STRUCTURE DE L'OOCYSTE ET PERMÉABILITÉ DE SES MEMBRANES CHEZ LES COCCIDIES DU LAPIN

Par E. CHEYSSIN

Introduction. — L'étude des propriétés physico-chimiques de l'enveloppe des oocystes des coccidies en général et de celles du genre *Eimeria* en particulier, présente un certain intérêt théorique et pratique.

Chez les macrogamètes d'*Eimeria*, il se forme un système superficiel d'enveloppes protectrices, qui, dans la suite, est séparé du plasma par une couche liquide. Il serait naturel de supposer, *a priori*, que les lois de la pénétration des substances à travers les membranes de ce type se distinguent des phénomènes analogues de la plupart des cellules.

Dans les ouvrages, pourtant très nombreux, sur la coccidiose, nous ne trouvons pas de données relatives aux membranes protectrices des oocystes. La question de l'influence des facteurs chimiques sur les oocystes d'*E. stiedæ*, d'*E. perforans* et d'*E. magna* a été traitée en détail par Pérard en 1924. La plupart des travaux, étant de caractère exclusivement pratique, n'abordent ce problème qu'incidemment.

Le problème que je me suis posé consistait à établir les lois de la pénétration des substances à l'intérieur de l'oocyste, ce qui permet d'éclaircir la nature et les propriétés de sa membrane.

Matériel et méthode. — J'avais à ma disposition plusieurs lapins infectés spontanément, et expérimentalement, par différents genres d'*Eimeria*.

Les oocystes ont été pris pour les expériences une heure (exceptionnellement au bout de 2 à 4 heures) après avoir été émis avec les excréments du lapin. Les expériences ont été faites à la température du laboratoire (12° C. en hiver ; jusqu'à 20° C. en été).

Les débris d'excréments riches en oocystes étaient mis en quantités égales dans des cupules où l'on versait le milieu étudié. Dans chaque série d'expériences, il y avait une culture témoin dans une solution à 2 p. 100 de $K_2Cr_2O_7$.

Pour la détermination de la pénétration des substances dans l'oocyste, il fallait trouver une méthode convenable. J'ai pensé que l'arrêt de la sporulation, son cours anormal, la désagrégation des spores, la segmentation irrégulière (2 spores au lieu de 4), les phénomènes de dégénérescence de la masse plasmatique de l'oocyste sont les meilleurs indices de la pénétration des substances dans la cellule. En effet, la sporulation de l'oocyste ne peut s'effectuer d'une manière normale dans une solution toxique que si celle-ci ne pénètre pas à l'intérieur de l'oocyste. La toxicité de la solution est démontrée par une action sur les spores, exprimée par une rétraction et une dégénérescence rapide.

Dans tous les cas où il y avait un retard dans le développement, j'ai placé les crottes, préalablement lavées dans l'eau, dans le milieu témoin (c'est-à-dire $K_2Cr_2O_7$) pour un temps prolongé, afin de vérifier la réversibilité ou la non-réversibilité de ce phénomène. Si les kystes ne se développaient pas, même après ce changement, il y avait bien lieu d'admettre leur mort.

Dans chaque série d'expériences, le pourcentage moyen des oocystes s'étant développés dans la culture témoin était calculé ; le taux des oocystes s'étant développés dans le liquide étudié était calculé par rapport à ce pourcentage.

Structure et formation des oocystes. — Les oocystes d'*E. magna*, d'*E. stiedæ* et d'*E. perforans* possèdent deux membranes. La membrane extérieure qui, chez les oocystes d'*E. magna* et d'*E. stiedæ*, prend une teinte jaune dans l'intestin, sert de protection contre les lésions mécaniques. Cette membrane est assez épaisse et élastique et proche de la kératine par sa composition chimique ; des données analogues ont été obtenues par Panzer (1911) pour les membranes des oocystes d'*E. gadi*.

Un des pôles de l'oocyste a un micropyle, consistant en une partie amincie de la coque extérieure entourée, chez *E. magna*, d'un renflement circulaire. La coque extérieure peut être séparée de l'oocyste par une pression légère et il en résulte que l'oocyste perd sa couleur jaune et que le micropyle n'est plus visible. Quant à la membrane intérieure, très élastique, elle joue un rôle protecteur, comme j'ai pu m'en assurer, non seulement mécanique, mais aussi chimique. La destruction de cette membrane provoque la mort du contenu de l'oocyste.

Le phénomène de la formation de la membrane interne a été signalé par plusieurs auteurs : par Reich chez *E. stiedæ*, Hadley chez *E. avium*, Hosoda chez *E. avium*, Reichenow chez *E. stiedæ*. Les granules « chromatoides » et « plastinoides » qui se forment

dans le macrogamète prennent aussi part à ce phénomène. La membrane interne se compose de granules plastinoïdes (Pl.) et se rapproche, par sa composition, des nucléoles de protéine.

La coloration de granules à la safranine (procédé de Fischer) et au carmin (procédé de Best), J + KJ, a donné un résultat négatif. La ptyaline n'exerce sur eux aucune action. Ce ne sont donc pas des hydrates de carbone. Le Soudan III (procédé selon Ciaccio) ne les colore point. La fuchsine leur donne une teinte rouge. Le suc gastrique les fait gonfler en 6 minutes à la température de 37° et les dissout complètement en 10 minutes.

On peut observer que les granules, disposés en une seule rangée sous l'enveloppe externe, perdent leur forme sphérique et s'allongent ; leurs contours deviennent irréguliers. Les granules disparaissent peu à peu et la membrane interne, en voie de formation, devient de plus en plus visible et distincte. Tous ces phénomènes ont lieu lorsque le macrogamète se trouve dans la cellule épithéliale (fig., 1, 2, 3, 4).

D'ordinaire, il n'y a que les oocystes entourés de membranes qui pénètrent dans le lumen de l'intestin, ceux qui y sont entrés avant la formation de celui-ci ne sont plus aptes à évoluer.

Au moment de la sortie de l'oocyste de la cellule épithéliale, le plasma de l'oocyste prend une forme sphérique et se sépare des membranes (fig., 5). Ce phénomène résulte de la déshydratation du plasma ; entre les membranes et le plasma reste un liquide où flotte librement la sphère plasmatique.

L'accumulation des lipoides dans le macrogamète a lieu plus tôt ; ils prennent plus tard part à la formation du corps résiduel de l'oocyste et de la spore. La volutine n'a pas été trouvée dans le plasma des macrogamètes. Les hydrates de carbone occupent, dans le macrogamète, la majeure partie du plasma et sont de nature paraglycogénique (fig., 3). Pendant la formation des sporozoïtes, ils restent dans leur plasma et ce n'est que partiellement qu'ils passent dans le corps résiduel de la spore.

Influence des sels sur les oocystes. — L'évolution normale et simultanée des oocystes demande la présence d'un degré déterminé d'humidité. Les oocystes, même légèrement desséchés n'évoluent que lentement et d'une manière asynchrone. La dessiccation entraîne la contraction des oocystes, qui se manifeste par le plissement de la membrane interne et souvent aussi par celui de la membrane externe. Dans ce cas, la membrane superficielle devient extrêmement fragile et l'oocyste en est facilement exprimé. La dessiccation pendant 4 ou 5 jours, à la température ordinaire, entraîne

une forte déformation des oocystes, mais, transportés dans de l'eau distillée, ils reprennent leur aspect ordinaire au bout de 12 à 18 jours, et 30 p. 100 sporulent d'une manière normale. Le phénomène

FIG. — 1, Un oocyste d'*E. magna* avec la membrane externe détruite ; on voit bien la membrane interne. 2, Macrogamète ; Pl, granules plastinoïdes (hématoxyline ferrique). 3, Granules plastinoïdes situés dans la couche périphérique du protoplasme du macrogamète (coloration par I + KI) ; les granules plastinoïdes restent incolores. 4, Formation de la membrane interne par les granules plastinoïdes (hématoxyline ferrique). 5, Un oocyste formé dans la cellule épithéliale de l'intestin (hématoxyline ferrique). 6, Un oocyste dans la lumière de l'intestin. 7, Un oocyste d'*E. magna* plasmolysé par une solution saturée de NaCl. 8, Coupe transversale d'un oocyste d'*E. magna* plasmolysé par l'alcool éthylique.

de contraction des membranes ne peut être expliqué que par la déshydratation subie par l'oocyste. On peut démontrer le phénomène de plasmolyse en plaçant les oocystes dans les solutions hypertoniques des sels (NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂, KNO₃, Na₂SO₄).

La plasmolyse commence dans une solution de sels 1/m au bout de quelques jours. Les concentrations plus faibles ne provoquent pas de plasmolyse apparente. Dans une solution 5/m ou saturée des sels, la plasmolyse commence au bout de 24 heures et se manifeste par une invagination légère de la paroi latérale de l'oocyste (fig. 6 et 7). Au bout de 4 ou 5 jours, les oocystes sont plasmolisés au point de prendre l'apparence d'une nacelle à bords fortement recourbés, la paroi concave touchant presque la paroi convexe opposée. Le transport de ces oocystes dans de l'eau distillée provoque une déplasmolyse qui se produit très lentement. On observe la plasmolyse, non seulement dans les solutions de sels, mais aussi dans les alcalis (2/m et 5/m KOH et NaON), les alcools et la glycérine.

Les différentes solutions de sels (saturée, m/1, m/2) n'empêchent point la sporulation. (KCl, NaCl, LiCl, NH_4Cl , CaCl_2 , MgCl_2 , BaCl_2 , CuCl_2 , Na_2SO_4 , CuSO_4 , FeSO_4 , ZnSO_4 , AgNO_3 , KNO_3 , $\text{K}_4\text{Fe/Cn/6}$). Dans les solutions concentrées de Na_2CO_3 et NaHCO_3 , le développement se produit d'une manière normale, mais, dans les solutions faibles, beaucoup d'oocystes n'évoluent point ou forment des sporoblastes anormaux. Dans certaines expériences, les oocystes placés dans Na_2CO_3 ont subi un retard de la sporulation, mais, transportés dans $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 58 p. 100 des oocystes ont sporulé d'une façon anormale avec formation de deux sporoblastes. Les sels de mercure, le sublimé corrosif et le cyanure de mercure, pénètrent facilement à travers la membrane (tabl. 1). On peut affaiblir l'influence toxique du sublimé en ajoutant certains sels, tels que, par exemple : NaCl, KCl, KJ, CaCl_2 . Il suffit d'ajouter, à une solution saturée de sublimé, un volume égal de solution saturée de NaCl ou KJ pour faire évoluer tous les oocystes d'une façon normale (tabl. 2). Nous avons ici probablement la réaction chimique suivante : $4\text{KJ} + \text{HgCl}_2 = 2\text{KCl} + \text{K}_2\text{HgJ}_4$. Ce sel complexe donne des ions de K et des ions complexes de HgJ_4 , ces derniers prédominent considérablement dans la solution, ce qui est la cause de la diminution de la toxicité. Ces ions complexes possèdent une activité physiologique différente. Si l'on prend le sel en quantité insignifiante, les ions de mercure restent dans la solution et empêchent une partie des oocystes d'accomplir leur évolution. La diminution de la dissociation du sublimé et la formation des ions complexes agissent directement sur la toxicité qu'ils diminuent.

Influence des acides, des alcalis et des matières organiques. — Les acides minéraux HCl, H_2SO_4 , HNO_3 (m/1) ne pénètrent dans l'oocyste qu'à des concentrations qui altèrent l'intégrité de la mem-

brane. La pénétration des acides dans l'oocyste peut être provoquée par des changements secondaires de la membrane. Quant à nos expériences, elles ont démontré que les solutions des acides mentionnés à 20 p. 100 n'arrêtent pas le développement d'*E. magna*, pas plus que celui des autres espèces. Pérard indique que la solu-

TABLEAU I. — Influence de différentes solutions de sublimé sur les oocystes d'*E. magna* (M), d'*E. stiedæ* (S) et d'*E. perforans* (P).

		Durée de l'action	48 HEURES	72 HEURES	96 HEURES	6 JOURS	0 ou des oocystes segmentés
$K_2Cr_2O_7$	{ P. M.S.		Sporozoïte Sporoblaste	Sporozoïte			98 0/0
$HgCl_2$ 8:100....	{ P. M.S.	30 m.	Pyramid. —	Pyramid.	—	Sporoblaste	0 0/0
$HgCl_2$ 8:100....	{ P. M.S.	1 h.	Pyramid. Pyramid.		Sporoblaste Pyramid.	—	0 0/0
$HgCl_2$ 8:100....	{ P. M.S.	3 h.	Pyramid. —	—	—		0 0/0
$HgCl_2$ 8:100....	{ P. M.S.	24 h.	Pyramid. —	—	—	—	0 0/0
$HgCl_2$ 8:1000...	{ P. M.S.		—	Sporoblaste	Sporocyste	Sporozoïte	28 0/0 39 0/0
$HgCl_2$ $\frac{n}{100}$	{ P. M.S.		—	Sporoblaste	Sporocyste	Sporozoïte	25 0/0 35 0/0
$HgCl_2$ $\frac{n}{500}$	{ P. M.S.		—	Sporoblaste	Sporocyste	Sporozoïte	45 0/0 43 0/0
$HgCl_2$ $\frac{n}{1000}$	{ P. M.S.		—	Sporoblaste	Sporocyste	Sporozoïte	47 0/0 45 0/0
$HgCN$ $\frac{n}{10}$	{ P. M.S.	1 h.	—	Sporoblaste	Sporocyste	Sporozoïte	0 0/0
$HgCN$ $\frac{n}{100}$	{ P. M.S.		—	Sporoblaste	Sporocyste	Sporozoïte	27 0/0 32 0/0

tion de H_2SO_4 à 20 p. 100 provoque un retard de 3 jours de la sporulation chez *E. magna*.

Les alcalis (tabl. 3), ainsi que les acides, ne pénètrent qu'à travers une membrane endommagée. Parmi tous les acides et les alcalis, il n'y a que l'acide carbonique et l'ammoniaque qui pénètrent facilement dans l'oocyste et provoquent un arrêt de leur évolution. Placés dans une atmosphère d'acide carbonique, les oocystes ne se développent pas et dégénèrent en formant parfois deux sporoblas-

tes au lieu de quatre. Si l'on place les oocystes dans l'ammoniaque ordinaire contenant près de 25 p. 100 d'ammoniaque, on obtient une destruction complète de tous les oocystes au bout d'une demi-heure.

Le sucre (20-30 p. 100), l'urée (10-20 p. 100), les sels des alcaloïdes (1 p. 100), le formol à 4 p. 100, le pétrole et les acides organiques

TABLEAU II. — Influence de différents sels sur la toxicité du sublimé. (*E. magna* = M. ; *E. stiedæ* = S. ; *E. perforans* = P. ; pl. = plasmolyse).

		48 HEURES	72 HEURES	96 heures	114 HEURES	0/0 des oocystes segmentés
$K_2Cr_2O_7$ 2 0/0.....	{ P. M.S.	Sporozoïte Sporoblaste	Sporozoïte			98 0/0
$HgCl_2$ 8 : 100.....	{ P. M.S.					0 0/0
$HgCl_2 + 1 NaCl \frac{5}{n}$	{ P. M.S.		Sporozoïte Sporoblaste	Sporozoïte pl.		95 0/0
$HgCl_2 + 1 CaCl \frac{5}{n}$	{ P. M.S.	Sporozoïte Sporoblaste	Sporocyste	Sporozoïte pl.		95 0/0
$HgCl_2 + 1 BaCl_2 \frac{5}{n}$	{ P. M.S.	Pyramid. Pyramid.	—	— pl.		0 0/0
$HgCl_2 + 4 KCl \frac{1}{n}$	{ P. M.S.		Sporoblaste	Sporozoïte		32 0/0
$HgCl_2 + 1 KCl \frac{5}{n}$	{ P. M.S.		Sporocyste Sporoblaste	Sporozoïte pl.		45 0/0
$HgCl_2 + 4 KCl \frac{5}{n}$	{ P. M.S.		Sporocyste Sporoblaste	Sporozoïte pl.		55 0/0
$HgCl_2 + 1 KJ \frac{1}{n}$	{ P. M.S.	Pyram. Sporobl.	Sporocyste	Sporozoïte		98 0/0
$HgCl_2 + 4 KJ \frac{1}{n}$	{ P. M.S.	Pyram. Sporobl.	Sporocyste	Sporozoïte		98 0/0
$HgCl_2 + 1 Na_2SO_4 \frac{2}{n}$	{ P. M.S.	—	—	—		0 0/0
$HgCl_2 + 4 H_2 O$	{ P. M.S.	—	—	—		0 0/0

(acides lactique n/5 et oxalique n/1) n'empêchent point la sporulation. Les oocystes peuvent évoluer dans le suc gastrique, dans la bile et dans l'urée, mais la sporulation a lieu, avec un grand retard, à cause de la putréfaction qui se produit dans le milieu.

Les substances suivantes pénètrent assez rapidement dans l'oocyste : le chloroforme (3 heures), l'éther (6-8 heures), l'acétone (8-12 heures), le benzol (8-10 heures) (tabl. 4).

TABLEAU 3. — Action des alcalis sur les oocystes d'*E. magna* (pl. plasmolyse).

	24 heures	72 heures	144 heures	21 jours	25 jours	27 jours	0/0 des oocystes segmentés
$K_2Cr_2O_7 \dots$	—	Sporocyste	Sporozoïte				98 0/0
$KOH \frac{n}{1} \dots$	—	Sporocyste	Sporozoïte				96 0/0
$KOH \frac{2}{n} \dots$	—	Sporocyste	Sporozoïte				96 0/0
$KOH \frac{5}{n} \dots$	—	— pl.	— pl.	H ₂ O	$K_2Cr_2O_7$	Sporozoïte	85 0/0
$NaOH \frac{n}{1} \dots$	—	Sporoblaste	Sporozoïte				96 0/0
$NaOH \frac{2}{n} \dots$	—	—	Sporoblaste	H ₂ O	$K_2Cr_2O_7$	Sporozoïte	85 0/0
$NaOH \frac{5}{n} \dots$	—	— pl.	— pl.	H ₂ O	$K_2Cr_2O_7$	Sporozoïte	85 0/0

TABLEAU 4. — Action du chloroforme, de l'éther, de l'acétone et du benzol, sur les oocystes d'*E. magna* et d'*E. stiedæ*.

	0/0 DES OOCYSTES DÉTRUITS				
	1 heure	3 heures	6 heures	8 heures	15 heures
Chloroforme.....	50	100			
Ether.....	40	70	90	100	
Acétone.....	10	14	20	80	100
Benzol.....	90	—	95	100	

Les colorants vitaux, qui colorent facilement beaucoup de cellules, ne pénètrent pas dans l'oocyste : chrysoidine, rouge neutre, bleu de méthylène, vert de méthyle, vert de méthylène, bleu de nuit, bleu de Bismarck, bleu Victoria, éosine, orange, G, fuchsine, S, ne pénètrent pas dans l'oocyste, mais sont absorbés par la membrane externe.

La membrane interne est seule sémi-perméable. — Toutes mes observations ont démontré que la membrane interne est douée

d'une perméabilité élective, tandis que la membrane externe ne sert que de moyen de défense mécanique.

En examinant le processus de la plasmolyse, on observe que la membrane interne se détache de l'externe et s'invagine en dedans. Si l'on place l'oocyste dans une solution hypertonique, après avoir supprimé, d'une façon mécanique, la membrane externe, non seulement elle plasmolyse, mais elle continue à se développer. Dans les solutions de glycérine, de lysol et de quelques autres substances, il se forme comme un cercle foncé entre les deux membranes. La concentration des substances entre celles-ci démontre la perméabilité de l'enveloppe externe et l'impénétrabilité de la membrane interne pour certaines substances. Placé dans le lysol, l'oocyste perd son cercle foncé à mesure de la pénétration et dégénère.

Les macrogamètes, dont la membrane externe est déjà formée et nettement visible, tandis que la membrane interne est encore en voie de formation (on peut voir la position périphérique des granules plastinoïdes), plasmolysent parfois rapidement, mais déplasmolysent ensuite tout aussi rapidement.

Dès que la formation de la membrane interne est terminée et que l'oocyste entre dans le lumen de l'intestin, après être sorti de la cellule épithéliale, la perméabilité diminue brusquement. La membrane interne des oocystes, aux phases précoces de leur développement, laisse pénétrer l'eau plus facilement (plasmolyse plus forte) que la membrane des oocystes expulsés de l'intestin avec les excréments dans le milieu extérieur. Les oocystes dont le plasma n'a pas encore pris une forme sphérique, plasmolysent dans une solution 2/m de NaCl au bout de deux heures. Le macrogamète est coloré par les colorants vitaux (rouge neutre, chrysoïdine, etc.) qui ne pénètrent pas dans l'oocyste. J + KJ colore facilement le paraglycogène du macrogamète dépourvu de la membrane interne, mais, après la formation de celle-ci, il devient impossible de colorer le contenu de l'oocyste.

Les particularités des membranes des oocystes morts ou vivants ne diffèrent presque pas. Si nous tuons un oocyste avec de l'eau chaude (75° C. pendant deux minutes) et le plaçons ensuite dans une solution de 5/m NaCl, nous verrons que la plasmolyse a lieu avec une vitesse qui dépasse même celle des oocystes vivants. Si la mort de l'oocyste entraîne un changement des propriétés de la membrane (par exemple, si on le fait bouillir dans H₂O), elle commence à laisser pénétrer certaines matières. Ainsi J + KJ d'ordinaire ne pénètre pas dans l'oocyste, mais le colore rapidement, si on le fait chauffer pendant 5 à 10 minutes.

Nature de la membrane semi-perméable, et mécanisme de la pénétration des substances. — Il fallait tout d'abord déterminer, par analogie avec les œufs des ascarides, si la membrane était de la nature lipéide.

Nous avons fait 12 expériences avec les alcools ; les résultats obtenus sont exposés dans les tableaux ci-joints (tabl. 5 et 6).

TABLEAU 5. — Action des alcools monoatomiques (Méthyl.-M., éthyl.-E., Propyl.-P., iso-Butyl.-B.), de la série homologue à différentes concentrations sur les oocystes d'*E. magna* et d'*E. stiedæ*. (0/0 des oocystes détruits).

ALCOOLS DURÉE DE L'ACTION	20 0/0			30 0/0			50 0/0			70 0/0			80 0/0			100 0/0			
	M.	E.	P.	M.	E.	P.	M.	E.	P.	M.	E.	P.	M.	E.	P.	M.	E.	P.	B.
1 heure.....	15			20			15			15			25			40	10	10	5
3 heures.....	25			30						60	10		60	10		90	55	70	10
6 heures.....	40	10	10	52	10	10	60	20	10	77	10		80			90	55	70	15
24 heures.....	65	10	10	70	10	17	100	20	15	100	70		100	49	25	100	78	78	30
48 heures.....	100	10	20	100	10	27		22	25		68		100	65		100	90	30	
72 heures.....		20	30		20	42		60	65		100			90			100	60	
96 heures.....								100	65				100					100	
124 heures.....									72										

L'action de l'alcool absolu, durant 18 heures, provoque une délamination de la membrane interne ; au bout de 24 heures, la membrane interne, avec le contenu de l'oocyste, finit par se contracter et se détache complètement de la membrane externe.

La rapidité de la plasmolyse peut être la même dans tous les alcools. Transférés dans l'eau, les oocystes commencent à déplasmolyser au bout de 48 heures et le contenu de l'oocyste reprend sa forme sphérique.

Dans l'alcool absolu méthylique, tous les oocystes (100 p. 100) meurent avant le commencement de la plasmolyse, au bout d'environ 10 heures. Les résultats obtenus avec l'alcool absolu éthylique étaient très variables d'une expérience à l'autre.

La mort de tous les oocystes (100 p. 100) survenait tantôt au bout de 18 heures, tantôt au bout de 24 heures, ou même de 30 heures. Il en était de même lorsqu'on se servait de l'alcool n-propylique. Les oocystes d'*E. perforans* sont encore en état de survivre après avoir été soumis à une action de 48 heures ; ceux d'*E. magna*

périssent tous au bout de 30 à 36 heures. La comparaison de l'action des divers alcools, pris en concentrations équimoléculaires, est très suggestive. La vitesse de pénétration diminue dans l'ordre suivant : alcool méthylique, alcool éthylique, alcool n-propylique et enfin, alcool isobutylique (tabl. 6).

TABLEAU 6. — Action des alcools monoatomiques de la série homologue pris à concentrations équimolaires $\left(\frac{15}{m}\right)$ sur les oocystes d'*E. magna* (M.), d'*E. stiedæ* (S.) et d'*E. perforans* (P.).

ALCOOLS	$\frac{15}{m}$	0/0 DES OOCYSTES DÉTRUITS						
		1 heure	3 heures	6 heures	24 heures	48 heures	72 heures	96 heures
Méthyl	48 0/0	P.	10	—	65-78	85-100	100	
		M. S.	10	—	52-65	95-100		
Ethyl.....	69 0/0	P.	5	6-10	10-15	20-71	64-100	100
		M. S.	5	—		25-87	65-100	
N. Propyl.	90 0/0	P.	5	8-10	10-20	25-70	65-90	100
		M. S.	5	—	12-20	34-78	85-100	
Iso-Butyl..	Abs.	P.	5	10	10-15	20-22	20-25	40-46
		M. S.	5		15-20	40-44	30-50	60

Le développement des oocystes a lieu dans l'alcool, même l'alcool n-propylique à 20, 30, 40, 50, 60 p. 100 (tabl. 5). Plongés dans l'alcool éthylique à 20 et 30 p. 100, les oocystes forment des sporozoïtes, mais, à une concentration de 50 p. 100, une plasmolyse très prononcée survient au bout de 48 heures et arrête la sporulation commencée. Dans l'alcool méthylique à 20 p. 100, le développement n'a pas lieu. L'alcool n-propylique exerce une action analogue à celle de l'alcool éthylique. Ainsi, nous voyons que la rapidité de la pénétration des alcools diminue avec l'accroissement de la chaîne carbonée et l'augmentation de l'activité superficielle : le caractère de pénétration de ces substances est donc inverse aux rangs obtenus

par Overton, Traube, Zawadowsky, Fuhner, etc., pour des cellules très différentes.

En comparant l'action de l'acide formique avec celle de l'acide acétique, on remarque que la pénétration du premier est plus grande que celle du second (Solution équimoléculaire). Dans l'acide acétique 5/n, 10 p. 100 des oocystes ont achevé leur sporulation, tandis que pas un oocyste ne s'est développé dans l'acide formique (tabl. 7).

TABLEAU 7. — Action des acides organiques de la série grasse, sur les oocystes d'*E. magna* et d'*E. stiedæ*.

ACIDES ORGANIQUES		O/O DES OOCYSTES AYANT ÉVOLUÉ					
		6 h.	5 h.	24 h.	48 h.	72 h.	124 h.
HCOO ₄	$\frac{5}{n}$	85	80	50	26	0	
CH ₃ COO ₄	$\frac{5}{n}$	95	92	67	65	30	10
CH ₃ COO ₄	100 0/0	58	52	18	0		
CH ₃ COO ₄	$\frac{1}{n}$	98	95	95	95	95	90

En comparant la rapidité de la pénétration des substances organiques, prises à des concentrations équimoléculaires, on obtient la série suivante : alcool méthylique, acide formique, alcool éthylique, acide acétique, alcool n-propylique, alcool iso-butylique. Chaque membre de cette série possède un volume moléculaire moindre que le membre suivant.

Il nous semble donc que ces données permettent d'affirmer que le volume moléculaire joue un rôle capital dans le phénomène de la pénétration des substances organiques à travers la membrane de l'oocyste. Aussi, nous apparaît-il peu vraisemblable que les lipoides jouent un rôle dans la pénétration des substances à l'intérieur de l'oocyste. Mais s'ils prennent part à la formation de la membrane, ce ne sont pas eux qui déterminent la pénétration des différentes substances non-électrolytes (alcools, acides organiques). Toutes nos observations donnent lieu de présumer que le mécanisme de la pénétration des substances à travers la membrane semi-perméable de l'oocyste a lieu par ultrafiltration à travers les pores de la

membrane ; « la perméabilité dépend de toute une suite de facteurs qui changent les forces superficielles des pores ultramicroscopiques ou l'état de leurs colloïdes. » (Gellhorn).

Dans la pénétration des substances non-électrolytes, la dimension du volume moléculaire détermine la perméabilité de la membrane, ce qui est conforme à la théorie du Ruhland et Collander.

Dans les œufs des ascarides (Zawadowsky) et d'autres vers ronds, la protection de l'embryon est assurée par la formation d'une membrane lipoïde, à travers laquelle pénètrent les substances qui dissolvent les lipoïdes et qui s'y dissolvent elles-mêmes dans un certain ordre. Dans les séries homologues, la rapidité de la pénétration diminue dans l'ordre suivant : alcool iso-buthylique, alcool n-propylique, alcool éthylique, alcool méthylique, ce qui correspond au principe d'Overton et Traube.

Chez les oocystes d'*Eimeria*, la protection du protoplasme vivant est assurée par la formation d'une membrane à pores ultramicroscopiques, dont la pénétrabilité dépend non seulement du volume moléculaire des non-électrolytes, mais aussi des propriétés des pores mêmes de la membrane qui déterminent une certaine perméabilité élective pour les ions.

Les observations cytologiques démontrent aussi le rôle des granules de protéine dans la formation de la membrane, ce qui donne lieu de supposer que la membrane est de nature albumineuse. Les moyens d'adaptation semblables de divers parasites sont donc obtenus de façon différente.

BIBLIOGRAPHIE

- FUHRER (H.). — Ueber die Einwirkung verschiedener Alkohole auf die Entwicklung der Seeigel. *Arch. exper. Path.*, LI, 1904.
- GELLHORN (E.). — *Das Permeabilitätsproblem*. Berlin, 1929.
- HADLEY (Ph.). — *Eimeria avium*. *Arch. f. Prot.*, XXV, 1911, p. 7-51.
- HOSODA (S.). — Experimentale Studien über die Entwicklung des *E. avium*. *Fukuoka Acta Medica*, XXI, 1928, p. 777-848.
- OVERTON (E.). — *Studien über Narcose*. Jena, 1906.
- PANZER (Th.). — Beitrag zur Biochemie der Protozoen. *Zeitschr. f. physiolog. Chemie*, LXXIII, 1911, p. 109.
- PÉRARD (G.). — Recherches sur la destruction des oocystes de coccidies. *C.R. Acad. Sciences*, CLXXIX, 1924, p. 1436.
- Contribution à l'étude de la biologie des oocystes de coccidies. *Ann. Inst. Pasteur*, XXXIX, 1925, p. 505-541.
- REICH (F.). — Das Kaninchencoccidie *E. stiedae*. *Arch. f. Prot.*, XXVIII, 1913.
- REICHENOW (E.). — Die Coccidien. *Handbuch der pathogenen Protozoen* (Prowazek-Nöller), fasc. 8, 1921.

- RUHLAND (W.). — Die Plasmahaut als Ultrafilter bei der Kolloidaufnahme. *Ber. Bot. Ges.*, XXX, 1912, p. 139.
- TRAUBE (I.). — Die Theorie des Haffdruckes und ihre Bedeutung für die Physiologie. *Pfl. Arch.*, CXXXII, 1910, p. 511.
- ZAWADOWSKY (M.). — La membrane lipoïde semi-perméable des œufs. *Asc. megalcephala. Mémoires scientifiques Univ. Chaniavsky. Moscou*, I, 1915, p. 5-118.

*Laboratoire de Parasitologie de l'Institut Pasteur et Laboratoire
de Biologie générale de l'Ecole de médecine de Léningrad.*