SUR UN GENRE NOUVEAU D'AMIBE PARASITE

HYALOLIMAX N. G.

Par E. BRUMPT et G. LAVIER

En 1912, l'un de nous, pour effectuer certaines recherches sur *Trypanosoma cruzi*, se procura dans le commerce un lot de singes ; parmi ceux-ci, un *Cercopithecus ruber*, provenant d'Afrique occidentale, mourut avant d'être inoculé par le trypanosome ; mais un examen de ses selles après lavement, pratiqué le 22 octobre, avait montré la présence d'amibes de type *coli*, d'autres du type *dysenteriae-minuta* et enfin, en très grande abondance, d'une troisième forme amibienne curieuse qui fait l'objet de la présente étude ; notons tout de suite qu'elle ne fut pas rencontrée chez l'autre singe de même espèce et même provenance qui était dans ce lot.

Les résultats de l'observation à frais des selles, faite d'ailleurs dans de mauvaises conditions de température, ont été consignés dans des notes qui n'ont pu malheureusement être retrouvées ; aussi plutôt que nous fier à des souvenirs devenus forcément imprécis, préférons-nous borner notre description aux préparations qui furent alors établies par fixation au liquide de Bouin et coloration à l'hématxyline ferrique et qui ont conservé actuellement toute leur netteté.

Dans ces conditions, l'amibe se présente sous forme arrondie, mesurant de 5 μ de diamètre pour les plus petites formes jusqu'à 13 μ pour les plus grandes, mais pour la grande majorité des individus, le diamètre oscille entre 9 et 11 μ ; dans des extrémités de frottis où, peut-être, le fixateur n'a pas agi instantanément, on observe des individus s'allongeant en un vaste pseudopode, ce qui donne à croire que le parasite vivant se meut à la façon des espèces de type *limax*.

La première chose qui frappe en examinant cette amibe colorée, c'est l'aspect de son cytoplasme ; celui-ci n'a pas l'apparence spumeuse avec vacuoles inégales, qui est habituel chez les amibes ; il est, au contraire, dans la règle, parfaitement homogène et hyalin ; ce n'est que tout à fait exceptionnellement (fig. 18) qu'il présente de très fines vacuoles serrées les unes contre les autres, réalisant alors l'aspect décrit pour le cytoplasme des *Malpighiella*. Les inclusions alimentaires ne s'observent que chez de rares individus, mais elles

existent indubitablement ; elles sont alors peu abondantes, consistant en petites bactéries ou en cocci visibles dans des vacuoles digestives dont la taille paraît grande relativement au contenu (fig. 5, 6). En tout cas, l'aptitude de l'amibe à la phagocytose ne saurait faire de doute.

Une autre caractéristique du cytoplasme, et des plus curieuses, c'est la présence d'une vacuole à contour net, au voisinage immédiat du noyau. Cette vacuole paranucléaire est, on peut le dire, constante, car il n'y a que très peu d'individus chez qui nous n'avons pu la discerner. Elle est, en général, non sphérique, mais disposée en calotte plus ou moins bombée, appliquée à la périphérie du noyau ; elle est de taille assez variable, allant de 0,5 à 1 μ , 5, sur 1 à 2 μ , et qui n'est d'ailleurs pas forcément proportionnelle à celle de l'amibe elle-même ; elle perd parfois le contact de la paroi nucléaire pour se placer à une toute petite distance en devenant sphérique (fig. 13, 19) ; cela paraît se produire couramment pendant la division nucléaire, et même chez certains individus en cours de mitose, il nous a été impossible de l'observer (fig. 12, 13, 14) ; il est vraisemblable qu'elle se résorbe à ce moment et que les deux vacuoles que l'on voit ensuite auprès des noyaux-fils sont formées *de novo* ; nous n'avons rien observé, en effet, qui pût nous faire croire à une division de sa part. Cette très curieuse formation ne saurait être assimilée à une vacuole pulsatile dont elle n'a pas la situation et dont la présence serait peu vraisemblable chez un parasite de mammifère. La présence d'une vacuole à contenu glycogénique est, certes, fréquente chez beaucoup d'amibes, surtout dans les formes kystiques et prékystiques, mais généralement, les contours en sont irréguliers et flous et la situation relativement éloignée par rapport au noyau ; aussi, malgré l'absence de réactions microchimiques, ne pensons-nous pas qu'il s'agisse ici d'une vacuole de cette nature ; elle doit cependant, fort vraisemblablement, avoir une fonction sécrétrice favorisée par sa situation exceptionnelle ; on ne peut s'empêcher, en la voyant, de penser à la vacuole prébasale des trypanosomes qui est placée de façon analogue, non pas, il est vrai, contre le noyau, mais au contact du kinétoplaste. Seules, de nouvelles recherches pourraient établir la véritable nature de cette vacuole paranucléaire ; quoi qu'il en soit, sa présence dans un cytoplasme hyalin constitue le caractère le plus marquant de cette forme amibienne nouvelle.

Le noyau est du type vésiculeux, sphérique, mesurant de 1,75 à 3 μ de diamètre ; sa situation est subcentrale ; au repos, il présente typiquement un gros nucléole sphérique, très sidérophile et parfaitement homogène, entouré d'une zone claire étroite (0 μ , 25 en moyenne) et dépourvue d'inclusion que délimite extérieurement

une mince membrane nucléaire ; celle-ci, pauvre en chromatine, est très délicate, néanmoins assez facilement observable, et surtout nette au niveau de contact avec la vacuole paranucléaire où elle délimite deux zones également claires. C'est, en somme, le proto-karyon banal chez les amibes de type *limax*.

Mais cette structure se modifie précocement quand doit intervenir la division nucléaire ; nous avons pu suivre ce phénomène et allons le décrire. La prophase se manifeste en tout premier lieu par un changement de forme du caryosome qui d'abord devient anguleux, tout en restant encore homogène (fig. 5) ; mais cette homogénéité ne dure pas, le caryosome pâlit bientôt, cependant qu'à son intérieur, de gros blocs chromatiques irréguliers et inégaux s'individualisent (fig. 6, 8), donnant ainsi au noyau un aspect plus ou moins morulaire (fig. 9) ; une sorte de spirème irrégulier se forme ensuite (fig. 10) ; puis des blocs chromatiques, qui sont loin d'être tous des chromosomes, se séparent (fig. 11, 12). A la métaphase, on a une plaque équatoriale (fig. 13, 14), groupant des chromosomes en nombre impossible à compter et paraissant être de taille assez inégale sur un fuseau peu net, large et court, partant de deux pôles très chromophiles en calotte ; il est à noter que ces deux calottes peuvent parfois être de taille assez inégale (fig. 13), généralement un tractus chromatique axial les unit, mais parfois, outre celui-ci, il en existe d'autres plus ou moins fins ; à l'anaphase, ces tractus sont très effilés ou déjà rompus (fig. 15, 16). D'après la fréquence des figures observées, il est permis de penser que la prophase doit être d'assez longue durée, la métaphase par contre assez courte, l'anaphase assez longue ; quant à la télophase, sa durée doit être limitée car, sur les nombreux individus examinés, nous n'en avons rencontré qu'un où les deux noyaux étaient encore unis par un mince filament, d'ailleurs assez court, et qui paraissait représenter, non une desmose, mais l'étirement de la membrane nucléaire. Pendant toute la durée de la cinèse, celle-ci est, en effet, restée présente ; on a donc affaire à une promitose, comme c'est le cas chez les amibes du genre *Vahlkampfia* et des genres voisins ; mais il y a cependant, dans le phénomène, des particularités qui s'éloignent de ce qui a été observé chez ces dernières.

La mitose des *Vahlkampfia* a été décrite pour la première fois par Vahlkampff (1905) et revue depuis par de nombreux auteurs : Hartmann et Prowazek (1907), Nägler (1909), Dangeard (1910), Chatton (1910), Whitmore (1911), etc., qui ont observé l'allongement du caryosome en une baguette chromatique qui s'étire ensuite pour former les deux capsules polaires, cependant que les chromosomes se rassemblent en une plaque équatoriale. Ici, il en est autrement et le début par fragmentation du caryosome et formation d'un

spirème lâche rappelle ce qui a été décrit par Dobell (1914) pour l'amibe qu'il avait rapportée à l'espèce *Amœba lacertæ* Hartmann et qui est connue aujourd'hui sous le nom de *Vahlkampfia dobelli* Hartmann ; les figures 2 surtout, et 3 de la pl. 7 de cet auteur montrent de grandes analogies avec nos fig. 6-10 ; toutefois, Dobell considère ces aspects comme correspondant encore à la phase de repos du noyau, alors que nous pensons qu'il s'agit en réalité du début de la prophase. Il est vraisemblable que, dans notre amibe, seul le substrat achromatique du caryosome s'étire tandis que les gros blocs sidérophiles, qui ne sont pas des chromosomes, vont se réagglomérer à chaque extrémité pour constituer les calottes polaires. Dans certains cas (fig. 11, 12), mais qui sont loin de constituer la règle, on a l'impression d'une centrodosome axiale réunissant deux masses chromatiques ; c'est sur des aspects semblables que fut édifiée la théorie du nucléolo-centrosome dont Hartmann et Prowazek furent les premiers protagonistes et qui fut formulée sous sa forme la plus dogmatique par Jollos (1917) (1). On sait que des critiques avaient, dès 1914, été formulées à ce sujet par Dobell qui mettait en garde contre l'interprétation trop hâtive d'artefacts possibles ; depuis, l'emploi d'autres méthodes de coloration plus sélectives pour la chromatine vraie que l'hématoxyline ferrique, et de techniques mettant en évidence des centres extra-nucléaires qui avaient, jusqu'alors, passé inaperçus (Arndt, 1924), ont tout remis en question (voir à ce sujet Bělař, 1926). Nos préparations déjà anciennes et traitées par la méthode de Heidenhain ne nous permettent pas en tout cas d'affirmer quoi que ce soit à ce sujet.

La division du cytoplasme suit celle du noyau (fig. 17), mais sans doute avec assez de retard ; celui-ci est même parfois considérable, ce qui permet de rencontrer des formes binucléées ; dans nos préparations, nous en avons observé 11 pour 500 individus comptés, soit 2 p. 100, proportion sans doute faible, mais non négligeable. Ce stade binucléé paraît pouvoir présenter une assez longue durée car certains d'entre eux présentent leurs noyaux en mitose ; celle-ci peut s'effectuer parallèlement pour les deux noyaux (fig. 20), mais le plus souvent, il y a discordance entre les phases (fig. 18, 19). Vraisemblablement, la cytodiérèse se produit avant la fin de cette mitose de second ordre, car nous n'avons pu rencontrer un seul individu quadrinucléé.

Ces formes binucléées ont le même aspect général que les formes précédemment décrites (fig. 4) ; elles ne sont pas de taille sensi-

(1) Il est intéressant de comparer nos fig. 11 et 12 avec les fig. 14 et 15, pl. 2 de Bělař, 1916, représentant le début de la mitose d'*Amœba diplogena* ; notons que Bělař a admis depuis (1926) qu'il y a de très fortes objections à la théorie du nucléolo-centrosome, que cependant Alexieff (1928) soutient encore.

blement supérieure à celle des individus uninucléés ; elles sont même parfois plus petites ; les deux noyaux, flanqués chacun de leur vacuole, sont symétriquement placés à 1-3 μ de distance, en tout cas jamais accolés. Rien ne permet de voir en elles des formes pré-kystiques ; nous n'avons d'ailleurs rencontré aucune forme kystique qui pût être rapportée à cette espèce. Il s'agit bien là de ces aspects nés d'un retard de la division cytoplasmique, comme il s'en observe plus ou moins fréquemment chez des amibes : rarement, chez les *Entamoeba*, dans la très grande majorité des cas pour les *Dientamoeba*, communément, d'après C. Lucas (et ceci est particulièrement intéressant à noter dès maintenant), pour *Endolimax blattæ* ; cela pour nous en tenir aux espèces parasites.

Par toutes les particularités que nous venons de décrire, on voit que notre amibe constitue bien une forme nouvelle pour laquelle nous créerons le genre *Hyalolimax*, caractérisé par le cytoplasme hyalin et la vacuole paranucléaire, l'espèce en question étant nommée *Hyalolimax cercopithecii*.

Cette forme, par sa structure nucléaire, présente des affinités nettes avec le genre *Endolimax* ; des amibes de ce genre ont été d'ailleurs fréquemment rencontrées chez des singes : Dobell et Laidlaw (1926) en ont signalé chez *Macacus rhesus* et *Macacus sinicus* ; Brug (1923) chez *Macacus cynomolgus* ; Reichenow (1929) chez divers *Macacus*, *Cercopithecus* et *Cynocephalus* ; quoique Brug croie avoir affaire à une espèce spéciale, *Endolimax cynomolgi*, les autres auteurs pensent que ces amibes ne diffèrent pas de l'espèce humaine *E. nana*. Celle-ci a un noyau présentant un gros caryosome entouré d'un espace clair, délimité par une délicate membrane nucléaire ; mais, sur l'aspect typique du caryosome, les avis sont partagés : pour Wenyon et O'Connor (1917), Dobell (1919), Wenyon (1926), il est normalement irrégulier et parfois même composé de plusieurs masses ; par contre, Swellengrebel et Mangkoe Winoto (1917) et Kuenen et Swellengrebel (1917) tiennent pour la norme la masse régulièrement sphérique, aspect qui, pour Dobell, n'est qu'un artefact dû à une fixation tardive ; Nöller soutient, au contraire, que c'est l'aspect irrégulier qui est un artifice dû à une dégénérescence, ce qui paraît également vraisemblable à Reichenow (1929). Il n'est peut-être pas sans intérêt de rappeler à ce sujet ce que nous avons dit plus haut sur les aspects de prophase au début chez *Hyalolimax* ; l'irrégularité du caryosome d'*Endolimax nana* pourrait bien être due à la même raison, et, au lieu d'être un aspect de dégénérescence, représenter peut-être seulement le tout-premier stade de la division ; celle-ci d'ailleurs n'a pas été suivie ; on ne la connaît dans ce genre que pour *Endolimax blattæ*, grâce à la description de C. Lucas ; dans cette espèce, le caryosome est

sphérique au repos et la mitose se fait suivant un mode analogue à celui observé chez les *Vahlkampfia*.

Ce qui éloigne *Hyalolimax* des *Endolimax*, c'est sa structure cytoplasmique. Celle-ci fait penser, par contre, au genre *Malpighiella* qui présente d'ailleurs, avec *Endolimax*, de nombreuses analogies, mais qui est encore imparfaitement connu : *Malpighiella refringens*, découverte par Minchin (1910) dans les tubes de Malpighi de puces et réétudié par Nöller en 1914 (une autre forme a été rencontrée par Alexeieff, chez la sangsue médicinale), présente un cytoplasme réfringent très finement vacuolaire et dépourvu d'inclusions alimentaires au point d'avoir fait mettre en doute sa nature amibienne ; sa nutrition est très vraisemblablement purement osmotique. Or, il est permis de se demander justement si *Hyalolimax*, étant donné la rareté de ses inclusions alimentaires, n'a pas, elle aussi, une nutrition osmotique, tout au moins en partie, car la possibilité d'ingérer des proies ne saurait faire de doute en ce qui la concerne. Mais, outre que les deux structures cytoplasmiques ne sont pas absolument identiques, il reste la différence créée par la vacuole paranucléaire, rien de pareil n'ayant été observé chez les *Malpighiella*. Il est regrettable que nous n'ayons pu rencontrer de kystes ; leur existence est vraisemblable et leur structure nous aurait, sans nul doute, apporté des précisions sur les affinités de ce genre nouveau.

Nous avons observé quelques individus parasités par des micro-organismes de type *Sphærita* ; ceux-ci se présentent avec l'aspect habituel du genre, mais avec un caractère tout spécial, l'extrême petitesse de leurs spores (fig. 21, 22) ; celles-ci, dans des sporanges manifestement arrivés à maturité, ne mesurent en effet guère que de 0 μ , 25 à 0 μ , 3 de diamètre ; dans les sporanges, qui mesurent eux de 3 à 8 μ de diamètre, elles apparaissent très nombreuses et serrées les unes contre les autres. Elles contrastent à ce point de vue de façon frappante avec des *Sphærita*, d'aspect banal, qui parasitent les amibes de type *minuta* présentes dans les mêmes frottis ; par le nombre considérable des spores qu'elle forme et leur extrême petitesse, le parasite d'*Hyalolimax* nous paraît constituer une espèce distincte que nous nommerons *Sphærita parvula* n. sp. Ce parasite semble, comme c'est le cas général, assez bien toléré tant que son volume n'est pas excessif, mais il est capable d'une action de compression manifeste sur le noyau (fig. 22).

RÉSUMÉ

Nous décrivons, sous le nom de *Hyalolimax cercopithecii* n. g., n. sp., une amibe intestinale de *Cercopithecus ruber* qui a, pour

caractéristiques principales : un noyau de type *limax*, un cytoplasme hyalin et homogène présentant très rarement des inclusions alimentaires, mais, de façon constante, une vacuole appliquée à la surface externe du noyau. La mitose de cette amibe rappelle, mais avec des différences, celle des *Vahlkampfia* ; ses affinités la rapprochent des *Endolimax* et des *Malpighiella*.

Un certain nombre de ces amibes ont été rencontrées parasitées par une *Sphærita*, remarquable par le grand nombre et la petitesse de ses spores, *Sphærita parvula*, n. sp.

BIBLIOGRAPHIE

- ALEXEIEFF (A.). — Systématisation de la mitose dite « primitive ». Sur la question du centriole (à propos de la division nucléaire chez *Malpighiella* sp.). *Arch. f. Protistenk.*, XXIX, 1913, p. 344.
- Sur la question des mitochondries et du corps de Golgi chez les protistes. *Ibid.*, LX, 1928, p. 268.
- ARNDT (A.). — Rhizopodenstudien, I. *Ibid.*, XLIX, 1924, p. 1.
- BELAR (K.). — *Protozoenstudien*, I. *Ibid.*, XXXVI, 1915, p. 13.
- *Das Formwechsel der Protistenkerne*, Iéna, 1926 (cf. p. 249).
- BRUG (S. L.). — Protozoölogische waarnemingen. *Geneesk. Tijdschr. van Nederl. Indië*, LXIII, p. 620.
- BRUMPT (E.). — *Précis de Parasitologie*, Paris, 1927.
- CHATTON (E.). — Essai sur la structure du noyau et la mitose chez les amœbiens. Faits et théories. *Arch. de Zool. exp.*, V, 1910, p. 267.
- DANGEARD (P. A.). — Etude de la karyokinèse chez l'*Amœba hyalina* sp. nov. *Le Botaniste*, VII, 1900, p. 49.
- Etudes sur le développement et la structure des organismes inférieurs. *Ibid.*, XI, 1910, p. 1.
- DOBELL (C.). — Cytological studies on three species of *Amœba* : *A. lacertæ* Hartmann, *A. glebæ* n. sp., *A. fluvialis* n. sp., *Arch. f. Protistenk.*, XXXIV, 1914, p. 139.
- *The Amœbæ living in Man.*, Londres, 1919.
- DOBELL (C.) et LAIDLAW (P. P.). — On the cultivation of *Entamoeba histolytica* and some other entozoic amœbæ. *Parasitology*, XVIII, 1926, p. 283.
- FORD (E.). — On the nuclear division of a free-living *limax* amœba (*Amœba tachypodia* Gläser). *Arch. f. Protistenk.*, XXXIV, 1914, p. 190.
- GLASER (H.). — Ueber Kernteilung, Encystierung und Reifung von *Amœba mira* n. sp. *Arch. f. Protistenk.*, XXVII, 1912, p. 172.
- HARTMANN (M.). — Bemerkungen über *Amœba lacertæ* Hartmann, eine Antwort an Clifford Dobell. *Arch. f. Protistenk.*, XXXIV, 1914, p. 336.
- HARTMANN (M.) et VON PROWAZEK (S.). — Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. *Arch. f. Protistenk.*, X, 1907, p. 306.
- IVANIC (M.). — Zur Kenntnis der Fortpflanzungserscheinungen einiger Süßwassersalamanden. *Arch. f. Protistenk.*, L, 1925, p. 113.
- KUENEN (W. A.) et SWELLENGREBEL (N. H.). — Korte beschrijving van enkele minder bekende protozoën uit den menschelijken darm. *Geneesk. Tijdschr. van Nederl. Indië*, LVII, 1917, p. 496.
- JOLLOS (V.). — Untersuchungen zur Morphologie der Amöbenteilung. *Arch. f. Protistenk.*, XXXVII, 1917, p. 229.

- LAVIER (G.). — Sur la vacuole prébasale des Trypanosomes. *C.R. Ac. des Sc.*, CLXXXV, 1927, p. 1534.
- LUCAS (C. L. T.). — Two new species of amœba found in Cockroaches : with notes on the cysts of *Nyctotherus ovalis* Leidy. *Parasitology*, XIX, 1927, p. 223.
- MINCHIN (E. A.). — On some Parasites observed in the Rat Flea (*Ceratophyllus fasciatus*). *Festschr. f. R. Hertwig.*, Iéna, 1910, I, p. 291.
- NÄGLER (K.). — Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. *Arch. f. Protistenk.*, XV, 1909, p. 1.
- NÖLLER (W.). — Die Uebertragungsweise der Rattentrypanosomen, II. *Arch. f. Protistenk.*, XXXIV, 1914, p. 295 (cf. p. 210).
- *Die wichtigsten parasitischen Protozoen des Menschen und der Tiere*, Berlin, 1922.
- REICHENOW (E.). — Ergebnisse mit der Nuclealfärbung bei Protozoen. *Arch. f. Protistenk.*, LXI, 1928, p. 144.
- *Doflein's Lehrbuch der Protozoenkunde*, 5^e éd., Iéna, 1929, cf. p. 735.
- SWELLENGREBEL (N. H.) et WINOTO (R. M. M.). — The life-history of amœbæ of the limax type in the human intestine. *Parasitology*, IX, 1917, p. 266.
- VAHLKAMPF (E.). — Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amœba limax* einschliesslich der Züchtung auf künstlichen Nährboden. *Arch. f. Protistenk.*, V, 1905, p. 167.
- WENYON (C. M.). — *Protozoology*, Londres, 1926.
- WENYON (C. M.) et O'CONNOR (F. W.). — *Human intestinal Protozoa in the Near East*. Londres, 1917.
- WHITMORE (E. R.). — Studien über Kulturamöben aus Manila. *Arch. f. Protistenk.*, XXIII, 1911, p. 81.

Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de médecine de Paris
(Directeur : Professeur E. Brumpt).
et Laboratoire de Zoologie et Parasitologie de la Faculté de médecine
de Lille (Directeur : Professeur G. Lavier).

EXPLICATION DES PLANCHES XIII ET XIV

- PL. XIII. — *Hyalolimax cercopitheci* n. sp. de *Cercopithecus ruber* ; fig. 1, très grand ; fig. 2, petit et fig. 3 très petits exemplaires (la taille courante est donnée par les autres figures) ; fig. 4, exemplaire binucléé ; fig. 5-12, prophase : 5, caryosome devenu irrégulier ; 6-9, apparition de blocs chromatiques dans le caryosome ; 10, spirème ; 11-12, aspects suggérant une centrosomose ; fig. 13, plaque équatoriale.
- PL. XIV. — *Hyalolimax cercopitheci* n. sp. de *Cercopithecus ruber*. Fig. 14, plaque équatoriale ; fig. 15, anaphase ; fig. 16, fin de l'anaphase ; fig. 17, division du cytoplasme ; fig. 18-20, exemplaires binucléés ; fig. 18, un noyau au repos, l'autre en prophase ; fig. 19, un noyau en métaphase, l'autre en anaphase ; fig. 20, les deux noyaux en anaphase ; fig. 21-22, deux exemplaires parasités par *Sphærita parvula* n. sp. ; en 22, le noyau est refoulé par le parasite ; fig. 23, *Entamœba* sp. de type *minuta* rencontrée dans les mêmes frottis ; fig. 24, exemplaire de cette même espèce amibienne, parasité par une *Sphærita* de type banal (comparer avec les figures 21-22).

Hyalolimax cercopitheci n. g. n. sp.

Hyalolimax cercopitheci n. g. n. sp. et *Sphærita parvula* n. sp.