

## Étude histochimique du contenu caecal des schistosomes

par P. PICART et S. GRETILLAT

### RÉSUMÉ

A l'aide d'une série de tests histochimiques différentiels, faits sur coupes histologiques transversales de schistosomes adultes mâles et femelles (*Schistosoma curassoni*), il est possible d'établir l'analogie entre le pigment intracaecal de ces helminthes et celui présent dans le système réticulo-endothélial du foie, des poumons, et des reins de ruminants infestés par ces parasites.

Ce pigment n'existe que dans les caecums de la femelle, ne contient pas de fer aisément décelable et appartient au groupe des mélanines.

Sur schistosomes vivants, examinés immédiatement après prélèvement, il est remarquable de pouvoir suivre, principalement chez la femelle, le trajet des tubes caeaux qui se détachent nettement sur le fond gris blanchâtre du corps de l'helminthe.

Un examen plus détaillé montre que la lumière des caecums est occupée par une masse de couleur marron très foncé chez la femelle et marron plus ou moins clair chez le mâle.

La fixation à l'alcool à 60/70° atténue la couleur et parfois décolore complètement le contenu intestinal du mâle, celui de la femelle gardant sa couleur initiale très foncée.

Étudiant la localisation et la nature du pigment bilharzien présent dans le foie d'animaux de laboratoire infestés expérimentalement par *Schistosoma mansoni*, *Sch. japonicum* et *Sch. haematobium*, MELENEY et coll. écrivent en 1953 :

« Un pigment hématique, excrété de l'intestin des vers adultes, s'accumule dans les cellules de Kupffer et les histiocytes des espaces porte et des lésions dues aux œufs, ... »

Ces auteurs émettent donc l'hypothèse de l'identité du pigment bilharzien intrahépatique et du contenu des caecums de l'helminthe.

Nous avons récemment signalé (GRETILLAT & PICART, 1964) chez les femelles gravides de *Sch. curassoni*, la présence dans le tube intestinal d'un pigment sinon identique du moins très voisin de celui rencontré dans les cellules de Kupffer et les histiocytes péri-alvéolaires du poumon de petits ruminants fortement infestés de schistosomiase intestinale.

La présente note est le compte rendu d'un travail fait sur coupes histologiques de schistosomes adultes mâles et femelles, soumises à des tests histochimiques dans le but de déterminer la nature chimique du contenu intestinal des schistosomes.

**Matériel d'expérience.** — Une trentaine d'exemplaires adultes mâles et femelles prélevés dans les veines mésentériques d'un mouton sacrifié aux abattoirs de Dakar.

**Protocole expérimental.** — Le matériel est déshydraté, inclus dans la paraffine, puis monté

sur lames en coupes transversales de 5  $\mu$  d'épaisseur.

Une fois déparaffinées, les coupes sont soumises aux tests différentiels suivants, complétés pour certains d'entre eux par une coloration de fond à l'hématoxyline-éosine.

1° *Fluorescence en lumière de WOOD* (lumière ultraviolette).

2° *Solubilité dans les acides minéraux* :  $\text{SO}_4\text{H}^2$  à 10 p. 100.

3° *Solubilité dans les bases minérales* :  $\text{KOH}$  à 10 p. 100.

4° *Décoloration par les agents oxydants*, bain oxydant de MAYER (in Lison, 1960).

5° *Présence de fer aisément décelable*, réaction de PERLS, variante Lison (in Lison, 1960).

6° *Présence de fer après démasquage*, démasquage à l'alcool acide de Macallum (1895 et 1905).

7° *Recherche du fer après incinération* : a) microincinération de POLICART (1953) ; b) et technique personnelle de microincinération (\*).

8° *Coloration par colorants des graisses* (chromolipoides).

9° *Réaction argentaffine par le procédé de MASSON* (MASSON, 1914).

10° *Solubilité dans les polysulfures*, sulfure d'ammonium (in Lison, 1960).

### Interprétation des résultats obtenus au cours de ces réactions différentielles

#### a) Localisation du pigment intracaecal des schistosomes.

Trouvé en abondance dans la totalité du tube

(\*). Pratiquer la microincinération sur un brûleur électrique de HOFFMAN sans aller jusqu'à une minéralisation totale qui détruirait le fin réticule de matières organiques maintenant le pigment en place dans la lumière du caecum et qui, après incinération va fixer les cendres.

Placer sur la coupe ainsi semi-minéralisée une goutte d'un mélange à parties égales de :

Ferrocyanure de potassium à 2 p. 100	à	Les cendres renfermant du fer se détachent en bleu sombre sur le fond brun de la coupe.
Acide chlorhydrique à 2 p. 100		

intestinal de la femelle, il est absent de celui du mâle (photo n° 1) (photo n° 2).

Au niveau du caecum unique (zone des glandes vitellogènes), il est maintenu en place dans la lumière du tube par un fin réticule tendu entre les parois caecales, recouvertes et imprégnées par endroits d'îlots pigmentaires (photo n° 1).

Le pigment est constitué par de petites granulations de 0,6 à 0,9  $\mu$  de diamètre, marron foncé et plus ou moins réfringentes. Examiné sous une certaine épaisseur, l'ensemble de la masse centrale, emplissant la lumière intestinale, a une couleur pouvant aller jusqu'au marron très foncé.

#### b) Résultats des réactions différentielles faites sur coupes histologiques.

Le contenu caecal des femelles :

1° ne présente aucune fluorescence en lumière Wood ;

2° est insoluble dans les acides minéraux. Il est cependant décoloré par l'alcool sulfurique à 2 p. 100 (alcool à 95°). S'agit-il ici de la réaction utilisée par SAWADA et coll. en 1956, sous le nom de « alcool sulfate » ?

3° est soluble dans les bases minérales. Se décolore en 15 mn environ dans une solution de  $\text{KOH}$  à 5 p. 100. Seul le réticule maintenant le pigment au centre du caecum persiste si l'on prend certaines précautions (photo n° 3) ;

4° est décoloré très rapidement par les agents oxydants. Réaction de MAYER au chlore. Comme dans la réaction avec les bases minérales, seul un fin stroma est visible dans la lumière caecale (photo n° 4) ;

5° ne contient pas de fer aisément décelable (réaction de PERLS, variante Lison) ;

6° ne contient pas de fer colorable après technique de démasquage de Macallum à l'alcool acide.

7° après microincinération et imprégnation des cendres par le ferrocyanure de potassium à 2 p. 100 en milieu chlorhydrique, donne les réactions du fer ferrique. Le contenu caecal du mâle donne les mêmes réactions quoique ne renfermant pas de pigment ;

8° n'est pas coloré par les colorants des graisses ;

9° réduit les sels d'argentamine (MASSON). Il est cependant difficile d'apprécier l'intensité

de la réaction étant donné la coloration initiale brun-noir du substrat (photo n° 5) ;

10° n'est pas soluble dans le sulfure d'ammonium.

## DISCUSSION

A la lecture des résultats rassemblés dans le tableau ci-dessus, le pigment intracaecal des femelles de schistosomes peut être considéré comme :

1° différent des chromolipoides (absence de fer décelable et non colorable par les colorants des graisses) ;

2° différent de l'hématoïdine qui n'est pas décolorée par les agents oxydants ;

3° différent de l'hémosidérine, qui est soluble dans les acides minéraux mais non dans les bases, n'est pas décolorée par les agents oxydants et ne donne pas de réaction argentaffine ;

4° différent du pigment type palustre soluble dans le sulfure d'ammonium et qui a une réaction argentaffine négative ;

5° analogue aux mélanines par ses caractères de solubilité.

Il est soluble dans l'alcool sulfurique, mais nous n'avons trouvé dans la bibliographie aucune référence quant au comportement des mélanines dans un tel milieu.

Les caecums des femelles et des mâles de schistosomes renferment du fer que l'on ne peut mettre en évidence que par des techniques brutales de démasquage (microincinération de POLICART). Ce fer provient vraisemblablement de l'hémoglobine du sang dont se nourrit le schistosome.

Au contraire, le pigment qui n'existe que dans les caecums de la femelle ne contient aucun fer aisément décelable et a des caractères chimiques semblables aux dépôts mélaniques rencontrés dans les cellules du système réticulo-endothélial du foie, des poumons et des reins des animaux fortement infestés de bilharziose (GRETILLAT et PICART, 1964) (photo n° 6).

LEROUX en 1929, signale l'importance des dépôts pigmentaires dans le foie et les poumons d'ovins parasités par *Sch. matthei*, mais ne donne aucune précision sur leur nature et leur origine.

LAGRANGE et SCHEEMANS en 1951 prétendent qu'ils sont une des résultantes de la digestion du sang par les schistosomes. « L'abondance

de pigment résidu de la digestion de l'hémoglobine, témoigne néanmoins de la consommation du sang ».

Malheureusement, ces auteurs n'apportent aucune preuve permettant de rattacher ces déchets à de l'hémosidérine ou à tout autre produit de dégradation de l'hémoglobine.

MELENEY et coll. en 1953, considèrent le pigment intrahépatique comme identique à celui trouvé dans la lumière intestinale des schistosomes. Ils l'appellent « hématin pigment » sans démontrer cependant qu'il renferme du fer aisément décelable.

COELHO en 1952, met seulement l'accent sur l'action délabrante possible de ces dépôts intrahépatiques sans parler de leur origine et de leur nature chimique.

A notre connaissance, seuls SADAWA et coll. en 1956, par une série de tests analogues à ceux que nous avons utilisés (\*), démontrent l'absence de fer et la nature mélanique du pigment bilharzien trouvé dans les cellules de KUPFFER.

N'ayant travaillé que sur coupes d'organes (foie), ces auteurs ne pouvaient remarquer la similitude chimique existant entre le contenu intracaecal de la femelle du schistosome et les dépôts pigmentaires intrahépatiques.

### Résumé et conclusion

A l'aide d'une série de tests histochimiques différentiels, faits sur coupes histologiques transversales de schistosomes adultes mâles et femelles (*Schistosoma curassoni*), il est possible d'établir l'analogie entre le pigment intracaecal de ces helminthes et celui présent dans le système réticulo-endothélial du foie, des poumons, et des reins de ruminants infestés par ces parasites.

Ce pigment n'existe que dans les cæca de la femelle, ne contient pas de fer aisément décelable et appartient au groupe des mélanines.

*Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des  
Pays tropicaux.*

*Laboratoire national de l'Elevage et de  
Recherches vétérinaires.*

*Services de Biochimie et d'Helminthologie  
Dakar-Hann (Sénégal)*

(\*) Pour le détail de ces techniques, voir l'article GRETILLAT & PICART, 1964, 17, 3, p. 433-40.

TABLEAU

	Chromolipoïde	Hématoïdine	Hémosidérine	Hémoglobine	Pigment type palustre	Mélanine	Pigment du foie, poumon, rein	Cœcum
Fluorescence	++							
Solubilité/ acide minéral			++					
Solubilité/ base minérale		+			++	+	+	+
Décoloration/ oxydant					+	++	++	++
Fer facilement décelable	+		++					
Fer après démasquage	++		++		++			
Fer après microincinération	++		++	++	++			++(x)
Col. des graisses	+							
Réaction argentaffine		+				++	+	+(xx)
Solubilité de Sulfure NH <sup>4</sup>					++			

(x) - Le fer mis en évidence dans le cœcum du mâle et de la femelle n'est décelable qu'après une technique brutale de démasquage (microincinération). Il provient vraisemblablement de l'hémoglobine du sang contenu dans les coeca, et non du pigment lui-même qui, s'il était ferrique aurait son fer aisément décelable par les réactions de Perl's ou de MacCallum.

(xx) - Une croix unique s'explique par le fait qu'il est parfois difficile d'évaluer l'intensité de la réaction, la coloration initiale brune foncée du substrat gênant la lecture.



*Photo n° 1* — Coupe transversale de schistosomes mâle et femelle colorée à l'hématoxyline éosine. Le caecum unique de la femelle au niveau de la région des glandes vitellogènes contient du pigment qui recouvre les parois du tube intestinal et qui par endroits est inclus dans les cellules mêmes du caecum. Les diverticules caecaux du mâle ne renferment aucun pigment.



*Photo n° 2.* — Coupe transversale de schistosomes mâle et femelle colorée à l'hématoxyline éosine. La coupe passe par la partie antérieure de la femelle et l'on aperçoit particulièrement dans l'une des branches caecales des amas importants de pigment.



Photo n° 3. — Coupe transversale de schistosomes mâle et femelle. Traitement par la potasse à 10 p. 100 puis coloration du fond à l'hématoxyline éosine. Le pigment intracaecal de la femelle a été dissous et il ne reste plus que le réticule lui servant de support.

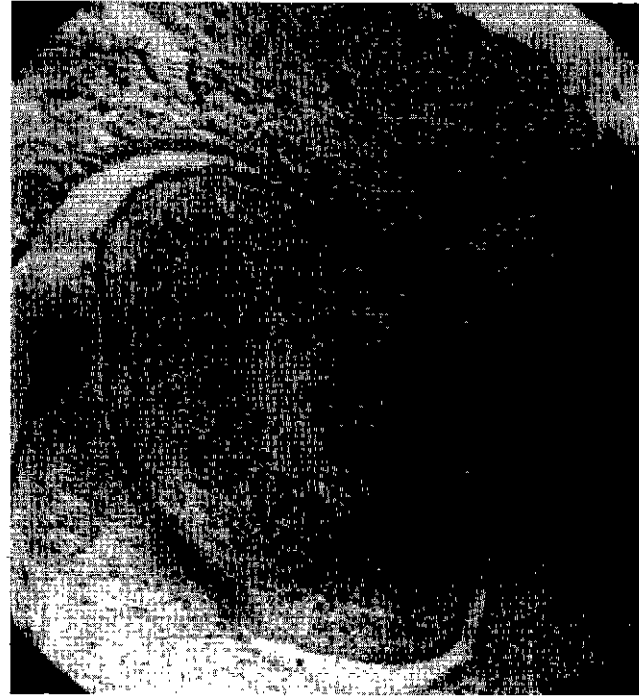
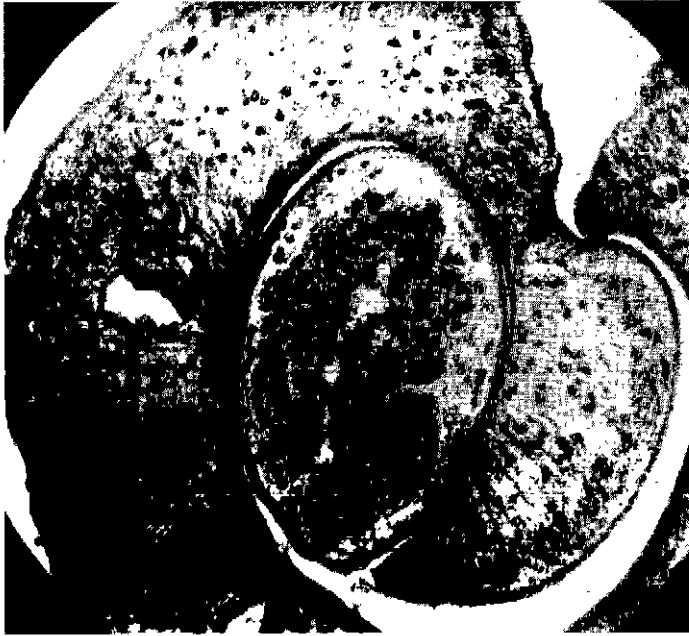
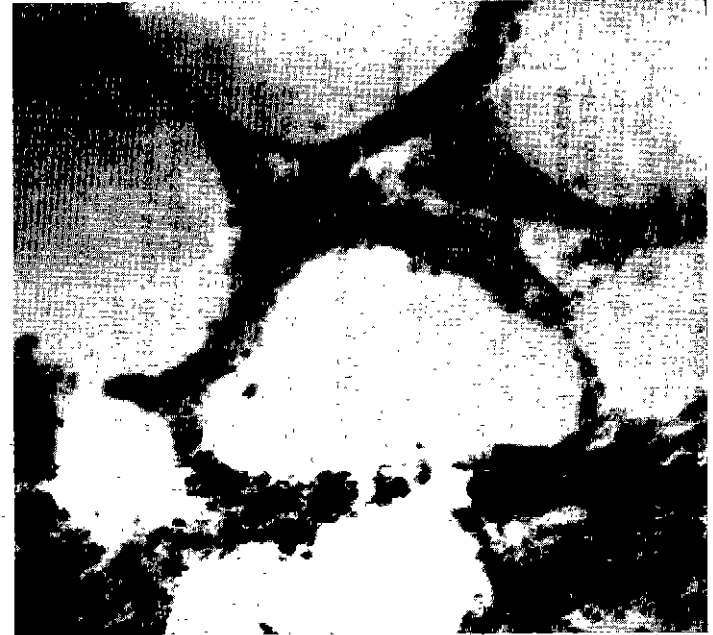


Photo n° 4. — Coupe transversale de schistosomes mâle et femelle. Traitement par les agents oxydants, puis coloration du fond à l'hématoxyline éosine. Le pigment intracaecal de la femelle a été complètement décoloré et seul n'est visible que le fin réticule qui maintenait en place le pigment. Les glandes vitellogènes sont bien mises en évidence par la coloration finale.





*Photo n° 5.* — Coupe transversale de schistosomes mâle et femelle. Soumis à la réaction argentaffine, le pigment caecal femelle apparaît très foncé mais le degré d'intensité de la réaction est difficile à évaluer en raison de la coloration initiale déjà très sombre du substrat. Les glandes vitellogènes ont aussi une réaction argentaffine positive, mais certains tests différentiels histochimiques dont nous ne donnons pas les détails dans la présente note, laissent supposer que les granulations des glandes vitellogènes qui se colorent fortement en noir par le procédé de Masson, sont constituées par des polyphénols.



*Photo n° 6.* — Coupe de poumon d'ovine atteint de schistosomiase intestinale. Coloration à l'hématoxyline éosine. Des dépôts massifs de pigment bilharzien, de nature chimique semblable à celle du pigment intracaecal des femelles de schistosomes sont localisés au niveau des histiocytes péri-alvéolaires pulmonaires.

## SUMMARY

## Histochemical study of the cecal contents of the schistosomes

By means of a series of differential histochemical tests carried out on transverse histological sections of adult male and female schistosomes (*Schistosoma curassoni*), it is possible to establish the analogy between the intracecal pigment of these helminths and that found present in the reticulo-endothelial system of the liver, lungs and kidneys of ruminants infested by these parasites.

This pigment is only in the female caecum, does not contain easily detectable iron and belongs to the melanin group.

## RESUMEN

## Estudio histoquímico del contenido cecal de los esquistosomas

Con una serie de pruebas histoquímicas diferenciales, hechas sobre cortes histológicas transversales de esquistosomas adultos machos y hembras (*Schistosoma curassoni*), es posible establecer la analogía entre el pigmento intracecal de estos helmintos y el presente en el sistema reticulo-endotelial del hígado, de los pulmones, y de los riñones de rumiantes infectados con estos parásitos.

Este pigmento existe solo en el ceco de la hembra, no contiene hierro revelable fácilmente y pertenece al grupo de las melaninas.

## BIBLIOGRAPHIE

- COELHO, B. (1952). — *Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães*, 1, p. 61.
- GÖNNERT, R. (1955). — *Z. Tropenmed. Parasit.*, 6, p. 257.
- GRETILLAT, S. & PICART, P. (1964). — *Rev. El. Med. vet. Pays trop.* 1<sup>er</sup> Congrès Inter. Parasit. Rome, sept. 1964, 17, 3, p. 433.
- LAGRANGE, E. & SCHEEMANS, G. (1951). — *Ann. Parasit. hum. comp.*, 26 (4), p. 334.
- LE ROUX, P. L. (1929). — *15th Ann. Rept. Dir. Vet. Serv., Un. S. Afr.*, p. 347.
- LISON, L. (1960). — *Histochimie et Cytochimie animales. Principes et méthodes*. Gauthier-Villars Ed., 3<sup>e</sup> Ed., 2 vol., 842 pages.
- MACALLUM, A. B. (1895). — *J. microsc. Soc.*, p. 175.
- MACALLUM, A. B. (1905). — *J. Physiol.*, p. 95.
- MASSON, M. P. (1914). — *C. R. Acad. Sci.*, 158, p. 59.
- MELENEY, H. E., SANDGROUND, J. H., MOORE D. B., MOST, H. et CARNEY, B. H. (1953). — *Amer. J. trop. med. hyg.*, 2, p. 883.
- POLICARD, A. P. (1953). — *Bull. hist. Appl.*, 51, p. 160.
- SAWADA, T., HARA, K., TAGAKI, K., NAGAZAWA, Y. et OKA, S. (1956). — *Amer. j. trop. med. hyg.*, 5 p. 847.