

## SUR UNE COCCIDIE ATYPIQUE DE *VIPERA ASPIS*

Par G. LAVIER

Dans une brève note préliminaire, L. Léger a signalé en 1904, chez les vipères aspics du Dauphiné, deux coccidies intestinales, l'une très fréquente, *Diplospora fragilis*, l'autre, moins commune, *Caryospora simplex*, présentant la particularité d'être monosporée et constituant ainsi un type alors nouveau de coccidie.

Du premier de ces deux parasites, il n'a alors donné (ni, à ma connaissance par la suite), aucune description, ni mensuration, ni aucune étude de la sporulation. Le nom seul est resté que le jeu un peu simpliste des règles de la nomenclature a fait verser dans le genre *Isospora* ; en effet le nom *Diplospora*, Labbé désignait le même genre de Coccidies diplosporées octozoïques que A. Schnéider avait antérieurement nommé *Isospora*. Mais *Diplospora fragilis*, qui est une coccidie disporée, est-elle octozoïque et doit-elle par suite rentrer dans le genre *Isospora* ? en fait nous n'en savons rien, car Léger n'a pas précisé ce point, et après lui personne n'a signalé d'*Isospora* chez *Vipera aspis*. Cela ne laisse pas à première vue de paraître étrange car le savant grenoblois la signalait comme fréquente (50 p. 100 des vipères d'Uriage en étaient infectées). Or, Mme Phisalix qui a recherché les coccidies intestinales chez 9 de nos 11 espèces de serpents indigènes a rencontré dans toutes une coccidie également disporée mais tétrazoïque, *Cyclospora viperae* Phisalix 1923. Elle a précisément décrit ce parasite chez *Vipera aspis* où elle est très fréquente (160 individus parasités sur 165, provenant de Bourgogne et de Fontainebleau) ; elle n'a par contre jamais rencontré d'*Isospora*. On est ainsi amené à se demander si la coccidie diplosporée de Léger ne serait pas en réalité *Caryospora viperae*. Une question de nomenclature se trouverait ainsi soulevée mais facile, il me semble, à résoudre, car si l'appellation de Léger a une priorité considérable, de dix-neuf années, elle ne constitue en réalité qu'un *nomen nudum* et ne saurait supplanter le nom spécifique plus récent, mais accompagné d'une description précise. Ce n'est là d'ailleurs qu'un point curieux à envisager en passant.

La deuxième coccidie trouvée par Léger est plus intéressante et

il en a donné en 1911, une description détaillée, cette espèce étant le type du genre *Caryospora* ; elle fut d'ailleurs longtemps seule à constituer ce genre, mais depuis quelques années d'autres espèces en ont été décrites chez des serpents : *Caryospora brasiliensis* Carini 1932, de *Chlorosoma æstivans* ; *C. legeri* Hoare 1932, de *Psammophis sibilans* ; *C. japonica* Matsubayashi 1937 (1), de *Natrix tigrina* ; et même chez un oiseau, car Hoare a montré que *Eumonospora tremula* Allen 1933, de *Cathartis aura septentrionalis* devait en réalité rentrer dans le genre *Caryospora* (2).

*Caryospora simplex* qui ne paraît pas être une coccidie fréquente, puisque Mme Phisalix dit ne l'avoir jamais rencontrée, a été décrite par Léger avec les caractères suivants :

Schizogonie dans les cellules intestinales : les schizontes jeunes sont situés au-dessus du noyau, au voisinage du plateau cellulaire ; en grandissant ils s'allongent un peu, puis se divisent pour donner de 15 à 20 schizontes groupés en faisceau ou en un barillet souvent tordu et mesurant de 5 à 10  $\mu$  de longueur ; les microgamétocytes, sphéroïdes, de 6-9  $\mu$  de diamètre occupent aussi dans la cellule une situation superficielle, de même que les macrogamètes. Ces derniers sont sphériques, mesurant à maturité 12-15  $\mu$  de diamètre ; leur cytoplasme est chargé de grains de réserve et souvent de petits grains d'excrétion. L'oocyste sphérique a 10-15  $\mu$  de diamètre. Sa paroi est épaisse, jaunâtre, relevée en un point d'une petite saillie lenticulaire qui correspond peut-être à un micropyle. Le contenu en est fortement granuleux. En chambre humide, sans addition d'antiseptique, la sporogonie se fait très lentement (en un mois environ) : le contenu se rétracte en sphère qui laisse autour d'elle un assez large espace libre, puis il s'allonge en un sporoblaste ovoïde qui s'acumine à un pôle ; à l'intérieur du sporocyste unique se différencient lentement, huit sporozoïtes disposés en méridiens ou en spire autour d'un reliquat qui diminue graduellement pour n'être plus représenté que par quelques granules réfringents ; le sporocyste mesure de 11 à 14  $\mu$  (en moyenne 12) de longueur sur 8 de largeur. Parfois sa paroi ne se forme pas et les huit sporozoïtes sont alors libres dans l'oocyste avec le reliquat ; cela, dit Léger, « semble se produire surtout lorsque le milieu dans lequel mûrissent les kystes est encombré de microorganismes, bactéries, etc. ».

(1) L'auteur écrit *Caryospora japonicum*.

(2) Yakimoff et Matschulsky réclament pour le nom spécifique de cette coccidie la priorité en faveur de *Caryospora henryi* Yakimoff et Matikaschwili 1932, décrite d'abord comme *Isospora henryi*.

J'eus l'occasion, en août 1936, de sacrifier et autopsier une *Vipera aspis* prise à Richelieu (Indre-et-Loire). A l'ouverture de l'intestin, toute la partie moyenne présentait une muqueuse œdématisée et saignante avec par places des ulcérations à axe transversal. L'examen microscopique du mucus montra, outre des hématies et des *Eutrichomastix*, de nombreux oocystes sphériques de coccidies; une recherche attentive d'amibes ne permit pas d'en observer. L'intestin fixé et coupé a révélé au niveau de la zone hémorragique des altérations profondes: desquamation exfoliative de l'épithélium arrivant par places jusqu'à la dénudation complète de l'axe conjonctivo-vasculaire des villosités, lui-même œdématisé et infiltré par des cellules lymphoïdes à noyaux en pycnose; en d'autres places les villosités ont été rasées et les capillaires béants dans l'ulcération; d'une façon générale les vaisseaux sont fortement dilatés, et prennent à un faible grossissement l'aspect de lacs sanguins. Dans certaines plages toutefois, les dégâts sont moindres et la muqueuse bien qu'infiltrée et présentant de nombreuses mitoses est encore présente. On peut alors y constater la présence de nombreuses formes coccidiennes.

Les stades les plus jeunes, sphériques, mesurent  $2\ \mu$  environ de diamètre et sont situés au voisinage du noyau, entre celui-ci et la surface épithéliale. Avec l'accroissement de taille, ils ne tardent pas à se diviser (fig. 1 a), pour donner des figures de schizogonie (fig. 1, b), formées d'une vingtaine environ de mérozoïtes en bananes mesurant de  $8\text{ à }10\ \mu$  de longueur sur  $2\ \mu$  de largeur. Les microgamétocytes (fig. 1, c, d), sphéroïdes ou légèrement ovoïdes, ont de  $8\text{ à }12\ \mu$  de diamètre; ils occupent dans la cellule une situation superficielle presque au contact du plateau. Il en est de même pour les macrogamètes sphériques, dont les formes les plus jeunes (fig. 1, e), mesurent  $3\ \mu$  environ de diamètre pour atteindre de  $12\text{ à }15\ \mu$  à la maturité. Au fur et à mesure de leur croissance, leur cytoplasme se bourre d'inclusions qui, dans les préparations colorées par l'hémalun, sont très foncées (fig. 1, f); elles ont un aspect irrégulier, parfois presque de cristalloïdes mâclés; dans les coupes avant coloration (mais, il est vrai, après fixation), elles apparaissent réfringentes avec une teinte brun-grisâtre qui rappelle celle du pigment des *Plasmodium*. Des inclusions semblables, mais sphéroïdes, ont été décrites par Hoare, chez *Caryospora legeri*. Il est à noter qu'on ne retrouve rien d'analogue dans l'oocyste et qu'il n'est pas impossible par suite, qu'elles aient été utilisées dans la formation de la paroi qui, fait à noter, est elle-même teintée.

Enfin, dans la profondeur de la muqueuse, dans les tissus sub-

épithéliaux, les coupes montraient par place des oocystes segmentés de coccidies qui n'avaient rien à voir avec les précédentes ; elles se rapportaient certainement à *Cyclospora viperae* dont les oocystes présentent, au moins pour une partie, la curieuse propriété de s'enfoncer dans la sous-muqueuse. Elles étaient sans doute les témoins d'une infection déjà ancienne de la vipère qui, dans son contenu intestinal, n'avait présenté aucun oocyste de *Cyclospora*.

Si maintenant on examine les caractéristiques de ces formes intra-épithéliales, on voit qu'elles sont sensiblement en accord

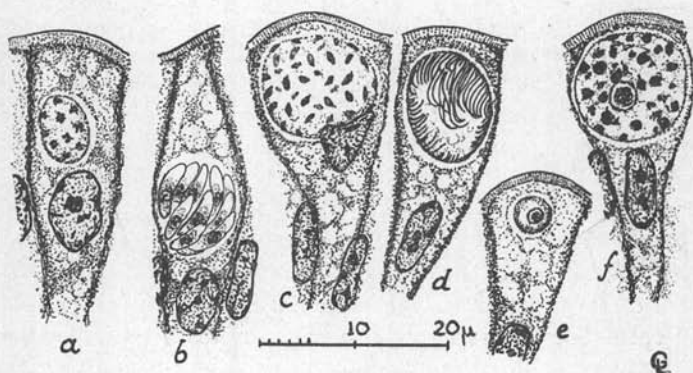


Fig. 1. — Formes intestinales de la coccidie de *Vipera aspis*. — a, début de la schizogonie ; b, schizogonie ; c et d, microgamétocyte ; e, jeune macrogamète ; f, macrogamète mûr.

avec celles données pour *Caryospora simplex* ; mes dimensions sont peut-être un peu supérieures à celles de Léger ; mais les macrogamètes ont bien un aspect typique de *Caryospora* ; l'hôte est celui chez qui a été décrite l'espèce-type. Mais voyons maintenant la sporogonie.

Les oocystes, sphériques, mesurent de 15 à 19  $\mu$  de diamètre ; leur paroi est gris-jaunâtre, forte (1,5-2  $\mu$  environ), composée de deux couches dont l'interne est la plus épaisse. Je n'ai jamais pu voir la petite saillie lenticulaire dont parle Léger et qui est sans doute un micropyle comme celui que Hoare a observé parfois chez *Caryospora legeri*. Le contenu, bourré de granules réfringents, occupe toute la cavité de l'oocyste ou est déjà rassemblé en sphère (fig. 2, a). Ces oocystes ont été mis en culture suivant la méthode habituelle dans une solution à 0,5 p. 100 d'acide chromique.

Chez la plupart d'entre eux, aucune segmentation ne s'est pro-

duite, les granules se sont peu à peu dispersés et se sont animés de mouvements browniens ; il s'agissait manifestement de formes mortes déjà avant la mise en culture ou peut-être aussitôt après. Une faible minorité seulement s'est développée et l'a fait de la façon suivante : le contenu sphérique s'allonge et s'entoure d'une membrane sans laisser de reliquat ; le sporocyste ainsi formé est

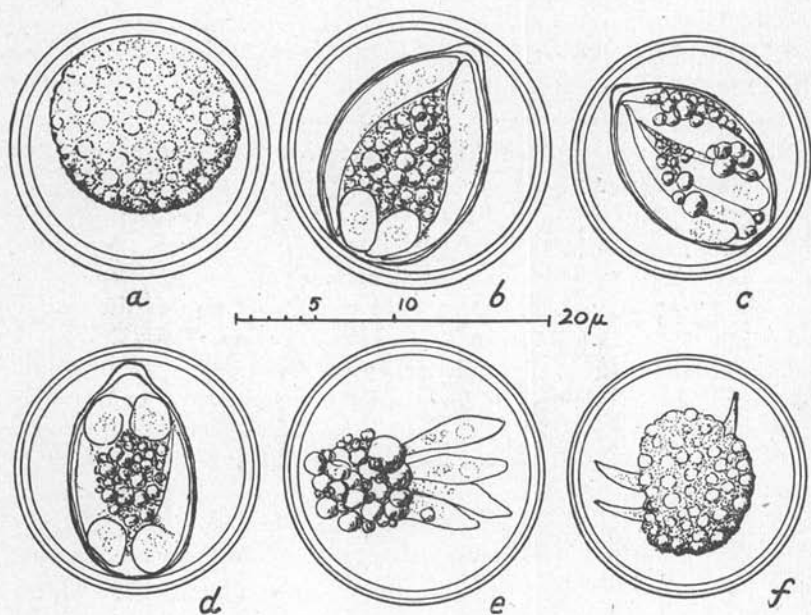


FIG. 2. — Segmentation des oocystes. *a*, oocyste avec contenu déjà rétracté (intestin) ; *b*, *c*, *d*, segmentation achevée ; *e*, *f*, segmentation sans formation de sporocyste.

pyriforme ; à sa petite extrémité la paroi présente un épaississement lenticulaire ; sa longueur est sensiblement celle du diamètre intérieur de l'oocyste ; sa largeur de 8 à 10  $\mu$  ; l'espace qui sépare les parois oocystique et sporocystique n'est pas vide ; un examen attentif permet de constater qu'il est rempli par un milieu liquide dense, non absolument homogène, mais contenant de petites gouttelettes dispersées très difficiles à voir, car leur indice de réfraction est presque le même. Dans le sporocyste se différencient quatre sporozoïtes (fig. 2, *b*, *c*, *d*) allongés, avec une extrémité plus trapue que l'autre et ayant tendance à se recourber ; ils sont disposés par groupes de deux suivant l'axe du sporocyste. Un reliquat

sporocystique granuleux est rassemblé dans le centre, mais a souvent tendance à s'insinuer entre les sporozoïtes et parfois à gagner l'extrémité large. Les individus qui ont présenté la plus grande vitesse de segmentation ont mis deux semaines à atteindre ce stade, mais ce n'est qu'après trois et même quatre semaines, que tous les oocystes capables de se segmenter l'avaient fait. Dans un certain nombre d'entre eux, la paroi sporocystique ne s'était pas formée et les quatre sporozoïtes étaient à nu dans l'oocyste avec une masse de reliquat dans laquelle ils paraissaient plantés (fig. 2, e, f) ; leurs dimensions dans ce cas étaient inférieures à celles des sporozoïtes régulièrement formés.

Si nous comparons maintenant cette sporogonie avec celle qui a été décrite chez *Caryospora simplex*, nous voyons à la fois des points communs et une importante divergence. Les dimensions des oocystes sont ici plus fortes que celles données par Léger ; toutefois, on peut se demander si cet auteur n'a pas sous-estimé ses mensurations ; il donne en effet pour les oocystes du contenu intestinal 10 à 15  $\mu$  de diamètre et pour les macrogamètes encore intracellulaires 12 à 15  $\mu$  ; les oocystes auraient donc une taille inférieure ou au plus, égale à celle des macrogamètes, ce qui serait contraire à ce qu'on observe généralement, et cela d'autant plus que les formes mesurées sur coupe ont subi la rétraction notable que provoque le fixateur et ne sont pas toujours sectionnées suivant l'équateur, deux causes minimisantes qui n'existent pas dans la mensuration des oocystes. Au surplus, la différence des dimensions n'est pas ici telle qu'elle puisse s'opposer formellement à une assimilation.

Deux points de rapprochement sont : 1° la lenteur de segmentation commune aux deux cas et assez caractéristique car elle n'existe ni chez *Caryospora legeri* ni chez *C. japonica*. Hoare l'attribue au fait que Léger n'avait pas ajouté d'antiseptique à sa culture ; ce n'était pas le cas pour la mienne. 2° L'existence, comme dans le cas de Léger, d'individus qui ont donné des sporozoïtes libres. Léger, nous l'avons vu, avait attribué ce fait à l'infection de ses cultures ; de même que précédemment cette explication n'est pas valable ici.

Tout permettrait donc de voir dans cette coccidie *Caryospora simplex* s'il n'y avait une différence considérable : le nombre des sporozoïtes. La coccidie de Richelieu s'est en effet révélée une monosporée tétrazoïque et ne saurait donc, à suivre strictement les règles actuelles de classification rentrer dans le genre *Caryospora* ; mais dans le genre *Mantonella* Vincent créé pour une coc-

cidie intestinale de Périplate et qui, sauf pour le nombre de spores et sporozoïtes ne lui ressemble en rien, non plus d'ailleurs que *Mantonella potamobii* Goussef de l'écrevisse.

Je crois que dans le cas actuel, et en dépit de la systématique, la sagesse est de voir dans notre coccidie une *Caryospora simplex* à sporogonie anormale aboutissant à la formation de quatre sporozoïtes seulement. Y avait-il dans la culture des oocystes ayant présenté huit sporozoïtes ? C'est possible, mais je n'en ai pas rencontré ; le nombre des oocystes segmentés, il est vrai, n'était pas grand et il fallait de longues recherches pour les observer.

Un fait encore parle en faveur de l'anomalie, c'est que la culture ne s'est pas montrée infectieuse. Le 26 septembre (50<sup>e</sup> jour de la culture), 3 vipéreaux de 18 jours, isolés de leur mère, 48 heures après la naissance, ont ingéré cette culture au compte-gouttes ; le 2 octobre, le premier est sacrifié : son intestin contient quelques oocystes qui manifestement proviennent encore du repas infectant ; le 10 octobre, le second ne montre absolument rien, ainsi que le troisième, le 20 octobre ; un quatrième vipéreau de la même portée et conservé comme témoin n'a présenté aucune coccidie.

Un point digne d'intérêt, c'est l'état pathologique de l'intestin. Léger n'a jamais noté d'action pathogène de la part de *Caryospora simplex*, et cela s'explique bien quand on considère la situation superficielle et la petite taille du parasite. Il est à peu près certain, que dans mon cas, les lésions intestinales considérables relevaient d'une tout autre cause. Est-ce cet état pathologique de la muqueuse qui mettant en mauvaises conditions la coccidie, a retenti sur elle, en provoquant l'anomalie ? C'est possible ; dans ce cas, le fait doit pouvoir se produire assez souvent dans la nature.

Quoi qu'il en soit, cette observation montre la possibilité pour une coccidie de fournir un nombre de sporozoïtes moitié de la normale. Des anomalies de segmentation ont été signalés bien des fois : Labbé avait décrit, chez *Lithobius forficatus*, un genre *Banarella* présentant 6 sporozoïtes en trois sporocystes ; Léger a montré qu'il s'agissait en réalité d'une *Eimeria* anormale par avortement d'un sporoblaste. Kessel et Jancziewicz ont observé un phénomène inverse : parfois chez *Eimeria media* du lapin, on a 8 sporocystes à deux sporozoïtes. Quant à l'absence de la paroi sporocystique, en dehors de *Caryospora simplex*, elle a été observée bien des fois, et chez beaucoup d'*Eimeria*. Chez *Eimeria prevoti* même, elle constitue la règle et les 8 sporozoïtes sont toujours libres dans l'oocyste. Chez *Isospora rivolta* de *Nyctereutes procynoïdes ussuriensis* Yakimoff et Matikaschwili ont vu dans la presque totalité

des oocystes provenant de la région de Voronège, les 8 sporozoïtes libres.

Tout cela permet de se demander si les bases qui nous servent actuellement pour grouper les *Eimeriidae*, en ignorant ces faits pourtant fréquents et intéressants par les affinités qu'ils décèlent, ne nous amènent pas inéluctablement à une classification entièrement artificielle.

## BIBLIOGRAPHIE

- GOUSSEFF (W. F.). — A new Coccidium from Cray-Fish. *Journ. R. Microsc. Soc.*, LVI, 1936, p. 326.
- HOARE (C. A.). — Studies on some new ophidian and avian Coccidia from Uganda, with a Revision of the classification of the *Eimeriidea*. *Parasitology*, XXV, 1933, p. 359.
- LÉGER (L.). — Protozoaires parasites des vipères. *Bull. mens. Ass. Fr. Av. des Sc.*, 1904, n° 9, p. 268.
- *Caryospora simplex*, coccidie monosporée et la classification des coccidies. *Arch. f. Protistenk.*, XXII, 1911, p. 71.
- MATSUBAYASHI (H.). — Studies on parasitic Protozoa in Japan. II. Coccidia parasitic in Snakes, with special remarks on *Tyzzeria* (*Koidzumiella*) *natrix*, parasitic in *Natrix tigrina*. *Annot. Zool. Japon.*, XVI, 1937, p. 255.
- PHISALIX (M.). — Coccidiose intestinale de la vipère aspic à *Cyclospora viperæ* n. sp. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, XVI, 1923, p. 637.
- Note complémentaire sur *Cyclospora viperæ*, coccidie parasite de l'intestin de la vipère aspic. *Ibid.*, XVII, 1924, p. 559.
- Coccidiose intestinale à *Cyclospora viperæ* chez la couleuvre vipérine, la couleuvre lisse et la couleuvre à échelons. *Ibid.*, XXVI, 1933, p. 415.
- VINCENT (M.). — Un nouveau type de Coccidie des Périplates. *C.R. Soc. de Biol.*, CXXII, 1936, p. 260.

*Institut de parasitologie de la Faculté de médecine de Paris (Directeur : Prof. E. Brumpt) et Laboratoire de zoologie et parasitologie de la Faculté de médecine de Lille (Directeur : Prof. G. Lavier).*

---