

*Haematoxenus veliferus*, n. g., n. sp.,

parásito *Incertae sedis* de la sangre de los bovinos en Madagascar

El autor describe un nuevo parásito, *Haematoxenus veliferus*, g. n., sp. n., encontrado asociado con eritrocitos de bovinos en Madagascar.

El aspecto morfológico es característico por la existencia de un ligero velo unido al parasitado. Ciertos elementos sin velo pertenecen acaso a esta especie. El organismo parece influido por la esplenectomía. No parece ser patógeno. Su clasificación es incierta.

### BIBLIOGRAPHIE

- ADLER, S. et ELLENBOGEN, V. (1934). — A note on two new blood parasites of cattle, *Eperythrozoon* and *Bartonella*. *J. comp. Path.*, 47 : 219-221.
- BOYNTON, W. H. (1932). — Further observations on anaplasmosis. *Cornell Vet.*, 22 : 10-28.
- DONATIEN, A. et LESTOQUARD, F. (1934). — Sur une *Bartonella* nouvelle du bœuf, *Bartonella bovis* n. sp. *Bull. Soc. Path. exot.*, 27 : 652-654.
- ESPANA, E. M. et ESPANA, C. (1963). — *Anaplasma marginale*. II. Further studies of morphologic features with phase contrast and light microscopy. *Amer. J. vet. Res.*, 24 : 713-722.
- ESPANA, C., ESPANA, E. M. et GONZALEZ, D. (1959). — *Anaplasma marginale*. I. Studies with phase contrast and electron microscopy. *Amer. J. vet. Res.*, 20 : 795-805.
- KREIER, J. P. et RISTIC, M. (1963a). — Anaplasmosis. X. Morphologic characteristics of the parasites present in the blood of calves infected with the Oregon strain of *Anaplasma marginale*. *Amer. J. vet. Res.*, 24 : 676-687.
- KREIER, J. P. et RISTIC, M. (1963 b). — Anaplasmosis. XII. The growth and survival in der and sheep of the parasites present in the blood of calves infected with the Oregon strain of *Anaplasma marginale*. *Amer. J. vet. Res.*, 24 : 697-702.
- MADDEN, Ph. A. (1962). — Structures of *Anaplasma marginale* observed by using fluorescent antibody technique. *Amer. J. vet. Res.*, 23 : 921-924.
- TYZZER, E. E. et WEINMAN, D. (1939). — *Haemobartonella*, n. g. (*Bartonella* olim parte), *H. microti*, n. sp. of the field vole, *Microtus pennsylvanicus*. *Amer. J. Hyg.*, 30 : 141-157.
- WEINMAN, D. (1957) Dans : Breed, R. S., MURRAY, E. G. D. et SMITH, N. R. — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7<sup>e</sup> Edition. Londres, Baillière's, Tindall & Cox Ltd. Pages 968-977.