ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

TOME XVIII

1941

N^{os} 1-2-3

MÉMOIRES ORIGINAUX

ANNALES
DE
PARASITOLOGIE

UNE NOUVELLE COCCIDIE INTESTINALE DU GENRE *ISOSPORA*

Par G. LAVIER

J'ai eu l'occasion, il y a quelques mois, grâce à l'obligeance du Professeur E. Brumpt d'examiner les protozoaires parasites intestinaux de 19 *Bufo viridis* qu'il avait ramenés de Syrie.

Tous présentaient des *Trichomonas* (2 ou même peut-être 3 espèces différentes); 3, un *Embadomonas*; 12, des *Hexamita* et *Syndyomita*; 5, des Opalines; 2, un *Nyctotherus*; enfin 5 individus (soit le quart) me montrèrent les oocystes d'une *Isospora*. Sur ces cinq derniers, trois avaient une infestation assez discrète par la coccidie, mais deux étaient assez abondamment parasités pour en permettre l'étude. Il s'agit d'une espèce nouvelle que je nommerai *Isospora brumpti*.

Sporulation.

Les oocystes tels qu'ils se présentent dans le contenu intestinal (*a*, *b*, *c*, fig. 1) sont de forme ovoïde, mesurant de 20 μ à 25 μ de longueur sur 11 μ à 17 μ de largeur, avec maximum de fréquence pour 24 $\mu \times$ 16 μ ; l'indice de forme (quotient de la largeur par la longueur) oscille entre 0,59 et 0,72. La paroi oocystique est incolore et lisse, présentant une seule couche relativement épaisse (0 μ 3-0 μ 5

environ). Le contenu est formé par une masse de granules réfringents de diamètre assez modeste, montrant déjà le rassemblement en sphère qui précède la segmentation; un certain nombre d'oocystes ont même deux sporoblastes formés; ce cas, exceptionnel chez un de nos deux crapauds bien infectés, était au contraire la règle pour l'autre et il s'agit là évidemment de différences dans la vitesse de transit intestinal. La segmentation des oocystes prélevés dans le contenu intestinal peut être suivie facilement suivant la technique habituelle de mise en culture dans la solution aqueuse d'acide chro-

FIG. 1. — Sporulation d'*Isospora brumpti*. — a, b, c, l'oocyste tel qu'il se présente dans le contenu intestinal; d, segmentation achevée; noter l'amincissement de la membrane et l'apparition de quelques plis; e, plissement en accordéon de la membrane oocystique; f, vue de la surface de la membrane plissée en accordéon; g, paroi oocystique présentant une fente polaire par où s'est échappé un sporocyste; h, sporocyste libre tel qu'on en rencontre dans le liquide de culture.

mique à 5 pour 1.000. En partant des oocystes non segmentés, on voit qu'après 24 heures les deux sporoblastes sont présents chez tous, sans reliquat oocystique et qu'après 48 heures la formation des sporozoïtes est terminée. Pour les oocystes qui possédaient déjà deux sporoblastes, le temps est naturellement plus court et après 36 heures, la sporulation est achevée.

Un phénomène curieux se passe pendant cette segmentation, c'est l'amincissement progressif de l'enveloppe oocystique; celle-ci se réduit alors à une mince couche refoulée par la pression des sporo-

cystes, s'étranglant entre les deux spores (*d*, fig. 1) et présentant très fréquemment des replis réalisant souvent le type « accordéon » (*e*, *f*, fig. 1). Cela peut aboutir même à la rupture de la paroi suivant une fente transversale par où s'échappe un des deux sporocystes (*g*, fig. 1). Il y a là quelque chose d'identique à ce qu'a observé Hoare chez *Isospora dirumpens* de *Bitis arietans* et qui se passe aussi, ainsi que je l'ai décrit précédemment chez *Isospora fragilis* (Léger) de *Vipera aspis*; mais dans ces deux derniers cas, le phénomène se passait dans l'intestin même de l'animal parasité dans la profondeur duquel s'effectue la segmentation; ici, il se passe dans le milieu extérieur et, dans le liquide de culture, on peut trouver des sporocystes isolés (*h*, fig. 1); le déterminisme de libération réside donc purement dans la coccidie et l'on ne saurait faire intervenir l'action mécanique du bol alimentaire.

Les sporocystes, ellipsoïdes, mesurent de 15 μ à 19 μ de longueur sur 10 μ à 14 μ de largeur (indice de forme : 0,63-0,77). Ils contiennent quatre sporozoïtes arqués en banane mesurant environ 13 μ de longueur sur 3 μ de diamètre, avec un assez important reliquat granuleux généralement assemblé en sphère, rarement dispersé et s'insinuant entre les sporozoïtes. La paroi est nette et son épaisseur, de 0 μ 3-0 μ 4 environ est sensiblement celle que présentait la paroi oocystique avant la segmentation. Ainsi, quand la segmentation est achevée si l'oocyste est devenu fragile, le sporocyste, lui, est bien résistant. Les sporocystes ne sont pas disposés transversalement comme c'est souvent le cas chez les *Isospora*, mais très obliquement par rapport à l'axe de l'oocyste; leurs deux axes ne sont d'ailleurs pas parallèles. Cette position, comme l'évolution de la paroi oocystique, sont en fonction du volume des spores : si l'on jette un coup d'œil sur les dimensions que j'ai données plus haut, on voit que même la plus petite dimension du sporocyste, la largeur, dépasse la moitié de la plus grande dimension de l'oocyste, la longueur; il en résulte que l'accommodement de spores de cette taille serait impossible sans augmentation des dimensions primitives de l'oocyste; cette augmentation est réalisée par la plasticité de la paroi; mais celle-ci est-elle une qualité passive conséquence de la pression exercée par des spores trop volumineuses? ou bien est-elle primitive et permet-elle ainsi secondairement à la spore d'acquérir des dimensions anormales? il est bien difficile de le dire. Ce curieux problème biologique se pose de même pour les autres espèces d'*Isospora* dont j'ai parlé plus haut et qui présentent aussi ce phénomène de rupture, simple aboutissement de la lutte entre le contenant et le contenu.

Formes intracellulaires.

Les formes intracellulaires de cette coccidie se rencontrent dans l'épithélium intestinal où elles occupent une situation peu profonde, entre le noyau et le plateau; c'est surtout dans les premiers segments de l'intestin grêle qu'elles sont fréquentes mais l'infestation peut s'étendre bien plus loin en aval.

Le plus jeune schizonte que j'ai rencontré mesurait $14\ \mu$ de longueur sur $3\ \mu$ de largeur et présentait encore l'aspect général d'un mérozoïte (pl. I, fig. 1). Le schizonte en grandissant conserve d'ailleurs une forme allongée; les divisions nucléaires se multiplient aboutissant à la formation de 12 à 14 mérozoïtes arqués avec une des extrémités aiguë; ils mesurent $12\ \mu$ - $14\ \mu$ de longueur sur $3\ \mu$ de diamètre; ils sont serrés les uns contre les autres dans une vacuole avec un discret reliquat. Mais très fréquemment, on trouve dans une vacuole unique un nombre bien plus élevé (jusqu'à une cinquantaine) de mérozoïtes qui manifestement sont répartis en plusieurs groupes (pl. I, 7); ils sont alors d'une taille inférieure à celle qui a été mentionnée plus haut. L'étude des coupes montre qu'il y a bien en effet plusieurs masses en schizogonie (pl. I, 5 et 6), de deux à quatre en général. On pourrait penser à une infestation simultanée de la même cellule par autant de mérozoïtes, mais je ne crois pas que ce soit là la réalité, et cela pour deux raisons: tout d'abord la grande fréquence de ces schizogonies multiples, dans des infections qui sont loin d'être massives est hors de proportion avec les probabilités de pénétrations simultanées, phénomène possible mais tout fortuit alors que l'énorme majorité des cellules épithéliales reste indemne; ensuite, ces masses en division ont toujours entre elles des rapports bien nets: elles sont très rapprochées, presque en contact, se moulant parfois l'une sur l'autre sans cependant se confondre; elles sont enfin *toujours situées dans une unique vacuole commune*, alors que la cellule qui les contient est de dimensions relativement très grandes. Je pense par suite que l'on doit attribuer à ces masses une origine commune par une ou deux divisions préliminaires complètes du schizonte primitif; ces masses sont en somme de véritables cytomères formés par dupli- ou quadruplication du schizonte. La schizogonie se fait donc, alors, en deux temps. Je n'ai pas eu la chance, il est vrai, de rencontrer dans mes coupes la mitose préliminaire, mais j'ai à diverses reprises observé l'aspect représenté par la figure 8 (pl. I) où l'on voit dans la même vacuole, serrés l'un contre l'autre deux éléments dont la morphologie rappelle, à ce détail près qu'il n'y a pas d'extrémité aiguë, celle du

jeune schizonte ; j'ai rencontré en outre des formations analogues, à quatre éléments de même aspect quoique de taille un peu moindre. Ce sont ces cytomères qui vont ensuite par leur division donner autant de groupes de mérozoïtes. Il est vraisemblable que ce sont les grands mérozoïtes qui sont susceptibles, suivant l'importance de leur masse de donner deux ou quatre cytomères dont la schizogonie aboutira à des mérozoïtes de petite taille ; ceux-ci donneront ensuite directement un groupe unique de mérozoïtes dont la taille se trouvera ainsi augmentée. On aurait en somme un mécanisme de régulation empêchant les dimensions de varier dans une trop grande amplitude.

Telle est l'explication qui me paraît la plus sûre des aspects que j'ai observés. Un tel processus n'a jamais été signalé, il est vrai, chez les *Isoospora* ni même chez des *Eimeriidae*, mais il est bien connu chez d'autres Coccidies et en particulier chez les *Caryotrophidae* ; chez ces dernières, le schizonte donne d'abord un certain nombre de masses uninucléées qui restent groupées ; ce sont les schizontoblastes ou cytomères dont chacun donne par division un grand nombre de mérozoïtes. Il n'est pas impossible d'ailleurs que ce que je viens de décrire chez *Isoospora brumpti* existe aussi pour d'autres espèces du même genre. Ce qui me le fait penser, c'est que j'ai relevé dans la littérature quelques remarques susceptibles de la même explication : Wenyon (1923) dans sa description minutieuse d'*Isoospora felis* note (p. 250) que la schizogonie donne en général 8 mérozoïtes, mais que parfois il y en a moins (voir sa fig. 16, pl. I, qui en montre 3) ; dans certains cas, il y en a 2 *in a single vacuole* mais il pense qu'il s'agit alors d'une infestation simultanée par 2 mérozoïtes ; en outre il y a des cas où le nombre est bien plus élevé que 8, atteignant souvent 16 et l'ayant même dépassé une fois. Ray et Das Gupta, ont vu parfois chez *Isoospora wenyoni* (qui comme la nôtre est un parasite de crapaud) deux formations accolées dans la même cellule, et la figure qu'ils donnent montre qu'elles sont situées dans la même vacuole ; cette figure ressemble d'ailleurs singulièrement à notre figure 8 (pl. I). L'explication des deux auteurs est la même que celle donnée précédemment par Wenyon : ce seraient 2 mérozoïtes ayant pénétré indépendamment ; dans ce cas, disent-ils, la schizogonie donne l'impression qu'il y a plus de 16 mérozoïtes formés et ceux-ci sont alors plus petits. J'ai dit plus haut pourquoi l'explication par une infestation double ne me paraissait pas satisfaisante et je crois que de nouvelles recherches sur ces *Isoospora*, et peut-être encore sur d'autres, appuieront l'interprétation que j'ai donnée ici des faits observés pour *Isoospora brumpti*.

Les microgamétocytes, indistinguables au début des jeunes schi-

zontes deviennent en grandissant aisément reconnaissables par les divisions nucléaires qui se font activement à leur surface ; ces mitoses peuvent être observées le plus fréquemment à la télophase qui doit donc être le stade de plus longue durée ; on voit alors bien les chromosomes fins et relativement allongés mais agglomérés de façon assez serrée de telle sorte qu'on n'en peut observer le nombre avec certitude ; il paraît être de 6 à 8. Le gamétocyte d'abord très allongé diminue de longueur en augmentant de largeur (11, pl. I) et est ovoïde quand les gamètes sont achevés. Ses dimensions sont alors d'une vingtaine de μ de longueur sur une douzaine de largeur.

Le jeune macrogamète se reconnaît à son cytoplasme qui ne tarde pas à se charger de réserves, mais il a encore la forme du mérozoïte ; l'extrémité aiguë en est encore présente, tendant à se recourber en courte queue (13, pl. I). Ce processus est d'ailleurs reconnaissable, quoique plus court et plus trapu chez certains macrogamètes âgés. Cette disposition a été observée chez d'autres *Isospora*, particulièrement dans les espèces auxquelles nous avons déjà fait allusion plus haut. Pour *I. felis*, Wenyon a noté ces formes qu'il appelle *rounded up* ; et chez *I. wenyoni*, Ray et Das Gupta observent que l'extrémité postérieure du macrogamète est légèrement repliée sur elle-même comme s'il y avait une courte queue. C'est donc là une disposition habituelle dans le genre. Le macrogamète en accroissant sa taille reste longtemps allongé, « grégariniforme » ; il peut alors présenter une longueur dépassant de beaucoup celle qu'aura l'oocyste (14, pl. I). Ce n'est qu'à la maturité qu'il va se raccourcir et s'élargir pour atteindre aux dimensions et à la forme définitives (15, pl. I). Je ne puis dire si cette évolution se fait après ou avant fécondation ; je n'ai pas non plus observé le fuseau de fertilisation sur lequel ont insisté Ray et Das Gupta. L'aspect allongé du macrogamète pendant sa période de croissance a été noté déjà pour *Isospora felis* par Wenyon qui y voit un trait d'affinité avec les grégarines.

*
**

Telles sont les formes que j'ai observées dans l'évolution d'*Isospora brumpti* ; on voit l'intérêt que présente cette espèce nouvelle, tant dans la curieuse transformation de sa paroi oocystique que dans son mode de schizogonie.

La littérature ne mentionne que 2 *Isospora* de crapauds. La première est signalée brièvement et sans nom spécifique par Wenyon (1926) dans son *Traité*. Cette *Isospora sp.* a été rencontrée chez le crapaud commun d'Angleterre et son oocyste mesure environ 25 μ . Il

pouvait donc s'agir de la même espèce. Mais les dessins qu'en donne Wenyon (fig. 352, p. 826) montrent un oocyste après segmentation ; les sporocystes qui mesurent (calculé d'après le grossissement indiqué) $15\ \mu \times 10\ \mu$, pour un oocyste de $25\ \mu$ de longueur sont relativement bien plus petits que ceux d'*I. brumpti*, chez qui les oocystes de $25\ \mu$ ont des sporocystes de $19\ \mu \times 14\ \mu$; en outre, détail important, la paroi oocystique a conservé la même épaisseur qu'avant segmentation (ce qui, pour les raisons que nous avons exposées au début, est en liaison avec la taille plus petite des spores). Il s'agit donc bien d'une espèce différente. J'ai tenté d'ailleurs une expérience, unique, il est vrai, d'infestation de *Bufo vulgaris* par *Isoospora brumpti* : un crapaud a ingéré à la pipette une quantité considérable d'oocystes segmentés ; 8 jours plus tard il n'avait montré aucune infestation et une recherche attentive n'a pas permis de rencontrer à l'autopsie de formes coccidiennes intracellulaires.

La seconde espèce que mentionne la littérature est *Isoospora wenyoni*, décrite par Ray et Das Gupta (1935) chez *Bufo melanostictus* et à laquelle j'ai eu plusieurs fois à faire allusion. La différence de taille est ici péremptoire : l'oocyste mesure de $16\ \mu$ à $20\ \mu$ sur $11\ \mu$ à $14\ \mu$; les sporocystes $8\ \mu \times 4\ \mu$. Sont encore à noter la lenteur plus grande de segmentation (3 jours) et sa rareté (2 crapauds infectés seulement sur plusieurs centaines examinées). Mais s'il s'agit bien sans contestation possible de deux espèces différentes, il y a néanmoins entre elles beaucoup d'affinité. Ray et Das Gupta ont chez *I. wenyoni* signalé un curieux détail ; chaque mérozoïte porte à son extrémité antérieure deux lames hyalines entre lesquelles existe un espace chromophile à fonction contractile. Je n'ai rien vu de pareil chez *I. brumpti* et rien d'analogue n'est connu chez d'autres coccidies sauf chez *Eimeria laminata* décrite par un des mêmes auteurs chez le même hôte ; cette coïncidence ne manque pas d'être singulière pour deux espèces d'un genre différent ; aussi me paraît-il prudent d'en attendre confirmation (1).

En dehors des crapauds, on sait que d'autres Amphibiens peuvent héberger des *Isoospora*. On connaît de longue date *Isoospora lieberkühni* de *Rana*, de taille considérable et dont la schizogonie s'effectue

(1) J'ai eu l'occasion en étudiant les flagellés contenus dans des frottis effectués avec le contenu rectal d'un *Bufo calamita* provenant de Roscoff (Finistère) d'observer les sporocystes entièrement segmentés d'une *Isoospora*. L'enveloppe oocystique ne paraissait pas avoir été rompue ; les dimensions des sporocystes, compte tenu de la rétraction provoquée par le fixateur, étaient d'environ $7\ \mu$ sur $5\ \mu$, ce qui différencie cette *Isoospora* de celle de Wenyon et de *I. brumpti* et la place au voisinage de *I. wenyoni*.

dans le rein. *Isoospora neos* Yakimoff et Gousseff, 1936 de *Rana arvalis* a un oocyste sphérique ou subsphérique. C'est surtout chez les *Hylidæ* que l'on a décrit des *Isoospora* intestinales : *Isoospora hyla* Mesnil 1907 est de taille bien plus considérable que la nôtre. Plus voisine est *Isoospora cruzi* Pinto et Vallim 1926 de *Hyla crottopodospila*, redécrite avec plus de détail par Carini (1937) qui l'a rencontrée également chez *Hyla nasica*, *H. fuscovaria* et surtout *H. rubra* ; ce sont toutes là des rainettes brésiliennes ; mais avec cette espèce doit tomber en synonymie *Isoospora wladimirowi* Yakimoff 1930 de *Hyla arborea*. *Isoospora cruzi* est de taille légèrement plus petite que *I. brumpti*, ses oocystes mesurant d'après Carini de 20 à 22 μ de longueur sur 17 à 18 μ de largeur en moyenne ; les spores sont également plus petites (14 $\times$ 10 μ en général) ; mais le fait intéressant que signale Carini c'est que ces spores distendent la paroi oocystique et en déterminent la rupture amenant ainsi leur libération ; il y a donc dans cette espèce un phénomène analogue à celui que nous avons vu pour le parasite de *Bufo viridis*.

BIBLIOGRAPHIE

- CARINI (A.). — *Isoospora cruzi*, parasita dell' intestino di alcune ile del Brasil. *Arch. de Biol.*, 1937, p. 106.
- LAVIER (G.). — Description d'*Isoospora fragilis* L. Léger 1904, coccidie intestinale de *Vipera aspis*. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, XXXIV, 1940, pp. 25-30.
- HOARE (C. A.). — Studies on some new ophidian and avian Coccidia with a Revision of the Classification of the Eimeriidea. *Parasitology*, XXV, 1933, p. 359.
- RAY (H.) et DAS GUPTA (M.). — On a new Coccidian, *Isoospora wenyoni* n. sp., from the intestine of indian toad, *Bufo melanostictus*. *Arch. f. Protistenk.*, LXXXVI, 1935, p. 219.
- WENYON (C. M.). — Coccidiosis of Cats and Dogs, and the status of the *Isoospora* of Man. *Ann. of trop. Med. and Parasitol.*, XVII, 1923, p. 231.
- *Protozoology*, Londres, 1926, t. II.
- YAKIMOFF (W. L.). — Neue Coccidien der Frösche in Nordkaukasus. *Arch. f. Protistenk.*, LXX, 1930, p. 639.
- YAKIMOFF (W. L.) et GOUSSEFF. — Eine neue Kokzidie des Frosches. *Zentralbl. f. Bakt.*, I (Or.), CXXXVIII, 1936, p. 43.

Travail de l'Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine
de Paris (Directeur : Professeur Émile Brumpt).

Formes intracellulaires d'*Isospora brumpti*. — 1, jeune schizonte ; 2, schizonte en division ; 3, division en 12 mérozoïtes dont 6 seulement figurent sur la coupe ; 4, mérozoïte ; 5, schizogonie en deux masses ; 6, schizogonie en quatre masses dont une a donné déjà les mérozoïtes ; 7, schizogonie ayant donné une cinquantaine de mérozoïtes dont 30 seulement visibles sur la coupe ; on voit qu'il y a eu manifestement plusieurs masses en division ; 8, deux cytomères ; 9, quatre cytomères en coupe oblique ; 10, 11, 12, microgamétocyte ; 13, jeune macrogamète ; 14, accroissement en longueur du macrogamète ; 15, deux macrogamètes mûrs, ovoïdes.