

SUR L'HYPERPARASITISME D'OPALINES PAR DES AMIBES

Par E. BRUMPT et G. LAVIER

Carini (1933) a décrit chez des Opalines du genre *Zelleriella* des microorganismes parasites pour lesquels il créa le genre nouveau *Brumptina* d'affinités incertaines. Peu après, Stabler (1933), rencontrant des formations analogues, vit en elles des formes végétatives et des kystes d'amibes hyperparasitant les Opalines. Carini, dans une nouvelle étude avec Reichenow (1935) de ses préparations, aboutissait à la même conclusion.

Cela nous a engagés à reprendre les frottis établis par l'un de nous à São-Paulo en 1913 (1), et leur étude nous permet de confirmer l'opinion de ces auteurs.

Carini et Reichenow ont eu à leur disposition des frottis provenant : 1° de *Paludicola signifera* parasitées par une *Zelleriella* que Carini avait d'abord rapportée avec doute à l'espèce *Z. brasiliensis* Pinto, mais que postérieurement Carini et Reichenow considérèrent, toujours avec réserves, comme *Z. paludicolæ* Metcalf ; 2° d'*Engystoma ovale* parasités par *Zelleriella falcata* Carini ; 3° de *Leptodactylus ocellatus* parasités par *Z. brasiliensis* Pinto (frottis exécutés par Cordero). Tous ces Amphibiens provenaient du Brésil. Les observations de Stabler portaient sur des *Zelleriella* non spécifiées de crapauds de l'Arizona et de Panama.

Nos frottis, fixés au Bouin et colorés par l'hématoxyline ferrique, proviennent de sept individus de *Paludicola signifera*. Tous les sept présentaient l'Opaline en plus ou moins grande abondance ; chez cinq seulement celles-ci étaient parasitées avec d'ailleurs une intensité variable.

Le tableau suivant résume pour nos frottis la fréquence des Opalines, celle de l'hyperparasitisme, la nature de celui-ci par formes végétatives (A) ou kystiques (K) de l'Amibe et la présence concomitante de formes amibiennes non situées dans les Zellerielles.

(1) Ce sont les préparations dont il est question dans la note en bas de la page 299 du travail de Carini (1933).

PALUDI-COLA	OPALINES	OPALINES PARASITÉES		FORMES AMI-BIENNES LIBRES
		fréq.	par	
N° 1....	abondantes	aucune		aucune
— 2....	rare	en très forte prop.	K	K
— 3....	peu abondantes	presque toutes	A, K	K
— 4....	peu abondantes	presque toutes	A, K	K
— 5....	abondantes	très rares	K	K (très rares)
— 6....	assez abond.	aucune		aucune
— 7....	abondantes	nombreuses (40%)	A	K

Ce tableau montre bien qu'il y a une concordance entre les formes intestinales et les formes hyperparasites. Mais avant de passer aux remarques que nous a permis de faire l'étude de ces frottis, il convient de consacrer d'abord quelques mots à l'Opaline parasitée.

Dans nos sept infestations, les Opalines se sont présentées avec d'assez grandes variations d'aspect, mais avec cependant dans l'ensemble assez de caractères communs pour autoriser à ne voir en elles qu'une seule espèce. La variabilité est d'ailleurs assez grande à l'intérieur de chacun des frottis.

Il s'agit d'une *Zelleriella* (fig. 1) assez large, à contour ovoïde, mais présentant souvent vers sa partie antérieure une encoche latérale très molle lui donnant ainsi un profil comparable à celui d'une palette ; à la partie postérieure existe parfois une ébauche de pointe très arrondie ; mais dans certains cas il y a une pointe nettement marquée. Quelques individus généralement uninucléés, mais parfois aussi binucléés, affectent un contour nettement triangulaire (fig. 1, *e-h*). L'indice morphologique (quotient de la largeur par la longueur) oscille ainsi entre 0,58 et 0,88. Les dimensions absolues sont très variables ; pour s'en tenir aux individus ayant deux noyaux au repos, la longueur du grand axe varie entre 30 et 145 μ . Les individus binucléés les plus abondants ont un grand axe compris entre 45 et 65 μ ; mais il y a une autre zone de fréquence entre 95 et 115 μ . Ce phénomène s'est présenté pour toutes nos infestations assez abondantes pour permettre une étude statistique ; peut-être correspond-il à l'existence d'une grande race, peut-être est-il dû simplement au mode normal d'évolution de l'Opaline qui est à peu près inconnu. C'est en effet la division qui limite l'accroissement de taille, mais nous ne savons rien de son déterminisme ; celui-ci, à en juger d'après nos préparations, paraît assez obscur,

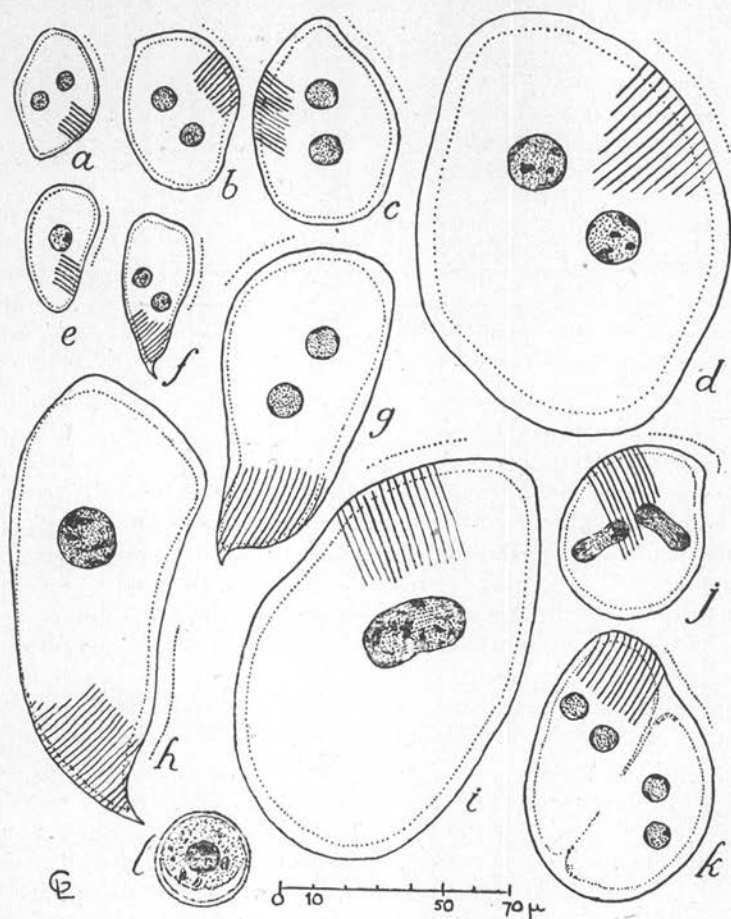


FIG. 1. — *Zelleriella* sp. de *Paludicola signifera* ; les exemplaires représentés ici ont été spécialement choisis parmi ceux qui n'étaient pas parasités ; le pointillé extérieur représente le contour (incomplet) de la ciliature ; le pointillé intérieur la limite de l'ecto- et de l'endosarc ; les stries, une partie des lignes d'insertion ciliaires : a-d, formes courantes, de taille variable ; e-h, formes triangulaires ou cunéiformes, de taille variable et dont beaucoup se terminent en pointe oblique ; i, grand individu en prophase de sa première mitose ; j, petit individu en anaphase de sa deuxième mitose ; k, plasmotomie s'amorçant quand la deuxième mitose est entièrement terminée (cas général) ; l, forme kystique.

car si nous trouvons des individus uninucléés probablement jeunes, mesurant de 30 à 45 μ suivant leur grand axe, d'autres, à côté, mesurent jusqu'à 130 et même 140 μ ; par contre, des exemplaires me-

surant 50 μ ont deux noyaux déjà en voie de division ; d'autres, de 80 μ , ont quatre noyaux au repos ; nous avons même vu un individu présentant cinq noyaux. D'une façon générale, la plasmodiérèse est très en retard sur la division nucléaire et se produit chez des individus déjà pourvus de quatre noyaux ; mais ce n'est pas absolu et on peut l'observer aussi, quoique plus rarement, chez des cellules binucléées. Les noyaux à l'état de repos sont sensiblement sphériques, d'un diamètre variant avec la taille de l'individu et présentent de larges plaques périphériques irrégulières de chromatine ; pendant la mitose, les chromosomes ont tendance à fusionner plus ou moins latéralement de sorte qu'il est impossible de les compter avec certitude ; il paraît y en avoir une dizaine.

A quelle espèce rapporter cette *Zelleriella* qui est sans doute la même qu'a rencontrée Carini chez le même hôte ? Carini et Reichenow, après avoir fait la remarque justifiée que les descriptions jusqu'ici données de *Zelleriella* permettent bien mal de les distinguer, pensent avoir affaire à *Zelleriella paludicolæ* Metcalf, toutefois en faisant sur cette attribution des réserves qui sont très légitimes. Reportons-nous en effet au travail original de Metcalf ; cet auteur ne donne pas les limites de dimensions de son espèce, mais seulement celles de deux individus (longueur 147 μ et 143 μ , 5 ; cette dernière énoncée par erreur 0 mm. 01435) ; si nous examinons par contre ses figures, nous ne voyons aucun individu représenté qui atteigne cette taille : la figure 69 montre en *a* un groupe de cellules dont la longueur varie entre 55 et 140 μ , en *b* un individu de 40 μ , en *c*, un de 108 μ , en *d*, un de 130 μ ; la figure 70, deux individus longs : *a*, de 130 μ , *b* de 100 μ . Les dimensions ainsi données par les dessins et la forme générale du corps sont assez en accord avec ce que nous avons observé. Le texte indique aussi que quelques cellules « are more slender and wedge-shaped with the posterior end tapering to a rounded, never a sharp, point » ; nous avons parlé plus haut de ces individus cunéiformes, mais, certains, nous l'avons vu, présentent une pointe aiguë. En outre, d'après Metcalf, la division de *Z. paludicolæ* s'effectue alors que celle des noyaux est à peine amorcée ; nous avons dit plus haut que pour notre Opaline c'était l'inverse au contraire qui était la règle et que dans la grande majorité des cas la scission ne se produisait que chez des individus déjà entièrement quadrinucléés.

La description de Metcalf concerne une Opaline de *Paludicola bibronii* du Chili ; il note une espèce analogue chez *P. brachyops* du Vénézuéla, mais, dit-il, « it is possible a varietal distinction might be made between the Zelleriellas in the two hosts ». Notre

Opaline provient, ne l'oublions pas, d'une troisième espèce de *Paludicola* ; étant donné à la fois les ressemblances et les divergences qu'elle présente avec la description originale, il ne nous semble pas légitimement possible de lui assigner le nom spécifique donné par Metcalf ni de la considérer comme devant former une espèce nouvelle. Cette difficulté où nous nous trouvons après Carini et Reichenow (et même, on peut le dire, après Metcalf), illustre bien l'état confus où est actuellement la systématique des Opalines.

Quoi qu'il en soit d'ailleurs de l'Opaline, le fait qu'elle est parasitée par une Amibe n'est pas douteux. La proportion des individus atteints est dans certains cas considérable. Pour un individu isolé, le nombre des parasites est variable ; il est plus faible lorsqu'il s'agit des formes végétatives de l'Amibe que lorsqu'il s'agit de formes kystiques ; nous avons rencontré au maximum une trentaine de formes végétatives pour une Opaline ; avec les kystes, le nombre peut largement dépasser la centaine au point que certains individus en sont littéralement bourrés.

Les formes végétatives mesurent de 12 à 15 μ de diamètre, mais leur taille est plus faible quand l'infection est intense (fig. 2, exemplaire en haut et à droite) ; elle l'est également chez les formes prékystiques qui contiennent des inclusions sidérophiles (fig. 2, exemplaire en haut et à gauche) ; le diamètre peut alors s'abaisser jusqu'à 8 μ . Le noyau présente une couche de chromatine périphérique et un amas central de petites granulations. Le cytoplasme est dépourvu d'inclusions, exception faite pour les corps sidérophiles des formes prékystiques. Les kystes mesurent de 7 à 9 μ de diamètre ; ils sont le plus souvent uninucléés, mais certains présentent deux ou quatre noyaux ; ils contiennent toujours une vacuole ayant à son pourtour un ou plusieurs corps sidérophiles.

Nous avons donc bien affaire à la même forme amibienne que Carini et Reichenow, mais en ce qui concerne les modalités de l'infection, il est un point, secondaire d'ailleurs, sur lequel nous ne sommes pas d'accord avec ces auteurs. Pour ceux-ci en effet, pour une Opaline donnée, tous les parasites sont au même stade et les kystes, sauf une seule exception qu'ils relatent, sont uninucléés ; Stabler de même n'a rencontré que des kystes à un noyau. Nous avons vu par contre beaucoup d'exemplaires qui renfermaient à la fois des amibes et des kystes uninucléés (voir fig. 2, en haut et à gauche), et, dans de grands individus bourrés de kystes, il nous a été possible à plusieurs reprises de compter chez les formes kystiques, un, deux ou quatre noyaux. Les kystes non contenus dans les Opalines offrent le même aspect et peuvent présenter également de deux

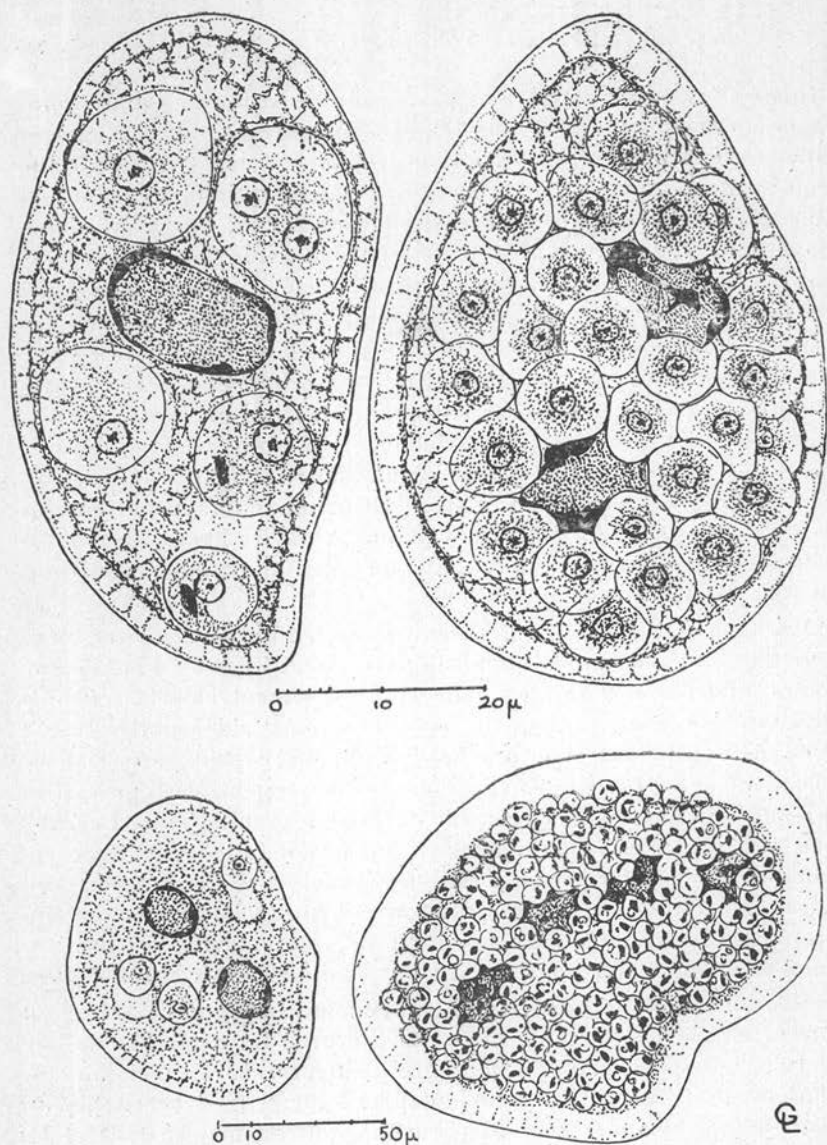


FIG. 2. — *Zelleriella* sp. de *Paludicola signifera* parasitée par une Amibe ; en haut : à gauche, jeune individu uninuéclé renfermant cinq formes amibiennes parmi lesquelles une forme végétative dont le noyau s'est divisé, une forme prékystique et une forme kystique uninuéclée ; à droite, individu renfermant une trentaine de formes végétatives amibiennes, noter la forme polyédrique prise par les noyaux comprimés de l'Opaline, le tassement des amibes qui tendent à la périphérie à bomber dans l'ectosarc ; en bas : à gauche, individu dans lequel le cheminement des amibes est resté visible ; à droite, grand exemplaire bourré de plus d'une centaine de kystes qui remplissent l'endosarc et font par place hernie dans l'ectosarc ; malgré la compression des noyaux, la division s'est effectuée et la plasmotomie commence.

à quatre noyaux ; ils sont généralement de diamètre légèrement supérieur à celui des précédents ; mais la différence, à vrai dire, est faible et pourrait être mise sur le compte de la fixation qui s'effectue dans les deux cas de façon bien différente. Carini et Reichenow pensent que ces kystes libres proviennent en réalité d'Opalines et ont été affranchis par éclatement de celles-ci. Cela n'est évidemment pas impossible, mais est néanmoins loin de nous paraître sûr ; ce serait d'ailleurs bien difficile à prouver. Le fait qu'il n'y ait pas dans les frottis d'amibes végétatives mais seulement des kystes, fait que nous avons observé comme ces auteurs, ne vient pas forcément à l'appui de leur thèse. En réalité, l'Amibe chez l'Opaline vit dans un milieu nouveau et fermé, indépendant du milieu intestinal général, et il n'y a rien d'étonnant à ce que les phénomènes de division directe, d'enkystement et de division nucléaire sous kyste aient un déterminisme et une chronologie différents de part et d'autre du périplaste opalinien. Notre Paludicole n° 7 le montre bien qui ne nous a fourni que des Amibes dans les Opalines et des kystes quadrinucléés dans la lumière intestinale. Quant à l'absence de formes végétatives dans l'intestin, on peut l'expliquer aussi bien par une localisation soit plus haute dans le tractus digestif, soit plus profonde dans les cryptes épithéliales ou même par toute autre supposition qu'autorise l'ignorance totale où nous sommes de la biologie de cette Amibe.

Les parasites sont toujours contenus dans l'endosarc de l'Opaline ; quand ils sont très nombreux, ils peuvent former des hernies dans l'ectosarc, hernies qui, dans les cas de parasitisme très intense, rendent bosselé le contour de l'individu. Dans l'endosarc les amibes sont contenues dans une sorte de loge, mais elles peuvent très certainement se déplacer, car un certain nombre d'individus, comme celui représenté fig. 2, en bas et à gauche, nous ont montré encore visible le sillage laissé dans le cytoplasme. Elles peuvent aussi se diviser, car nous avons rencontré une forme végétative (fig. 2, en haut et à gauche) où la mitose venait de s'effectuer. (Stabler avait vu aussi des formes analogues). C'est certainement par cette véritable culture intracellulaire que l'on aboutit au nombre considérable de parasites que l'on peut fréquemment observer ; l'enkystement se produit après et l'abondance des formes sera d'autant plus grande qu'il sera survenu plus tardivement.

L'Opaline paraît bien tolérer ces parasites ; quand le nombre en est par trop grand, les noyaux comprimés prennent un aspect polyédrique ; mais cependant leur division doit, même alors, être encore possible si l'on en juge par certaines formes que nous avons

rencontrées ; la fig. 2, en bas et à droite, représente par exemple un grand individu bourré de kystes mais ayant néanmoins quatre noyaux et présentant un début de plasmotomie. Il est presque certain toutefois que de telles Opalines sont vouées à périr. Si nous avons observé des parasites dans les Zelleriella parfois de très petite taille, nous n'en avons par contre jamais vu dans les kystes de ces protozoaires.

Carini et Reichenow ramènent l'amibe des Opalines à *Entamoeba ranarum* ou une espèce ou variété voisine. Comme eux nous pensons qu'il est difficile de préciser davantage et que ce nom groupe actuellement plusieurs espèces en réalité distinctes. Il y a certainement plus d'une espèce d'*Entamoeba* chez les Amphibiens, et cette question de systématique, comme celle des *Zelleriella*, est entièrement à reprendre ; l'étude de l'amibe des *Paludicola*, en tout cas, fournirait des arguments pour la solution du dilemme que pose cet hyperparasitisme : les *Zelleriella*, en effet, étant comme les autres Opalines dépourvues à la fois de bouche et de pouvoir phagocytaire, il faut bien admettre que c'est l'Amibe qui pénètre d'elle-même par effraction. Or dans le monde entier, Opalines et *Entamoeba ranarum* (ou du moins ce que l'on désigne sous ce dernier nom) vivent en contact permanent ; seules, jusqu'à présent du moins, des *Zelleriella* ont été rencontrées parasitées ; il nous faut donc admettre ou bien une fragilité particulière de leur tégument ou une aptitude toute spéciale des Amibes d'Amphibiens en Amérique du Sud à pénétrer dans les cellules ; il serait intéressant par suite d'étudier, avant tout, comment ces Amibes se comportent vis-à-vis de l'épithélium intestinal de leurs hôtes. Dans le doute où l'on est actuellement sur la nature exacte de cette Amibe, on peut admettre au moins provisoirement pour son nom spécifique celui donné par Carini et modifié par Stabler : *Entamoeba brasiliensis* (Carini) Stabler am.

En résumé, il est probable que l'Amibe de l'Amphibien, pour une raison qui tient soit à elle, soit à l'Opaline peut pénétrer dans celle-ci, s'y multiplier et s'y enkyster. On a ainsi un cas curieux de déviation du parasitisme où un parasite intestinal s'attaque à un autre parasite qui l'accompagne et le transforme ainsi en un sous-hôte. Nous proposons pour un tel phénomène le nom de *para-néoxénie* ; on en connaît un certain nombre de cas. L'un de nous, dès 1910, a signalé la présence d'infusoires chez les ascarides du colon des chevaux ; J. G. Thomson (1925) a rencontré *Giardia viscacix* chez un Nématode de la viscacha, *Vianella* sp. ; G. L. Graham, *Giardia bovis* chez un Nématode du bœuf, *Cooperia oncophora* ;

récemment Theiler et Farber (1933, 1936) ont montré la fréquence avec laquelle *Trichomonas muris* se développait, et parfois très abondamment, dans le tube digestif des Oxyurides de souris *Aspicularis tetraptera* et *Syphacia obvelata*; ils ont aussi rencontré chez ces mêmes vers, plus rarement, *Giardia muris*, *Entamoeba muris* et une seule fois *Chilomastix bettencourti*. Dans le cas des Nématodes, le mécanisme de l'infection ne soulève pas de difficultés; il est intéressant toutefois de noter que seulement certaines espèces de ces vers intestinaux sont susceptibles de s'infecter. Parfois aussi on a rencontré le parasite chez le ver sous-hôte et non chez le mammifère hôte principal, dont il a sans doute disparu spontanément (cas rapportés par Thomson, Graham, Theiler et Farber). Cela illustre bien l'indépendance relative des deux milieux parasitaires à laquelle nous faisons allusion plus haut.

La paranéoxénie peut aussi se produire dans un sens inverse: l'hyperparasite allant infecter l'hôte principal. Les seuls cas déjà signalés de cet ordre, à notre connaissance sont ceux de Guyénot, Naville et Ponse (1920, 1922): les tissus d'une couleuvre, *Tropidonotus natrix* présentaient des spores de Microsporidies analogues, d'après ces auteurs, à celles existant d'une part dans une larve de Cestode et d'autre part dans un Trématode gastrique qui parasitaient ces serpents.

BIBLIOGRAPHIE

- BRUMPT (E.). — *Précis de Parasitologie*. Paris, Masson, 1910, p. 332.
- CARINI (A.). — Parasitisme des Zelleriellles par des microorganismes nouveaux (*Brumptina* n. g.). *Ann. Parasitol.*, XI, 1933, p. 297.
- CARINI (A.) et REICHENOW (E.). — Ueber Amöbeninfektion in Zelleriellen. *Arch. f. Protistenk.*, LXXXIV, 1935, p. 175.
- GRAHAM (G. L.). — *Giardia* infection in a Nematode from Cattle. *Jl. of Parasit.*, XXI, 1935, p. 127.
- GUYÉNOT (E.) et NAVILLE (A.). — Sur un sporozoaire de la couleuvre vraisemblablement inoculé par un Trématode parasite. *C.R. Soc. de Biol.*, LXXXIII, 1920, p. 965.
- Recherches sur le parasitisme et l'évolution d'une Microsporidie, *Glugea danilewskyi* L. Pfr, parasite de la couleuvre. Kystes. Cycle évolutif. Spores. Infestation. *Revue suisse Zool.*, XXX, 1922, p. 1.
- GUYÉNOT (E.), NAVILLE (A.) et PONSE (K.). — Une larve de Cestode parasitée par une Microsporidie. *C.R. Soc. de Biol.*, LXXXVII, 1922, p. 635.
- METCALF (M. M.). — The Opalinid Ciliate Infusorians. *U.S. Nat. Mus. Bull.* 120, 1923.
- STABLER (R. M.). — On an Amœba parasitic in Zelleriella (Protozoa, Ciliata). *Jl. of Parasitology*, XX, 1923, p. 122.

- THEILER (H.) et FARBER (S. M.). — *Trichomonas muris* parasitic in the Oxyurid Nematodes, *Aspicularis tetraptera* and *Syphacia obvelata* of white mice. *Jl. of Parasitol.*, XVIII, 1933, p. 169.
- *Trichomonas muris* parasitic in the Oxyurid Nematodes, *Aspicularis tetraptera* and *Syphacia obvelata* from white mice. *Parasitology*, XXVIII, 1936, p. 149.
- THOMSON (J. G.). — A *Giardia* parasitic in a bursate Nematode living in the Viscacha. *Protozoology*, I, 1925, p. 1.

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).
