

Une rickettsiale nouvelle du rat de Gambie (*Cricetomys gambianus*) au Sénégal : *Grahamella kaniae* n. sp. (*Bartonellaceae*)

par S. GRETILLAT (1), X. MATTEI (2) et B. MARCHAND (2)

(1) « La Moutonnerie », 37400 Nazelles-Négron (France).

(2) Laboratoire de Zoologie, Faculté des Sciences, Dakar, Rép. du Sénégal.

RÉSUMÉ

Des examens hématologiques pratiqués sur 20 *C. gambianus* capturés au Sénégal dans les régions du Sine-Saloum et de la Presqu'île du Cap Vert, permettent de mettre en évidence chez 60 p. 100 d'entre eux une rickettsiale intraérythrocytaire du genre *Grahamella* Brumpt, 1911.

C'est un élément allongé de 1 à 1,5 μ de long, légèrement rétréci en son milieu (0,25 μ), se multipliant par bipartition à l'intérieur de l'hématie, mais présentant aussi des phases de prolifération sous forme d'éléments coccoïdes de 0,1 à 0,3 μ de diamètre envahissant massivement le sang à l'occasion d'une déficience de l'organisme.

Lors d'infection chronique sans symptômes morbides, une hématie sur 50 à 60 est envahie par 30 à 40 *Grahamella*. Un stress, un état de polyparasitisme, peuvent déclencher une véritable septicémie avec apparition de troubles de l'hématopoïèse, hémorragies cutanées, troubles respiratoires et parfois accidents nerveux suivis de mort.

Cette nouvelle espèce de *Bartonellaceae* semble bien inféodée au rat de Gambie. Elle est décrite sous le nom de *Grahamella kaniae* n. sp. Les puces pourraient être le vecteur de cette rickettsiale.

En 1980 et 1981, au cours de deux enquêtes épidémiologiques sur les réservoirs animaux éventuels du virus de l'hépatite B humaine (HBV) au Sénégal, ont été capturés dans les régions de la Presqu'île du Cap Vert, du Sine Saloum (Fatik) et du Baol (Bambey) des rongeurs et des insectivores pour étude sérologique par l'Institut de Virologie de Tours.

Ont été piégés et autopsiés 60 *Cricetomys gambianus* Waterh (Rat de gambie), 29 *Rattus norvegicus* Berk (Rat gris), 13 *Mus musculus* L. (Souris grise), 31 *Taterillus* sp. Thom. (*T. gracilis* ou *T. pyzargus*) (Gerbille), 11 *Atelerix albiventris* Pomel (Hérisson à ventre blanc) et 9 *Crocidura occidentalis* Puch (Musaraigne africaine).

MATÉRIEL ET MÉTHODES D'ÉTUDE

Parmi ce matériel, 20 *C. gambianus* adultes, mâles et femelles (6 en provenance du Sine Saloum et 14 capturés dans la proche banlieue de Dakar) ont été mis en observation pendant quelques jours pour examen clinique et examens hématologiques avant d'être autopsiés.

Mis en cage, ce rongeur dont l'habitat est un terrier de grandes dimensions à proximité des habitations et des magasins et qui se déplace surtout la nuit, subit un très fort choc physique et psychique qui suffit à révéler des infections latentes ou chroniques.

Sur 5 d'entre eux, on remarque au bout de 24 à 48 h des signes évidents de fatigue avec

pâleur des muqueuses, hyperthermie. Puis apparaissent, en quelques jours, des zones dépilées où la moindre contusion ou frottement entraîne une hémorragie superficielle. En même temps, surviennent chez trois sujets des troubles respiratoires (dyspnée et polypnée) et des troubles nerveux avec incoordination motrice. Ils meurent les 4^e et 5^e jours.

Examens hématologiques

Etalements sanguins prélevés au niveau du bout de la queue et colorés par la méthode de MAY-GRÜNWARD et GIEMSA.

Sont mis en évidence :

a) Dans les hématies de 14 rats de Gambie (60 p. 100 des animaux examinés), un procaryote du genre *Grahamella* Brumpt, 1911 (*Bartonellacae*).

b) Dans les neutrophiles et les monocytes de 2 *C. gambianus* (10 p. 100) une Rickettsiale du genre *Cytoecetes* Tyzzer, 1938 (*Ehrlichiae*).

c) Libre entre les cellules sanguines chez un rat, une Spirochaetale du genre *Borrelia*.

Les trois animaux les plus infestés par *Grahamella* sont très anémiés avec un hémato-crite très abaissé (36, 40, 42) et hémolyse prononcée. L'image sanguine est très perturbée avec nombreux érythroblastes, anisocytose, hypochromie, anisochromie et quelques corps d'HOWELL-JOLY. Le nombre d'hématies au mm³ est fortement réduit à 1/2 parfois 1/3 de sa valeur normale (normale : 12 à 14 × 10⁺⁶; animal le plus anémié : 5,1 × 10⁺⁶).

Très forte neutropénie chez les deux porteurs de *Cytoecetes* alors que neutrophilie remarquable chez les infestés par *Grahamella*.

Temps de saignement très allongé mais temps de coagulation apparemment normal.

Examens nécropsiques

A l'autopsie, la seule lésion est une splénomégalie dont l'importance et la fréquence ne semblent pas en relation avec le taux d'infection par *Grahamella*.

L'étude des lésions des différents viscères (foie, rate, poumon, ganglions lymphatiques, cœur, rein) ainsi que la localisation du procaryote en dehors du tissu sanguin sont en cours.

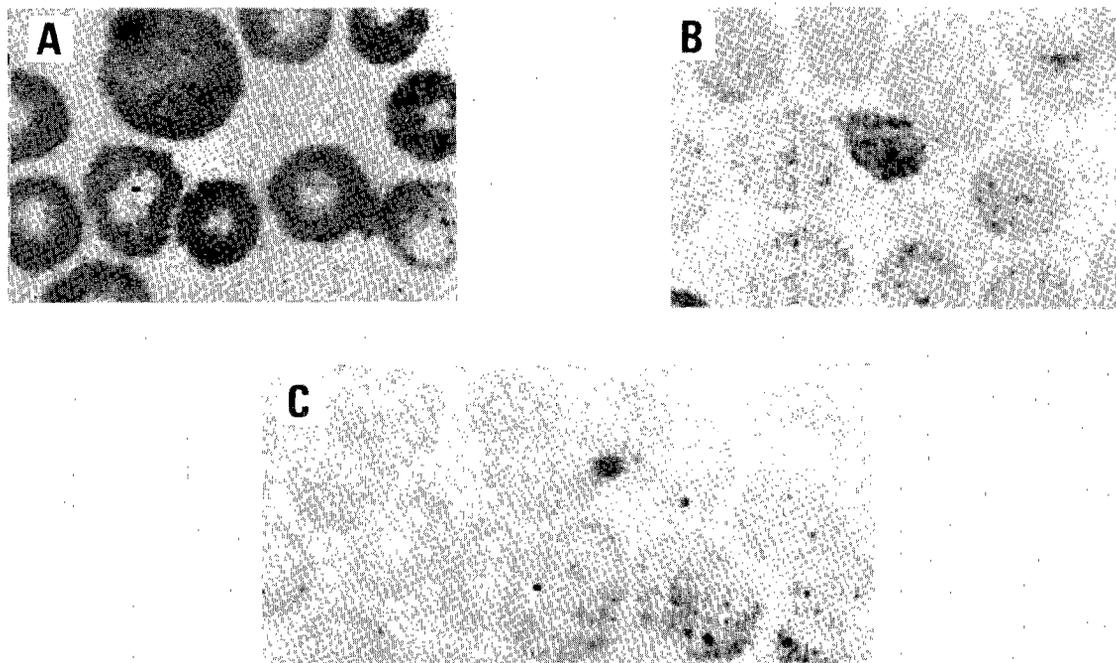


Fig. 1. — *Grahamella kaniae* n. sp.

A — Hématie envahie par une cinquantaine d'éléments. Anisochromie, anisocytose, avec à gauche de l'hématie infectée, un érythroblaste. B — Envahissement d'une hématie de taille réduite par des éléments se multipliant par bipartition et bourgeonnement dans le stroma globulaire. C — Brutale multiplication du procaryote par éléments cocciformes envahissant le sang et les hématies, suite à une déficience de la résistance de l'hôte. Grossissements : A et B = 1 700 ; C = 2 000.

Grahamella kaniae n. sp.

Directement inclus dans le stroma globulaire, il n'existe pas de vacuole l'isolant de l'hématie hôte. Ce procaryote, contrairement à *Haemobartonella* Tyzzer et Weinmann, 1939 et *Eperythrozoon* Schilling, 1928 tous deux exoérythrocytaires, appartient bien au genre *Grahamella* qui est intraérythrocytaire tout comme *Bartonella* Strong *et al.*, 1915. Cependant *Bartonella* peut présenter des formes accolées à la membrane du globule rouge (19).

En forme de bâtonnet de 1 à 1,5 μ de long sur 0,25 μ de large, sa partie médiane est légèrement rétrécie avec chaque extrémité mousse un peu renflée. Certains éléments sont coccoïdes et ont 0,5 μ de diamètre.

Au microscope électronique (fig. 2A et B et 3) par transmission, c'est un organisme bacilliforme sans aucun flagelle, immobile, entouré par une membrane cellulaire très mince qui, aux endroits où elle est décollée du protoplasme laisse apparaître une seconde membrane interne enrobant le cytoplasme qui apparaît granuleux mais filandreux par endroits. Ces éléments filiformes, en chapelets (fig. 3) seraient sans doute d'après KRAMPITZ et KLEIN-SCHMIDT (9) des acides nucléiques (Étude menée sur *G. microti*). Il n'existe aucune membrane nucléaire apparente.

Il se colore fortement en rouge carmin par le MAY-GRÜNWARD et GIEMSA. Chez les infectés chroniques, c'est une hématie sur 50 à 60 qui renferme 30 à 60 éléments ; les érythrocytes les plus envahis ont un diamètre inférieur à celui de la moyenne. (Remarque déjà faite par BRUMPT en 1911 (3) sur *Grahamella talpae*.) La multiplication du procaryote se fait bien par bi-partition mais aussi par bourgeonnement à l'intérieur du globule.

On rencontre de loin en loin des hématies ne renfermant que quelques bâtonnets en voie de multiplication (fig. 1B), associés à des éléments coccoïdes.

Comme l'a si justement fait remarquer BRUMPT (3) chez la *Grahamella* de la taupe, il se produit de temps à autre au cours d'une déficience immunitaire, des phases de reproduction que l'on peut qualifier d'explosives. Ce sont brusquement de très nombreux microcoques de 0,1 à 0,2 μ de diamètre qui envahissent le sang et pénètrent dans 80 à 90 des hématies qu'ils occupent à raison de parfois plusieurs dizaines pour chacune d'elles. C'est une véri-

table septicémie à *Grahamella* déclenchant une hémolyse massive (fig. 1C). Nous avons provoqué expérimentalement ce processus de multiplication par injection de corticoïdes à deux rats de Gambie. A ce sujet, il est intéressant de noter que l'effet provoqué est différent suivant le degré d'infection protectrice « infection immunity » (15) : rats avec un haut taux de parasitémie ou rats avec seulement quelques hématies contaminées. Dans le premier cas, le taux de *Grahamella* diminue fortement dans le sang circulant mais apparaissent dans les trois jours suivants des symptômes alarmants : état subcomateux, hypothermie, hémolyse massive, suivis de mort. Dans le second, il y a seulement un fort envahissement du sang périphérique par le procaryote avec anémie prononcée, anoxie, hyperthermie parfois troubles respiratoires.

C'est GRAHAM-SMITH en 1905 (6) qui remarque pour la première fois des corpuscules colorés dans les hématies du sang d'une taupe. En 1910, TARTAKOWSKI (18) décrit des éléments intraérythrocytaires dans le sang de *Verpestilio noctula* (chauve-souris) qu'il appelle *Grahamia deschunkowski*. Enfin, en 1911, BRUMPT (3) identifie les Corps de GRAHAM-SMITH comme n'étant pas des artefacts ou des taches de colorant mais bien des éléments vivants qu'il dénomme *Grahamella talpae*.

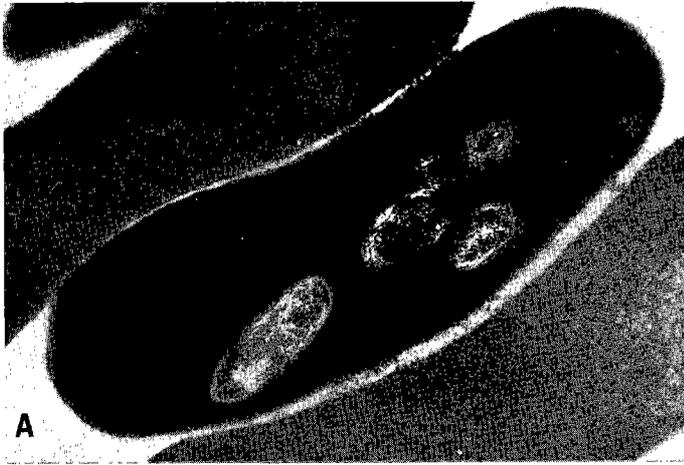
L'espèce décrite de la chauve-souris est intégrée en 1948 dans le genre *Grahamella* par BENGSTON et WEINMAN (1), *G. talpae* restant l'espèce type.

De nombreuses espèces de *Grahamella* ont été décrites sur des mammifères divers, ce sont entre autres : *G. musculi* Benoît-Bazille, 1920 (2) chez *Mus musculus* à Paris, *G. acodeni* Carini, 1924 (4) dans le sang d'un rongeur au Brésil, *Acodon serrensis*, *G. cercopitheci* Malamos, 1935 (12) sur *Cercopithecus nona* dans un laboratoire en Allemagne, *G. microti* Lavier, 1921 sur *Microtus arvalis* (10), *G. couchi* Neitz, 1938 chez le rat multimammaire *Mastomys coucha* en République Sud-Africaine (13).

KAMALOW en 1933 trouve une *Gramahella* chez le loup (7) et en 1935, CARPANO en observe une dans le sang d'une poule (5).

Au sujet de la *Grahamella* de *Cricetomys gambianus*, c'est RODHAIN en 1915 (14) après MACFIE en 1914 (11) au Nigeria qui remarque des corpuscules ressemblant à ce procaryote dans les hématies du Rat de Gambie

Fig. 2. — *Grahamella kaniae* n. sp.



A — Formes en bâtonnets et subsphériques à l'intérieur d'un globule rouge. Densification granuleuse bipolaire mais sans membrane nucléaire ($\times 27\ 000$).



B — Formes en voie de multiplication par bipartition et par bourgeonnement dans le stroma globulaire. Le procaryote est directement inclus dans l'hématie sans être isolé dans une vacuole ($\times 23\ 500$).

Fig. 3. — *Grahamella kaniae* n. sp.
Deux membranes, l'une externe en contact direct avec le stroma globulaire, l'autre interne enrobant le plasma du procaryote.
Éléments moniliformes = acides nucléiques.
Absence de toute membrane nucléaire
($\times 60\ 000$).



en Uele (Congo Belge). SCHWETZ et CABU en 1930 (17) les considèrent comme des éléments pouvant être confondus avec des *Bartonella*. Puis en 1934, SCHWETZ (16) les retrouve dans le sang de *Cricetomys* de la région de Stanleyville chez un tiers environ des spécimens examinés. Il ne fait que signaler leur présence et leur importance mais les rattache au genre *Grahamella*.

En 1966, nous trouvons ce procaryote chez plusieurs *C. gambianus* capturés à Dakar dans le quartier de Yoff. L'un des trois spécimens infestés avait 1/10 de ses hématies porteuses de *Grahamella*.

En Afrique de l'Ouest et particulièrement au Sénégal, ce procaryote est très fréquent chez ce rongeur et comme nous venons de le signaler peut, dans certaines conditions, provoquer l'apparition de troubles hématologiques accompagnés de signes généraux allant parfois jusqu'à la mort de l'animal.

Nous n'avons pas retrouvé cette Rickettsiale dans le sang d'autres rongeurs de la presqu'île du Cap Vert, du Sine Saloum et du Baol. Sa fréquence chez *C. gambianus* semble l'inféoder à ce rongeur. Pensant qu'il s'agit d'une nouvelle espèce déjà signalée par d'autres auteurs, mais cependant jamais décrite, nous la désignerons du nom de son hôte qui en langue sérère est « Kania » *Grahamella kaniae* n. sp.

Epidémiologie

KRAMPITZ et KLEINSCHMIDT en 1960 (9) réussissent à infecter des rongeurs par injection de broyats de puces capturées sur des rongeurs sauvages infectés. Les Aphaniptères sont les vecteurs et hôtes intermédiaires avec un cycle chez la puce. En 1962, KRAMPITZ (8) trouve que la salive des puces n'est pas virulente mais ce sont les excréments qui sont contaminants (souillure de la plaie par les fèces de l'insecte).

Au Sénégal, *C. gambianus* est très parasité par des puces qui trouvent dans la litière et les débris qu'accumule ce rongeur dans son terrier, des conditions idéales pour effectuer leur cycle évolutif.

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'équilibre instable que représente la présence du procaryote chez des sujets apparemment en bonne santé, semble démontrer qu'il ne s'agit pas d'immunité vraie. Nombreux sont les *C. gambianus* qui s'accommodent de la présence de *Grahamella* dans leurs hématies dont la pathogénicité est très variable suivant la résistance générale de l'animal. Si cette dernière vient à diminuer, la virulence du germe peut aller jusqu'à provoquer l'hémolyse alors qu'elle se limite en général à une diminution de l'érythropoïèse et une neutrophilie prononcée.

On retrouve un processus pathogénique à peu près semblable dans les affections à *Haemobartonella* des animaux domestiques (chien, chat, cheval).

REMERCIEMENTS

Le Dr Seydil TOURÉ, Directeur Scientifique au Ministère de la Recherche Scientifique au Sénégal et Chef du Service de Parasitologie au Laboratoire de Recherches vétérinaires de Dakar et M. G. VASSILIADES, Chef du Service d'Helminthologie dans le même organisme de recherches, nous ont fourni une aide appréciable dans l'accomplissement de ce travail. Nous les en remercions bien vivement, ainsi que M. Mané ALASSANE, aide de laboratoire, qui a collaboré aux autopsies, prélèvements et examens hématologiques.

Ce travail a été réalisé en partie grâce à une mission scientifique au Sénégal financée par le Ministère de la Coopération (Paris).

SUMMARY

A new Bartonellaceae, *Grahamella kaniae* n. sp., an intraerythrocytic prokaryote of the rodent *Cricetomys gambianus* (Giant Rat) in Senegal (West Africa)

Giant Rat (*Cricetomys gambianus* Waterh) is a big rodent very common in West Africa. Its burrow is bordering upon huts and lofts in the african villages. Omnivorous, it is more or less a commensal of the man.

The blood of 20 adults ♂ and ♀ specimens captured in the Sine Saloum (Fatik) and Presqu'île du Cap Vert (Dakar) regions was examined (peripheric blood smears).

In 60 p. 100 (12/20) of hemograms, an intraerythrocytic organism of the genus *Grahamella* Brumpt 1911 was observed.

Rod-shaped and carmine-coloured by staining technic of May-Grünwald and Giemsa, it is an unflagellate element. Slightly narrowed in the median part, it is 1 to 1.5 μ long and 0.25 μ wide. Multiplication by bipartition in the red cell plasma that may be occupied by 30 to 40 *Grahamella*. In chronic infection without morbid signs, 1/50 to 1/60 hematocyte is only infected.

Electron micrograph of thin sections of red cells infected by *Grahamella* shows an element with a cell wall surrounding cytoplasmic masses which are enclosed in a cytoplasmic membrane. Nuclear region (bundles of moniliform chains = nucleic acids) is not surrounded by a nuclear membrane. Intraerythrocytic position. Bipolar densification of the cell plasma. The prokaryote is directly included in the erythrocyte plasma : no host cell vacuole is visible.

Stress, polyinfection, polyparasitism or immuno-depressor effects, determine an intense proliferation of *Grahamella* by micrococcus elements (diameter : 0.1 to 0.3 μ) invading the systemic circulation. In that cases : septicæmia, anaemia ; haematopoiesis with respiratory and nervous disorders ; hyperthermia and weakness precede the death.

This prokaryote is the first *Bartonellacæ* found in the blood of the Giant Rat. It is named *Grahamella kaniae* n. sp. (« Kania » is the name of *C. gambianus* in « serere » language of Fatik region of Senegal).

The fleas seem to be the vectors or this prokaryotic element.

RESUMEN

Una nueva *Bartonellacæ* de las hematias de *Cricetomys gambianus* (Rata de Gambia) en Senegal (Africa del Oeste) : *Grahamella kaniae* n. sp.

Cricetomys gambianus es un grueso roedor del tamaño de un medio conejo. Es muy común en los pueblos africanos donde su madriguera es a menudo proxima de las casas o de los graneros. Omnivora, la Rata de Gambia es un comensal del hombre.

La sangre periférica (rabo) de veinte especímenes adultos machos y hembras, fué examinada después de una coloración con la técnica de May-Grünwald y Giemsa (microscopio optico), y sobre laminas finas de hematias infectadas (microscopio electrónico).

Se distinguen dentro del plasma de algunas hematias (1/50 a 1/60), elementos de color carmin, en forma de bastoncillos midiendo 1 a 1,5 μ de largo y 0,25 μ de ancho con su parte media ligeramente estrecha. Asi se demuestra la manera como prolifera por bipartición *Grahamella* Brumpt, 1911, cuyo número puede alcanzar 30 a 40 en una sola hematia huesped. El examen con fuerte aumento permite de ver alrededor del elemento una primera membrana externa sin flagelo, y una segunda que encierra el protoplasma. No hay membrana nuclearia, pero los ácidos nucleicos (cadenas en rosario) son amontonados en los dos polos de la celula.

Este procarionto es directamente incluido en el plasma del glóbulo rojo, ninguna vacuola le aísla.

Una poliinfección, el poliparasitismo, una deficiencia en la lucha del organismo del roedor (falta de inmunización) contribuyen a la aparición de un modo especial de multiplicación de la *Grahamella* (micrococcus de 0,1 a 0,3 μ de diametro) que invade la sangre. Entonces aparecen anemia, calentura, y desordenes respiratorios, nerviosos y del tetuano, antes de la muerte.

Es la primera *Bartonellacæ* encontrada en la sangre de la Rata de Gambia. Se llamara *Grahamella kaniae* n. sp., porque la palabra « kania » es el nombre de *Cricetomys gambianus* en idioma « serere » hablado en la región de Fatik (Sine Saloum) donde fueron capturados los roedores.

Los huespedes intermediarios de esta *Grahamella* serian quizas las pulgas, asi como en el caso de *G. talpae* del topo.

BIBLIOGRAPHIE

- BENGSTON (L.) et WEINMAN (D.). In : BREED (R. S.), MURRAY (G. D.) and HITCHENS, ed. Bergey's manual of determinative bacteriology. 6th ed., Baltimore, Maryland, Williams and Wilkins, 1948, pp. 1110-1113.
- BENOIT-BAZILLE (H.). Note sur une *Grahamella* : *Grahamella musculi* n. sp. trouvée dans le sang de *Mus musculus*. Bull. Soc. Path. exot. 1920, 13 : 408-416.
- BRUMPT (E.). Note sur le parasite des hématies de la taupe : *Grahamella talpae* n. sp. n. gen. Bull. Soc. Path. exot., 1911, 4 : 514-517.
- CARINI (A.). Sur une *Grahamella* : *Grahamella acodini* n. sp., trouvée dans le sang de *Acodon serrensis*. Anns Parasit. hum. comp., 1924, 2 : 253.
- CARPANO (M.). Sur un nouveau microparasite du type *Grahamella*, *Rickettsia* observée chez les poulets. Anns Parasit. hum. comp., 1935, 13 : 238-242.

6. GRAHAM-SMITH (G. S.). A new form of parasite found in the red blood corpuscles of voles. *J. Hyg.*, 1905 : 453-459.
7. KAMALOW (N.). *Grahamella* bei dem Wolfe. *Ztbl. Bakt. Parasitenk. Infektionk.*, Abt. I. Orig. 1933, **128** : 195-197.
8. KRAMPITZ (H. E.). Weitere untersuchungen an *Grahamella* Brumpt, 1911. *Z. Tropenmed. Parasitol.*, 1962, **13** : 34-53.
9. KRAMPITZ (H. E.), KLEINSCHMIDT (A.). *Grahamella* Brumpt, 1911. Biologische und morphologische untersuchungen. *Z. Tropenmed. Parasitol.*, 1960, **11** : 336-352.
10. LAVIER (G.). Hémogrégarines, *Grahamella*, Spirochète et Trypanosome du campagnol indigène *Microtus arvalis* Pallas. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1921, **14** : 569-576.
11. MACFIE (J. W. SCOTT). Note on some blood parasites collected in Nigeria. *Am. J. trop. Med. Parasit.*, 1914, **8** : 439-468.
12. MALAMOS (B.). *Grahamella* bei affen. *Ztbl. Bakt. Parasitenk. Infektionk.*, Abt. I, Orig., 1935, **134** : 152-153.
13. NEITZ (W. O.). The occurrence of *Grahamella couchi* sp. nov. in the multimammate mouse (*Mastomys coucha*) in South Africa. *Onderstepoort J. vet. Sci.*, 1938, **10** : 27-32.
14. RHODAIN (J.). Quelques hématozoaires des petits mammifères de l'Uele (Congo belge). *Bull. Soc. Path. exot.*, 1915, **8** : 726.
15. RISTIC (M.), KREIER (J. P.). Hemotropic bacteria. *New Engl. J. Med.*, 1979, **501** : 937.
16. SCHWETZ (J.). Recherches sur les *Grahamella*, les *Bartonella* et *Eperythrozoon* des rats et des souris de Stanleyville (Congo belge). *Annts Parasit. hum. comp.*, 1934, **12** : 396-404.
17. SCHWETZ (J.) et CABU (F.). Notes sur les *Grahamella-Bartonella* des rats splénectomisés de Stanleyville (Congo belge). *Bull. Soc. Path. exot.*, 1930, **23** : 464-473.
18. TARTAKOWSKI (M. E.). Piroplasmose bei fledermausen (*Vespertilio noctula*) und ihre vermittler. *Trav. Congr. int. Med. vét.* 9th 1910, **4** : 242.
19. WEINMAN (D.), KREIER (J. P.). *Bartonella* and *Grahamella* in : KREIER (J. P.). Parasitic Protozoa. New York, Academic Press, 1977, pp. 198-229.