DONNÉES CYTOLOGIQUES ET HISTOCHIMIQUES
SUR L'HÉMATOPHAGIE
CHEZ *HAPLOMETRA CYLINDRACEA* (1) ZEDER 1800

Par L. ARVY

L'hématophagie des Trématodes parasites des Vertébrés est admise par la plupart des parasitologues (Brumpt, 1936 et 1949 ; Neveu-Lemaire, 1936), mais je n'ai pu trouver, dans les publications qui m'ont été accessibles, aucune précision sur cette hématophagie, en particulier aucune donnée sur le devenir du sang ingéré par le parasite. L'autopsie d'un lot de *Rana temporaria* L., mâles, capturés dans la région de Nancy et mis en expérience pour une recherche d'ordre hématologique, m'a permis de récolter un certain nombre d'individus de *Haplometra cylindracea* Zeder. Le Professeur M. Prenant, à qui j'avais fait part de ma trouvaille, m'a conseillé de préciser la réalité de cette hématophagie et d'en étudier les aspects histochimiques. Les résultats de cette investigation sont rapportés ci-dessous.

1. Matériel et techniques

Certains parasites ont été examinés vivants, entre lame et lamelle, dans une goutte de solution physiologique. D'autres ont été étudiés en place, sur coupes en série du poumon prélevé *in toto*, fixé au liquide de Bouin, inclus à la paraffine, débité en coupes sériees et coloré par les méthodes générales (hémalun-picro-indigo-carmin, Mann-Dominici, Azan). D'autres enfin ont été retirés du poumon et fixés par le liquide de Maximow, par celui de Champy, par celui de Regaud, par celui de Carnoy, et par le formol salé, en vue de l'étude cytologique et histochimique du parasite.

(1) La détermination de ce distome a été assurée par R.-Ph. Dollfus, à qui je renouvelle mes très vifs remerciements.

L'hémoglobine a été recherchée sur coupes à la paraffine, par le procédé de Dunn, et sur coupes à la congélation par celui de Fautrez et Lambert.

La recherche des porphyrines a été faite par fluoroscopie, sur matériel frais.

Les pigments biliaires ont été mis en évidence par la réaction de Stein.

Le fer ionique a été recherché par la réaction de Tirmann et Schmelzer, le fer total par micro-incinération au four de Policard.

Cette recherche de l'hémoglobine et des produits de son métabolisme a été complétée par quelques techniques cytologiques et histochimiques générales, destinées à fournir des précisions sur les constituants nucléaires et cytoplasmiques de l'épithélium des cæcums digestifs. J'ai étudié les structures nucléaires par coloration à l'hématoxyline ferrique et au vert de méthyle-pyronine, avec contrôle par une ribonucléase pancréatique, les lipides par imprégnation osmique et par coloration au noir Soudan B, le glycogène par coloration au carmin de Best et le chondriome par coloration suivant Altmann-Gabe.

2. Résultats

a) Mode de fixation du parasite et réactions du poumon de l'hôte

Le parasite semble se fixer à l'épithélium pulmonaire de l'hôte avant tout par la ventouse ventrale. Les coupes en série permettent de saisir l'effondrement des logettes pulmonaires par le tégument échinulé du parasite et l'ingestion de sang au niveau de la ventouse antérieure au fond de laquelle s'ouvre le pharynx.

La présence des Trématodes détermine une réaction intense du poumon de l'hôte. L'épithélium pulmonaire, qui est pavimenteux, devient cylindrique, un chorion se différencie au-dessous de l'épithélium et les muscles des logettes acquièrent un développement important. Il n'y a, par contre, aucune manifestation inflammatoire, aucune congestion, ni accumulation de leucocytes. On ne trouve jamais de coagulum fibrineux au contact du parasite ; il faut donc se demander si ce dernier ne sécréterait pas une substance anticoagulante.

La comparaison de ces lésions pulmonaires de la grenouille parasitée avec les lésions pulmonaires déterminées chez l'Homme par *Paragonimus ringeri* Cob. fait ressortir un certain nombre de différences. La constitution anatomique du poumon de la Grenouille fait

comprendre l'absence de formations kystiques d'origine bronchiale ; par contre, l'absence de réaction inflammatoire est plus étonnante. Je n'ai jamais observé de cellules géantes analogues à celles signalées dans le poumon humain parasité par *P. ringeri* (Katsurada,

FIG. 1. — Détail d'une coupe de poumon de *Rana temporaria* L. Bouin, hémalum-picro-indigo-carmin. Remarquer l'effraction des logettes pulmonaires et les érythrocytes extravasés, le tégument échinulé du parasite, le parenchyme avec les grandes cellules granuleuses, les follicules vitellogènes.

1900), ni de leucocytes éosinophiles ou basophiles, comme l'a signalé Brumpt (1909) au cours de la distomatose pulmonaire humaine. La réaction inflammatoire, à mononucléaires chargés de débris phagocytés, constatée par Feldmann et Essex (1929), au cours de la distomatose pulmonaire provoquée par *Paragonimus kelliotti*, chez le Chat, fait également défaut.

b) Localisation de l'hémoglobine et de ses dérivés dans le corps de *Haplometra cylindracea* Zed.

Dès l'examen à frais, l'hématophagie de *H. cylindracea* ne fait aucun doute : les cæcums digestifs, depuis la ventouse ventrale jus-

Fig. 2. — Détail d'une coupe de poumon de *Rana temporaria* L. Bouin, Mann-Dominici. Remarquer l'effondrement des logettes pulmonaires, les érythrocytes extravasés et les érythrocytes dans la lumière de la ventouse buccale.

qu'à leur terminaison, contiennent des érythrocytes, et ces derniers subissent un brassage continu du fait des contractions musculaires.

L'examen des coupes colorées par les méthodes générales montre que les cæcums digestifs du parasite contiennent en abondance variable, suivant les individus, des éléments cellulaires ovoïdes, pourvus d'un noyau allongé et d'un cytoplasme franchement acido-

FIG. 3. — En haut, coupe de poumon normal. Les érythrocytes présents dans les logettes pulmonaires ont pénétré au moment du prélèvement du tissu. L'épithélium pulmonaire est plat, la musculuse est mince. Bouin, Azan. — En bas, coupe d'une paroi de logette pulmonaire chez une grenouille parasitée par *Haplometra cylindracea* Z. Remarquer l'épithélium cylindrique, le chorion, l'hypertrophie de la musculuse. Même technique, même grossissement.

phile. Tous les caractères morphologiques permettent d'affirmer qu'il s'agit d'érythrocytes de Grenouille, les uns en bon état de

conservation, les autres plus ou moins altérés. Ces altérations portent tant sur le noyau que sur le cytoplasme ; le noyau est gonflé, il a perdu sa structure, il est devenu homogène, et son affinité pour les colorants basiques est diminuée ; le cytoplasme des érythrocytes en voie de lyse est étalé, à contour irrégulier, encoché ou indistinct. Parfois toute limite cellulaire a disparu et il n'existe dans les cécums que des amas amorphes et acidophiles.

Les réactions peroxydasiques de l'hémoglobine sont fortement positives au niveau du contenu intestinal, qu'il s'agisse d'érythrocytes encore intacts ou d'amas amorphes. La réaction de Fautrez et Lambert ainsi que celle de Dunn confirment l'examen *in vivo* et les données morphologiques. Leur netteté est telle que je n'ai pas mis en œuvre l'examen microspectroscopique, qui, avec l'appareil dont je pouvais disposer, ne m'aurait pas permis une localisation à l'échelle cellulaire.

Fortement positives au niveau du contenu intestinal, les deux réactions peroxydasiques mentionnées sont négatives dans toutes les autres parties du corps de l'animal. L'épithélium intestinal lui-même reste toujours incolore après réaction au zinc-leuco et tranche nettement sur la teinte verte du contenu intestinal.

Examiné en lumière ultra-violette, après montage à la glycérine, le contenu cæcal est doué d'une forte fluorescence primaire rouge ; il contient donc des porphyrines. Je n'ai pu, pour des raisons d'ordre matériel, faire le spectre de fluorescence, seul caractéristique, ni établir l'existence éventuelle de porphyrines dans l'épithélium cæcal.

Malgré des essais répétés, je n'ai jamais pu mettre en évidence de fer figuré dans l'organisme de *Haplometra cylindracea* Zed. Le contenu intestinal lui-même en est dépourvu. Le démasquage à l'alcool-acide, suivant McCallum, n'en fait pas apparaître. Tous différents sont les résultats de la micro-incinération ; l'examen des spodogrammes montre que le Trématode est au contraire très riche en fer total, et cette notion, jointe à l'absence de fer ionique, permet d'affirmer que la totalité du fer contenu dans le corps du parasite existe en liaison très solide avec des composés organiques.

Le contenu intestinal donne des cendres rouges en plus ou moins grande abondance ; la comparaison des spodogrammes faits sur des coupes voisines de celles colorées par les méthodes topographiques prouve que cette abondance est liée à celle des érythrocytes.

Une deuxième accumulation de cendres rouges marque le pôle basal des cellules cæcales.

Les grandes cellules du parenchyme du Trématode contiennent également du fer ; cette localisation est surtout nette vers l'extrémité antérieure du corps.

FIG. 4. — Cæcum de *Haplometra cylindracea* Z. Carnoy, vert de méthyle-pyronine. En haut la lumière du cæcum, avec des débris d'érythrocytes de *Rana temporaria* L. Les formations ergastoplasmiques riches en ribonucléïnes sont abondantes, le noyau contient toujours un nucléole riche en ribonucléïnes.

FIG. 5. — Cæcum de *Haplometra cylindracea* Z. Regaud, Altmann-Gabe. Le chondriome est constitué essentiellement par des mitochondries : rares au pôle basal et au pôle apical, elles abondent dans la région supra-nucléaire de la cellule cæcale.

D'autres lieux d'accumulation du fer sont représentés par les gonades, les voies génitales et les ventouses.

La glande coquillière est pauvre en fer ; quant aux œufs en segmentation, contenus dans l'utérus, leur richesse en matière minérale est extrême ; après micro-incinération, ils donnent des amas de cendres blanches si abondants qu'il ne m'est pas possible de dire s'il existe ou non des cendres rouges.

c) Données cytologiques et histochimiques sur l'épithélium
des cæcums digestifs

L'œsophage fait suite au pharynx. C'est un conduit très court à parois minces, à épithélium plat. La lumière œsophagienne dessine quelques petites digitations peu profondes, puis l'œsophage se bifurque et donne les deux cæcums digestifs. L'épithélium cæcal est haut, ses cellules mesurent en moyenne $25\ \mu$ de haut sur $8\ \text{à}\ 12\ \mu$ de large. Le noyau est toujours basal, régulièrement arrondi, pauvre en chromatine et pourvu d'un volumineux nucléole souvent hétérogène ; on y trouve, à côté de zones très riches en ribonucléines pyroninophiles, des régions qui en contiennent nettement moins ; il n'est pas rare de trouver dans le nucléoplasme deux ou trois particules émises par le nucléole.

Le cytoplasme comporte trois régions différentes. Au pôle basal il apparaît clair, car il est parsemé par un certain nombre de vacuoles assez volumineuses, à contour régulier, arrondi ou ovalaire. Au-dessus du noyau, il apparaît homogène, fortement basophile, et les colorations spécifiques y montrent un ergastoplasme très abondant, qui s'étend jusqu'au pôle apical. Ce dernier est très clair. Il n'y a pas de plateau strié et la limite apicale des cellules est très variable ; il semble que la paroi apicale de la cellule épithéliale soit capable d'émettre des sortes de pseudopodes. Il est probable que c'est l'ergastoplasme qui a fait croire à Poirier (1885) que le cæcum est formé de « cellules très longues, en forme de filaments », « de véritables poils absorbants ». La répartition du chondriome est différente suivant les trois régions ; au pôle basal de la cellule, on trouve des mitochondries clairsemées, disposées autour de vacuoles ; la région supra-nucléaire contient des mitochondries de même taille que la région basale, mais beaucoup plus nombreuses, disposées en un amas dense ; au pôle apical, les mitochondries sont beaucoup plus rares et espacées par un réseau cytoplasmique qui donne à ce pôle de la cellule un aspect spongieux.

La détection histochimique des graisses figurées et du glycogène

est restée négative au niveau du cæcum ; d'autres régions du corps du Distome en contiennent cependant en abondance.

3. Discussion des résultats

Les faits que je viens d'exposer démontrent donc que *Haplometra cylindracea* Zed. est hématophage. L'examen des coupes permet de suivre la dégradation des érythrocytes de *Rana temporaria* L. dans la lumière des cæcums digestifs de ce parasite.

Par contre, il ne semble pas y avoir absorption d'hémoglobine par l'épithélium des cæcums digestifs, et il n'existe pas d'hémoglobine histochimiquement décelable dans les divers tissus du parasite.

La présence, dans le contenu intestinal, de porphyrines et de pigments biliaires, produits de dégradation de l'hémoglobine, témoigne de la dislocation de la molécule. On se trouve donc en présence d'un comportement identique à celui de certains Insectes hématophages. En effet, Wigglesworth (1943) a démontré que, chez *Aedes ægypti*, *Anopheles maculipennis* et *Nosopsyllus fasciatus*, la molécule d'hémoglobine ingérée était dégradée dans le mésentéron, sans qu'il y ait absorption de pigments sanguins.

Cependant, la richesse en fer organique des tissus chez *Haplometra cylindracea* Z. prouve la réalité d'une absorption de fer exogène, qui ne peut se faire que par les cæcums digestifs. Cette absorption se fait sous une forme masquée et même le contenu intestinal est toujours dépourvu de fer ionique.

Le mécanisme de cette absorption de fer est très difficile à élucider. En effet, une absorption sous forme d'hématine semble difficile à admettre, puisque ce dernier pigment donne les mêmes réactions peroxydasiques que l'hémoglobine, et que ces réactions se sont toujours montrées négatives dans les cellules de l'épithélium cæcal, tout en étant fortement positives dans le contenu cæcal. On sait d'ailleurs (Lison, 1936) que l'hématine n'apparaît que très rarement dans les êtres vivants.

Les techniques histochimiques que j'ai pu mettre en œuvre ne me permettent pas de me prononcer sur la nature du composé ferrugineux absorbé par la cellule cæcale. Il doit s'agir d'une combinaison organique très solide, puisque le démasquage à l'alcool acide reste sans effet. D'autre part, les propriétés peroxydasiques disparaissent avec la pénétration dans la cellule cæcale. La forme d'absorption et de transport du fer chez *Haplometra cylindracea* n'est certainement pas l'hémoglobine. Les conditions du métabolisme martial de ce Trématode sont donc assez différentes de celles qui existent chez la plupart des Nématodes hématophages (Hobson, 1948).

Les particularités cytologiques et histochimiques de l'épithélium cæcal témoignent d'une grande activité. Le chondriome est fait de nombreuses mitochondries. Il existe un ergastoplasme très développé, les noyaux sont dotés de nucléoles volumineux et souvent hétérogènes. Cette richesse en ribonucléines pyroninophiles est peut-être à mettre en rapport avec la synthèse d'enzymes protéolytiques. On sait, en effet, depuis les recherches de Caspersson et collaborateurs (1941), que les ribonucléines existent en abondance dans la plupart des cellules qui élaborent des enzymes protéolytiques (glandes séreuses des Vertébrés). L'absence de graisses figurées et de glycogène dans les cellules de l'épithélium cæcal incite à admettre un transit assez rapide à travers la cellule épithéliale, puisque ces substances existent en abondance dans d'autres tissus du Trématode.

De tous les constituants de la molécule d'hémoglobine, seul le fer peut être mis en évidence dans les tissus de *H. cylindracea*. Sa présence, sous forme organique, non démasquable par le procédé de McCallum, ne saurait être accidentelle. Il ne m'a pas été possible d'élucider son rôle dans la vie du parasite. En effet, seule une étude expérimentale aurait pu fournir des précisions à ce sujet, et on sait les difficultés presque insurmontables qui s'opposent à l'élevage de parasites à spécificité aussi étroite que celle des Trématodes. L'étude spectroscopique présenterait d'ailleurs un grand intérêt à cet égard, d'autant que la nécessité d'un métabolisme anaérobie n'existe pas pour *H. cylindracea*, parasite du poulmon.

Quant aux réactions de l'hôte, certaines des particularités, à savoir l'absence de kystes, s'expliquent par la constitution anatomique du poulmon de Grenouille. D'autres différencient nettement la parasitose déterminée par *H. cylindracea* des distomatoses pulmonaires des Mammifères, à savoir l'absence d'inflammation et d'afflux leucocytaire. La réaction intense de la musculature autour du parasite est peut-être à rapprocher des néoformations musculaires décrites par Hollande (1920) chez des larves de *Dytiscus marginalis* L. parasitées par un Distome.

RÉSUMÉ

L'étude histologique démontre, en somme, la réalité de l'hématophagie chez *Haplometra cylindracea* Z. Les réactions histochimiques de l'hémoglobine et des produits de son catabolisme témoignent d'une dégradation avancée de la molécule dans la lumière des cæcums digestifs. *H. cylindracea* ne possède pas d'hémoglobine autochtone. Le métabolisme du fer se présente, chez ce parasite,

sous un aspect très particulier, puisque la totalité du fer se trouve engagée dans des combinaisons organiques très solides ; seule l'étude expérimentale permettrait de préciser le rôle du fer dans l'organisme du Trématode. Les réactions du poumon de l'hôte différent, à certains égards, des modifications pulmonaires au cours des distomatoses pulmonaires des Mammifères.

BIBLIOGRAPHIE

- BRUMPT (E.). — *Précis de Parasitologie*, 6^e édition, 1949, Masson édit., Paris.
- CASPERSSON (T.), HYDEN (P.) et AQUILONIUS (L.). — *Chromosoma*, II, 1941, 33.
- FELDMANN (W.-H.) et ESSEX (H.-E.). — Distomatose pulmonaire chez le chat. *Ann. Parasitol.*, VII, 1929, 204-8.
- HOBSON (A. D.). — The physiology and cultivation in artificial media of nematods parasitic in the alimentary tract of animals. *Parasitology*, XXXVIII, 1948, 195-227.
- HOLLANDE (A.-Ch.). — Réactions des tissus du *Dytiscus marginalis* L. au contact des larves de distome enkystées et fixées aux parois du tube digestif de l'insecte. *Arch. Zool. gén. expér.*, LIX, 1920, 543-63.
- LISON (L.). — *Histochimie animale. Méthodes et problèmes*, Gauthier-Villars édit., Paris, 1936.
- NEVEU-LEMAIRE (M.). — *Traité d'Helminthologie médicale et vétérinaire*, Vigot édit., Paris, 1936.
- POIRIER (J.). — Contribution à l'histoire des trématodes. *Thèse Sciences*, Paris, 1885.
- PRENANT (M.). — Recherches sur le parenchyme des plathelminthes. Essai d'histologie comparée. *Thèse Sciences*, Paris, 1922.
- WIGGLESWORTH (V. B.). — The fate of haemoglobin in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) and other blood-sucking Arthropods. *Proc. Roy. Soc. London*, B, CXXXI, 1943, 313-39.

Laboratoire d'Anatomie et d'Histologie comparées de la Sorbonne.