

50376
1977
5

50376
1977
5

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES
ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le titre de

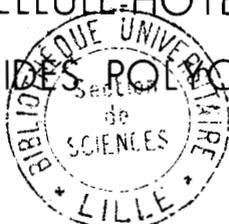
DOCTEUR DE TROISIÈME CYCLE

EN BIOLOGIE CELLULAIRE

par

Mohamed Ali OUAÏSSI

ETUDE CYTOLOGIQUE ET CYTOCHIMIQUE ULTRASTRUCTURALE
DE LA JONCTION ENTRE DES PROTOZOAIRE PARASITES
(GREGARINES) ET LEUR CELLULE HÔTE (CELLULE INTESTINALE
D'ANNELIDES POLYCHÊTES)



Soutenu le

1977, devant la Commission d'Examen

M.	E. VIVIER	Président
Mme	E. PORCHET	Rapporteur
M.	A. DHAINAUT	Examineur
M.	R. ORMIERES	Membre invité

AVANT-PROPOS

Monsieur le Professeur E. VIVIER m'a accueilli au sein de son équipe il m'a fait bénéficier de ses conseils tout le long de ce travail, m'a accordé sa confiance et a bien voulu présider le jury de cette thèse, je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance.

Je remercie vivement Monsieur le Professeur DURCHON qui m'a accepté au Laboratoire de Biologie Maritime de WIMEREUX, dont il assume la Direction.

Madame E. PORCHET-HENNERE Maître de Recherches au C.N.R.S. a dirigé mon travail et m'a fait bénéficier de sa grande expérience dans le domaine de la Protistologie, qu'elle veuille croire à ma déférente gratitude.

Monsieur A. DHAINAUT Maître de Conférences au Laboratoire de Biologie animale, ainsi que Monsieur R. ORMIERES, Maître de Recherches au C.N.R.S. (Station Biologique de SETE) qui m'a beaucoup aidé grâce à d'enrichissantes discussions, ont accepté d'examiner cette thèse. Je voudrais leur en exprimer ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur J. SCHREVEL ainsi que le personnel du Service Général de Microscopie Electronique appliquée à la Biologie de POITIERS dont il assume la Direction m'ont agréablement accueilli lors d'un stage dans ce service qu'ils en soient remerciés.

Je tiens à remercier l'équipe du Laboratoire de Protistologie et Microscopie électronique de LILLE I pour la gentillesse qu'ils ont toujours manifestée à mon égard, et en particulier Monsieur J.F. DUBREMETZ, Monsieur G. PRENSIER qui n'ont pas ménagé leur temps pour m'initier à la pratique du Microscope électronique.

Mes remerciements iront aussi à Madame DERACHE et Monsieur LAZARECKI qui ont, en un laps de temps très court, réussi à réaliser le tirage photographique et la frappe du manuscrit.

CHAPITRE I : INTRODUCTION ET HISTORIQUE

I-- ETAT DES RECHERCHES SUR LE PROBLEME DES JONCTIONS

INTERCELLULAIRES.....	p. 1
A - Chez les Métazoaires.....	p. 1
1) Vertébrés.....	p. 1
a - "Tight junction" ou jonction d'occlusion.....	p. 1
b - Les jonctions "Gap".....	p. 2
c - Desmosomes et hémidesmosomes.....	p. 2
2) Invertébrés.....	p. 3
a - Les jonctions septées.....	p. 3
b - Les jonctions continues.....	p. 3
3) Protozoaires.....	p. 4
a - Syzygie des grégarines.....	p. 4
b - Contact hôte-protozoaire parasite.....	p. 5
. Cas des protozoaires intracellulaires.....	p. 5
. Cas des protozoaires possédant des organites de fixation : exemple les grégarines.....	p. 5
II - TRAVAUX RECENTS CONCERNANT LES CONTACTS GREGARINE/CELLULE/HOTE.	p. 6
A - Rappel de la structure d'une grégarine et de l'appareil de fixation.....	p. 6
B - Ultrastructure de l'appareil de fixation.....	p. 6
a - Mucron.....	p. 6
b - Epimérite.....	p. 8
c - Rhizoïdes.....	p. 9
C - Fonctions du dispositif de fixation.....	p. 10
1) Fonction mécanique.....	p. 10
2) Fonction physiologique.....	p. 10
a - Mucron.....	p. 10
b - Epimérite.....	p. 10
c - Rhizoïdes.....	p. 10
D - Conclusion.....	p. 10

CHAPITRE II : MATERIEL ET TECHNIQUES

A - Observation in vivo.....	p. 12
B - Techniques de microscopie électronique.....	p. 12
1) Microscopie électronique à transmission : étude ultrastructurale.....	p. 12
2) Etudes cytochimiques.....	p. 13
a - Détection des glucides membranaires au niveau de la jonction : méthode "P.A.T.Ag.".....	p. 13
b - Mise en évidence des espaces intercellulaires.... . Technique au nitrate de lanthane d'après REVEL et KARNOVSKY 1967.....	p. 14
. Utilisation de colorant cationique.....	p. 14
c - Extraction enzymatique.....	p. 14

CHAPITRE III : ETUDE ULTRASTRUCTURALE DU TROPHOZOITE DE LA GREGARINE LECUDINA SP.

I - ULTRASTRUCTURE DE L'EPICYTE ET DES ZONES CYTOPLASMIQUES.....	p. 15
1) Epicyte.....	p. 15
2) Ectoplasme.....	p. 15
3) Endoplasme.....	p. 16
4) Noyau.....	p. 16
5) Discussion.....	p. 16
a - Ectoplasme.....	p. 17
b - Endoplasme.....	p. 18
c - Noyau.....	p. 18
6) Conclusion.....	p. 18
II - ETUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA REGION ANTERIEURE DE LA GREGARINE LECUDINA SP. ET DE SA JONCTION AVEC LA CELLULE INTESTINALE.....	p. 18
A - Aspect de la région antérieure en microscopie optique.....	p. 18
B - Ultrastructure de la région antérieure.....	p. 19
1) Stade jeune.....	p. 19
a - Le mucron.....	p. 19
b - La jonction.....	p. 19
2) Stade plus âgé.....	p. 20
a - Le mucron.....	p. 20
b - La jonction.....	p. 20

. Membrane plasmique de la cellule parasitée.....	p. 20
. Membrane externe de la grégarine.....	p. 21
. Membrane limitante du "Sac lobé antérieur".....	p. 21
c - Agencement des membranes au niveau de la bague de jonction.....	p. 21
d - Structure du "Sac lobé antérieur".....	p. 21
. Microfibrilles (mf).....	p. 22
. Microtubules antérieurs.....	p. 22
. Anneau antérieur formé de microtubules (AMt) qui ceinturent le "Sac".....	p. 22
e - Aspects de la cellule parasitée.....	p. 22

CHAPITRE IV : ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA REGION ANTERIEURE DE LECUDINA TUZETAE

1) Stade jeune.....	p. 24
2) Stade plus âgé.....	p. 24
a - Le mucron.....	p. 24
b - La jonction.....	p. 24
c - Structure du "Sac lobé antérieur" (Sa).....	p. 24
. Microfibrilles (mf).....	p. 25
d - Aspects de la cellule parasitée.....	p. 25

CHAPITRE V : DISCUSSION GENERALE SUR L'ORGANISATION ULTRASTRUCTURALE DE LA REGION ANTERIEURE DES DEUX ESPECES : LECUDINA TUZETAE ET LECUDINA SP.

A - Agencement des membranes au niveau de la jonction.....	p. 26
B - "Sac lobé antérieur" (Sa).....	p. 27
1) Critères favorables à une structure en forme de "Sac" dans la région antérieure.....	p. 27
2) Microfibrilles.....	p. 29
3) Microtubules antérieurs.....	p. 29
C - Bague de jonction.....	p. 31
D - Aspects de la cellule parasitée.....	p. 32

CHAPITRE VI : ETUDE CYTOCHIMIQUE DE LA JONCTION

A - Essai de caractérisation d'un espace intercellulaire.....	p. 34
B - Détection des glucides membranaires au niveau de la jonction	p. 35
C - Corps denses.....	p. 36
D - Conclusion.....	p. 37

CONCLUSION GENERALE

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION ET HISTORIQUE

Le problème des jonctions intercellulaires, dont l'étude est particulièrement utile à la compréhension de la biologie et de la physiologie de la cellule est extrêmement complexe. Il a fait l'objet de nombreux travaux chez les Métazoaires (voir la revue de STAEHELIN, 1974) et principalement chez les Vertébrés. Rares sont les travaux qui concernent les Protozoaires. C'est pourquoi nous nous sommes proposés d'étudier un type de jonction original : celle qui unit un parasite (en l'occurrence une Grégarine) à une cellule intestinale d'Invertébré (Annélide Polychète) ; cette jonction présente un grand intérêt, car en effet il ne s'agit plus de contacts entre cellules d'un même tissu, mais d'un organisme unicellulaire qui, pour pouvoir achever sa croissance doit élaborer une liaison intime avec une cellule d'un épithélium d'absorption.

Avant d'évoquer cette question précise, nous ferons le point brièvement sur les différentes catégories de jonctions et leurs rôles dans le règne animal.

I - ETAT DES RECHERCHES SUR LE PROBLEME DES JONCTIONS INTERCELLULAIRES

A - Chez les Métazoaires

1) Vertébrés

Les jonctions intercellulaires appartiennent à trois grandes catégories (STAEHELIN, 1974) :

a - "Tight junction" ou jonction d'occlusion

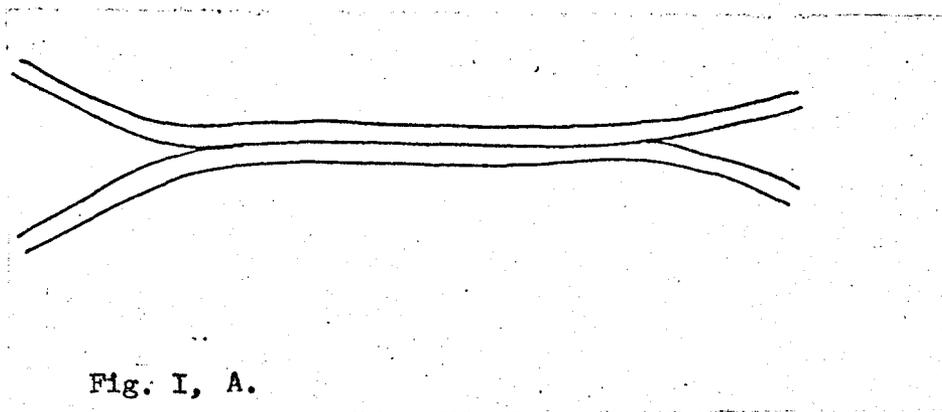


Fig. I, A.

Elle est caractérisée par le fait que les feuilletts externes des membranes plasmiques de deux cellules adjacentes établissent un contact étroit,

de telle sorte qu'il y a une obstruction complète de l'espace intercellulaire (Fig. I - A) cette structure semble constituer une barrière à la diffusion des ions et des molécules dans les espaces intercellulaires (FARQUHAR et PALADE, 1965).

b - Les jonctions "Gap"

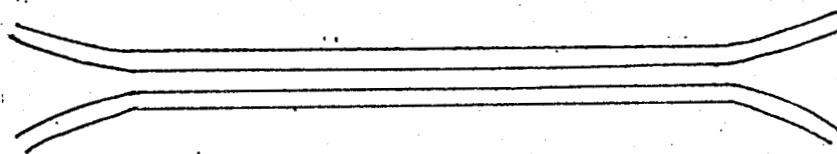


Fig. I, B

Elles sont formées par le rapprochement des deux feuilletts externes des membranes des cellules adjacentes (Fig. I - B) l'espace intercellulaire a une épaisseur de 20 à 30 Å; ce type de jonction permet le passage des ions et petites molécules (STAEHELIN, 1974).

c - Desmosomes et hémidesmosomes

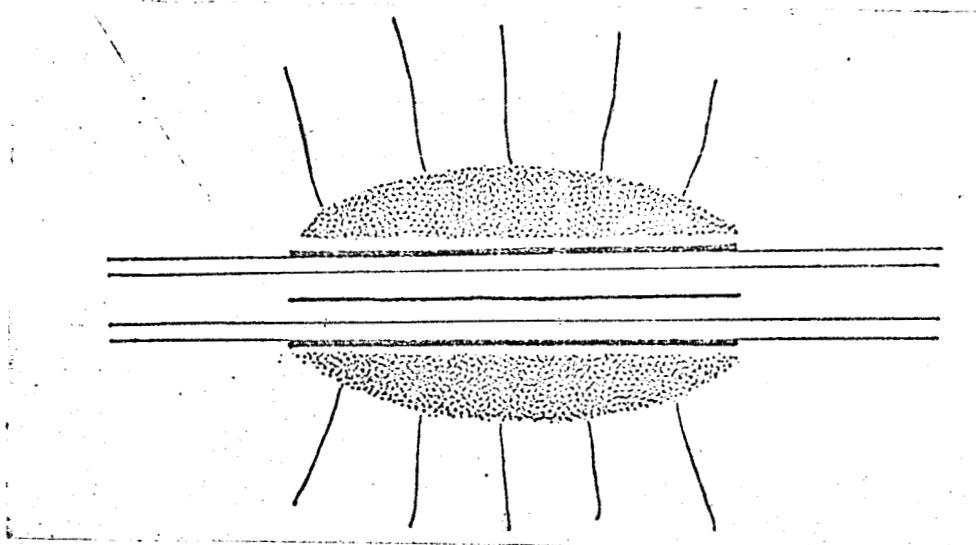


Fig. I, C

Ils sont caractérisés par l'existence d'une ligne médiane dense dans l'espace intercellulaire (la densité est moins forte dans le cas de l'hémidesmosome). (Fig. I - C schéma d'un desmosome). Sur la face cytoplasmique et au

niveau de la jonction viennent s'ancrer des tonofilaments provenant du cytoplasme. De ce fait, ce type de liaison assure la cohésion des cellules ; mais, bien qu'il ne soit pas évident que les desmosomes soient impliqués dans les échanges entre cellules voisines, cette possibilité n'est pas entièrement rejetée (USSING et WINDHAGER, 1964).

2) Invertébrés

Les desmosomes et les jonctions "gap" ont été décrites chez les Invertébrés (SATIR et GILULA, 1973 ; STAEHELIN, 1974) alors que les jonctions d'occlusion semblent absentes ; par contre d'autres types de jonctions, inconnues chez les Vertébrés, ont été observées :

a - Les "jonctions septées"

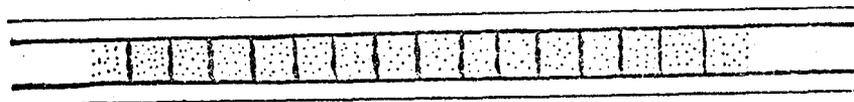


Fig. I, D

L'espace intercellulaire est occupé par des septes rubanés et ondulés (Fig. I - D). Des particules intramembranaires suivent le même tracé que les septes (STAEHELIN, 1974) mais ceux-ci ne présentent pas un aspect constant (HAND et GOBEL, 1972 ; NOIROT-TIMOTHEE et NOIROT, 1973 ; GILULA, 1974).

b - Les "jonctions continues"

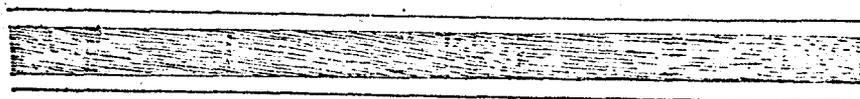
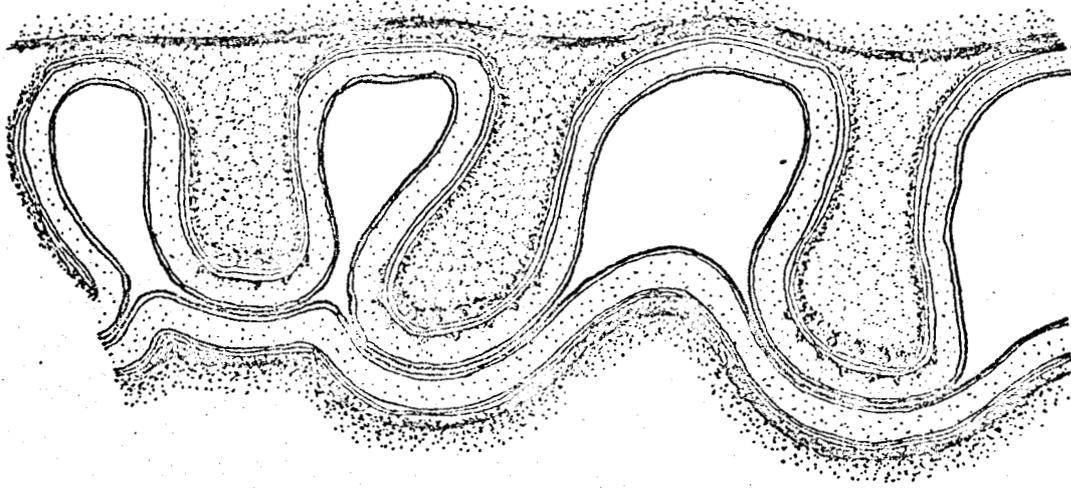


Fig. I, E

L'espace intercellulaire est occupé par un matériel dense granulaire (Fig. I - E) ; après la technique au nitrate de lanthane les septes apparaissent

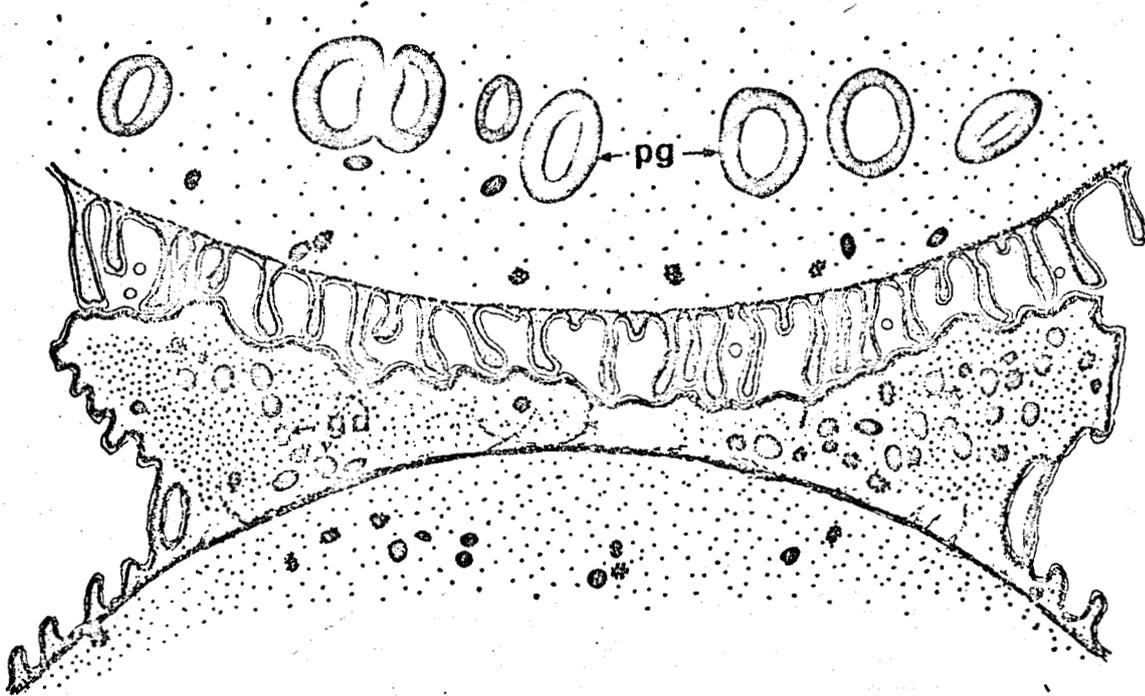
A



1
Contact
simple

2

B



1
Zone de
contact
complexe

2

Fig. 2 (A - B) d'après DEVAUCHELLE, 1968.

Ces schémas montrent que la zone de contact entre deux grégarines (1 et 2) qui rentrent en syzygie a une structure qui évolue dans le temps depuis le stade A jusqu'au stade B.

pg = paraglycogène

gd = "granules denses"

nettement; Ces septes ont une épaisseur parfois inégale et un espacement irrégulier (NOIROT et NOIROT-TIMOTHEE, 1967, 1974 a ; SATIR et GILULA, 1973 ; FLOWER et FILSHIE, 1975).

Le classement catégoriel que nous venons de faire est très simplifié et n'a qu'une valeur indicative, car le problème des jonctions intercellulaires est plus complexe. En effet les travaux réalisés tendent de plus en plus à montrer une variabilité structurale, ce qui conduit les spécialistes à distinguer actuellement divers types et sous types (STAEHELIN, 1974 ; SATIR et GILULA, 1973).

3) Protozoaires

L'étude du cycle de développement chez les Protozoaires permet de dégager des stades évolutifs où des contacts étroits sont établis, soit entre deux individus (dans le cas de la reproduction sexuée, exemple : la conjugaison des Ciliés), soit entre un Protozoaire parasite et son hôte pendant une phase déterminée de sa croissance. Ces liaisons intimes revêtent des formes diverses et peuvent avoir des fonctions différentes. Nous citerons d'abord un exemple d'accouplement entre individus ayant atteint la maturité sexuelle (cas des syzygies chez les Grégarines) et nous discuterons de l'importance toute particulière des contacts dans le cas de Protozoaires parasites.

a - Syzygie des Grégarines

Ce sujet est abordé dans de nombreux travaux (NELSON et SMITH, 1926 ; BEAMS et coll., 1959 ; DESPORTES, 1966 ; DEVAUCHELLE, 1968 ; SCHREVEL, 1969 ; HILDEBRAND, 1972 ; PORCHET et FISHER, 1974 ; TRONCHIN, 1975). Le rapprochement entre deux gamontes (ou individus qui produisent des gamètes : chez les grégarines le gamonte mâle et le gamonte femelle produisent de nombreux gamètes), au sein d'une même espèce est caractérisé par une position constante ; elle peut être frontale, caudale ou latérale ; elle touche par conséquent des zones bien déterminées de la surface des deux individus en présence ; c'est ainsi que (SCHREVEL, 1969), du fait de la polarité toujours caudale dans le cas de syzygie chez Selenidium pendula parasite de Nerine cirratulus GIARD émit deux hypothèses :

- celle d'une attraction par des substances sexuelles ;
- ou l'existence de substances particulières dans la région caudale.

Les conceptions actuelles sont que l'accolement entre deux gamontes nécessiterait la reconnaissance de zones membranaires spécifiques (SCHREVEL, communication personnelle). La deuxième particularité qui caractérise cette jonction est son dynamisme (Fig. 2) en effet elle semble être le siège de transformations au niveau ultrastructural, et peut-être métaboliques (abondance de pores qui permettent le passage de sphérules au niveau du contact entre les deux grégarines) (DESPORTES, 1966). Ceci la différencie nettement des jonctions intercellulaires

observées chez les Métazoaires, celles-ci bien qu'ayant des fonctions physiologiques (barrière, diffusion d'ions et petites molécules) ou mécaniques (maintien de la cohésion entre cellules) ont une morphologie propre.

Si la syzygie apparaît comme un modèle ayant des particularités fort intéressantes et dont l'étude peut apporter des éléments nouveaux surtout sur le plan biochimique et métabolique, le contact hôte/parasite n'est pas moins important et c'est ce dont nous allons discuter dans le paragraphe suivant qui constitue l'objet de notre travail.

b - Contact hôte-protazoaire parasite

La localisation des protozoaires parasites dans l'organisme de leur hôte, est très variable, et on peut en rencontrer dans tous les organes. Ils peuvent se développer à l'intérieur ou à l'extérieur d'une cellule, d'autres laissent apparaître dans leur cycle évolutif une phase exocellulaire au cours de laquelle ils présentent des organites de fixation.

. Cas des protozoaires intracellulaires

Le parasite peut être directement au contact du cytoplasme de la cellule qui l'héberge, (tel le sporozoïte de Coelotropha durchoni VIVIER (PORCHET-HENNERE, 1967), le trophozoïte de l'Hématozoaire Anthemiosoma garnhami (VIVIER et PETITPREZ, 1969) qui est en relation directe avec le stroma de l'hématie du rongeur Acomys percivali), ou isolé dans une vacuole parasitophore comme Eimeria perforans (SCHOLTYSECK et al., 1966), les Plasmodium, la coccidie Globidium gilruthi de la caillette du mouton (PORCHET-HENNERE, 1976-77) etc... Dans ce dernier cas le protozoaire et la cellule hôte forment un "complexe xénoparasitaire" (CHATTON, 1920) qui réalise une unité morphologique et physiologique favorable au développement du parasite.

. Cas des protozoaires possédant des organites de fixation : exemple: les grégarines

Pour achever sa croissance le jeune trophozoïte (dans le cas des grégarines intestinales) libéré dans la lumière du tube digestif se fixe sur sa paroi par sa région antérieure. Ce sont les travaux de LEGER, 1892 ; LEGER et DUBOSCQ, 1904 ; BRASIL, 1907, 1909, qui mettent en lumière l'existence d'un dispositif spécialisé ou "mucron", qui permet d'expliquer la fixation des parasites sur la paroi intestinale. LEGER et DUBOSCQ (1902) envisagent la possibilité de la nutrition à ce niveau.

II - TRAVAUX RECENTS CONCERNANT LES CONTACTS GREGARINE /CELLULE-HOTE

A - Rappel de la structure d'une grégarine et de l'appareil de fixation

Dans un grand nombre de grégarines le corps est subdivisé en segments successifs; à l'antérieur on donne le nom d'épimérite, de protomérite au suivant, et de deutomérite au postérieur ; de ceci découle une classification des grégarines en trois grandes catégories : les Monocystidées, Dicystidées, et Tricystidées.

Le dispositif de fixation peut avoir plusieurs formes (PITELKA, 1963 ; SCHREVEL et VIVIER, 1966 ; SCHREVEL, 1968 ; DEVAUCHELLE, 1968 ; DESPORTES, 1969 ; HILDEBRAND, 1972 ; ORMIERES et DAUMAL, 1975 ; TRONCHIN, 1975), ce qui oblige à adopter des appellations différentes : mucron, épimérite, rhizoïdes de fixation. Nous résumons brièvement dans le tableau ci-dessous l'aspect des trois catégories de grégarines :

Grégarines	Dispositif de fixation	Nombre de segments
Monocystidées	mucron	non cloisonnée
Dicystidées	épimérite (caduc)	épimérite ou Proto-Deutomérite protomérite deutomérite
Tricystidées	épimérite rhizoïdes de fixation	épimérite ou rhizoïdes protomérite deutomérite

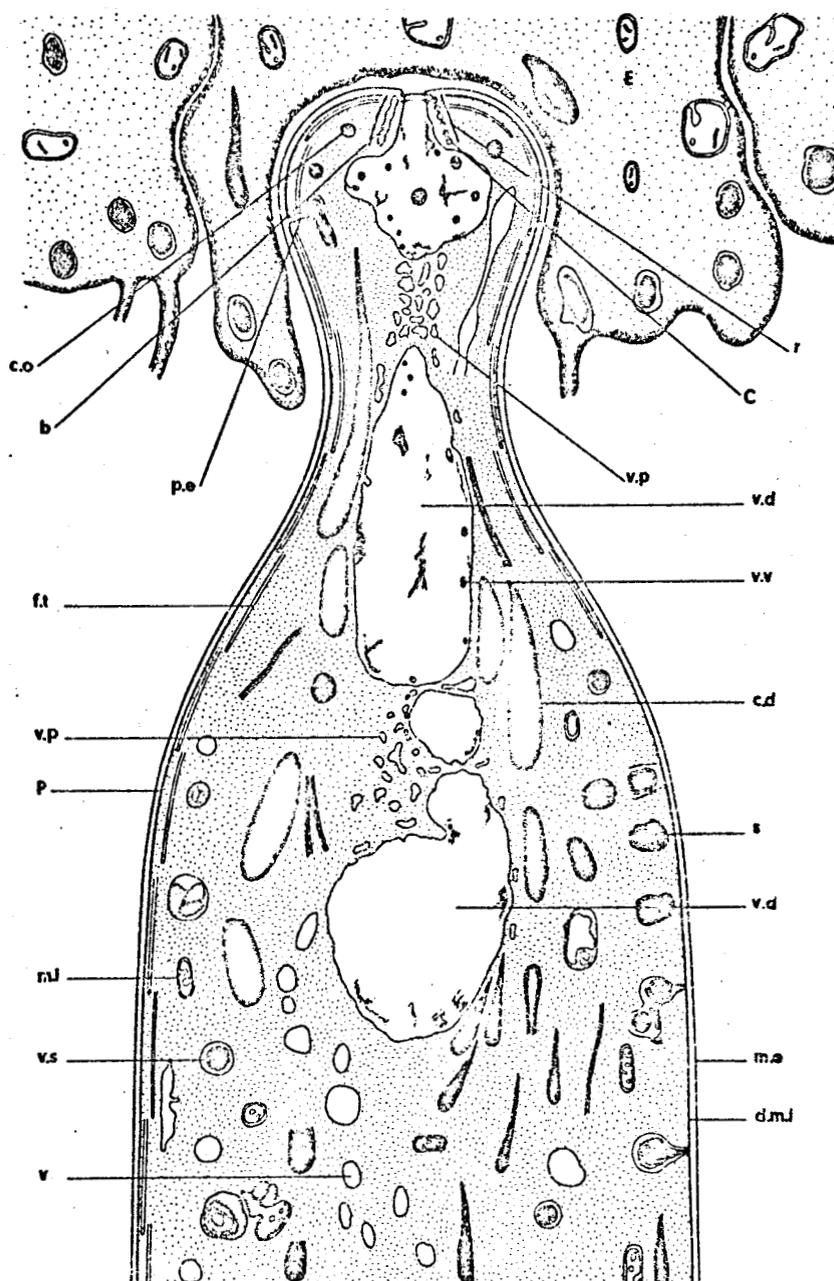
B - Ultrastructure de l'appareil de fixation

L'observation de la région antérieure des grégarines permet de distinguer trois sortes de dispositifs spécialisés : le mucron, l'épimérite, les rhizoïdes. Nous allons donc successivement donner une description des trois modèles de fixation puis essayer de dégager leurs rôles en fonction des données bibliographiques récentes.

a - Mucron

Les espèces à mucron qui ont été étudiées sont peu nombreuses :

Lecudina pellucida (SCHREVEL et VIVIER, 1966), Selenidium hollandei (SCHREVEL, 1968), Lecudina tuzetea (SCHREVEL, 1969), Lecudina linei (VINCKIER, 1973). SCHREVEL (1968) donne le schéma suivant pour le mucron de Selenidium hollandei (Fig. n° 3)



Reconstitution de la région antérieure du *Selenidium*. Les vacuoles digestives (v.d.) se forment à l'apex du trophozoïte, au niveau du conoïde (C.); elles se détachent et migrent postérieurement. Leur périphérie présente de très nombreuses vésicules de pinocytose (v.p.). Certains corps denses antérieurs (c.d.) sont accolés aux vacuoles digestives.

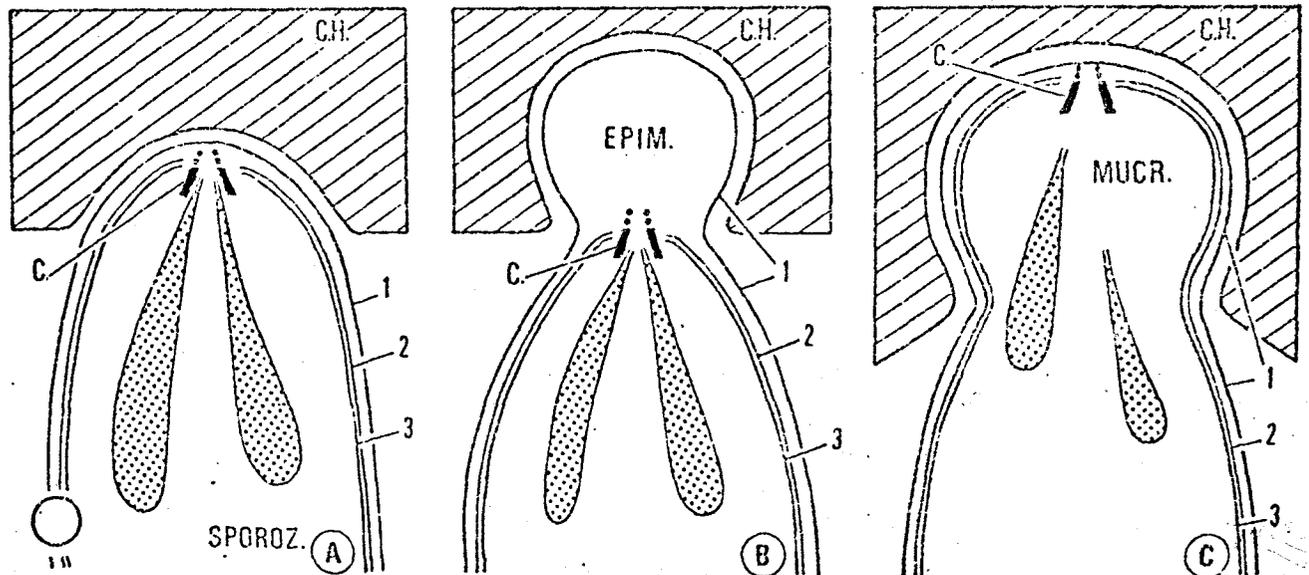
Abréviations: C., conoïde; c.d., corps denses antérieurs (= toxonèmes, « paired organelles », rhoptries); c.o., corps opaques; E., épithélium intestinal du *Sabellaria*; f.t., fibres tubulaires; m.e., membrane externe de la paroi; d.m.i., double membrane interne de la paroi; m.i., mitochondrie; P, paroi; p.e., pertuis; r., rideau micro-fibrillaire du conoïde; s., structures emboîtées; v., vacuoles vides de toute inclusion; v.d., vacuole digestive; v.p., vésicules de pinocytose; v.s., vacuole à sphérule; v.v., vésicules de la vacuole digestive.

Fig. 3 : (d'après SCHREVEL, 1968).

Néanmoins pour les espèces du genre *Lecudina*, du fait de l'opacité de la zone de contact hôte-parasite, les auteurs cités précédemment n'ont pas pu discerner ce qui appartient à l'un et à l'autre des deux composants ; (SCHREVEL, 1969) émet l'hypothèse que la jonction est formée d'un amalgame de la membrane propre de la cellule parasitée et des membranes périphériques de la grégarine.

b - Epimérite

Diverses espèces de grégarines à épimérite ont été étudiées, et il semble qu'il y ait un agencement structural qui varie au cours de la croissance de la grégarine. Nous citerons en particulier : Sycia inopinata LEGER (SCHREVEL et VIVIER, 1966), les grégarines du genre Stylocephalus (DESPORTES, 1969), Gregarina steini, Gregarina polymorpha, Gregarina guneata (DEVAUCHELLE, 1968), Didymophyses gigantea STEIN (HILDEBRAND, 1972), Pyxinia anobii (ORMIERES et DAUMAL, 1975), Gregarina blaberea (TRONCHIN, 1975). Les divers travaux apportent des points communs, mais le fait le plus remarquable qui les différencie se situe au niveau des interprétations qui sont données au sujet des membranes qui bordent l'épimérite. ORMIERES et DAUMAL (1975) proposent un schéma comparatif clair et simple (Fig. 4).



- A. Extrémité antérieure d'un sporozoïte avec son conoïde.
- B. Extrémité antérieure d'une Grégarine à épimérite. Le conoïde est situé à la base de l'épimérite. Ce dernier est néoformé et ajouté à l'avant du sporozoïte. Il n'est limité que par la membrane unitaire externe issue du sporozoïte. Le complexe des 2 membranes internes forme un pseudo-septum épiméritique qui disparaîtra par la suite.
- C. Extrémité antérieure d'une Grégarine à mucron. Le conoïde est à l'apex du mucron. Cette partie antérieure est l'homologue de la partie antérieure du sporozoïte. Le mucron est ainsi délimité par les 3 membranes unitaires du sporozoïte. (C : conoïde ; CH : cellule-hôte ; 1 : membrane externe ; 2 : membrane moyenne ; 3 : membrane interne).

Fig. 4 : (d'après ORMIERES et DAUMAL, 1975).

(Fig. 4, C : Représentation schématique du mucron de Selenidium hollandei).

c - Rhizoïdes

TUZET et GALANGAU (1968) étudient l'ultrastructure des rhizoïdes de Grebnickiella gracilis, mais ORMIERES et MARQUES (1976) examinent plus en détail les rhizoïdes des Dactylophorides (Echinomera, Grebnickiella, Dactylophorus). Ceux-ci sont issus du protomérite et chacun pénètre dans une cellule intestinale. Ils se distinguent par une absence totale de tout organite cytoplasmique. En ce qui concerne leur formation l'auteur écrit : "La membrane externe se détache des deux plus internes et s'accole au bord libre d'une cellule ; cette membrane externe repousse seule la membrane de la cellule-hôte, et pénètre profondément dans l'invagination ainsi formée" (Fig. 5).

En définitive la formation d'un rhizoïde peut être rapprochée de celle d'un épimérite.

Ci=cellule
intestinale

Mc=membrane
cellule
intestinale

Me=membrane
externe

Mi=membrane
interne

Mm=membrane
moyenne

L=lacune

Cn=complexe
néoformé

Gcc=gouttière

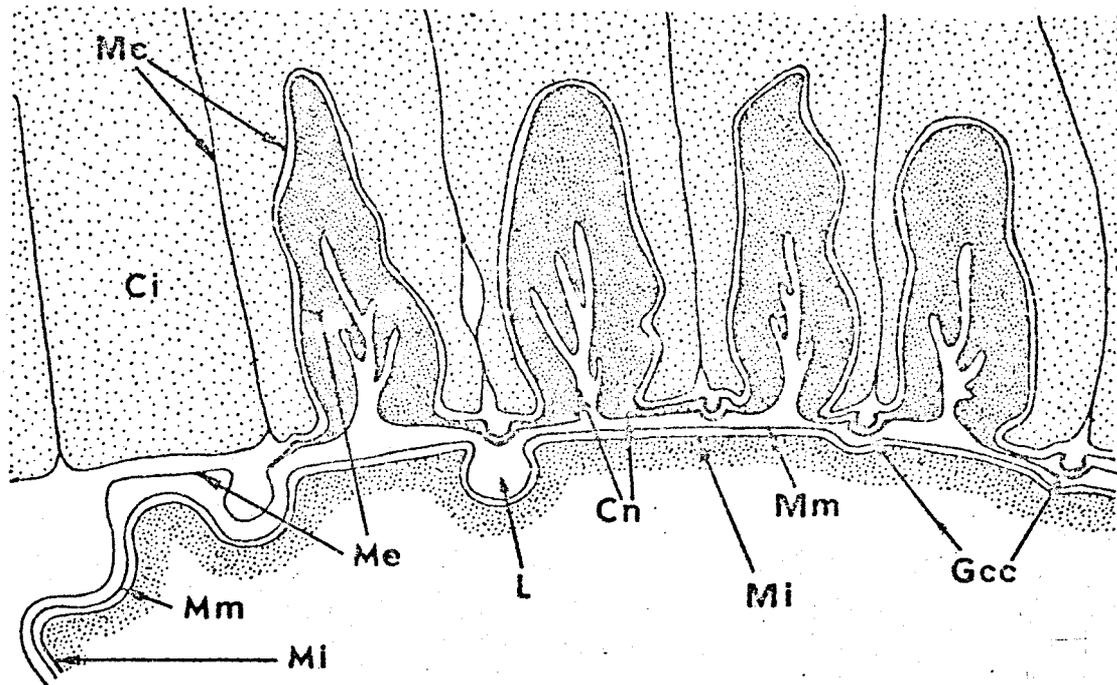


Fig. 5 : Rhizoïdes : coupe schématique d'après ORMIERES et MARQUES, 1976.

C - Fonctions du dispositif de fixation

1) Fonction mécanique

Celle-ci paraît évidente : en effet les grégarines fixées sur l'épithélium intestinal de l'hôte, baignent dans le contenu intestinal et sont soumises par conséquent à un flux plus ou moins accentué ; il est donc nécessaire qu'elles soient bien attachées à la cellule intestinale pour ne pas être entraînées par les flux de forte intensité. C'est ainsi que certaines formations dues à l'accolement de la membrane externe du parasite et de celle de la cellule-hôte, à la base de l'épimérite ou du mucron (nos observations), qui sont dénommées "bague de jonction" (DEVAUCHELLE, 1968 ; TRONCHIN, 1975), "lame annulaire" (LOUBES et coll., 1971), "anneau épiméritique" (HILDEBRAND, 1972) ou "bague basale" (ORMIERES et DAUMAL, 1975), pourraient consolider la fixation du parasite à la cellule intestinale.

2) Fonction physiologique

a - Mucron

C'est en 1902 que LEGER et DUBOSQ envisagent la possibilité de la nutrition par le mucron ; ultérieurement les travaux de microscopie électronique montrent que la cellule intestinale au contact du mucron présente une désorganisation très apparente, ce qui constitue une preuve évidente de l'action spoliatrice du parasite.

SCHREVEL et VIVIER (1966) pensent qu'il y a une action directe du mucron, par une émission d'enzymes qui dégraderaient le cytoplasme de la cellule-hôte, et en retour absorption des substances nutritives.

b - Epimérite

L'épimérite montre dans la plupart des cas une richesse en organites cellulaires : ribosomes, systèmes de vacuoles, présence de grains de paraglycogène ; les nombreuses mitochondries qui y figurent sont un indice d'une grande activité métabolique ; de ce fait une fonction de nutrition lui a été attribuée par plusieurs auteurs notamment SCHREVEL et VIVIER, 1966 ; SCHREVEL, 1968 ; DEVAUCHELLE, 1968 ; DESPORTES, 1969 ; HILDEBRAND, 1972 ; TRONCHIN, 1975.

c - Rhizoïdes

Du fait de l'absence de tout organite cellulaire au sein des rhizoïdes, il semble évident que le seul rôle qui puisse leur être attribué soit la fixation de la grégarine à l'épithélium intestinal (ORMIERES et MARQUES, 1976).

D - Conclusion

A la suite de ces diverses descriptions, il apparaît que la région

antérieure des grégarines intestinales comprend un dispositif différencié grâce auquel elles peuvent adhérer à la paroi de l'épithélium intestinal, et exercer leur action spoliatrice. Les données relatives aux grégarines à mucron du genre Lecudina, sont peu précises, en ce qui concerne la zone de contact grégarine-cellule-hôte. Il nous a semblé intéressant d'apporter à ce propos quelques observations supplémentaires dans le cas de deux espèces de Lecudina parasites intestinales d'Annélides polychètes, et contribuer ainsi aux apports réalisés sur le problème très large et complexe que constitue l'étude des contacts hôte-parasite.

I - MATERIEL

Les jonctions entre les grégarines : Lecudina tuzetae, Lecudina sp., et leur hôte respectifs : Nereis diversicolor et Audouinia tentaculata ont fait l'objet de ce présent travail. La récolte s'est effectuée dans la vase en eau saumâtre au petit port de Boulogne pour Nereis diversicolor ; les Audouinia ont été ramassées sous les pierres de la zone supérieure de l'estran en face de l'Institut de Biologie maritime de Wimereux.

II - TECHNIQUES

Après la récolte, les vers sont isolés dans des boîtes de pétri contenant de l'eau de mer et laissés à la température du laboratoire (15 à 20° C).

A - Observations in vivo

Les vers sont observés entre lame et lamelle sous binoculaire ; l'intestin est alors visible par transparence et il est ainsi possible de détecter les sujets qui sont parasités ; par dissection des portions d'intestin qui portent le plus de grégarines fixées sont alors prélevées.

Audouinia tentaculata héberge quatre grégarines intestinales dont trois Selenidium et une Tricystidée : Sycia inopinata (SCHREVEL, 1969), cette dernière a été rattachée à la famille des Lecudinidae, mais son cycle est inconnu (GRASSE, Tome I, Fascicule II, p. 628).

La grégarine qui fait l'objet de notre étude semble rare dans la station où nous l'avons trouvée, l'étude de son cycle présente donc deux difficultés majeures

- la première est sa rareté ;
- la deuxième réside dans la grande diversité des espèces hébergées par le Cirratulien.

Néanmoins nous constatons que la grégarine est une Monocystidée dont la région antérieure est différenciée en mucron dont l'aspect ultrastructural rappelle les observations faites sur les espèces appartenant au genre Lecudina (SCHREVEL et VIVIER, 1966 ; SCHREVEL, 1969 ; VINCKIER, 1973), nous proposons de la rattacher provisoirement au Genre Lecudina et la nommer : Lecudina sp.

B - Techniques de microscopie électronique

1) Microscopie électronique à transmission : étude ultrastructurale

Les pièces prélevées ont subi une double fixation : glutaraldéhyde à 6 % en tampon phosphate 0,1 M à 4° C pendant 2 heures, puis un lavage dans le

même tampon additionné de sucrose, et une post-fixation à l'acide osmique 1 % dans le même tampon. Les pièces sont alors incluses dans l'épon 812 selon LUFT, puis coupées sur l'ultramicrotome Porter-Blum. Nous recueillons sur une lame des coupes semi-fines (0, 25 μ d'épaisseur environ), après coloration à l'azur B à pH 10, elles sont observées au microscope optique ordinaire, nous pouvons ainsi délimiter la zone où existent des jonctions parasite-cellule épithéliale, de telle façon à pouvoir recentrer la surface de coupe sur celle-ci.

(Remarque : les semi-fines colorées qui semblaient intéressantes ont été photographiées sur le microscope photonique "Orthomat" de Leitz).

Les coupes ultrafines sont alors recueillies sur grilles, contrastées par l'acétate d'uranyle à 2 % dans l'alcool 96° pendant 5 minutes, puis par le citrate de plomb selon la technique de REYNOLDS (1963).

Les préparations sont examinées aux Microscopes SIEMENS Elmiskop Ia et HITACHI HU II cs.

2) Etude cytochimique

Nous allons citer brièvement les différentes techniques que nous avons utilisées dans ce travail ; nous préciserons le principe de chaque procédé et le but recherché.

a - Détection des glucides membranaires au niveau de la jonction : méthode à l'acide périodique-thiocarbohydrazide-protéinate d'argent (P.A.T.Ag)

Cette technique de SELIGMAN modifiée selon THIERY (1967), est basée sur la révélation de groupes chimiques : vic-glycol ($\begin{matrix} \text{OH} & \text{OH} \\ | & | \\ -\text{CH}- & \text{CH}- \end{matrix}$), ou α -amino alcool ($\begin{matrix} \text{OH} & \text{NH}_2 \\ | & | \\ -\text{CH}- & \text{CH}- \end{matrix}$), ceux-ci existent en abondance dans les monosaccharides notamment sur les carbones C₂ et C₃.

Le protocole expérimental est le suivant :

Les coupes recueillies sur grilles "or", sont mises à flotter sur l'acide périodique à 1 % pendant 35 minutes ; celui-ci oxyde les groupes vic-glycol et α -amino alcool et fait ainsi apparaître des groupes aldéhydes ; il permet d'autre part d'éliminer une partie de l'osmium.

Les coupes sont alors lavées soigneusement puis posées sur le TCH 0,2 % pendant 72 heures (nous avons choisi cette durée pour essayer de mettre en évidence la présence éventuelle de "glycoconjugués", constituants des revêtements cellulaires, au niveau de la jonction).

Après plusieurs rinçages les coupes sont placées à l'obscurité sur du protéinate d'argent à 1 % dans l'eau bidistillée pendant 25 minutes. L'acide

périodique a été remplacé par l'eau bidistillée pour les traitements témoins.

b - Mise en évidence des espaces intercellulaires

. Technique au nitrate de lanthane d'après REVEL et KARNOVSKY 1967

Après fixation dans le glutaraldéhyde 6 % dans le tampon phosphate 0,1 M, le lavage est effectué successivement dans le tampon phosphate, puis dans le tampon S-collidine-HCL ; cette substitution de la S-collidine au premier tampon évite la formation de précipités avec le lanthane au cours de la post-fixation ; celle-ci se fait pendant 2 heures à température ambiante dans le mélange :

Nitrate de lanthane 4 % dans S-Collidine-HCL 0,2 M.....	IV
OsO ₄ 2 %.....	IV

Le mélange nitrate de lanthane-S-collidine est ajusté à pH 7,8 avec NaOH 0,1 N. La déshydratation est très rapide, trois minutes dans chaque bain ; ensuite les pièces sont traitées par le procédé classique pour l'inclusion. Le nitrate de lanthane se présente comme un dépôt opaque aux électrons.

. Utilisation de colorants cationiques

Le bleu alcian utilisé selon BEHNKE et ZELANDERT (1970), augmente le contraste du "cell coat" (SCHREVEL, 1972), en réagissant sur les groupes anioniques.

Nous avons utilisé cette technique dans le but d'observer une éventuelle infiltration de ce composé au niveau de la jonction. Nous avons procédé comme suit : le bleu alcian (Gurr) est ajouté à raison de 1 % dans le liquide de fixation (glutaraldéhyde 5 %, tampon phosphate 0,1 M) ; après lavage, la post-fixation est réalisée avec de l'acide osmique 2 % dans le tampon phosphate.

c - Extraction enzymatique

Lors de nos observations, nous avons pu distinguer trois sortes de "corps denses" dans les deux parasites étudiés ; il s'avérait nécessaire, vu la grande confusion qui règne à propos de ce sujet, d'essayer de les différencier en recherchant leur nature chimique. Nous avons utilisé deux procédés :

- Le premier en faisant appel à la technique P.A.T.Ag ;
- La deuxième consiste en une extraction enzymatique par la pronase.

Procédé :

La pronase grade B Calbiochem (45000 P.U.K/gm) est mise en solution aqueuse à 0,5 %, le pH est ajusté à 7,4 avec la soude diluée (N/10). Des coupes flottantes transportées à l'aide d'anneaux en plastique, sont passées successivement sur l'acide périodique 5 % pendant 40 minutes, ensuite sur la pronase 0,5 % pH 7,4 à 40° C pendant 30 minutes ; plusieurs lavages sont alors effectués et les coupes recueillies sur des grilles membranées et carbonnées. La pronase est remplacée par l'eau bidistillée pour les traitements témoins.

ABREVIATIONS UTILISEES DANS LES FIGURES

AMt : Anneau antérieur formé de microtubules
aa : arceaux apicaux
B : LB : lame basale
bj : bague de jonction
Cd₁ : Corps denses (enchevêtrement de filaments)
Cd₂ : Corps denses à structure homogène
Cd₃ : Corps denses de petite taille contenant un matériel plus opaque que les précédents
Cd : corps denses
CH : Cellule hôte
CMI : complexe membranaire interne
Cmt : couche dense formée de microtubules perpendiculaires à la jonction
C : "Conoïde" en régression
En : Endoplasme
Ec : Ectoplasme
Ep : Epicyte
en : enveloppe nucléaire
er : ergastoplasme
F : filaments
G : Dictyosome
L : lipides
mta : microtubules de la couche cmt
MCH : membrane cellule hôte
ME : membrane externe de la grégarine
MM : membrane moyenne
MI : membrane interne
μ : micron
mp : micropore
mts : mic rotubules sous-pelliculaires
mf : microfibrilles
m : mitochondries
mt : microtubules
NH : Noyau de la cellule hôte

N : Noyau de la grégarine
nu : nucléole
NI : noyau de cellule non parasitée
PSa : paroi du "Sac lobé antérieur"
pg : paraglycogène (=amylopectine)
P : paroi de la grégarine
Sa : "Sac lobé antérieur"
rm : repli membranaire
V : vacuole
Vm : vésicules à membranes emboîtées
ZP : zone plissée
ZF : zone fibrillaire

Un trophozoïte en coupe transversale montre de l'extérieur vers l'intérieur (Fig. 26) :

- L'épicyte, ou zone des plis recouverts par les trois membranes constitutives typiques de la paroi des Sporozoaires ;
- L'ectoplasme qui est limité à l'extérieur par la lame basale ;
- L'endoplasme, qui lui-même comprend deux zones d'aspect différent ;
- Le noyau.

En coupe longitudinale nous pouvons distinguer la région antérieure différenciée en mucron. Nous étudierons successivement l'épicyte, les zones cytoplasmiques et le noyau, nous réserverons une étude plus détaillée pour la région antérieure.

I - ULTRASTRUCTURE DE L'EPICYTE ET DES ZONES CYTOPLASMIQUES

1) Epicyte

C'est une zone qui comporte des plis de 0,3 à 0,7 μ de haut, limitée par une paroi de 400 Å d'épaisseur ; celle-ci comprend trois membranes unitaires (Fig. 33, 35) (selon le schéma classique de deux feuillets denses entourant une zone centrale claire), qui se répartissent comme suit :

- La membrane externe (ME) a une épaisseur de 80 Å environ ;
- La membrane moyenne (MM) d'une épaisseur de 75 Å est séparée de la précédente par un espace clair de 150 Å d'épaisseur environ ;
- La membrane interne (MI) de 80 Å d'épaisseur est située à 40 Å de la membrane moyenne.

Au sommet des plis, on peut distinguer (Fig. 31) des "arceaux apicaux" qui occupent l'espace clair situé entre la membrane moyenne et l'externe. Les "dentifications apicales" situées en dessous de la membrane interne sont visibles au sommet de quelques plis. Au fond des sillons on peut noter (Fig. 31) la présence de micropores (mp) formés par une invagination de la paroi ; cette structure a été décrite chez les grégarines (VIVIER et SCHREVEL, 1964), et d'une façon générale chez de nombreux Sporozoaires (VIVIER et coll., 1970).

2) Ectoplasme

Cette zone cytoplasmique est limitée à sa partie supérieure par une couche dense appelée "lame basale" (LB) (Fig. 31), tangente à la base des plis, d'une épaisseur de 170 Å environ. Dans la partie sous-jacente à la basale nous pouvons noter l'existence de microtubules (mts) de 170 Å de diamètre, apparemment isolés, suivant une direction qui serait parallèle à la basale ; de même nous pouvons observer (Fig. 31) des globules lipidiques (L), des "corps denses" limités

Fig. 9 : Représentation schématique d'un trophozoïte de Lecudina Sp.

NH : noyau de la cellule hôte

nu : nucléole

N : noyau de la grégarine

ZF : zone fibrillaire

m : mitochondrie

MCH : membrane de la cellule hôte

ME : membrane externe de la grégarine

PSa : paroi du "sac lobé antérieur" (Sa)

CMI : complexe membranaire interne

AMt : anneau antérieur formé de microtubules ceinturant
le "sac lobé antérieur"

mf : microfibrilles

LB : lame basale

PE : plis épicytaires

CH : cellule hôte

er : ergastoplasme

cd : corps denses

G : Golgi

V : vacuole

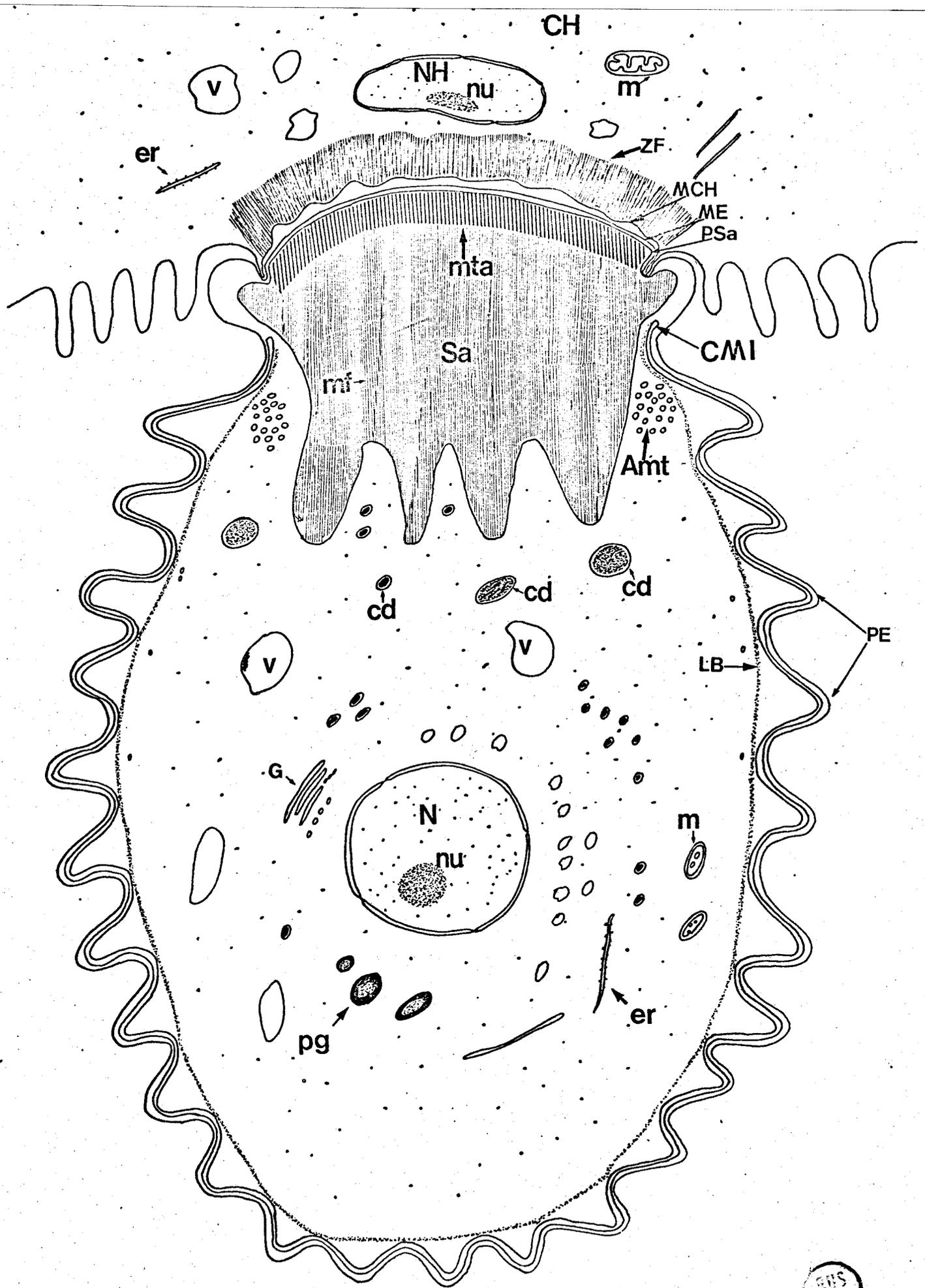


Fig 9

BHS
LILLE

par une membrane unitaire (cd), ainsi que des vésicules (vm) constituées de membranes entourant une région centrale de densité moyenne.

La partie plus au centre de l'ectoplasme (Fig. 26) montre une grande richesse en petites vacuoles (v) de 0,2 à 0,4 μ de diamètre, quelques corps denses (cd), des mitochondries (m), et des dictyosomes (G) (Fig. 46).

3) Endoplasme (EN)

Il paraît plus dense que l'ectoplasme (EC) (Fig. 17), et comporte deux zones concentriques au noyau, dont l'aspect est assez différent (Fig. 26). La partie périphérique (zone 2) présente une grande richesse en corps denses (cd) ; la région centrale périnucléaire (zone I) montre un nombre important de vacuoles de 0,4 à 0,8 μ de diamètre, quelques corps denses (cd), et des grains de paraglycogène (pg), ceux-ci ont souvent la forme de navettes.

4) Noyau (N)

Il est sphérique (Fig. 17, 22, 28) de 7 à 15 μ de diamètre environ, il présente parfois sur une même coupe 2 à 3 sections de nucléoles (Fig. 17, 22) d'environ 3 μ de diamètre, ceux-ci semblent avoir une structure alvéolaire (Fig. 28).

L'enveloppe nucléaire est formée de deux unités membranaires classiques (Fig. 29) séparées par un espace clair ; elle est percée de pores (Fig. 29, 30), la membrane interne est tapissée du côté nucléaire par une couche dense granuleuse.

5) Discussion

La grégarine qui fait l'objet de cette étude montre à travers la brève description que nous en avons donné, des traits caractéristiques signalés chez de nombreuses grégarines : sa paroi percée de micropores est une structure souvent décrite chez les grégarines ; elle est signalée pour la première fois par VIVIER et SCHREVEL, 1964 à propos des Selenidiidae d'autres auteurs l'ont retrouvée par la suite chez de nombreuses autres espèces (VIVIER, 1968 ; DEVAUCHELLE, 1968 ; DESPORTES, 1969 ; HILDEBRAND, 1972 ; TRONCHIN, 1975) ; cette structure semble générale chez de nombreux sporozoaires (VIVIER et coll., 1965, 1970). Cette paroi forme (sauf dans la région antérieure) des plis épicytaires qui sont classiques chez les grégarines (exceptés les Selenidiidae qui possèdent des bombements (VIVIER et SCHREVEL, 1964 ; SCHREVEL, 1969, 1971), et certaines Monocystidées d'Oligochètes dont la paroi forme des digitations plus ou moins irrégulières (WARNER, 1968 ; VINCKIER, 1969).

Les plis que nous avons observés rappellent ceux décrits à propos de plusieurs grégarines du genre Lecudina (VIVIER, 1968 ; SCHREVEL, 1969 ; VINCKIER, 1973) ; à la base des plis la lame basale est nettement visualisée, cependant sa

présence n'est pas un fait constant chez les grégarines ; en effet certains auteurs l'observent (GRASSE et THEODORIDES, 1959 ; VIVIER, 1968 ; SCHREVEL, 1969 ; HILDEBRAND, 1972 ; VINCKIER, 1973 ; TRONCHIN, 1975), d'autres ne l'ont pas retrouvée (DEVAUCHELLE, 1968 ; VINCKIER et VIVIER, 1968 ; WARNER, 1968 ; VINCKIER, 1969).

En dessous de la lame basale et du côté cytoplasmique les microtubules sous-pelliculaires (mts) sont situés obliquement par rapport à une ligne qui serait parallèle à la basale ; ils ne forment pas de système organisé comme dans le cas des Selenidiidae (VIVIER et SCHREVEL, 1964), mais sont groupés en amas de deux à trois unités isolées ce qui est identique aux observations faites à propos de diverses espèces appartenant à l'ordre des Eugrégarines : Lecudina pellucida (VIVIER, 1968), Lecudina tuzetae (SCHREVEL, 1969), Lecudina linei (VINCKIER, 1973).

Le rôle de ces microtubules a été souvent discuté, dans certains groupes tels les Euglenomonadines (MIGNOT, 1966), ainsi que chez de nombreux Flagellés (JOYON et MIGNOT, 1969), les auteurs nient la contractilité des systèmes sous-cuticulaires ; de même (SCHREVEL, 1969) dans le cas des Selenidiidae avance l'hypothèse selon laquelle les microtubules constitueraient un renforcement de la cellule et plus particulièrement de la paroi, hypothèse renforcée par les expériences d'HILDEBRAND (1972) qui, après extraction à la glycérine obtient des contractions maximales après disparition totale des microtubules périphériques chez Selenidium hollandei ; néanmoins chez Didymophyses gigantea le système fibrillaire constituant les myonèmes serait responsable de la contraction ; cette propriété contractile est évoquée aussi dans d'autres cas, tels les systèmes microtubulaires des axostyles, des oxymonadines (GRASSE, 1956 ; CLEVELAND et GRINSTONE, 1964).

a - Ectoplasme

Nous ne pouvons pas distinguer de formations particulières dans le cytoplasme épicytaire, telles les fibrilles signalées par GRASSE et THEODORIDES (1959), BEAMS et al. (1959). Par contre le cytoplasme sous-cortical montre la présence d'organites cytoplasmiques classiques : les mitochondries (m), des dictyosomes (G), des vacuoles (v), des vésicules "à membranes emboîtées" (vm) et des formations qui sont en relation avec la paroi : les corps denses (cd), ainsi que des micropores formés par l'invagination de la paroi. Ces structures sont décrites à plusieurs reprises chez les grégarines de diverses espèces (VIVIER et SCHREVEL, 1964 ; VIVIER, 1968 ; VINCKIER, 1973) ; les inclusions lipidiques sont aussi présentes, celles-ci ont été signalées surtout chez les grégarines d'Annélides Polychètes (SCHREVEL, 1969 ; PRENSIER, 1971), mais existent également chez d'autres espèces (DESSPORTES, 1969 ; VINCKIER, 1969 ; LOUBES et BOUX, 1970).

b - Endoplasme

Il offre la particularité de présenter deux zones concentriques dont l'aspect est assez différent. La première, au contact du noyau, est vacuolisée et renferme des grains de paraglycogène (pg) réserve glucidique des sporozoaires dont la nature chimique (amylopectine) est connue depuis 1969 : (RYLEY et al., 1969 ; SCHREVEL, 1970). La deuxième, périphérique, renferme un grand nombre de "corps denses" ce qui la distingue nettement de la précédente ; en microscopie optique elle apparaît comme une zone sombre et granuleuse (Fig. 17).

c - Noyau

Il présente un aspect classique; l'enveloppe nucléaire est typique percée de nombreux pores (VIVIER, 1967) avec une membrane interne tapissée d'une couche dense. On peut dénombrer dans le noyau, un à plusieurs nucléoles, ceux-ci présentent un aspect alvéolaire analogue à celui décrit pour d'autres espèces : Lecudina linei (VINCKIER, 1973), Gregarina blaberae (TRONCHIN, 1975).

6) Conclusion

Sur le plan de l'ultrastructure des zones cytoplasmiques et du noyau, la Grégarine Lecudina sp. ne diffère guère des autres Grégarines du genre Lecudina déjà décrites.

II - ETUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA REGION ANTERIEURE DE LA GREGARINE LECUDINA SP.,
ET DE SA JONCTION AVEC LA CELLULE INTESTINALE

Jusqu'à présent les travaux réalisés sur les zones de contact Grégarines-cellules épithéliales concernent essentiellement les Grégarines à épimérite (SCHREVEL et VIVIER, 1966 ; DESPORTES, 1969 ; DEVAUCHELLE, 1968 ; HILDEBRAND, 1972 ; ORMIERES et DAUMAL, 1975 ; TRONCHIN, 1975). Les Grégarines à mucron ont été peu abordées (SCHREVEL, 1968, 1969 ; SCHREVEL et VIVIER, 1966). Dans le travail que nous allons exposer nous essayerons d'apporter des précisions supplémentaires sur l'organisation de la région antérieure de deux grégarines à mucron en l'occurrence : Lecudina sp. et Lecudina tuzetae, et interpréter les observations que nous avons pu faire au sujet de la jonction entre ces parasites et les cellules épithéliales des hôtes qui les hébergent.

A - Aspect de la région antérieure en microscopie optique

Les trophozoïtes sont fixés à l'épithélium intestinal par un mucron (Fig. 16, 17) en forme de ventouse, la zone de contact est assez large (18, 19, 20, 21), elle se montre très chromophile sur les coupes semi-fines et en microscopie électronique elle présente une forte opacité aux électrons ; suivant le plan de

coupe on peut y observer au centre une sorte de "bouton" qui s'invagine dans la région antérieure de la grégarine (Fig. 20, 25); immédiatement dans la partie sous-jacente on distingue une zone plissée (ZP) (Fig. 20, 23, 25) qui correspondrait à la "zone antérieure d'aspect lamellaire" de la grégarine Lecudina linei (VINCKIER, 1973) ; elle sera désignée sous le nom de "sac lobé antérieur" nous verrons plus en détail son organisation et le rôle que l'on peut lui attribuer.

L'intérieur du mucron est occupé par un matériel fibrillaire (Fig. 32 b) décrit pour d'autres espèces appartenant au genre Lecudina (SCHREVEL et VIVIER, 1966 ; SCHREVEL, 1969 ; VINCKIER, 1973).

B - Ultrastructure de la région antérieure

1) Stade jeune

a - Le mucron

Nous avons pu observer pour la première fois (Fig. 32 b) une grégarine (presque un sporozoïte) fixée par un mucron, longue d'environ $7,6 \mu$ sur $3,6 \mu$ de large.

Elle est surmontée par un mucron ayant une forme arrondie, une "bague de jonction" ceinture toute la région antérieure au niveau du contact entre le parasite et la cellule intestinale. Dans une succession de coupes au niveau de la région antérieure (Fig. 33, 34, 35) on peut remarquer un petit étranglement qui précède la "bague de jonction", juste à son niveau on distingue une sorte de manchon opaque plaqué contre le complexe membranaire interne (MI + MM), qui est probablement un reste de Conoïde ("C"). Ceci indique qu'il s'agit d'un très jeune parasite car le Conoïde est une structure en tronc de cône caractéristique du sporozoïte et du mérozoïte des Sporozoaires (PORCHET-HENNERE et VIVIER, 1971), il régresse presque toujours au cours de la vie végétative.

L'axe du conoïde "C" est occupé par une sorte de "sac" de densité moyenne limité par une paroi (pSa) ayant la structure d'une membrane unitaire, le "sac" renferme un matériel microfibrillaire, il sera dénommé "sac lobé antérieur".

Au niveau du conoïde le complexe membranaire interne (MI + MM) est interrompu (Fig. 34, 35).

Le parasite présente une paroi non plissée, (Fig. 32 b) et un cytoplasme contenant des vacuoles (v) et des corps denses à aspect filamenteux (cd_1) (Fig. 32b, 33).

b - La jonction

En partant de la cellule parasitée nous pouvons distinguer (Fig. 35) :

- Une membrane unitaire qui présente un épaissement du feuillet externe donc celui qui fait face au parasite (Fig. 35, (1)) ;

- Un espace clair ;

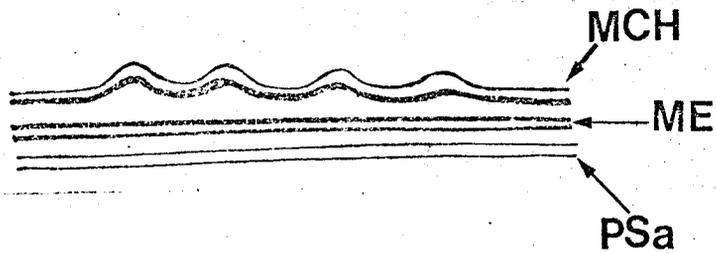


Fig. 10 : Schéma des membranes constituant la jonction.

MCH : membrane de la cellule hôte
 ME : membrane externe de la grégarine
 PSa : paroi du "Sac lobé antérieur"

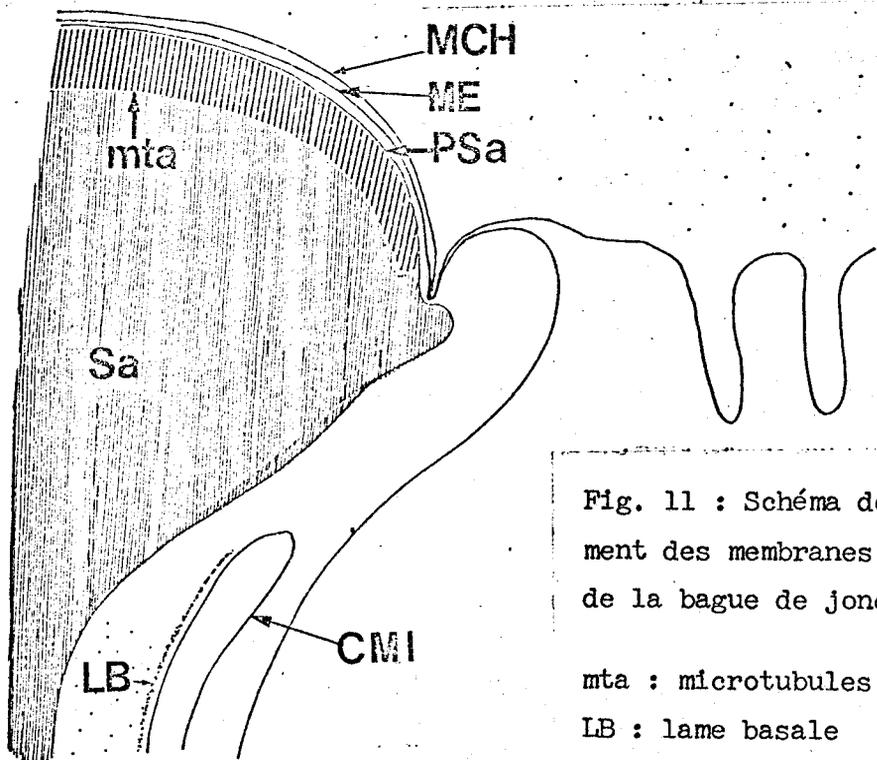


Fig. 11 : Schéma de l'agencement des membranes au niveau de la bague de jonction.

mta : microtubules antérieurs
 LB : lame basale
 CMI : complexe membranaire interne
 Sa : Sac lobé antérieur

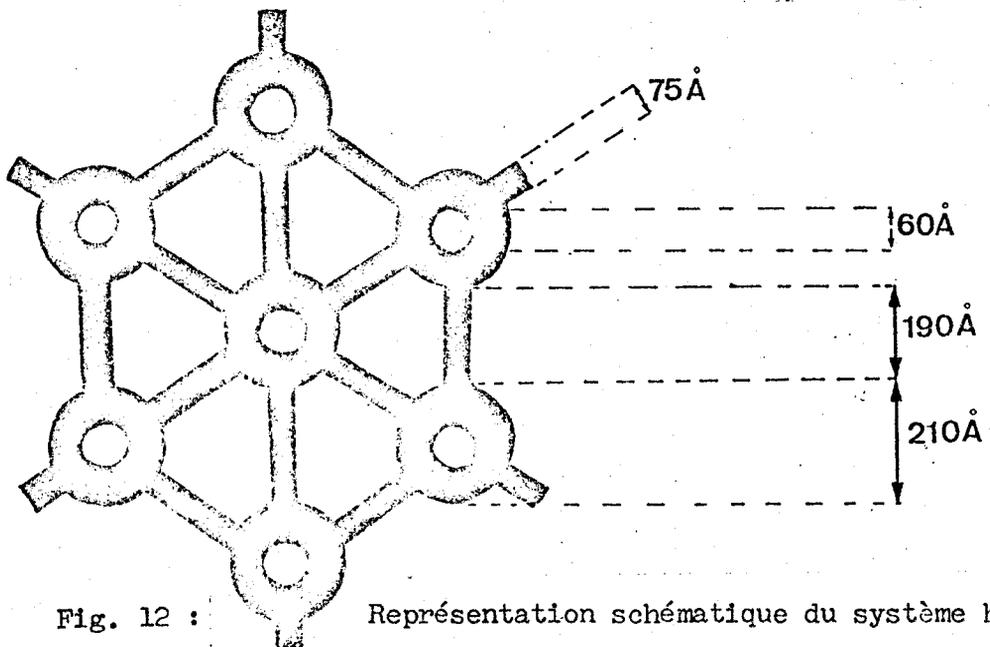


Fig. 12 : Représentation schématique du système hexagonal formé par les microtubules antérieurs.

BUS
LILF

- Une unité membranaire qui présente un épaississement de ses deux feuillets (Fig. 35, (2)) ;
- Un espace clair ;
- Une troisième unité avec une bande dense sous-jacente (Fig. 35, (3)).

2) Stade plus âgé

a - Le mucron

Chez les trophozoïtes fixés à l'épithélium intestinal nous pouvons observer (Fig. 36, 37) que la trace du conoïde a disparu, le "Sac" à contenu microfibrillaire que nous avons dénommé "Sac lobé antérieur" (Sa), qui occupait son axe s'est considérablement étalé, il porte à sa partie supérieure une couche dense (cmt) sous-jacente à la jonction.

b - La jonction

En partant de la cellule parasitée on distingue (Fig. 38, 39, 10, 11) :

- Une première unité membranaire dont l'épaisseur est de 72 Å environ, celle-ci correspond probablement à la membrane plasmique de la cellule parasitée (MCH), ce que suggèrent les figures (42, 43) ;

- Une bande claire de 36 Å qui serait l'équivalent d'un espace intercellulaire pouvant correspondre à une zone de transit ;

- Une membrane unitaire de 86 Å qu'il est possible d'assimiler à la membrane externe de la grégarine (ME) (Fig. 43) ;

- Une dernière membrane unitaire de 70 Å d'épaisseur environ : il est possible qu'elle corresponde à la membrane (PSa) limitant le "Sac lobé antérieur" (Sa) (Fig. 39, 43, 44) que nous étudierons ultérieurement plus en détail ; contre celle-ci viennent se ficher perpendiculairement des microtubules (mta) (Fig. 38, 39) (qui chez les stades jeunes (Fig. 35) forment une couche dense) ; celle-ci semble avoir pris un développement important au cours de la croissance du trophozoïte et l'on peut observer (Fig. 37) que cette couche (cmt) occupe toute la partie apicale du "Sac lobé antérieur" (Sa).

. Membrane plasmique de la cellule parasitée

Son épaisseur est conforme aux données classiques sur les membranes plasmiques, mais elle présente un épaississement du feuillet externe (contre le parasite) ; celui-ci par endroits (Fig. 39) semble s'accoler à la membrane externe de la grégarine ; de même il montre des interruptions qui semblent laisser le passage à un matériel dense (Fig. 39). Cette membrane peut dans certains cas particuliers, avoir un aspect ondulé (Fig. 41, 42, 51).

Fig. 13 : Représentation schématique d'une coupe transversale au niveau de la région antérieure de Lecudina sp.

Fig. 14 : Représentation schématique dans l'espace tridimensionnel du "Sac lobé antérieur" (Sa)

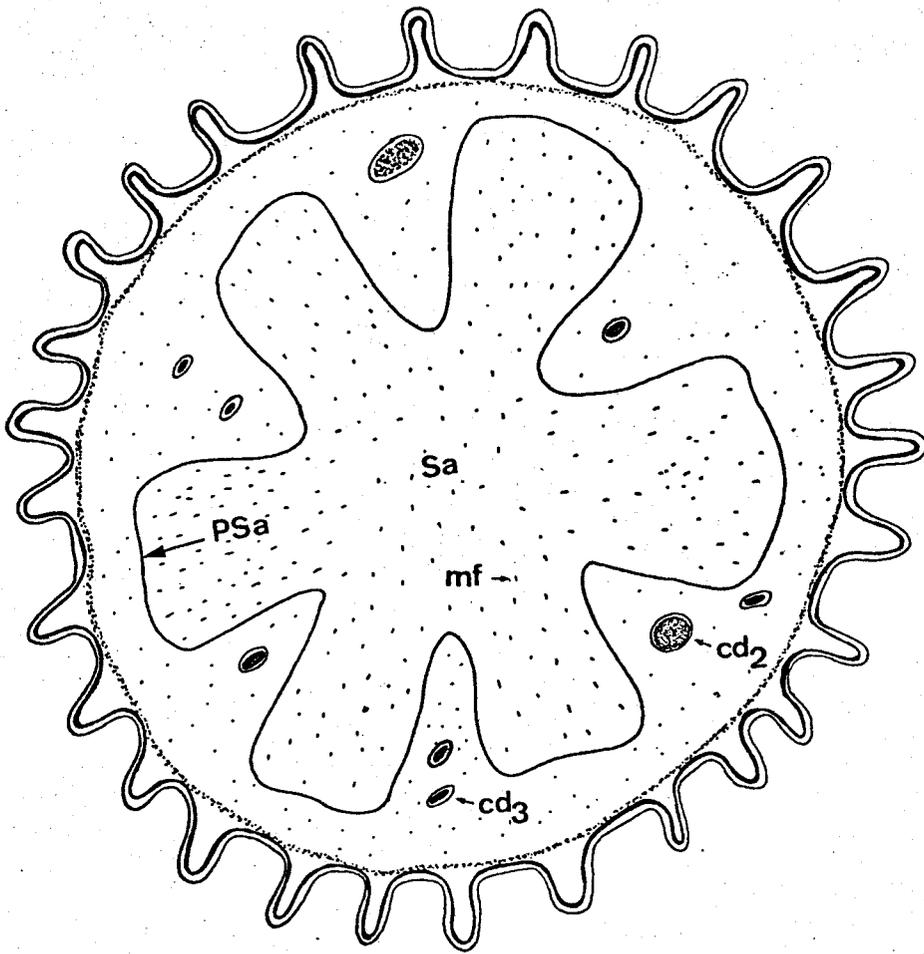


FIG 13

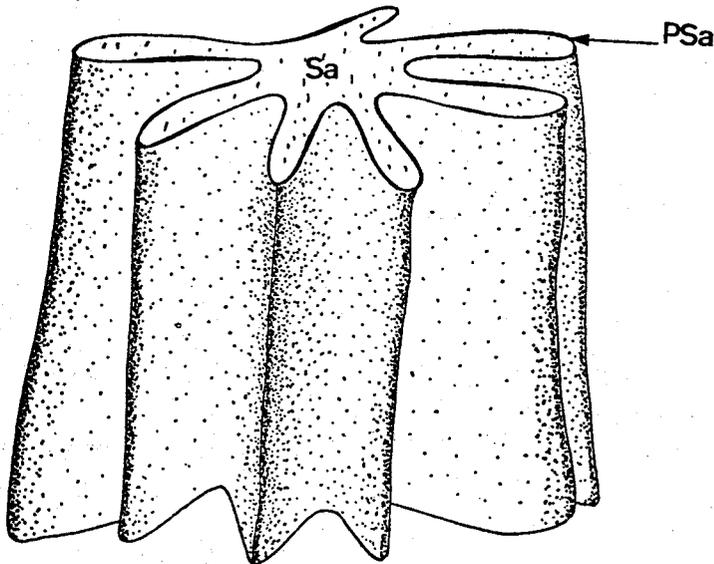


FIG 14



. Membrane externe de la grégarine

Son épaisseur est légèrement supérieure au chiffre que nous en avons donné lors de la description de l'Épicyte (80 Å) qui, lui, est conforme aux données classiques sur les membranes externes de la paroi des grégarines (VIVIER, 1968). Cette légère augmentation est due au fait que les deux feuillets externes sont très denses (Fig. 39), le feuillet qui fait face à la cellule parasitée présente une structure atypique : il semble formé par des granules jointifs.

. Membrane limitante du "Sac lobé antérieur"

Son épaisseur est identique à celle des membranes plasmiques classiques, les microtubules antérieurs (mta) viennent s'insérer sur son feuillet cytoplasmique, la limite de séparation microtubules-membrane n'est pas claire, mais il semble parfois y avoir une continuité entre ces deux systèmes (Fig. 39).

c - Agencement des membranes au niveau de la "bague de jonction"

Au niveau de la frontière entre l'épicyte antérieur et le mucron, le complexe membranaire interne s'interrompt (CMI) (Fig. 43, 44, 45, 46, 47), ainsi que la "lame basale" (Fig. 40), la membrane externe de la grégarine (ME) ainsi que la membrane de la cellule parasitée (MCH) s'accolent et s'invaginent à l'intérieur du parasite (Fig. 11) formant ainsi une sorte de bourrelet qui ceinture la base du mucron (Fig. 33, 34, 35, 44, 45, 46) ; il est assez difficile de suivre par la suite le cheminement des diverses membranes du fait des modifications qu'elles présentent au niveau de la jonction ; néanmoins certaines images obtenues (Fig. 42, 43, 44) permettent d'éclairer ce problème.

d - Structure du "Sac lobé antérieur" (Sa)

Il occupe dans le stade jeune (Fig. 34) l'axe du conoïde, et prend ultérieurement un développement important (Fig. 36, 51, 52, 53). Il a probablement la forme d'un "Sac" (Fig. 9, 13) aux contours plissés (Fig. 14) ce que suggèrent les coupes longitudinales (Fig. 37, 38), transversales (Fig. 48, 49) et tangentielles (Fig. 50). La partie antérieure épouse la forme du mucron et tapisse ainsi la jonction, ce qui fait que les coupes longitudinales qui affectent cette dernière montrent une succession de trois unités membranaires, dont la troisième en partant de la cellule parasitée (CH) constitue la membrane limitante du "Sac lobé antérieur" (PSa).

La partie inférieure du "Sac" n'est pas nettement visible car elle se perd dans le cytoplasme ; le "Sac lobé" contient des éléments à structure bien orientée : les "microtubules antérieurs" (mta), d'autres moins : les microfibrilles (mf), mais qui vers l'avant ont la même direction que les microtubules (Fig. 38).

. Microfibrilles (mf)

Le "Sac lobé antérieur" contient essentiellement un matériel d'aspect microfibrillaire (Fig. 49, 52, 53) semblable à celui décrit chez d'autres espèces à mucron Lecudina tuzetae (SCHREVEL, 1969), Lecudina pellucida (SCHREVEL et VIVIER, 1966), Lecudina linei (VINCKIER, 1973), les microfibrilles (mf) ont une épaisseur de 40 à 70 Å ; elles sont très enchevêtrées (Fig. 39), et il semble (Fig. 39) qu'il y ait une continuité entre elles et la couche microtubulaire (cmt), on pourrait alors se demander si ce n'est pas une organisation à l'échelle moléculaire des premières que se forment les microtubules antérieurs.

. Microtubules antérieurs (mta)

Ils forment une bande dense de 1600 Å environ (cmt) (Fig. 37, 38, 39) et viennent se coller contre la paroi du "Sac lobé antérieur" (PSa), il est possible qu'ils soient associés à celle-ci (Fig. 39), en coupe tangentielle (Fig. 54, 55, 56, 12) nous pouvons noter que ce sont des éléments tubulaires dont la paroi est très dense ; ils ont un diamètre externe qui varie entre 200 et 280 Å, l'épaisseur de la paroi est aux environs de 75 Å, celle-ci entoure un espace clair de 60 Å de diamètre environ. Ils sont associés entre eux par l'intermédiaire de "bras" de 190 Å de long (mesuré entre la surface externe de la paroi de deux éléments tubulaires) et de 75 à 80 Å d'épaisseur qui correspond à peu près à la dimension de la paroi des microtubules, cette association donne l'aspect d'un réseau à mailles hexagonales (Fig. 55, 56, 12).

. Anneau antérieur

Au niveau de la région antérieure et juste à la frontière épicyte-mucron, on peut observer un amas de microtubules qui sur coupe tangentielle semblent faire le tour de la grégarine en ceinturant le "Sac lobé antérieur" (Fig. 57, 58). Sur une coupe transversale que nous avons schématisée (Fig. 9), ils se présentent sous forme d'anneaux (Fig. 59, 60) de 340 à 350 Å de diamètre, la paroi de 75 à 80 Å d'épaisseur limite une région centrale claire de 190 Å de diamètre. La paroi de certains microtubules semble hétérogène elle permet par endroits de penser à l'existence de sous-structures fibrillaires (Fig. 60).

e) Aspects de la cellule parasitée

Le noyau de la cellule parasitée (NH) est souv ent proche de la zone de contact (Fig. 18, 21), il présente une nette hypertrophie par rapport aux noyaux des cellules saines (NI), ceci semble être un fait constant en cas de parasitisme.

Sur la figure 24 ainsi que sur une série de coupes semi-fines (Fig. 27) on peut observer une sorte de manchon formé de filaments denses qui, à partir de la jonction, traversent la cellule épithéliale et se prolongent jusqu'à la basale ; en suivant la succession de coupes on note qu'ils existent sur la première coupe (Fig. 27 a) mais disparaissent sur la dernière image (Fig. 27 e). Ces filaments partent en éventail depuis le parasite (Fig. 24) vers la basale, ménageant au centre de la jonction un espace où se situe le noyau hypertrophié de la cellule hôte (Fig. 61).

Des formations analogues sont observées dans le cas de grégarines à mucron, en particulier chez Lecudina linei (VINCKIER, 1973), cet auteur notait que d'après l'examen de coupes semi-fines, "le mucron semblait se prolonger dans la cellule-hôte (CH) par une sorte de filament".

En microscopie électronique ces filaments denses (F) apparaissent comme un feutrage de fines fibrilles (Fig. 61, 62).

Le pôle basal de la cellule parasitée présente un grand nombre de diverticules (Fig. 61, 62) ceinturant des compartiments occupés par de nombreuses mitochondries, ceux-ci correspondent peut-être à des évaginations de la membrane plasmique basale comme l'on peut en observer dans le cas d'un tube excréteur rénal (FAIN-MAUREL et CASSIER, 1971).

Le cytoplasme renferme de nombreuses vacuoles (v) (Fig. 47) qui sont peut-être le résultat d'une action lytique du parasite. La partie du cytoplasme qui est au contact direct avec le parasite présente des modifications importantes ; on y observe (Fig. 9, 43, 47, 63, 64) une couche de fines fibrilles de 70 à 75 Å de diamètre ; elles semblent par endroits montrer une régularité (Fig. 64). Au dessus de cette zone fibrillaire on distingue des éléments tubulaires (Fig. 63) de 140 Å de diamètre, qui sont dispersés dans le cytoplasme.

1) Stade jeune

Le plus jeune stade que nous ayons observé (Fig. 65, 66) mesure 2 à 5,7 μ pour le grand axe et 1,5 à 4 μ pour le petit axe.

Sa paroi possède la structure classique des germes infectieux de sporozoaires (voir revue PORCHET-HENNERE et VIVIER, 1971) à savoir trois unités membranaires dont les deux plus internes (MM + MI) sont fréquemment accolées (Fig. 65), formant ainsi ce qui est communément appelé : complexe membranaire interne (CMI). On remarque que le sporozoïte repousse la membrane de la cellule-hôte (MCH) (Fig. 67) par le pôle qui correspond probablement à la région antérieure.

2) Stade plus âgé

a - Le mucron

SCHREVEL en 1964 en a déjà donné une description ; nous avons pensé qu'il était nécessaire d'apporter quelques précisions supplémentaires quant à la zone de jonction.

b - La jonction

En partant de la cellule parasitée nous pouvons dénombrer trois unités membranaires (Fig. 72, 78, 79) :

- Tout d'abord une première qui présente un épaississement du feuillet externe, elle a une épaisseur de 75 Å environ ;

- La deuxième présente deux feuillets denses, son épaisseur est à peu près de 82 Å, elle est séparée de la précédente par un espace clair de 40 Å.

- La troisième a une épaisseur de 72 Å. Ces trois membranes prises dans cet ordre correspondent probablement à celle de la cellule-hôte (MCH), de la grégarine (ME) et du "Sac lobé antérieur" (Fig. 15).

A la limite entre l'épicyte et le mucron, le complexe membranaire interne (CMI) est interrompu (Fig. 82), à ce niveau nous pouvons observer un repli membranaire (rm) (Fig. 71, 80, 81, 82, 83), celui-ci est formé par l'accolement de la membrane de la cellule-parasitée et celle externe (ME) de la grégarine (Fig. 15, 81) celles-ci s'invaginent à l'intérieur du parasite.

Ce repli ne forme pas de bourrelet comme dans le cas de Lecudina sp.

c - Structure du "Sac lobé antérieur" (Sa)

Nous n'avons pas pu l'observer dans les stades jeunes. A un stade plus avancé, on constate (Fig. 70, 75) qu'il occupe la totalité de la région antérieure, il est limité par une paroi dont l'aspect est celui d'une membrane unitaire (Fig. 70, 72, 78), et contient uniquement des microfibrilles (mf). Les microtubules antérieurs (mta) ne sont pas représentés, de même nous n'avons

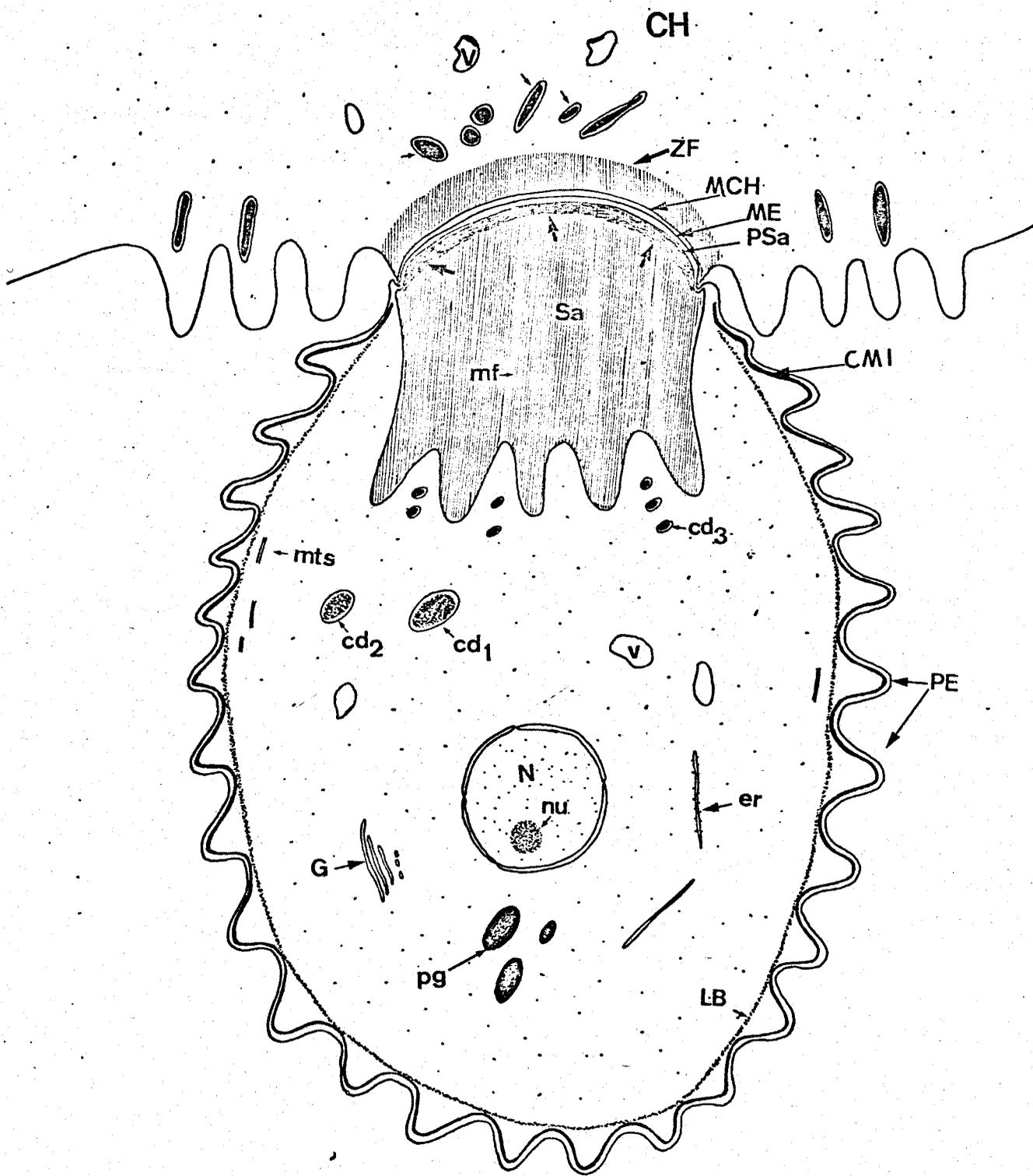


FIG 15

pas observé de structure ceinturant le "Sac" tel l'anneau antérieur (AMt).

. Microfibrilles

Elles ont un diamètre de 60 à 70 Å, elles semblent sur certaines images parallèles entre elles (Fig. 71, 79) et sont disposées avec une certaine régularité, avec un écartement de 65 à 70 Å entre deux fibrilles voisines.

Le "Sac lobé antérieur" présenté dans sa partie apicale tout le long de la jonction une couche dense (Fig. 75, 76) celle-ci n'a pas été observée sur toutes les coupes. Elle est formée par un enchevêtrement de microfibrilles (Fig. 76, 77, 78) qui semblent à ce niveau anastomosées en un réseau qui présente une organisation spéciale qui, bien que différente, évoque le système hexagonal formé par les microtubules (mta) dans le cas de Lecudina sp.

d) Aspects de la cellule parasitée

On peut noter des modifications importantes du cytoplasme de la cellule : des filaments (F) denses qui correspondent vraisemblablement aux "fines trainées de substance opaque" observées par SCHREVEL, 1969, traversent toute la cellule (Fig. 73, 74), de même on note la présence de vacuoles (Fig. 84) ; au-dessus de la jonction on peut observer sur certaines images (Fig. 71, 72) une zone fibrillaire, celle-ci donne en coupe tangentielle l'aspect d'une formation tabulaire dense (Fig. 68, 69). Au-dessus de cette zone fibrillaire des formations denses entourées d'une membrane unitaire se concentrent (Fig. 72, 84, 85, 86) et semblent orientées vers le parasite.

Ces transformations ne sont pas observées sur toutes les images que nous avons pu examiner, mais il est logique de penser qu'elles sont induites vraisemblablement par la grégarine, et plus ou moins développées suivant que le parasite s'est fixée depuis plus ou moins longtemps.

Fig. 15 : Représentation schématique d'un trophozoïte de Lecudina tuzetae.

A - Agencement des membranes au niveau de la jonction

C'est à ce niveau que l'interprétation des images obtenues en microscopie électronique a toujours posé des problèmes aux auteurs. Le fait le plus significatif est la non concordance des résultats rapportés à propos des membranes qui bordent les épimérites.

En effet, une seule membrane a été signalée par HILDEBRAND (1972) chez Didymophyses gigantea, pour les Stylocephalus par DESPORTES (1969), dans le cas d'Epicavus araeoceri en 1970 et pour Pyxinia anobii en 1975 par ORMIERES et DAUMAL.

D'autres : DEVAUCHELLE (1968), LOUBES et coll. (1971), observaient chez les Grégarinidae deux membranes épiméritiques, la membrane externe de la paroi trimembranaire est interrompue au moment de la pénétration, les deux unités membranaires du complexe interne se décollent pour former la zone corticale. BAUDOIN (1969) décrit trois membranes épiméritiques chez Ancyrophora puytoraci. TRONCHIN (1975) pense que chez Gregarina blaberae le complexe membranaire interne n'intervient pas dans les modifications affectant l'épimérite ; il envisage l'édification de l'enveloppe épiméritique à partir de vésicules aplaties réparties à la périphérie de l'épimérite, celles-ci se joindraient par la suite pour former la zone corticale (Fig. 15 bis).

En ce qui concerne le mucron, les résultats rapportés par SCHREVEL (1968) sur l'ultrastructure de la région antérieure de Selenidium hollandei montrent que les trois membranes constituant la paroi du parasite sont conservées au niveau de la jonction mucron-cellule épithéliale (Fig. 3). ORMIERES et DAUMAL (1975) se sont basés sur ce résultat pour établir le schéma comparatif épimérite-mucron que nous avons présenté plus haut (Fig. 4) ; mais une remarque importante est à signaler : c'est que le Selenidium est une Archigrégarine donc peu évoluée, le trophozoïte garde des formations (en particulier le conoïde) caractéristiques du sporozoïte.

Une remarque analogue a été rapportée par les auteurs cités précédemment (ORMIERES et DAUMAL, 1975) : "Parmi les grégarines, les formes à mucron, plus proches des sporozoïtes ayant donc peu évolué, devraient se retrouver dans les groupes les plus primitifs", ce qui confirme bien que le Selenidium est un cas particulier ; ceci veut dire que la structure de la jonction établie avec la cellule intestinale n'est pas superposable à celle de toutes les grégarines à mucron, en particulier les grégarines du genre Lecudina.

Les quelques travaux qui traitent de l'ultrastructure de certaines espèces appartenant à ce genre, ont montré que la zone de contact avec la cellule épithéliale est assez difficile à étudier du fait de son opacité aux électrons.

Néanmoins l'hypothèse formulée est que l'interface hôte-parasite comporte un amalgame de la membrane propre de la cellule parasitée et des membranes formant la paroi de la grégarine, et que celle-ci subissent à ce niveau des modifications importantes qui font disparaître la configuration habituelle des "unit membrane" (SCHREVEL et VIVIER, 1966 ; SCHREVEL, 1969).

Nos observations au sujet des deux espèces Lecudina sp. et Lecudina tuzetae sont en conformité avec l'hypothèse de la modification de la structure des membranes, mais apportent une précision, c'est la distinction de trois unités membranaires au niveau de la jonction, ce que nous avons schématisé sur la figure 10. La membrane de la cellule parasitée (MCH) présente un feuillet externe épaissi, des ondulations par endroits, et semble s'interrompre de place en place (ce dernier point peut représenter un artefact de coupe ou de fixation). La membrane externe de la grégarine (ME) est formée de deux feuillets denses, à plus fort grossissement le feuillet externe semble formé par des granules jointifs.

B - "Sac lobé antérieur" (Sa)

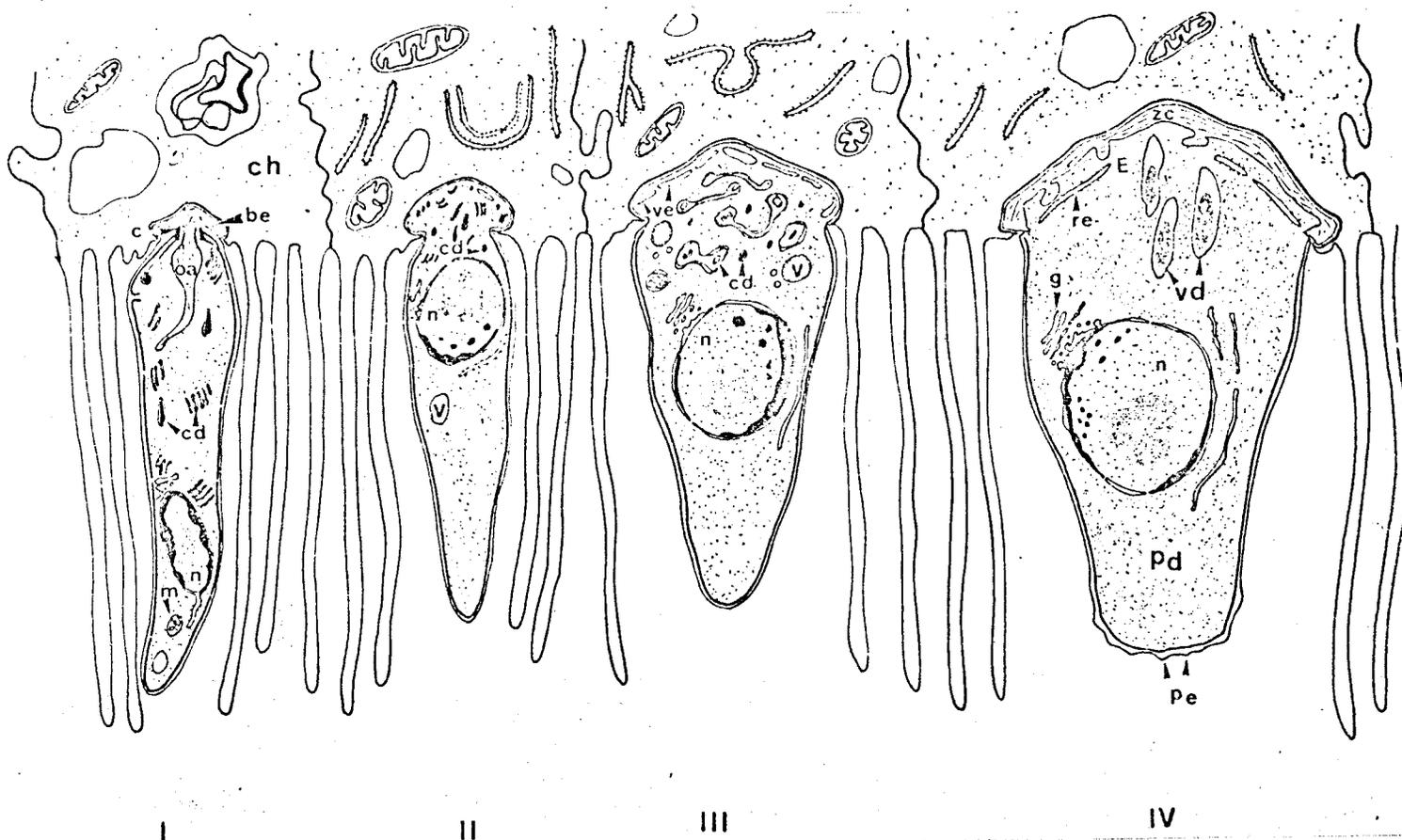
1) Critères favorables à une structure en forme de "Sac" dans la région antérieure

L'existence d'une troisième unité membranaire nous a incité à faire une synthèse (Fig. 9, 13, 15) des coupes longitudinales, transversales, et tangentielles obtenues au niveau de la région antérieure. Il est logique de penser que celle-ci limite dans la partie apicale une formation ayant l'aspect d'un sac aux contours plissés que nous avons essayé de représenter dans l'espace (Fig. 14) et que nous avons dénommé "Sac lobé antérieur".

Au microscope électronique à balayage (VINCKIER, 1973) observait chez Lecudina linei dont le mucron (Fig. 32) a été arraché au niveau du "bourelet annulaire" (Fig. 32 a) que cette zone a une structure alvéolaire du fait qu'elle est formée par une douzaine de lames anastomosées et qui convergent en une masse centrale. Nous pouvons faire une correspondance avec les images de coupes transversales que nous avons pu obtenir au niveau du mucron (Fig. 49) (et que nous avons schématisées sur la Fig. 13) ; celles-ci semblent également rayonnantes. SCHREVEL et VIVIER (1966) rapportent à propos de Lecudina pellucida "que les fibrilles de 60 à 70 Å viennent mourrir au contact d'un cytoplasme où nous rencontrons d'abondantes membranes qui forment des sortes de boyaux plus ou moins dilatés". Ces

membranes observées correspondent vraisemblablement à des sections longitudinales du contour plissé du "Sac lobé antérieur". Ce dernier est observé dans le stade jeune où il occupe l'axe du "conoïde", il prend par la suite une extension importante parallèle au développement du parasite.

Une structure qui nous semble être identique à la précédent est observée chez Gregarina blaberae (TRONCHIN, 1975, Fig. 15 b I).



I - fixation du sporozoïte à la cellule hôte

II - formation du bourgeon épiméritique

III - Développement de l'épimérite (désagrégation des corps denses et formation de la zone corticale)

IV - jeune céphalin (3 jours après l'infestation).

be, bourgeon épiméritique ; C, conoïde ; cd, corps denses ; ch, cellule hôte ; E, épimérite ; g, appareil de Golgi ; m, mitochondries ; n, noyau ; Pe, pils épicytaires ; Pd, proto-deutomérite ; re, réticulum endoplasmique ; v, vacuoles ; vd, vacuoles digestives ; ve, vésicules ; zc, zone corticale.

Fig. 15 bis : Représentation schématique des premiers stades du développement de Gregarina blaberae. d'après TRONCHIN, 1975.

Cet auteur l'a dénommée "organite antérieur" (oa). Cet organite occupe l'axe du "conoïde" et possède un contenu microfibrillaire, mais, contrairement

à ce que nous a vons observé il ne persiste pas, mais disparaît au cours du développement de l'épimérite.

L'auteur rapporte que le sporozoïte de Gregarina blaberae présente des caractéristiques qui sont communes à tous les germes infectieux des sporozoaires mais s'en distingue par la "présence d'une structure unique à contenu fibrillaire s'engorgeant dans le conoïde". Il serait intéressant d'étudier l'évolution des sporozoïtes de plusieurs espèces de grégarines à mucron et à épimérite pour essayer de retrouver s'il existe une structure similaire ; car jusqu'à présent les travaux qui traitent des germes infectieux des grégarines n'ont pas rapporté de formation analogue (DESPORTES et THEODORIDES, 1965 ; DESPORTES, 1969 ; SCHREVEL, 1969 ; ORMIERES, 1971 ; ORMIERES et coll., 1972 ; PRENSIER, 1970, 1971 ; SCHEFFIELD et coll., 1971 ; PORCHET-HENNERE et FISCHER, 1973).

Cependant on pourrait se demander si celle-ci ne dérive pas des structures dénommées "Rhoptries" décrites par de nombreux auteurs à l'apex des sporozoïtes dans tous les groupes de Sporozoaires. En effet, les Rhoptries forment de larges lobes de densité moyenne bordés par une membrane unitaire, nous obtenons un aspect semblable sur la figure 51. Le "Sac lobé antérieur" contient des éléments plus ou moins structurés c'est ce dont nous allons discuter dans ce qui suit.

2) Microfibrilles

Elles ont été signalées à plusieurs reprises chez les Grégarines à mucron du genre Lecudina : Lecudina pellucida (SCHREVEL et VIVIER, 1966), Lecudina tuzetae (SCHREVEL, 1969), et Lecudina linei (VINCKIER, 1973), le rôle qui leur est attribué jusqu'à présent est qu'elles interviennent dans la contractilité du mucron (SCHREVEL et VIVIER, 1966 ; HILDEBRAND, 1970, 1972).

Elles occupent la totalité du "Sac lobé antérieur" (Sa), dans le cas de Lecudina tuzetae. Cependant dans le pôle apical du "Sac" elles semblent reliées entre elles de telle sorte qu'elles forment un réseau. Il pourrait peut-être s'agir d'un système homologue au réseau hexagonal des "microtubules antérieurs" (mta) de la partie supérieure du "Sac" de Lecudina sp.

3) Microtubules antérieurs (mta)

Le fait qu'ils possèdent des bras latéraux, un diamètre moyen de 210 Å, pourrait les rapprocher des microtubules axonématiques qui mesurés chez les cils et flagelles de cellules très diverses ont un diamètre moyen de 210 Å : extrêmes 180 et 280 Å, (ROTH, 1956, 1958). De même les filaments primaires des muscles

striés (plus particulièrement ceux des Invertébrés) possèdent une structure tubulaire avec un épais cortex opaque aux électrons et un diamètre qui varie entre 120 et 250 Å (KAWAGUTI et coll., 1961 ; AUBER-THOMAY, 1964 ; BOULIGNAND, 1962 ; FARRANT et MERCER, 1952). Les éléments tubulaires sont couramment décrits chez les Protozoaires (voir revue POCHON-MASSON, 1967 ; FAURE-FREMIET, 1970). Chez les Grégarines de diverses espèces ce sont surtout les microtubules sous-pelliculaires et intracytoplasmiques qui sont observés. Ces éléments peuvent être isolés (VIVIER, 1968 ; VINCKIER, 1973). C'est ce que nous avons noté à propos de la zone corticale des espèces qui font l'objet de cette étude ; ils peuvent aussi présenter des travées intertubulaires qui réalisent la cohésion des microtubules (DESPORTES, 1969). Cependant il existe un cas particulier où chaque fibre tubulaire est entourée d'un halo clair de forme sensiblement hexagonale : c'est le cas des "myonèmes" périphériques de Selenidium hollandei (VIVIER et SCHREVEL, 1964).

Quoique des fibres tubulaires qui pénètrent dans le mucron aient été observées dans le cas de Selenidium (SCHREVEL, 1968), la couche microtubulaire (cmt) sous-jacente à la jonction que nous avons rencontrée ne semble pas avoir d'équivalent chez les espèces étudiées jusqu'à présent. Si certaines des formations tubulaires périphériques peuvent montrer des aspects plus ou moins structurés, aucune ne présente une organisation aussi élaborée. Une association membrane-microtubules a été mise en évidence récemment par DE SOUZA (1976) chez Trypanosoma cruzi, il est possible qu'il en soit de même entre la membrane limitante du "Sac lobé antérieur" et les microtubules (mta), ce qui signifierait que cette couche microtubulaire (cmt) parfaitement orientée, du fait de l'étendue de la zone de contact parasite-cellule hôte, dans le cas de Lecudina sp., pourrait avoir pour rôle de maintenir le pôle antérieur du "Sac" en extension : ils interviendraient alors comme cytosquelette ; ceci rejoint l'hypothèse avancée par SCHREVEL (1969) et confirmée par HILDEBRAND (1972) à propos des fibres tubulaires constituant les myonèmes de Selenidium hollandei.

Cependant nous savons que les mucrons des Lecudinidae fonctionnent comme des ventouses (BRASIL, 1909). Si l'on admet l'hypothèse que la contractilité du mucron est due aux paquets de microfibrilles (mf) qui y sont figurés (SCHREVEL et VIVIER, 1966), et que les microtubules antérieurs (mta) que nous avons observés aient la possibilité de se contracter longitudinalement, il pourrait alors y avoir un phénomène de succion qui augmenterait la vitesse de progression des

éléments nutritifs en provenance de la cellule parasitée par le biais d'une contraction simultanée des microtubules et microfibrilles sous-jacentes. Il conviendrait, bien évidemment, de démontrer ces hypothèses par des expériences de contractilité après extraction de ces microtubules.

L'anneau antérieur (AMt) formé de microtubules qui ceignent le "Sac" pourrait alors jouer un rôle de cytosquelette, en maintenant un espace où le "Sac" pourrait évoluer librement lors d'éventuels changements de volume.

C - Bague de jonction

Au niveau de la frontière entre la zone épicytaire antérieure et le mucron existe une formation que nous avons dénommée "bague de jonction". Celle-ci résulte de l'accolement de la membrane de la cellule-hôte (MCH) avec la membrane externe de la grégarine (ME), et de l'invagination de ces dernières dans le cytoplasme antérieur du parasite (Fig. 11).

Une structure analogue dénommée "bourrelet annulaire" est observée chez *Lecudina linei* (VINCKIER, 1973). De même les grégarines à épimérite présentent en général à la base de l'appareil de fixation une structure qui l'enserme et qui porte des appellations diverses : "anneau basal" (SCHREVEL et VIVIER, 1966), "bague de jonction" (DEVAUCHELLE, 1968), "lame annulaire" (LOUBES et coll., 1971), "anneau épiméritique" (HILDEBRAND, 1972 ; TRONCHIN, 1975), ou encore "bague basale épiméritique" (ORMIERES et DAUMAL, 1975).

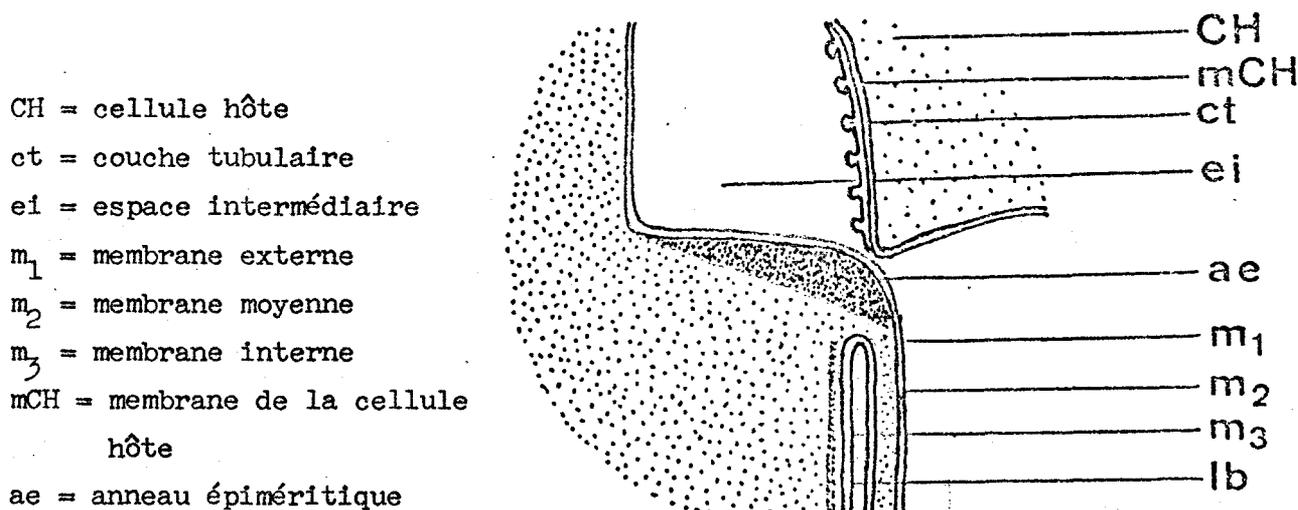


Fig. 7 : Structure de l'anneau épiméritique
 (d'après HILDEBRAND, 1972).

DESPORTES (1969) observe un épaississement fibrillaire à la base de l'épimérite et lui attribue un rôle de renforcement de la paroi au niveau de la zone de moindre résistance constituée par la discontinuité entre l'épicyte et la membrane externe bordant l'épimérite.

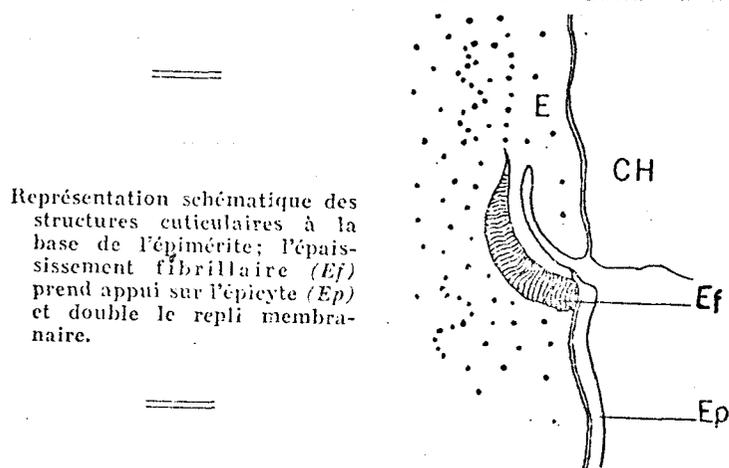


Fig. 8 : (d'après DESPORTES, 1969).

Une fonction similaire pourrait être invoquée à propos de la formation que nous observons chez notre espèce.

En effet, celle-ci forme une sorte de bourrelet qui protège la frontière entre la zone épicytaire antérieure et le mucron, mais il est vraisemblable que du fait de l'accolement des membranes à cet endroit, la conséquence principale de cet arrangement soit la consolidation de la fixation du parasite à la cellule intestinale. Il est d'autant plus logique de penser à un tel rôle que le parasite est soumis en permanence aux mouvements du contenu intestinal.

D - Aspects de la cellule parasitée

Les travaux consacrés à l'étude des Grégarines intestinales ont souvent rapporté, à propos des relations parasite-cellule hôte, des modifications morphologiques qui affectent cette dernière et qui sont dues vraisemblablement à l'action destructrice exercée par le parasite (présence d'un cytoplasme vacuolisé qui est habituellement considéré comme caractéristique de la dégénérescence, des figures de lyse, des filaments denses qui se prolongent dans la cellule, hypertrophie du noyau...). Le fait le plus remarquable c'est que tout autour de la jonction apparaissent dans la cellule des éléments fibrillaires et microtubulaires (DEVAUCHELLE, 1968 ; HILDEBRAND, 1972 ; TRONCHIN, 1975). Nos observations montrent de plus que

ces éléments peuvent être rassemblés de telle façon à former des zones denses (ZF). Le problème se pose de savoir l'origine de ces formations et leur rôle. Certaines de nos images (Fig. 43, 47, 73, 74) rappellent par certains aspects (zone fibrillaire, filaments cytoplasmiques qui traversent la cellule) la structure d'un hémidesmosome qui assure l'adhérence de l'épithélium à la lame basale sous-jacente (FARQUHAR et PALADE, 1965, Fig. 13). Il serait alors logique de penser à un rôle de maintien de la cohésion entre le parasite et la cellule, qui elle-même est soumise à cause du poids du parasite, à une traction mécanique vraisemblablement très importante. Le système fibrillaire est ici élaboré par la cellule hôte sous l'influence du parasite, et à ce propos on peut évoquer la notion de "complexe xénoparasitaire" introduite par CHATTON (1920), pour la Coccidie Globidium. Celle-ci en effet, induit dans la cellule qui l'abrite la formation d'une importante couche de microfibrilles de soutien, et une hypertrophie nucléaire (PORCHET-HENNERE, 1977).

A - Essai de caractérisation d'un espace intercellulaire

L'utilisation de substances opaques aux électrons pouvant être visualisées en microscopie électronique est une technique parmi d'autres qui permet de caractériser la nature d'une jonction.

C'est ainsi que les "gap junction" aussi bien chez les Vertébrés que chez les Invertébrés peuvent être infiltrées par divers traceurs : comme le Rouge de Ruthenium (GROS et al., 1975), l'hydroxyde de lanthane (voir revue de STAEHELIN, 1974).

Nous avons essayé de faire pénétrer des substances en l'occurrence le Nitrate de lanthane et le bleu alcian, dans la zone claire de 40 Å d'épaisseur que nous avons assimilé à un espace intercellulaire.

Nous n'avons pas obtenu de résultats satisfaisants avec le Nitrate de lanthane (Fig. 89) pour pouvoir tirer une conclusion valable. Il serait souhaitable dans l'avenir de rechercher une meilleure adaptation de cette technique. Par contre le Bleu alcian (Fig. 84, 85, 86, 87) donne des indications intéressantes.

En effet, il s'infiltré entre le parasite et les cellules épithéliales et se trouve bloqué au niveau de la jonction. De même on peut noter (Fig. 84) qu'il peut progresser légèrement dans l'espace séparant deux cellules intestinales voisines.

BROOKER et FULLER (1975) en traitant l'épithélium du jabot de poulet sur lequel se sont fixées des bactéries, avec le mélange nitrate de lanthane-bleu alcian observent l'absence de ces produits au niveau du contact des bactéries avec les cellules épithéliales.

Il est probable que dans le cas qui nous intéresse, l'accolement des membranes : de la cellule parasitée d'une part et la membrane externe de la grégarine de l'autre, au niveau de la frontière épicyte antérieur-mucron, empêche toute substance de passer. Cette zone d'accolement pourrait être ainsi assimilée à une jonction d'occlusion. Cette hypothèse est d'autant plus vraisemblable que la position de cet accolement entre les deux membranes correspond à celle qu'occupe une jonction d'occlusion c'est-à-dire du côté de la lumière intestinale. Son rôle serait alors identique puisque cette dernière constitue une barrière à la diffusion des ions et des molécules dans les espaces intercellulaires (FARQUHAR et PALADE, 1965), hypothèse qui rejoint les observations de FRIEND et GILJULA (1972 b) sur les jonctions intercellulaires.

B - Détection des glucides membranaires au niveau de la jonction

Nous avons appliqué la technique P.A.T.Ag (acide périodique-Thiocarbohydrazine-Protéinate d'argent selon THIERY) dans le but de détecter un éventuel revêtement glycoprotéique au niveau de la jonction. Les figures (90, 91) montrent nettement son absence, en effet on n'observe pas de marquage au niveau de l'espace intercellulaire.

Il semble en être de même dans le cas des jonctions "gap" des Vertébrés (RAMBOURG, 1969 ; GROS et al., 1975). Cependant le rouge de ruthenium s'infiltré dans les "nexus" ou "gap junction" du coeur de souris (GROS et al., 1975) de même des membranes hépatiques de rat isolées et traitées successivement par l'E.D.T.A. et le fer colloïdal (BENEDETTI et EMMELOT, 1968) montrent que les desmosomes et les jonctions "gap" "s'ouvrent" et présentent un marquage par le fer colloïdal. L'auteur en déduit que l'E.D.T.A. étant un agent chélatant aurait déplacé le Ca^{2+} qui liait le groupe Carboxyle de l'acide sialique avec d'autres groupes acides du matériel intercellulaire. SCHREVEL (communication personnelle) suppose que les "gap" pourraient être dépourvues de certaines chaînes glycaniques tout en conservant des sites amioniques.

DROCHMANS (cité par SCHREVEL communication personnelle) pense qu'il y a un remaniement des glycoconjugués lors de la différenciation de jonction des hépatocytes en culture (sur la base d'observations avec le Rouge de ruthénium : études en cours). Nous ne pouvons tirer de conclusion semblable à propos de nos jonctions grégarine-cellule hôte, tant qu'on n'aura pas mis en évidence l'existence de sites cationiques à leur niveau. Mais la pénétration d'un colorant cationique reste tributaire de la "bague de jonction" ou il y a accolement des membranes. L'idéal serait alors de rechercher un moyen pour décrocher le parasite de la cellule-hôte et pouvoir procéder à un marquage. Nous n'avons pu malheureusement observer sur nos coupes de grégarines naturellement détachées de leur cellule. Le revêtement cellulaire ou "cell coat" a une importance considérable dans les processus biologiques, il joue en particulier un rôle dans les échanges entre la cellule et son environnement. Son absence au niveau de la jonction pourrait signifier que ceux-ci, s'ils existent, sont directement transmembranaires et concernent des molécules de petite taille. Dans le cas de Nematocystis magna parasite de Lumbricus terrestris, MacMILLAN (1973) en utilisant le D-glucose- 6^3H démontre le passage du traceur à travers la jonction.

Ce résultat constitue une preuve directe de l'existence d'une absorption par le dispositif de fixation. Il vient appuyer les preuves indirectes que présentent les modifications morphologiques affectant la cellule parasitée rapportées par divers auteurs (SCHREVEL et VIVIER, 1966 ; WARNER, 1968 ; DEVAUCHELLE, 1968 ; MacMILLAN, 1969 ; HILDEBRAND, 1972).

Cependant il serait fort intéressant de voir par des techniques cytochimiques s'il existe une activité enzymatique à la surface de la membrane externe de la grégarine, auquel cas une digestion partielle se ferait alors au niveau de la jonction.

C - Corps denses

Dans la région antérieure des trophozoïtes (Fig. 96, 97) et dispersés dans le cytoplasmes (Fig. 94), se trouvent des formations entourées d'une membrane unitaire, que nous avons dénommées "corps denses", ceux-ci sont quelquefois en relation avec la paroi (Fig. 95, 97). En se basant sur leur opacité, leur taille, nous sommes amenés à distinguer trois sortes de corps denses (Fig. 94, 95) :

- cd_1 = corps denses avec un enchevêtrement de filaments ;
- cd_2 = corps denses à structure homogène ;
- cd_3 = corps denses de petite taille contenant un matériel plus opaque que les précédents.

Il est possible que les corps denses cd_2 puissent correspondre à des coupes tangentielles ou à un autre stade de développement des corps denses cd_1 . Il existe une grande confusion à propos de ces formations (voir revue PORCHET-HENNERE et VIVIER, 1971). Pour cela nous avons essayé de faire une distinction entre ces différentes sortes de corps denses.

Nous avons utilisé la technique P.A.T.Ag avec un passage sur le TCH de 24 heures.

Sur les figures (98, 99) on peut constater que les corps denses cd_1 (1) sont marqués spécifiquement, en effet les filaments sont de nature polysaccharidique.

Les corps denses cd_2 (2) à structure homogène montrent un léger marquage.

Ces résultats sont à rapprocher des images obtenues par SCHREVEL (1972, Planche VII, Fig. b). Les corps denses cd_3 (3) correspondent probablement à des inclusions polysaccharidiques.

L'action de la pronase montre (Fig. 101, 102, 103) une ligne blanche sous-jacente aux plis épicytaires. Celle-ci correspond à la lame basale qui a été digérée. De même on peut noter des plages claires qui correspondent à une attaque enzymatique. Il est possible puisqu'elles sont parfois plaquées contre la paroi de la grégarine (Fig. 102), qu'elles puissent correspondre aux corps denses

(cd₂), qui sont eux-mêmes en relation avec la paroi (Fig. 95, 97) ; ceci signifierait que ces derniers contiennent des protéines.

Pour les corps denses (cd₃) on remarque (Fig. 103) qu'ils sont intacts.

D - Conclusion

On pourrait donc conclure que les formations cd₁ et cd₂ pourraient renfermer un matériel glycoprotéique en effet, ils semblent à la fois réagir au P.A.T.Ag et digérés par la pronase. Par contre les cd₃ semblent correspondre à des inclusions polysaccharidiques.

Le fait que ces formations soient parfois en relation avec la paroi, pourrait signifier qu'ils contribuent à la constitution du revêtement cellulaire. Une relation entre les inclusions polysaccharidiques et le "cell coat" a été observée dans le cas de Gregarina blaberae (SCHREVEL, 1972).

CONCLUSION GENERALE

Bien que la région antérieure des grégarines à mucron du genre Lecudina ait été étudiée par de rares auteurs (SCHREVEL et VIVIER, 1966 ; SCHREVEL, 1969 ; VINCKIER, 1973), nous espérons apporter des précisions supplémentaires sur la structure fine et la cytochimie des zones de contact avec la cellule épithéliale.

L'étude du contact hôte-parasite dans le cas des deux grégarines Lecudina sp. et Lecudina tuzetae montre que cette zone a une structure complexe. Néanmoins malgré les particularités de chacun des parasites, cette région est schématiquement très comparable pour les deux espèces, ce qui permet de supposer que ce type de structure pourra être probablement retrouvé chez d'autres espèces à mucron du genre Lecudina.

Sur le plan morphologique nous avons pu observer que la membrane de la cellule parasitée n'est pas rompue mais simplement repoussée. Elle est séparée de la membrane externe de la grégarine par un espace clair qui correspondrait à un espace intercellulaire.

Au niveau de la frontière entre la zone épicytaire antérieure et le mucron, existe une formation que nous avons dénommée "bague de jonction". Celle-ci résulte de l'accolement de la membrane de la cellule-hôte avec la membrane externe de la Grégarine, et de l'invagination de ces dernières dans le cytoplasme antérieur du parasite, cette structure peut avoir comme rôle de consolider la fixation du parasite à la cellule-hôte.

La membrane externe de la Grégarine est doublée du côté cytoplasmique par celle d'une formation ayant l'aspect d'un "Sac" multilobé à contenu microfibrillaire que nous avons dénommé "Sac lobé antérieur".

Dans le cas de Lecudina sp. celui-ci est entouré d'un anneau de microtubules situé en dessous de la paroi, dans l'ectoplasme antérieur.

Il est tapissé dans sa partie apicale d'une rangée de microtubules reliés entre eux par des "bras" latéraux de façon à former un système hexagonal.

Chez Lecudina tuzetae des microfibrilles sont liées dans la partie supérieure du "sac" ce qui leur donne un aspect qui ne manque pas de rappeler le précédent.

Les microtubules antérieurs de Lecudina sp. arrivent perpendiculairement à la zone de jonction avec l'hôte. Il est probable qu'il y ait une association entre ces derniers et la membrane du "sac lobé antérieur". Deux hypothèses peuvent

être formulées quant au rôle qui peut leur être attribué.

- La zone de contact Grégarine/cellule-hôte dans le cas de Lecudina sp. est étendue, il est possible que cette couche microtubulaire parfaitement orientée ait pour rôle de maintenir le pôle antérieur du "sac" en extension, l'anneau qui ceinture ce dernier limiterait des pressions éventuelles qui pourraient provenir de l'extérieur.

Mais si l'on admet que le mucron fonctionne comme une ventouse (BRASIL, 1909), la couche microtubulaire doit donc avoir une certaine souplesse pour pouvoir suivre les mouvements du mucron.

Le passage de toute substance nutritive provenant de la cellule parasitée traverserait automatiquement cette couche microtubulaire, celle-ci aurait donc un rôle passif dans l'absorption.

- Si l'on admet la possibilité de contraction des microtubules antérieurs la couche (cmt) pourrait jouer un rôle actif dans l'absorption des substances, une contraction simultanée de celle-ci et des microfibrilles sous-jacentes augmenterait la vitesse de transit. L'anneau microtubulaire garderait son rôle de cytosquelette, en maintenant un espace où le "Sac" peut évoluer librement lors de ses changements de volume.

Sur le plan cytochimique l'absence de marquage au niveau de la jonction après la technique (Acide périodique-thiocarbohydrosulfate-protéinate d'argent) n'implique pas l'absence totale d'un revêtement cellulaire, mais celle de chaînes comportant des groupements vic-glycol ou α -amino-alcool libres.

La mise en évidence de sites anioniques par l'utilisation de colorants cationiques reste dépendante de la possibilité de leur pénétration au niveau de l'espace intercellulaire. L'accolement des membranes externes de la grégarine et celle de la cellule-hôte semble être le facteur limitant.

Le "cell coat" a une importance considérable dans les processus biologiques, il joue en particulier un rôle dans les échanges entre la cellule et son environnement son absence au niveau de la jonction pourrait impliquer que ceux-ci sont directement transmembranaires et concernent des molécules de petite taille.

Il pourrait y avoir dans un premier temps émission d'enzymes par le parasite, les substances dissoutes passant dans l'espace intercellulaire qui correspondrait à une zone de transit. La cellule parasitée montre d'ailleurs un grand nombre de vacuoles que l'on pourrait assimiler à des vacuoles résiduelles

ainsi que des figures de lyse, mais il serait souhaitable dans l'avenir de rechercher une éventuelle activité enzymatique au niveau de la membrane externe du parasite.

Les modifications morphologiques observées indiquent qu'il y a probablement une action directe par l'intermédiaire du mucron. La zone fibrillaire et les longs filaments qui traversent la cellule parasitée sont une différenciation très spectaculaire, permettant à la cellule de supporter le "poids" du parasite. Il serait intéressant d'en connaître l'origine et la nature.

Si l'on considère les types de jonctions connues qui interviennent dans la cohésion entre cellules tels les desmosomes ou hémidesmosomes on remarque qu'il y a une analogie avec nos jonctions au moins en ce qui concerne ces éléments fibrillaires.

Nous pouvons donc conclure que cette jonction a une structure complexe, d'abord du fait de la présence de trois unités membranaires, la première appartenant à la cellule parasitée, les deux autres à la grégarine ; ensuite en raison de la présence dans la cellule-hôte d'une zone fibrillaire coiffant la jonction et qui rappelle l'aspect d'un desmosome ; le troisième point est l'existence de microtubules et de microfibrilles du côté de la grégarine. Nous ne pouvons donc pas la classer dans une catégorie de jonction parmi celles qui sont actuellement bien définies.

Quant aux rôles qu'on peut lui attribuer, d'une part elle intervient dans la cohésion entre le parasite et la cellule-hôte, d'autre part elle paraît avoir un rôle physiologique indispensable pour la croissance du parasite.

AUBER-THOMAY M., 1964. - Structures et innervation des cellules musculaires de Nématodes.

J. Microscopie, 3, 105-109.

BAUDOIN J., 1969. - Sur l'ultrastructure de la région antérieure de la Grégarine Ancyrophora puytoraci B.

Protistologica, 5, 431-439.

BEAMS H. W., TAHMISIAN T. N., DEVINE R. L. and ANDERSON E., 1959. - Studies on fine structure of Gregarine parasitic in the gut of the Grasshoper, Melanoplus differentialis.

J. Protozool., 6, 136-146.

BEHNKE A. et ZELANDERT T., 1970. - Preservation of intracellular substances by the cationic Dye Alcian Blue in preparative procedures, for, Electron Microscopy.

J. Ultrastructure Res., 31, 424-438.

BENEDETTI E. L. and EMMELOT P., 1968. - Structure and function of plasma membranes isolated from liver.

Ultrastructure in Biological systems, 4, 33-112.

BOULIGAND Y., 1962. - Les ultrastructures du muscle strié et de ses attaches au squelette chez les Cyclops (Crustacés Copépodes).

J. Microscopie, 1, 377-394.

BRASIL L., 1907. - Recherche sur le cycle évolutif des Selenidiidae, Grégarines parasites d'Annélides Polychètes I. La schizogonie et la croissance des gamétocystes chez Selenidium caulleryi n. sp.

Arch. f. Protistenk., 8, 370-397.

BRASIL L., 1909. - Documents sur quelques Sporozoaires d'Annélides.

Arch. f. Protistenk., 16, 107-142.

BROOKER B. E. and FULLER R., 1975. - Adhesion of Lactobacilli to the Chicken crop epithelium.

J. Ultrastruct. Res., 52, 21-31.

- CHATTON E., 1920. - Sur un complexe xénoparasitaire morphologique et physiologique.
C. R. Acad. Sci. Paris, 171, 55-57.
- CLEVELAND L. R. et GRIMSTONE A. V., 1964. - The fine structure of the flagellate Mixotricha paradoxa and its associated microorganisms.
Proc. Roy. Soc., 3, 159, 668-686.
- De SOUZA W., 1976. - Associations membrane-microtubules chez Trypanosoma cruzi.
J. Microscopie et Biologie cellulaire, 25, n° 2, 189-190.
- DESPORTES I., 1966. - L'ultrastructure de la jonction entre le primate et le satellite des associations de Gregarina blattarum (Eugrégarines "Gregarinidae").
C. R. Acad. Sc., 262, 1869-1870.
- DESPORTES I., 1969. - Ultrastructure et développement des Grégarines du genre Stylocephalus.
Annales de Sciences Naturelles, Zoologie, Paris, 12e série, XI, 31-96.
- DESPORTES I. et THEODORIDES J., 1965. - L'ultrastructure de la gymnosporie des "Porospora (Eugregarina, Porosporidae)".
C. R. Acad. Sci. Paris, 260, 1761-1762.
- DEVAUCHELLE G., 1968. - Etude de l'ultrastructure de Gregarina polymorpha (Hamm) en syzygie.
J. Protozool., 15, 629-636.
- DEVAUCHELLE G., 1968. - Etude ultrastructurale du développement des Grégarines du Tenebrio molitor L.
Protistologica, IV, 3, 313-332.
- DEVAUCHELLE G., 1968. - Contribution à l'étude du développement de quelques Grégarines tricystidées.
Thèse Faculté des Sciences de Lille.
- FAIN-MAUREL M. A. et CASSIER P., 1971. - Différenciation cytoplasmique en relation avec la fonction excrétrice dans les reins céphaliques de Petrobius maritimus Leach (Insecte, Aptérygote).
J. Microscopie, 10, 2, 163-178.

FARQUHAR M. G. and PALADE G. E., 1965. - Cell junctions in amphibian skin.
J. Cell Biol., 26, 263-291.

FARRANT J. L. et MERCER E. H., 1952. - Studies on the muscle. II. Arthropod muscles.
Exp. Cell Res., 3, 553-563.

FAURE-FREMIET E., 1970. - Microtubules et mécanismes morphopoiétiques.
Ann. Biol., IX, 1-2, 1-61.

FLOWER N. E. and FILSHIE B. K., 1975. - Junctional structures in the midgut cell of Leptidopteran caterpillars.
J. Cell Sci., 17, 221-239.

FRIEND D. S. and GIULIA N. B., 1972 b. - Variations in tight and gap junctions in mammalian tissues.
J. Cell Biol., 53, 758.

GIULIA N. B., 1974. - Junctions between cells in : Cell communication.
Edit. by COX R. P. John Wiley and Sons, 1-29.

GRASSE P. P., 1953. - PROTOZOAIRES : Rhizopodes, Actionopodes, Sporozoaires, Cnidosporidies.
Traité de Zoologie, Tome I, Fascicule II, 628.

GRASSE P. P., 1956. - L'ultrastructure de Pyrsonympha vertens (Zooflagellata Pyrsonymphina). Les flagelles et leur coceptation avec le corps, l'axostyle contractile, le paraxostyle, le cytoplasme.
Arch. Biol. Paris, 67, 595-611.

GRASSE P. P. et THEODORIDES J., 1959. - Recherches sur l'ultrastructure de quelques grégarines.
Ann. Sci. Nat. Zool., 12e série, 1, 237-252.

GROS D., MOCQUARD J. P., CHALLICE C. E. et SCHREVEL J., 1975. - Evolution de la surface des cellules myocardiques de la souris au cours de l'ontogenèse.
I - Etude cytochimique des Glucides.
J. Microscopie et Biol. cell., 23, 3, 249-270.

HAND A. R. and GOBEL S., 1972. - The structural organization of the septate and gap junctions of Hydra.

J. Cell Biol., 52, 397-408.

HILDEBRAND H. F., 1970. - Contribution à l'étude des mouvements de quelques grégarines parasites d'Annélides polychètes.

D. E. A., Lille I.

HILDEBRAND H. F., 1972. - Contribution à l'étude de l'ultrastructure et du mécanisme de la contraction de la Grégarine Didymophyes gigantea Stein, parasite intestinal de la larve du Scarabeide Oryctes nasicornis L.

Thèse Faculté des Sciences de Lille.

JOYON L. et MIGNOT J. P., 1969. - Données récentes sur la structure de la cinétide chez les Protozoaires Flagellés.

Année Biologique, 8, 1-52.

KAWAGUTI S., IKEMOTO N. et MATSUMOTO Y., 1961. - Electron microscopic study on the gut muscle of the cray-fish.

Biol. J. Okoyama Univ., 7, 43-51.

LEGER L., 1892. - Recherches sur les grégarines.

Tabl. Zool., 3, 1-183.

LEGER L. et DUBOSCQ O., 1902. - Les grégarines de l'épithélium intestinal chez les trachéates.

Arch. Parasit., 6, 377-472.

LEGER L. et DUBOSCQ O., 1904. - Nouvelles recherches sur les grégarines et l'épithélium intestinal des Trachéates.

Arch. f. Protistenk., 4, 335-383.

LOUBES C. et BOUIX G., 1970. - Recherches cytologiques et cytochimiques sur le genre Diplocystis Kunstler 1892 (Eugregarina Diplocystidae).

Bull. Soc. Zool. Fr., 95, n° 4, 837-846.

LOUBES Cl., ORMIERES R. et BOUIX G., 1971. - Gregarina embiae n. sp. parasite des Embioptères Monotylota ramburi Rimsky Korsakov 1905 et Haploembia solieri Rambur 1842. A : cycle biologique. B : ultrastructure du Céphalin. Extr. Bull. Soc. Zool. de France, 96 (4), 519-530.

Mac MILLAN W. G., 1969. - Pathogenesis and birefringence in a eugregarine parasitised epithelial cell. Proceedings of the 3rd International Congress of Protozoology, Leningrad 1969, 341.

Mac MILLAN W. G., 1973. - Gregarine attachment organelles - structure and permeability of an interspecific cell junction. Parasitology, 66, 207-214.

MIGNOT J. P., 1966. - Structure et ultrastructure de quelques Euglenomonadines. Protistologica, 2, 51-117.

NELSON T. C. and SMITH J. A., 1926. - Multiple association in Gregarina polymorpha. J. Parasitol., 12, 47-51.

NOIROT Ch. et NOIROT-THIMOTHEE C., 1967. - Un nouveau type de jonction intercellulaire (zonula continua) dans l'intestin moyen des Insectes. C. R. Acad. Sc., 264 D, 2796-2798.

NOIROT-THIMOTHEE C. et NOIROT Ch., 1973. - Jonctions et contacts intercellulaires chez les Insectes. I. Les jonctions septées. J. Microscopie, 17, 169-184.

NOIROT Ch. et NOIROT-THIMOTHEE C., 1974 a. - Jonctions septées et jonctions continues chez les insectes. Etude après imprégnation par le lanthane et par cryofracture. 8th Int. Cong. Elect. Micr. Canberra, II, 228-229.

ORMIERES R., 1971. - Une grégarine paradoxale, Gigaductus anchi Tuz. Orm. 1966 : ultrastructure de la schizogonie et position systématique des Gigaductidae Filipponi 1948. Protistologica, VII, (2), 261-271.

ORMIERES R. et DAUMAL J., 1970. - Etude ultrastructurale de la partie antérieure d'Epicavus araeoceri Ormières et Daumal, Eugrégarine parasite du Coléoptère Anthribiidae araeocerus fasciculatus de Gerr. Protistologica, VI (1), 97-111.

ORMIERES R. et DAUMAL J., 1975. - Ultrastructure de la partie antérieure de Pyxinia anobii Vincent 1922, Eugrégarine parasite du Coléoptère Anobiidae, Stegobium paniceum L. Extrait des annales de la Station Biologique de Besse-en-Chandesse, 9, 157-175.

ORMIERES R., LOUIS C. et RUHL G., 1972. - La schizogonie de première génération chez Mattesia oryzaephili Ormières, Louis et Ruhl (Sporozoa, Neogregarinida). Etude ultrastructurale. Protistologica, VIII, (3), 287-294.

ORMIERES R. et MARQUES A., 1976. - Fixation à leurs hôtes de quelques Dactylophoridae, Eugrégarines parasites de Myriapodes Chilopodes. Etude ultrastructurale. Protistologica, XII, 3, 415-424.

PITELKA D. R., 1963. - Electron microscopic structure of Protozoa. Intern. Ser. of Monographs on pure and applied Biol., Pergamon Press, 86.

POCHON-MASSON J., 1967. - Structure et fonctions des infrastructures cellulaires dénommées "Microtubules". Ann. Biol., VI, 7-8, 361-390.

PORCHET-HENNERE E., 1967. - Les premiers stades de développement de la Coccidie Coelotropha durchoni. Zeit. f. Zellforsch., 80, 556-569.

PORCHET-HENNERE E., 1977. - Etude ultrastructurale de la schizogonie chez la Coccidie Globidium gilruthi. Protistologica, XIII, 1 (sous presse).

PORCHET-HENNERE E. et FISCHER A., 1973. - Diplauxis schreveli, n. sp., grégarine parasite du coelome de l'annélide polychète Platynereis dumerilii : cycle et étude ultrastructurale préliminaire. Protistologica, Fr, 9, 4, 437-454.

PORCHET-HENNERE E. et VIVIER E., 1971. - Ultrastructure comparée des germes infectieux (sporozoïtes, mérozoïtes, schizozoïtes, endozoïtes, etc...) chez les Sporozoaires.

Ann. Biol., X, 1-2, 78-111.

PRENSIER G., 1970. - Premières observations ultrastructurales sur la formation des sporozoïtes à partir du sporoblaste chez Diplauxis hatti.

C. R. Acad. Sci. Paris, 270, 100-103.

PRENSIER G., 1971. - Contribution à l'étude ultrastructurale des différents stades du cycle de Diplauxis hatti (Grégarine monocystidée) parasite de Perinereis cultrifera Grube.

Thèse de 3ème cycle, Faculté des Sciences de Lille.

RAMBOURG A., 1969. - Localisation ultrastructurale et nature du matériel coloré au niveau de la surface cellulaire par le mélange chronique phosphotungstique.

J. Microscopie, 8, 325-342.

REVEL J.P. et KARNOVSKY M. J., 1967. - Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver.

J. Cell Biol., 33, C 7.

REYNOLDS E. S., 1963. - The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain for electron microscopy.

J. Cell Biol., 17, 208.

ROTH L. E., 1956. - Aspects of ciliary fine structure in Euplotes patella.

J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 235-242.

ROTH L. E., 1958. - A filamentous component of protozoan fibrillar systems.

J. Ultrastruct. Res., 1, 223-234.

ROTH L. E., 1958. - Ciliary coordination in the protozoa.

Exptl. Cell Res., 5, 573-585.

RYLEY J. F., BENTLEY M., MANNERS D. J. et STARK J. R., 1969. - Amylopectin, the storage polysaccharide of the Coccidia Eimeria brunetti and E. tenella.

J. Parasitol., 55, 839-845.

SATIR P. et GILULA N. B., 1973. - The fine structure of membrane and intercellular communication in Insects.

Ann. Rev. Entomol., 18, 143-161.

SCHOLTYSECK E., VOLKMANN B. et HAMMOND D. M., 1966. - Spezifische Feinstrukturen bei Parasit und Wirt als Ausdruck Ihrer Wechselwirkungen am Beispiel von Coccidien.

Z. Parasitenk., 28, 78-94.

SCHREVEL J., 1968. - L'ultrastructure de la région antérieure de la Grégarine Selenidium et son intérêt pour l'étude de la nutrition chez les Sporozoaires. J. Microscopie, 7, 3, 391-410.

SCHREVEL J., 1969. - Biologie, Cytologie, Physiologie des grégarines parasites d'Annélides polychètes.

Thèse Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles, Lille I.

SCHREVEL J., 1970. - Recherches ultrastructurales et cytochimiques sur le paraglycogène, réserve glucidique des Grégarines et Coccidies.

J. Microscopie, 9, 593-610.

SCHREVEL J., 1971. - Observations biologiques et ultrastructurales sur les Selenidiidae et leurs conséquences sur la systématique des Gregarinomorphes.

J. Protozool., 18 (3), 448-470.

SCHREVEL J., 1971. - Contribution à l'étude des Selenidiidae parasites d'Annélides polychètes. II - Ultrastructure de quelques trophozoïtes.

Protistologica, VII, 1, 101-130.

SCHREVEL J., 1972. - Les polysaccharides associés à la surface cellulaire des grégarines (Protozoaires parasites). I - Ultrastructure et cytochimie.

J. Microscopie, 15, 1, 21-40.

SCHREVEL J. et VIVIER E., 1966. - Etude de l'ultrastructure et du rôle de la région antérieure (Mucron et épimérite) de Grégarines parasites d'Annélides polychètes.

Protistologica, II, 3, 17-28.

SHEFFIELD H. G., GARNHAM P. C. C. and SHIROISHI T., 1971. - The fine structure of the sporozoïte of Lankesteria culicis.

J. Protozool., 18, 98-105.

STAEHELIN L. A., 1974. - Structure and function of intercellular junctions.
Int. Rev. Cyt., 39, 191.

THIERY J. P., 1967. - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique.
J. Microscopie, 6, 987-1018.

TRONCHIN G., 1975. - Croissance et développement du Sporozoaire Gregarina blaberae parasite de l'insecte Dictyoptere Blaberus crantifer.
Thèse de 3ème cycle, Université de Poitiers.

TUZET O. et GALANGAU V., 1968. - Ultrastructure des rhizoïdes de la Grégarine Grebnickiella gracilis Bhatia (Pterocephalus nobilis Schneider - Nina gracilis Grebnicki).
C. R. Acad. Sc., 266, 1401-1402.

USSING H. H. and WINDHAGER E. E., 1964. - Active sodium transport at the cellular level in water and electrolyte metabolism.
II West. European Symp. Clin. Chem., 3, 3-14.

VINCKIER D., 1969. - Organisation ultrastructurale corticale de quelques Monocystidées parasites du ver oligochète Lumbricus terrestris L.
Protistologica, V, 4, 505-517.

VINCKIER D., 1973. - Etude des cycles et de l'ultrastructure de Lecudina linei n. sp. (Grégarine parasite de Nemerte) et de son parasite, la Microsporidie Nosema vivieri (V. D. et P.).
Thèse 3ème cycle, Lille I.

VINCKIER D. et VIVIER E., 1968. - Organisation ultrastructurale corticale de la grégarine Monocystis herculea.
C. R. Acad. Sc. Paris, 266, 1737-1739.

VIVIER E., 1967. - Observations ultrastructurales sur l'enveloppe nucléaire et ses "pores" chez les Sporozoaires.
J. Microscopie, 6, 3, 371-390.

VIVIER E., 1968. - L'organisation ultrastructurale corticale de la Grégarine Lecudina pellucida ; ses rapports avec l'alimentation et la locomotion.
J. Protozool., 15 (2), 230-246.

VIVIER E., DEVAUCHELLE G., PETITPREZ A., PORCHET-HENNERE E., PRENSIER G., SCHREVEL J. et VINCKIER D., 1970. - Observations de cytologie comparée chez les Sporozoaires. I - Les structures superficielles chez les formes végétatives.

Protistologica, VI, 127-150.

VIVIER E., HENNERE E. et SCHREVEL J., 1965. - Etude de quelques caractères ultrastructuraux communs à diverses Grégarines et Coccidies.

2nd Int. Conf. Protozool. London, Research. in Protozoology Excerpta Medica Congr., série n° 91, 151-152.

VIVIER E. et PETITPREZ A., 1969. - Observations ultrastructurales sur l'Hématozoaire Anthemiosoma garnhami et examen de critères morphologiques utilisables pour la taxonomie chez les Sporozoaires.

Protistologica, V, 3, 363-379.

VIVIER E. et SCHREVEL J., 1964. - Etude, au microscope électronique, d'une grégarine du genre Selenidium, parasite de Sabellaria alveolata L.

J. Microscopie, 3, 651-670.

WARNER F. D., 1968. - The fine structure of Rhynchocystis pilosa (Sporozoa, Eugregarinida).

J. Protozool., 15 (1), 59-73.

VUE D'ENSEMBLE (Lecudina Sp.)

Fig. 16 - Jeune trophozoïte fixé à l'épithélium intestinal. (x 1200)

Fig. 17 - On distingue : l'ectoplasme, l'endoplasme qui comprend deux zones : l'une périphérique dense, l'autre, centrale claire et le Noyau. (x 940)

Fig. 18 - 19 - 21 - On peut noter une hypertrophie du noyau de la cellule hôte.

Fig. 18 :(x 1200); Fig. 19 :(x 1200); Fig. 21 :(x 1200)

Fig. 20 - Existence d'une zone plissée sous jacente à la jonction. De même la petite flèche indique la présence d'une formation qui s'invagine dans le mucron. (x 1200)



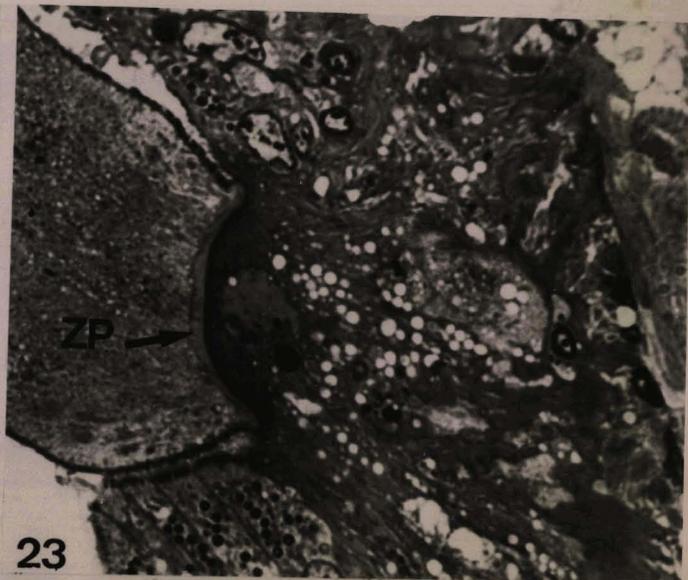
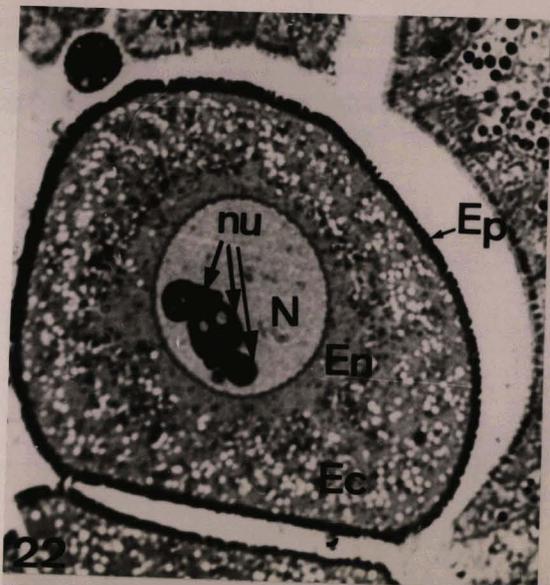
TROPHOZOITE DE LECUDINA Sp.

Fig. 22 - Une coupe transversale au niveau du noyau montre que celui-ci peut contenir plusieurs nucléoles qui possèdent une structure alvéolaire. (x 1200)

Fig. 23 - 25 : La zone plissée (ZP) semble encadrer la petite invagination qui se fait dans le mucron (flèche).

Fig. 23 : (x 1200) ; Fig. 25 : (x 1200)

Fig. 24 - On note la présence de filaments denses qui parcourent le cytoplasme de la cellule parasitée. (x 1200)

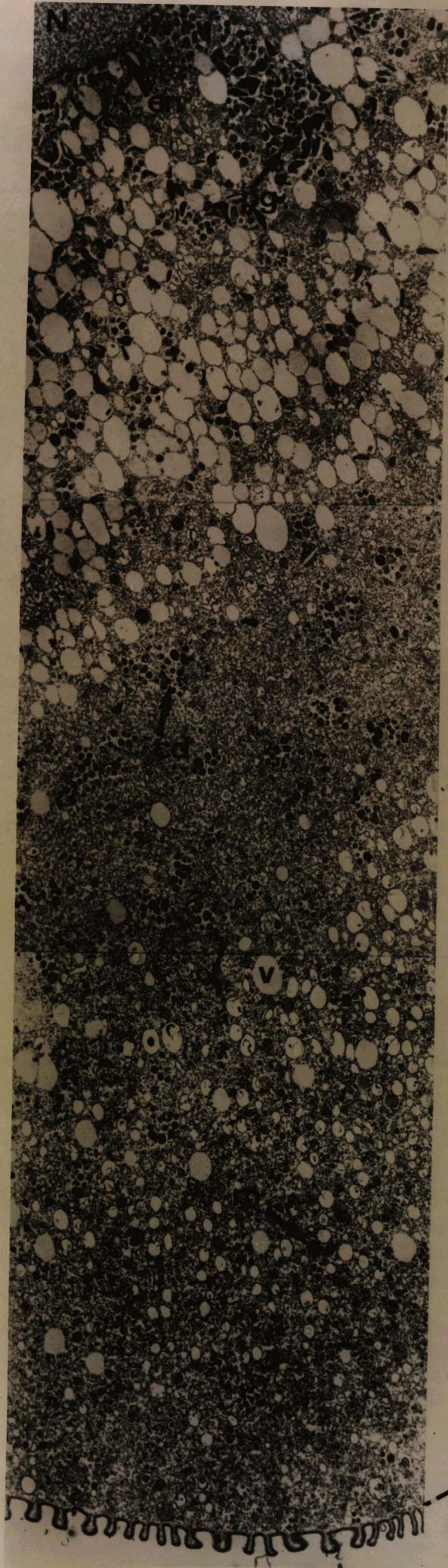


COUPE TRANSVERSALE D'UN TROPHOZOITE
DE LECUDINA Sp.

Fig. 26 - De l'extérieur vers l'intérieur on distingue :

- L'épicyte ou zone des plis
- L'ectoplasme
- L'endoplasme comprenant deux zones :
 - la première vacuolisée
 - la deuxième riche en corps denses

(x 18000)



1 - zone
vacuolisée

1 et 2 :

Endoplasme

2 - zone
à corps denses

Ectoplasme

Epicyte
(paroi plissée)



THE UNIVERSITY OF TORONTO LIBRARY
A LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF TORONTO
(UNIVERSITY LIBRARY)

1950 - 1951
The University of Toronto Library
128 St. George Street, Toronto, Ontario
M5S 1A5
(416) 978-2800

VUE D'ENSEMBLE DU TROPHOZOITE FIXE
A L'EPITHELIUM INTESTINAL
(LECUDINA Sp.)

Fig. 27 - Une série de coupes semi-fines montre l'existence de filaments denses (F) qui se prolongent jusqu'à la basale (B) (flèches). Ceux-ci apparaissent sur la première coupe (a) et disparaissent sur la dernière (e).
(x 1200)





Fig 27



The first part of the report is devoted to a description of the experimental apparatus and the method of measurement.

The second part of the report is devoted to a description of the results of the measurements and a comparison with the theoretical predictions.

The third part of the report is devoted to a discussion of the results and a comparison with the theoretical predictions.

The fourth part of the report is devoted to a discussion of the results and a comparison with the theoretical predictions.

The fifth part of the report is devoted to a discussion of the results and a comparison with the theoretical predictions.

The sixth part of the report is devoted to a discussion of the results and a comparison with the theoretical predictions.

LECUDINA Sp.

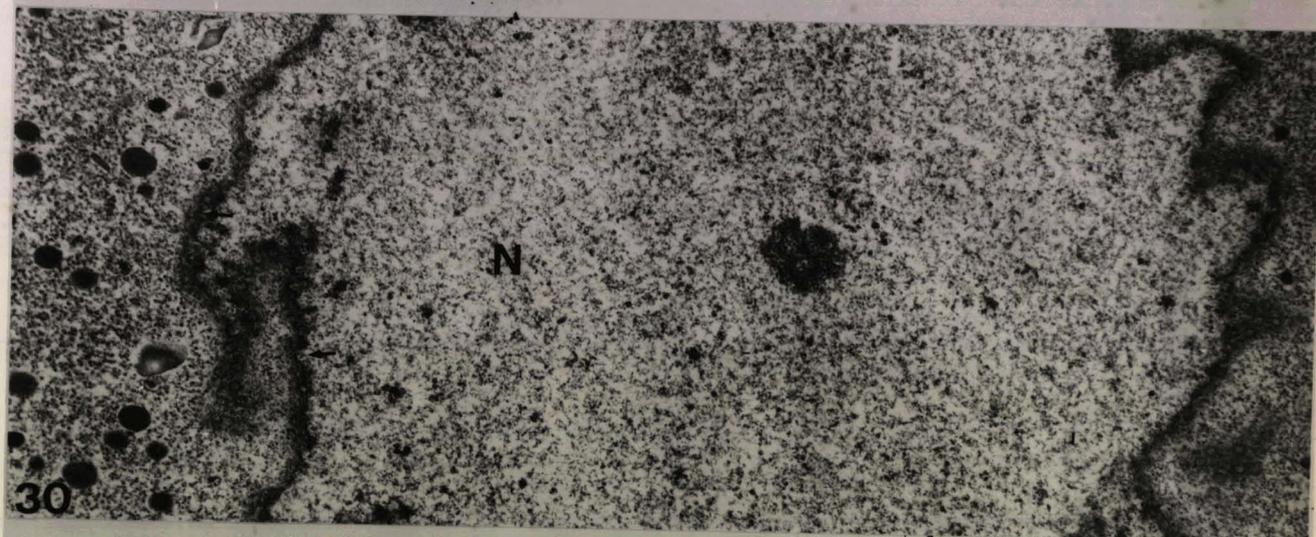
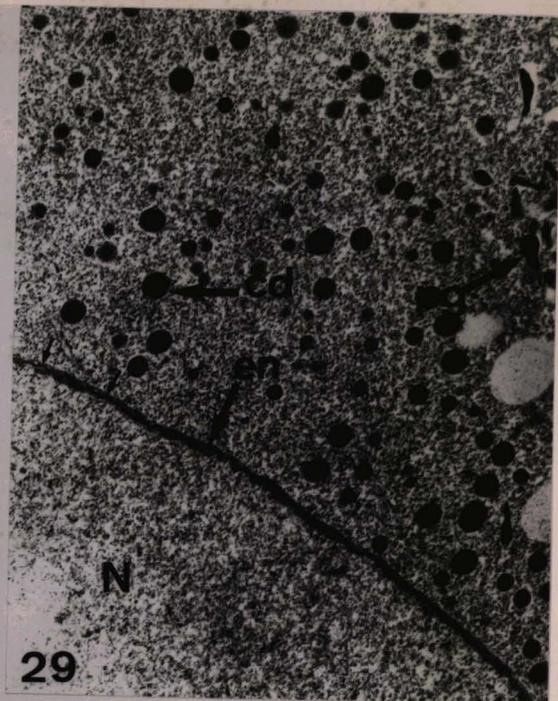
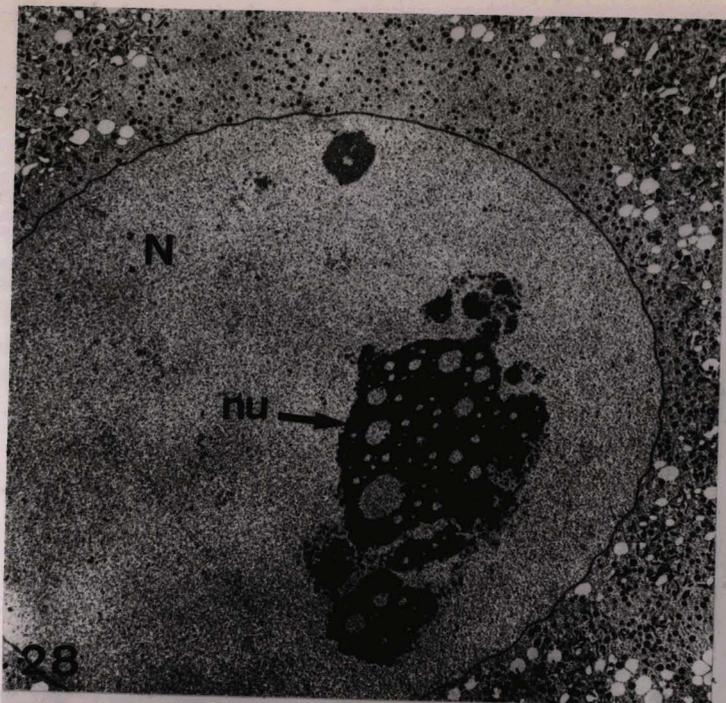
Fig. 28 - En microscopie électronique l'aspect alvéolaire du nucléole est nettement mis en évidence. (x 5000)

Fig. 29 - L'enveloppe nucléaire (e n) présente la structure classique, formée de deux unités membranaires percées de pores (petites flèches). (x 20 000)

Fig. 30 - Noyau en coupe tangentielle montrant les pores nucléaires (petites flèches). (x 35 000)

Fig. 31 - Au sommet des plis on distingue les "arceaux apicaux" (pointes de flèches), la lame basale (LB). Au fond des sillons on remarque les micropores (mp). Dans l'ectoplasme périphérique existent des microtubules (mts), des lipides (L), des corps denses (cd) ainsi que des vésicules à membranes emboîtées (vm). mts : microtubules sous-pelliculaires. (x 25 000)



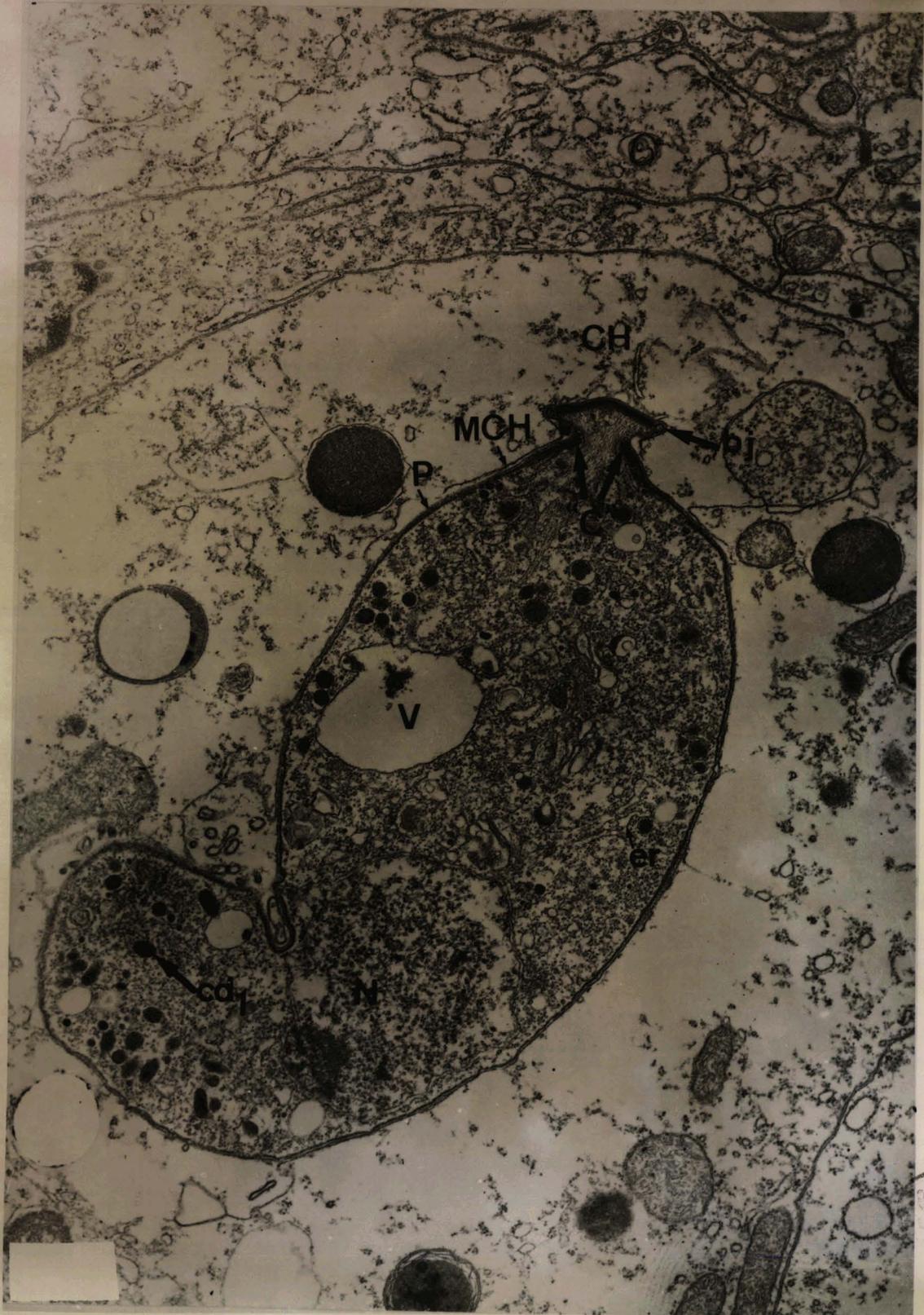


ULTRASTRUCTURE D'UN JEUNE TROPHOZOITE
(LECUDINA Sp.)

Fig. 32 - Aspect du mucron de Lecudina linei en microscopie électronique à balayage. (x 2000)
(Cliché D. VINCKIER)

Fig. 32 a - Mucron de Lecudina linei qui s'est arraché, notez l'aspect alvéolaire de cette zone. (x 2000)
(Cliché D. VINCKIER)

Fig. 32 b - Stade intracellulaire de Lecudina sp. où l'individu est fixé par un mucron. Noter l'absence de plis, la présence d'un conoïde "C" en regression, et une formation qui ceinture le mucron, dénommée "bague de jonction" (bj). (x 17 700)



TROPHOZOITE JEUNE

(LECUDINA Sp.)

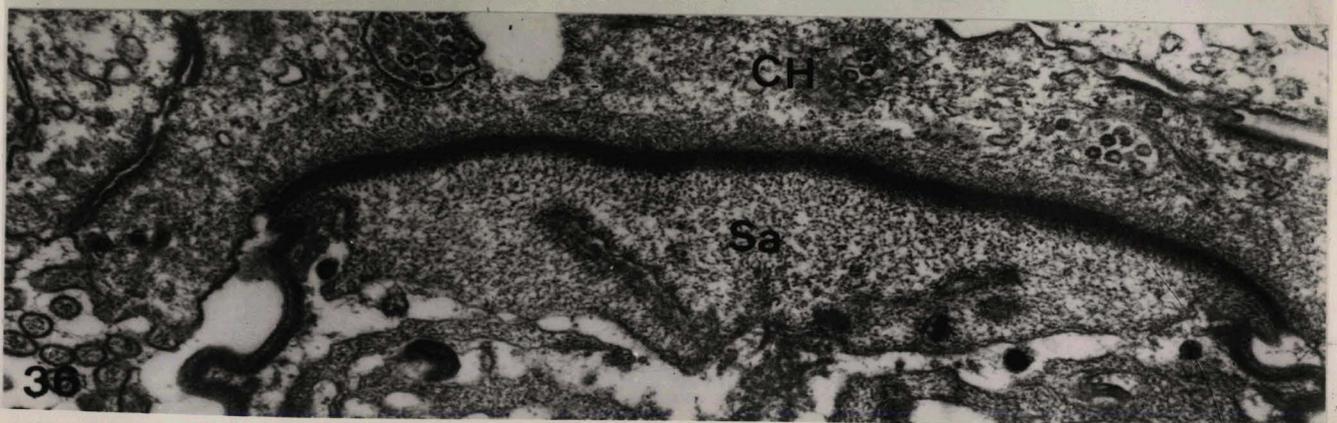
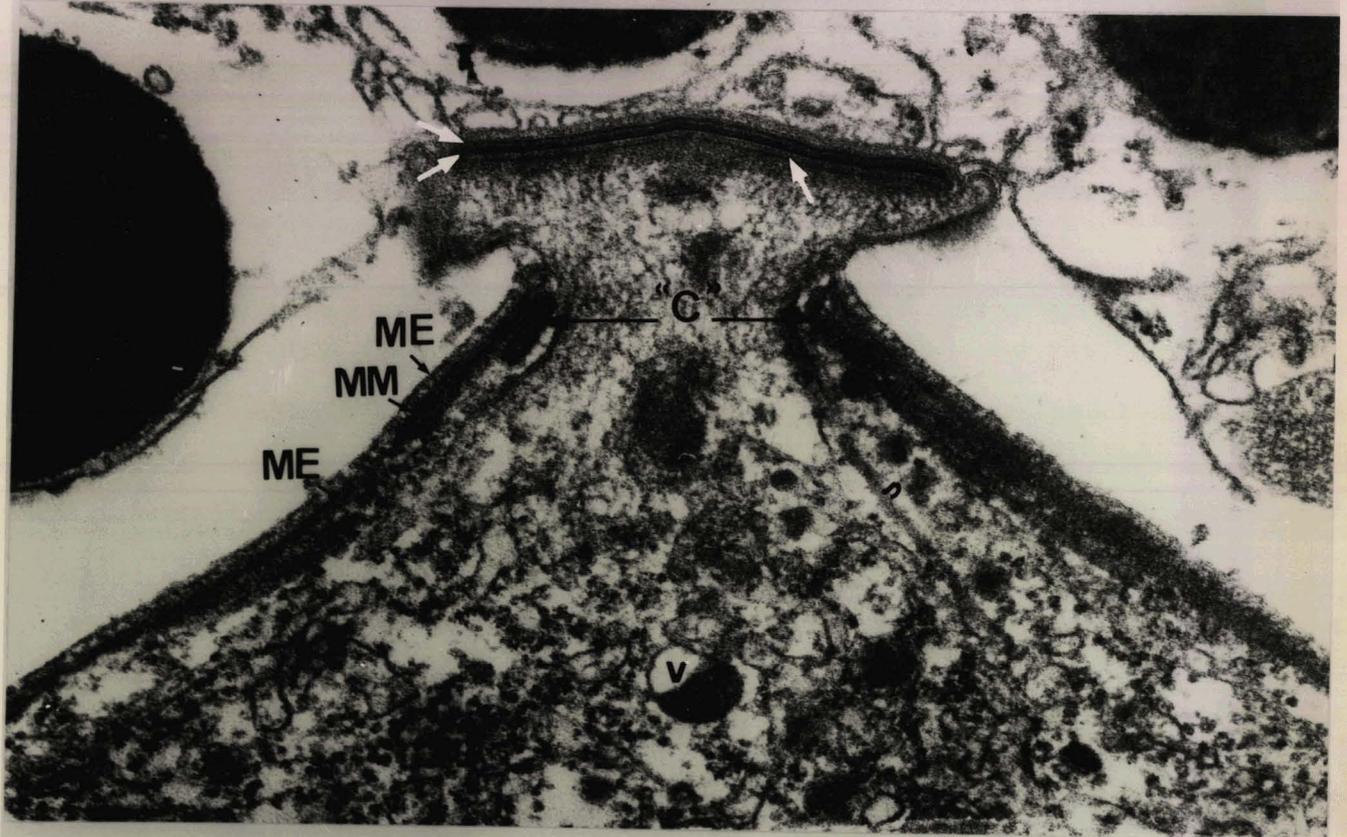
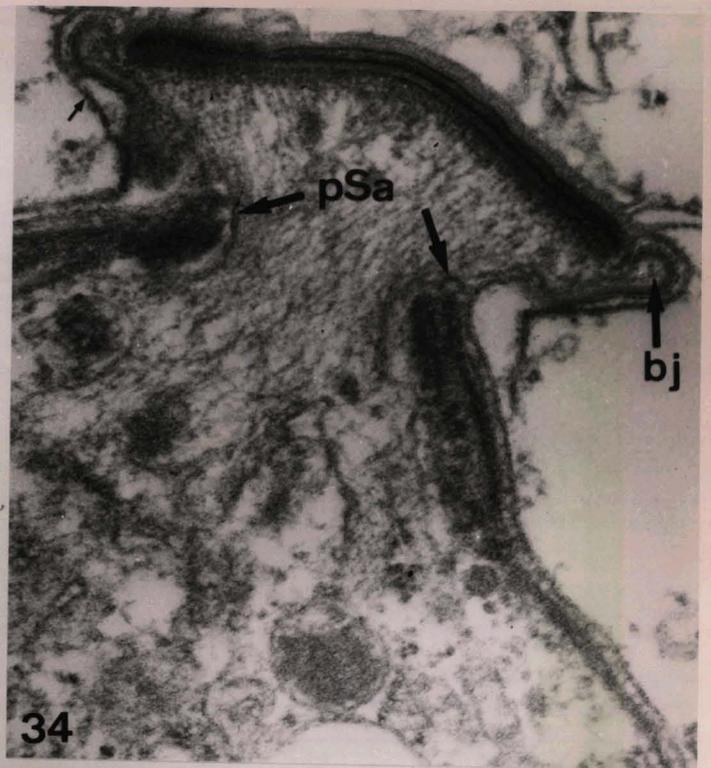
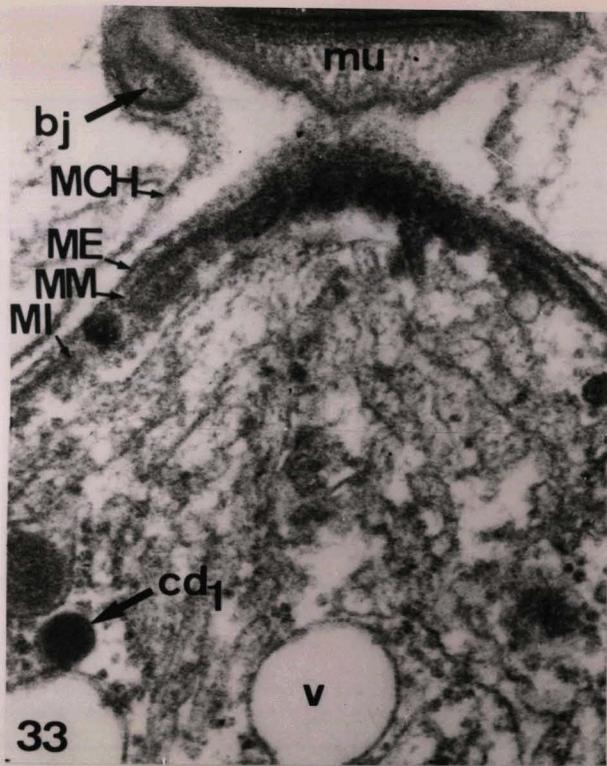
Fig. 33 - 34 - Coupes successives au niveau du mucron (μ) montrant l'accolement des membranes au niveau de la bague de jonction (bj). On peut aussi remarquer que le "sac lobé antérieur" (sa) qui occupe l'axe du conoïde (Fig. 35) est limité par une paroi (PSa).

Fig. 33 : (x 75 000) ; Fig. 34 : (x 75 000)

Fig. 35 - On peut distinguer deux formations denses qui pourraient correspondre à un "conoïde" (C) en régression. (x 75 000)

Fig. 36 - Le "sac lobé antérieur" (Sa) à contenu microfibrillaire prend une plus grande extension. (x 15 000)





TROPHOZOTTE DE LECUDINA Sp.
STRUCTURE DE LA JONCTION

Fig. 37 - On remarque qu'une couche sombre (cmt) occupe le pôle apical du "sac lobé antérieur" (Sa) et est sous-jacente à la jonction. (x 5000)

Fig. 38 - La couche précédemment citée est formée de "microtubules antérieurs" (mta) qui arrivent perpendiculairement à la jonction. (x 57 500)

Fig. 39 - A plus fort grossissement on note l'existence de 3 unités membranaires :

MCH : membrane de la cellule hôte

ME : membrane externe de la grégarine

PSa : paroi du "sac lobé antérieur"

Le "sac" (Sa.) est occupé par des microfibrilles (mf).

La membrane de la cellule parasitée (MCH) peut présenter des interruptions qui laissent le passage à un matériel dense (flèches courtes), son feuillet externe peut s'accrocher à celui de la grégarine (à moins qu'il ne s'agisse d'un artefact). (x 250 000)



STRUCTURE DE LA JONCTION

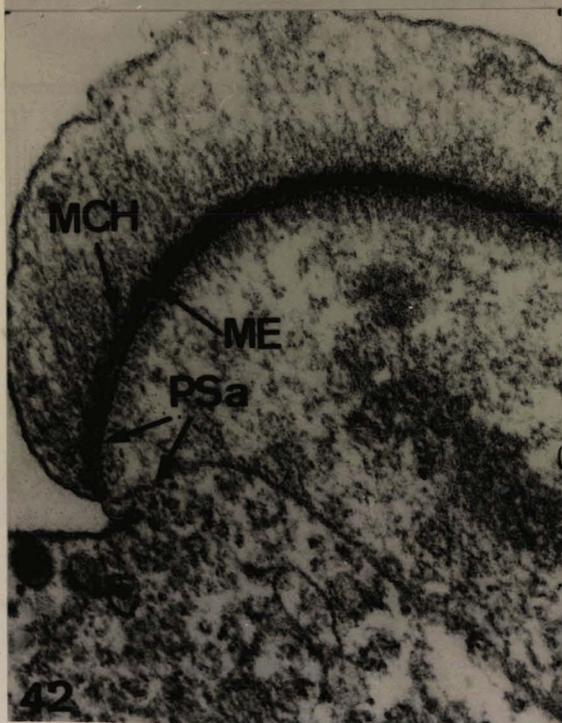
(LECUDINA Sp.)

Fig. 40 - La lame basale (LB) est interrompue au niveau de la frontière epicyte-mucron. (x 9600)

Fig. 41 - Agrandissement de la figure 40, la coupe étant légèrement oblique, les deux membranes les plus externes correspondent probablement à la même c'est-à-dire à celle de la cellule hôte (MCH), ou encore que l'on a touché la cellule hôte en deux endroits. La couche microtubulaire (cmt) a été coupée tangentiellement (flèche). (x 41 500)

Fig. 42 - Agrandissement de la partie supérieure de la figure 41, on peut remarquer que les 3 membranes appartenant successivement à la cellule hôte (MCH), à la grégarine (ME), et au "sac lobé antérieur" (PSa) sont représentées. On peut suivre l'acheminement de cette dernière et l'on observe qu'elle tapisse la jonction du côté de la grégarine. (x 67 200).





U.S.
G.P.O.

STRUCTURE DE LA JONCTION
(LEUCUDINA Sp.)

Fig. 43 - On distingue dans la cellule hôte (CH) une zone fibrillaire (ZF) qui coiffe la jonction. Cette dernière comprend les trois membranes : MCH, ME, PSa. La petite flèche indique la bague de jonction (bj) et à son niveau le complexe membranaire interne est interrompu (CMI). On peut aussi noter une couche de microtubules stratifiés qui forment l'anneau (Amt). (x 50 000)

Fig. 44 - A plus fort grossissement on distingue mieux l'interruption du complexe membranaire interne (CMI) au niveau de la bague de jonction (bj). (x 75 000)

Fig. 45 - Au niveau de la bague de jonction (bj) existe un accolement des membranes : externe de la grégarine et celle de la cellule parasitée, celles-ci s'invaginent dans le cytoplasme antérieur du parasite (flèche). (x 105 000)

Fig. 46 - 47 - On note que le cytoplasme de la cellule hôte (CH) est vacuolisé (v).

Fig. 46 : (x 27 000) ; Fig. 47 : (x 57 500)





STRUCTURE ET EVOLUTION DU "SAC LOBE ANTERIEUR"
(LECUDINA Sp.)

Fig. 51 - 52 - 53 - Montrent l'extension que prend le "sac"
au fur et à mesure que se développe le trophozoïte.
Fig. 51 : (x 50 000) ; Fig. 52 : (x 52 500) ;
Fig. 53 : (x 12 500)





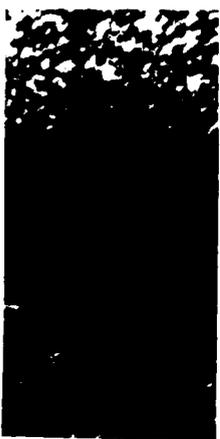
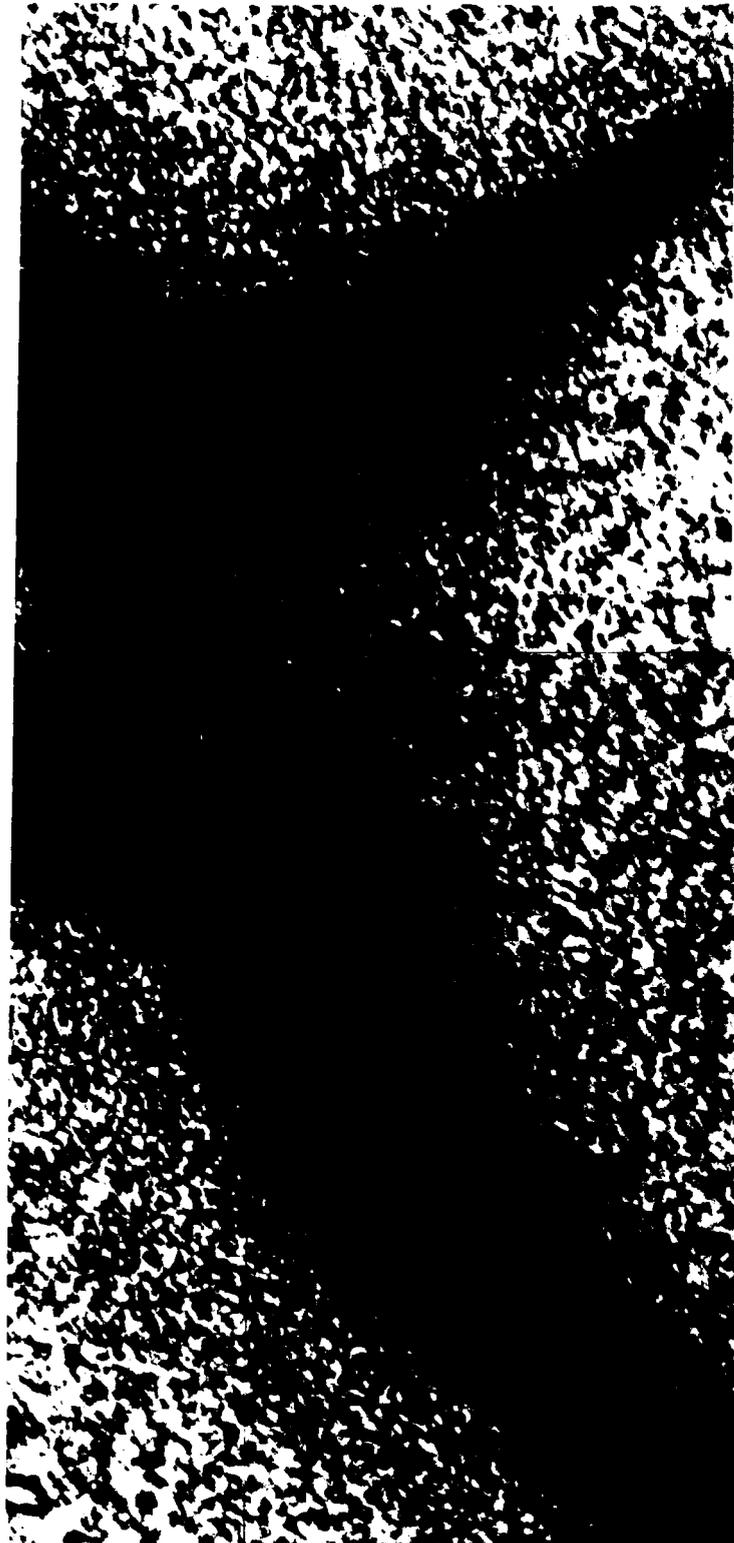
STRUCTURE DE LA COUCHE MICROTUBULAIRE
SOUS-JACENTE A LA JONCTION (cmt)
(LECUDINA Sp.)

Fig. 54 - En coupe tangentielle les microtubules antérieurs (mta) entourés d'un cortex opaque aux électrons sont liés entre eux par des "bras" latéraux. (x 50 000)

Fig. 55 - 56 - Un plus fort grossissement de la figure précédente montre que les microtubules (mta) sont rassemblés en une structure hexagonale (flèche).

Fig. 55 : (x 120 000) ; Fig. 56 : (x 120 000)





BT'S
LILLY

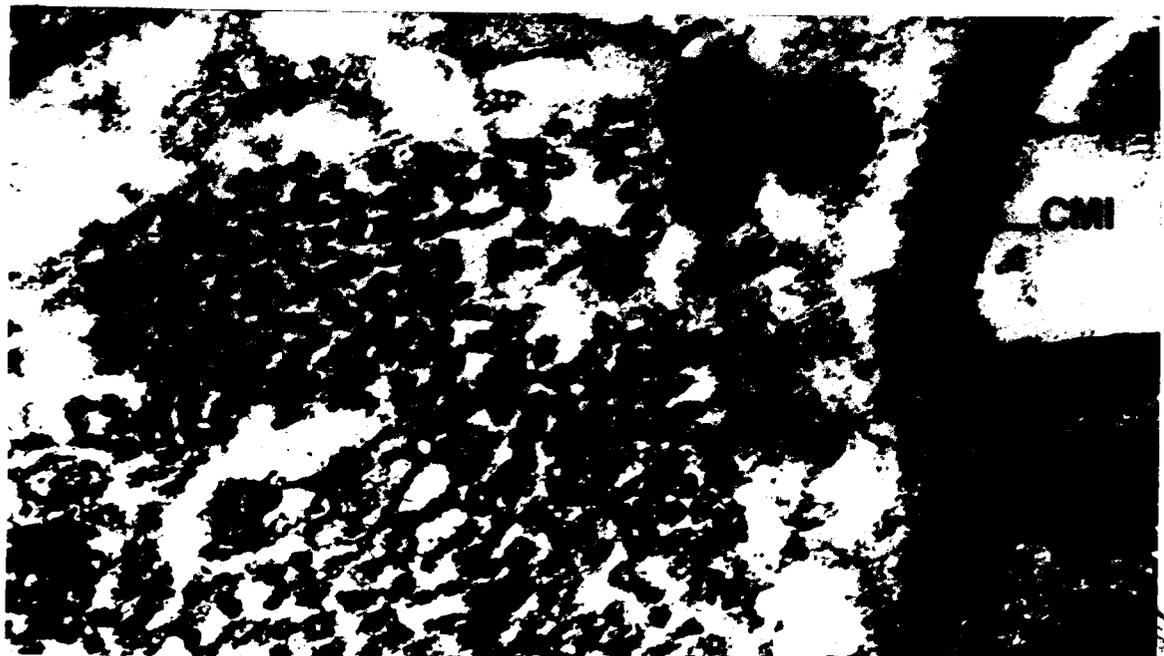
ANNEAU MICROTUBULAIRE CEINTURANT (AMt)
LE "SAC LOBE ANTERIEUR" (Sa)

Fig. 57 - 58 - En coupe tangentielle on remarque que les microtubules ceinturent le "sac " de telle façon à former un anneau.

Fig. 57 : (x 12 500) ; Fig. 58 : (x 37 500)

Fig. 59 - En coupe transversale l'anneau (AMt) est formé de microtubules groupés en amas compact (flèche).(x 35 000)

Fig. 60 - Un agrandissement de la figure 59. La paroi de certains microtubules semble hétérogène (flèche), parfois on peut penser à l'existence d'une sous-structure (petites flèches).
(x 105 000)



LILLE

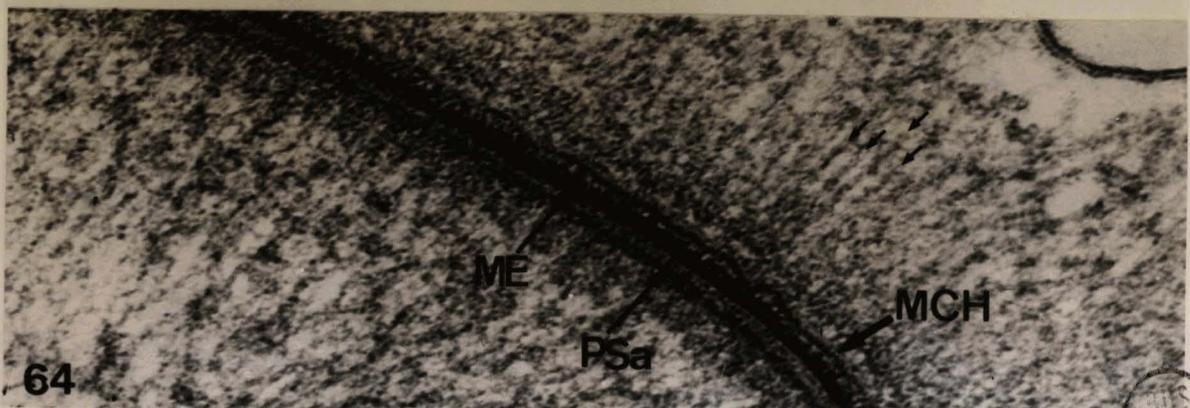
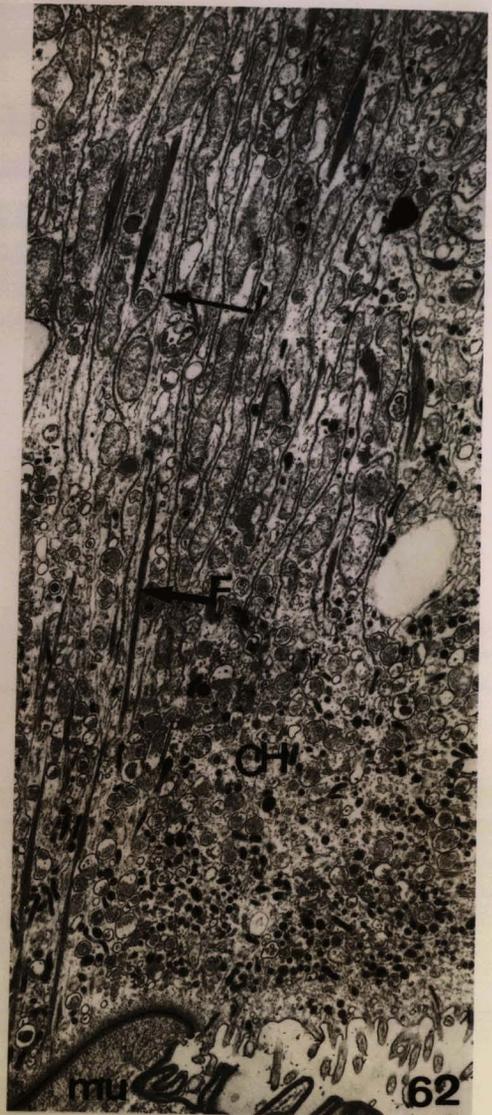
ASPECTS DE LA CELLULE PARASITEE

Fig. 61 - On note que le noyau de la cellule hôte (NH) est souvent localisé près du contact avec le parasite, il montre une hypertrophie. Le cytoplasme est vacuolisé (v). (x 5000)

Fig. 62 - Le cytoplasme de la cellule hôte (CH) est parcouru par des filaments denses (F). Au pôle apical on note la présence de compartiments riches en mitochondries, il est possible que cela corresponde à des invaginations de la membrane plasmique basale (flèche). (x 12 500)

Fig. 63 - La zone fibrillaire (ZF) est surmontée par un cytoplasme vacuolisé et parcouru par endroits par des éléments tubulaires (flèche). (x 60 000)

Fig. 64 - A plus fort grossissement les éléments constituant la zone fibrillaire (ZF) semblent montrer une disposition régulière (flèche). (x 105 000)



STRUCTURE DU SAC LOBE "ANTERIEUR"

(LECODINA sp.)

Fig. 48 - Une coupe transversale au niveau de la région antérieure du trophozoitte montre que celle-ci est occupée par le "sac lobe antérieur" (Sa). (x 30 000)

Fig. 49 - Un plus fort grossissement montre que le "sac" contient des microfibrilles (mf) et est limité par une paroi (PSa) dont l'aspect est celui d'une membrane unitaire ; entre les diverticules du sac se trouvent des corps denses (cd₁). (x 60 000)

Fig. 50 - En coupe tangentielle, on retrouve la paroi (flèche) du "sac lobe antérieur" (Sa) celle-ci présente des ondulations qui correspondent probablement aux endroits où la coupe a touché en surface les diverticules du "sac". (x 20 000)

JEUNE STADE DE LECUDINA TUZETAE

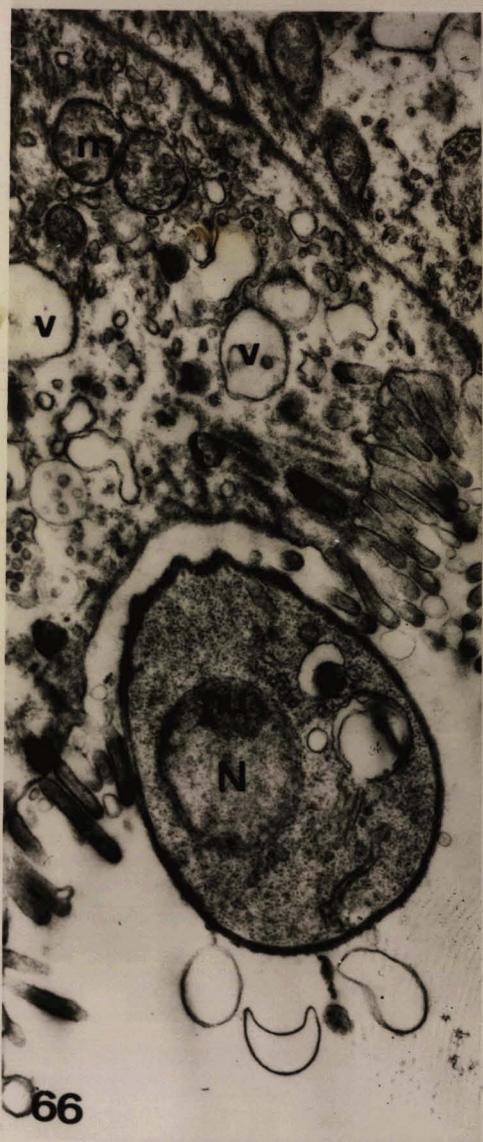
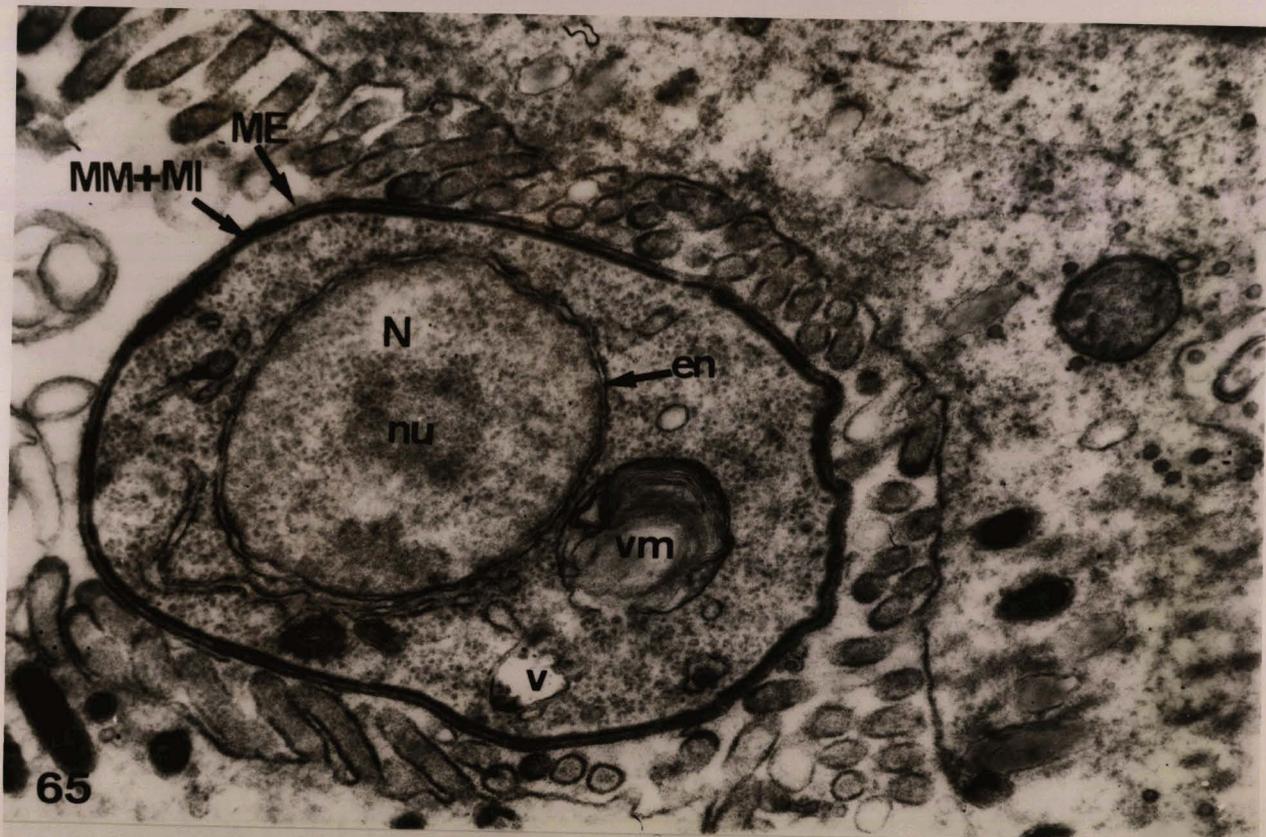
Fig. 65 - On remarque que la paroi a la structure classique décrite chez les Sporozoaires à savoir :

- La membrane externe : ME
- La membrane moyenne : MM accolées
- La membrane interne : MI

L'enveloppe nucléaire est par endroits en continuité avec le réticulum endoplasmique. (x 18 000)

Fig. 66 - Un jeune parasite repousse la paroi de l'épithélium intestinal, on remarque qu'à cet endroit les microvillosités intestinales sont absentes. (x 26 000)

Fig. 67 - Un plus fort grossissement de la figure 66 montre que la membrane de la cellule hôte (MCH) semble repoussée mais pas interrompue (flèche). (x 60 000)



ULTRASTRUCTURE DE LA JONCTION

(LECUDINA TUZETAE)

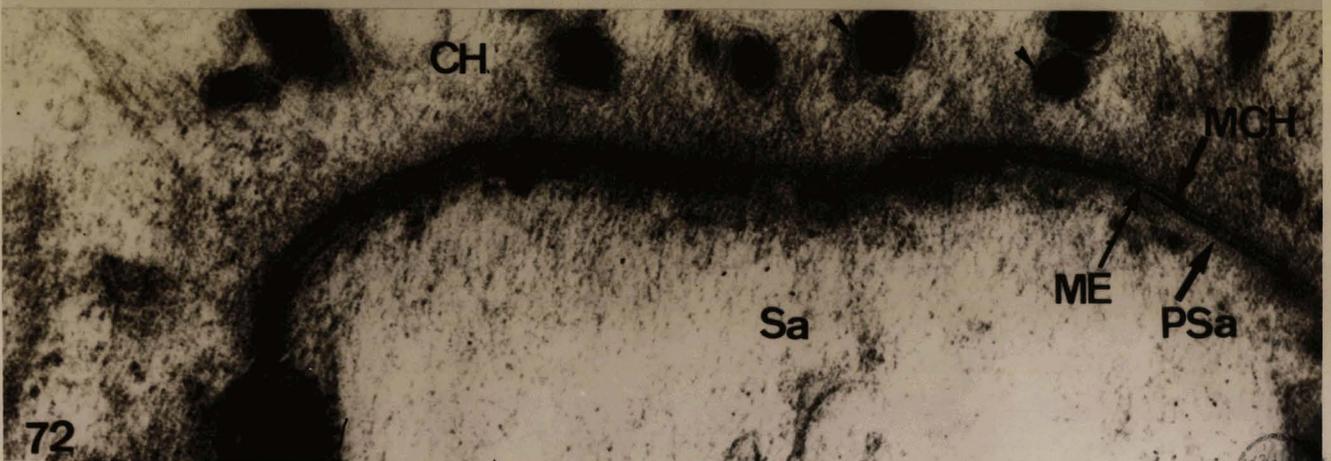
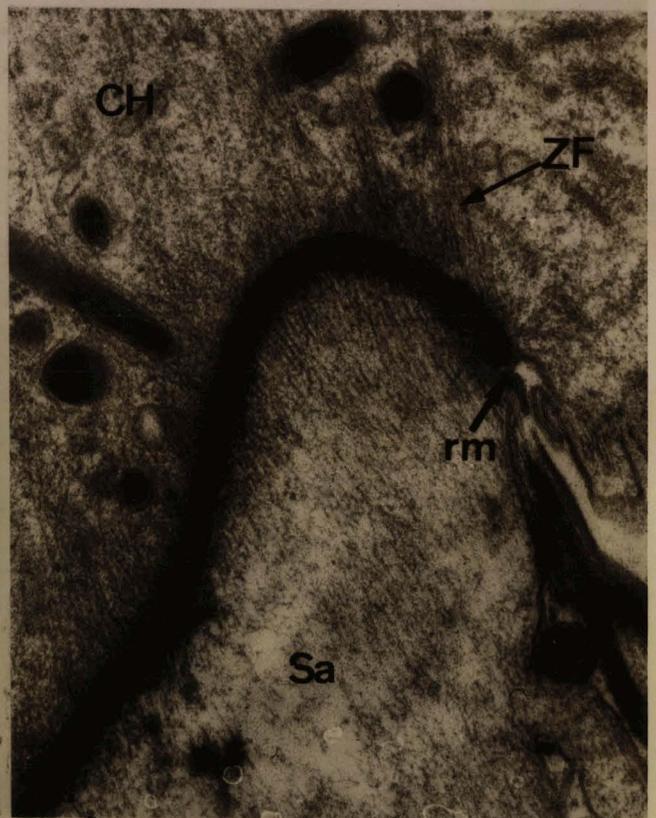
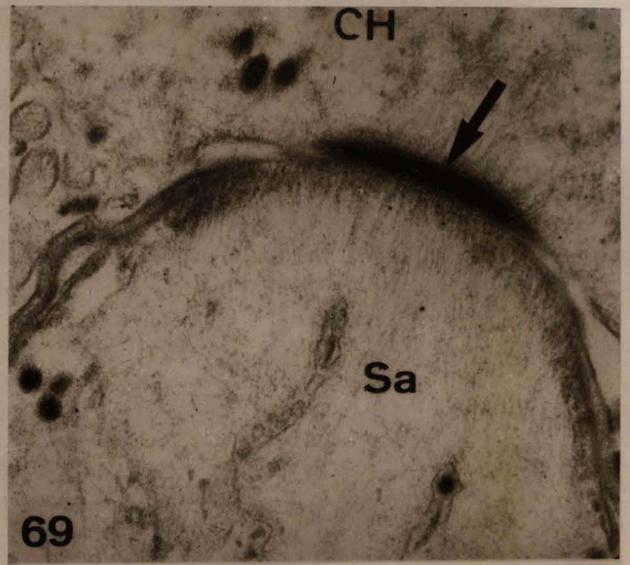
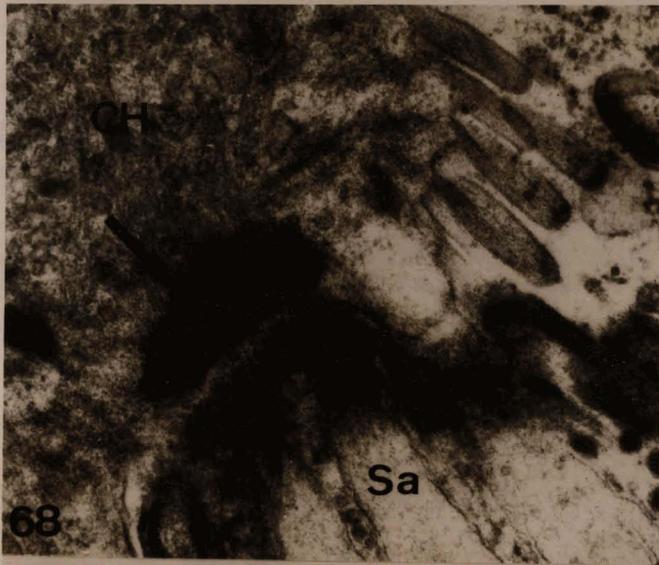
Fig. 68 - 69 - Des coupes tangentielles montrent une formation tabulaire dense qui coiffe la jonction. Il est possible que celle-ci corresponde à la zone fibrillaire observée (Fig. 70).

Fig. 68 : (x 38 000) : Fig. 69 : (x 38 000)

Fig. 70 - On note qu'en coupe longitudinale on retrouve une structure analogue à celle observée chez Lecudina sp. : le "sac lobé antérieur" (sa). Dans la cellule hôte (CH) apparaît une zone fibrillaire (ZF), et des formations denses (petite flèches) entourés d'une membrane unitaire et qui présentent une orientation vers le parasite.
(x 38 000)

Fig. 71 - Au niveau de la frontière epicyte antérieur-mucron les membranes : externe de la grégarine et celle de la cellule hôte s'accolent et forment un repli membranaire (rm) à l'intérieur du cytoplasme antérieur de la grégarine. (x 62 000)

Fig. 72 - Une jonction vue à un fort grossissement montre la succession de trois unités membranaires :
MCH : membrane de la cellule hôte
ME : membrane externe de la grégarine
PSa : paroi du "sac lobé antérieur" (PSa)
(les flèches indiquent les formations denses entourées d'une membrane unitaire). (x 85 000)



3115
LHLE

ASPECTS DE LA CELLULE PARASITÉE
(LECUDINA TUZETAE)

Fig. 73 - 74 - Des filaments denses (F) qui parcourent le cytoplasme de la cellule parasitée sont bien mis en évidence.

CH : cellule hôte

PSa : paroi du "sac lobé antérieur"

Cd₃ : corps denses

Fig. 73 : (x 10 000) ; Fig. 74 : (x 25 000)





100
100

AGENCEMENT DES MICROFIBRILLES AU
CONTACT DE LA JONCTION
(LECUDINA TUZETAE)

Fig. 75 - 76 - Les microfibrilles (mf) qui occupent le "sac lobé antérieur" (Sa) forment une couche dense sous-jacente à la jonction (grande flèche).

Fig. 75 : (x 45 000) ; Fig. 76 : (x 31 500)

Fig. 77 - 78 - On peut observer à un plus fort grossissement que dans la couche dense citée précédemment, les microfibrilles semblent liées entre elles (petites flèches voir aussi Fig. 76), ce qui rappelle le système hexagonal des microtubules antérieur (mta) observé dans le cas de Lecudina sp.

Fig. 77 : (x 62 500) ; Fig. 78 : (x 62 500)

Fig. 79 - Les microfibrilles (mf) montrent une certaine régularité (petites flèches). (x 50 000)



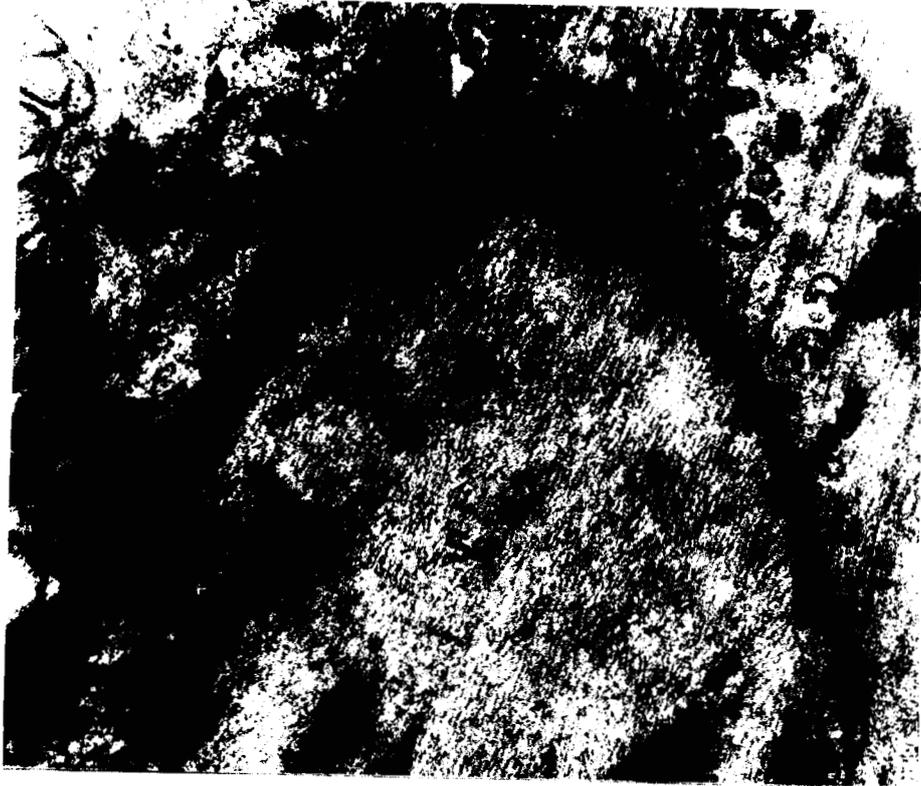
REPLI MEMBRANAIRE AU NIVEAU
DE LA FRONTIERE EPICYTE-MUCRON
(LECUDINA TUZETAE)

Fig. 80 - 81 - 82 - 83 - Ces images montrent qu'il y a un repli membranaire (rm) formé par l'accolement de la membrane externe de la grégarine et celle de la cellule hôte (MCH). A ce niveau le complexe membranaire interne (CMI) est interrompu comme on l'a observé dans le cas de Lecudina sp. (flèche).

Fig. 80 : (x 55 000) ; Fig. 81 : (x 70 000) ;

Fig. 82 : (x 50 000) ; Fig. 83 : (x 130 000).





15

ESSAI DE CARACTERISATION D'UN ESPACE INTERCELLULAIRE

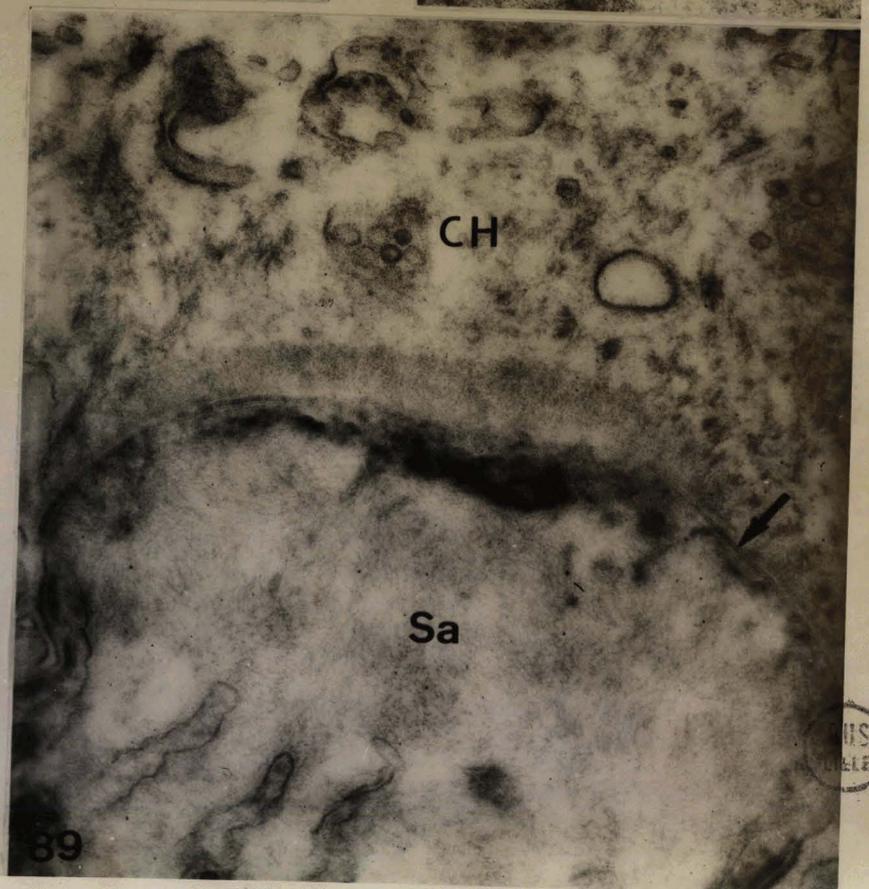
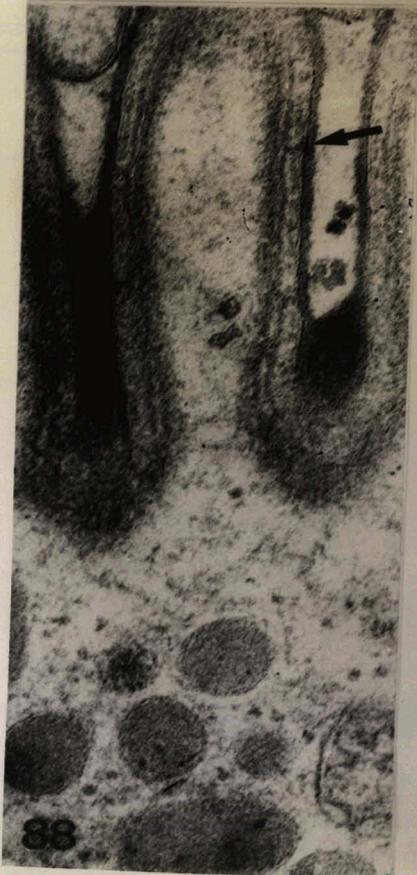
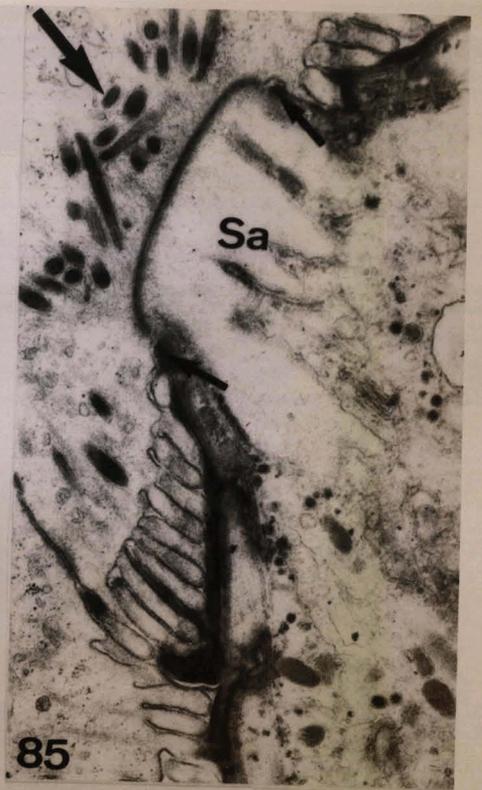
Fig. 84 - 85 - 86 - 87 - Le Bleu Alcian s'infiltré entre le trophozoïte de Lecudina tuzetae et les cellules épithéliales et se trouve bloqué au niveau de la jonction (flèche). De même on peut noter qu'il peut progresser légèrement dans l'espace séparant deux cellules intestinales voisines (Fig. 84, flèche courte). Une concentration de formations denses dans la cellule hôte (CH) à la périphérie de la jonction (Fig. 84, pointe de flèche ; Fig. 85 et 86, grosses flèches) peut être observée.

Fig. 84 : (x 10 000) ; Fig. 85 : (x 25 000) ;

Fig. 86 : (x 35 000) ; Fig. 87 : (x 58 000).

Fig. 88 - On peut remarquer que le bleu alcian a augmenté le contraste du "cell coat" de Lecudina tuzetae (flèche).
(x 90 000)

Fig. 89 - Nous ne pouvons tirer de conclusion valable après la technique au nitrate de lanthane. (x 50 000)



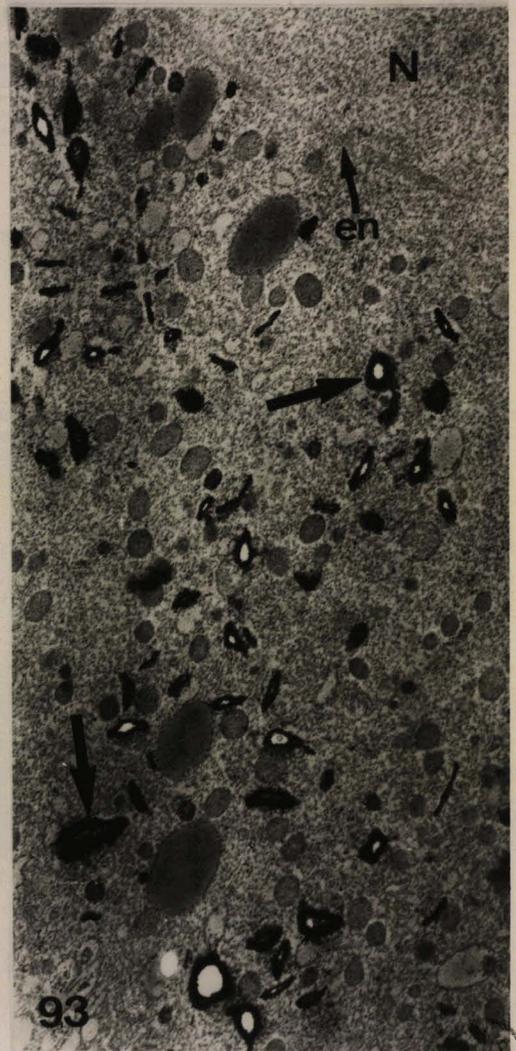
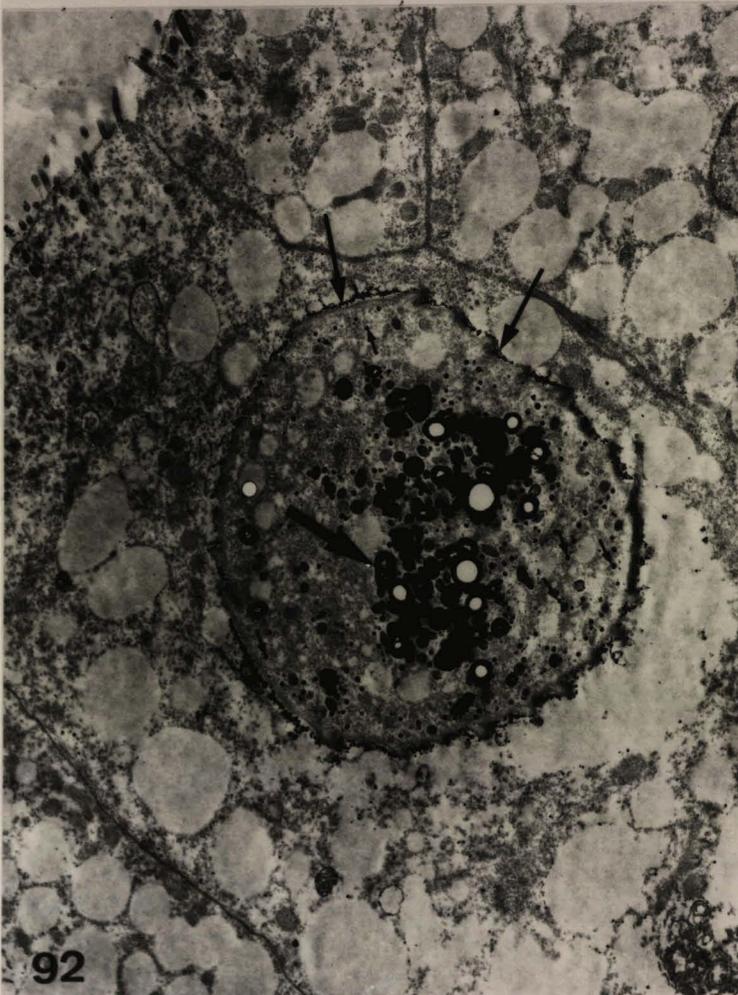
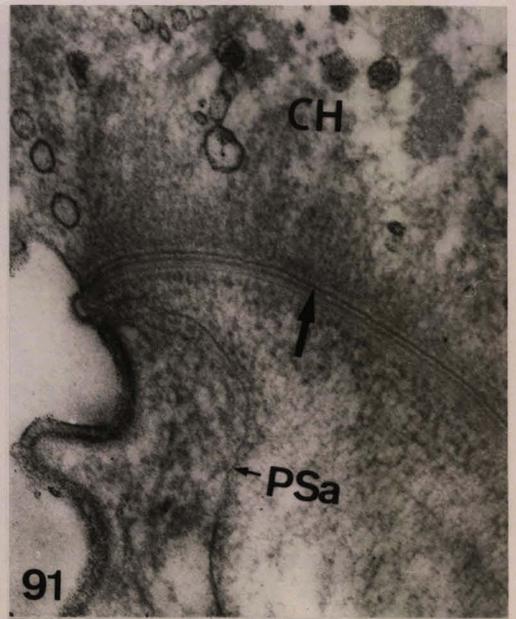
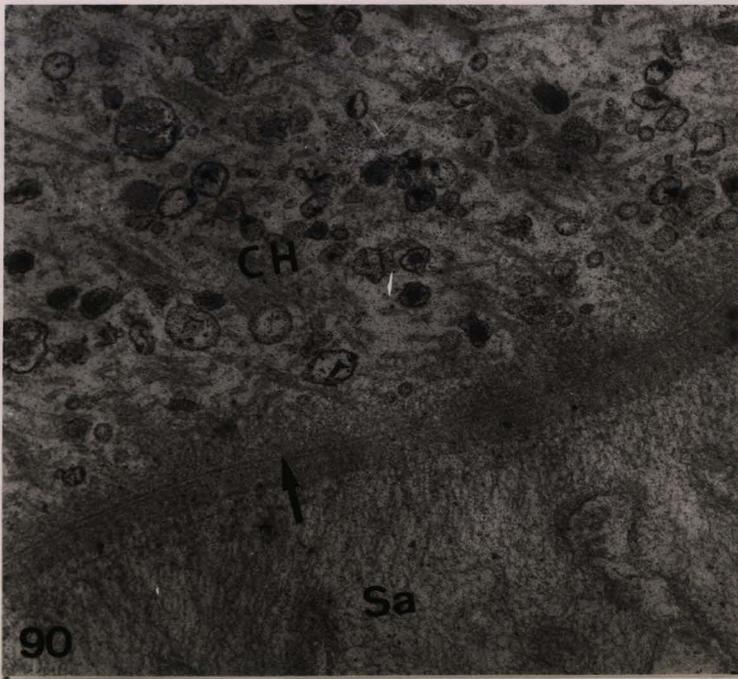
DETECTION DES GLUCIDES MEMBRANAIRES AU NIVEAU
DE LA JONCTION (LECUDINA Sp.)

Fig. 90 - 91 - On note qu'après la technique P.A.T.A.g avec passage sur la TCH de 72 heures, il n'existe pas de marquage au niveau de l'espace clair que nous avons assimilé à un espace intercellulaire (flèche).

Fig. 90 : (x 46 000) ; Fig. 91 : (x 46 000)

Fig. 92 - La même technique appliquée sur un stade intracellulaire de Lecudina tuzetae montre un important marquage (flèches longues) ce qui indique l'existence de substances mucopolysaccharidiques et/ou glycoprotéiques, qui du fait peut-être de leur "emprisonnement" restent stockées à la surface du parasite (les grosses flèches indiquent les grains de paraglycogène (=amylopectine), les petites flèches montrent les inclusions polysaccharidiques). (x 4600)

Fig. 93 - La technique P.A.T.g utilisée dans les mêmes conditions que précédemment, sur Lecudina sp. montre un net marquage des réserves polysaccharidiques (grosses flèches). (x 25 000)



BUS
LILLE

CORPS DENSES
(LEUCUDINA TUZETAE)

Fig. 94 - On note l'existence de trois catégories de corps denses d'après leur taille et opacité.

cd₁ : corps denses renfermant un enchevêtrement de filaments

cd₂ : corps denses à structure homogène

cd₃ : corps denses de petite taille contenant un matériel plus opaque que les précédents.

Il est possible que les cd₂ puissent correspondre à des coupes tangentielles ou à un autre stade de développement des cd₁.

Fig. 95 - 96 - 97 - Les corps denses se trouvent répartis dans le corps de la grégarine, les cd₃ sont essentiellement concentrés dans la région antérieure. De même on peut noter (Fig. 95 - 97) que ces corps denses peuvent être en relation avec la paroi.

Fig. 95 : (x 45 000) ; Fig. 96 : (x 10 000) ; Fig. 97 : (x 25 000)



TECHNIQUE P.A.T.Ag PENDANT 24 H.

(LEUCODINA TUZETAE)

Fig. 98 - (Fixation à la glutaraldéhyde seule).

Fig. 99 - (Double fixation glutaraldéhyde-osmium)

Les corps denses cd_1 (1) sont marqués spécifiquement. Les filaments sombres qui y sont figurés sont de nature polysaccharidique.

Les cd_2 (2) à structure homogène montrent un léger marquage.

Les cd_3 (3) correspondent probablement à des inclusions polysaccharidiques (noter que le "cell coat" est bien mis en évidence - flèche).

Fig. 98 : (x 60 000) ; Fig. 99 : (x 60 000)

Fig. 100 - Témoin (Fig. 99) absence de marquage spécifique.

(x 30 000)



ACTION DE LA PRONASE

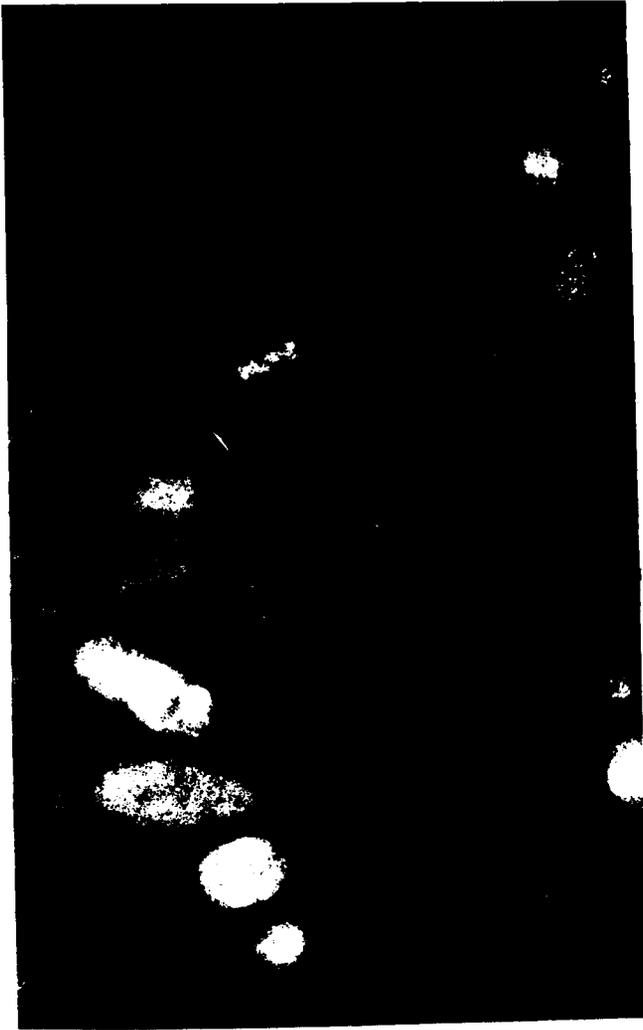
(LEUCODINA TUZETAE)

Fig. 101 - 102 - 103 - La lame basale (LB) est digérée, on peut observer des plages blanches qui correspondent à une attaque enzymatique (flèche) certaines d'entre elles sont situées contre la paroi (Fig. 102) il est possible qu'elles correspondent aux corps denses (cd_2) qui sont en relation avec la paroi (Fig. 95 - 97).

Les corps denses cd_3 (Fig. 103) sont intacts.

Fig. 101 : (x 60 000) ; Fig. 102 : (x 60 000) ; Fig. 103 : (x 60 000)

Fig. 104 - Le traitement témoin montre (flèche) des formations qui correspondent probablement aux corps denses qui ne sont pas digérés. (x 60 000)



HS
LEE