

Études sur les Blastocystis

par le

DR. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO

Chef de service

L'opinion de la plupart de ceux qui se dédient à l'étude des parasites intestinaux est encore incertaine en ce qui concerne ces formations d'une si curieuse structure connues sous le nom de *Blastocystis* que leur donna ALEXEIEFF en 1911.

Ces parasites, connus depuis longtemps, ont reçu les interprétations les plus variées des différents auteurs qui les observèrent. C'est ainsi qu'on les considéra comme formes d'évolution, d'encystement, d'autogamie ou de dégénération de différents flagellés intestinaux, comme par exemple *Trichomonas*, *Bodo*, *Heteromita* etc. (PERRONCITO, KUNSTLER, SCHAUDINN, PROWAZEK, UCKE, CHATTON). D'autres (DOBELL, ALEXEIEFF, BRUMPT) le considèrent comme des champignons. Un troisième groupe ne lui accorde aucune spécificité, admettant qu'on a affaire à des formes d'encystement ou de dégénération d'amibes et d'autres parasites des selles (SWELLENGREBEL, JEPPE et DO-

BEL) et il y a encore ceux qui n'ont aucune opinion formée à ce sujet.

De toutes ces interprétations celle qui est destinée à prévaloir et qui est aujourd'hui la plus généralement admise considère les *Blastocystis* comme des organismes végétaux entièrement autonomes et du groupe des blastomycètes, avec un cycle tout particulier, et sans aucun rapport avec les flagellés et d'autres parasites rencontrés d'ordinaire dans les selles.

C'est ALEXEIEFF en 1911, qui, le premier, appuya cette opinion sur de solides arguments. Il se fondait sur les résultats obtenus par ses études sur les *Blastocystis* de *Triton marmoratus*, *Triton cristatus* et de *Salamandra maculosa*.

Les travaux d'ALEXEIEFF, quoique très accomplis, n'obtinrent pas la facile confirmation qu'on aurait pu attendre dans le cas d'un parasite si commun et c'est pour cela que cette question resta assez obscure et imprécise.

La rareté relative des différentes pha-

ses d'évolution du parasite dans le matériel qu'on examine ordinairement, ainsi que le fait qu'on étudie plus souvent les *Blastocystis* de l'homme et des animaux à sang chaud, dont la morphologie et l'évolution, à cause du milieu, son moins typiques que celles des formes analogues d'animaux à sang froid en seraient, selon nous, la cause.

Voilà pourquoi il ne sera possible de faire une étude parfaite de ces parasites qu'à condition d'examiner comparativement le matériel de différents animaux à sang chaud et à sang froid et d'avoir l'occasion de surprendre certains phases d'évolution rarement observées.

C'est grâce à l'étude d'un matériel abondant et varié que nous avons pu vérifier les faits signalés par ALEXEIEFF en les confirmant et, même, sur certains points en les complétant.

Dans ce travail, nous faisons une étude générale des *Blastocystis*, en nous occupant tout spécialement de la morphologie et de l'évolution de ceux de *Rana esculenta* que nous avons observés il y a longtemps à Munich à l'époque où nous fréquentions l'Institut Zoologique sous la savante direction de RICHARD HERTWIG.

Depuis nous avons eu plusieurs occasions d'étudier le sujet dont nous nous proposons de compléter l'exposé dans un deuxième travail.

Généralités.

Les *Blastocystis* sont très communs et quelquefois même extrêmement abondants dans les animaux parasités, mais il est assez rare de trouver toutes les phases d'évolution et surtout celles de sporulation dans un même animal.

Les *Blastocystis* vivent dans l'intestin des animaux, surtout dans la portion terminale. Il est intéressant d'observer la variété de grandeur qu'ils peu-

vent présenter suivant les conditions du milieu. D'une façon générale les *Blastocystis* sont plus petits dans les selles solides que dans les liquides et aussi d'une taille plus réduite ainsi que d'une structure moins typique chez les animaux à sang chaud que dans les animaux à sang froid. C'est pourquoi nous n'attachons aucune valeur spécifique aux différences de grandeur observées et qui vont fréquemment du simple au double et davantage, soit dans le même animal, soit d'une espèce à l'autre. Ce n'est pourtant qu'après une étude plus approfondie qu'on pourra parvenir à une conclusion définitive à ce sujet. Il nous semble qu'en attendant une meilleure observation de ces parasites, il serait trop tôt pour tenter de résoudre cette question. C'est pourquoi nous ne voyons aucune raison pour admettre 3 espèces différentes (*enterocola*, *gemmigena* et *sporogyna*) chez l'homme comme l'a proposé tout dernièrement LYNCH dans un travail qui ne nous paraît très concluant.

L'étude des *Blastocystis* devra se faire comparativement dans du matériel et des préparations fixées et colorées.

L'examen à frais doit être fait entre lame et lamelle ou de préférence en goutte pendante qui a l'avantage de ne produire aucune altération dans la morphologie du parasite comme le fait le premier de ces moyens. Les préparations colorées doivent être faites en fixant au sublimé-alcool et en colorant à l'hématoxyline de HEIDENHAIN des minces frottis du matériel.

Les préparations colorées sont celles qui révèlent le mieux les détails de l'architecture du parasite. Les préparations faites à l'hématoxyline de DELAFIELD ou au GIEMSA n'offrent pas de résultat plus satisfaisant que celles à l'hématoxyline de HEIDENHAIN.

Pendant longtemps les parasitologistes qui étudiaient le *Blastocystis* étaient réduits à l'examen du matériel venu di-

rectement des animaux infectés. Cependant tout dernièrement BARRET a obtenu des cultures de *Blastocystis* en milieu liquide. Ce milieu se compose d'une solution à 1/2 % de sérum humain inactivé en solution physiologique à 5%. Le milieu de culture est placé dans des tubes étroits qu'on ensemence en déposant avec précaution à l'aide d'une pipette stérilisée un peu du matériel contenant les *Blastocystis* au fond du tube. Les cultures sont faites à la température du laboratoire.

Les observations que nous avons faites en suivant la méthode de BARRET nous confirma entièrement la possibilité d'obtenir des cultures de *Blastocystis* quelquefois très abondantes par ce procédé. Cependant, jusqu'ici, la méthode ne nous a apporté aucun avantage en ce qui se rapporte à l'étude de la structure et de l'évolution du parasite. Dans les cultures on n'observe aucune transformation des *Blastocystis* en flagellés mais elles montrent des formes dégénérées qui rappellent celles qui ont été décrites par Linch comme des espèces nouvelles des *Blastocystis*. Il est possible, cependant, que les cultures puissent encore être avantageuses surtout pour l'étude des formes d'évolution.

Les *Blastocystis* sont trouvés en quantité très variable dans les hôtes qu'ils parasitent. Ils ne semblent pourtant absolument les nuire. Ils deviennent quelquefois très abondants dans les états diarrhéiques et dysentériques où le milieu devient favorable à leur prolifération.

Morphologie et évolution des *Blastocystis*.

Les formes caractéristiques les plus communes des *Blastocystis* trouvées dans les animaux qu'ils parasitent sont les kystes primaires. Ces kystes examinés à l'état frais et en goutte pendante sont ronds et de dimensions très variables,

puisqu'ils mesurent de 6 à 40 micra de diamètre; ils sont jaunâtres ou entièrement incolores.

Les cystes primaires présentent trois portions entièrement distinctes; la partie interne ou corps interne d'ALEXEIEFF, la couche moyenne ou protoplasmique et une couche périphérique de substance mucilagineuse.

Le corps interne est constitué d'une portion homogène contenant quelquefois des masses irrégulières d'une substance extrêmement sidérophile (Pl. 32, Fig. 12 et 12a); dont les réactions microchimiques font supposer qu'elles soient du paraglycogène. Le corps interne est en grande partie composé de substance de nature glycogénique jouant le rôle de matériel de réserve nécessaire aux phases d'évolution ultérieures des *Blastocystis*, surtout à l'occasion de la formation des kystes secondaires.

Le corps interne est normalement incolore, cependant quelquefois il peut se présenter avec des nuances jaunâtres ou même verdâtres.

Dans les préparations à l'hématoxyline de HEIDENHAIN, le corps interne se colore plus ou moins intensément d'une nuance grise; quelquefois cependant, il retient fortement la matière colorante et devient noirâtre. Les masses de paraglycogène qu'on observe dans le corps interne des *Blastocystis* sont toujours très sidérophiles et sont pour cette raison très visibles dans les préparations (Pl. 32, Fig. 12 et 12a et Pl. 33, Fig. 15, 18 et 20).

Le corps interne est entouré d'une couche protoplasmique finement alvéolaire, plus épaisse en certains points que dans des autres et surtout au niveau des noyaux. Dans le protoplasme on voit des granulations de vultine. La couche protoplasmique s'adapte parfaitement au corps interne et ce n'est que rarement (Pl. 32, Fig. 12a) qu'on voit le corps interne se contracter.

à l'intérieur de son enveloppe protoplasmique.

Les noyaux des *Blastocystis*, dont le nombre varie de 1 à 32, se trouvent toujours dans la couche protoplasmique, soit groupés deux à deux, soit placés en des points opposés ou encore disséminés sur toute la surface du parasite lorsqu'ils sont très nombreux.

La structure du noyau des *Blastocystis* est très caractéristique, comme l'a signalé ALEXEIEFF, ils se composent d'une calote de chromatine excentriquement placée et séparée par une zone claire du reste de la substance nucléaire, moins compacte, moins colorable et moins abondante. Le noyau ne possède pas de membrane et se trouve placé dans une zone plus claire du protoplasme; il se rapproche par sa structure bien plus des noyaux des champignons que de ceux de n'importe quel protozoaire du groupe des flagellés.

Autour de la couche protoplasmique des *Blastocystis*, on voit à frais une couche de substance mucilagineuse. Cette couche de substance mucilagineuse, ne peut être colorée mais peut être aperçue, à frais, par la limite qu'elle établit entre les *Blastocystis* et le matériel en suspension dans le liquide entourant les cellules du parasite. Quelquefois même, une couche complètement incolore révèle, dans les préparations colorées, l'existence de cette zone de substance mucilagineuse, hyaline, observée dans les *Blastocystis* et également vérifiée dans d'autres champignons, surtout chez ceux adaptés à la vie parasitaire, comme le *Saccharomyces tumefaciens albus*, par exemple.

Les trois parties dont se composent les cystes primaires y sont toujours présentes (Pl. 32, Fig. 2—12). Seules les premières phases de l'évolution des kystes primaires (Pl. 32, Fig. 1) se présentent dépourvues de corps interne, parce qu'à ce moment il n'y a pas encore eu d'accumulation de la substance de ré-

serve dont est formé cette structure du *Blastocystis*.

Division des Blastocystes. (Plasmotomie)

A propos de la division des kystes primaires, il nous faudra distinguer la division de la cellule et celle des noyaux. La division cellulaire s'effectue par un processus de plasmotomie déjà signalé par divers auteurs et interprété de différentes façons. Quelques uns de ces auteurs croient que la plasmotomie est le seul processus de division des *Blastocystis*. Elle est, en effet celui qui est observé le plus fréquemment.

Le processus plasmatomique se compose d'une division binaire, quelquefois assez inégale du *Blastocystis*. Le processus débute par le changement de forme de la cellule, qui devient elliptique (Pl. 32, Fig. 5 et 11) en devenant de plus en plus allongée. Au centre il ne tarde pas à apparaître un petit rétrécissement qui s'accroît peu à peu et amène finalement un étranglement complet du protoplasme et du corps interne. De cette façon se séparent deux nouveaux *Blastocystis* qui reconstituent immédiatement les portions altérées par le processus plasmatomique pour reprendre l'aspect typique du parasite.

Il faudra éviter de confondre le processus que nous venons de décrire avec les déformations subies par le corps des *Blastocystis* sous l'influence de la pression, tout spécialement dans les préparations entre lame et lamelle.

La signification du processus de division plasmatomique des *Blastocystis* reste encore obscure. Il n'est pas impossible qu'il se rattache à un phénomène sexué, qui se passerait dans la cellule, comme le pense ALEXEIEFF mais il manque encore des éléments pour juger de cette question.

Les formes plasmatomiques sont tantôt rares, tantôt très abondantes dans

le matériel examiné. La division plasmatomique s'effectue généralement dans les kystes à deux et à quatre noyaux. Ceux-ci ne souffrent aucune modification et ne paraissent prendre part dans le processus que pour passer en nombre égal dans les nouveaux *Blastocystis* à la fin du processus plasmatomique.

Division nucléaire.

La division nucléaire des *Blastocystis* commence dès les premières phases de végétation de la spore et se continue jusqu'au début de la phase de sporulation du parasite. Pour cette raison est-il rare de trouver des *Blastocystis* avec un seul noyau. Ce noyau initial (Pl. 32, Fig. 1 et 2) se divise ultérieurement en donnant fréquemment des formes à 8, 16 et 32 noyaux.

Le processus de division nucléaire des *Blastocystis* est assez simple. Il débute par un allongement de la calotte chromatique du noyau (Pl. 32, Fig. 9), qui prend la forme d'un bâtonnet légèrement recourbé. En même temps que s'allonge la substance chromatique du noyau, la portion moins colorable s'allonge aussi, en formant un petit arc à ouverture opposée au premier. Ensuite se produit la division de la substance chromatique du noyau, dont les éléments vont former deux petites calottes opposées; entre elles se place la portion moins colorable du noyau (Pl. 32, Fig. 9a). Dans une phase plus avancée du processus cette substance moins colorable se divise; chaque moitié se rapproche alors de la calotte qui lui est la plus rapprochée (Pl. 32, Fig. 8) et bientôt les deux nouveaux noyaux se trouvent parfaitement réconstitués (Pl. 32, Fig. 9 et 10).

Les différentes phases de division que nous venons de décrire sont parfaitement visibles dans la première ségmentation nucléaire mais deviennent moins perceptibles dans les autres (Pl.

32, Fig. 12a), en raison de la grandeur décroissante des éléments. A mesure que les noyaux se multiplient, le *Blastocystis* croît aussi, surtout par augmentation de la substance de réserve du corps interne. Les divisions nucléaires portent souvent le nombre des noyaux du *Blastocystis* à 16 et à 32, dont chacun devra faire partie d'un kyste secondaire, dont nous passons à étudier la structure.

Formation des kystes secondaires.

Un des processus les plus intéressants et les plus rares dans l'évolution des *Blastocystis* est la formation de kystes secondaires, à cause des phénomènes cellulaires et nucléaires qu'on y observe. La formation de ces kystes est parfaitement comparable à la sporulation de certains saccharomycètes. Quoique rare, la formation de kystes secondaires quand une fois elle s'opère, est abondante dans tout le matériel, de façon que toutes les phases sont observées sans difficulté, tant dans les préparations à frais, comme dans les préparations colorées.

Les phénomènes de la formation des kystes secondaires débutent par la multiplication des noyaux du *Blastocystis* et ont lieu dans les formes à 8—32 noyaux, dont la grandeur est proportionnelle au nombre d'éléments qui y existent. Ces noyaux se trouvent plus ou moins régulièrement distribués au sein du protoplasme des *Blastocystis*. Ensuite on observe dans le protoplasme autour de chaque noyau jusqu'ici homogène des petites granulations sûrement formées aux dépens du matériel fourni par le corps interne qui commence alors à diminuer (Pl. 32, Fig. 15).

Ces corpuscules ne paraissent pas s'originer des noyaux de la cellule comme de vrais mitochondries; les noyaux joueraient plutôt le rôle de centres d'attraction dans leur apparition. Le nombre de granulations qui s'accumulent au-

tour de chaque noyau est très variable (voir Pl. 33, Fig. 15 et 16). L'apparition de ces granulations dans le protoplasme marque le début la formation de cystes secondaires, puisqu'aussitôt qu'ils apparaissent, on observe que le protoplasme des *Blastocystis* jusqu'alors uni, se fragmente en des masses polygonales (Pl. 32, Fig. 16), contenant chacune un noyau et un nombre variable de granulations. Le corps interne se trouve déjà presque entièrement raréfié, comme si sa substance s'était passée sous la forme des granulations précédemment décrites, dans les îlots de protoplasme qui se sont formés dans la couche protoplasmique du parasite.

Ces îlots de protoplasme ne tardent pas à perdre leur aspect polygonal primitif, en s'arrondissant et s'isolant entièrement les uns des autres. Leur aspect est alors très caractéristique; ils présentent au centre un noyau, des granulations (mitochondries, suivant ALEXEIEFF) en nombre variable, placées périphériquement dans les mailles d'un fin réticulum. Avec la disparition de la substance qui constituait le corps interne à cette occasion complète, la cellule devient flacide, elle se déforme et présente un aspect mammilonné, comme s'il y aurait un procès de gemmulation (Pl. 33, Fig. 20 et 21). Dans une période plus avancée les kystes s'individualisent complètement; les granulations s'appliquent à leur périphérie sous la forme de petits bâtonnets et il se forme une membrane qui les entoure. Ces petits kystes secondaires demeurent complètement isolés et à peine maintenus au commencement à l'intérieur d'un fin sac membraneux, dernier vestige de la délicate membrane du *Blastocystis* primitif (Pl. 33, Fig. 26 et 27). Une fois rompue la membrane qui enveloppe les cystes secondaires, ceux-ci deviennent complètement libres et isolés en petits groupes (Pl. 33, Fig. 23 et 24).

Les kystes secondaires complètement formés mesurent 5 à 6 micra de

diamètre; ils sont alors plus petits et moins riches en granulations qu'avant leur développement complet.

Le noyau maintenu chez quelques uns son aspect typique, tandis que chez d'autres il se fragmente et, probablement dégénère (Pl. 33, Fig. 22).

La formation de kystes aurait lieu, suivant ALEXEIEFF, en 10 à 17 minutes, mais nous ne sommes jamais parvenus à la voir en si peu de temps.

Les kystes secondaires sont des formes de résistance des *Blastocystis* et ils se forment comme nous venons de le voir, par un processus analogue à celui de la constitution des ascospores chez certains schizosaccharomycètes (*Schizosaccharomyces octosporus*). La membrane hyaline qu'ils possèdent et qui n'est pas visible généralement dans les préparations colorées, les protège dans le milieu extérieur quand ils sortent de l'intestin de l'animal parasité.

WENYON et O'CONNER ont vu une seule fois chez l'homme une forme de division multiple de *Blastocystis* qui n'a cependant rien à voir avec le processus ci-dessus décrit, puisque dans la reproduction graphique de la forme qu'ils ont vue, ces auteurs nous montrent un kyste plein de petits kystes primaires, tous avec leur corps interne et divers noyaux, ce qui ne correspond pas à la forme classique des *Blastocystis*. Les formes de sporulation mentionnées et dessinées par LYNCH ne paraissent pas avoir une signification très précise, ainsi que celles décrites par FLU et qui ressemblent plus à des kystes primaires dégénérés et mal fixés qu'à des vraies formes de sporulation des *Blastocystis*.

L'évolution ultérieure des kystes secondaires n'est pas aisée à suivre. L'examen de notre matériel nous porte à croire que dans l'intestin de l'animal déjà parasité ou d'un autre indenne qui les ingère, ils se transforment de nouveau en kystes primaires.

Cette transformation est amenée par

les changements suivants dans le kyste secondaire; absorption et disparition des granulations et des réticula qui existaient dans la spore; celle-ci devient homogène et présente un seul noyau et une membrane hyaline très visible (Pl. 32, Fig. 1). Dans cette phase le cyste augmente sensiblement de volume. Dans une phase plus avancée de son évolution commence la formation du corps interne et alors le *Blastocystis* se trouve déjà avec sa mince couche protoplasmique et avec tout l'aspect d'un kyste primaire mais encore uninuclé (Pl. 32, Fig. 2). Le noyau de la forme antérieure ne tarde pas à se diviser (Pl. 32, Fig. 3) et il y a lieu dans le protoplasme du *Blastocystis* à la migration de ces éléments a des points opposés (Pl. 32, Fig. 3 et 4), ce qui amène l'apparition des formes les plus caractéristiques du parasite, les kystes primaires typiques.

L'évolution des *Blastocystis* telle que nous venons de la décrire, est celle qui nous paraît la véritable et d'accord avec les faits signalés avec tant de précision par ALEXEIEFF. Dans ce cycle il n'est question d'aucune phase flagellée. Nous croyons que les auteurs qui les auraient vues, aient été amenés à cette erreur par la coexistence de plusieurs parasites dans le matériel ou peut-être on aurait affaire à une infestation du *Blastocystis* par un parasite qui lui serait propre, comme, selon notre avis, il paraît être arrivé à quelques uns des auteurs qui ont décrit des phases flagellées dans l'évolution du *Blastocystis*.

On ne peut non plus méconnaître une certaine ressemblance, entre les différentes phases de formation des kystes secondaires et le processus de multiplication d'*Amœba histolytica*, décrit par SCHAUDINN dans son mémorable travail sur les amibes pathogènes de l'homme. Le processus de bourgeonnement chez *Endamœba histolytica* ressemble bien à celui de la formation de spores chez

Blastocystis, les petits cystes de l'*Endamœba* décrits par le regretté savant allemand étant comparables aux spores du *Blastocystis*.

L'observation est rendue surtout difficile par les autres protozoaires et végétaux inférieurs qui habitent avec le *Blastocystis* l'intestin des animaux et qui se prêtent aux confusions qui ont été si souvent faites par les auteurs qui s'en sont occupés. L'irrégularité avec laquelle s'accomplit l'évolution dans les différents animaux et la rareté des phases si intéressantes de sporulation concourent aussi à diffuser l'étude de ce sujet.

Conclusions.

1°

Les *Blastocystis* trouvés dans les différents animaux à sang chaud et à sang froid ne sont pas de formes d'évolution de flagellés ni de n'importe quel autre parasite animal ou végétal de l'intestin.

2°

Les *Blastocystis* sont des végétaux parasites différenciés par le parasitisme, mais plus rapprochés de certains blastomycètes et surtout des saccharomycètes pathogéniques.

3°

La multiplication des *Blastocystis* a lieu par deux procès différents: celui de plasmotomie, se passe dans les cystes primaires et l'autre, de sporogamie à l'intérieur d'une espèce d'ascospore dont résultent les formes de résistance du parasite. Il est possible qu'avant le commencement de la sporulation il se passe des phénomènes sexuels semblables à ceux qu'on connaît chez certains saccharomycètes.

4°

Autant que nos connaissances au

sujet de la morphologie et biologie des *Blastocystis* nous permettent d'en juger, l'existence de plusieurs espèces de ce parasite ne paraît pas bien établie.

50

Les *Blastocystis* n'ont aucune action

pathogénique sur les organismes qu'ils parasitent et chez l'homme on n'observe aucun rapport entre leur présence et n'importe quel état morbide. Ils doivent selon nous être envisagés comme un parasite banal de l'intestin.

Explication des figures.

Dessins faits avec la chambre claire à l'hauteur de la platine du microscope, et en utilisant l'objectif d'immersion homogène de 2 mm.; et de l'oculaire compensateur 12. Longueur du tube, 16. cm.

Pl. 32

Fig. 1. Forme initiale d'évolution d'un kyste primaire sans vacuole

Fig. 2. Cyste primaire avec un seul noyau et vacuole.

Figs. 3—10. Différentes phases de l'évolution de cystes primaires.

Fig. 11. Kyste primaire en phase de plasmotomie.

Fig. 12. Kyste primaire avec une masse sidérophile à l'intérieur.

Figs. 12—13. Kystes primaires avec

beaucoup de noyaux dans une phase antérieure à la formation de kystes secondaires.

Pl. 33

Fig. 14. Kystes primaires avec 12 noyaux disséminés dans le protoplasme.

Fig. 15. Début de la formation des kystes secondaires. Apparition des granulations dans le protoplasme autour des noyaux.

Figs. 16—22. Différentes phases de formation des kystes secondaires depuis les premières esquisses de ségmentation du protoplasme jusqu'à la constitution des kystes.

Figs. 23 et 24. Kystes secondaires complètement constitués et isolés.