

ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome XXXVIII

1963

N° 6

Annales de Parasitologie (Paris), t. **38**, 1963, n° 6, pp. 861 à 874

MÉMOIRES ORIGINAUX

Étude de kystes d'origine parasitaire (Microsporidies ou Grégaires) sur la paroi interne du corps des Vers *Megascolecidae*

Par Pierre DE PUYTORAC et Michèle TOURRET

La paroi du corps des Oligochètes *Megascolecidae* peut présenter des kystes de taille variable, saillants dans la cavité coelomique, où ils apparaissent lors de la dissection du Ver.

Grâce aux aimables envois de matériel fixé au formol, que nous a faits Mr. G. E. GATES, auquel nous exprimons tous nos remerciements, nous avons pu en étudier un certain nombre, chez cinq espèces de Vers.

Ils sont de deux sortes, dus à deux types différents de parasites : d'une part, une Microsporidie ; d'autre part, une Grégaire.

I. Kystes à *Coccospora gatesi* (1) sp. nov.

Peu de Microsporidies, en dehors des *Mrazekiidae*, sont connues comme parasites des Oligochètes. Ce sont :

- *Thelohania chaetogastri* Schröder 1909 dans les muscles de *Chaetogaster diaphanus* ;
- *Cocconema slavinae* Léger et Hesse 1921 dans l'épithélium intestinal de *Slavinia appendiculata* ;
- *Nosema tubificis* Van Ryckeghem 1928 dans l'épithélium intestinal d'un *Tubifex* sp. ;
- *Nosema cernositovi* Jirovec 1936 dans l'épithélium intestinal d'*Opistocysta flagellum* ;
- *Nosema haematobium* Jirovec 1936 dans l'appareil circulatoire de *Tubifex tubifex*.

(1) Dédiée à M. GATES, spécialiste reconnu de la systématique des Oligochètes.

Certains kystes de *Pheretima hawayana* (Hawaï Island, Oahu) et de *Pheretima californica* (Ascension Island ; récolté par A. Loveridge), qui se révèlent comme des grossissements de la paroi du corps, de 300-400 μ de diamètre jusqu'à 1,2-1,5 mm, rares et dispersées ou, au contraire, plus nombreuses et rapprochées, contiennent des spores très petites, sphériques et munies d'un filament spiral. Ces deux caractères définissent la famille des *Cocconemidae* Léger et Hesse 1922, transformée en *Coccosporidae* par Kudo (1931).

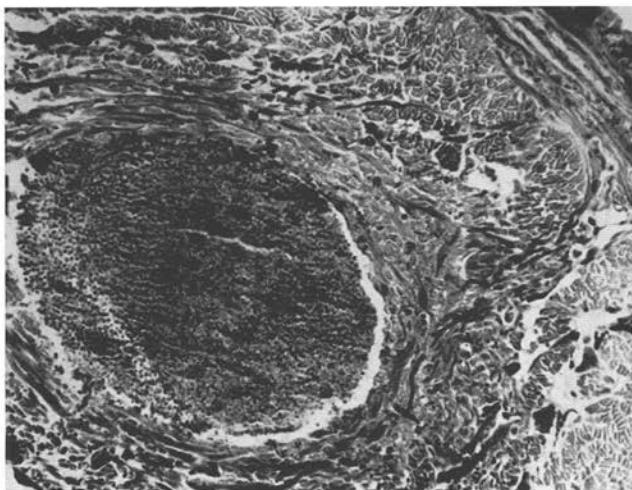


FIG. 1. — Kyste de *Coccospora*, dans la musculature longitudinale de *Pheretima hadwayana*. $\times 180$

Le genre *Coccospora* est connu, outre l'espèce *Coccospora slavinae*, précédemment citée, par trois espèces parasites de Diptères :

- *Coccospora micrococcus* Léger et Hesse 1921 dans le tissu adipeux de *Tanypus setiger* ;
- *Coccospora octospora* Léger et Hesse 1921 dans l'épithélium intestinal larvaire de *Tanytarsus* sp. ;
- *Coccospora polyspora* Léger et Hesse 1921 dans le tissu adipeux larvaire de *Tanytarsus*.

La spore est toujours « une petite boule claire et brillante, à aspect de Microcoque de 2 à 3 μ à peine ».

Des frottis et des coupes de kystes à *Coccospora* des *Pheretima* ont été étudiés, après les colorations classiques.

Chaque kyste apparaît comme un amas sphérique ou ovoïde de spores entassées, entouré par une enveloppe kystique et inclus dans la musculature longitudinale interne. La fibre musculaire parasitée s'hypertrophie, en effet, considérablement et, repoussée

par les fibres voisines, elle se dilate dans la cavité générale en une grosseur qui s'insinue entre la paroi du corps et le tube digestif, mais qui est toujours reliée par un pédicule à la musculature circulaire (fig. 1, 2). La disposition des myofibrilles est profondément perturbée. Il y a une hyperémie intense et une vascularisation sanguine très importante autour de l'organe infesté. De nombreux vaisseaux circonscrivent l'enveloppe du kyste, en partie constituée par de nombreux coelomocytes empilés en plusieurs assises concentriques, autour de la masse parasitaire (fig. 3, 4).

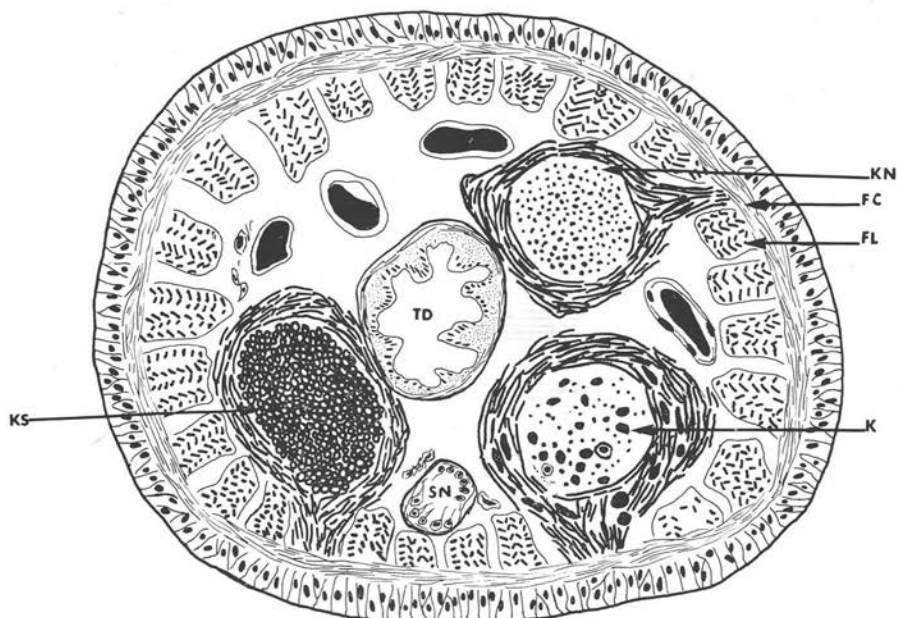


FIG. 2. — Schéma d'une coupe transversale de *Pheretima hawayana*, montrant 3 Kystes à Microsporidies. FC : fibres musculaires circulaires ; FL : fibres longitudinales ; K : kyste à l'état de plasmode à noyaux de tailles différentes ; KN : plasmode à petits noyaux ; KS : kyste à spores mûres ; SN : chaîne nerveuse ; TD : tube digestif

Le syncytium hôte devient alors un kyste de grande dimension, rappelant les kystes à *Glugea*. Les kystes à *Coccospora* ont donc une paroi propre, contrairement à ce qu'ont observé LÉGER et Duboscq pour les autres espèces de ce genre. Cependant, dans les fibres voisines de celles qui sont ainsi altérées, peuvent aussi s'observer, entre les myofibrilles, des nids plus ou moins importants de spores, non limités par une membrane particulière (fig. 6).

La vive réaction de l'hôte peut avoir raison du kyste. Il est alors forcé par les lamprocytes qui phagocytent activement les spores (fig. 7).

La spore, de 2,5 à 3 μ de diamètre, est, en fait, subsphérique, car elle est légèrement déprimée à un pôle par une petite invagination circulaire, limitée par un bourrelet sail-

lant (fig. 8). Un axe antéro-postérieur est ainsi défini. Directement observée en contraste de phase, sans coloration, elle montre une zone en croissant, à peu près équatoriale, correspondant au sporoplasme, avec, au pôle opposé de la dépression annulaire de la capsule, une masse arrondie ou ovoïde, réfringente, dans une sorte de « vacuole » claire. La coloration à l'hématoxyline confirme la position de la bande cytoplasmique et y pré-

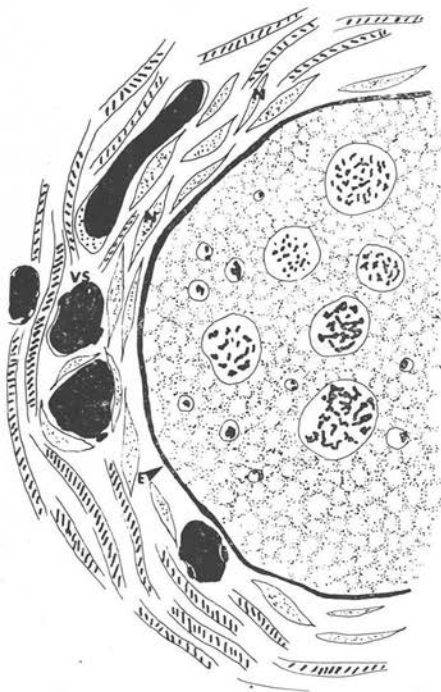


FIG. 3. — Schéma d'un kyste contenant un plasmode plurinucléé et à noyaux de tailles différentes. E: enveloppe du kyste; N: noyau de coelomocyte; VS: vaisseau sanguin.
× 1.700

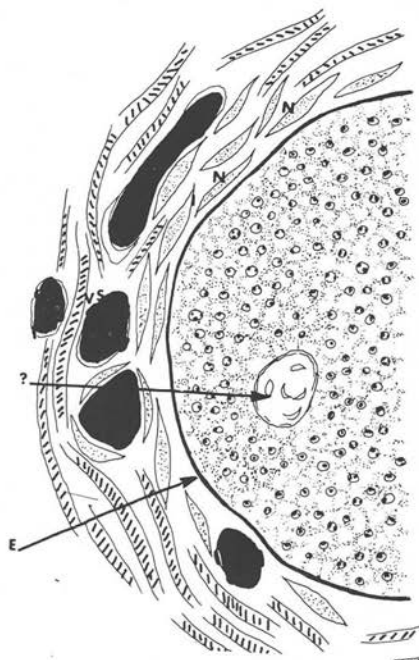


FIG. 4. — Schéma d'un kyste contenant de nombreux noyaux de même taille × 500. E: enveloppe; N: noyau de coelomocyte; VS: vaisseau sanguin; ? : inclusion assez fréquente dans les kystes à ce stade d'évolution et de nature énigmatique

cise la présence d'un noyau de contour rarement circulaire, mais souvent ovoïde, avec le grand axe perpendiculaire à l'axe antéro-postérieur de la spore. Il est bien révélé, surtout, par la coloration au bleu polychrome et par le Feulgen (fig. 5, 8).

La chromatine forme contre la membrane nucléaire un liseré périphérique avec quelques épaissements, quatre le plus souvent.

Il n'y a absolument pas de « noyau géminé » dont parlent Léger et Duboscq (1921) et tel qu'il a été mis en évidence chez les *Mrazekiidae* (Puytorac, 1962). Il n'y a pas de

capsule polaire, mais seulement un filament, facilement mis en évidence par la coloration au bleu polychrome (fig. 5, 9). Il encercle le sporoplasme en plusieurs tours de spire.

L'examen de coupes ultrafines au microscope électronique RCA EMU 3D (1), après fixation au formol, puis acide osmique et inclusion à l'Epon 812, a permis d'apporter quelques précisions supplémentaires sur la constitution de la spore (fig. 9, 10).

La paroi capsulaire, de structure granulo-filamenteuse, de 1.037 à 1.050 $m\mu$ d'épaisseur, semblerait interrompue au niveau de la dépression antérieure, juste au point d'invagination du filament polaire. Le contenu de la spore est ensuite entouré par une enveloppe interne, très contrastée, de 100 Å d'épaisseur environ.

Il se divise en une partie sous-équatoriale comprenant le filament polaire et le noyau et une partie sous-équatoriale, c'est-à-dire postérieure, contenant une ou deux grosses inclusions sombres, dans une zone claire, et, par ailleurs, apparemment vide.

Le filament polaire apparaît nettement sur toute sa longueur comme un tube dont la partie basale, de 500-600 $m\mu$ de longueur, est élargie. La partie proximale du tube polaire, dont la lumière est de l'ordre de 73 $m\mu$ et la paroi d'une épaisseur de 52 $m\mu$, s'incline obliquement pour se placer dans un plan grossièrement perpendiculaire à l'axe antéro-postérieur de la spore. Le diamètre du tube diminue alors très sensiblement, puis il ne variera guère au cours de l'enroulement spiral du filament, jusqu'à son extrémité distale, où la lumière n'est plus que de 50 $m\mu$ de diamètre, environ.

Il y a, le plus souvent, neuf tours de spire successifs, avec un enroulement terminal double, ce qui se traduit, à ce niveau, sur les coupes perpendiculaires au filament par la juxtaposition de deux sections du filament (fig. 9, 10).

La paroi du filament est nettement formée de trois strates différentes qui apparaissent, de l'intérieur vers l'extérieur, dans le filament invaginé :

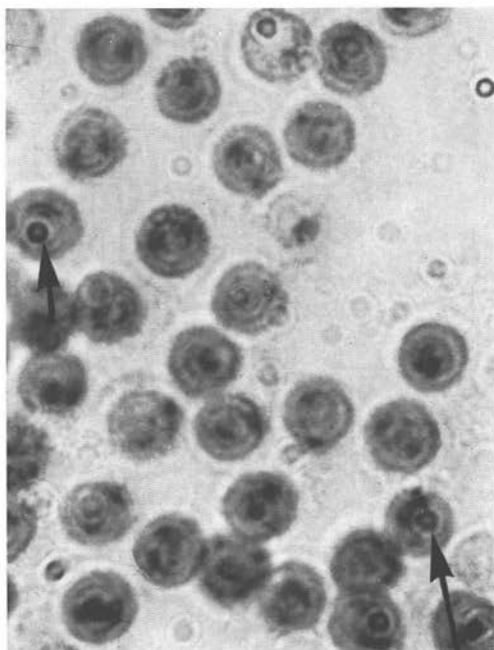


FIG. 5. — Microphotographies de spores de *Coccospora gatesi* après coloration au bleu polychrome $\times 3.600$ (flèche : noyau)

(1) Nous exprimons tous nos remerciements au professeur P.-P. GRASSÉ, pour son aimable accueil au Laboratoire de Microscopie électronique du C.N.R.S.

- a) comme un liseré dense, de 100-110 Å d'épaisseur ;
- b) comme une couche moins contrastée, de 150-180 Å d'épaisseur ;
- c) comme une enveloppe sombre, de 120-150 Å d'épaisseur.

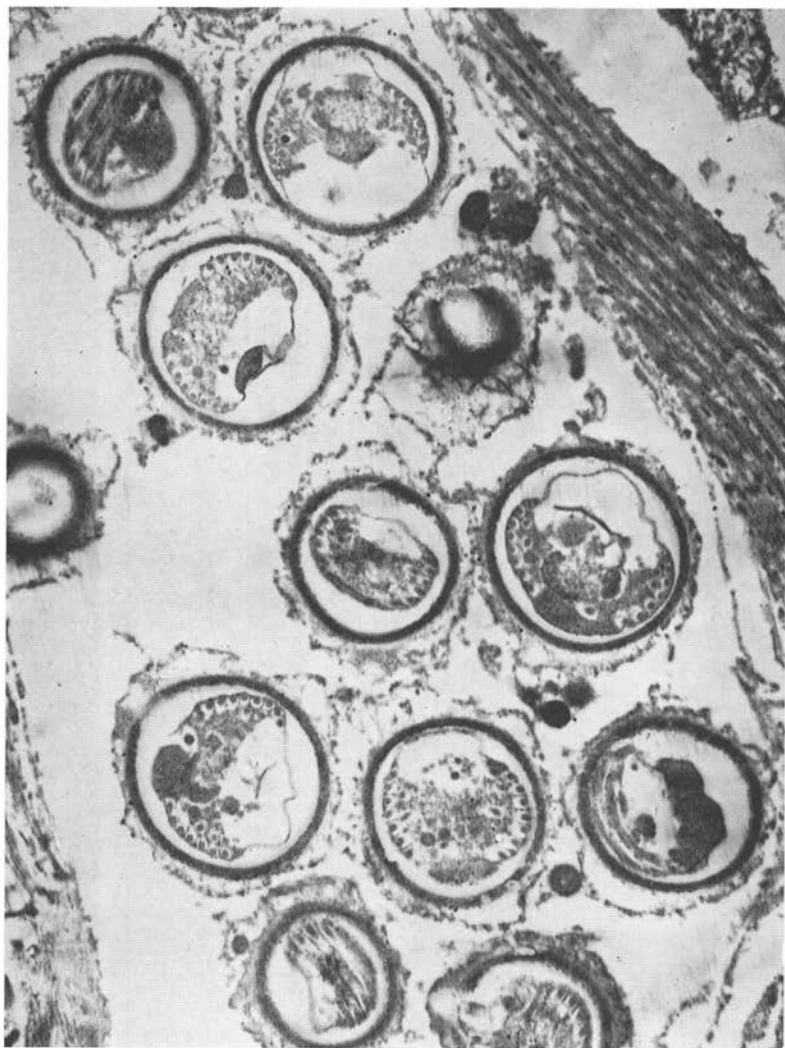


FIG. 6. — Coupe ultrafine de fibre musculaire parasitée montrant les groupes de spores entre les fibrilles $\times 7.250$

Autour de la partie basale du filament polaire est un disque, constitué par l'accumulation de granules orientés en lignes irrégulières.

Dans le cytoplasme entourant le noyau, sont empilés, en plusieurs groupes, des saccules aplatis.

Le filament polaire des *Coccospora* est donc bien un tubule creux, comme le voient, au microscope électronique, chez divers genres, Lom et Vavra (1961), Ludvick (1961) et

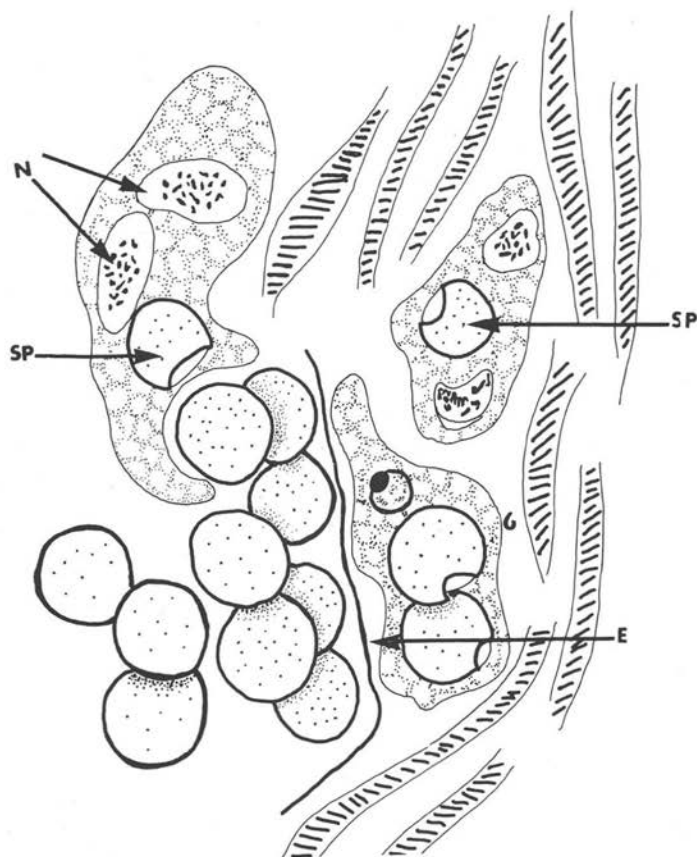


FIG. 7. — Schéma de phagocytose de spores par les lamprocytes $\times 750$.
E.: enveloppe kystique; N: noyau de coelomocyte; SP: spore phagocytée

Vavra (1962), comme de Puytorac le montre dans la spore mûre des *Mrazekia lumbri-culi* (1962), ainsi que Kudo et Daniels chez *Thelohania californica* (1963).

Il peut former, dans sa partie postérieure, une ou deux spirales doubles, comme Huger le constate chez *Nosema locustae* (1960), et Kudo et Daniels chez *Thelohania californica* (1963).

Le dépôt de granules autour de sa partie proximale est homologue aux « granules

polaires » de Huger et à la « masse irrégulière et de haute densité électronique » de Kudo et Daniels.

Le système des saccules est *peut-être* l'équivalent du polaroplaste à structure laminaire, signalé par les différents auteurs précédents.

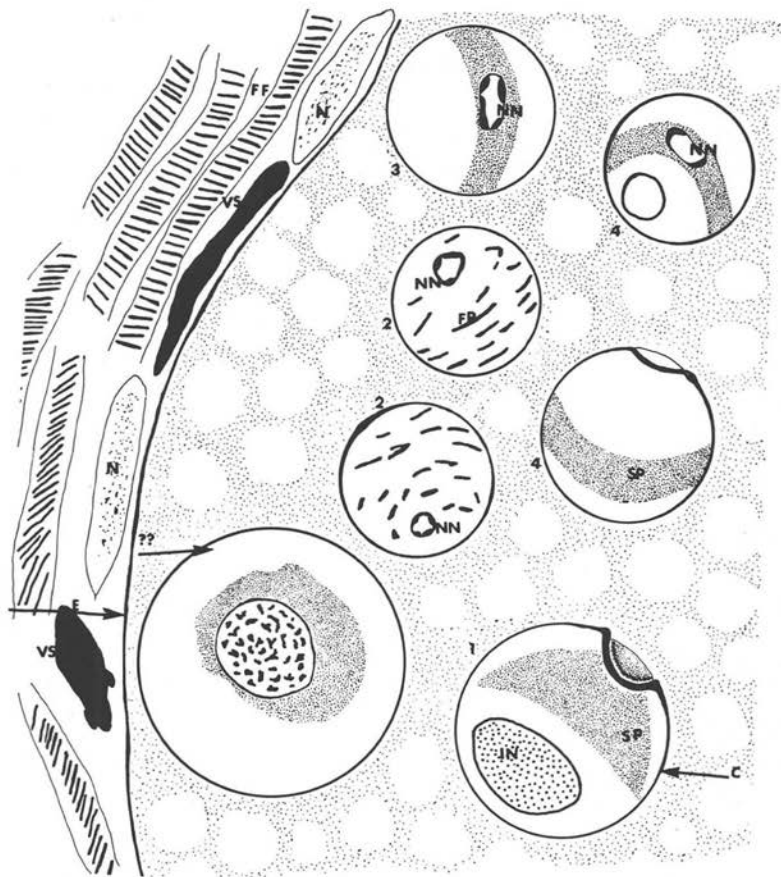


FIG. 8. — Schéma de spores observées : 1 : sans coloration, 2 : après coloration au bleu polychrome, 3 : après réaction de Feulgen, 4 : après hématoxyline. C : paroi de la spore ; E : enveloppe kystique ; FF : fibrilles musculaires ; FP : filament polaire ; IN : inclusion ; N : noyau de coelomocyte ; NN : noyau de la spore ; SP : sporolasme ; VS : vaisseau sanguin ; ?? : cellule amœboïde à gros noyau, contenue dans une capsule et de nature énigmatique

La grosse inclusion dense, postérieure, dans une vacuole claire, accompagnée ou non d'une particule annexe plus petite, est comparable au granule métachromatique avec le bleu de méthylène, décrit par Vavra chez *Bacillidium cyclopsis*. Enfin, le sporolasme

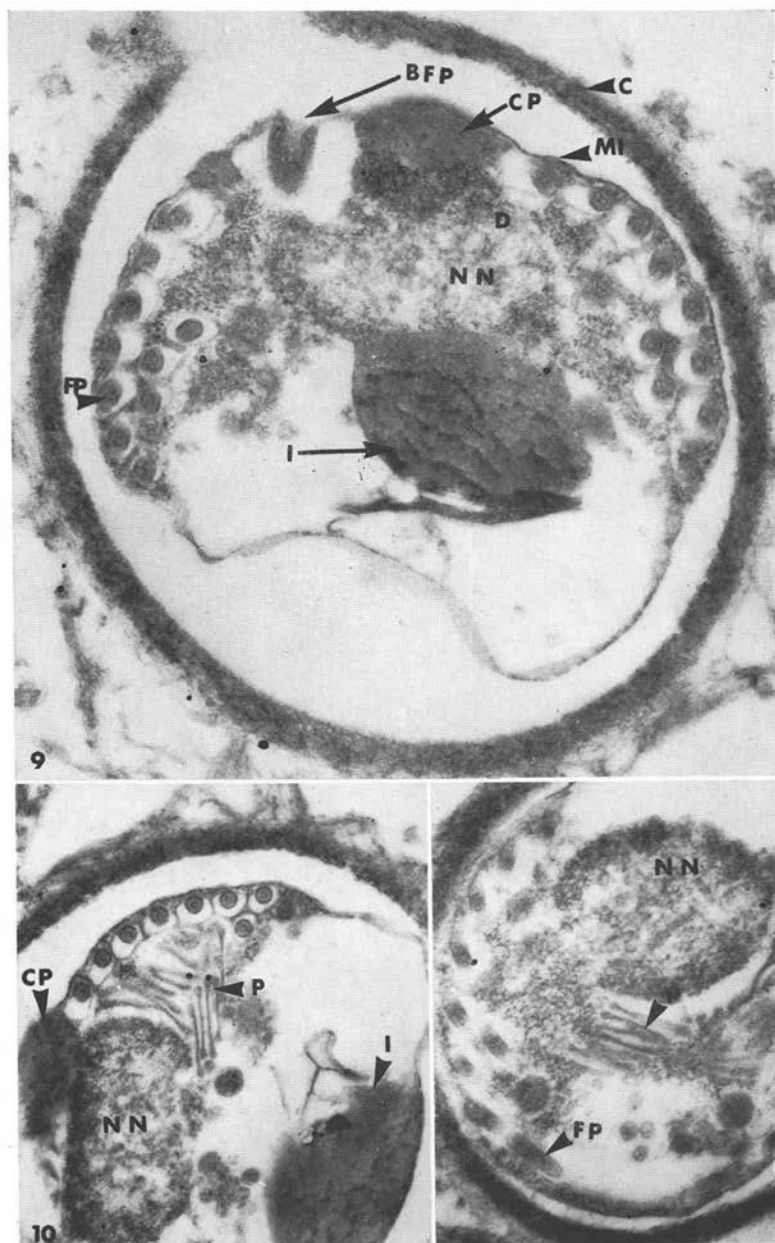


FIG. 9. — Coupe ultrafine d'une spore examinée au microscope électronique $\times 36.180$. BFP : partie proximale du filament polaire; C : capsule; CP : corps polaire; FP : filament polaire; I : inclusion postérieure; MI : membrane interne; NN : noyau

FIG. 10. — Coupe ultrafine de spore examinée au microscope électronique $\times 35.750$, et montrant, à droite, le noyau (NN), les saccules empilés (P), le filament polaire enroulé (FP); à gauche, les saccules empilés (P), l'inclusion postérieure (I), le noyau (NN), le corps polaire (CP)

ne contient qu'un seul noyau, comme dans la spore de *Thelohania*, et non deux, comme dans les spores de *Nosema* ou de *Mrazekia* (de Puytorac, 1962).

Dans quelques kystes, a été trouvé, non pas des spores, mais un plasmode plurinucléé. Deux états différents ont été observés. Ou bien le plasmode contient peu de noyaux et ils sont de taille variable (les uns de 6 à 7 μ de diamètre, les autres de 3 μ environ seulement) ; ou bien, le plasmode contient de très nombreux noyaux, de 2 à 3 μ de diamètre (fig. 3, 4).

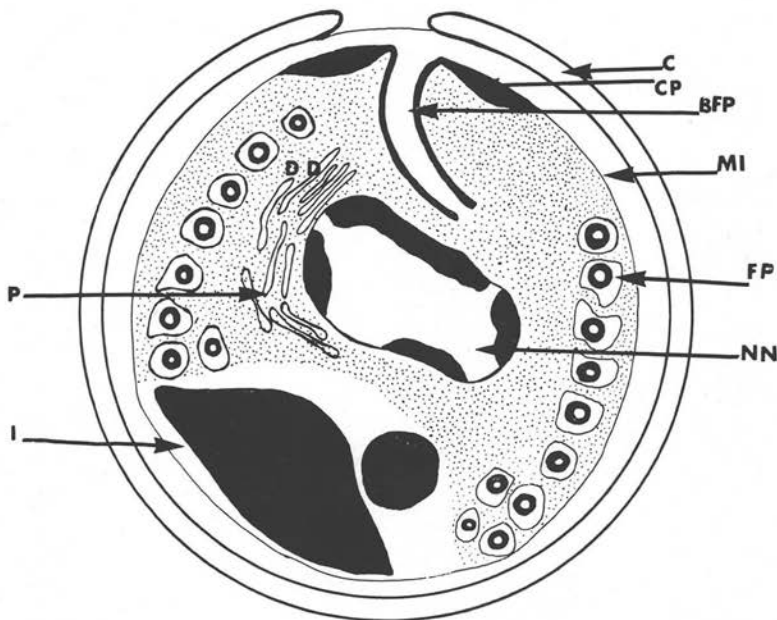


FIG. 11. — Schéma d'une coupe de la spore de *Coccospora gatesi* d'après les microphotographies électroniques. BFP : partie proximale du filament polaire ; C : capsule ; CP : corps polaire ; FP : filament polaire ; I : inclusion postérieure ; MI : membrane interne ; NN : noyau ; P : saccules empilés

Est-ce là un stade de formation des sporoblastes ou un stade de schizogonie ?

Quoi qu'il en soit, l'importance de cet état plasmodial paraît assez particulière au genre *Coccospora*.

II. Kystes à *Zygocystis pheretimae* sp. nov.

Contre la musculature longitudinale de plusieurs espèces de *Pheretima* [*Pheretima schmardae* (Horst, 1883), du mont Tantalus : récolté par le D^r Y. Kondo, à Oahua, Hawaï ; jeune *Pheretima* sp. : récolté à Kealakei, Oahu Island, Hawaï, par le D^r G. F. Arnemann et Y. Kondo ; *Pheretima houlleti* : Malacca, Péninsule Malaise], ont été

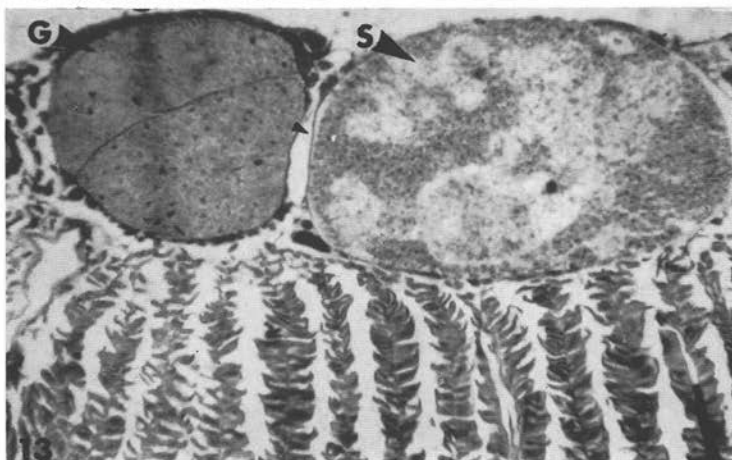
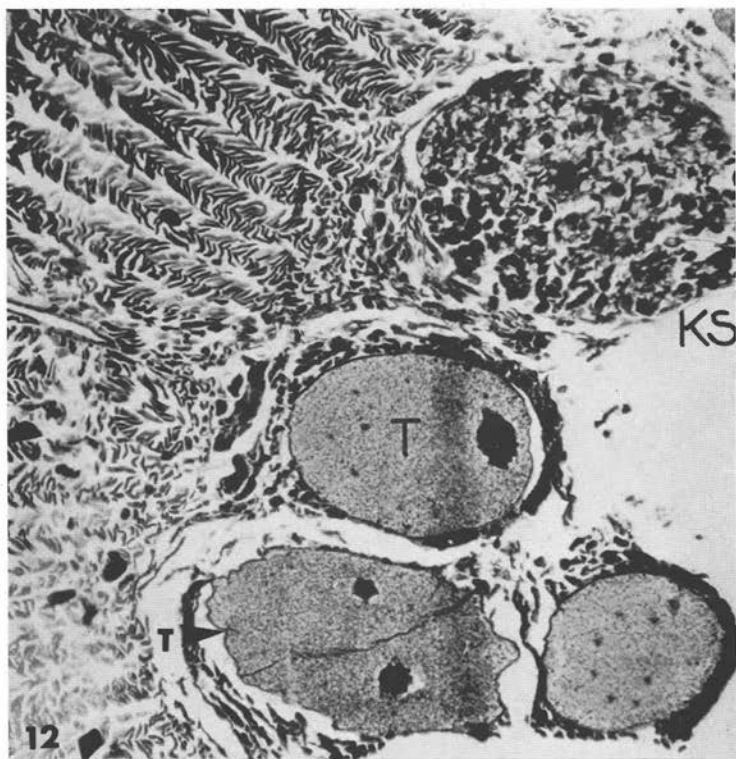


FIG. 12 — Coupe de *Pheretima schmardae*, montrant des grosseurs sur la paroi musculaire, formées par la juxtaposition dans l'épithélium coelomique, de trophozoïtes de *Zygoscytis* à différents stades d'évolution. KS : kyste de la Grégarine, avec spores ; T : trophozoïtes. $\times 110$

FIG. 13. — Gamonts de *Zygoscytis pheretima* (G), et Kyste à sporoblastes (S) $\times 110$

observés des kystes de taille variable, plus ou moins saillants dans la cavité générale. Souvent abondants, ils sont répartis sans localisation précise d'un bout à l'autre du corps, avec parfois des concentrations plus marquées autour de la chaîne nerveuse.

Des frottis des plus gros d'entre eux révèlent qu'il s'agit de kystes de Grégarines, bourrés de spores typiques.

Les espèces de *Monocystidae* célomiques sont assez nombreuses et Loubatières en a dressé la liste récemment (1955).

Certaines provoquent la formation de petits kystes blanchâtres à la surface externe du tube digestif de l'hôte, tels *Cephalocystis singularis*, décrit par Rees (1962) chez *Eisenia foetida*, *Dendrocystis piriformis* Rees 1962 chez *Allolobophora caliginosa*, *Monocystis cambiensis* Rees 1961 dans *Eisenia foetida*.

Chez ces espèces, les premiers stades de développement ont lieu dans les cellules intestinales, puis les trophozoïtes migrent à travers les couches musculaires jusqu'au tissu chloragogène. C'est alors qu'ils forment les kystes plus ou moins lâchement rattachés au tube digestif par les cellules chloragogènes qui leur constituent une enveloppe.

Après cette période de croissance, les trophozoïtes deviennent libres dans la cavité générale, où s'opèrent la gamétogénèse et la sporogénèse.

L'étude de coupes totales de la paroi du corps des *Pheretima*, au niveau des kystes, suivies des colorations classiques, montre, qu'ici, les phénomènes sont différents de ceux des cas précédents. En effet, c'est dans l'épithélium péritonéal, limitant la cavité célomique, contre la musculature longitudinale, que se trouvent incluses les Grégarines, et c'est là que s'effectuent les stades de croissance des trophozoïtes, mais aussi de formation des gamètes et des spores (fig. 12, 13).

Les plus jeunes stades que nous ayons pu trouver se présentent toujours sous forme de deux trophozoïtes sphériques, de 70 μ de diamètre chacun environ, associés et déprimant plus ou moins la musculature. Cet accolement précoce caractérise le genre *Zygocystis*, dont on connaît neuf espèces, parasites des vésicules séminales, à l'exception de deux (*Zygocystis grassei* Loubatières et *Zygocystis gatesi* Rakotoarivelo, endoparasites des amœbocytes).

A la fin de la période de croissance, les trophozoïtes ont environ 140-160 μ de diamètre. Le noyau, volumineux, ovoïde ou sphérique, de 15 à 20 μ dans sa plus grande dimension, a un gros caryosome central ou plusieurs nucléoles périphériques. L'épicyte est épais et strié. Chaque trophozoïte devient alors un gamonte et le noyau subit un grand nombre de divisions répétées. Chaque noyau s'individualisant finalement dans une masse cytoplasmique, il se forme des gamètes ovalaires de 1,5 à 2 μ , apparemment tous semblables morphologiquement.

Les zygotes sont des cellules sphériques bien reconnaissables, de 6 à 7 μ . Les kystes à sporocystes atteignent aisément 300-320 μ de diamètre. Les spores, classiquement biconiques et à pôles semblables, ont 9 μ de longueur (fig. 14).

Les célomocytes entourent souvent les kystes, peuvent y pénétrer, et ils phagocytent alors activement les spores.

Il est difficile de reconnaître s'il s'agit de trois espèces différentes de Grégarines qui parasitent les différentes espèces de *Pheretima* étudiées, mais nous ne le pensons pas et

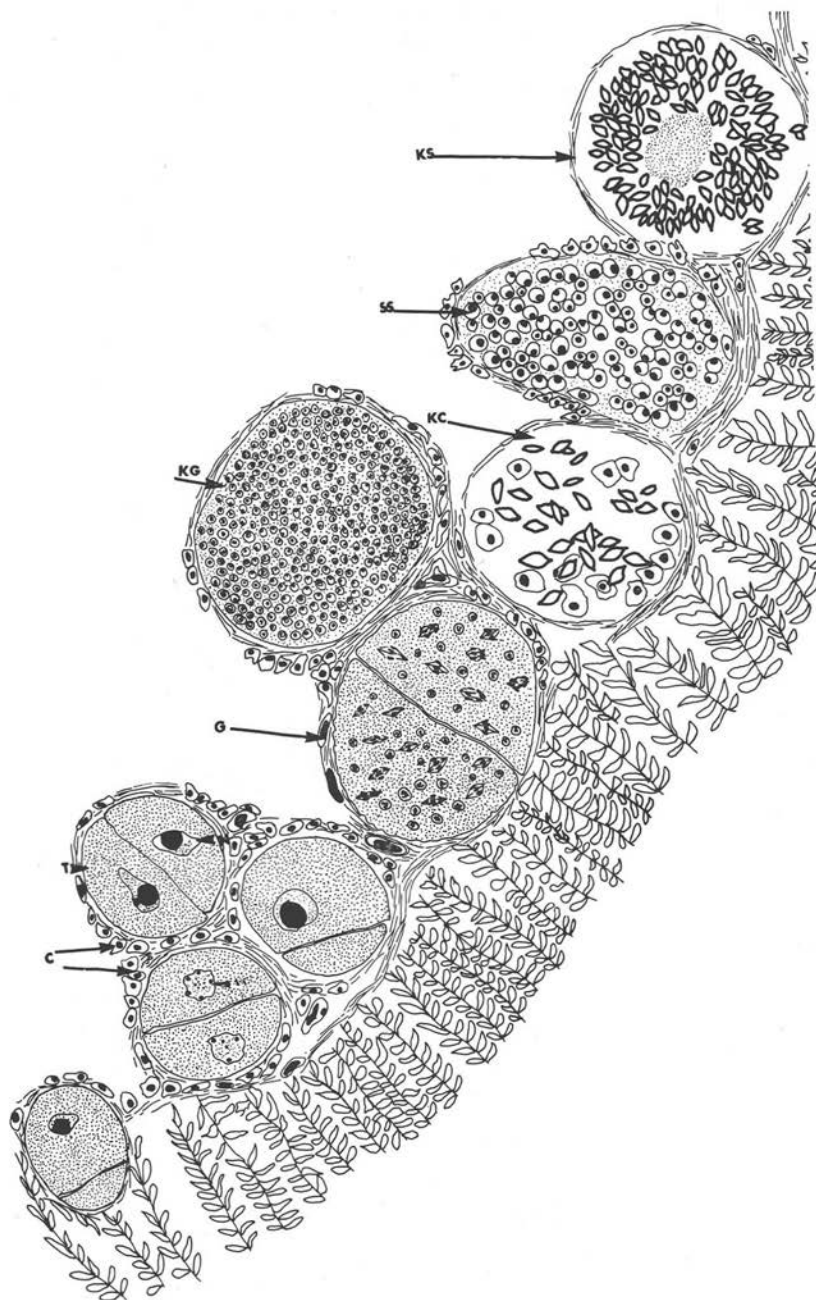


FIG. 14. — Schéma du développement de *Z. pheretimae*. C: coelomocyte; G: gamonte; KC: kyste dont les spores sont phagocytées; KG: kyste avec gamètes; KS: kystes avec spores; N: noyau; T: trophozoïte; SS: sporoblaste

nous donnons à cette forme de *Zygocystis*, vivant dans l'épithélium péritonéal des *Megascolecidae*, le nom de *Zygocystis pheretimae*.

Sur les dissépinements d'un *Glossoscolecidae* indéterminé, a été notée l'existence de grosseurs régulières, qui, sur coupes, apparaissent également formées de deux cellules associées.

Peut-être s'agit-il, là aussi, de trophozoïtes de *Zygocystis* de grande taille, mais les autres stades du développement n'ont pas pu être trouvés, et ils seraient nécessaires pour confirmation.

En résumé, contre la paroi interne du corps de différentes espèces de *Pheretima*, peuvent s'observer des kystes, dont les uns sont intramusculaires et dus à la présence d'une Microsporidie du genre *Coccospora*, dont l'ultrastructure a été étudiée et schématisée dans la figure 11, et dont les autres sont intrapéritonéaux et dus au développement, schématisé dans la figure 14, d'une Grégarine du genre *Zygocystis*.

Bibliographie citée

- HUGER (A.), 1960. — Electron microscope study on the cytology of a microsporidian spore by means of ultrathin sectioning. *J. of Insect Pathol.*, 2, 84-105.
- JIROVEC (O.), 1936. — Über zwei neue *Nosema*, Arten aus Oligochaeten. *Zool. Anz.*, 114, 217-220.
- KUDO (R. R.), 1924. — A biologic and taxonomic study of the Microsporidia. *Illinois Biol. Monographs*, 9, 6-268.
- KUDO (R. R.) et DANIELS (E. W.), 1963. — An electron microscope study of the spore of a microsporidian *Thelohania californica*. *J. of Protozool.*, 10, 112-120.
- LÉGER (L.) et HESSE (E.), 1921. — Microsporidies à spores sphériques. *C.R. Acad. Sc.*, 173, 1-3.
- LOM (J.) et VAVRA (J.), 1961. — Contribution to the knowledge of microsporidian spore. I. Electron microscopy. — II. The sporoplasm extrusion. *Abstracts of paper presented at the International Conference of Protozoologists*, Praha, 259-260.
- LOUBATIÈRES (R.), 1955. — Contribution à l'étude des Grégarinomorphes *Monocystidae* parasites des Oligochètes du Languedoc-Roussillon. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 11^e série, 17, 73-201.
- PUYTORAC (P. DE), 1961. — L'ultrastructure du filament polaire invaginé de la Microsporidie *Mrazekia lumbriculi* Jirovec 1936. *C.R. Acad. Sc.*, 253, 2600-2602.
- PUYTORAC (P. DE), 1962. — Observations sur l'ultrastructure de la Microsporidie *Mrazekia lumbriculi* Jirovec. *J. Microscopie*, 1, 39-46.
- REES (B.), 1961. — Studies on Monocystid Grégarines *Monocystis* species including two new species *M. cambiensis* et *M. lanceata*. *Parasitology*, 51, 523-532.
- 1962. — Studies on Monocystid Gregarines. Two new monocystid genera *Cephalocystis* and *Dendrocystis*. *Parasitology*, 52, 1-15.
- VAVRA (J.), 1962. — *Bacillidium cyclopis* n. sp. (*Cnidospora* Microsporidia) a new parasite of Copepods. *Acta Soc. Zool. Bohemosl.*, 26, 295-299.