

Une rickettsiale nouvelle (*Ehrlichiae*) des leucocytes du sang du rat de Gambie (*Cricetomys gambianus*) au Sénégal : *Cytoecetes kamtchoulii* n. sp.

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 hémogrammes pratiqués sur 20 rats de Gambie (*Cricetomys gambianus*) capturés dans la région de la Presqu'île du Cap Vert (Dakar) au Sénégal, permettent de mettre en évidence dans les granulocytes neutrophiles et les monocytes du sang périphérique, une rickettsiale du genre *Cytoecetes*, Tyzzer 1938.

Si les « corps élémentaires » de 0,1 à 0,3 μ de diamètre à la limite de la visibilité, apparaissent inclus directement dans le protoplasme de la cellule hôte, les « corps initiaux » de 1 à 1,5 μ de diamètre deviennent très tôt intravacuolaires dès leur première division « forme en haltère », avant de donner une forme « morula » placée dans une vacuole. Chaque élément est entouré d'une double membrane, l'une externe, l'autre interne ; il est le produit d'un processus de multiplication au cours duquel la morula atteint 2,5 à 3,5 μ de diamètre et peut déformer le noyau des monocytes.

Cytoecetes kamtchoulii n. sp. est présent chez 10 p. 100 des rongeurs examinés dont 60 p. 100 hébergent une *Grahamella* et 5 p. 100 (1 sujet) de très nombreuses *Borrelia*.

Les tiques (Ixodidés) qui vivent dans le pelage de ces rats pourraient être les vecteurs de cette rickettsiale.

En février 1981, au cours d'une enquête épidémiologique sur les réservoirs animaux éventuels de l'hépatite humaine B au Sénégal (*), l'examen systématique du sang périphérique de 20 *Cricetomys gambianus* capturés dans la Presqu'île du Cap Vert (Dakar) permet de mettre en évidence deux Rickettsiales.

La première a une position intraérythrocytaire ; elle est présente chez 60 p. 100 des animaux examinés et appartient à la tribu des *Bartonellaceae* et au genre *Grahamella* Brumpt, 1911.

(*) Mission scientifique effectuée pour le compte de l'Institut de Virologie de Tours et financée par le Ministère de la Coopération, Paris.

La seconde est une *Ehrlichiae* genre *Cytoecetes* Tyzzer, 1938. Située dans les polynucléaires neutrophiles et les monocytes, elle est l'objet de la présente note.

Le Rat de Gambie (*Cricetomys gambianus* Waterh)

C'est un rongeur (*Rodentia*) de la famille des *Muridae*. De grande taille, certains vieux spécimens mâles pèsent plus de 2 kg et mesurent jusqu'à 0,65 m de longueur, queue comprise.

Son aire géographique s'étend pratiquement à toutes les régions de l'Afrique au Sud du Sahara.

Commensal de l'Homme, il ne vit pas comme le rat gris (*Rattus norvegicus*) à l'intérieur des habitations, mais établit son terrier à proximité des cases villageoises ou non loin des magasins quand il habite la ville. Il est très fréquent dans la proche banlieue dakaroise (Presqu'île du Cap Vert). Réputé végétarien, c'est en réalité un omnivore car très volontiers éboueur, il se nourrit aussi bien de grains que de reliefs culinaires.

Le milieu tellurique où il passe la moitié de sa vie — n'aimant pas la grande lumière, il ne sort pratiquement que la nuit — est idéal pour la diversité et la prolificité d'ectoparasites hématophages (acariens et aphaniptères). La litière dont le Rat revêt le sol de sa loge de repos ainsi que les réserves alimentaires accumulées par lui dans le terrier où règnent une température et une hygrométrie à peu près constantes, sont des biotopes idéaux pour la réalisation du cycle évolutif de ces arthropodes. Toutes ces conditions écologiques alliées aux mœurs vagabondes de *C. gambianus* font de ce dernier un bon « réservoir de virus » au sens très large du terme.

Cytoecetes kamtchoulii n. sp.

Dans le sang de deux *C. gambianus* (10 p. 100 des animaux mis en observation), après coloration au May Grünwald et Giemsa, certains granulocytes neutrophiles ainsi que des monocytes présentent des inclusions pouvant être morphologiquement rattachées à une *Ehrlichiae* (fig. 1E, F, G, H, I).

Ces éléments sont semblables à ceux décrits par DONATIEN et LESTOQUARD (2) pour *Ehrlichia canis*.

Ce sont des « corps élémentaires = *elementary bodies* » de 0,1 à 0,3 μ de diamètre, certains à la limite de la visibilité. Petits grains finement colorés en rouge carmin par le May Grünwald et Giemsa. Ils sont disséminés dans le protoplasme du leucocyte (fig. 1E).

Beaucoup plus volumineux et subsphériques, de 1 à 1,5 μ de diamètre, des « corps initiaux = *initial bodies* » se colorent en rouge violacé. Seuls ou associés par paire (formes en haltères), ils apparaissent inclus dans une vacuole qui les isole de la cellule hôte dès leur première division (fig. 1F).

La forme « morula » mesure de 2,5 à 3,5 μ de diamètre. Les corps qui la constituent sont alignés en rangées de 2 à 4 mais parfois irrégulièrement dispersés. Leur forme et leurs dimensions sont variables. Examinés au microscope électronique (fig. 3A et 2), ils sont coniques, pyramidaux et subsphériques. Comme l'ont montré NYINDO *et al.* (7) pour la morula d'*Ehrlichia canis*, il existe une membrane vacuolaire qui isole l'ensemble dans une vacuole cytoplasmique. Chaque élément est lui-même délimité par une membrane cellulaire externe et une membrane interne enrobant le plasma. Il existe d'autre part, parmi les constituants de la morula, de petites formes arrondies sans membrane distincte mais nettement individualisées (fig. 3A). La morula déforme parfois le noyau du monocyte (fig. 1G et I).

Selon SMITH et RISTIC (11), le genre *Ehrlichia* est localisé dans les monocytes du sang circulant, alors que le genre *Cytoecetes* décrit par TYZZER en 1938 (13) chez le petit rongeur américain *Microtus pensylvanicus* est inclus dans les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles du sang périphérique. C'est aussi le cas pour *C. ondiri* (DANKS, 1933) agent causal de la bovine petechial fever ou *Ondiri disease* au Kenya, pour *C. phagocytophila* (GORDON *et al.*, 1932) tick borne fever des moutons et des bovins en Grande-Bretagne et pour *C. equi* STANNARD *et al.* 1969 (12) de l'ehrlichiose équine aux USA. *C. ondiri* est cependant rencontré dans certains mononucléaires de la rate.

Les *Ehrlichiae* décrites des rongeurs et autres animaux sauvages sont à notre connaissance *Ehrlichia kurlovi* Moshkovski, 1937 (6) des monocytes du cobaye; *Cytoecetes microti* Tyzzer, 1938 (13) espèce type, des granulocytes d'un petit rongeur américain *Microtus pensylvanicus*; *Rickettsia (Donatiella) delpyi* Rousset, 1948 (10) des lymphocytes d'une gerbille iranienne splénectomisée (*Tatera indica*); enfin en 1943, CANHAM (1) décrit un élément ressemblant à une *Ehrlichiae* dans les leucocytes du sang d'un pigeon.

De par sa localisation (neutrophiles et monocytes) que l'on ne retrouve pour aucune des autres espèces déjà décrites et par la morphologie des éléments de sa forme « morula » proches de ceux décrits pour *C. ondiri* par KRAUSS *et al.* en 1972 (5) (fig. 3B), nous pensons qu'il s'agit d'un *Cytoecetes* et c'est dans ce genre que nous rangeons cette *Ehrlichiae* malgré sa présence dans les monocytes.

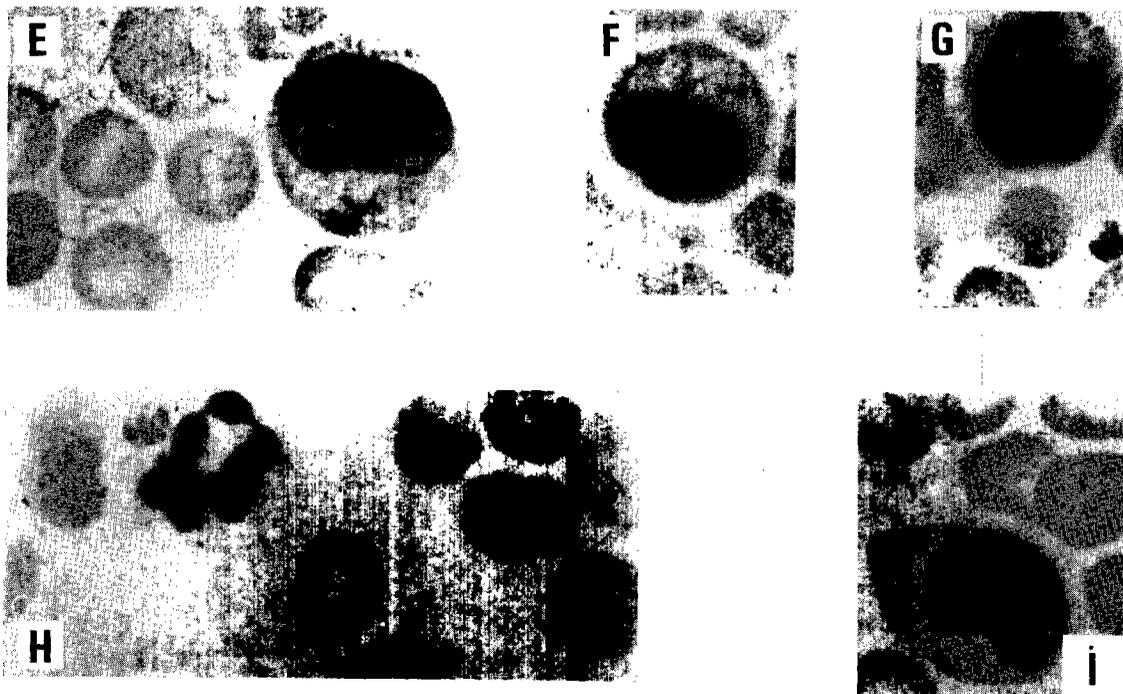


Fig. 1. — *Cytoecetes kamtchoulii* n. sp.

- E — Monocyte avec corps élémentaires à un pôle et corps initiaux à l'autre pôle ; *Borrelia* sp. à gauche.
 F — Monocyte avec corps initial en haltères dans une vacuole. G — Monocyte avec morula déformant le noyau.
 H — Neutrophile avec morula à gauche. *Grahamella* ayant envahi une hématie à droite.
 morula déformant le noyau et début de vacuolisation du protoplasme ($\times 1700$).



Fig. 2. — *Cytoecetes kamtchoulii* n. sp. Détails de la forme morula située dans le protoplasme d'un granulocyte : Existence de deux membranes enveloppant chaque élément, l'une externe et l'autre interne. Vacuolisation importante du cytoplasme du globule blanc chez lequel on remarque une intense action phagocytaire avec nombreux pseudopodes ($\times = 18\ 000$).

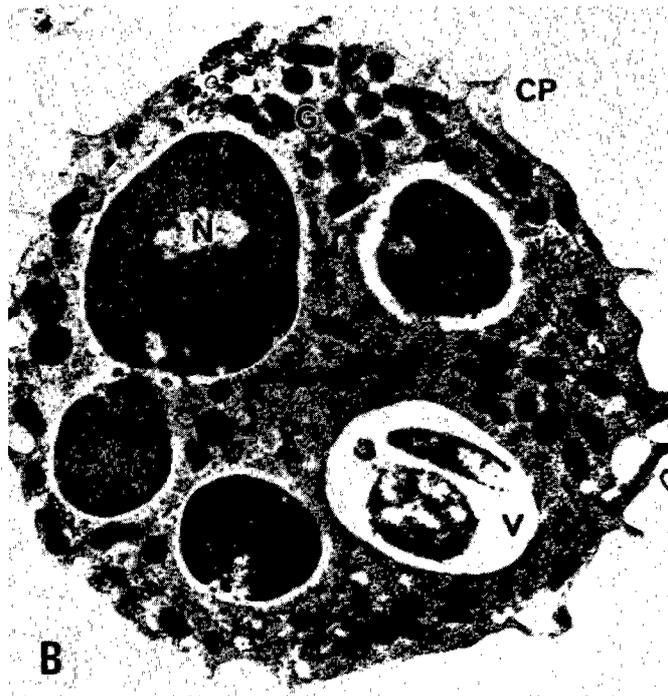
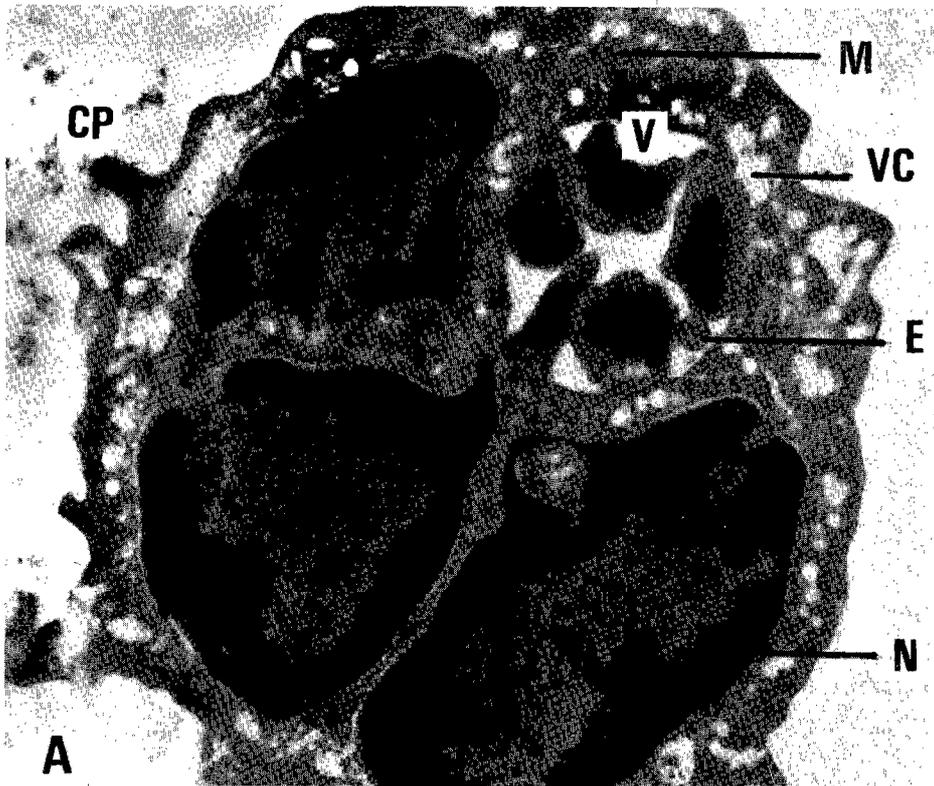


Fig. 3. — A — *Cytoecetes kamtchoulit* n. sp., « morula » dans un polynucléaire neutrophile ;
 E — petit élément sans membrane distincte ; CP — pseudopode démontrant une intense activité phagocytaire ;
 N — noyau du neutrophile ; M — mitochondrie ; V — vacuole renfermant la morula ; VC — vacuole cytoplasmique
 dénotant une souffrance de la cellule hôte ($\times = 24\ 200$).
 B — *Cytoecetes ondiri* forme « morula » dans un polynucléaire neutrophile ($\times 17\ 500$)
 (d'après KRAUSS *et al.*, 1972).

En conséquence, nous la considérons comme une espèce nouvelle et l'appelons du nom de son hôte qui en langue ouoloff est « *kamtchouli* » *Cytoecetes kamtchoulii* n. sp.

Borrelia sp.

Un des rats de Gambie mis en observation (5 p. 100 des animaux examinés) a le sang circulant fortement envahi par une Spirochaetale du genre *Borrelia*. Cet organisme se colore en rose pâle par le May Grünwald et Giemsa, mesure 16 à 24 μ de long et comporte 4 à 7 spires (fig. 1E).

REMARQUES GÉNÉRALES, DISCUSSION ET CONCLUSION

Toutes les *Ehrlichiae* provoquent une importante leucopénie accompagnée de thrombocytopénie avec de graves troubles médullaires et de la coagulation (11).

C'est ce que nous avons pu remarquer chez les deux *C. gambianus* porteurs des inclusions que nous venons de décrire. Hémorragies cutanées, anémie très prononcée, présence d'érythroblastes dans le sang circulant et surtout très importante leucopénie en ce qui concerne les neutrophiles.

Il y a lieu cependant de noter que les deux rats de Gambie examinés étaient aussi infectés par *Grahamella* et l'un deux par *Borrelia* dont il ne

faut pas sous-estimer la pathogénicité (fig. 1E et H).

Au point de vue épidémiologique, s'il est prouvé que les *Grahamella* sont transmis par les Aphaniptères (4), le *Cytoecetes* que nous venons de signaler et de décrire doit l'être comme les autres *Ehrlichiae* par un *Ixodidae* du terrier de ce rongeur.

C'est à notre connaissance la deuxième *Ehrlichiae* signalée au Sénégal après *Ehrlichia bovis* (2), remarquée par RIOCHE (9) chez les bovins de la Presqu'île du Cap Vert. Il serait sans doute intéressant de comparer sérologiquement ces deux souches ouest-africaines.

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 Laboratoire 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 et aux examens hématologiques.

SUMMARY

Cytoecetes kamtchoulii n. sp. a new rickettsia (*Ehrlichia*) of the monocytes and polynuclear neutrophil leukocytes of the rodent *Cricetomys gambianus* (Giant Rat) in Senegal (West Africa)

Among 20 hemograms (peripheric blood smears) carried out upon some adults ♂ and ♀ Giant Rats, (*Cricetomys gambianus*) captured in the Dakar region, two (10 p. 100) are infected by one Rickettsiale of the *Ehrlichiae* tribe and of the *Cytoecetes* genus Tyzzer, 1938.

Polymorphonuclear neutrophil leukocytes and monocytes, more or less 1/25, and monocytes, more or less 1/40, of the systemic circulation are infected by « elementary bodies » (diameter : 0.1 to 0.3 μ) included in the cell protoplasm and bundled at one or two poles of the cell. They grow and become « initial bodies » (diameter : 1 to 1.5 μ). Sometimes dumbbell-shaped forms indicate an early particle division. They are included in a small but visible vacuole. The multiplication and the growth tend to the formation of an intravacuolar « morula » (diameter : 2.5 to 3.5 μ) that can deform the monocyte nucleus. Electron micrographs of thin sections of polynuclear neutrophil leukocytes infected by morula show that each element of the morula is surrounded by two membranes (internal and external).

This prokaryotic element is carmine-coloured by staining technic of May-Grünwald and Giemsa.

Hypochromia, anisochromia, anisocytosis, poikilocytosis, leukopenia (especially neutrophils), with hematopoiesis disorders (bone marrow lesions) and hematopedesis are observed.

It is the first species of *Cytoecetes* infecting both monocytes and polynuclear neutrophil leukocytes of systemic circulation.

The two Giant Rats, were also infected by some *Grahamella* and one massively by a spirochete of the genus *Borrelia*. Polyparasitism is probably the cause of the general and important blood disorders observed.

This *Cytoecetes* is the second *Ehrlichiae* found in Senegal after *Ehrlichia bovis*.

It is named *Cytoecetes kamtchoulii* n. sp., «Kamtchouli» is the name of *Cricetomys gambianus* in Oualoff language of the Presqu'île du Cap Vert region.

The ticks (*Ixodidae*) that live in the burrows of the rodent seem to be the vectors of this rickettsia.

RESUMEN

Una nueva rickettsia *Cytoecetes kamtchoulii* n. sp. de los leucocitos del roedor *Cricetomys gambianus* (Rata de Gambia) en Senegal (Africa del Oeste)

Entre veinte hemogramas hechos a partir de la sangre periférica sacada al nivel del rabo de ratas de Gambia adultas de los dos sexos colorados con la técnica de May-Grünwald y Giemsa, dos de ellos (10 p. 100), tienen leucocitos neutrofilos y monocitos infectados por una rickettsia (*Ehrlichiae*), del género *Cytoecetes* Tyzzer, 1938.

En el protoplasma de estos glóbulos blancos, se presentan «cuerpos elementarios» incluidos directamente en la célula huésped. Son de muy pequeño tamaño (0,1 a 0,3 μ de diámetro) colorados en carmín y amontonados en uno o dos sitios. Se van a crecer hasta formar elementos más grandes (1 a 1,5 μ) llamados «cuerpos iniciales» cuyos algunos son en forma de balancín. Una pequeña vacuola los aísla del protoplasma del glóbulo blanco.

El crecimiento se acaba por la formación de una «morula» (2,5 a 3,5 μ de diámetro) que puede deformar el núcleo del monocito.

Con el ayuda de un grueso aumento (microscopio electrónico) (láminas finas de granulocitos neutrofilos infectados con una morula), se nota una vacuola aislando la morula del protoplasma del leucocito. Alrededor de cada elemento existen dos membranas, externa e interna, que encierran un plasma sin núcleo visible.

Se notan hipocromia, anisocromia, anisocitosis, poikilocitosis, leucopenia (especialmente leucocitos neutrofilos), hemorragias cutáneas. Las dos ratas de Gambia estaban también infestadas por *Grahamella* y macizamente por una espiroqueta del género *Borrelia*. El poliparasitismo es sin duda la causa de estos importantes síntomas mórbidos.

Este *Cytoecetes* es la segunda especie de *Ehrlichiae* encontrada en Senegal después de *Ehrlichia bovis* del ganado.

Se llama *Cytoecetes kamtchoulii* n. sp. porque en «oualoff», idioma que se habla en la península del Cabo Verde, donde los roedores fueron capturados, la palabra «kamtchouli» es el nombre de la Rata de Gambia.

Garrapatas son numerosas en la madriguera de *C. gambianus*. Podrían ser los vectores de esta rickettsia que es la primera *Ehrlichiae* que infesta conjuntamente monocitos y neutrofilos.

BIBLIOGRAPHIE

- CANHAM (A. S.). A Rickettsia-like organism found in the blood of pigeons. *J. S. Afr. vet. med. Assoc.*, 1943, **14** : 83-89.
- DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.). Existence en Algérie d'une rickettsiose du chien. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1935, **28** : 418-419.
- HAIG (D. A.) et DANSKIN (D.). The aetiology of bovine petechial fever (Ondiri disease). *Res. vet. Sci.*, 1962, **3** : 129-133.
- KRAMPITZ (H. E.) et KLEINSCHMIDT (A.). *Grahamella* Brumpt, 1911. Biologische und morphologische Untersuchungen. *Z. Tropenmed. Parasit.*, 1960, **15** : 34-53.
- KRAUSS (H.), DAVIES (F. G.), ODEGAARD (O. A.) et COOPER (J. E.). The morphology of the causal agent of bovine petechial fever (Ondiri disease). — *J. comp. Path.*, 1972, **82** : 241-252.
- MOSHKOVSKI (C.). Sur l'existence chez le cobaye d'une rickettsiose chronique déterminée par *Ehrlichia kurlovi* (*Rickettsia kurlovi* subgen. nov. sp. nov., *C. R. Séanc. Soc. Biol.*, 1937, **126** : 379-382.
- NYINDO (M. B. A.), RISTIC (M.), HUXSOLL (D. L.) et SMITH (A. R.). Tropical canine pancytopenia; *in vitro* cultivation of the causative agent *Ehrlichia canis*. *Am. J. vet. Res.*, 1971, **32** : 1651-1658.
- RISTIC (M.) et KREIER (J. P.). Hemotropic bacteria. *New Engl. J. Med.*, 1979, **501** : 937.
- RIOCHE (M.). La rickettsiose générale bovine au Sénégal. *Rev. Elev. Med. vét. Pays trop.*, 1966, **19** : 485-494.
- ROUSSELOT (R.). *Rickettsia (Donatiella) delpyi* n. subgen. n. sp. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1948, **41** : 110-112.
- SMITH (R. D.) et RISTIC (M.). *Ehrlichiae*. In : KREIER (J. P.). Parasitic protozoa. New York, Academic Press, 1977, pp. 198-229.
- STANNARD (A. A.), GRIBBLE (D. H.) et SMITH (R. S.). Equine ehrlichiosis : A disease with similarities to tick borne fever and bovine petechial fever. *Vet. Rec.*, 1969, **84** : 149-150.
- TYZZER (E. E.). *Cytoecetes microti* n. gen. n. sp. a parasite developing in granulocytes and infection small rodents. *Parasitology*, 1938, **30** : 242-257.