

FORMATION INTRALEUCOCYTAIRE CHEZ CHAMÆLEO LATERALIS (2) PROCESSUS LEUCEMIQUE A INCLUSIONS

A. DODIN et E. R. BRYCOO

Dans le cadre d'une étude de la parasitologie des caméléons de Madagascar nous avons observé et étudié une formation intraleucocytaire particulièrement intéressante du fait des différents problèmes de pathologie comparée qu'elle soulève.

MORPHOLOGIE

Nos premières constatations furent faites sur des frottis de sang prélevés à la queue ou par ponction carotidienne chez des *Chamaeleo lateralis* capturés à Tananarive.

Nous avons ensuite complété l'étude de la morphologie par l'observation des prélèvements effectués au cours de la maladie expérimentale.

A l'état frais certains leucocytes montrent des vésicules déformant le protoplasme en faisant saillie sous la membrane. Les plus grosses vésicules renferment souvent un corps réfringent.

Après coloration au Giemsa, on observe des modifications de la morphologie des leucocytes qu'il est tentant de présenter comme les aspects successifs d'un même phénomène. Ce sont des vésicules très petites de 1 à 5-10 de μ m, situées en n'importe quel point du cytoplasme. Ces vésicules, au nombre de deux ou trois, sont parfaitement arrondies et bordées par une couronne très mince hyperbasophile. Au cours de l'évolution, ces formations augmentent de volume, sans changer ni de forme ni de coloration. Formées d'une substance hyaline elles se colorent uniformément en gris bleu. Les vésicules deviennent ensuite coalescentes, constituant de grosses bulles à l'intérieur du cytoplasme. A ce stade, les bulles renferment souvent une masse blentée dont la forme rappelle celle d'un globoïde apparemment libre à l'intérieur de la bulle.

Dès l'apparition des premières vésicules, on note une modification de la structure du noyau soit qu'il se forme une vésicule indépendante à l'intérieur de celui-ci, soit que la vésicule cytoplasmique l'enveloppe par contiguïté.

L'altération du noyau se traduit par une raréfaction de la chromatine, en dentelle, à l'intérieur de la vésicule tandis que l'on observe une densification importante de la chromatine nucléaire

2) Note en cours de présentation à la Société de Pathologie comparée.

restante. Celle-ci se présente alors sous la forme d'un croissant très coloré.

Le stade ultime semble être l'éclatement du protoplasme et du noyau avec libération du globoïde.

Après coloration de Feulgen, les vésicules jeunes apparaissent en rouge-violet, de la même intensité que le noyau de la cellule. Celui-ci présente les premières altérations du réticulum chromatinien. A un stade ultérieur le noyau est un amas dense d'acides nucléiques. Le globoïde ne prend pas le Feulgen.

Il existe autour des vésicules une intense activité enzymatique mise en évidence par les réactifs des peroxydases.

Avec la technique de FØRYKER (3) (immersion des lames dans un bain de chlorure de Neotetrazolium - tampon phosphate succinate de soude 0,3 M, le témoin étant constitué par le même bain où le succinate est remplacé par de l'eau distillée), nous avons mis en évidence à la périphérie du nucléole une activité enzymatique qui pourrait être d'origine succinodéshydrogénasique.

De même, avec la technique de L. ARVY (4) (bain de neotetrazolium en tampon phosphate pH 7,2 - chlorhydrate d'histamine 5 mg/ml) s'est révélée à la périphérie de la vésicule une activité enzymatique probablement du domaine des histaminases.

La recherche d'une tyramino-oxydase s'est révélée négative.

Les colorations spécifiques du glycogène et des graisses ne donnèrent aucun renseignement sur la constitution de la formation étudiée.

FREQUENCE

L'examen du sang de 248 *Chamaeleo lateralis* en provenance de Tananarive nous a permis d'observer seize fois l'existence de cette anomalie. Soit un pourcentage de fréquence naturelle de 6,4 p. 100. Deux de ces seize caméléons étaient en outre porteurs de *Pirhemocylon* (2).

Par contre l'examen du sang de 65 *Chamaeleo oustaleti* en provenance de la côte Ouest, de 22 *C. lambertoni* en provenance de Tananarive et de 8 *C. verrucosus* en provenance de la côte Est ne nous a pas permis de retrouver cette anomalie.

TRANSMISSION EXPERIMENTALE

Par inoculation à des *C. lateralis* indemnes, de différents produits prélevés sur des caméléons porteurs de l'anomalie leucocytaire, nous avons obtenu la transmission de cette altération. Le passage en série fut réalisé et nous avons actuellement en observation un caméléon au neuvième passage.

Nous avons d'abord essayé la transmission par inoculation intrapéritonéale de 1-10⁻⁶ de ml de sang. Sur huit essais nous n'avons eu que trois succès.

Nous avons ensuite utilisé des broyats de rate. L'injection de 0,1 ml de broyat de rate nous donna cinq succès pour cinq essais.

Puis nous nous sommes adressés au caillot blanc que forme en se coagulant le sang des caméléons infectés. L'insertion sous-cutanée d'un fragment de caillot à un caméléon sain lui transmet l'anomalie : six succès sur six essais.

Enfin dans le but de disposer d'une plus grande quantité de matériel infectant nous avons utilisé un broyat du caméléon complet débarrassé de sa peau, de sa tête et de son tube digestif. Ce produit de broyage fut lui-même reconnu infestant dans cinq cas sur cinq essais.

Des essais de transmission après filtration sur bougie Chamberland L3 sont en cours, les premiers résultats sont positifs. Ils devront être contrôlés.

Des essais de transmission à *C. oustaleli* et à *C. verrucosus* sont également en cours.

Ces différentes expériences d'inoculation nous ont permis de contrôler que l'agent pathogène étudié conservait « sa virulence » lorsque le produit pathologique était conservé pendant trente jours à $+13^{\circ}$.

EVOLUTION

Tous les caméléons chez lesquels nous avons vu apparaître cette modification morphologique des globules blancs sont morts avec une hyperleucocytose considérable, une anémie très importante et souvent une importante hypertrophie splénique.

Nous avons suivi l'évolution de l'affection d'une part chez des caméléons trouvés infestés spontanément et d'autre part chez les sujets inoculés. Tous nos animaux en expérience sont conservés en terrarium grillagé et par conséquent directement soumis aux conditions atmosphériques. L'apparition des premiers leucocytes anormaux chez les caméléons inoculés varie notablement avec la température extérieure. L'incubation qui était de trois à neuf jours au moment de la saison chaude atteignit treize à vingt-cinq jours pendant la saison froide.

La durée de l'évolution varie également selon la saison. Son maximum est passé de vingt et un jours pendant la saison chaude à quarante-deux jours pendant la saison froide.

Nous avons suivi les variations du nombre des « globules » blancs chez les caméléons en expérience par prélèvement de sang à la queue avec la pipette de Malassez. Chez le *C. lateralis* normal le nombre des globules blancs est de 3.700 par mm³, ce chiffre étant la moyenne des numérations effectuées sur 37 caméléons. Si l'on considère le nombre des globules blancs par mm³ en fonction du poids du sujet :

Sur 14 caméléons pesant de 10 à 20 g, la moyenne est de 3.589;

Sur 3 caméléons pesant moins de 10 g, la moyenne est de 3.700;

Sur 2 caméléons pesant plus de 20 g, la moyenne est de 3.300.

Pour un certain nombre de spécimens nous avons suivi les variations du nombre des leucocytes chez l'individu normal. Trois

furent suivis pendant vingt jours avec une numération tous les deux jours. Le chiffre moyen trouvé pour 11 numérations fut de 4.200. Les écarts par rapport à cette moyenne ne dépassèrent pas 1.050. Pour dix-sept caméléons suivis pendant quatre jours avec 3 numérations le chiffre moyen fut de 3.500, les écarts par rapport à cette moyenne ne dépassèrent pas 890.

Nous avons suivi l'évolution de la leucocytose chez cinq caméléons trouvés spontanément porteurs de l'anomalie. Le nombre des globules blancs était pour ces cinq spécimens de 5.600, 13.400, 28.400, 30.000, 31.000 au moment de la capture. Trois des caméléons avaient, au moment de leur mort, respectivement 31.800, 35.100 et 52.800 globules blancs par mm³. Deux furent sacrifiés avant leur mort; ils avaient 23.200 et 54.000 globules blancs par mm³.

Chez quatre caméléons inoculés (A, P, C, D) nous avons pu suivre l'évolution de la leucocytose depuis l'apparition du premier globule blanc «parasité» dans le sang périphérique jusqu'à la mort de l'animal. Pour le caméléon A, dont le nombre moyen de globules blancs était de 4.170 avant l'inoculation, ce chiffre passa de 6.800 à 60.200 en vingt-cinq jours de maladie. Pour le caméléon B ces chiffres étaient respectivement de 5.400, 9.600 et 24.800 pour une évolution de treize jours. Pour le caméléon C de 4.200, 6.200 et 32.600 avec une évolution de quinze jours et pour le caméléon D de 5.800, 7.000 et 23.400 avec une évolution de treize jours.

Pour deux autres caméléons, l'un (E) ayant présenté une infestation spontanée discrète au moment de la capture, l'autre (H) ayant été inoculé, nous avons suivi l'évolution en dénombrant les leucocytes normaux et anormaux pour cent hématies (tableau).

Jours	Caméléons					
	I			II		
	Leucocytes pour cent hématies					
	Total	Normaux	Altérés	Total	Normaux	Altérés
1.....	3	7	1	11	12	2
2.....	21	12	9	14	12	7
4.....	17	9	3	13	11	7
5.....	19	13	6	20	11	9
6.....	34	21	13	33	18	15
7.....	34	19	15	40	16	24
8.....	29	6	23	35	11	21
9.....	20	3	26	31	3	23
10.....	23	0	23	33	5	23

Les chiffres de ce tableau confirment les résultats des numérations de globules blancs. Ils montrent l'augmentation du nombre relatif des leucocytes pour cent hématies et la généralisation de l'altération des globules blancs au cours de l'évolution.

Les altérations leucocytaires qui, au début, s'observent dans les leucocytes « mûrs » apparaissent ensuite dans des formes cellulaires de plus en plus « jeunes » pour se rencontrer en fin d'évolution dans des cellules immatures de type réticulaire, celles-ci pouvant représenter 50 p. 100 des éléments touchés.

Fréquemment les caméléons parasités montrent à l'autopsie une hypertrophie splénique importante. Alors que le poids de la rate chez le caméléon « normal » est inférieur à 1 mg nous avons obtenu chez les animaux parasités des rates pesant de 2 à 6 mg, l'une d'elle atteignant le chiffre record de 7,70 mg. Cependant la rate du caméléon augmentant facilement de volume avec les infections microbiennes ou avec le parasitisme à *Pirhemocylon*, l'hypertrophie splénique ne peut être considérée comme un signe spécifique de l'affection étudiée.

DISCUSSION

Lorsque nous avons observé pour la première fois cette formation, nous avons pensé qu'il pouvait s'agir d'un aspect normal, d'un stade physiologique transitoire de l'évolution du globule blanc du caméléon. Rapidement, nous sommes rendu compte qu'il ne s'agissait pas d'une bande figure de phagocytose ni même d'un aspect normal du leucocyte. Le nombre relativement restreint d'animaux présentant cette anomalie, la possibilité de la voir apparaître par inoculation à un animal sain, l'augmentation progressive du nombre des leucocytes atteints et leur aspect évolutif nous font admettre que les formations intra-leucocytaires observées sont les manifestations d'une maladie du leucocyte.

Nous envisageons actuellement l'hypothèse d'une origine virale de cette affection ce que semblent confirmer nos premiers résultats d'inoculation avec matériel filtré sur bougie L 3.

Les recherches bibliographiques que nous avons pu faire, obligatoirement restreintes du fait de notre éloignement de tout centre universitaire, ne nous ont donné que peu de références.

TyZZER (4) a décrit une formation intraleucocytaire des leucocytes de *Microtus pennsylvanicus*. Cet organisme présentait une organisation: interne poussée. Il ne semble donc pas y avoir identité entre ces deux formations.

Il est intéressant de souligner une certaine analogie morphologique entre les modifications que nous avons observées et celles décrites dans les maladies à polyédres des insectes. Les descriptions et l'iconographie données récemment par SMITH et XIROS (5) à propos de la maladie à polyédres de *Tipula paludosa* sont particulièrement intéressantes.

RESUME

Les auteurs décrivent chez *Chamaeleo lateralis* de Tanamarive une maladie du globule blanc à manifestations microscopiques visibles entraînant chez l'animal parasité un processus leucémique mortel.

REFERENCES

- (1) ARVY L. Techniques actuelles d'histoenzymologie. Biol. Med. 1954, 7, 118.
- (2) DODIS A. et BAYGOO E.-R. *Pirhemocytton chamaeleonis* n. sp. parasite des hématies de *Chamaeleo lateralis* observé à Madagascar. Bul. Soc. Path. exot. 1956, 49, 807-810.
- (3) FORBNER A.-G., DENHAM S.-W. et GELI P.-A. Cancer 1954, 7, 311-7.
- (4) TYZZER E.-E. *Cytocoetes microlis* n. g. n. sp. A parasite developing in granulocytes and infective for small rodents. Parasitology 1938, 30, 112-116.
- (5) SMITH K. et XERGS N. An unusual Virus Disease of a Dipterous Larva. Nature, Lond., 1951, 173, 866.