

ÉTUDE COMPARÉE DES RÉLATIONS MORPHOLOGIQUES ET IMMUNOLOGIQUES CHEZ LES COCCIDIES DE LA SOURIS: *EIMERIA FALCIFORMIS* ET *EIMERIA PRAGENSIS* (COCCIDIA, EIMERIIDAE)

Ž. ČERNÁ, J. SÉNAUD, H. MEHLHORN et E. SCHOLTYSECK

Laboratoire de Parasitologie, Faculté des Sciences de l'Université Charles, Prague;
Laboratoire associé au C. N. R. S., Zoologie, Complex Scientifique des Cézéaux, Aubière;
Laboratoire de Protozoologie de l'Université de Bonn, Bonn

Abstract. The paper deals with a comparison made between two species of mouse coccidia: *Eimeria falciformis* Eimer, 1870, isolated by Haberkorn in 1970 and *E. pragensis*, described by Černá and Sénaud in 1969. Developmental stages of both species were compared from morphological aspect, their ultrastructures were studied and an immunological comparison of antigens from asexual stages of both species was made by means of indirect fluorescence antibody reaction. Both species produce 4 asexual generations, the size and number of merozoites being considerably variable in separate species within different asexual generations. From the aspect of ultrastructures, however, the merozoites of both species do not differ one from another, with the exception of merozoites of the fourth generation of *E. falciformis* species, in which more than two rhoptries have been found. In other asexual generations of *E. falciformis* as well as in merozoites of all generations of *E. pragensis* always two rhoptries have been found. As far as ultrastructure of sexual stages (both macro- and microgamonts) have been compared, practically no marked differences have been detected. During cross influence of antisera of *E. pragensis* and *E. falciformis* upon antigens from asexual stages of both species by means of indirect fluorescence antibody test, both antigens reacted practically in a similar way, both in the case of heterologous and of homologous antiserum. On the basis of this comparative study, particularly while employing indirect fluorescence antibody test, we concluded that the species *E. pragensis*, isolated in Prague, may be listed as *Eimeria falciformis* var. *pragensis*.

Chez la souris, de nombreuses espèces de coccidies Eimeriidae ont été décrites soit 10 espèces: *Eimeria falciformis* (Eimer, 1870) Schneider, 1875, *E. hindlei* Yakimoff et Gousseff, 1938, *E. keilini*, Yakimoff et Gousseff, 1938, *E. krijgsmanni* Yakimoff, et Gousseff, 1938, *E. musculi* Yakimoff et Gousseff, 1938, *E. schueffneri* Yakimoff et Gousseff, 1938, *E. musculoidei* Levine, Bray, Ivens et Gunders, 1959, *E. hansonorum* Levine et Ivens, 1965 et *E. pragensis* Černá et Sénaud, 1969. Cependant, l'étude approfondie du déroulement du cycle n'a été abordée que chez trois espèces. Levin et Ivens (1965) ont étudié le cycle complet d'*Eimeria ferrisi*. Chez *E. falciformis*, les études sont plus nombreuses (mis à part les travaux anciens de Reimer (1923) et Reich (1913): Nieschulz et Bos (1913), Cordero del Campillo (1959), Haberkorn (1970) et des observations ultrastructurales ont précisé, le déroulement des phénomènes du développement de ce parasite (Scholtyseck, Mehlhorn et Haberkorn 1971, Pellérdy, et al. 1971, Mehlhorn, Sénaud et Scholtyseck 1972, Scholtyseck, Mehlhorn et Sénaud 1972).

C'est en 1967, que nous avons observé à Prague, chez des souris blanches de laboratoire, une coccidie que nous avons décrite comme une espèce nouvelle: *Eimeria pragensis* (Černá et Sénaud 1969). Les oocystes de cette espèce montraient une grande ressemblance avec ceux d'*Eimeria falciformis*. Cependant la présence de „granules polaires“ dans les oocystes sporulés d'*E. pragensis* permettaient de les différencier de

ceux d'*E. falciformis*. D'autre part, après l'infection expérimentale le temps d'élimination des tout premiers oocystes („prepatent period“) était plus important et atteignait 8 jours alors que chez *E. falciformis* cette période était connue comme beaucoup plus courte (Cordero del Campillo 1959, Lévine et Ivens 1965). En outre, les stades d'évolution d'*E. pragensis* n'ont pas été observés dans l'intestin grêle, mais toujours dans le gros intestin et dans le cœcum (Černá et Sénaud 1969). Aussi, ayant obtenu d'une part la souche de Haberkorn pour *E. falciformis* et d'autre part la souche de Černá—Sénaud pour *E. pragensis*, nous avons pu mener à bien le développement expérimental complet de ces deux souches dans la tube digestif des souris de laboratoire. Il nous a été ainsi possible de comparer ces deux espèces à la fois au point de vue morphologique et ultrastructural et au point de vue immunologique.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

La souche d'*E. pragensis* a été entretenue sur des souris Swiss du Centre de Sélection et d'Élevage des animaux de Laboratoire du CNRS (France) et sur des souris blanches de Laboratoire de Prague. *E. falciformis* a également été entretenue sur des souris Swiss du même Centre, mais également sur des souris de souche „Spf GF₁Winkelmann“ provenant du Laboratoire de parasitologie Bayer AG à Wuppertal. Les souris âgées de 1 à 3 mois, libres de coccidies, sont infestés „per os“ en leur faisant ingérer une quantité importante d'oocystes sporulés (50.000 à 150.000 oocystes par animal).

Technique d'étude au microscope électronique.

Pour les études en microscopie électronique, et afin d'obtenir expérimentalement, le cycle d'évolution le plus complet comprenant à la fois, les phases asexuées et les phases sexuées, les animaux infestés soit par *E. falciformis*, soit par *E. pragensis* sont sacrifiés de 1 à 8 jours après l'infestation. Différents fixateurs ont été utilisés: le glutaraldéhyde associé au tétraoxyde d'osmium selon la méthode de Terzakis (1968) ainsi que le glutaraldéhyde à 2 ou 4 % dans un tampon phosphate ont été mis en œuvre. Nous avons également employé les méthodes classiques de Palade (1952) et de Sjöstrand (1956). Après fixation les pièces lavées soigneusement dans un tampon approprié, puis déshydratées dans l'alcool éthylique, sont incluses dans l'épon 812 selon la technique de Luft (1961). Les coupes effectuées sur des ultratomes Reichert OMU 2, Sorvall Porter-Blum MT 2 et LKB sont ensuite contrastées à l'acétate d'uranyle combiné au citrate de plomb selon la méthode de Reynolds (1963), puis elles sont examinées aux microscopes Siemens et Zeiss.

Technique de la réaction d'immunofluorescence indirecte.

Obtention des antigènes:

Les antigènes ont été produits à partir des stades asexués en utilisant la méthode déjà décrite par Černá (1966a, b). Chez les deux espèces étudiées, les stades asexués ont été utilisés 5 jours après l'inoculation des oocystes sporulés dans le gros intestin des souris.

Obtention des anticorps:

Les anticorps ont été obtenus dans les sérums de souris blanches infectées expérimentalement avec des oocystes sporulés.

Les sérums contenant les anticorps d'*E. pragensis* ont été obtenus chez des souris ayant reçu 50.000 oocystes sporulés. Par contre, ceux contenant les anticorps d'*E. falciformis* ont été obtenus chez des souris n'ayant reçu que 5.000 oocystes sporulés, la mortalité des animaux infestés étant très élevée avec la souche d'*E. falciformis*.

Les sérums provenant des souris infestées avec *E. pragensis* et des souris infestées avec *E. falciformis* ont été collectés de 21 à 25 jours après l'inoculation des oocystes.

Le conjugué.

Comme conjugué nous avons employé les α -globulines de porc immunisé contre les α -globulines de souris; ces β -globulines sont marquées par le FITC, produit commercial de la firme ŮSOL de Prague.

Technique d'étude en immunofluorescence:

Nous avons utilisé la technique déjà décrite par Černá (1966a, 1967). La lumière ultraviolette est obtenue à partir d'une lampe HBO 200 d'Allemagne de l'est mise en œuvre sur un microscope soviétique ML 2.

OBSERVATIONS

1. LA SCHIZOGONIE CHEZ *E. PRAGENSIS* ET CHEZ *E. FALCIFORMIS*

Chez *E. pragensis*, au cours de 3^{ème} jour après l'infestation, on observe des mérozoïtes de 1^{ère} génération, en même temps que le début de la formation des schizontes de 2^{ème} génération. Les mérozoïtes de 2^{ème} génération apparaissent au cours du 4^{ème} jour après l'infestation. Les 5^{ème} et 6^{ème} jour on observe respectivement les 3^{ème} et 4^{ème} générations de mérozoïtes. Chez *E. falciformis* nous avons observé au cours du développement expérimental de l'infection qu'il existe plusieurs mérogonies successives qui se déroulent essentiellement du 3^{ème} au 7^{ème} jour après l'infestation „per os“ des animaux. Les stades sexuels apparaissent avec certitude à la fin du 7^{ème} et au cours du 8^{ème} jour. D'après nos recherches expérimentales en microscopie électronique, nous avons pu observer chez *E. falciformis*, 4 générations successives de mérozoïtes. Déjà Haberkorn (1970) signalait l'existence de 1 à 4 mérogonies successives.

Chez *E. pragensis* et chez *E. falciformis*, les processus d'évolution des jeunes schizontes en mérozoïtes s'effectuent selon le processus habituel classique chez les Eimeriidae (Sénaud et Černá 1968, Dubremetz 1971, Pellérdy et al. 1971, Mehlhorn et al. 1972). Que ce soit chez *E. falciformis* ou chez *E. pragensis*, les phénomènes de division nucléaire apparaissent identiques. Le déroulement du processus mitotique débute par la formation d'un fuseau intranucléaire dans une zone excentrique du caryoplasme. A chacun des pôles de ce fuseau sont associés deux centrioles composés chacun de neuf unités tubulaires simples disposées en un cylindre régulier autour d'un tubule central (Fig. 1, 2). Chez *E. falciformis*, nous avons observé que les pôles du fuseau sont orientés vers des invagination de la membrane nucléaire. Les tubules fusoriaux traversent la membrane unitaire interne de la paroi nucléaire (Fig. 13—16). Les pôles fusoriaux sont surmontés de formations denses, les centrocônes (observés à la fois chez *E. pragensis* et chez *E. falciformis* (Fig. 1, 2, 13, 15, 16). Chaque centrocône est un organite conique qui oriente le sens de migration des matériaux nucléaires vers la périphérie de la zone corticale du schizonte où s'élaborent les futurs mérozoïtes. Chaque centrocône est ancré, au niveau du matériel nucléaire, sur des densifications en forme de plaques très contrastées.

Après un certain nombre de division, la formation propre des mérozoïtes intervient au cours des dernières mitoses qui ont lieu dans la zone corticale du schizonte. Au cours de ces derniers phénomènes mitotiques, la paroi du schizonte prend un aspect plus ou moins ondulé. Au niveau de chaque centrocône, des densifications de la paroi cellulaire apparaissent, localisant les zones apicales des futurs mérozoïtes. En même temps, près des centrioles, les complexes apicaux (conoïde et anneaux associés à cet organite, microtubules sous pelliculaires) s'organisent. Les dictyosomes issus de la multiplication du dictyosome du schizonte initial se mettent en place. Dans les jeunes mérozoïtes, apparaît un organite globuleux situé près de l'apex cellulaire et représentant le précurseur des rhoptries (Fig. 2, 14). Progressivement, les invaginations de la paroi des futurs mérozoïtes s'intensifient, des amas de reticulum endoplasmique s'associent et participent probablement à la formation de cette paroi (Fig. 1, 2, 6, 14).

Chez *E. falciformis*, nous avons observé que le développement des mérozoïtes des 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} générations se déroule plus ou moins simultanément, car on observe des schizontes dont les mérozoïtes sont tous à peu près au même stade de développement, alors que les schizontes de 4^{ème} génération montrent des mérozoïtes presque mûrs en même temps qu'il existe encore des noyaux viables localisés dans le cytoplasme central du futur residuum. Un tel phénomène n'a pas été observé chez *E. pragensis*.

L'isolement des mérozoïtes s'effectue finalement par la rupture du pédoncule les reliant au residuum plus ou moins abondant (Fig. 3, 6, 7).

2. LES DIFFÉRENTES GÉNÉRATIONS DE MÉROZOÏTES CHEZ *E. PRAGENSI* ET CHEZ *E. FALCIFORMIS*

Il est net qu'expérimentalement il existe chez *E. falciformis* et chez *E. pragensis*, quatre générations successives de mérozoïtes. Chez *E. pragensis*, les schizontes de 1ère génération se développent au cours de 1ère, 2ème et 3ème jour après l'infestation, évoluant au cours de 3ème jour en des schizontes mûres mesurant $17-19 \times 11-13 \mu\text{m}$ et contenant 8 à 12 mérozoïtes longs et grêles ($16 \times 2 \mu\text{m}$) dont le noyau est localisé dans le 1/3 postérieur de la cellule. Au cours de 3ème jour, les cellules-hôtes commencent également à contenir des schizontes uninucléés et parfois plurinucléés de 2ème génération qui se développent pour produire les mérozoïtes de 2ème génération au cours du 4ème jour d'infestation. Les schizontes mûrs de 2ème génération ($9,5-10 \times 11-12 \mu\text{m}$) contiennent de très petits mérozoïtes ($4 \times 1,2-1,5 \mu\text{m}$) plus ou moins piriformes et en petit nombre (8 à 10). Durant le 5ème jour apparaît la 3ème génération de mérozoïtes qui sont de grande taille ($15-16 \times 1,5-2 \mu\text{m}$) et au nombre de 8 à 12 par schizontes. En même temps, on observe des schizontes de 4ème génération ($19-17 \mu\text{m}$) qui évoluent au cours de 6ème jour, en donnant plus de 12 petites mérozoïtes piriformes. Les jours suivants vont apparaître les phénomènes sexuels de la microgametogénèse et de la macrogametogénèse.

Chez *E. falciformis*, du premier au 7ème jour après l'infection expérimentale, on a pu relever générations de mérozoïtes qui sont plus ou moins longs, mais toujours vermiformes et sveltes. Ceux des 1ère et 2ème générations, mesurent jusqu'à $15 \mu\text{m}$ de long sur $1,5$ à $3 \mu\text{m}$ de diamètre, tandis que ceux de la 3ème génération sont plus longs et atteignent $20 \mu\text{m}$ voir même $25 \mu\text{m}$ de long et apparaissent au cours du 5ème jour après l'infestation. Les mérozoïtes de la 4ème génération sont identiques à ceux des 1ère et 2ème génération. Par la suite au cours de 7ème et 8ème jour vont apparaître les phénomènes sexuels.

L'organisation ultrastructurale des différentes générations de mérozoïtes, que ce soit chez *E. falciformis* ou chez *E. pragensis*, répond à un type bien défini. Chez *E. falciformis*, les mérozoïtes des 1ère, 2ème et 3ème générations, ne montrent qu'une paire de rhoptries (paired organelles) (Fig. 8, 7) alors que ceux de 4ème génération montrent plus de deux rhoptries (Mehlhorn, Sénaud et Scholtyseck, 1973). Chez *E. pragensis*, il semble que toutes les générations de mérozoïtes n'ont que deux rhoptries.

3. LES PHÉNOMÈNES SEXUELS CHEZ *E. FALCIFORMIS* ET CHEZ *E. PRAGENSI*

a) La microgametogénèse. Au cours des 6ème, 7ème et 8ème jour après infection chez *E. pragensis* (Sénaud et Černá 1970) et sensiblement au cours de la même période chez *E. falciformis* (Scholtyseck et al. 1973) se déroulent chez la souris, les phénomènes de la différenciation mâle ou microgametogénèse. Il ressort en gros, que l'organisation ultrastructurale du microgamète d'*E. falciformis* est identique à celle du microgamète d'*E. pragensis* (Fig. 18—26, 27—32). L'apex effilé, pyramidal du microgamète est constitué de la base des corps basaux des flagellés associés à une structure dense constituant le „Perforatorium“. De cet apex contenant 3 corps basaux chez *E. falciformis* (2? chez *E. pragensis*) partent 3 flagelles (2? chez *E. pragensis*) bien que ce chiffre chez *E. pragensis* ne soit pas prouvé avec certitude d'après les coupes transversales obtenues (Fig. 23—25). Que ce soit chez *E. falciformis* ou chez *E. pragensis* l'un des flagelles au

moins est emprisonné dans le cytoplasme sur une partie plus ou moins longue de son parcours (Fig. 25).

La paroi cellulaire de macrogamète est constituée d'une membrane unitaire enveloppant également les flagelles. Le noyau dense, allongé, en forme de cylindre occupe la plus grande partie du corps cellulaire du microgamète, ou il est associé antérieurement à une mitochondrie de type tubulaire (Fig. 24, 28).

D'autre part chez *E. pragensis*, une baguette tubulaire (Fig. 24, 26) est associée au système „Perforatorium“ — appareil flagellaire, tandis que chez *E. falciformis* des structures microtubulaires longitudinales parcourent tout le corps cellulaire du microgamète (Fig. 28, 31).

b) La macrogametogénèse. La maturation des macrogamètes s'effectue conjointement avec celle des microgamètes au cours des 6ème, 7ème et 8ème jour après infestation et certaines cellules-hôtes peuvent présenter une double infection à savoir contenir un microgamonte et un macrogamont dans des vacuoles parasitophores cependant différentes.

Les macrogamontes proviennent de la transformation de certaines mérozoïtes. Ces mérozoïtes, par un accroissement de leur taille, une transformation de leur paroi cellulaire, une modification de leur contenu cytoplasmique, évoluent en des cellules globuleuses, subsphériques d'un aspect bien particulier (Fig. 33—36). La paroi cellulaire du macrogamonte est percée de micropores typiques (Fig. 34, 36). Le noyau central est souvent situé dans une zone riche en organites d'aspect lamellaire disposés radialement qui lui donne un aspect étoilé (Fig. 33). Le cytoplasme contient de nombreux éléments de réserves de nature polysaccharidique, sous forme de nodule de taille et de forme variée (Fig. 33, 35). On remarque également des structures variables selon le stade de développement de la cellule: Ce sont essentiellement les corps denses (wall-forming bodies I) et les corps hétérogène (wall-forming bodies II) qui sont à la base de l'élaboration de la paroi du futur oocyste (Fig. 33, 37). Ça et là on observe également quelques structures mitochondriales) (Fig. 34). La fécondation n'a pu être observée chez ces deux espèces comme cela a pu l'être chez *E. bovis* par Scholtyseck et Hammond (1970). Mais toutes les autres phénomènes sont identiques aux résultats donnés et rapportés par Scholtyseck, Mehlhorn et Hammond (1971).

4. RÉSULTATS IMMUNOLOGIQUES

Tab. 1. Immunofluorescence indirecte; résultats obtenus avec les antigènes d' *E. falciformis* et d'*E. pragensis* et les anticorps d'*E. falciformis*

Sérum nr.	Le titre des anticorps	
	l'antigène homologue <i>E. falciformis</i>	l'antigène heterologue <i>E. pragensis</i>
1	10	10
2	80	80
3	80	80
4	80	80
5	80	80
6	80	80
7	80	40
8	80	40
9	160	160

En comparant immunologiquement les stades asexués d'*E. pragensis* isolé par Černá et Sénaud et ceux d'*E. falciformis* isolé par Haberkorn, nous avons obtenu les résultats suivants (Tableaux 1 et 2):

Tab. 2. Immunofluorescence indirecte: résultats obtenus avec les antigènes d'*E. falciformis* et d'*E. pragensis* et les anticorps d'*E. pragensis*.

Sérum nr.	Le titre des anticorps	
	l' antigène homologue <i>E. pragensis</i>	l' antigène heterologue <i>E. falciformis</i>
1	10	10
2	20	10
3	20	20
4	20	10
5	20	10
6	20	20
7	20	20
8	40	40
9	40	40
10	40	20
11	40	40
12	40	40
13	40	40

Nous avons observé que pour mettre en évidence des anticorps d'*E. pragensis* ainsi que des anticorps d'*E. falciformis*, on peut soit utiliser l'antigène homologue soit l'antigène hétérologue des stades asexués des deux espèces étudiées. Dans tous les cas on a observé des titres d'anticorps presque identiques chez les sérums des deux espèces examinées. La différence d'une dilution du sérum ne peut pas jouer un rôle important. Les réactions croisées, entre *E. pragensis* d'une part et *E. falciformis* d'autre part supposent donc une communauté antigénique entre les deux espèces étudiées.

DISCUSSION

A la suite des études ultrastructurales (Pellérdy et al. 1971) des stades asexués d'*E. falciformis* Eimer 1870, isolé par Haberkorn (1970) on a relevé une grande ressemblance des mérozoïtes d'*E. pragensis* Černá et Sénaud, 1969 avec ceux d'*E. falciformis*. D'après nos résultats obtenus chez ces deux espèces de coccidies de la souris il est net que certaines différences existent mais elles ne sont pas aussi flagrantes qu'on aurait pu le supposer.

Chez les 2 espèces il semble évident, dans nos conditions expérimentales, qu'il existe 4 génération de mérozoïtes apparaissent successivement au cours de 3ème (1ère génération), 4ème (2ème génération), 5ème (3ème génération) et 6ème (4ème génération) jours. Par contre, la taille et la forme des mérozoïtes ainsi que leur nombre semblent assez variable selon les générations et selon les 2 espèces. La 1ère génération de mérozoïtes est à peu près identique chez les deux espèces: $16 \times 2 \mu\text{m}$ (*E. pragensis*), $15 \times 1,5-2 \mu\text{m}$ (*E. falciformis*). Par contre les mérozoïtes de 2ème génération qui sont piriformes et trapus ($4 \times 1,2-1,5 \mu\text{m}$) chez *E. pragensis* sont encore de taille élevée chez

E. falciformis ($15 \times 1,5-3 \mu\text{m}$). Si on compare maintenant les mérozoïtes de la 3ème génération: chez *E. pragensis* ce sont des cellules allongées de $15-16 \times 1,5-2 \mu\text{m}$ de dimensions et chez *E. falciformis* on observe alors de très fortes tailles: $20-25 \times 1,5-2,5 \mu\text{m}$. Enfin au cours de la 4ème et dernière génération, on observe chez *E. pragensis* des mérozoïtes piriformes ($4-5 \times 1,5-2 \mu\text{m}$) alors que ceux d'*E. falciformis* sont encore élancés ($15 \times 1,5-3 \mu\text{m}$). On peut ainsi constater que chez *E. falciformis* les mérozoïtes des 4 générations sont de grande taille et toujours sveltes, avec un maximum pour ceux de la 3ème génération. Au contraire, chez *E. pragensis* on assiste à une alternance de mérozoïtes petits et trapus (2ème et 4ème génération) et de mérozoïtes de taille moyenne (1ère et 3ème génération).

Au point de vue de l'organisation ultrastructurale cellulaire pure, il est très difficile, voir impossible de trouver des différences évidentes des différentes générations de mérozoïtes chez les deux espèces. La seule que nous ayons pu relever est la présence de plus de deux rhoptries dans les mérozoïtes de 4ème génération chez *E. falciformis* alors que les autres générations n'en ont qu'une seule paire. En outre au cours des phénomènes schizogoniques, il est probable que, dans la plupart des cas, la formation des mérozoïtes s'effectue de manière synchrone. Cependant, chez *E. falciformis*, au cours de la 4ème schizogonie, les mérozoïtes se forment par vagues successives et non plus de façon synchron. Pour ce qui est des phénomènes sexuels, il est clair qu'il n'existe pas, non plus, de différence morphologique fondamentale. La présence chez *E. pragensis* d'une baguette dense associée au „Perforatorium“ et celle de microtubules longitudinaux chez *E. falciformis*, ne peuvent assurer une différenciation caractéristique des deux espèces. Par contre, la présence possible de 2 flagelles chez *E. pragensis* et de 3 chez *E. falciformis* semble être un caractère de différenciation indéniable. Cependant, dans ce cas de nombreuses coupes extrêmement favorables doivent être examinées afin d'affirmer l'organisation du microgamète de ceux deux espèces avec certitude.

En réalisant par immunofluorescence indirecte, des réactions croisées entre les deux espèces de coccidies étudiées (*E. pragensis* et *E. falciformis*), nos résultats immunologiques montrent apparemment une communauté antigénique au niveau des mérozoïtes des deux espèces. Les deux antigènes (*E. pragensis* et *E. falciformis*) que nous avons employés, ont donné des résultats positifs identiques, vis à vis des sérums contenant soit les anticorps d'*E. falciformis* soit les anticorps d'*E. pragensis* (Tab. 1 et 2). Ces résultats immunologiques laissent supposer que ces deux espèces de coccidies des souris pourraient être des espèces identiques. Les différences observées dans leurs cycles de développement, dans la morphologie des oocystes (Černá et Sénaud 1969), ainsi que les différences mises en évidence au niveau morphologique ultrastructural des stades sexués et asexués peuvent plutôt signaler des variations au niveau de souches diverses d'une même espèce. Il serait donc probable, d'après nos résultats immunologiques de considérer l'espèce *E. pragensis* isolée à Prague, comme l'espèce *E. falciformis* varietas *pragensis*.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ИМУНОЛОГИЧЕСКИХ СООТНОШЕНИЙ У МЫШИНЫХ КОКЦИДИЙ: *EIMERIA FALCIFORMIS* И *EIMERIA PRAGENSIS* (COCCIDIA, EIMERIIDAE)

Ж. Черна, Ж. Сено, Х. Мелгорн и Е. Шолтысек

Резюме. В работе дано сравнение двух видов мышинных кокцидий: *Eimeria falciformis* Eimer, 1870, выделенного Габеркорном в 1970 и *E. pragensis*, описанного Черной и Сенотом в 1969 г. Сравнение стадий развития обоих видов проведено с морфологической точки зрения, изучены их ультраструктуры и также проведено иммунологическое сравнение

антигенов от бесполой стадии обоих видов путем непрямого метода иммунофлуоресцирующих антител. Оба вида образуют 4 бесполой генерации, причем величина и число мерозоитов значительно изменчивы у отдельных видов в рамках бесполой генерации. Однако, с точки зрения ультраструктур мерозоиты обоих видов не отличаются друг от друга, за исключением мерозоитов 4-ой генерации вида *E. falciformis*, у которых были обнаружены более чем две роптрии (rhoptries). У остальных бесполой генераций *E. falciformis* и у мерозоитов всех генераций *E. pragensis* обнаружены по две роптрии. Поскольку сравнивались ультраструктуры половых стадий (макро- и микрогаметов), не было обнаружено никаких существенных различий. При перекрестном воздействии иммунных сывороток *E. pragensis* и *E. falciformis* на антигены от бесполой стадии обоих видов путем непрямого метода иммунофлуоресцирующих антител, оба антигена давали практически одинаковую реакцию, как в случае гетерологичной так гомологичной иммунной сыворотки. На основании такого сравнительного изучения, особенно при применении иммунофлуоресценции, мы заключили, что выделенный в Праге вид *E. pragensis* можно зачислить в состав как *Eimeria falciformis* var. *pragensis*.

Abréviations pour les planches I—VIII

A₁—A₂: Anneaux apicaux
 AN: „Anlagen“
 C: Conoïde
 CA: Complex apical
 CE: Centriole
 CC: Centrocône
 Fl: Flagelles des microgamètes
 GL: Réserve polysaccharidique
 GO: Appareil de Golgi
 HC: Cellule-hôte
 M: Membrane cellulaire
 ME: Mérozoïte
 MF: Microtubules sous-pelliculaire

MI: Mitochondrie
 MN: Micronèmes
 MP: Micropores
 N: Noyau
 NH: Noyau de la cellule-hôte
 NU: Nucléole
 P: Perforatorium
 R: Residuum
 RE: Reticulum endoplasmique
 RH: Rhoptries
 VP: Vacuole parasitophore
 WF: „Wall-forming bodies“

BIBLIOGRAPHIE

- CORDERO DEL CAMPILLO M., Estudios sobre *Eimeria falciformis* (Eimer, 1870) parásito del ratón. Ann. Fac. Vet. León 4: 55—73, 1959.
- ČERNÁ Ž., Anwendung der indirekten Fluoreszenzantikörperreaktion zum Nachweis der Antikörper bei Kaninchenkokzidiose. Zbl. Bact. 199: 264—267, 1966a.
- , Studies on the occurrence and dynamics of coccidial antibodies in *Eimeria stiedae* and *E. magna* by the indirect fluorescent antibody reaction. Folia parasit. (Praha) 13: 332—342, 1966b.
- , The dynamics of antibody against *Eimeria tenella* under the fluorescent microscope. Folia parasit. (Praha) 14: 13—18, 1967.
- , SÉNAUD J., *Eimeria pragensis* sp. n., a new coccidian parasite from the intestine of mice (*Mus musculus*). Folia parasit. (Praha) 16: 171—175, 1969.
- DUBREMETZ J. F., L'ultrastructure du centriole et du centrocône chez la Coccidie *Eimeria necatrix*. Etude au cours de la schizogonie. J. Microsc. 12: 453—458, 1971.
- HABERKORN A., Die Entwicklung von *Eimeria falciformis* (Eimer, 1870) in der weissen Maus (*Mus musculus*). Z. Parasitenk. 34: 49—67, 1970.
- LEVINE N. D., IVENS D., The coccidian parasites (Protozoa, Sporozoa) of rodents. Urbana: The University of Illinois Press, 131 pp., 1965.
- LUFT J. H., Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9: 409—414, 1961.
- MEHLHORN H., SÉNAUD J., SCHOLTYSECK E., Sur l'ultrastructure des organites liés à la division nucléaire chez les Coccidies *Eimeria falciformis* (Eimer, 1870) et *E. maxima* (Tyzzer, 1929) au cours de la schizogonie et de la microgametogénèse. C. R. acad. Sc. 275: 835—837, 1972.
- , —, —, La schizogonie chez *Eimeria falciformis* (Eimer, 1870) Coccidia, Eimeriidae, parasite de l'épithélium intestinal de la Souris (*Mus musculus*). Etude au microscope électronique des mérozoïtes et de leur développement au cours d'infestation expéri-

- mentales. *Protistologica* 9: 269—291, 1973.
- NIESCHULZ O., BOS A., Über den Infektionsverlauf der Mäusekokzidiosis. *Z. Infektionskrankh. und Hyg. der Haustiere*. 39: 160—168, 1931.
- PALADE G. B., A study of fixation for electron microscopy. *J. exp. Med.* 95: 285—298, 1952.
- PELLÉRDY L., HABERKORN A., MEHLHORN H., SCHOLTYSECK E., Die Feinstruktur der Schizonten und Merozoiten des Mäusecoccidien *Eimeria falciformis*. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* 21: 433—443, 1971.
- PORCHET-HENNERÉ E., VIVIER E., Ultrastructure comparée des germes infectieux (spozoites, mérozoites, schizontes, endozoites, etc.) chez les Sporozoaires. *Ann. Biol.* 10: 77—113, 1971.
- REICH F., Das Kaninchencoccid *Eimeria stiedae* (Lindemann, 1865) nebst einem Beitrag zur Kenntnis von *Eimeria falciformis* (Eimer, 1870). *Arch. Protistenk.* 28: 1—42, 1913.
- REIMER E., Zur Pathologie der Mäusekokzidiose. *Diss. Tierärztl. Hochschule, Berlin*, 1923.
- REYNOLDS E., The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17: 208—212, 1963.
- SJÖSTRAND F. S., in A. W. POLLISTER, Physical technique in biological research. Vol. 3, New York Academic Press, 1956.
- SCHOLTYSECK E., HAMMOND D. M., Electron microscope studies of macrogametes and fertilization in *Eimeria bovis*. *Z. Parasitenk.* 34: 310—318, 1970.
- , MEHLHORN H., HABERKORN A., Die Feinstruktur der Makrogameten des Mäusecoccidien *Eimeria falciformis*. *Z. Parasitenk.* 37: 44—55, 1971.
- , —, HAMMOND D. M., Fine structure of macrogametes and oocysts of coccidia and related organisms. *Z. Parasitenk.* 37: 1—43, 1971.
- , —, —, Electron microscopic studies of microgametogenesis in coccidia and related groups. *Z. Parasitenk.* 38: 95—131, 1973.
- , —, SÉNAUD J., Die Subpellikulären Microtubuli in den Merozoiten von *Eimeria falciformis*. *Z. Parasitenk.* 40: 281—294, 1972.
- , PELLÉRDY L., MEHLHORN H., HABERKORN A., Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Mikrogametenentwicklung des Mäusecoccidien *Eimeria falciformis*. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* 23: 61—73, 1973.
- SÉNAUD J., ČERNÁ Ž., Etude en microscopie électronique des mérozoites et de la mérogonie chez *Eimeria praagensis*, Coccidie parasite de l'intestin de la Souris. *Ann. Station Biol. de Besse-en-Chandesse*. 3: 221—242, 1968.
- , —, La microgamétogénèse chez *Eimeria praagensis* Černá, Sénaud 1969, Coccidia Eimeriina, parasite de l'intestin de la Souris: étude au microscope électronique. *Protistologica* 4: 5—19, 1970.
- TERZAKIS J. A., Uranyl acetate a stain and a fixative. *J. Ultrastruct. Res.* 22: 168—184, 1968.

Manuscript reçu le 1 avril 1974.

Ž. Č., Přírodovědecká fakulta KU, Viničná 7, 128 44 Praha 2, ČSSR

FOLIA PARASITOLOGICA (PRAHA) 21: 309—310, 1974.

A seminar in honour of 75th birthday of Dr. K. Rašín

Between November 15 and 16, 1973 the Parasitological Commission of the Czech Academy of Agriculture jointly with the Department of pathological morphology and parasitology, the Department of diseases of fowl, fishes and game animals of the Veterinary College in Brno and the Veterinary Surgeons Society organized a two-day seminar on the occasion of 75th birthday of Dr. Karel Rašín, the pioneer of Czechoslovak veterinary parasitology in whose honour the seminar was called "the Rašín days".

Karel Rašín, formerly Assistant of the Institute of Zoology and Parasitology attached to the Veterinary College in Brno and later Director of Bioveta pharmaceutical works at Ivanovice in Haná, is a parasitologist whose work can be called pioneering and whose scientific methods may serve as a model for systematic work even today. He was engaged in the studies on life cycles of some helminths, in the research of toxoplasmosis, tularemia, primarily paying attention to ichthyopathology and to game animals. In later years he returned

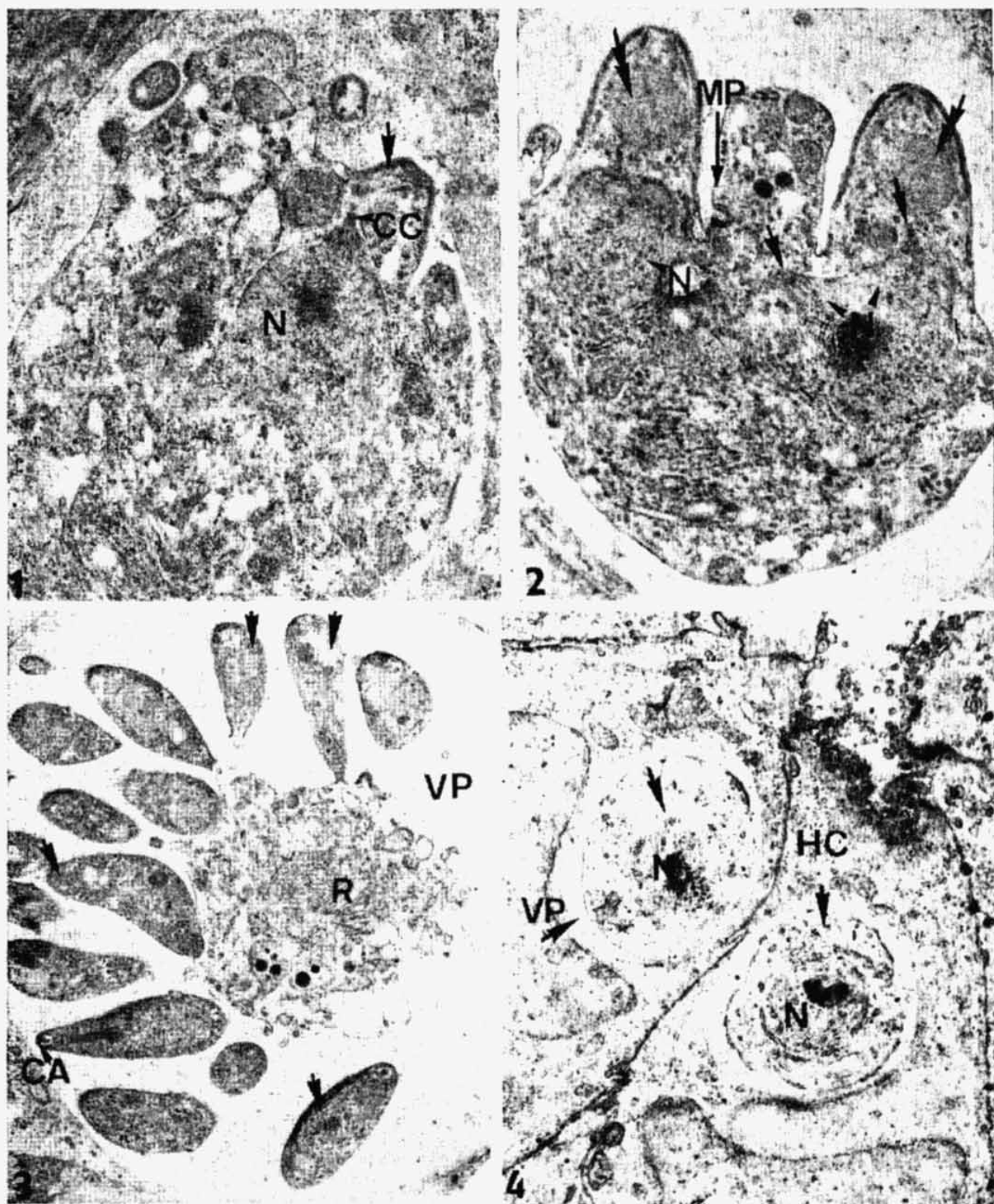


Planche I.

Fig. 1. *E. pragensis*: formation des mérozoïtes de 4^{ème} génération. Un „Anlage“ (flèche) d'un futur mérozoïte surmonte le matériel nucléaire qui est orienté par un centrosôme, $\times 13\ 800$

Fig. 2. *E. pragensis*: stade plus avancé qu'à la figure 1. Trois „Anlagen“ des futurs mérozoïtes sont visibles. Notez le matériel nucléaire orienté par les centrosômes (flèches); on observe également les corps globuleux (double flèche) qui sont les précurseurs des rhoptries. $\times 14\ 600$

Fig. 3. *E. pragensis*: coupe d'un schizonte mûr de 4^{ème} génération des mérozoïtes (flèches) sont de petite taille. $\times 4\ 850$

Fig. 4. *E. falciformis*: coupe de cellules de la muqueuse intestinale montrant de jeunes schizontes localisés dans des vacuoles parasitophores. $\times 6\ 500$

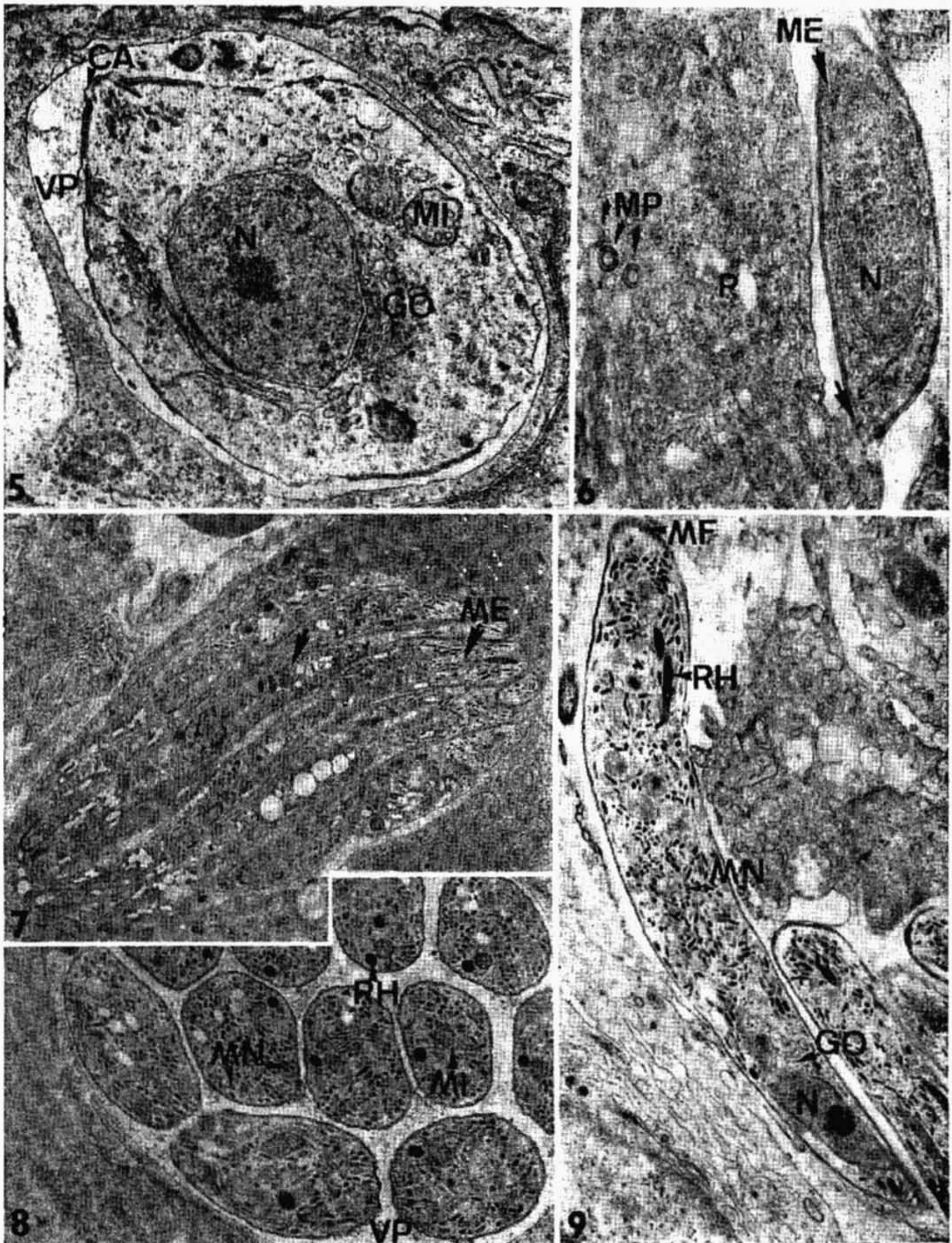


Planche II.

Fig. 5. *E. falciformis* (4ème jour). Très jeune schizonte de 2ème génération dans une vacuole parasitophore. On note encore la présence du complexe apical. La cellule est plus globuleuse. $\times 12\ 600$

Fig. 6. *E. falciformis* (5ème jour). Coupe de la zone corticale d'un schizonte. Notez la présence d'un groupement de micropores. Observez également la base nucléée d'un mérozoite rattaché au résiduum par un mince pédoncule (flèche). $\times 15\ 100$

Fig. 7. *E. falciformis* (5ème jour). Coupe d'un schizonte mûr montrant les très longs mérozoïtes. $\times 2\ 200$

Fig. 8. *E. falciformis* (5ème jour). Schizonte mûr montrant de nombreux mérozoïtes en coupe transversale. $\times 13\ 850$

Fig. 9. *E. falciformis* (5ème jour). Coupe longitudinale d'un mérozoïte de grande taille. $\times 6\ 300$

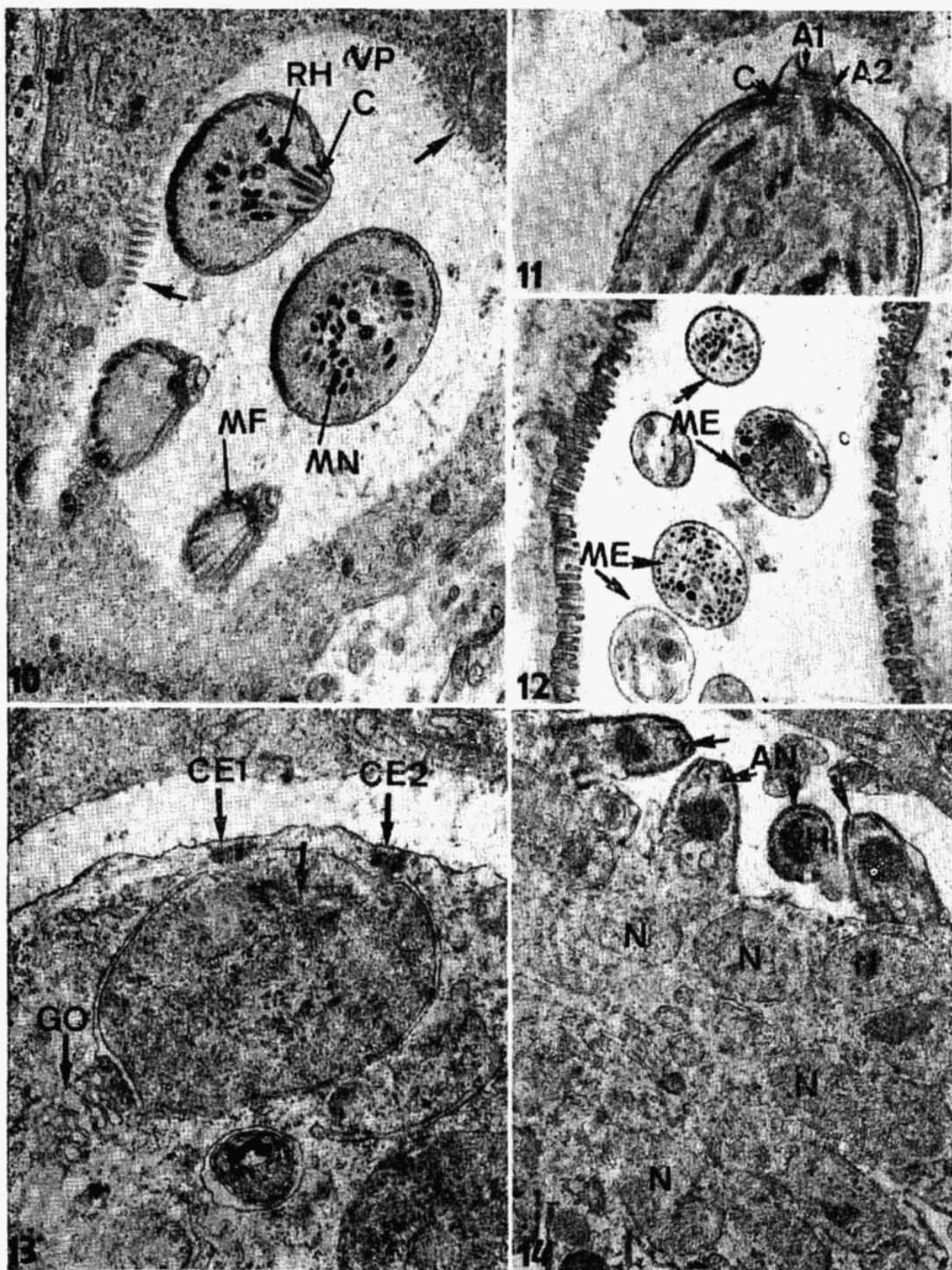


Planche III.

Fig. 10. *E. falciiformis* (5ème jour). Dans une vacuole parasitophore dont la paroi port des villosités

(flèche), on observe les apex de 3 mérozoïtes. × 14 600

Fig. 11. *E. falciiformis* (5ème jour). Coupe sagittale de l'apex d'un mérozoïte. Notez l'hétérogénéité du conoid surmonté des 2 anneaux apicaux. × 20 300

Fig. 12. *E. falciiformis* (5ème jour). Coupe de plusieurs mérozoïtes libres. × 21 950

Fig. 13. *E. falciiformis* (7ème jour). Coupe de la zone corticale d'un schizonte montrant la dernière division nucléaire d'un noyau. Notez la présence du fuseau de division intranucléaire (flèche) orienté par les structures centriolaires. × 21 100

Fig. 14. *E. falciiformis* (7ème jour). Coupe de la zone corticale d'un schizonte. Cette coupe montre de très nombreux noyaux (flèches) indiquant la formation asynchrone des mérozoïtes. Notez également la présence des précurseurs des rhoptries. × 9 750

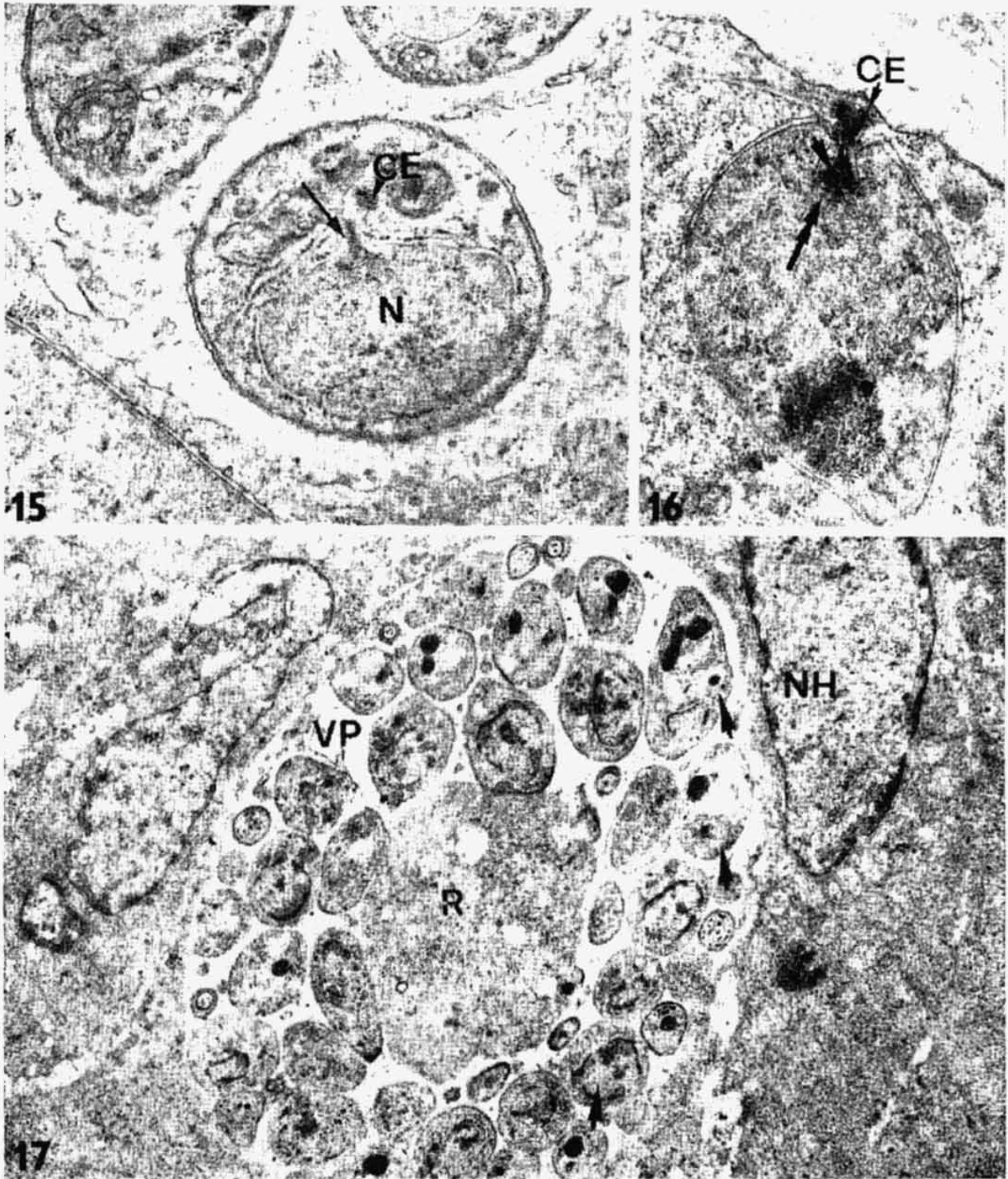


Planche IV.

Fig. 15. *E. falciformis* (7ème jour). Coupe d'un mérozoïte de 4ème génération. On observe un centrosôme (flèche) orientant le noyau. Notez la présence d'un centriole près du centrosôme. $\times 26\ 000$

Fig. 16. *E. falciformis* (7ème jour). Le centrosôme (flèche) localisé dans une cupule nucléaire (double flèche) est orienté par un centriole. $\times 20\ 950$

Fig. 17. *E. falciformis* (7ème jour). Coupe d'un schizonte mûr de dernière génération (4ème). Les mérozoïtes nombreux (flèches) entourent un résiduum abondant et sont inclus dans une vacuole parasitophore. $\times 5\ 850$

Planche VIII.

Fig. 31. *E. falciformis*. Coupe oblique de la périphérie d'un microgamétocyte montrant l'organisation des microgamètes. $\times 16\ 250$

Fig. 32. *E. falciformis*. Coupe sagittale de l'apex d'un microgamète montrant le perforatorium et les microtubules (double flèche). $\times 16\ 250$

Fig. 33, 34. *E. falciformis*, macrogamète dans une vacuole parasitophore. Notez la présence d'un micropore ainsi que l'existence des corps denses (WF1), des corps envacuolés (moins dense — WF2). Des réserves polysaccharidiques entourent le matériel nucléaires. Fig. 33: $\times 6\ 450$ Fig. 34: $\times 9\ 750$

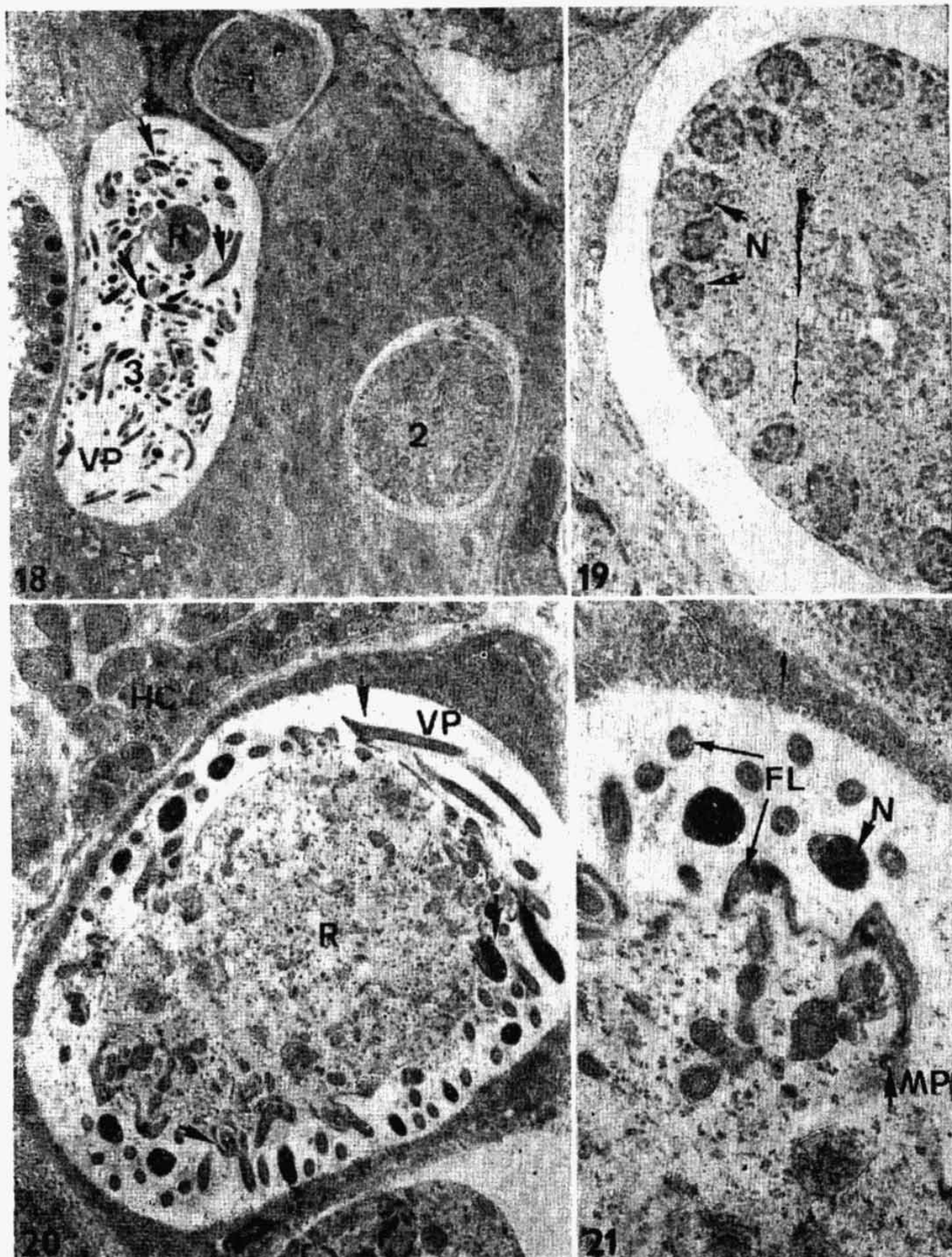


Planche V.

Fig. 18. *E. pragensis*. Cullules épithéliales intestinales de souris parasitées par des stades sexuels. On note la présence d'un jeune microgamonte (1) d'un microgamonte en développement (2) et d'un microgamonte mûr (3). Notez les nombreux microgamètes libres (flèches). $\times 3\ 050$

Fig. 19. *E. pragensis*. Coupe d'un microgamonte en développement. Les noyaux sont disposés directement sous la paroi cellulaire et le cytoplasme central apparait assez homogène. $\times 7\ 300$

Fig. 20. *E. pragensis*, stade avancé de la microgametogénèse. Les microgamètes (flèches) sont encore pour la plupart fixés au residuum. $\times 7\ 300$

Fig. 21. *E. pragensis*. Coupe de la zone corticale d'un microgamonte. Notez la présence de micropore dans la paroi. $\times 14\ 600$

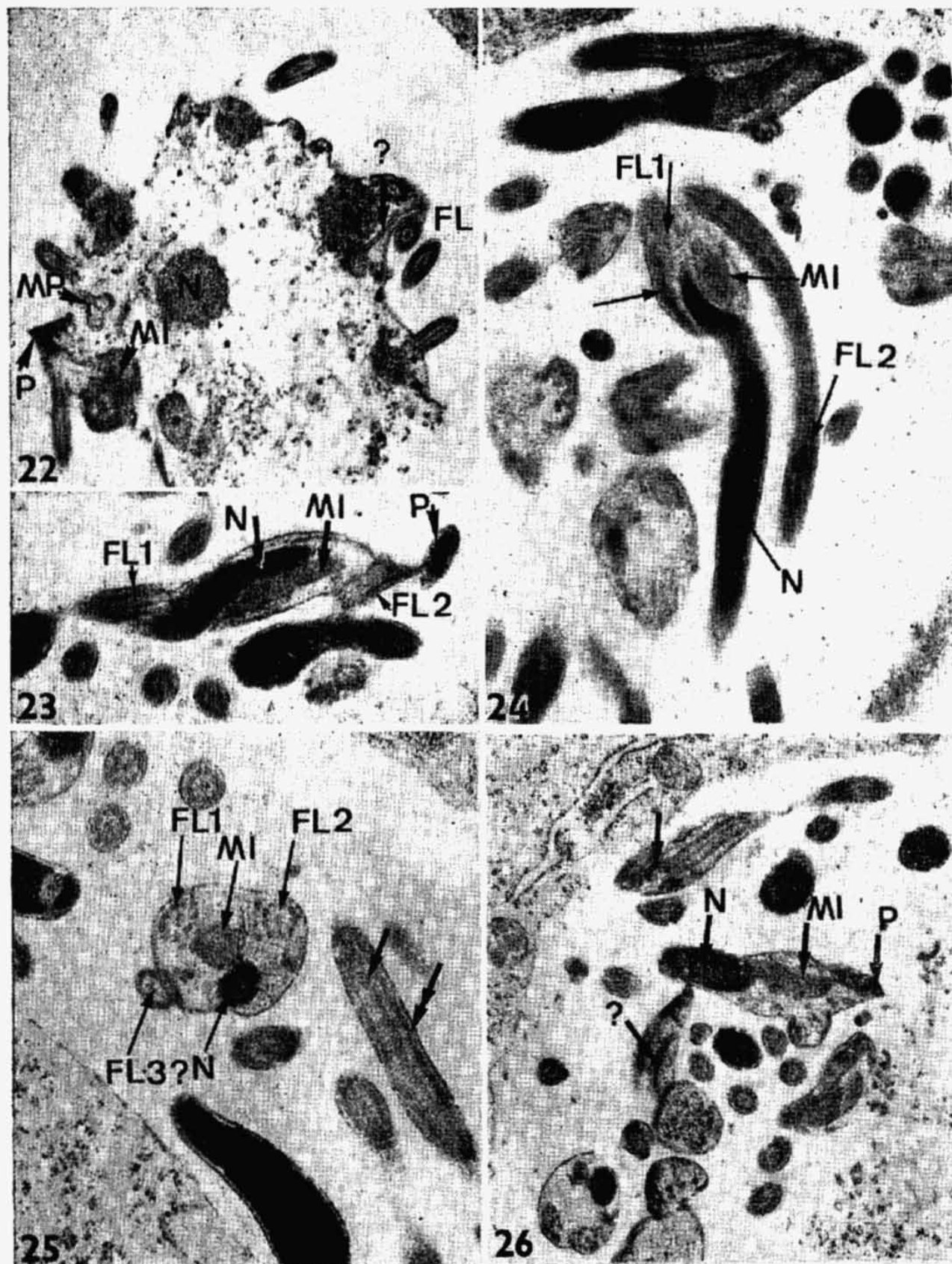


Planche VI.

Fig. 22. *E. pragensis*. Coupe de la zone corticale d'un microgamétoyte. Le perforatorium marque l'apex d'un futur microgamète. 2 micropores sont visibles ainsi qu'une structure hétérogène (?) en forme de baguette. × 16 520

Fig. 23. *E. pragensis*. Coupe longitudinale d'un microgamète montrant une partie du perforatorium × 14 600

Fig. 24. *E. pragensis*. Coupe pratiquement sagittale d'un microgamète mûr. Notez les 2 flagelles, la mitochondrie et la baguette hétérogène. × 21 950

Fig. 25. *E. pragensis*. Coupe transversale d'un microgamète. Notez la constitution d'un des flagelles (fibres centrioles — flèche), fibres périphériques (double flèche). × 21 100

Fig. 26. *E. pragensis*. Coupe des microgamètes mûrs montrant les différents structures cellulaires. × 14 600

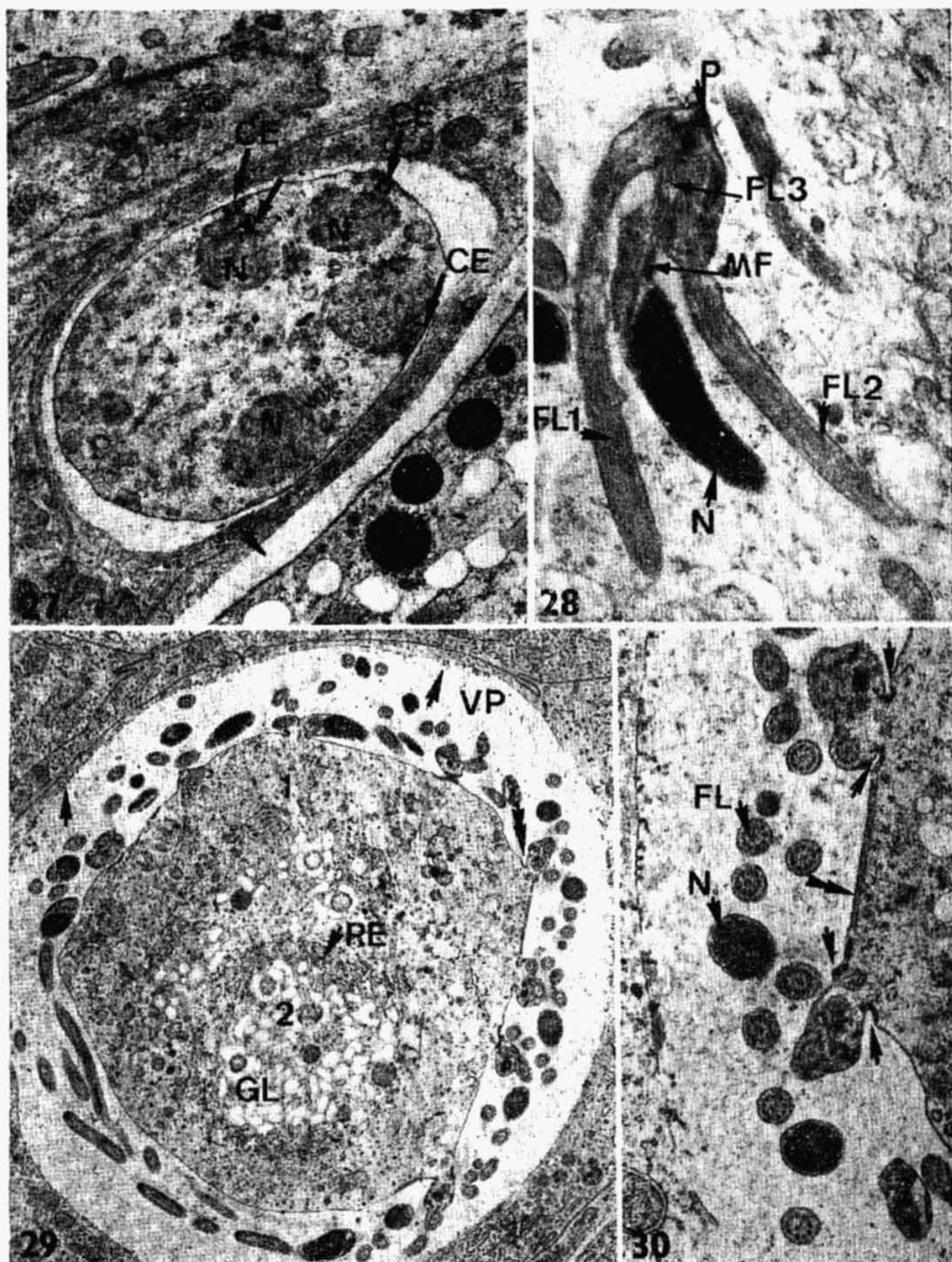


Planche VII.

Fig. 27. *E. falciformis*. Coupe d'un microgamèteocyte dans une vacuole parasitophore, montrant les unités nucléaires orientées par des centriocônes (flèches) associés à des structures centriolaires.

× 8 950

Fig. 28. *E. falciformis*. Coupe longitudinale d'un microgamète mûr.

× 21 950

Fig. 29. *E. falciformis*. Vue générale d'un microgamèteocyte mûr dans une vacuole parasitophore. Notez la présence des invaginations (double flèche); le residuum est constitué d'une zone homogène périphérique (1) entourant une zone centrale lacuneuse (2) constituée de réserve polysaccharidique et de reticulum endoplasmique.

× 5 850

Fig. 30. *E. falciformis*. Vue à un plus fort grossissement de l'isolement des microgamètes par invagination (flèches). Notez la présence de structures microtubulaires sous la pellicule (double flèche).

× 16 250

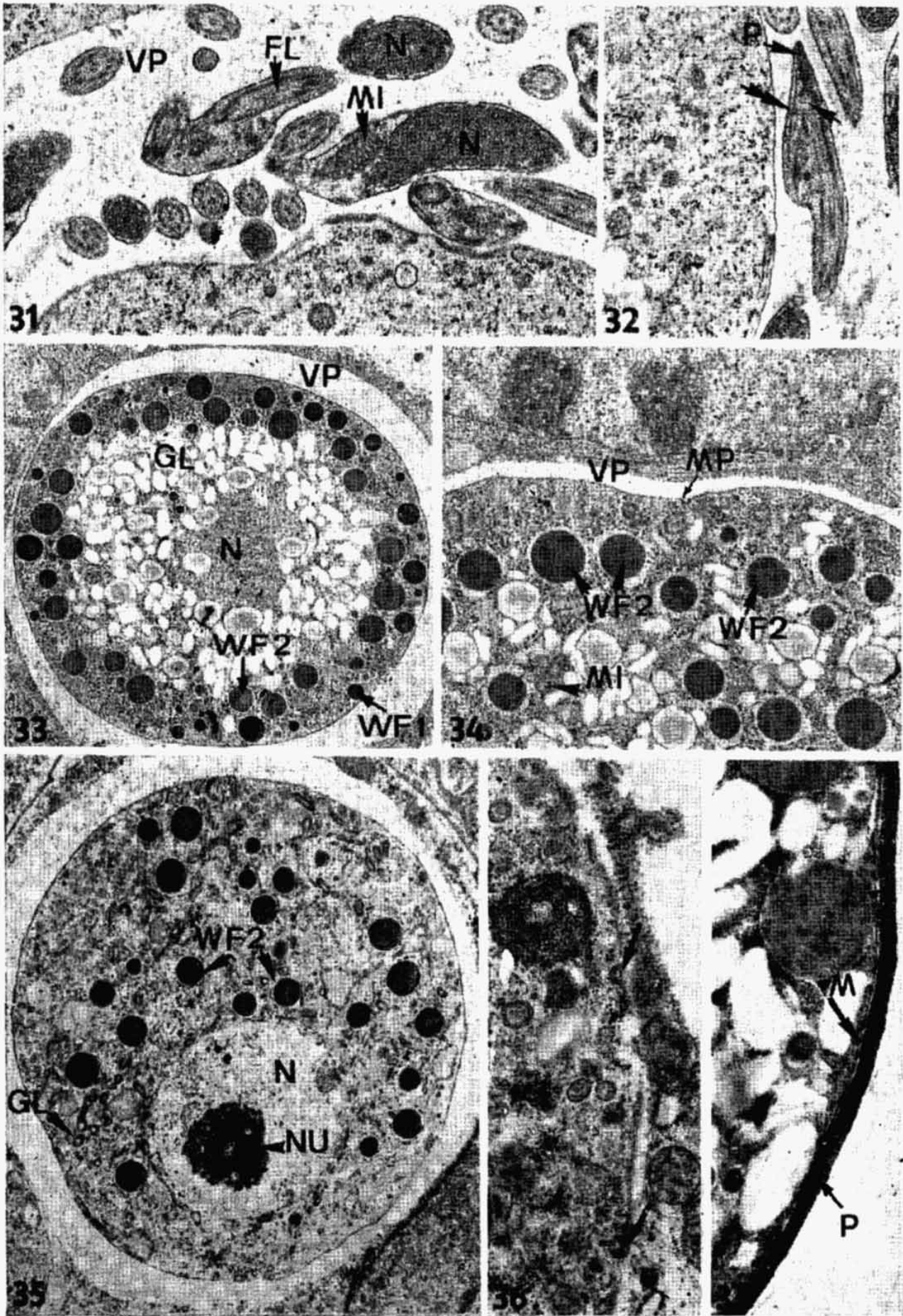


Fig. 35. *E. pragensis*, coupe d'un jeune macrogamonte × 7 300
Fig. 36. *E. pragensis*. Coupe de la paroi d'un macrogamonte montrant la présence de 2 micropores (flèches) × 16 250
Fig. 37. *E. pragensis*. Coupe de la paroi d'un oocyste. La membrane cellulaire est sous jacente une paroi complexe essentiellement constituée de 2 stratés denses. × 13 000