

**APPROCHE ULTRASTRUCTURALE
DES MÉCANISMES DE DÉFENSE
A MÉDIATION CELLULAIRE
CHEZ LES MOLLUSQUES
HÔTES INTERMÉDIAIRES
DES SCHISTOSOMES**

par Dominique Morona
licenciée en Biologie

Thèse
présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel
pour l'obtention du grade de docteur ès Sciences

Février 1987

A mes parents

IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

Approche ultrastructurale des mécanismes de
défense à médiation cellulaire chez les
Mollusques hôtes intermédiaires des
Schistosomes

de Mademoiselle Dominique Morona

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL
FACULTÉ DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel,
sur le rapport des membres du jury,

Messieurs A. Aeschlimann, P.A. Diehl,
Cl. Combes et J. Jourdane (Perpignan),
T. Degremont (Bâle) et Th. Cheng (Charleston)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 20 mars 1987

Le doyen:

François Sigrist
François Sigrist

APPROCHE ULTRASTRUCTURALE DES MECANISMES DE DEFENSE
A MEDIATION CELLULAIRE CHEZ LES MOLLUSQUES HOTES
INTERMEDIAIRES DES SCHISTOSOMES

par Dominique Morona
licenciée en Biologie

Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université
de Neuchâtel pour l'obtention du grade de docteur ès Sciences.
Février 1987

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION

1. Les schistosomiasés et leur répartition géographique	1
2. Cycle évolutif des schistosomes. Exemple de <u>Schistosoma mansoni</u>	3
3. Développement intramolluscal de <u>S. mansoni</u> chez <u>Biomphalaria glabrata</u>	4
4. Buts du travail	5
5. Contexte de la littérature	7

II. MATERIEL ET METHODES

A. Mollusques et parasites utilisés. Elevages	9
1. Mollusques	9
2. Parasites	9
3. Elevage des mollusques	9
B. Entretien du cycle de <u>Schistosoma mansoni</u> B	10
1. Infestation de l'hôte définitif	10
1.1. Récolte des cercaires	10
1.2. Infestation	10
2. Infestation de l'hôte intermédiaire	10
2.1. Récolte des oeufs	10
2.2. Eclosion des oeufs	11
2.3. Infestation des mollusques	11
C. Technique de transplantation microchirurgicale	11
1. Opération	11
1.1. Préparation des mollusques	12
1.2. Excision des explants	13
1.3. Transplantation	13
1.4. Traitement post-opératoire	13
2. Récupération des greffons	14

3. Cryofracture des greffon	14
D. Traitement de l'hémolymphe de <u>B. glabrata</u> pour l'observation des hémocytes au microscope électronique	14
1. Collecte de l'hémolymphe	14
2. Préparation et incubation	15
2.1. Préparation	
2.2. Incubation	
E. Traitement de l'hémolymphe d' <u>O. hupensis</u> pour l'observation des hémocytes au microscope électronique à balayage	15
1. Collecte de l'hémolymphe	
2. Incubation et fixation	
F. Fixations	16
1. Microscopie électronique à balayage	16
1.1. Hémolymphe	
1.2. Greffons	
2. Microscopie électronique à transmission	17
2.1. Greffons	17
2.2. Glande digestive de <u>B. glabrata</u> non infectée	18

III. LES CELLULES DE DEFENSE. STRUCTURE ET FONCTION

A. Résultats	19
1. Les hémocytes de <u>B. glabrata</u>	19
1.1. Description des types cellulaires au microscope électronique à transmission	19

1.1.1. Les granulocytes	19
1.1.2. Les hyalinocytes	20
1.2. Comptage des cellules	20
1.2.1. Mollusque sain	
1.2.2. Mollusque infecté	
1.3. Evolution, <u>in vitro</u> , des hémocytes de <u>B. glabrata</u> . Observation au MEB	21
1.3.1. Comportement des cellules au contact du support	21
1.3.2. Définition des stades évolutifs	21
a. Stade 1	
b. Stade 2	
c. Stade 3	
d. Stade 4	
e. Stade 5	
2. Les hémocytes d' <u>O. hupensis</u> . Evolution des hémocytes <u>in vitro</u> et observation au microscope électronique à balayage	23
B. Analyse et interprétation	23
1. Nature et dénombrement des hémocytes	23
2. Variations quantitatives et qualitatives lors de l'infestation	25
3. Comportement des hémocytes <u>in vitro</u>	25
IV. <u>ETUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA REPONSE CELLULAIRE DU MOLLUSQUE AUX GREFFES</u>	27
A. Etude comparative de la réponse du mollusque au cours de transplantations de tissus de nature zoologique différente	30
1. Protocole expérimental	30
2. Résultats	30
2.1. Etat du greffon 2 heures après la transplantation	30
2.1.1. Observations au MEB	
2.1.2. Observations au MET	

2.2. Etat du greffon 24 heures après la transplantation	31
2.2.1. Observations au MEB	
2.2.2. Observations au MET	
2.3. Etat du greffon 48 heures après la transplantation	32
2.3.1. Observations au MEB	
2.3.2. Observations au MET	
2.4. Etat du greffon 7 jours après la transplantation	33
2.4.1. Observations au MEB	
2.4.2. Observations au MET	
2.5. Cas des hyalinocytes	33
3. Analyse et interprétation	34
B. Etude comparative de la réponse du mollusque au cours de transplantations faisant intervenir des combinaisons "hôte-parasite" compatibles et incompatibles	37
1. Protocole expérimental	37
2. Résultats	37
Transplantation de <u>S. mansoni</u> B et <u>S. mansoni</u> G sur <u>B. glabrata</u> B	37
2.1. Etat du greffon 2 heures après la transplantation	37
2.1.1. Greffon composé de <u>S. mansoni</u> B	
2.1.2. Greffon composé de <u>S. mansoni</u> G	
2.2. Etat du greffon 24 heures après la transplantation	38
2.2.1. Greffon composé de <u>S. mansoni</u> B	
2.2.2. Greffon composé de <u>S. mansoni</u> G	
2.3. Etat du greffon 48 heures après la transplantation	39
2.3.1. Greffon composé de <u>S. mansoni</u> B	
2.3.2. Greffon composé de <u>S. mansoni</u> G	

Transplantation de <u>S. haematobium</u> N sur <u>B. truncatus</u> E	40
2.4. Etat du greffon 2 heures après la transplantation	40
2.5. Etat du greffon 24 heures après la transplantation	40
2.6. Etat du greffon 48 heures après la transplantation	41
3. Analyse et interprétation	42
C. Etude comparative de la réponse du mollusque au cours de transplantations faisant intervenir des combinaisons "hôte-parasite" artificielles	45
1. Protocole expérimental	45
2. Résultats	45
2.1. Transplantation de <u>S. mansoni</u> B sur <u>B. truncatus</u> E	45
2.1.1. Etat du greffon 2 heures après la transplantation	45
2.1.2. Etat du greffon 24 heures après la transplantation	46
2.1.3. Etat du greffon 48 heures après la transplantation	46
2.2. Transplantation de <u>S. mansoni</u> B sur <u>O. hupensis</u> J	47
2.2.1. Etat du greffon 2 heures après la transplantation	47
2.2.2. Etat du greffon 24 heures après la transplantation	47
2.2.3. Etat du greffon 48 heures après la transplantation	47
3. Analyse et interprétation	48

V. LES MECANISMES DE DEFENSE CHEZ LES MOLLUSQUES

Avant-propos	50
A. La reconnaissance du self et du non-self	50
B. Les mécanismes de défense à médiation cellulaire	57
1. L'encapsulation	57
1.1. Processus d'encapsulation d'après les études au MEB	57
1.2. Processus d'encapsulation d'après les études au MET	58
1.3. Intervention de chaque type cellulaire	59
1.4. Matériel fibrillaire	61
1.5. Evolution dans le temps	62
1.6. Comparaison de la réaction chez trois espèces de mollusques.	63
2. La phagocytose	63
C. Les mécanismes de défense à médiation humorale	67
1. Les facteurs agglutinants et lytiques	67
2. Les facteurs opsonisants	68
3. Les facteurs de reconnaissance	69
D. Synthèse	70
VI. <u>IMPORTANCE DU TRAVAIL DANS LE CONTEXTE ACTUEL DE LA RECHERCHE SUR LA BILHARZIOSE</u>	72
VII. <u>CONCLUSION GENERALE ET RESUME</u>	74
VIII. <u>REMERCIEMENTS</u>	76
Bibliographie	77

I. INTRODUCTION

1. Les schistosomiasés et leur répartition géographique

Les schistosomiasés ou bilharziosés sont des helminthiasés de l'appareil circulatoire des Mammifères et des Oiseaux, dues à des Trématodes digènes de la famille des Schistosomatidae (Poche, 1907).

Les stades larvaires se développent chez un mollusque aquatique.

Les bilharziosés humaines sont causées par des Trématodes du genre Schistosoma dont cinq espèces sont pathogènes pour l'homme : S. haematobium, S. mansoni, S. japonicum, S. intercalatum, S. mekongi. Elles appartiennent à des groupes ou complexes (Kuntz, 1955) centrés autour des 3 premières espèces citées. Ainsi, S. intercalatum fait partie du groupe haematobium et S. mekongi, du groupe japonicum.

Ces infections déterminent des maladies endémiques dans une septantaine de pays tropicaux ou subtropicaux où elles sont même en extension, principalement en raison du développement hydrique et agricole. L'Organisation Mondiale de la Santé estime à 200 millions le nombre de sujets parasités et à 600 millions le nombre d'individus exposés au risque d'infestation.

Les espèces sus-mentionnées se différencient par l'anatomie des larves et des adultes, leur répartition géographique, les modalités de leur cycle de développement, leur affinité plus ou moins prononcée pour l'homme et enfin leur degré de pathogénicité. La figure 1 illustre la répartition géographique des deux espèces parasitaires utilisées dans nos expériences.

1.1. S. haematobium, Bilharz, 1852.

Ce ver est responsable de la schistosomiase uro-génitale et, au stade adulte, est localisé dans le plexus veineux pérvésical.

Son aire de répartition couvre toute l'Afrique, atteint le Proche-Orient et le Moyen-Orient jusqu'à la frontière irano-afghane.

L'hôte intermédiaire est un mollusque Fulmoné du genre Bulinus, Müller, 1781. C'est la schistosomiase la plus anthropophile.

1.2. S. mansoni, Sambon, 1907.

Les adultes vivent accouplés dans les ramifications de la veine porte. La ponte se fait dans les veinules mésentériques. Agent de la schistosomiase afro-américaine, son aire de

répartition couvre l'Afrique intertropicale et la vallée de Nil, s'étendant également en Arabie Saoudite et en Israël. Introduite en Amérique lors des déplacements très importants de populations noires, originaires des côtes occidentales de l'Afrique, à partir du 16^{ème} siècle, cette parasitose y a trouvé un hôte intermédiaire favorable et sévit maintenant dans tout le Nord-Est du continent sud-américain et les îles de l'Archipel des Antilles.

L'hôte intermédiaire est un Planorbe du genre Biomphalaria, Preston, 1910. L'homme est l'hôte définitif le plus important mais on peut observer la maladie chez des primates, des rongeurs et des marsupiaux.

1.3. S. japonicum, Katsurada, 1904.

Cette schistosomiase artério-veineuse est la plus pathogène car elle est mal adaptée à l'homme. En effet, elle touche un large éventail d'hôtes définitifs, animaux domestiques ou sauvages. Certaines souches sont strictement zoophiles.

C'est une bilharziose sino-japonaise, couvrant les régions basses d'Extrême-Orient : Thaïlande, Chine méridionale, Philippines, Célèbes, Taiwan et Malaisie.

L'hôte intermédiaire est un Prosobranche du genre Oncomelania, Gredler, 1881.

1.4. S. intercalatum, Fisher, 1934.

Ce ver provoque une affection rectale. Il sévit en Afrique occidentale : Zaïre, Gabon et Cameroun.

L'hôte intermédiaire appartient au genre Bulinus (s.-g. Physopsis).

1.5. S. mekongi, Vogé, Bruckner et Bruce, 1978.

Les adultes vivent dans les veines mésentériques supérieures et la veine porte. Le ver détermine une schistosomiase dans la péninsule indochinoise : Laos, Cambodge, Thaïlande, Malaisie.

Seuls le chien et l'homme sont parasités.

L'hôte intermédiaire est un Prosobranche de la famille des Hydrobiidae, Lithoglyphopsis aperta, Temcharoen, 1971.

La pathologie des schistosomiasés est surtout due à la réaction aberrante des tissus où les oeufs sont captifs. Les complications vont de la cystite avec hématurie pour S. haematobium, à l'atteinte viscérale diffuse, la cirrhose et des troubles nerveux pour S. japonicum et S. mekongi, en passant par des polyposes du rectum pour S. mansoni. S. intercalatum cause les mêmes symptômes généraux que S. mansoni, mais son atteinte est beaucoup plus douloureuse.

2. Cycle évolutif des schistosomes. Cas de *S. mansoni*

Les étapes du cycle ne varient guère d'une espèce à l'autre. Nous parlerons ici plus spécialement de *S. mansoni*, utilisé dans nos expériences (Fig. 2).

Au cours de leur développement, les Trématodes du genre *Schistosoma* sont obligatoirement parasites d'un Mammifère puis d'un Mollusque. Le développement complexe, comprenant quatre changements de milieu (Mammifère-eau-mollusque-eau, etc...), est réalisé par une succession de stades évolutifs, adaptés à chacune des étapes.

Les schistosomes adultes sont les parasites du Vertébré. Ils sont toujours de sexes séparés (Fig. 3e). La femelle filiforme est logée dans un canal gynécophore du mâle. Celui-ci mesure de 10 à 15 mm de long sur 1 mm de large. La femelle est plus longue (12 à 16 mm) et plus fine (0,16 mm de large). Les femelles se nourrissent de sang et produisent en moyenne 300 oeufs par jour au niveau des veines mésentériques de l'hôte. Il semble qu'une femelle aie une durée de vie beaucoup plus courte qu'on ne l'avait supposé. Elle ne vivrait que 2 ans, 5 ans au maximum (Malek, 1980). Ce stade assure la reproduction sexuée du parasite.

Les oeufs de *S. mansoni* ont un éperon latéral de 20 μm caractéristique. Ils mesurent environ 120 μm sur 60 μm (Fig. 3a). Une faible proportion des oeufs pondus dans les veines mésentériques parviennent à la paroi intestinale qu'ils franchissent pour être disséminés dans le milieu externe avec les fèces. Un bon nombre restent bloqués dans différents tissus (par exemple le tissu hépatique) où ils se comportent comme des corps étrangers toxiques, entraînant des complications et des lésions graves.

Au contact d'une eau douce et à une température suffisante (20 à 26°C), l'oeuf libère le miracidium, petite larve ciliée et nageante, mesurant de 200 à 250 μm (Fig. 3b). Elle assure la dispersion du parasite dans l'eau et l'infestation du mollusque en le pénétrant.

A l'intérieur d'un mollusque adéquat, le miracidium se transforme en sporocyste primaire qui produira les sporocystes-fils. Ces derniers colonisent la glande digestive de l'hôte intermédiaire et forment un nouveau stade larvaire, la cercaire (Fig. 3c), qui entrera elle-aussi en contact avec l'eau. L'émission cercarienne par un mollusque infecté peut se poursuivre pendant plusieurs semaines sous des conditions bien déterminées de température et d'éclairement (Théron, 1981 et 1982). Les étapes intramolluscales du cycle seront reprises en détail au point 3 de ce même chapitre.

Les cercaires, de type furcocercaire, représentent le second stade libre du développement des schistosomes. Elles mesurent 500 μm de long (Fig. 3d). Elles assurent une nouvelle dispersion du parasite dans l'eau et le passage à l'hôte définitif, par pénétration transcutanée lors du contact de

l'hôte avec l'eau contaminée. Une cercaire peut survivre environ 24 heures mais son infectivité diminue au-delà de 6 heures de vie libre (Théron, communication personnelle).

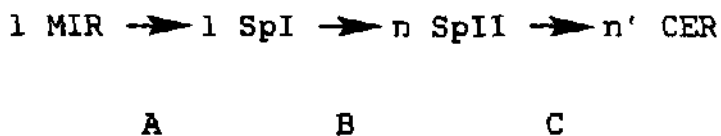
Lors de la pénétration dans le derme de l'hôte, les cercaires perdent leur queue et se transforment en schistosomules (Gordon et Griffiths, 1951). Ces derniers seront entraînés jusqu'aux poumons par le flux sanguin, y subiront quelques transformations et regagneront le cœur gauche. De là, ils seront renvoyés au foie où ils deviendront adultes en une vingtaine de jours.

Entre le bain contaminant et l'élimination des oeufs, il s'écoule 7 à 8 semaines (Malek, 1980).

3. Développement intramolluscal de *S. mansoni*

Le mollusque est le siège d'une reproduction asexuée intense du parasite qui colonise petit à petit toute la glande digestive.

Le développement connu de façon classique peut se résumer ainsi (Pan, 1965; Meuleman, 1972; Schutte, 1974 et 1975):



Les trois étapes d'un tel développement sont les suivantes:

A. Le miracidium se transforme en sporocyste primaire (SpI), le plus souvent au voisinage immédiat du point de pénétration. La métamorphose consiste en la perte de certaines structures : couverture ciliée, musculature, papilles sensorielles, glandes de pénétration. Elle aboutit au SpI, larve sacculaire contenant des cellules germinatives et des cellules réticulées.

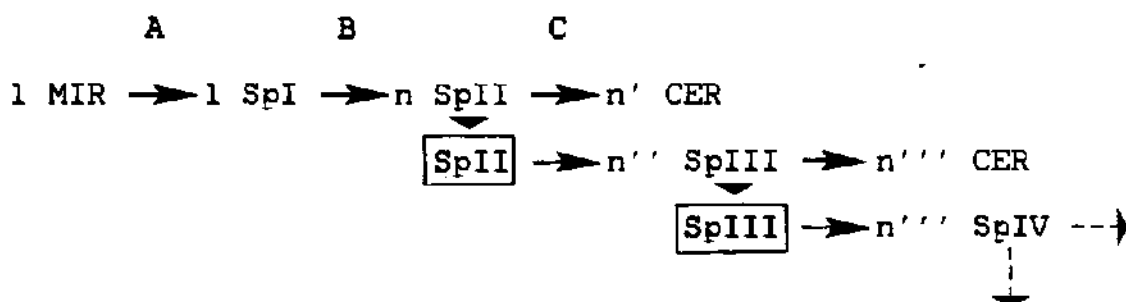
B. Les cellules germinatives prolifèrent, le SpI croît. La formation des sporocystes-fils (SpII) s'accomplit. Entre le 14ème et le 18ème jour après l'infestation du mollusque (Schutte, 1974), débute la migration des jeunes SpII vers la glande digestive. Au 20ème jour après l'infestation, la plupart des SpII ont atteint leur localisation définitive.

C. Les cellules germinatives contenues dans les SpII se différencient alors en cercaires (CER). La morphogénèse des

cercaires a été décrite avec précision par Cheng et Bier (1972) et par Schutte (1974). Pour une température de développement comprise entre 22 et 25°C, les émissions cercariennes débutent entre le 25 et 35ème jour après l'infection (Pflüger, 1980).

Des découvertes récentes (Jourdane et al., 1980-81) ont permis d'établir un nouveau modèle du développement intramolluscal des espèces du genre Schistosoma. La production larvaire des SpII de S. mansoni n'est pas orientée uniquement vers la production de cercaires. Un certain nombre de sporocystes-fils peuvent se reconvertir pour produire de nouvelles générations de sporocystes producteurs de cercaires. La participation de plusieurs générations de sporocystes-fils dans le cycle naturel de S. mansoni est un mode normal de répllication larvaire (Théron et Jourdane, 1979; Jourdane et al., 1980).

Voici le nouveau schéma, proposé par ces auteurs, du développement larvaire à l'intérieur du mollusque :



Ceci a également été démontré pour S. haematobium chez B. truncatus (Kechemir et Théron, 1980). La transplantation microchirurgicale de sporocystes n'est pas étrangère à la découverte des générations supplémentaires dans le développement de ces parasites (Chernin, 1966; Di Conza et Hansen, 1972; Hansen et al., 1974; Jourdane, 1978; Jourdane et Théron, 1980).

4. Buts du travail

Pourquoi les mollusques sont-ils des hôtes si fréquemment utilisés par les Trématodes ? Qu'est-ce qui détermine leur succès en tant qu'hôtes intermédiaires ?

Excepté le fait qu'ils sont nombreux et ubiquistes, il est tentant de chercher la réponse à cette question dans la nature des interrelations qu'ils entretiennent avec leurs parasites, en particulier sur le plan immunologique.

Au cours du cycle des schistosomes, deux étapes réduisent considérablement l'effectif de la population; ce sont les deux phases libres. Elles sont compensées à leur tour par deux phases d'accroissement : la multiplication sexuée à

l'intérieur de l'hôte définitif et la multiplication asexuée qui se déroule à l'intérieur d'un mollusque hôte intermédiaire. Ces étapes d'accroissement contribuent à la restauration d'un flux parasitaire, suffisant à maintenir une endémie.

Cependant, un Trématode n'évolue pas chez n'importe quel mollusque. Il existe une spécificité entre un parasite et son hôte. La notion de spécificité a été définie d'une manière précise par Euzet et Combes (1980) qui introduisent l'"angle d'exigence" du parasite et le "filtre éthologique", barrière naturelle à franchir pour l'hôte. La spécificité est alors une "appréciation numérique du spectre d'hôtes obtenu par le double tri de l'angle d'exigence et du filtre éthologique".

S. mansoni ne se développe que chez Biomphalaria sp et S. haematobium est inféodé à Bulinus sp. Une analyse plus fine montre que cette spécificité est encore plus poussée : tel schistosome n'évolue pas systématiquement sur telle espèce de mollusque mais chez une population bien déterminée de l'espèce, le plus souvent selon son origine géographique.

La coexistence entre un parasite et son hôte est réalisable grâce à la balance de plusieurs facteurs qui conduisent à une adaptation mutuelle. Notre but, dans ce travail, a été l'étude de la composante immunologique de cette spécificité. Rappelons ici que parmi les 75000 espèces vivantes de Gastéropodes (Barnes, 1980) (selon d'autres auteurs, de 35000 à 100000), seules 5 familles ont été étudiées du point de vue immunologique.

Cette étude a été réalisée à partir d'expérimentations dans lesquelles les mécanismes de défense ont été observés face à des allogreffes et à des greffes de parasites dans des systèmes compatibles, incompatibles et artificiels.

De plus, nous nous sommes demandé si les modalités de la réponse étaient invariablement identiques face à tous les parasites reconnus comme hétérologues et si la réaction de rejet se manifestait toujours de la même façon. En d'autres termes, nous avons voulu savoir si le mollusque avait la capacité de nuancer sa réponse selon le parasite en présence en témoignant ainsi d'une certaine finesse de son système immun.

Pour ce faire nous avons bénéficié d'une technique dont nous discuterons les nombreux avantages, la transplantation microchirurgicale.

Après avoir rappelé brièvement le contexte bibliographique du sujet, nous présenterons le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail. Une troisième partie traitera de l'observation des hémocytes de mollusque et de leur comportement *in vitro*. Nous aborderons ensuite l'étude de la réponse cellulaire du mollusque aux greffes, par transplantation d'allogreffes et de divers parasites en situations de compatibilité, d'incompatibilité puis artificielles. Nous poursuivrons par une discussion sur les

mécanismes de défense cellulaire et humorale chez les mollusques et par une discussion plus générale sur le thème de la reconnaissance du self et du non-self. La dernière partie résumera nos expériences et nos résultats.

5. Contexte de la littérature

En 1883, E. Metchnikoff, travaillant sur des crustacés, démontrait l'importance de la phagocytose dans le système de défense de ces organismes. De 1893 à 1895, De Bruyne, puis Cuénot en 1914, confirmaient les capacités phagocytaires des hémocytes de mollusques. Les travaux ultérieurs sur les réactions de défense chez les Invertébrés furent assez peu probants. Il faudra attendre jusque vers le milieu des années soixante pour assister à un regain d'intérêt pour cette matière.

Cette nouvelle impulsion a une double origine; la première, liée à la recherche fondamentale, la seconde, à la recherche appliquée. Fondamentalement, il s'agit de comprendre, par le biais de la recherche sur les mécanismes immunitaires des Invertébrés, les points du même domaine encore mal connus chez les Vertébrés. D'une manière appliquée, seule une connaissance précise des mécanismes immuns des hôtes intermédiaires permettra la mise sur pied d'un programme de lutte efficace contre les distomatoses, qui ne sera plus uniquement axé sur le compartiment "Vertébré" du cycle évolutif d'un parasite. Enfin, se greffent sur ces raisons scientifiques, des facteurs économiques, intéressant surtout les chercheurs qui s'occupent d'élevages intensifs de mollusques, où peuvent facilement s'introduire des agents pathogènes.

Dès lors, les recherches se sont diversifiées. Nous allons passer en revue quelques-uns des travaux déterminants parus sur ce sujet sans prétendre établir une liste exhaustive des publications, mais en tentant plutôt de mettre en évidence l'état actuel des connaissances dont bénéficie le chercheur.

Stauber (1950) est considéré comme le pionnier des études modernes sur la défense interne des mollusques. Sa démonstration sur la phagocytose d'encre par les hémocytes de l'huître Crassostrea virginica et sur son élimination par transport en surface est convaincante.

Tripp (de 1958 à 60) puis Feng (1959 et 1965) réalisent de semblables expériences et démontrent que la phagocytose de microorganismes peut se dérouler de la même manière que celle de particules abiotiques. Ils observent cependant dans certains cas, une digestion intracellulaire des organismes injectés. Ces résultats sont infirmés par Michelson (1961) qui rapporte que, chez les Gastéropodes, certaines bactéries ne sont pas dégradées intracellulairement mais se multiplient même à l'intérieur des hémocytes. Tous les mollusques ne répondent donc pas de la même manière à l'invasion par des agents pathogènes (Pan, 1956; Mackin, 1962).

Les premières allusions à l'existence de facteurs sérologiques chez les mollusques ont été émises dès 1946 par Tyler, puis en 1965 par Boyd et Brown. Leurs recherches rapportent la présence de substances agglutinantes dans l'hémolymphe. Ceci est d'ailleurs confirmé par Tripp (1961) chez le gastéropode Biomphalaria glabrata, à la suite d'injection de bactéries. Le même auteur réitère avec succès ses expériences chez le bivalve C. virginica.

La caractérisation de ces agglutinines a été esquissée chez quelques espèces de mollusques dont B. glabrata (Stein et Basch, 1979) mais le sujet reste matière à une étude plus approfondie.

Malgré quelques tentatives isolées, la recherche dans le domaine de l'immunité chez les mollusques révèle, dès 1970, plusieurs dénominateurs communs. On admet de façon synthétique, à l'heure actuelle, les quatre faits suivants :

A. La principale ligne de défense est la phagocytose (Metchnikoff (1883,1884), Tripp et Kent (1967), Sminia (1972), Bayne (1973), Moore et Eble (1977), Renwranz et al. (1979)).

B. Il existe plusieurs degrés de la reconnaissance (Tripp (1961), Basch (1976), Renwranz et Cheng (1977), Parish (1977), Lackie (1980), Sminia et Van der Knaap (1986)). La reconnaissance d'isogreffes et allogreffes est maintenant prouvée (Cheng et Jourdane (1987), Jourdane et Cheng (1987)).

C. Un corps étranger trop gros pour être phagocyté est encapsulé (Cheng et Rifkin (1970), Harris (1975), Yoshino (1976), Krupa et al. (1977), Cheng et Garrabrant (1977), Kassim et Richards (1979), Loker et al. (1982), LoVerde et al. (1984), Morona et al. (1985)).

D. Des facteurs humoraux innés pourraient jouer un rôle qui n'est d'ailleurs pas toujours bien défini (recherche plus récente) (Yoshino et al. (1977), Michelson et Dubois (1977), Parish (1977), Kassim et Richards (1978), Stein et Basch (1979), Sminia et al. (1979), Bayne (1980), Chorney et Cheng (1980), Renwranz et al. (1981), Loker et Bayne (1982), Granath et Yoshino (1984), Bayne et al. (1986)).

La littérature concernant plus particulièrement chaque point évoqué ci-dessus sera revue de façon plus approfondie dans les chapitres correspondant à chacun des thèmes.

II. MATERIEL ET METHODES

A. Mollusques et parasites utilisés. Elevages

1. Mollusques

Les mollusques utilisés dans nos expériences appartiennent aux espèces suivantes:

Biomphalaria glabrata B, Planorbe de souche albinos d'origine brésilienne, entretenue dans notre laboratoire (Fig.4)

Biomphalaria glabrata G, Planorbe de souche originaire de Guadeloupe, entretenue au laboratoire (Fig.5)

Bulinus truncatus E (Planorbidae), d'origine égyptienne (Fig.6) et Oncomelania hupensis J (Hydrobiidae), provenant du Japon (Fig.7), mollusques mis aimablement à notre disposition par le laboratoire de Biologie animale de l'Université de Perpignan (Dir. C. Combes)

2. Parasites

Les parasites utilisés pour nos expériences appartiennent à deux espèces différentes de Schistosomatidés : Schistosoma mansoni et Schistosoma haematobium.

S. mansoni B est une souche brésilienne de la région de Récife et entretenue dans de nombreux laboratoires sur le Biomphalaria de même origine.

S. mansoni G est une souche guadeloupéenne

S. haematobium est une souche originaire du Niger

Les trois souches de schistosomes nous ont été fournies par le laboratoire de Biologie Animale de Perpignan.

3. Elevage des mollusques

Les Planorbes vecteurs (B. glabrata B et B. glabrata G) ont été élevés en aquarium de verre dans de l'eau du réseau urbain de Neuchâtel déchlorée (pH 7,7). Cette eau possède des caractéristiques (pH, dureté) proches de celles réunies par l'eau de forage utilisée à Perpignan. Elle est maintenue à une température de 26°C et est constamment aérée. Les Biomphalaria

sont nourris ad libitum tous les deux jours avec des feuilles de salade soigneusement lavées. L'aquarium est récuré à fond chaque mois. Ces mollusques nécessitent une photophase de 12 heures durant laquelle l'énergie lumineuse à la surface de l'eau est de 1200 ergs/cm²/sec.

B. Entretien du cycle de S. mansoni B

La méthodologie appliquée pour l'entretien de ce cycle est celle en usage au laboratoire de Biologie Animale de Perpignan. L'hôte définitif utilisé est une souris blanche de type SWISS OF1, l'hôte intermédiaire, un Planorbe de l'espèce B. glabrata B.

1. Infestation de l'hôte définitif

1.1. Récolte des cercaires

Une dizaine de mollusques infectés (25 jours après l'infestation) sont placés dans un cristallisoir contenant de l'eau à 26°C et éclairé par une source lumineuse. Une vingtaine de minutes d'éclairement suffit à provoquer l'émergence des cercaires, qui sont alors prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur étirée.

1.2. Infestation

L'infestation de l'hôte définitif se fait par voie transcutanée. Les souris, âgées de plus d'un mois, pataugent dans des bacs contenant 250 ml d'eau à 26°C, dans laquelle on a préalablement déposé 250 cercaires. Après deux heures de contact, les souris sont replacées dans leur cage. Dès la 4^{ème} semaine d'infection, les schistosomes adultes sont aptes à pondre.

2. Infestation de l'hôte intermédiaire

2.1. Récolte des oeufs

Les souris sont tuées 8 semaines après leur infestation. Les oeufs sont extraits par broyage du foie en présence de solution physiologique (NaCl 10g/l), ce qui empêche l'éclosion prématurée des oeufs. Le broyat dilué dans la solution saline, est versé dans un verre à pied et décanté à l'obscurité pendant quelques heures, ce qui permet l'autolyse des cellules hépatiques. Après plusieurs lavages, une nouvelle décantation est entreprise dans une enceinte à 8°C pendant une heure. Le sédiment est versé dans une fiole à long col, dont le fond est obscurci par une housse noire opaque. La fiole est remplie

d'eau d'élevage et placée sur une plaque chauffante (26°C environ), sous une source lumineuse.

2.2. Eclosion des oeufs

Les chocs thermique et osmotique provoquent l'éclosion des oeufs. Les miracidiums se dirigent vers la partie illuminée du col (phototactisme positif) et y sont prélevés avec une pipette Pasteur étirée.

2.3. Infestation des mollusques

L'infestation est pratiquée sur de jeunes Biomphalaria de 5-6 mm de diamètre. Chaque individu est isolé dans un petit récipient en plastique (3,5 cm de diamètre et 5 cm de hauteur) contenant 5 ml d'eau à 26°C, et mis en présence de 5 miracidiums. Quelques heures plus tard, les Mollusques sont transférés dans un aquarium en plastique (26x15x17 cm) contenant 3 litres d'eau déchlorée et soumis aux mêmes conditions d'élevage que les animaux non infectés. Vingt jours après l'infestation, les sporocystes secondaires sont visibles par transparence dans la glande digestive des mollusques examinés à la loupe. L'émission cercarienne débute dès le 25ème jour suivant l'infestation.

Le couple B. glabrata B et S. mansoni B offre un excellent rendement en laboratoire. Le taux d'infection des mollusques pour 5 miracidiums est de 94%.

Tous les 15 jours, 4 souris et 20 mollusques sont infectés par S. mansoni B pour pouvoir disposer constamment de matériel parasitaire.

C. La technique de transplantation microchirurgicale

1. Opération

La technique utilisée est celle mise au point par Jourdane (1978), basée elle-même sur le mode opératoire de Chernin (1966). En transplantant de la glande digestive d'Australorbis glabratus infectée par des sporocystes de S. mansoni ou des sporocystes isolés, dans des A. glabratus sains, Chernin constate que les greffons sont acceptés puisqu'il obtient une production cercarienne chez les mollusques receveurs. L'étude de la compatibilité entre les différents tissus ne fait pas l'objet du travail pionnier de Chernin. Jourdane (1982) met en évidence l'importance de la transplantation comme test de compatibilité des couples mollusque-trématode. En effet, en situation d'incompatibilité hôte-parasite, par exemple, le rejet du parasite est extrêmement rapide et net. La fiabilité de la technique provient du fait qu'elle supprime les

problèmes inhérents à l'infestation par voie naturelle (choix du mollusque, optimisation du milieu d'infestation, nombre de larves infectantes). La difficulté à réunir ces conditions lors de l'infestation miracidiale rend délicate la détermination du degré réel de compatibilité d'un couple donné (Jourdan, 1982), même si des études histologiques permettent aisément de visualiser les réactions d'encapsulation chez des mollusques ayant été infectés par voie miracidiale.

Le degré de reconnaissance d'un parasite par le Mollusque paraît dépendre également des compétences propres des différents tissus où va se loger ce parasite (Malek et Cheng, 1974). Dans certains tissus, les sporocystes sont immédiatement encapsulés, dans d'autres, ils ne provoquent aucune réponse. Nous pensons que la technique de transplantation, permettant l'introduction des implants à un endroit précis, le sinus céphalopédieux, supprime les aléas dus à la localisation des greffons. La comparaison des résultats se fait alors sur des bases identiques pour toutes les greffes réalisées.

Si l'on utilise cette technique comme test de compatibilité, la vérification de la réaction d'encapsulation obtenue peut se faire 24 heures après l'injection d'un parasite, et ceci pour toutes les expériences considérées. Ce temps devient alors un temps de référence pour le test. Nous avons nous-mêmes adopté cette technique pour toutes nos expériences sur différents couples hôte-parasite et pouvons attester de sa fiabilité. Nous verrons, lors des discussions concernant chaque couple utilisé, que la technique est infaillible pour démontrer la reconnaissance du non-self, mais devient plus difficile à appliquer pour comparer les degrés de la réaction.

La pratique de la transplantation est néanmoins une méthode qui pourrait être standardisée pour la mesure de l'amplitude de la réaction cellulaire d'un mollusque et constituerait un test aisé de la performance du mollusque (Combes, 1985).

1.1. Préparation des mollusques

a) Préparation du mollusque donneur

Le mollusque donneur doit être infecté depuis trente jours pour que l'on puisse aisément localiser et prélever les sporocystes dans la glande digestive. Il est placé durant 5 heures dans un litre d'eau contenant 20mg de nitrofurantoïne pure. Cette solution sera utilisée par la suite pour conserver les mollusques receveurs opérés. La nitrofurantoïne permet d'éviter tout risque de septicémie post-opératoire.

b) Préparation des mollusques receveurs

Une trentaine de mollusques receveurs, mesurant de 14 à 16

mm de diamètre, sont anesthésiées, 5 heures durant, dans 250 ml d'eau distillée contenant 1,6 ml de Nembutal (5%).

1.2. Excision des explants

Après avoir débarrassé le donneur de sa coquille, on enlève le tégument au-dessus de la glande digestive où sont localisés les sporocystes. Cette manipulation et les suivantes se font sous la loupe. Les explants utilisés pour l'opération consistent en morceaux de 2 mm³ de glande digestive parasitée par 2 à 4 sporocystes-fils.

Ces greffons sont lavés et stockés, avant la transplantation proprement dite, dans de la solution de Chernin (Balanced Salt Solution : CBSS)(Chernin, 1964) à laquelle sont ajoutées pénicilline (500 U.I.) et gentamycine (35µg/ml). Un donneur de 15 mm de diamètre permet l'infestation via transplantation de 30 mollusques environ.

1.3. Transplantation des explants (Fig. 8)

L'opération se fait sous hotte stérile. Les instruments doivent être soigneusement stérilisés, de même que la place de travail. Cette étape s'accomplit également sous la loupe et hors de la solution physiologique (Chernin, 1964). Les mollusques receveurs anesthésiés sont maintenus à l'extension par un microrétracteur de verre planté dans l'orifice génital mâle, en arrière du tentacule gauche. Le microrétracteur est lui-même fixé sur le bord du plateau de la loupe. Le mollusque est tenu dans la main gauche et de façon à présenter sa face dorsale à l'opérateur. Le greffon est injecté dans le sinus céphalo-pédieux du receveur à l'aide d'une seringue d'un ml, prolongée par une microaiguille en verre (microseringue). Auparavant, on aura pris soin d'inciser le tégument à la zone d'injection pour favoriser l'entrée de la microseringue. Le mollusque est relâché immédiatement après l'injection pour éviter que le greffon ne s'échappe par l'ouverture créée.

1.4. Traitement post-opératoire des Planorbis

Après l'opération, les mollusques sont placés dans le bac d'eau contenant la nitrofurantoïne, pour une période de 48 heures. Ils ne seront nourris qu'après ce temps de convalescence, après avoir été remis dans de l'eau d'élevage sans antibiotiques, à une température de 26°C. Le taux de mortalité est inférieur à 5% grâce aux mesures de désinfection.

2. Récupération des greffons

Pour étudier l'état physiologique de l'explant et l'éventuelle réaction immunologique du mollusque vecteur, il est nécessaire de pouvoir récupérer le greffon dans le sinus céphalo-pédieux du *Biomphalaria* à des temps post-opératoires choisis : 2 , 24, 48 heures et, pour une partie des travaux, 7 jours après la transplantation.

Pour ce faire, le mollusque est débarrassé de sa coquille et immergé dans de la solution saline de Ringer pour Invertébrés. Il présente sa partie dorsale à l'observateur. On pratique une incision de la cavité pulmonaire en longeant le bord droit du rein. Une deuxième incision au fond de cette cavité nous conduit au sinus céphalo-pédieux. Le greffon qui, pour chaque receveur, se retrouve à un endroit identique (dans la partie antérieure droite du sinus), est étroitement accolé au tractus génital près de la prostate et apparaît comme une masse de tissu ovale, de couleur et de structure différentes de celles du tissu sous-jacent.

En ce qui concerne *O. hupensis*, la taille du mollusque pose quelques problèmes pour la récupération du greffon. En effet, ce Prosobranch ne dépasse guère 7 mm de hauteur. Pour 2 stades (2 h et 24 h après la transplantation), les *Oncomelania* opérés ont été fixés en entier. L'observation s'est donc effectuée sur des coupes semi-fines uniquement. Les greffons du stade 48 heures ont pu, quant à eux, être récupérés et fixés pour l'obtention de coupes ultrafines.

3. Cryofracture des greffons

Pour pouvoir examiner les différentes couches de la capsule, nous avons en outre procédé à une cryofracture des greffons au stade 7 jours après la transplantation. Les spécimens sont broyés entre deux lames de verre après avoir été congelés à l'azote liquide à -180°C .

Nous avons ensuite suivi le protocole de fixation décrit en F.1.

D. Traitement de l'hémolymphe de *B. glabrata* B pour l'observation des hémocytes en microscopie électronique

1. Collecte de l'hémolymphe

Les Planorbes sont placés à plat dans une coupelle et leur coquille est percée au niveau de la columelle. Au toucher de leur pied, les Biomphalaria se retirent dans leur coquille. Sous cette pression, le sang jaillit par l'orifice créé et on peut le récolter avec une pipette Pasteur.

2. Préparation et incubation de l'hémolymphe

2.1. Préparation

On dépose une goutte d'hémolymphe sur des lamelles de verre (couvre-objet: 18x18 mm) dans un peu de solution de Chernin.

Ces lamelles ont été préalablement rincées à l'alcool 70% et soumises 5 minutes aux ultrasons pour être débarrassées de toute impureté.

2.2. Incubation

Les lamelles préparées selon la méthode ci-dessus sont immédiatement placées au bain-marie à 26°C, dans des boîtes de Pétri stérilisées. Ainsi, les cellules ne subissent pas un changement de température trop brusque entre le corps du Mollusque et le milieu de fixation et gardent leur motilité. Avant l'adjonction du fixateur, elles sont laissées au bain-marie pendant des temps d'essai variés : 10, 20 ou 60 minutes. Cette pause leur permet d'adhérer au support constitué par la lamelle. Le temps de pause de 20 minutes a été retenu pour nos expériences.

Certaines lamelles ont été recouvertes avant l'utilisation d'une couche d'albumine. Ce procédé, n'ayant pas amélioré l'adhérence des cellules, a été abandonné.

E. Traitement de l'hémolymphe d'*O. hupensis* pour l'observation des hémocytes au microscope électronique à balayage

1. Collecte de l'hémolymphe

Les mollusques originaires du Japon sont individuellement pressés entre deux lamelles de verre afin de rompre leur coquille. Les tissus mous et la coquille sont retirés et les hémocytes sont prélevés à l'aide d'une seringue. Ils sont ensuite transférés dans une goutte de solution de Chernin.

2. Incubation et fixation

Ces deux étapes ont été réalisées de la même manière que pour les hémocytes de *B. glabrata* (cf. D.2. et F.1.1.).

F. Fixations

1. Fixations pour la microscopie électronique à balayage

1.1. Hémolymphe

Les fixations, les lavages et la déshydratation se font dans des boîtes de Pétri. Nous avons essayé diverses méthodes de fixation (Sminia, 1972; Hoskin, 1975; Harris, 1975; Krupa, Lewis et Del Vecchio, 1977) avant de parvenir au procédé définitivement adopté. Celui-ci, inspiré de la technique d'Arnold (1978) a été légèrement modifié, au fur et à mesure des résultats obtenus (changement du tampon, de la concentration du fixateur et du temps de fixation).

La méthode utilisée est la suivante :

- Préfixation au glutaraldéhyde 0,25% dans du Chernin + 0,6% de glucose 60' à 26°C
- Fixation au glutaraldéhyde 2,5% dans du Chernin + 0,6% de glucose 60' à 26°C
- Lavages au Chernin + 1% de glucose 2x10' + 12 h
- Postfixation au tétroxyde d'osmium 1% dans de la S-collidine 0,2M pH 7,4 60' à 4°C
- Lavages à la S-collidine 1 à 2 h
- Déshydratations à l'acétone de 30% (2') à 80% (2') puis 90% (3x5')
- Séchage par passage au point critique du CO₂
- Dorage dans un Sputter (Balzers) 3' à 25 mA
- Observation au microscope électronique à balayage (Philips 500)

1.2. Greffons

Les greffons sont fixés pour la microscopie électronique à balayage selon le procédé suivant :

- Préfixation au glutaraldéhyde 0,25% dans du Chernin + 2% de glucose 60' à 4°C
- Fixation au glutaraldéhyde 2,5% dans du Chernin + 2% de glucose 60' à 4°C

- Lavages au Chernin + 2,5% de glucose 2 x 10' + 12 h
- Postfixation au tétr oxyde d'osmium 1% dans de la S-collidine 0,2M pH 7,4 60' à 4°C
- Lavage à la S-collidine env. 2 h
- Déshydratation à l'acétone de 30%(2') à 100%(3x5')
- Séchage par passage au point critique du CO₂
- Charbonnage dans un EDWARDS 306 Coater
- Dorage dans un SPUTTER (Balzers) 3' à 25 mA
- Observation au microscope électronique à balayage (PHILIPS 500)

2. Fixation pour l'observation au microscope électronique à transmission

2.1. Greffons

La fixation est celle utilisée par Krupa, Lewis et Del Vecchio (1977). Cette double fixation fait intervenir successivement :

- Une fixation au glutaraldéhyde 4% dans le tampon cacodylate 0,1M (pH 7,2) pendant 1 heure à 4°C
- un rinçage dans le tampon cacodylate 0,1M, additionné de glucose 2%, pendant un temps variable ; il faut effectuer au moins 3 changements de bain.
- une postfixation au tétr oxyde d'osmium 1% dans le tampon cacodylate 0,1M (pH 7,2) pendant 1 heure à 4°C
- un rinçage dans le tampon cacodylate 0,1M, additionné de glucose (2%) pendant 3x5'

Comme agent de déshydratation, nous avons utilisé de l'acétone en concentration de plus en plus élevée (30% à 100%). Un mélange résine-acétone (1:1) sert d'intermédiaire pour la pénétration de la résine pure.

L'inclusion consiste en trois bains d'une heure et un bain de 12 heures dans de la résine pure. Nous avons utilisé un milieu de type Spurr (1969). La polymérisation se réalise à 70°C pendant 30 heures. Les blocs résultants sont coupés à l'aide d'un ultramicrotome Sorvall MT 2-B muni d'un couteau de verre pour obtenir des coupes semi-fines, ou d'un diamant, pour les coupes fines.

Les coupes fines, recueillies sur des grilles de cuivre plastifiées et charbonnées, subissent une double contrastation. Elles sont tout d'abord contrastées à l'acétate d'uranyle (à saturation dans de l'alcool 50%) pendant 15', à l'obscurité (Watson, 1958). Elles sont ensuite rincées à l'alcool 50% et à l'eau distillée puis séchées. La deuxième contrastation s'opère alors pendant 30', dans une solution de citrate de plomb (Reynolds, 1963). Les grilles sont rincées avec du NaOH 0,04N et à l'eau distillée puis à nouveau séchées.

Ainsi contrastées, elles peuvent être observées au microscope électronique à transmission (Philips EM 201).

2.2. Glande digestive de B. glabrata non infecté

La glande digestive est prélevée et fixée exactement de la même manière que les greffons mixtes. On peut donc se référer à la partie 2.1. de ce chapitre, pour le mode opératoire.

III. LES CELLULES DE DEFENSE. STRUCTURE ET FONCTION

Pour atteindre les buts fixés, il nous a fallu tout d'abord décrire la morphologie des hémocytes des mollusques utilisés et leur capacités fonctionnelles in vitro.

Les hémocytes de B. glabrata B ont été dénombrés et décrits au microscope électronique à transmission (MET) et au microscope électronique à balayage (MEB). Leur comportement face à un support de verre a été illustré au MEB. Les hémocytes d'O. hupensis ont été également observés au MEB. Nous ne nous sommes pas particulièrement attachés à l'étude des hémocytes de Bulin. Le travail de Cheng et Guida (1980) apporte une somme de connaissances très complète sur ce sujet. La publication de Sminia et Barendsen (1980) nous montre en outre la photographie des cellules au MET. Nous nous sommes donc référés à ces travaux pour la discussion.

A. Résultats

1. Les hémocytes de B.glabrata

1.1. Description des types cellulaires au MET

L'observation au microscope électronique à transmission permet la distinction entre deux populations de cellules : d'une part, des cellules au cytoplasme opaque aux électrons et d'autre part, des cellules au cytoplasme perméable au flux d'électrons. Ces cellules sont nommées respectivement granulocytes et hyalinocytes.

1.1.1. Les granulocytes

Les granulocytes peuvent se présenter sous forme arrondie. Ils mesurent alors $7,4 \pm 3,0 \mu\text{m}$ de long et $4 \pm 3 \mu\text{m}$ de large (Fig.9). Ils s'étirent parfois jusqu'à $9,4 \pm 3,3 \mu\text{m}$ de long. Leur longueur dépasse largement cette valeur lors de leur participation à une réaction d'encapsulation (Fig.10). Leur largeur n'atteint alors que $1,7 \pm 1,5 \mu\text{m}$. Les granulocytes présentent souvent des pseudopodes étirés, simples ou ramifiés, de longueur variable et d'un diamètre moyen de $0,10 \pm 0,06 \mu\text{m}$ (Fig.9). Nous les nommerons filopodes par analogie avec les expansions filamenteuses des Rhizopodes. Ils peuvent parfois s'entrelacer d'une manière compliquée.

La contrastation au citrate de plomb révèle la grande densité du cytoplasme des granulocytes, lequel se subdivise en deux zones, l'endoplasme et l'ectoplasme (Fig.11). L'endoplasme contient un grand noyau ($7,8 \pm 5,7 \mu\text{m}$ de

diamètre), un réticulum endoplasmique granulaire abondant, des mitochondries, des inclusions lipidiques, du glycogène et des granules lysosomiaux dont certains présentent des structures multilamellaires spiralées (Fig.9). Les deux derniers types d'inclusions mentionnés augmentent quantitativement lors de la participation des cellules à la réaction de défense (Fig.12). L'ectoplasme est une zone cytoplasmique de bordure sans organelles, se prolongeant dans les filopodes qui contiennent parfois du matériel fibrillaire (Fig.88).

Les granulocytes sont souvent en contact avec les autres cellules de l'hémolymphe, granulocytes ou hyalinocytes. Ils sont rarement isolés (Fig.15).

1.1.2. Les hyalinocytes

Les hyalinocytes mesurent $7,2 \pm 3,2 \mu\text{m}$ de long et $4 \pm 1 \mu\text{m}$ de large (Fig.13). Morphologiquement, ils diffèrent des granulocytes par plusieurs aspects. Tout d'abord, ils ne présentent pas de filopodes. Tout au plus projettent-ils de courts pseudopodes lobés d'une longueur maximale de $2 \mu\text{m}$. D'autre part, observé au microscope électronique à transmission, leur cytoplasme est très peu dense aux électrons. Il contient de nombreuses mitochondries, du réticulum endoplasmique granulaire, du réticulum endoplasmique lisse. On aperçoit parfois un appareil de Golgi. Le noyau à hétérochromatine périphérique est caractéristique. Il mesure $2,8 \pm 2,3 \mu\text{m}$ de diamètre (Fig.14). On rencontre encore occasionnellement, dans le cytoplasme de ces cellules, des vésicules membranaires ainsi que des corps denses et du matériel fibrillaire (Fig.151).

Sur nos images d'encapsulation, les hyalinocytes apparaissent beaucoup plus rarement que les granulocytes. Nous avons observé une fréquence de 5 hyalinocytes pour 100 granulocytes. De plus, ces cellules "claires" apparaissent dans les régions externes de la capsule (Fig.15a) et sont souvent entourées de granulocytes (Fig.15b).

1.2. Comptage des cellules

1.2.1. Mollusque sain

La concentration totale de cellules dans l'hémolymphe est de 285 ± 153 cellules / mm^3 . Le pourcentage de granulocytes est de $91,0 \pm 5,2\%$ et celui des hyalinocytes est de $8,9 \pm 5,2\%$.

1.2.2. Mollusque infecté

La concentration d'hémocytes totale est de 595 ± 253 cellules / mm^3 . Le pourcentage de granulocytes est de $95,0 \pm 3,3\%$ et celui des hyalinocytes, $5,0 \pm 3,3\%$.

1.3. Evolution, in vitro, des hémocytes de B. glabrata Observations au MEB

1.3.1. Comportement des cellules au contact du support

Les cellules observées sur les lamelles ont une taille et un aspect très variables. Après un temps d'incubation de 20' dans la solution de Chernin, elles peuvent se présenter sous forme sphérique, plus ou moins étalée ou complètement étirée (Fig.156). Les formes sphériques ou arrondies sont plus rares, la tendance générale des cellules étant d'adhérer à leur support. La distinction entre des populations physiologiquement ou fonctionnellement différentes est impossible par ce mode d'observation.

1.3.2. Définition des stades évolutifs

Nous avons distingué 5 stades (1 à 5) selon leur degré d'étirement :

a. Stade 1

Ce stade s'observe plus rarement que les stades 2 à 5 qui, eux, apparaissent avec une fréquence comparable. Les cellules semblent posées sur la lamelle et n'y sont fixées que par une surface très restreinte.

Elles sont arrondies et mesurent $5,3 \pm 1,8 \mu\text{m}$ de long sur $3,8 \pm 2,6 \mu\text{m}$ de large (Fig.16).

Leur surface peut être lisse ou présenter de petites boursoufflures leur donnant un aspect granuleux.

A ce stade déjà, les cellules projettent parfois vers l'extérieur des expansions très minces, les filopodes. Ceux-ci ont un diamètre de $0,27 \pm 0,21 \mu\text{m}$ sur les images de microscopie électronique à balayage (Fig.17). Cette mesure demeure constante à tous les stades considérés. On constate parfois une tendance de la cellule à s'étendre au contact du support (Fig.18). Elle forme alors un voile cytoplasmique qu'elle fait adhérer au verre. Ce phénomène va s'amplifier pour les stades ultérieurs.

b. Stade 2

La cellule présente deux zones cytoplasmiques distinctes (Fig.19):

- une zone centrale renflée, l'endoplasme, contenant les organelles et diverses inclusions décrites dans la partie A.1. de ce chapitre.

- une zone de bordure, amincie, s'étendant parfois entre les

filopodes et ne présentant que peu de boursouflures : l'ectoplasme. Cette zone adhère parfaitement à la lamelle sous-jacente ou forme des crêtes ondulées (Fig.20a).

Cette subdivision en deux zones superficielles reflète l'organisation interne des cellules décrite en A.1.

Les cellules se sont légèrement aplaties, mais leur taille n'a pas encore augmenté notablement. Leur longueur est de $24,0 \pm 18,5 \mu\text{m}$ et leur largeur atteint $10 \pm 4,9 \mu\text{m}$; la longueur des filopodes est comprise dans ces valeurs (Fig.20b).

c. Stade 3

C'est un stade de transition entre le stade 2 et le stade 4 où les cellules seront légèrement surélevées au-dessus de la lamelle (Fig.21 a-c).

La taille des cellules a augmenté de façon variable mais elles demeurent renflées. Il est cependant difficile d'établir si le renflement est propre à l'endoplasme cellulaire ou s'il s'agit de matériel phagocyté ou encore de structures simplement enrobées par la cellule. En effet, des bactéries, divers cristaux et autres impuretés se déposent malgré nos précautions sur les lamelles-supports avant ou pendant les manipulations. Les cellules peuvent alors adhérer intimement à des structures cristallines et présenter des formes très particulières (Fig.22).

d. Stade 4

Les cellules mesurent $37,6 \pm 21,5 \mu\text{m}$ de long et $21 \pm 11 \mu\text{m}$ de large, filopodes compris (Fig.23).

L'ectoplasme s'est considérablement étendu entre les filopodes et ne forme plus qu'une couche très mince entourant l'endoplasme. Les filopodes s'élancent dans toutes les directions et parfois même se ramifient. Chaque filopode est terminé par un bulbe, petit renflement sphérique bien visible dans la figure 24. Les filopodes peuvent s'attarder sur l'endoplasme pour y former plusieurs circonvolutions (Fig.25) ou s'éloigner de manière rectiligne du centre de la cellule, lui donnant un aspect étoilé. Ce dernier cas est le plus fréquent (Fig.26).

Les boursouflures plus importantes, disséminées dans l'ectoplasme, sont probablement le signe d'une activité phagocytaire de la cellule avant sa fixation (Fig.27).

e. Stade 5

Les cellules sont complètement aplaties. Leur étalement sur le support est maximal et leur longueur peut atteindre $62 \pm 10 \mu\text{m}$ (Fig.28). Leur largeur est variable (Fig.28 et 29). Les renflements de l'endoplasme sont à peine visibles. Les

cellules n'envoient plus que de rares filopodes. Bien qu'elles semblent s'être étendues au maximum de leurs possibilités, les cellules montrent des bourrelets, en bordure de leur ectoplasme (Fig.30). Elles pourraient donc encore s'étirer à partir de cette ultime réserve ectoplasmique.

Dés le stade 4, les cellules sont souvent associées par deux ou d'avantage. Le contact se fait soit entre les filopodes des cellules jointives (Fig.31a), soit entre les filopodes et l'ectoplasme (Fig.31b), soit entre l'ectoplasme de deux cellules (Fig.31c).

Les fréquences d'observation des stades 1 à 5 sont respectivement 7%, 23%, 21%, 25% et 25%.

2. Les hémocytes d'*O. hupensis*

Evolution des hémocytes in vitro et observation au MEB

Pour un temps d'incubation de 20', les cellules présentent un aspect et des dimensions sensiblement variables. Sur certaines images, les hémocytes sont arrondis et mesurent de 1,5 μm à 5 μm de diamètre (Fig.32 a-b). Ils peuvent s'étaler légèrement au contact du verre et présenter des expansions cytoplasmiques d'une longueur de 1,6 μm à 2,5 μm (Fig.32 c-d). Sur de rares images, les cellules adhèrent très intimement à la lamelle et s'y étalent pour atteindre une longueur de 7 μm (Fig 32e). Les filopodes sont encore visibles avec leur bulbe terminal caractéristique. La figure 32f montre un hémocyte particulièrement étiré puisqu'il mesure 19 μm environ. C'est le seul exemplaire de cette taille observé sur nos lames.

B. Analyse et interprétation

1. Nature et dénombrement des hémocytes

La description et le dénombrement des hémocytes de mollusques et en particulier du Planorbe *B. glabrata* ont fait l'objet de plusieurs travaux.

Dés 1958, Pan décrit l'amœbocyte du Planorbe portoricain *Australorbis glabratus* ("cellule nucléée, de taille et de morphologie fort variables"). Le même auteur (1963) fait mention d'amœbocytes non phagocytaires et de fibroblastes chez un *A. glabratus* infecté par *S. mansoni*.

Chez le Pulmoné *Lymnea stagnalis*, Sminia (1972) décrit un seul type cellulaire qu'il nomme amœbocyte. Carter et Bogitsh (1975) parlent d'amœbocytes chez *B. glabrata*. En 1977, Owczarzak et al. décrivent chez le même mollusque un processus

de digestion des tissus de sporocyste primaire par des "minicytes" émetteurs de "penetration-processes". Bayne et al. (1980) utilisent le terme de "macrophage-like cells", toujours chez B. glabrata.

Après de nombreuses hésitations, on aboutit lentement au concept de deux types de cellules distinctes, les granulocytes et les hyalinocytes, avec Cheng (1975), Harris (1975), Krupa et al. (1977) et Lie et Heynemann (1978), bien que plusieurs auteurs (Carter et Bogitsh, 1975; Kassim et Richards, 1979; Abdul-Salam et Michelson, 1980; Benex et Jacobelli, 1980; Sminia et Barendsen, 1980) s'en tiennent à une nomenclature plus vague, conservant le terme général d'amœbocyte. Ratcliffe et Rowley (1979) ont tenté une uniformisation des critères morphologiques et fonctionnels des hémocytes d'Invertébrés. Chez les mollusques, ils reconnaissent des cellules granulaires et des cellules semi-hyalines ou hyalines. Les Céphalopodes ne semblent posséder qu'un seul type d'hémocyte (Cowden et Curtis, 1974) ainsi que le Gastéropode Lymnea stagnalis (Sminia, 1972).

Nos descriptions et celles des auteurs qui ont utilisé le modèle B. glabrata, coïncident indiscutablement. Les dimensions que nous rapportons corroborent les résultats des auteurs cités bien que Jeong et Heynemann (1976) trouvent des granulocytes d'une taille assez imposante ($77,2 \pm 15,1 \mu\text{m}$). Nous n'avons jamais observé dans nos expériences des granulocytes de cette dimension.

De légères divergences apparaissent lors des tentatives de dénombrement des hémocytes d'une part et du pourcentage de chaque type cellulaire d'autre part.

Concernant la concentration totale des hémocytes, nos résultats sont du même ordre de grandeur que ceux de Jeong et Heynemann (1976), qui annoncent 334 ± 105 cellules/mm³, Cheng et Auld (1977), 313 ± 91 cell./mm³, ou Stumpf et Gilbertson (1980), 278 ± 146 cell./mm³ (ces dernières valeurs étant les plus proches des nôtres). Il faut bien sûr tenir compte des variations importantes de la numération des cellules, liées aux techniques de prélèvement et à l'état physiologique du mollusque au moment de ce prélèvement. Les marges d'erreur assez élevées en témoignent.

De telles variations sont également à noter en ce qui concerne le pourcentage des deux types cellulaires. Stumpf et Gilbertson donnent les proportions suivantes : $92,2 \pm 4,3\%$ de granulocytes contre $7,9 \pm 4,3\%$ de hyalinocytes. Cheng (1975) avance $86,6 \pm 12,8\%$ de granulocytes et $13,4 \pm 12,8\%$ de hyalinocytes.

Il faut signaler que Jeong et al. (1983) ont décrit un organe amœbocytaire chez B. glabrata. Il consiste en un petit amas de cellules, les amœboblastes, situé entre l'épithélium bordant le péricarde et l'épithélium de la partie postérieure du manteau. Lors d'une infection (ici, il s'agit de miracidiums d'Echinostoma lindoense), cet organe montre une intense activité due à la division et à la croissance des

amœboblastes. Il reprend sa taille normale quelques jours après l'infection.

2. Variations quantitatives et qualitatives des hémocytes lors de l'infestation

Les dénombrements ont été effectués sur le modèle B. glabrata B - S.mansonii B, entretenu dans notre laboratoire.

Tous les paramètres notés ci-dessus changent nettement chez des mollusques infectés: nous observons alors une nette augmentation du nombre total d'hémocytes et du pourcentage de granulocytes. Nos chiffres sont comparables à ceux de Stumpf et Gilbertson (1980).

Nous relevons d'ores et déjà avec intérêt que cette variation des valeurs entre les mollusques sains et les infectés confirme l'existence d'une défense cellulaire et présage du rôle important joué par les granulocytes dans les mécanismes de défense. L'augmentation, en valeur absolue, du nombre des hyalinocytes au cours des infestations semble indiquer que ces cellules participent également au processus de défense, bien que leur rôle soit encore mal défini et difficilement déductible de leur morphologie. Il sera discuté ultérieurement.

Les granulocytes qui interviennent dans la réaction contre un greffon présentent tous une intense activité lysosomale, à toutes les phases suivant la transplantation. Leur activité cytoplasmique est, d'une manière générale, plus importante que celle d'un granulocyte ne participant pas à l'encapsulation. De plus, au fur et à mesure de la dégradation des tissus du greffon, les granulocytes stockent une grande quantité de glycogène dont on sait (Fawcett, 1966) qu'il constitue la forme de stockage des hydrates de carbone dans les cellules animales. Nous reparlerons de ce phénomène et de ce qu'il nous suggère dans le chapitre concernant la phagocytose.

3. Comportement des hémocytes in vitro

Cheng et al. (1979) sont les premiers à avoir observé au microscope électronique à balayage les granulocytes de B. glabrata. Leurs résultats diffèrent notablement des nôtres. En effet, ces auteurs ne distinguent aucun degré d'étalement de la cellule sur le support de verre et ne décrivent pas le comportement de deux ou plusieurs cellules jointives.

Nous pensons que les techniques fort dissemblables de fixation et d'incubation des hémocytes expliquent, en partie du moins, les divergences entre les images obtenues par Cheng et ses collaborateurs et celles de nos travaux.

Le temps d'incubation, choisi par Cheng, est de 30 minutes. Il correspond donc aux 20 minutes adoptées pour nos expériences. Cependant, l'hémolymphe collectée est traitée de manière tout à fait différente dans les deux travaux.

Chez Cheng, l'hémolymphe n'est pas incubée dans de la solution de Chernin et la fixation des cellules se fait en une seule étape (glutaraldéhyde 1% dans du tampon phosphate pH 7,4 pendant 45'). Rappelons ici que nous avons effectué une fixation en trois étapes. Le fait de préfixer les cellules avec une concentration très faible de glutaraldéhyde les préserve d'une rupture ou d'un éclatement. La pénétration du fixateur est ainsi ralentie et permet le maintien des structures cellulaires. L'entrée d'un fixateur trop concentré est très rapide et trop brusque. Elle risque d'altérer les cellules ou provoque leur déshydratation en raison de la concentration élevée du milieu extérieur.

Etant donné la propriété que possèdent les granulocytes de s'étendre et d'adhérer à une surface qui leur est présentée, leur mode d'action face à du matériel étranger à éliminer ou à isoler est assez simple à déduire. Ce sujet sera discuté dans le chapitre traitant de l'encapsulation.

Cheng et al. émettent une hypothèse que nous partageons quant à la fonction du bulbe terminal des filopodes (Fig.24). Cet endroit serait le point de croissance de ces expansions cytoplasmiques, en quelque sorte une réserve de matériel pour l'allongement cellulaire.

En outre, nous remarquons que les filopodes jouent un rôle important comme jalons de l'ectoplasme, posés pour que la cellule puisse s'étendre dans une direction voulue. Il est évident que les filopodes consolident le voile ectoplasmique qui serait sans eux d'une extrême fragilité. Ils ne montrent cependant pas de structures microtubulaires de soutien (Fig.110).

Les hémocytes d'O. hupensis sont de taille inférieure à ceux du Planorbe, jusqu'à dix fois plus petits sur certaines images (Fig.32 a-d). Les stades arrondis ou globuleux apparaissent le plus fréquemment. Nous n'avons dénombré que fort peu de stades étalés et n'avons pas rencontré de stades de transition entre ces derniers et les formes arrondies. Les techniques d'incubation et de fixation qui ont permis de conserver leur motilité aux cellules du Biomphalaria ont été appliquées également dans le cas d'Oncomelania. Nous concluons donc que ce facteur n'est pas responsable de la différence des résultats obtenus pour les deux espèces de mollusques. Malgré la présence de filopodes comparables à ceux des granulocytes de B. glabrata et l'évidence d'une ampoule terminale, nous n'avons pas pu observer l'établissement de contacts intercellulaires. Les cellules ne montrent pas de tendance particulière à l'agrégation comme c'était le cas pour B. glabrata. Nous supposons que cela est dû uniquement à une concentration cellulaire plus faible dans l'hémolymphe d'O. hupensis, puisque toutes les lames observées ont été préparées de la même manière.

IV. ETUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA REPONSE CELLULAIRE DES MOLLUSQUES AUX GREFFES

L'interprétation de la réponse aux greffes constitue une méthode importante pour examiner, in vivo, la spécificité de la défense. Les premiers rapports à ce sujet sont ceux du travail de Drew et Morgan (1910) sur le Lamellibranche Pecten maximus. L'encapsulation de cténidies implantées dans le muscle adducteur est décrite. Il s'agit d'une isogreffe, puisque l'implant provient de l'individu où il sera injecté. Vu la difficulté de la technique opératoire, on suppose que la réaction cellulaire est survenue en réponse aux produits autolytiques du greffon plutôt qu'en réponse à la greffe elle-même.

Chernin (1966) est le premier à avoir tenté la transplantation de glande digestive de B. glabrata infectée par des sporocystes de S. mansoni. Cependant, dans ce travail, la compatibilité histologique entre le receveur et les implants n'a pas été examinée avec précision.

Deux publications plus détaillées dans ce domaine ont été réalisées par Tripp (1961) sur B. glabrata, d'une part, et Cheng et Galloway (1970) sur Helisoma duryi normale, d'autre part.

Le premier travail conclut à l'existence d'un phénomène de différenciation entre des tissus homologues et hétérologues. En effet, la greffe d'un tissu non fixé, provenant d'une même espèce de Mollusque (allogreffe), ne provoque pas de réponse. Le tissu est intégré. La greffe de tissus fixés ou de tissus frais d'un Mollusque d'une autre espèce (xénogreffe) induit une forte encapsulation en 24 heures. Les tissus sont détruits.

Le second travail, plus récent, discute la réaction face à des allogreffes et à des xénogreffes et conclut que l'hôte choisi est capable de distinguer entre allo- et xénogreffes puisque la réaction dirigée vers le deuxième type d'implant est beaucoup plus violente et plus destructrice. Les capsules provoquées par les xénogreffes sont formées en 48 heures et composées de fibroblastes hypertrophiés.

Des travaux récents démontrent cependant formellement que les performances immunes des mollusques en ce qui concerne la reconnaissance des greffes sont égales à celles démontrées par les Annélides (Cooper, 1968). B. glabrata B, par exemple, est capable de reconnaître des implants isogéniques et allogéniques. Les premiers sont acceptés et les seconds détruits (Jourdane et Cheng, 1987; Cheng et Jourdane, 1987). Morona et al. (1985) ont en outre démontré que, lors d'une greffe allogénique de glande digestive parasitée par S. mansoni, B. glabrata B reconnaît le parasite comme parasite homologue (self) et la glande digestive comme non-self. Rappelons que ces résultats vont à l'encontre de ce qui était admis jusqu'à présent. En effet, Lackie (1980), Bayne (1983)

et Ratcliffe et al. (1985) notent dans leurs travaux que les mollusques n'ont pas la faculté de reconnaître les allogreffes comme non-self.

La problématique de nos expériences de greffes a été définie comme suit. Nos travaux se déroulent en trois étapes principales :

- l'étude comparative de la réponse du mollusque au cours de transplantations de tissus de nature zoologique différente (allogreffes composées de glande digestive de mollusque et de parasite compatible)

- l'étude comparative de la réponse du mollusque au cours de transplantations de parasites compatibles et incompatibles

- l'étude comparative de la réponse du mollusque au cours de transplantations de parasites incompatibles totalement étrangers au mollusque en conditions naturelles.

Nous comparerons et discuterons les réactions au sein de chaque type d'expérience pour mettre en évidence la reconnaissance d'allogreffes diverses par le mollusque. Pour cette partie du travail, nous avons utilisé la technique de transplantation décrite et discutée au chapitre II.C.

Des expériences de contrôle ont été effectuées, qui consistent en l'étude ultrastructurale des tissus de mollusque et de parasite, non transplantés :

Observation au microscope à transmission de glande digestive de *B. glabrata* B non infectée

La fixation et l'observation d'un lobule sécréteur nous permettent de distinguer trois types de cellules que nous avons nommées A, B et C (Fig.33). Les dimensions moyennes des cellules sont $36,7 \pm 10,2 \mu\text{m}$ de long sur $11,1 \pm 5,1 \mu\text{m}$ de large. La taille varie énormément selon le nombre et l'importance des inclusions.

Le type A présente un cytoplasme très dense aux électrons qui renferme une grande quantité de réticulum endoplasmique granulaire et de mitochondries. On y trouve également des granules de sécrétion. Le noyau à contours irréguliers contient une grande quantité d'hétérochromatine. Ce type cellulaire est allongé et étroit.

Le cytoplasme des cellules de type B est moins dense que celui du type précédent. Des mitochondries, du réticulum endoplasmique granulaire et des granules de sécrétion clairs y sont éparpillés. Les cellules sont larges.

Le type C montre un cytoplasme encore moins dense au flux d'électrons, contenant de nombreuses vacuoles avec des résidus de dégradation ou presque vides. On trouve parfois des granules plus denses, de rares mitochondries et très peu de

réticulum endoplasmique granulaire. Les cellules semblent en voie de dégénérescence (Fig.34).

Observation au microscope électronique à transmission
d'un sporocyte de S. mansoni B

Les sporocystes sont prélevés (II.C.) et fixés (II.F.) selon la procédure décrite dans ces chapitres. Les images obtenues (Fig.36) montrent un sporocyte dont le tégument est lisse et dépourvu de toute réaction cellulaire.

Observation au microscope électronique à balayage
de glande digestive de B. glabrata B, parasitée par
S. mansoni B

Les expériences de contrôle pour l'observation au MEB ont été réalisées avec des greffons mixtes comprenant à la fois du tissu de mollusque (glande digestive) et du tissu parasitaire (sporocyte). Les explants ont été prélevés (II.C) et fixés (II.F.) comme les greffons voués à la transplantation. Les images obtenues (Fig.35 a-b) permettent la comparaison entre les tissus non greffés et les tissus transplantés.

A. Etude comparative de la réponse du mollusque au cours de transplantations de tissus de nature zoologique différente

1. Protocole expérimental

L'expérience a consisté à transplanter sur des mollusques receveurs albinos d'origine brésilienne (B. glabrata B), des greffons mixtes constitués de glande digestive de B. glabrata B, parasitée par des sporocystes de S. mansoni de même origine géographique.

Le mollusque receveur est donc confronté à deux tissus d'origine zoologique différente : d'une part, le tissu glandulaire du mollusque et, d'autre part, le tissu parasitaire représenté par le sporocyste.

Les mollusques donneurs sont parasités depuis 30 jours. Les greffons sont récupérés 2, 24, 48 heures et 7 jours après la transplantation pour la fixation et l'observation au MEB et au MET.

Au MET, nous avons examiné au total 16 greffons : 5 au stade 2h, 5 au stade 24h, 3 au stade 48h et 3 au stade 7j.

Au MEB, nous avons examiné au total 8 greffons : 2 pour chaque stade étudié.

2. Résultats

2.1. Etat du greffon 2 heures après la transplantation

2.1.1. Observations au MEB

Le greffon, qui mesure 300 μm sur 230 μm , apparaît dénudé (Fig.37). A sa base, on trouve quelques cellules aplaties contre le tissu de la glande digestive. De larges plages du tégument du sporocyste ne présentent aucun dépôt cellulaire.

2.1.2. Observations au MET

La glande digestive présente une structure identique à celle d'une glande digestive saine, non greffée. L'illustration en est donnée dans la figure 38. La présence de nombreux granules de sécrétion témoignent de l'état encore fonctionnel des cellules. La description faite pour le tissu sain (IV. Introduction) convient également pour ce stade d'expérience. On peut noter qu'il y a très peu de cellules de défense sur cette partie du greffon.

La figure 39 montre la composante parasitaire du greffon. La lumière du sporocyste présente une structure en paquets

typique, due à la juxtaposition des massifs embryonnaires cercariens. Sa conformation est parfaitement habituelle. Les microvillosités ne sont pas endommagées. Les nombreuses inclusions lipidiques attestent du bon état des cellules tégumentaires. Un nouveau stade larvaire se forme à l'intérieur du sporocyste II. A la surface, on aperçoit deux granulocytes aux filopodes orientés parallèlement au greffon. Ils présentent déjà des corps lysosomiaux mais n'ont pas encore de glycogène dans leur cytoplasme.

2.2. Etat du greffon 24 heures après la transplantation

2.2.1. Observations au MEB

Un grand changement est survenu par rapport au stade précédent. Le greffon (160 μm sur 220 μm) est maintenant recouvert d'un très grand nombre de cellules réparties de deux manières sur sa surface, en zones d'égale importance. Nous désignons ces deux types de zones par les lettres P et E (Fig.40).

La zone P correspond à des plages où les granulocytes entrent en contact avec le greffon mais n'y adhèrent que par la bordure de leur corps cellulaire orienté perpendiculairement à l'explant. Les filopodes sont dirigés vers l'extérieur. La figure 41 donne un exemple de cette orientation. Les zones P s'observent plus fréquemment au niveau des parties en creux du greffon qui constituent vraisemblablement des points où l'étalement des cellules se réalise plus difficilement.

La zone E correspond à des plages où les cellules de défense sont étirées, jointives et concourent à la formation d'une capsule en plusieurs couches (Fig.42). Les filopodes des cellules, disposés en étoile, se développent dans un plan parallèle à la surface du greffon : ils peuvent s'entrecroiser et se ramifier (Fig.43). Par endroits se forme une couche superficielle continue où l'espace intercellulaire est réduit. Les cellules deviennent très minces et les couches se tassent les unes sur les autres (Fig.44 a-b).

Il devient difficile de faire la distinction entre la surface du sporocyste et la glande digestive. Seuls les contours de la forme générale du greffon sont visibles sous la couverture cellulaire.

2.2.2. Observations au MET

Les remarques relatives au sporocyste sont les mêmes que pour le stade précédent. Les cellules de défense adhèrent de façon encore lâche à la surface du greffon mais peuvent s'y étaler modérément et parfois se joindre. La pénétration des filopodes parmi les microvillosités du ver est discrète. En quelques endroits cependant, les villosités sont entourées par les filopodes. Le cytoplasme des hémocytes renferme des

lysosomes et du glycogène. La figure 45 illustre ces propos. Elle représente la transition entre une zone P et une zone E. Les granulocytes sont encore arrondis et semblent arriver en surface du greffon. Deux hémocytes se sont déjà étirés parallèlement aux contours du ver.

Les coupes au niveau de la composante "glande digestive" du greffon montrent qu'elle conserve, à ce stade encore, son intégrité cellulaire (Fig.46). Il s'agit ici d'une cellule de type B décrite dans l'introduction de ce même chapitre.

2.3. Etat du greffon 48 heures après la transplantation

2.3.1. Observations au MEB

Nous n'avons pas observé de différences marquées entre ce stade (Fig.47) et le précédent même si la figure 48 illustre une zone déjà très aplatie (zone E).

2.3.2. Observations au MET

Le sporocyste ne montre aucune image de dégénérescence. Malgré la présence d'une capsule hémocytaire importante (5 μm d'épaisseur), on distingue nettement les cellules tégumentaires avec leurs microvillosités et leurs réserves lipidiques, la musculature et les protonéphridies (Fig.51). Les espaces existant entre les hémocytes et le sporocyste sont peu importants et remplis de matériel interstitiel dont les fibres présentent une périodicité régulière semblable à celle du collagène (Fig.49). Ce même matériel se retrouve dans le cytoplasme des granulocytes. Nous en discuterons au chapitre V.B. Ces granulocytes, dont les réserves de glycogène sont très importantes, peuvent également contenir des lysosomes secondaires dont l'aspect en stries concentriques est caractéristique (Fig.50).

La glande digestive transplantée peut présenter des zones d'états très inégaux. En certains endroits, on observe en effet une infiltration hémocytaire massive qui concourt à la formation d'îlots de nature granulomateuse (Fig.53). Au centre des granulomes, on peut remarquer des corps résiduels dans lesquels s'accumule probablement le matériel non digéré par les enzymes lysosomales des granulocytes (Fig.55). Autour de ces corps résiduels, les cellules sont extrêmement minces et étirées et leurs filopodes sont très allongés. Lorsqu'on s'éloigne du centre des granulomes, les hémocytes reprennent un aspect plus renflé. Le tissu glandulaire persistant offre des images de dégénérescence prononcée : sa structure cellulaire est profondément désorganisée. Il s'y crée de grandes lacunes entre les cellules souvent indifférenciables (Fig.53). Quelques fragments de ce tissu subsistent cependant, sans aucun signe d'involution malgré une épaisse capsule comprenant des éléments fibrillaires (Fig.54).

2.4. Etat du greffon 7 jours après la transplantation

2.4.1. Observations au MEB

Les zones E ont pris une extension considérable à la surface du greffon (Fig.56). Quelques zones de type P, de faible importance, peuvent encore s'observer, essentiellement dans les régions déprimées de l'explant, au niveau desquelles la capsule hémocytaire s'organise plus lentement (Fig.57). On peut y noter la présence de granulocytes à orientation perpendiculaire à la surface du greffon, comme au stade 24 heures. Dans les zones E, le parallélisme des filopodes est frappant (Fig.58). Des expansions cellulaires en cloques font leur apparition à la surface des hémocytes, et pourraient bien être à l'origine de nouveaux filopodes se différenciant à partir de l'ectoplasme. Dans la figure 59, on assiste en effet à l'évolution d'une cloque en pseudopode élargi, puis en pseudopode plus mince. Les limites cellulaires entre les hémocytes sont de moins en moins nettes.

Les figures 60 a-b permettent de détailler l'organisation de la capsule : on peut notamment voir que les filopodes constituent une véritable trame entre les couches cellulaires, jouant ainsi un rôle capital dans la cohésion de la capsule. Si l'on rompt la capsule en exerçant une légère pression sur le greffon entre deux lames de verre, on discerne très nettement la superposition régulière des différentes strates (Fig.61 a-b). L'épaisseur de la capsule varie de 4 à 10 μm .

2.4.2. Observations au MET

L'ultrastructure de la capsule ne présente pas de différences notables avec les images du stade précédent.

Le sporocyste n'offre toujours aucun signe de dégénérescence (Fig.62) et renferme maintenant des cercaires bien différenciées, aux épines visibles (Fig.62 encart).

L'ultrastructure de la glande digestive, quant à elle, peut se montrer très variable, comme nous l'avons également relevé au stade 48 heures : régions en état de dégénérescence avancée et régions ayant conservé intégralement leur cohésion cellulaire se côtoient (Fig.63). En surface, une grande quantité de matériel fibrillaire sépare les granulocytes du tissu glandulaire parfois fort lacunaire (Fig.64).

2.5. Cas des hyalinocytes

Quel que soit le stade d'expérience envisagé, le MET rend compte de la présence de cellules hémocytaires plus ovoïdes que les granulocytes. Celles-ci mesurent $7,2 \pm 3,2 \mu\text{m}$ sur $4 \pm 1 \mu\text{m}$ et sont dépourvues de filopodes. Elles ne s'étirent que

modérément (Fig.13-15). Ce sont les hyalinocytes décrits au chapitre III.A. Ce type cellulaire ne se rencontre jamais dans les couches profondes de la capsule mais est plutôt localisé dans la partie la plus externe (Fig.67). Les hyalinocytes sont souvent entourés par les granulocytes auxquels ils sont intimement liés (Fig.65). Preuve en sont les nombreux accolages membranaires visibles entre ces deux types de cellules (Fig.66 a-b).

3. Analyse et interprétation

Nous pensons, avant toute chose, que l'état du greffon au moment de son implantation intervient de manière décisive sur la rapidité de l'établissement de la réponse immunitaire. Un greffon endommagé suscite immédiatement une intense destruction. Pour faciliter la comparaison entre les diverses expériences, il convient donc de procéder à l'opération avec soin.

La différence de réaction face aux deux composantes du greffon est frappante. C'est au sein de la glande digestive qu'on observe les granulomes, les corps résiduels et les lacunes créées par la destruction des cellules (Fig.53 et 55). Ce tissu est donc reconnu comme étranger et rejeté. Nous rappelons qu'il s'agit pourtant d'une allogreffe puisque l'implant provient d'un mollusque de même espèce que l'animal hôte. A un stade précoce de la réaction, il est difficile de noter les lésions éventuelles causées à la glande digestive. Beaucoup de cellules sont encore intactes et en activité. Meulemann (1972), dans ses travaux sur Biomphalaria pfeifferi, observe que le cycle métabolique des cellules digestives rend difficile la détection d'un état dégénératif puisque ces cellules, après avoir absorbé et digéré le matériel nutritif, dégèrent et sont remplacées. D'autre part, vu la structure lobulaire de la glande digestive, certaines cellules sont plus protégées que d'autres et sont donc détruites plus tardivement. Mais, aux stades plus avancés de l'expérience, les îlots de tissu préservé jusqu'alors seront à leur tour détruits.

Les sporocystes, bien qu'ayant suscité la formation d'une capsule hémocytaire, conservent leur intégrité cellulaire et fonctionnelle à tous les stades étudiés (Fig.39, 45, 51 et 62). Le sporocyste et le fragment de glande digestive ont été greffés simultanément. Nous ne pouvons donc pas être absolument certains que la réaction soit suscitée par le parasite et non pas uniquement par la présence de tissu glandulaire, même si nous savons que le parasite demeure viable. C'est pourquoi nous avons, pour la suite des expériences, transplanté des sporocystes isolés et constaté également une infiltration hémocytaire vers des larves compatibles. Dans le cas d'un parasite compatible, le développement d'une capsule n'aboutit donc pas à une cytolysse. Les facteurs déclenchant cette formation ne seraient donc pas les mêmes que ceux qui gouvernent l'attaque proprement dite du

corps étranger. La capsule pourrait alors jouer un autre rôle qui nous est suggéré par le contact étroit entre les filopodes des hémocytes et le ver (Fig.51, flèches). Nous émettons l'hypothèse que le sporocyste encapsulé puisse prélever des substances nutritives par l'intermédiaire des cellules de l'hôte, dégagées dans ce cas précis de leur fonction défensive. Le marquage de sucres ou de protéines s'avérerait utile pour suivre le cheminement des nutriments. A notre connaissance, cela n'a pas encore été examiné. Nos résultats ne corroborent donc pas ceux de Lie et al. (1980) qui postulent qu'une monocouche cellulaire autour du sporocyste lui permet de se développer en le protégeant, alors qu'une capsule pluristratifiée rend sa croissance difficile. Il est vrai que Lie et Heyneman (1976a) signalent la formation de capsules immenses, certaines pouvant atteindre 100 μm d'épaisseur alors que nos images ne montrent que des capsules de 10 à 20 μm d'épaisseur (Fig.64).

Il est intéressant de constater que les capsules que nous décrirons (IV.B et C) pour les couples mollusque-schistosome incompatibles suivent apparemment le même mode de formation que celles formées dans le cas où le couple est naturellement compatible comme ici. Les cellules impliquées sont les mêmes, malgré la différence frappante dans le devenir du sporocyste. N'oublions pas cependant le fait que la formation d'une capsule dans les situations de compatibilité peut être liée au fait que les sporocystes greffés ne sont jamais totalement débarrassés d'éléments étrangers (bactéries, éléments cellulaires divers) qui suscitent une réaction de défense. De plus, le prélèvement des greffons entraîne le plus souvent des lésions en certains endroits du tégument malgré les précautions prises à la manipulation. S'il était possible de disposer de sporocystes absolument "propres" et non lésés, il n'y aurait vraisemblablement pas reconnaissance de ceux-ci comme non-self, du moins chez la majorité des mollusques. De plus, les sporocystes vieillissants au moment du prélèvement peuvent certainement provoquer une infiltration d'hémocytes.

Malgré l'encapsulation, chez tous les greffons le sporocyste n'est pas détruit par l'hôte; il n'est donc pas reconnu comme non-self par ce dernier. Le parasite appartient en effet à une espèce se développant habituellement chez le mollusque utilisé. Après quelques semaines, on observe le développement d'une parasitose avec émission de cercaires infestantes, prouvant la viabilité du sporocyste greffé.

Le tissu digestif, appartenant pourtant à un mollusque donneur de même espèce que le receveur, est rejeté. Il s'agit d'une allogreffe, reconnue comme non-self par le mollusque et détruite. Nos résultats vont donc à l'encontre de l'affirmation de Lackie (1980) qui ne rapporte aucune reconnaissance de greffe allogénique chez les mollusques. Nos travaux affirment la distinction entre deux parties d'un même greffon, l'une étant reconnue comme "self" et intégrée, l'autre, comme "non-self et détruite.

Quels sont les facteurs qui déterminent la reconnaissance du sporocyste comme tissu homologue ? Faut-il plutôt considérer

une action inhibitrice du ver sur les cellules de défense du mollusque ? Ou le mollusque ne reconnaît-il tout simplement pas le sporocyste comme élément étranger (ou non-self), soit par défaut de son système immunitaire, soit par "camouflage" du ver qui acquiert des antigènes de l'hôte, masquant ainsi sa propre configuration antigénique ? Nous en discuterons au chapitre V.

B. Etude comparative de la réponse du mollusque au cours de transplantations faisant intervenir des combinaisons "hôte-parasite" compatibles et incompatibles

1. Protocole expérimental

Dans un premier temps, l'expérience a consisté à transplanter chez des Planorbes receveurs albinos d'origine brésilienne (B. glabrata B), des greffons constitués de sporocystes de S. mansoni de même origine (S. mansoni B) et des sporocystes de S. mansoni d'origine guadeloupéenne (S. mansoni G).

Dans un deuxième temps, nous avons transplanté chez des Bulins d'origine égyptienne (B. truncatus E), des greffons composés de sporocystes de S. haematobium d'origine nigérienne (S. haematobium N).

La nature incompatible des deux dernières combinaisons a été démontrée par les travaux de Jourdane (1982 et comm. pers.) à partir d'infestations miracidiales et par transplantations.

Les greffons sont récupérés 2, 24 et 48 heures après l'opération. Le temps de 7 jours a été abandonné car la réaction cellulaire suscitée est maximale à 48 heures déjà.

Nous avons examiné au total 12 greffons pour les transplantations sur B. glabrata B (4 pour chaque stade étudié) et 10 greffons pour les implantations chez B. truncatus E (3 pour le stade 2h, 4 pour le stade 24h et 3 pour le stade 48h).

Les observations au MEB ont été abandonnées pour la suite des expériences. En effet, la comparaison entre les différentes modalités de l'encapsulation ne peut se faire correctement qu'à l'aide du MET (V.B.1.).

2. Résultats

Transplantation de S. mansoni B et S. mansoni G sur B. glabrata B

2.1. Etat des greffons 2 heures après la transplantation

2.1.1. Greffon composé de S.mansoni B

Le sporocyste présente des microvillosités tégumentaires normales. A l'intérieur du ver greffé se développent les cercaires (Fig.68 et 69). Les cellules tégumentaires et leurs inclusions lipidiques, ainsi que la musculature en parfait état, attestent de l'intégrité du sporocyste. A sa surface,

quelques rares granulocytes de forme arrondie montrent que la réaction de défense cellulaire est faible (Fig.70). Leurs filopodes ne sont pas orientés parallèlement à la surface sous-jacente du sporocyste ni parallèlement les uns aux autres. Leur cytoplasme est dépourvu de glycogène mais renferme de nombreux corps lysosomaux. Un granulocyte s'est déjà étalé au contact du greffon (Fig.69, flèche).

2.1.2. Greffon composé de S. mansoni G

L'état du greffon est très inégal (Fig.72). Certaines zones sont déjà attaquées par les cellules de défense. Les muscles sont dispersés et l'on peut observer des protonéphridies "libres" (Fig.73). Des lacunes apparaissent au sein du tissu parasitaire. Les cercaires en formation sont, elles aussi, en voie de destruction (Fig.72). Quelques granulocytes s'étirent sur le greffon ou s'accumulent sous une forme arrondie (Fig.74). On ne peut pas décrire l'existence de véritables capsules à ce stade.

Il subsiste cependant des zones intactes où le sporocyste-fils et les éléments qu'il contient ne présentent encore aucun signe de lésion. Les microvillosités sont ici en parfait état et l'histologie du ver est normale (Fig.71). Aucun granulocyte n'est visible à la surface de ces zones.

2.2. Etat du greffon 24 heures après la transplantation

2.2.1. Greffon composé de S. mansoni B

Malgré l'importante réaction cellulaire à sa surface, le greffon est indemne (Fig.75). Toutes les structures caractéristiques du ver (muscles, lipides et microvillosités des cellules tégumentaires) sont en place (Fig.77). Les cercaires embryonnaires sont en parfait état (Fig.76). Les granulocytes parvenus à la surface de l'implant sont de forme arrondie et espacés les uns par rapport aux autres. Leur cytoplasme renferme de nombreux lysosomes, des granules lipidiques et du glycogène. Entre certains granulocytes, on peut noter la présence de matériel fibrillaire.

En périphérie de la couche de granulocytes, on observe parfois des hyalinocytes qui n'ont pas établi de contact étroit avec les autres cellules (Fig.78 a-b).

2.2.2. Greffon composé de S. mansoni G

La figure 79 illustre parfaitement la réaction cellulaire intense à ce stade d'expérience. Il s'agit de la formation d'un granulome (structure déjà définie lors de l'encapsulation

du tissu digestif en IV.A), associée à une destruction avancée du greffon. Les granulocytes sont orientés parallèlement à la surface primitive du greffon et sont jointifs. Il devient difficile de distinguer les limites cellulaires, les granulocytes envahissant peu à peu le territoire occupé précédemment par le tissu du ver (Fig.80). Il est également peu aisé de suivre le cheminement des filopodes tant l'organisation des cellules de défense est dense. Une figure détaillée permet cependant d'observer des microvillosités englobées par des filopodes (Fig.81) puis phagocytées par les granulocytes (Fig.82 a-b).

On retrouve des hyalinocytes associés aux granulocytes dans la partie la plus externe de la capsule (Fig.83). La nature du contact entre les deux types cellulaires sera discutée au chapitre V.B.

2.3. Etat du greffon 48 heures après la transplantation

2.3.1. Greffon composé de *S. mansoni* B

Les schémas correspondant à ce stade (Fig. 84) montrent les éléments cercariens en parfait état. Les cellules tégumentaires et les microvillosités du sporocyste-fils ont un aspect normal.

On retrouve une capsule lâche, constituée de granulocytes et de hyalinocytes (Fig. 87). Les filopodes des granulocytes contiennent du matériel fibrillaire (Fig. 88).

Il faut cependant préciser que quelques images de ce stade illustrent des zones où la réaction a été plus importante (Fig.85) et où l'on retrouve du tissu musculaire "libre" (Fig. 86). Les stades larvaires en formation sont toujours indemnes. Il devient difficile de suivre les microvillosités du sporocyste greffé mais la cohésion de l'implant est maintenue.

2.3.2. Greffon composé de *S. mansoni* G

Le sporocyste-fils est presque complètement détruit (Fig.90). Il en subsiste quelques éléments isolés (microvillosités et réserves lipidiques, faisceaux musculaires isolés) (Fig.91). Le tissu embryonnaire qu'il contient est lacuneux. Les cercaires sont libres et en mauvais état (Fig.90). Leur tégument présente des signes évidents de lésions : disparition des épines, discontinuités de la surface, lacunes apparaissant à l'intérieur même de la larve (Fig.92). Il ne subsiste plus aucune structure reconnaissable dans l'espace occupé précédemment par le sporocyste.

Sur la droite du schéma (Fig.89), on distingue un important rassemblement de granulocytes et quelques structures non identifiables en cours de destruction. De nombreux lysosomes

secondaires (Fig.93) gonflent le cytoplasme des cellules de défense qui entourent du matériel fibrillaire (Fig.94).

Transplantation de *S. haematobium* N sur *B. truncatus* E

2.4. Etat du greffon 2 heures après la transplantation

Le greffon est bien conservé (Fig.95). Le sporocyste-fils et les stades embryonnaires qu'il contient sont en bon état. On reconnaît toutes les structures caractéristiques du ver normal (Fig.96).

Sur sa surface s'accumulent des granulocytes de forme arrondie. Quelques-unes de ces cellules s'infiltrèrent entre les microvillosités pour les disloquer (Fig.97). Leur cytoplasme montre des lysosomes secondaires à structure multilamellaire (Fig.99). Les hyalinocytes sont déjà présents et sont entourés par des granulocytes. Le cytoplasme des hyalinocytes contient un abondant réticulum endoplasmique granulaire, des vacuoles et des mitochondries ainsi que le noyau caractéristique.

Plusieurs figures montrent l'englobement de tissu musculaire à la surface du greffon alors que le greffon lui-même ne paraît pas endommagé (Fig.97 et 98) (rapellons que l'ensemble du greffon a été examiné par des coupes séquentielles). Les microvillosités semblent intactes. Le tissu musculaire isolé est en voie de phagocytose.

Un seul greffon est dégénérescent sans pour autant présenter une accumulation hémocytaire à sa surface. Les structures internes du ver sont dissociées et les tissus restants présentent des autophagosomes. Il s'agit probablement d'une réaction à la transplantation, ne dépendant pas de la nature du greffon mais de son état de conservation lors de l'implantation.

2.5. Etat du greffon 24 heures après la transplantation

A ce stade, le greffon peut revêtir trois aspects différents:

Le premier aspect montre un sporocyste vidé de son contenu (Fig.100 et 101). Seules quelques microvillosités et des structures membranaires enveloppant des mitochondries agrandies et des cellules musculaires subsistent. Il n'y a pas de granulocytes à la surface du greffon mais un hyalinocyte contenant du matériel fibrillaire (Fig.102).

Le second aspect pris par le greffon est celui d'un ver à la structure aberrante avec un nombre exagéré d'inclusions lipidiques et une dislocation des tissus internes qui lui

donne une apparence en "blocs" juxtaposés (Fig 103). Les inclusions lipidiques semblent parfois refoulées à l'extérieur des microvillosités encore en place. Les granulocytes sont nombreux et forment une capsule sans grande cohésion (Fig.104). Ils participent à la phagocytose des microvillosités. Par endroits, on retrouve l'association entre les deux types de cellules hémocytaires.

Dans une troisième série d'images, le greffon est réduit à quelques mitochondries, des corps denses épars et du tissu musculaire isolé (Fig.105). On ne trouve plus trace des microvillosités. La disposition des granulocytes indique la formation d'un granulome construit de cellules étirées et empilées en couches concentriques (Fig. 106). Une grande quantité de matériel fibrillaire est présente non seulement entre les granulocytes mais aussi dans la zone occupée précédemment par le ver. Les fibres ont une périodicité régulière. Les granulocytes contiennent des granules lipidiques peu denses et des structures multilamellaires disposées en stries concentriques (Fig.107).

2.6. Etat du greffon 48 heures après la transplantation

L'aspect en granulome s'intensifie mais il n'y a toujours pas d'infiltration des cellules de défense à l'intérieur du tissu parasitaire (Fig.108). Seules les microvillosités sont visiblement attaquées par les granulocytes (Fig.109). Pourtant, le ver présente d'immenses lacunes accompagnées de zones de condensation des tissus larvaires (Fig.110). La densité de ces zones est principalement due à l'impressionnante quantité de réticulum endoplasmique granulaire souvent organisé en longs rubans parallèles (Fig.111). On trouve également des mitochondries à structure aberrante dont les crêtes sont déformées, quelques noyaux pycnotiques et des corps résiduels (Fig.112). Même dans les endroits mieux préservés, des inclusions lipidiques énormes affleurent à la surface du greffon (Fig.110).

Les granulocytes peuvent s'emboîter de façon particulière (Fig.113). Cet aspect en "pavés" n'est rencontré que rarement.

Dans la partie externe de la capsule, les granulocytes sont le plus souvent associés aux hyalinocytes. Des contacts membranaires très longs se nouent entre les filopodes des granulocytes et le corps cellulaire arrondi des hyalinocytes (Fig.114). Ces derniers ne possèdent que peu d'organelles, le plus souvent des mitochondries et une faible quantité de réticulum endoplasmique granulaire. Rarement, quelques granules lipidiques, des corps denses et du glycogène rendent leur cytoplasme plus dense. La figure 115 révèle un phénomène nouveau : un hyalinocyte est littéralement étranglé par des granulocytes.

3. Analyse et interprétation

L'utilisation de larves de Trématodes comme greffons est astucieuse car elles sont plus difficilement endommagées que les tissus molluscaux. De plus, on sait que certaines souches de parasites ne suscitent pas de réaction ou du moins une réaction faible chez leur hôte, tandis que d'autres provoquent une nette encapsulation. La tentation est alors grande de considérer un parasite accepté, comme self ou tissu homologue et un parasite rejeté, comme non-self ou hétérologue (Cheng, 1970). Cet auteur note au passage l'importance de la technique de transplantation dans la compréhension des phénomènes de défense chez les Invertébrés.

En ce qui concerne nos expériences, l'encapsulation commence beaucoup plus tôt autour de la souche incompatible S. mansoni G qu'autour de la souche compatible S. mansoni B. Deux heures après la transplantation déjà, des zones d'intense destruction sont visibles chez le ver incompatible, même si certaines parties en sont encore intactes (Fig.72). Néanmoins, nous ne trouvons pas une accumulation intense d'hémocytes et la capsule n'est pas encore bien structurée, bien que les granulocytes soient déjà jointifs. A ce moment précoce de l'expérience, l'attraction face aux deux souches considérées semble identique. En effet, sur les images prises à ce stade, le nombre de cellules de défense à la surface des greffons paraît être le même pour les deux parasites étudiés (Fig.72 et 69). Chez certains greffons incompatibles, la présence de régions détruites peut s'expliquer comme conséquence de lésions causées par la manipulation du parasite avant son implantation. Ces lésions peuvent accélérer l'action de certains facteurs lytiques. Nous devons cependant remarquer que les greffons composés de S. mansoni B ne montrent jamais de tels signes pathologiques, même quand des cellules de défense sont présentes à leur surface.

Vingt-quatre heures après la transplantation, la différence de la réaction contre les deux souches est plus prononcée. Le greffon incompatible est sérieusement endommagé par les cellules de défense. A ce stade de l'expérience, il est évident que le Planorbe reconnaît si l'implant est compatible ou non. La destruction du parasite incompatible se poursuit et son élimination est imminente. Le parasite compatible se développe normalement malgré la présence d'une capsule parfois épaisse (Fig.76). La présence de la capsule s'explique ici aussi par le fait que les sporocytes transplantés sont porteurs d'éléments étrangers.

La différence est confirmée au stade 48 heures (Fig.85 et 90). Le tégument du sporocyste peut parfois être légèrement altéré même dans la souche compatible mais cela demeure exceptionnel. Nous n'avons pu déterminer s'il retrouve son intégrité par la suite. Les différents stades cercariens sont parfaitement intacts. Chez la souche incompatible, le tégument du sporocyste-fils et la plupart des éléments cercariens qu'il contient sont détruits. Si une cercaire est occasionnellement préservée, son tégument est très altéré et la larve n'est de

toute évidence pas viable (Fig.92).

Contrairement à la description de Loker et al. (1982), les hémocytes de nos expériences ont toujours produit de longs filopodes pénétrant assez profondément entre les microvillosités du parasite (Fig.81). De plus, nous relevons la présence de matériel fibrillaire dans les granulocytes, lesquels semblent bien être à l'origine de la production de ce matériel. Nous retrouvons dans nos images les cellules hyalines. Elles apparaissent toujours liées à des cellules plus denses. Des contacts étroits s'établissent entre les deux types cellulaires.

Le fait marquant de nos résultats demeure la différence frappante de réaction face au deux souches transplantées. La distinction entre un parasite homologue et un parasite hétérologue se réalise donc parfaitement.

Pour le couple S. haematobium N et B. truncatus E, l'encapsulation n'est pas très marquée; néanmoins, la destruction du sporocyste s'accomplit (Fig.101,103,105 et 110). La différence d'origine géographique entre le mollusque et le parasite suffit à induire une reconnaissance comme non-self des tissus parasitaires. Le mollusque n'accepte pas une souche de schistosome d'origine nigérienne pourtant de même espèce que celle qu'il abrite habituellement.

La destruction du ver est assez lente. Chez le Bulin, la capsule formée se contente d'entourer le greffon même à des stades avancés de la réaction (Fig. 109). Nous entendons par là que les granulocytes ne pénètrent jamais dans la zone centrale de l'implant et ne font qu'isoler le sporocyste du milieu interne du mollusque. Nous n'observons pas la formation de granulomes décrite chez B. glabrata. La réaction semble commencer par l'isolement du ver et se poursuivre par l'attaque et la phagocytose des microvillosités et des cellules tégumentaires du sporocyste. Ensuite interviendraient des phénomènes autres que la phagocytose, tels que des facteurs cytotoxiques libérés par les granulocytes ou des facteurs humoraux présents dans le sérum. Il s'agit probablement des facteurs décrits par Bayne et al. (1980) en réponse à l'infection par S. mansoni chez des B. glabrata résistants à ce parasite.

Il nous reste à mentionner que, sur certaines images de l'expérience avec S. haematobium N, des fibres musculaires se mêlent aux cellules de défense dans la partie externe de la réaction (Fig.97). Curieusement, cet état est associé à des capsules plus denses et à une destruction moins prononcée du ver. Ce phénomène correspond aux "myofibrous encapsulations" décrites par Cheng et Rifkin (1970) chez des mollusques marins et qui n'ont pas été signalées chez les Bulins.

Dans le cas des couples incompatibles, nous constatons donc que, si le résultat final est le même pour les deux couples choisis et aboutit à la destruction du ver greffé, les modalités de la réponse ne sont pas tout à fait identiques. L'encapsulation se fait d'une manière que nous désignerons

comme classique chez B. glabrata et de manière moins nette chez le Bulin. Les deux mollusques reconnaissent un parasite incompatible mais réagissent de façon sensiblement différente au non-self, reflétant ainsi des capacités de défense propres à chaque espèce.

C. Etude comparative de la réponse du mollusque au cours de transplantations faisant intervenir des combinaisons "hôte-parasite" artificielles

1. Protocole expérimental

Des sporocystes de S. mansoni originaires du Brésil ont été transplantés, d'une part, chez des Bulins d'origine égyptienne (B. truncatus E) et, d'autre part, chez des Oncomelania originaires du Japon (O. hupensis J).

Ces associations sont totalement artificielles et ne se rencontrent pas dans des milieux naturels. Elles ont été réalisées dans le but de vérifier la variation de l'intensité de la réponse chez des couples "mollusque-parasite" non usuels.

Les greffons sont récupérés 2, 24 et 48 heures après la transplantation et fixés pour l'observation au MET.

Nous avons observé au total 9 greffons de S. mansoni B sur B. truncatus E (3 pour chaque stade) et 7 greffons sur O. hupensis J dont 4 en microscopie optique (stades 2h et 24h) et 3 au MET (stade 48h).

2. Résultats

2.1. Transplantation de S. mansoni B sur B. truncatus E

2.1.1. Etat du greffon 2 heures après la transplantation

A ce stade, la réponse immunitaire est variable:

Les greffons ne sont généralement pas encore touchés par la défense cellulaire (Fig.116). Ni le sporocyste-fils, ni les éléments cercariens ne sont endommagés. On peut constater l'excellent état des cellules tégumentaires du sporocyste-fils et de leurs microvillosités (Fig.117). Les cercaires montrent des épines et une protonéphridie. Autour de ce greffon, la capsule est lâche (Fig.120) et formée de granulocytes peu nombreux mais très actifs, comme en témoignent la présence de lysosomes secondaires et la grande quantité de granules lipidiques contenus dans le cytoplasme (Fig.118). Ces granulocytes ne stockent cependant pas encore une quantité remarquable de glycogène. Leur réticulum endoplasmique granulaire est abondant et la morphologie des mitochondries semble tout à fait normale. Les hémocytes ne sont pas encore organisés en couches superposées. Quelques hyalinocytes de forme arrondie sont en étroit contact avec les granulocytes.

Chez un des greffons considérés, le ver présente déjà des

signes de dégénérescence (Fig.121) : structure en blocs tissulaires disjoints, cellules tégumentaires dissociées, inclusions lipidiques trop abondantes, lacunes, muscles épars. Le tégument de la cercaire est désagrégé (Fig.119). Il est surprenant de constater que la capsule n'est pas très dense. Quelques granulocytes épars présentent des granules lipidiques, des lysosomes secondaires et un peu de glycogène.

2.1.2. Etat du greffon 24 heures après la transplantation

La dissociation du ver est presque complète. Par endroits, le tégument du sporocyste-fils subsiste à l'état de trace. On peut deviner ainsi la silhouette primitive du ver. Les structures cercariennes typiques ne sont pas reconnaissables (Fig. 123). Seuls quelques flots de cellules germinales, des corps denses, des fibres musculaires isolées attestent l'existence du greffon. Des mitochondries sont éparpillées dans toute la zone réactionnelle. On assiste à une dissociation progressive des tissus du ver qui aboutit à la formation de cellules dégénératives, très denses, remplies de réticulum endoplasmique granulaire et de lysosomes (Fig.124).

Chez certains greffons, le tégument cercarien subsiste par endroits mais à l'état de traces (Fig.125).

La capsule est maintenant organisée en couches concentriques (Fig.126) avec parfois des accumulations plus intenses de granulocytes sur certaines régions du greffon où les cellules reprennent une forme arrondie (Fig.127). La capsule n'occupe toutefois que la périphérie de la zone réactionnelle. Il n'y a donc pas de contact direct entre les cellules de défense et le tissu profond du ver, malgré la phagocytose des microvillosités tégumentaires par les filopodes des granulocytes (Fig.128). Le réseau des filopodes est extrêmement complexe et le processus d'attaque des microvillosités par ces expansions cytoplasmiques est net. Cependant, les microvillosités semblent avoir été transportées vers une région plus externe de la capsule (Fig.122).

En surface, on remarque des hyalinocytes le plus souvent entourés par les filopodes des granulocytes (Fig.129). Quelques-unes de ces cellules contiennent du matériel fibrillaire qu'on rencontre également entre les couches de granulocytes (Fig.130). Les filopodes s'insinuent parfois à travers la membrane plasmique des hyalinocytes en la rompant (Fig.131).

2.1.3. Etat du greffon 48 heures après la transplantation

Le ver est complètement désagrégé (Fig.132). Seules quelques traces membranaires dessinent subtilement le contour des cercaires primitivement en place (Fig.133). On retrouve des muscles isolés, des granules lipidiques, des corps denses et des mitochondries libres (Fig.135).

La capsule se désorganise par endroits, devenant très lâche, mais reste encore dense ailleurs (Fig.134). La phagocytose des microvillosités s'observe plus rarement (Fig.133). Les granulocytes stockent une grande quantité de glycogène et semblent être encore très actifs, mais ils ne s'infiltrèrent jamais dans la région centrale du greffon.

La zone de transition entre la capsule et le ver détruit montre la présence de matériel fibrillaire (Fig.135).

On retrouve de rares hyalinocytes dans la zone externe.

2.2. Transplantation de S. mansoni B sur O. hupensis J

Pour les raisons décrites au chapitre C.2. de Matériel et Méthodes, les greffons récupérés au stades 2h et 24h après la transplantation n'ont été observés qu'en coupes semi-fines. L'analyse fine de l'état des différents tissus n'a donc pas été possible bien qu'on puisse visualiser la réponse cellulaire avec une certaine précision.

2.2.1. Etat du greffon 2 heures après la transplantation

Le greffon offre une image classique d'encapsulation intense (Fig. 136). Les granulocytes ne sont cependant pas aplatis. Le tissu parasitaire ne semble pas affecté par la réaction de défense bien que quelques lacunes soient déjà discernables (Fig.137).

2.2.2. Etat du greffon 24 heures après la transplantation

Le greffon semble indemne. On peut entrevoir par endroits la silhouette du sporocyste-fils dessinée par quelques granulocytes aplatis. Cependant, les stades larvaires embryonnaires sont lacuneux (Fig.138). On discerne tout de même les épines du tégument cercarien (Fig.139, flèches).

2.2.3. Etat du greffon 48 heures après la transplantation

On note une totale incohérence des tissus du greffon (Fig.140). Le ver est lacuneux, ses muscles sont dissociés (Fig.141), les cellules tégumentaires détruites et les microvillosités phagocytées par les granulocytes (Fig.142). Des vacuoles de phagocytose contenant des villosités et du tissu musculaire se forment. On retrouve une zone où l'accumulation des inclusions lipidiques atteint un maximum pour ce qui est de nos observations. Les gouttes lipidiques semblent être déversées à l'extérieur de la région

réactionnelle (Fig.143). Des granules plus denses et des corps résiduels se partagent de manière désordonnée le volume restant.

Une intense accumulation de granulocytes a pris place ainsi qu'un nombre non négligeable de hyalinocytes qui ne colonisent que la zone périphérique de la capsule (Fig.144).

3. Analyse et interprétation

Dans les deux couples utilisés, les parasites ont été reconnus comme parasites non homologues et détruits par les mollusques mais les hôtes réagissent de façon différente face aux implants.

La réponse obtenue pour chaque couple choisi diffère par quelques particularités :

Pour le couple S. mansoni B - B. truncatus E, l'encapsulation est assez importante et la destruction du parasite très violente (Fig. 123 et 133) même si les hémocytes ne pénètrent pas vraiment dans le ver greffé. Au stade 2h, des images montrent le sporocyste dissocié sans la présence d'une capsule structurée (Fig.121). Les quelques granulocytes épars sont très actifs et présentent de gros granules lipidiques et des lysosomes mais semblent peu nombreux pour justifier à eux-seuls l'intense destruction du parasite. Ici aussi, la seule participation de la composante cellulaire de la défense semble insuffisante pour expliquer l'efficacité extrêmement nette de la réponse.

Pour le couple S. mansoni B - O. hupensis J, l'encapsulation est très forte. Les lésions graves n'apparaissent qu'au stade 48 h (Fig. 141 et 142). Les images réalisées avec le couple S. mansoni B - O. hupensis J sont les seules à avoir présenté une forme d'atteinte du ver particulière. Ce dernier n'est pas, à proprement parler, disloqué mais montre une accumulation aberrante de granules lipidiques qui sont déversés vers les zones périphériques de l'implant dans les stades avancés de la réaction (Fig. 143). Il n'est pas aisé d'expliquer ce phénomène si ce n'est en lui attribuant une origine pathologique. En effet, l'accumulation de lipides intracellulaires est parfois considérée comme l'un des aspects de la dégénérescence des cellules (David, 1978). S'agirait-il ici également de la manifestation d'un état dégénératif des cellules du ver ? Nous ne pouvons le dire avec certitude malgré le témoignage des images.

Nous pouvons constater que, malgré le but final identique qui vise la destruction du greffon, les deux espèces de mollusques réagissent avec des modalités propres. La dynamique de la réponse immune est également différente.

Le Bulin réagit d'une manière semblable si on lui présente

le parasite S. mansoni B ou le parasite S. haematobium N (chapitre IV.B). La destruction du ver est un peu plus violente et plus rapide (dès le stade 24h) lorsque le ver appartient à une espèce qui ne se développe pas habituellement dans le mollusque (ici : S. mansoni) mais les modalités de l'encapsulation sont les mêmes. Il est possible que S. mansoni possède d'avantage de déterminants reconnus comme non-self par le mollusque que S. haematobium, induisant une réponse plus efficace face à la première espèce. Rappelons que S. haematobium du Niger est pourtant finalement détruit par un Bulin d'origine égyptienne. Une provenance géographique différente entre un parasite et son hôte suffit donc à déterminer une attitude réfractaire du mollusque, même si la réponse semble moins violente que lorsque le couple formé est artificiel.

V. LES MECANISMES DE DEFENSE CHEZ LES MOLLUSQUES

Avant-propos

Les mollusques présentent des mécanismes de défense à médiation cellulaire et à médiation humorale. Les mécanismes cellulaires se manifestent principalement par la phagocytose et par l'encapsulation dont nous parlerons au chapitre B.

Ces deux phénomènes conduisent à la mort et à la résorption du matériel phagocyté ou encapsulé (Cheng, 1983). Dans certaines situations particulières, on peut observer la formation de perles (Tsujii, 1960). Richards (1970) signale le fait chez B. glabrata.

Divers auteurs rapportent l'existence de facteurs humoraux chez les mollusques. Les hypothèses quant à leur nature et à leur intervention dans les phénomènes de reconnaissance seront discutées au chapitre C.

Les manifestations de la réponse immunitaire impliquent des phénomènes préalables de reconnaissance non-spécifiques ou spécifiques qui déterminent si un corps étranger est reconnu comme "self" ou "non-self" par le mollusque. Dans le premier cas, le corps étranger sera accepté, dans le second, il sera isolé et détruit par les mécanismes effecteurs du système de défense. L'adoption de tel ou tel mode de destruction fait probablement intervenir des facteurs spécifiques au niveau moléculaire. Les mécanismes de reconnaissance seront discutés au chapitre A.

A. La reconnaissance du self et du non-self

Certains auteurs soutiennent que les cellules des systèmes primitifs ne reconnaissent que des éléments "self" (Burnet, 1976). Pourtant, en 1968 déjà, Reade constatait que des éléments "non-self" sont reconnus et rapidement détruits par les cellules de défense des Invertébrés.

La coexistence possible entre un parasite et son hôte est d'un grand intérêt dans la tentative souvent ardue de comprendre les mécanismes de reconnaissance chez les mollusques. L'hôte qui accepte un parasite est défini comme susceptible; celui qui détruit le parasite, comme hôte non susceptible ou réfractaire. Il y a compatibilité entre l'hôte et le parasite dans le premier cas, et incompatibilité dans le

second. La compatibilité a été définie (Wright, 1974; Basch, 1976) comme la résultante des interactions entre la susceptibilité de l'hôte et l'infectivité du parasite. Au sens large, ces notions font également intervenir des phénomènes autres qu'immunologiques. Les différents couples hôte-parasite peuvent présenter des niveaux de compatibilité s'échelonnant entre la compatibilité parfaite et l'incompatibilité totale. Basch (1976) écrit, en outre, que la compatibilité réside dans une concordance phénotypique entre le mollusque et "son" schistosome. En 1968, Cheng donne une définition précise de l'incompatibilité qui consisterait en l'absence de substances stimulant la croissance et le développement du parasite, ou la présence de facteurs inhibiteurs, associés à l'état nutritionnel de l'hôte et à l'efficacité de son système de défense. Cette notion avait d'ailleurs été ébauchée par Newton (1952, 1954) qui, lui, interprétait le succès ou l'insuccès d'une infection parasitaire en termes de susceptibilité du mollusque. Rappelons que Newton (1952) est le premier à avoir comparé la susceptibilité de deux souches de B. glabrata d'origine géographique différente, face à S. mansoni. C'est la première démonstration de la différence de susceptibilité de souches allopatriques de mollusques face à un parasite. Selon Michelson et Dubois (1978), il existe une très grande variété de la susceptibilité pour un même parasite selon l'origine géographique des souches de B. glabrata. Les phénomènes d'encapsulation ont suggéré cependant à plusieurs auteurs dont Wright (1966), que la susceptibilité, ou défaut de réaction immune, pouvait être due à l'interférence du parasite dans les processus de la réponse innée, ou à l'évitement de cette dernière par "camouflage".

Comment les parasites échappent-ils donc à la défense immune de leurs hôtes ?

Avant de répondre à cette question, précisons qu'une évvasion de la réponse immune par le parasite, par quelque moyen que ce soit, peut avoir deux conséquences opposées : d'une part, la mort de l'hôte due aux dommages causés par le parasite ou, d'autre part, la coexistence de l'hôte et de son parasite, situation de "neutralité" pouvant se poursuivre jusqu'à la mort naturelle d'un des deux partenaires.

Nous allons donc considérer les moyens déployés par le parasite pour parvenir à une coexistence "pacifique" avec son hôte, situation que nous retrouvons dans le modèle "schistosome-mollusque". Si une infection réussit, soit le parasite n'est pas reconnu comme non-self, soit il est reconnu mais interfère avec la réponse de l'hôte. De plus, s'il interfère, il a plusieurs moyens de s'imposer. Le premier (a) est d'inhiber activement les processus immunologiques de l'hôte, c'est la manière forte; le second (b), plus subtil, est de ne pas susciter de réponse en se camouflant, soit par l'acquisition d'antigènes appartenant à l'hôte, soit en synthétisant des molécules semblables aux antigènes de ce dernier.

La première hypothèse d'interférence (a) a été testée, entre autres, par Lie et Heyneman (1976b) et Lie et al. (1976). Un

fait particulièrement intéressant se produit lors de l'infestation de B. glabrata résistants par le Trématode Echinostoma lindoense. Les sporocystes sont encapsulés par les cellules de défense dans le coeur des mollusques. Certains d'entre eux parviennent cependant à échapper à l'encapsulation et vont continuer leur développement dans la glande génitale. Le mollusque perd alors sa résistance et devient susceptible à une nouvelle infestation. Des amœbocytes sont produits lors d'une réinfestation mais ne sont plus attirés vers le parasite. Les auteurs suggèrent que la survie du parasite interfère avec la capacité de reconnaissance des cellules de défense en inhibant leur pouvoir d'attaque. Le phénomène ne semble par ailleurs pas être spécifique, puisqu'une infection préalable avec des sporocystes de S. mansoni protège les miracidiums de E. lindoense, normalement encapsulés.

Le seconde solution (b) a été abondamment étudiée. Elle se révèle plus séduisante, puisqu'elle ne comporte pas une synthèse continue de substances inhibitrices. Elle a pris forme petit à petit avec les écrits de Bang (1973) qui suggère l'existence de mécanismes de protection développés par le ver pour lui permettre la survie dans un hôte. Le mollusque ne reconnaît alors plus le parasite qui se "camoufle" par l'acquisition de molécules qui paraissent familières à l'hôte. Là encore, les auteurs distinguent le véritable camouflage ("molecular mimicry" des auteurs anglo-saxons : Lie, 1982; Yoshino et Bayne, 1983), où le parasite possède les antigènes communs avec l'hôte sans devoir les acquérir (Damian, 1979), de l'évasion par adsorption de molécules de l'hôte sur la surface parasitaire. Ces hypothèses seraient d'autant plus séduisantes que, nous le verrons, la réponse immune des mollusques semble être basée sur des différences physico-chimiques de surface et des mécanismes spécifiques moins élaborés que le système mis en oeuvre chez les Vertébrés.

Stanislawski et al. (1976) observent des molécules avec des déterminants carbohydratés identiques, sur la surface des miracidiums et dans le sérum de l'hôte. De plus, des anticorps obtenus contre l'hémolymphe des mollusques hôtes réagissent aussi avec la surface miracidiale (Yoshino et Cheng, 1978). Rappelons que l'on retrouve ce phénomène chez les stades adultes des schistosomes et leur hôte vertébré (Capron et al., 1968; Damian et al., 1973). Yoshino et Bayne (1983) se sont attachés à distinguer dans le phénomène global de l'évasion la part de la véritable "mimicry" et celle de l'adsorption de molécules d'origine de l'hôte. Pour ces auteurs, il y a indubitablement des antigènes acquis par le parasite à partir du Planorbe. Cependant, ils constatent que des miracidiums et des sporocystes I de S. mansoni possèdent des antigènes de surface qui réagissent avec des anticorps obtenus contre des composantes de l'hémolymphe du mollusque, même si les larves proviennent d'un milieu de culture dépourvu de tout matériel d'origine molluscale. Ces déterminants antigéniques sont donc d'origine parasitaire.

Bien que les hypothèses décrites soient séduisantes, il manque, pour l'instant, la preuve que l'acquisition de

molécules provenant de l'hôte ou le camouflage gouvernent à eux-seuls les interactions mollusque-trématode. Certains auteurs utilisent pourtant ces hypothèses comme théorie de la survie des larves dans un mollusque, hôte intermédiaire (Basch, 1976; Stein et Basch, 1979).

Bayne *et al.* (1984), après des expériences *in vitro* sur l'inhibition de l'adhésion des hémocytes, concluent que l'adhésion exige des récepteurs spécifiques sur la membrane des cellules mais que ces facteurs ne sont pas seuls responsables de la résistance ou de la susceptibilité de l'hôte. En effet, tant les hémocytes d'une souche résistante que ceux d'une souche susceptible adhèrent aux sporocytes. Nous l'avons également observé dans notre travail. La différence se marque dans la suite du phénomène et fait intervenir d'autres facteurs.

La capacité d'un hémocyte à distinguer le "self" du "non-self" est pourtant attestée par l'acceptation d'isogreffes et de sporocytes homologues d'une part, et l'encapsulation de corps étrangers d'autre part (Basch, 1976). Chez les Invertébrés, la reconnaissance immune qui aboutit aux réactions cellulaires que nous avons décrites peut certainement s'opérer grâce à un support membranaire au niveau des hémocytes, soit spécifique, soit non-spécifique, se basant alors sur des mécanismes physico-chimiques. Ce dernier mode d'action jouerait un rôle important dans la reconnaissance de matériel abiotique par exemple. Les mécanismes physico-chimiques impliqueraient des propriétés de surface, à la fois du phagocyte et de la particule à éliminer. Celle-ci doit être plus hydrophobe que le phagocyte pour être englobée (van Oss, 1978). Le contact dépendrait donc de l'hydrophobicité des membranes (Capo *et al.*, 1979). L'autophagie est alors prévenue si les éléments de l'organisme possèdent un déterminant "self" reconnu par les phagocytes (Burnet, 1971). Ce phénomène n'est malheureusement pas bien illustré chez les mollusques. Seuls Renwranz et Cheng (1977) rapportent qu'une population d'hémocytes d'*Helix pomatia*, *in vitro*, peut adhérer directement à des érythrocytes de lapin, de souris ou de mouton. Il n'est pas exclu, par ailleurs, que des lectines, dont nous parlerons en tant que facteur humoral, fassent partie intégrante de la membrane des hémocytes et interviennent dans ce phénomène.

Une observation supplémentaire vient étayer l'hypothèse de facteurs de surface dans la reconnaissance. Elle provient des travaux de Lim (1970). Cet auteur note qu'un sporocyte greffé est encapsulé s'il est brisé, alors qu'entier il ne suscite aucune réaction de défense. Les hémocytes détecteraient chez la larve lésée des groupements chimiques, de structure non familière, qui sont masqués si le ver est intact.

Chorney et Cheng (1980) affirment que les Invertébrés peuvent reconnaître de légères différences entre des structures antigéniques qui leur sont présentées, ce qui impliquerait des récepteurs de surface des phagocytes. Les taux dissemblables de phagocytose de diverses bactéries, *in vitro*, suggèrent une certaine spécificité de la réponse

cellulaire mais les différences peuvent tout aussi bien découler uniquement des facteurs physico-chimiques mentionnés ci-dessus. Lackie (1980), dans une importante révision de l'immunité chez les Invertébrés, déclare que l'acceptation de certaines greffes tissulaires prouve l'existence d'une histocompatibilité de surface liée au degré d'hydrophobicité ou à la charge des membranes. Ce phénomène jouerait également un rôle prépondérant si l'implant est d'origine parasitaire. En outre, chaque surface serait reconnue avec un degré d'histocompatibilité propre. Des facteurs de surface jouent certainement un rôle dans le fait qu'une larve échappe à la mise en place de mécanismes de destruction lorsque le parasite est compatible, mais les hypothèses actuelles ne suffisent pas à expliquer toute la complexité de la reconnaissance chez les mollusques.

La première phase de la défense cellulaire est la reconnaissance d'un corps étranger entrant dans un hôte. Cette étape peut s'effectuer avant le contact entre les hémocytes et le corps étranger puisqu'on assiste à une leucocytose et à une migration hémocytaire vers la structure envahissante (Tripp, 1961; Sminia et al., 1974; Bayne et al., 1980). Les mécanismes chimiotactiques en jeu n'ont pas encore été caractérisés.

Lie et al. (1979) rapportent que la protection de S. mansoni par une infection préalable avec Echinostoma paraensei varie selon la souche de B. glabrata utilisée. Le mollusque répond donc de façon spécifique à l'infection initiale. On peut en déduire que l'encapsulation est d'autant plus rapide que l'expression de la résistance naturelle contre le parasite est forte.

Il nous a semblé intéressant de vérifier la variation de l'intensité et de la rapidité de la réponse et donc l'efficacité des mécanismes de reconnaissance, chez des couples "mollusque-parasite" incompatibles et totalement artificiels. Nous nous attendions logiquement à une réaction d'autant plus forte que le couple mis en présence était surprenant. Les résultats nous ont montré qu'il n'est pas si simple de décrire une gradation de la réponse, même si celle-ci suit des modalités propres à chaque mollusque considéré. Au sein d'un mollusque donné, il semble que tout parasite incompatible soit détruit de la même manière, quel que soit son degré d'"étrangeté" par rapport à l'hôte. Par exemple, le Bulin de la souche égyptienne réagit de la même façon face à une souche allopatrique de S. haematobium provenant du Niger que face à un parasite d'une espèce ne se développant jamais dans le mollusque (S. mansoni B). De même, B. glabrata B réagit pareillement face à une allogreffe de tissu digestif et face à une greffe de parasite incompatible (S. mansoni G).

Confrontées à un même parasite (S. mansoni B) deux mollusques d'espèce différente (B. truncatus E et O. hupensis J) résistent à l'invasion avec des modalités propres.

La reconnaissance du non-self s'effectue sans faille, mais il demeure difficile de tirer des conclusions quant aux nuances du mécanisme. Nos résultats sont schématisés ci-dessous :

(Un résultat négatif signifie que le couple en présence est incompatible, l'implant greffé a été reconnu comme non-self par le mollusque)

<u>Couple en présence</u>	<u>Résultat</u>	
gl.dig. B.gl B-B.gl B	-	} même type de réaction
S.m B-B.gl B	+	
S.m G-B.gl B	-	} même type de réaction
S.h N-B.tr E	-	
S.m B-B.tr E	-	} réaction différente
S.m B-O.hu J	-	

Pour un mollusque donné, il est impossible d'établir avec exactitude s'il est capable de nuancer sa réponse selon la nature du non-self introduit. Vu la rapidité des mécanismes de défense lors d'expériences avec des couples incompatibles et l'acceptation complète d'un parasite compatible, nous sommes tentés de déduire que l'avenir d'un greffon parasitaire dépend plutôt des capacités d'interférence du ver avec le système de reconnaissance de l'hôte, même si la part jouée par le mollusque reste non négligeable dans le choix des modalités de la réponse.

La réponse à S. mansoni B est différente, nous l'avons vu, selon qu'on injecte ce parasite à une souche résistante de B. glabrata ou à un Bulin. Puisque le même parasite est reconnu comme corps étranger, mais induit une réponse différente chez les deux espèces de mollusques, nous pensons que chaque mollusque possède une susceptibilité propre et un mode de défense particulier face à un parasite donné. La capacité d'interférence du parasite est quasi nulle, vu la rapidité des mécanismes de défense, lors d'expériences avec des couples mollusque-parasite inhabituels. Nous rapellons que le même parasite injecté dans une autre souche de mollusque, s'y

développe parfaitement et n'induit aucune réponse cellulaire ou autre. Nous pouvons difficilement attribuer le fait uniquement à son pouvoir de camouflage. Ces observations nous incitent donc à penser que la susceptibilité du mollusque joue un rôle non négligeable dans la défense, laissant un rôle secondaire aux capacités du ver à interférer avec le système immunitaire, contrairement aux remarques faites au paragraphe précédent.

De ces conclusions contradictoires, nous devons alors déduire comme Wright (1974) que l'interaction entre un mollusque et son schistosome dépend de la susceptibilité de l'hôte mais également du pouvoir infectieux du Trématode. Le mollusque a donc un niveau de résistance naturelle qui est contré par la capacité du Trématode à s'évader (Lie et al., 1979). Nous pensons, en accord avec ces auteurs, que la vitesse d'encapsulation des sporocystes est le reflet de la balance entre la résistance naturelle du mollusque et la capacité du parasite à interférer avec cette résistance.

Les résultats de nos travaux ainsi que ceux de tous les auteurs cités montrent que les hôtes intermédiaires ont des interactions complexes et spécifiques avec leurs parasites. Cependant, la description exacte des mécanismes aboutissant à ces interactions est encore sujette à beaucoup plus d'hypothèses que de certitudes.

B. Les mécanismes de défense à médiation cellulaire

1. L'encapsulation

Les mécanismes de défense décrits jusqu'ici de façon formelle chez les Mollusques sont avant tout de nature cellulaire (Michelson, 1975; Cheng, 1979). L'encapsulation est la réponse des hémocytes à un corps étranger trop gros pour être phagocyté. Les hémocytes isolent véritablement la structure étrangère des tissus de l'hôte. Cette réponse peut, en particulier, être suscitée par des agents pathogènes divers (bactéries, champignons, parasites) après pénétration chez le Mollusque (Newton, 1952 et 1954; Pan, 1965; Richards et Merritt, 1967; Cheng et Rifkin, 1970; Harris et Cheng, 1975; Marris, 1975; Carter et Bogitsh, 1975; Lie et Heyneman, 1975; Krupa et al., 1977; Cheng et Garrabrant, 1977; Lie et al., 1980; Loker et al., 1982; LoVerde et al., 1984). Tous ces auteurs décrivent au microscope optique ou électronique à transmission le processus de formation d'une capsule sans pour autant préciser l'action de chaque type cellulaire.

Cheng et Rifkin (1970) ont proposé une classification des phénomènes d'encapsulation chez les Mollusques marins. Ils distinguent des capsules avec des éléments fibreux et des capsules composées uniquement d'hémocytes. Un dernier type impliquerait la participation de cellules musculaires préexistant à proximité du corps étranger. Ces auteurs pensent que l'encapsulation représenterait une tentative avortée de phagocytose. Rappelons que les deux réactions de défense cellulaire ont quelques points en commun, en particulier l'attraction des hémocytes sur le lieu d'action.

1.1. Processus d'encapsulation d'après les études au MEB

Le MEB ne permet qu'une observation en surface des phénomènes d'encapsulation. Dès l'instant où les greffons sont recouverts par les hémocytes, il devient difficile de conduire une étude comparative de la réaction face aux différents tissus. Lorsqu'on s'attache plus précisément à leur différenciation, il est nécessaire de recourir au microscope électronique à transmission (MET). Le MEB constitue néanmoins une bonne méthode d'approche de la réaction globale. De plus, il donne une idée précise de la cinétique de l'encapsulation et de l'agencement des hémocytes (Fig.60 a-b). Mais il serait hasardeux de se fier à l'apparence extérieure des greffons pour déterminer si la réaction de défense a été effective ou non. Un greffon du stade 24 heures peut avoir suscité une réaction cellulaire massive sans que l'état de ses tissus ne diffère beaucoup de celui du stade 2 heures (ce dernier présente une surface pratiquement indemne de toute trace de réaction). C'est le cas pour les greffes de glande digestive

parasitée, dans le Planorbe B. glabrata B. (chapitre IV.A.).

La morphologie des granulocytes adhérant au greffon dépend de la topographie de ce dernier, ce qui sera à l'origine des deux types de zones décrits dans le chapitre IV.A. Dans les replis difficiles à atteindre, les granulocytes s'étirent moins rapidement et restent plus longtemps en position perpendiculaire; par conséquent, ils gardent leur aspect crêté (zones P). Nous supposons que les granulocytes, arrivant perpendiculairement à la surface du greffon, y adhèrent d'abord par une petite partie de leur corps cellulaire puis tendent à s'étirer parallèlement à cette surface et à se joindre pour former une capsule plate (zone E). Les deux zones P et E représenteraient deux stades successifs de la formation de la capsule à la surface du greffon, la position verticale des cellules précédant leur étalement horizontal et leur jonction. Sept jours après la transplantation, des hémocytes sont toujours mobilisés et arrivent encore à la surface du greffon alors que celui-ci est déjà recouvert de plusieurs couches cellulaires. A notre connaissance, la réaction d'encapsulation n'avait pas encore fait l'objet d'une étude au MEB.

1.2. Processus d'encapsulation d'après les études au MET

Le MET a rendu possible l'analyse plus fine de la réaction cellulaire et a permis de mettre en évidence l'intervention de chaque type cellulaire. Nous avons pu également observer que les régions où les cellules sont les plus étirées en surface (zones E) ne correspondent pas forcément, en profondeur, au même tissu. Ces régions peuvent se situer aussi bien au-dessus d'un tissu détruit qu'au-dessus d'un tissu intact. La présence de matériel fibrillaire à l'intérieur et entre les hémocytes a également été révélée par ce mode d'observation (Fig.152).

Loker et al. (1982) ont étudié la réponse cellulaire d'une souche de B.glabrata hautement réfractaire à l'infection par S.mansoni. Ces auteurs divisent la capsule hémocytaire en trois couches distinctes se différenciant en 24 heures : une couche externe fibrillaire avec des amœbocytes ronds, une couche intermédiaire composée d'amœbocytes aplatis et une couche interne d'amœbocytes arrondis, en contact avec le sporocyste. Nos expériences ne nous ont jamais permis de corroborer ce résultat. Dans une capsule dense, les espaces intercellulaires sont très restreints (Fig.51 et 64). Il devient alors malaisé d'établir avec certitude les limites cellulaires et l'ordre précis observé par cet auteur. Malgré une nette tendance à l'emboîtement des cellules en couches superposées, l'organisation de la capsule ne semble pas rigide et offre plutôt l'aspect d'une structure mobile. Preuve en sont les images obtenues semblant figer les cellules au moment de leur extension ou en intense activité phagocytaire (Fig.9, 81 et 82)

1.3. Intervention de chaque type cellulaire

L'origine des types cellulaires différenciés au chapitre III.A. n'a pas été établie avec certitude. Nous discuterons donc principalement de l'aspect fonctionnel des deux lignées hémocytaires et de leur interaction dans le cadre de la réponse immunologique, mais nous formulerons également quelques hypothèses quant à leur origine et leur évolution.

Les granulocytes participant à l'encapsulation sont métaboliquement très actifs comme le relèvent également Cheng et Rifkin (1970). Nous assistons à leur transformation de cellules arrondies en cellules étirées. La succession des stades évolutifs décrits au chapitre III.A. nous permet de dire qu'il s'agit bien de la même cellule possédant des facultés d'extension considérables. L'incessante formation de prolongements cytoplasmiques plus ou moins allongés corrobore nos assertions.

Nous avons vu, dans ce même chapitre, que les granulocytes ont la propriété d'adhérer à une surface sous-jacente et de s'y étendre. Cela laisse aisément entrevoir leur comportement face à un corps étranger qu'il s'agit d'isoler. Leur rôle comporte plusieurs étapes se succédant très rapidement dès la pénétration dans le mollusque d'un non-self. Les cellules entrent tout d'abord en contact avec l'objet étranger, le phagocytent s'il s'y prête (nous parlerons de ce phénomène plus loin), ou sinon l'entourent et l'isolent petit à petit. Le but de l'encapsulation est d'éliminer le corps étranger. Nous verrons sous 1.5. ce qu'il advient de la réaction après ces étapes initiales.

La participation des granulocytes à la réponse cellulaire est donc certaine et peut être décrite avec précision, contrairement à celle du deuxième type cellulaire considéré, le hyalinocyte.

Dés 24 heures après la transplantation, nous observons souvent l'association des deux types cellulaires dans la partie externe de la capsule ou dans ses zones plus lâches (Fig.15 a-b). Les contacts qui s'établissent sont assez longs et laissent un espace intermembranaire très réduit (Fig.66 a-b, 83). Ces formations se retrouvent également entre les filopodes des granulocytes et les hyalinocytes (Fig.66b). Nous n'avons pas relevé de structures particulières de la membrane de part et d'autre du contact qui doit donc être transitoire. Ceci nous induit à conclure à plus forte raison que l'encapsulation est un processus dynamique et que la structure créée par les hémocytes est vouée à une involution plus ou moins rapide.

Le rôle des hyalinocytes dans l'encapsulation n'a été que prudemment abordé. Certains auteurs n'en font d'ailleurs pas référence et se contentent d'utiliser le terme général d'amœbocytes pour qualifier les cellules intervenant dans la réaction (Carter et Bogitsh, 1975; Lie et Heyneman, 1976a; Benex et Jacobelli, 1980) ou celui de "macrophage-like cells"

(Bayne, 1980). D'autres auteurs s'accordent sur l'existence de cellules hyalines mais ne s'attachent pas à leur rôle. Cheng et Garrabrant (1977) suggèrent que seuls les granulocytes interviennent dans la défense cellulaire de B. glabrata. Ces résultats sont confirmés par Loker et al. (1982). Sminia et Barendsen (1980) considèrent les hyalinocytes comme des cellules dégénératives dont elles auraient l'aspect caractéristique (noyau gonflé, cytoplasme pauvre en organelles, ces dernières souvent en mauvais état). Cependant, Stumpf et Gilbertson (1980) notent que le rôle des hyalinocytes reste à définir.

Certaines de nos images suggèrent une première hypothèse quant à la présence de ces cellules hyalines. Grâce à la forme sphérique qu'elles gardent tout au long de la réaction, ces cellules pourraient servir d'assise supplémentaire lors de la formation de la capsule : les granulocytes s'en serviraient comme support et viendraient y adhérer (Fig.67). Cependant, les granulocytes forment eux-mêmes un réseau très complexe et serré (Fig.10).

Nous n'avons pu établir si les hyalinocytes jouent un rôle attractif pour les granulocytes ou s'ils interviennent dans la reconnaissance du matériel étranger précédant la réaction immune. Précisons que ce type cellulaire ne se rencontre pas sur les images précoces de la réaction, ce qui semblerait contredire l'hypothèse d'un rôle dans la reconnaissance, sans toutefois l'exclure. En effet, le hyalinocyte pourrait participer à ce phénomène sans pour autant devoir adhérer de façon durable à l'organisme étranger. Malheureusement, il n'apparaîtrait alors plus nécessairement sur les images de microscopie.

Reste à considérer une troisième hypothèse, le fait que cette cellule ne représente qu'un état dégénératif du granulocyte en fin de réaction. L'hémolymphe de B. glabrata ne comprendrait qu'un seul type cellulaire pouvant évoluer vers plusieurs types morphologiques. Cela expliquerait que les cellules hyalines ne se rencontrent que sur des images de stades avancés et qu'elles soient si souvent entourées par les cellules denses. On pourrait supposer que ces cellules en fin de vie sont sur le point d'être phagocytées par les véritables cellules de "voirie", les granulocytes. Les figures 149 a-f de notre travail semblent bien illustrer une telle phagocytose. En outre, on trouverait là l'explication de l'appauvrissement progressif de leur cytoplasme en organelles et en inclusions diverses et de l'aspect particulier du noyau. Les figures 150 a-e montrent différentes étapes de la perte des organelles que reflète l'éclaircissement du cytoplasme. La marginalisation de la chromatine (Fig.151), c'est-à-dire sa condensation le long de l'enveloppe nucléaire et sa disparition du reste du noyau, est également un signe propre à une cellule nécrotique (Ghadially, 1982). L'absence de prolongements cytoplasmiques chez le hyalinocyte témoignerait alors de la cessation de l'activité cellulaire et non plus d'une différenciation fonctionnelle.

Il nous faut maintenant admettre que, malgré l'individualité

morphologique nette des hyalinocytes, qui tendrait à leur faire attribuer une fonction spécifique, nos observations nous conduisent plutôt à adopter la dernière hypothèse énoncée ci-dessus. Nous continuerons cependant à nommer hyalinocytes, les cellules hyalines de nos images, en accordant uniquement à ce terme une valeur descriptive.

1.4. Matériel fibrillaire

Chez quelques espèces de Mollusques, la présence de matériel fibrillaire est parfois associée à la formation de la capsule. Krupa et al. (1977) décrivent un tel matériel à proximité des granulocytes lors de l'infection de Bulinus quernei par S. haematobium. Lie et al. (1980) relèvent la présence de "collagen-like fibres" chez des B. glabrata résistants à S. mansoni. Loker et al. (1982) rapportent eux-aussi la présence de fibres extracellulaires dans la partie centrale de la capsule formée autour du sporocyste de S. mansoni chez B. glabrata. Ces auteurs se demandent si le réticulum endoplasmique granulaire très développé des granulocytes ne jouerait pas un rôle dans la production des fibrilles extracellulaires.

Pour notre part, nous avons observé du matériel fibrillaire interstitiel sur la plupart des images d'encapsulation avancée. Nos figures montrent également la présence de ce matériel dans les granulocytes. On peut supposer sa synthèse par les hémocytes et sa libération lors de l'encapsulation. Cette hypothèse est confortée par plusieurs images montrant le cytoplasme des granulocytes rempli d'un tel matériel (Fig.152 a-b). Le mode de sécrétion demeure cependant inconnu. La périodicité des fibres nous fait penser à celle du collagène mais il est difficile de se prononcer sans avoir procédé à des analyses enzymatiques.

Rappelons que Harris (1975) affirme qu'aucun matériel extracellulaire n'intervient dans la formation de la capsule, du moins en ce qui concerne le modèle utilisé dans ses travaux : B. glabrata et le Nématode Angiostrongylus cantonensis. Cet auteur prétend que l'aspect fibreux de la réaction provient de l'observation au microscope optique des expansions cytoplasmiques lamelliformes des granulocytes. Nous pouvons certifier que l'observation au microscope électronique à transmission permet de différencier très nettement les filopodes, si minces soient-ils, du matériel fibrillaire décrit (Fig.88).

Le rôle de ce matériel n'a pas encore été établi avec précision. Nous pensons qu'il peut aider à l'isolement progressif du corps encapsulé. En outre, il semble être un élément de cohésion de la capsule. Il ne nous paraît pas provenir d'une dégradation des tissus du ver greffé. En effet, sur des images du stade 48 heures où le sporocyste est en excellent état, on retrouve les mêmes fibres entre les granulocytes formant la capsule.

1.5. Evolution dans le temps

Nous avons vu que l'encapsulation proprement dite débutait par une accumulation hémocytaire autour de l'objet étranger et se poursuivait par l'aplatissement des cellules réactionnelles et par la formation de couches concentriques isolant le matériel à éliminer. Le tout, associé ou non à l'accumulation de matériel fibreux. Une question importante concerne le devenir de cette formation : la capsule se désagrège-t-elle après un certain temps ou garde-t-elle sa rigidité première même quand la structure à isoler est détruite ?

Harris (1975) observe, chez B. glabrata, des capsules hémocytaires jusqu'à 9 semaines après l'infection expérimentale par un Nématode. Cheng et Garrabrant (1977), travaillant sur la résistance de B. glabrata à S. mansoni, observent la présence d'une capsule jusqu'à 72 heures après la pénétration miracidiale dans le Mollusque. Ces auteurs notent une décroissance de la réaction dès le stade 48 heures post-infection. En 1982, Laker et al. publient des résultats intéressants sur l'aspect dynamique de l'encapsulation chez des B. glabrata résistants à S. mansoni. Les temps d'observation choisis par ces auteurs vont de 3 à 96 heures après l'infection miracidiale. A 48 heures, les capsules décrites sont encore formées d'une masse importante d'hémocytes qui entourent les restes de sporocystes. Quatre jours après l'infection, les granulomes ont disparu. Les auteurs en déduisent que les hémocytes se sont dispersés après leur participation à la réaction.

En ce qui concerne nos travaux, les temps d'observation ont été fixés à 2, 24 et 48 heures après la transplantation. Pour la greffe de glande digestive, les implants ont également été observés 7 jours après l'opération. Nous avons abandonné ce temps d'expérience par la suite car la localisation et la récupération des greffons dans le sinus céphalopédieux y devenaient difficiles. D'autre part, nous avons vu, lors d'expérimentations avec des couples incompatibles, qu'au stade 48 heures, les tissus parasitaires sont déjà fortement altérés même si la capsule n'est pas importante. On risque donc fort de ne pas retrouver les implants à cause de la désagrégation des tissus et du manque de cohésion des greffons.

De manière générale, nos résultats au stade 48 heures indiquent une tendance à la dispersion des hémocytes. Ce n'est cependant pas le cas pour tous les couples expérimentés. Par exemple, la transplantation de glande digestive infectée suscite une importante réaction hémocytaire avec granulomes, qui ne semble en aucun cas s'atténuer 7 jours après l'injection du greffon. Nous ne pouvons malheureusement pas mettre en relation la longévité d'un granulome avec l'intensité de la réaction.

1.6. Comparaison de la réaction chez trois espèces de mollusques

La réaction d'encapsulation se déroule-t-elle selon les mêmes modalités chez les trois espèces de mollusques étudiés? Les mollusques répondent-ils de la même manière à une implantation de parasite incompatible?

Nous pouvons d'ores et déjà constater que, si la destruction du parasite advient pour chaque modèle choisi, les modalités de l'attaque sont, elles, variables d'un mollusque à l'autre.

Chez B. glabrata B, on assiste à une encapsulation avec formation de granulomes caractéristiques. Les hémocytes occupent petit à petit l'espace où se situait le greffon. Au stade 7 jours après la transplantation, on peut encore observer des granulomes. La capsule ne semble donc pas se désorganiser rapidement. Les granulocytes forment un réseau extrêmement serré rendant la capsule très compacte.

Chez B. truncatus E, les hémocytes entourent le ver et forment une capsule qui n'atteindra pas l'épaisseur de celles rencontrées chez B. glabrata. En effet, les hémocytes ne s'infiltrant jamais dans l'emplacement occupé par le parasite. On ne note pas de véritables granulomes. Au stade 48 heures, la capsule tend déjà à se désorganiser et devient très lâche.

Chez O. hupensis J, on ne peut observer les granulomes décrits chez le premier mollusque, même si la réaction cellulaire reste intense. Les images ultrastructurales montrent une accumulation de gros granules lipidiques au sein du tissu du ver.

La dynamique de l'encapsulation varie également : la capsule est formée en 24 heures environ chez les trois espèces de mollusques mais elle persiste plus longtemps chez B. glabrata B que chez les deux autres espèces. La vitesse de formation de la capsule est cependant la même dans les trois exemples choisis.

Chaque espèce de mollusque répond de façon particulière à l'agression parasitaire bien que le résultat final demeure constant pour tous les mollusques considérés.

2. La phagocytose

L'ingestion et la digestion de particules solides constituent une propriété de bien des cellules (Walters et Papadimitriou, 1978) et sont particulièrement significatives chez les hémocytes de mollusques. En effet, leur mobilité

facilite leur intervention dans les processus de nutrition, d'excrétion et de défense qui semblent intimement liés. En 1960 déjà, Tripp démontrait la phagocytose de microorganismes par l'huître Crassostrea virginica. Le même auteur (1961) décrivait le phénomène chez B. glabrata et précisait que la phagocytose est un sort réservé aux particules plus petites alors que les grands corps sont encapsulés. Les travaux de Sminia (1972) chez Lymnea stagnalis montrent que 80-100% des hémocytes contiennent de l'encre, 1 heure après l'injection. Moore et Eble (1977) révèlent la phagocytose de levures par les granulocytes du Lamellibranche Mercenaria mercenaria. Les hémocytes de C. virginica étendent un long pseudopode auquel adhèrent les particules à éliminer (Renwranz et al., 1979). Chez les Céphalopodes les plus évolués, les leucocytes ne jouent pas un rôle important dans la phagocytose (Cowden et Curtis, 1973). La phagocytose semble intervenir quand le diamètre du corps étranger à éliminer ne dépasse pas une dizaine de μm (Lackie, 1980). D'une manière générale, les étapes de la phagocytose ont été définies par Cheng (1983). A l'attraction cellulaire dont le mécanisme est inconnu, succèdent l'attachement, l'internalisation et la dégradation intracellulaire de la particule envahissante.

Les Mollusques semblent donc avoir un système efficace pour se débarrasser des corps étrangers bien que les modalités d'intervention puissent varier énormément d'une espèce à l'autre.

La phagocytose comprend trois étapes principales (Cheng, 1986) qui suivent généralement une leucocytose (augmentation du nombre des hémocytes circulants à partir de l'organe hématopoïétique) (Lie et al., 1975) :

- l'attraction des hémocytes vers le corps étranger
- la fixation des hémocytes sur le corps étranger
- l'internalisation (ou endocytose) du corps étranger.

On sait que la nature du corps étranger influe sur l'attraction (Font, 1980). Nous avons constaté dans nos expériences qu'un sporocyste lésé attirait toujours des hémocytes, même s'il est d'une souche compatible avec le mollusque où il est injecté. Des facteurs chimiotactiques interviennent (Cheng et Rudo, 1976; Cheng et Howland, 1979). Les signaux chimiotactiques, ainsi que les sites de reconnaissance pour ces facteurs sur les hémocytes, n'ont pas encore été identifiés.

L'attachement semble facilité par des facteurs présents dans le sérum du mollusque, tels que les agglutinines ou lectines. Nous en discuterons dans le chapitre traitant des facteurs humoraux (V.C.)

L'internalisation du corps étranger reste un problème à résoudre. Selon Cheng (1985), cette étape pourrait se dérouler de trois manières différentes :

- le "bang mechanism" (le corps étranger s'attache au filopode d'une cellule de défense puis glisse le long du

filopode et est phagocyté au niveau du coude formé à la base de deux filopodes adjacents)

- la formation d'une vacuole d'endocytose par l'ectoplasme cellulaire

- la formation d'un "tunnel" par un pseudopode qui engloutit le corps étranger.

On ne connaît pas encore les phénomènes qui gouvernent l'internalisation et décident de la modalité adoptée.

En ce qui concerne le Planorbe B. glabrata, le pouvoir phagocytaire des hémocytes n'est plus à démontrer. Quelques déductions intéressantes découlent cependant de nos observations au MET lors de l'encapsulation. Tout d'abord, nous avons vu ci-dessus qu'un corps trop grand pour être phagocyté est encapsulé. Cela se vérifie dans nos expériences avec les sporocystes de schistosomes, trop gros pour être directement phagocytés. Même si le phénomène remarquable reste l'encapsulation, nous observons, dès les stades précoces d'expérience, la phagocytose des microvillosités du ver par les filopodes des cellules de défense (Fig.45 et 98). Le processus appliqué est astucieux. Les filopodes commencent par s'insinuer entre les villosités pour en isoler une petite partie. Celle-ci sera ensuite englobée par la fusion des filopodes les uns aux autres, fusion qui crée de grandes vacuoles cytoplasmiques (Fig.153). De plus petites particules peuvent simplement provoquer l'invagination de la membrane cellulaire et former des hétérophagosomes (Fig.154).

Les granulocytes emportent parfois le matériel à phagocyter, dont les microvillosités, vers des régions plus marginales de la capsule (Fig.122). Nous pensons que la dégradation cellulaire se réalise dans ces zones plus éloignées du centre réactionnel, laissant place à l'activité d'internalisation d'autres cellules phagocytaires. La destruction de l'organisme étranger s'en trouve ainsi accélérée par une organisation cellulaire judicieuse qui n'encombre pas le "lieu de travail". On obtient alors une efficacité maximale par l'association de deux phénomènes qui sont alors étroitement liés : l'encapsulation, intervenant en premier lieu car le corps étranger est de taille considérable, puis la phagocytose, intervenant lorsque la désagrégation est déjà amorcée, ou s'attaquant à certaines structures plus facilement accessibles, comme les microvillosités du ver par exemple.

Il n'y a donc pas opposition, mais continuité de fonction entre phagocytose et encapsulation, cette dernière opération constituant une mise en commun des potentialités de défense de tous les granulocytes en vue d'accroître leur efficacité. Le résultat global atteint par le granulome est supérieur à la somme des résultats obtenus par chaque granulocyte travaillant "indépendamment", et cela sans pour autant que les cellules perdent définitivement leur individualité (ce n'est pas un tissu au sens strict). Nous sommes tentée d'y voir un cas

d'évolution fonctionnelle.

Par contre, nous n'avons jamais observé d'images de phagocytose dans la population de hémocytes.

La preuve d'une digestion intracellulaire du matériel phagocyté a été apportée par plusieurs travaux sur l'activité des enzymes lytiques dont les hémocytes de Mollusques sont très riches (Feng et al., 1971; Sminia, 1972; Cheng et Cali, 1974; Cheng et al., 1975; Cheng, 1977; Cheng et Yoshino, 1976; Feng et al., 1977; Cooper-Willis, 1979). L'injection d'un corps étranger élève sans spécificité le taux des enzymes intracellulaires chez B. glabrata (Cheng et Butler, 1979). On soupçonnait depuis longtemps le rôle joué par les hémocytes dans la nutrition (Zacks, 1955) mais ce n'est que récemment que la destination du matériel ingéré a été suivie à l'aide de bactéries, marquées au carbone 14, introduites chez Helix pomatia (Bayne, 1973). Cheng et Rudo (1976) suggèrent que le glycogène stocké dans les hémocytes provient d'une synthèse à partir de bactéries phagocytées et est utilisé comme source d'énergie après libération dans l'hémolymphe. Il est fort possible alors, que tout organisme pathogène soit converti en source nutritionnelle par digestion intracellulaire dans les hémocytes. Nous pensons que c'est le cas également pour les schistosomes. Cheng (1983) attribue aux hémocytes une fonction en premier lieu nutritive, qui aurait ensuite évolué en fonction de défense et de reconnaissance.

C. Les mécanismes de défense à médiation humorale

Plusieurs faits indiquent l'intervention de facteurs humoraux dans les mécanismes de défense des mollusques : l'agglutination de bactéries in vitro (Tripp, 1974), l'immobilisation des cils de miracidium in vitro (Michelson, 1964), la destruction de sporocystes sans intervention directe de cellules (Bayne et al., 1980) et le transfert de résistance d'un mollusque résistant à un mollusque susceptible (Granath et Yoshino, 1984). La défense peut donc être accomplie par des facteurs dissous dont la nature, la synthèse et le mode d'action sont encore mal connus.

Bien que l'immunité humorale n'ait pas été le propos central de notre travail, le moment nous semble venu de passer brièvement en revue l'état actuel des connaissances en ce domaine récemment exploré.

D'après Lackie (1980), on peut considérer que des facteurs plasmatiques jouent un rôle dans les mécanismes immunitaires, dans la mesure où ils remplissent au moins une des conditions suivantes :

- inactivation de bactéries par agglutination ou lyse
- opsonisation (lien de l'hémocyte avec le corps étranger)
- reconnaissance par attachement aux hémocytes

1. Les facteurs agglutinants et lytiques

Tripp (1974) a rapporté l'existence, chez les mollusques, d'agglutinines impliquées dans le transport des sucres et du calcium pour la croissance. Ces molécules, nommées aussi lectines, se lient avec des particules étrangères pourvu que celles-ci présentent à leur surface des déterminants "carbohydate" pour lesquels la lectine possède un site de reconnaissance spécifique.

Bien que la fonction première des agglutinines soit métabolique (Tripp, 1974; Parish, 1977), il est tentant de penser que ces molécules jouent un rôle dans la défense puisqu'elles semblent être présentes chez toutes les espèces de Gastéropodes. Cependant, les glycoprotéines dont elles sont composées sont très hétérogènes et la spécificité des lectines varie considérablement. Chez B. glabrata, elle semble très large (Boswell et Bayne, 1984). Une grande variété de corps étrangers peuvent être agglutinés. Le système de reconnaissance n'est donc pas étroitement spécifique même si, parfois, certains lots de cellules d'un type déterminé sont agglutinés et d'autres ne le sont pas (Jeong et al., 1981).

Signalons encore les résultats de Stein et Basch (1979) qui rapportent l'existence d'hémagglutinines de B. glabrata, capables de lier, in vitro, la surface des sporocystes et ceux

de Bayne et al. (1980) qui décrivent l'immobilisation de miracidiums de trématodes par un facteur du sérum de B. glabrata.

La fonction immunologique des lectines reste donc quelque peu incertaine.

Le deuxième groupe de substances étudiées est celui des lysines, terme général définissant des facteurs capables de détruire des cellules étrangères introduites dans un organisme. Des globules rouges de mouton sont lysés par l'hémolymphe de plusieurs Planorbes (Michelson et Dubois, 1977). Chez le bivalve Mytilus edulis, Wittke et Renwartz (1984) ont montré que la substance lytique était sécrétée par les hémocytes.

Bayne et ses collaborateurs (1980) émettent l'hypothèse que le même phénomène est responsable de la dégradation des larves de schistosomes encapsulées par les hémocytes. Pour Cheng (1977) et Kassim et Richards (1978), les lysines sont relâchées par les hémocytes pendant la phagocytose ou l'encapsulation. Nous avons observé, lors des transplantations de sporocystes, que le premier signe de la destruction était la cassure et la phagocytose des microvillosités du ver. Durant cette étape, Cheng et al. (1975) notent une élévation du taux des enzymes lysosomales relâchées par les hémocytes. On peut se demander si un processus d'altération des microvillosités ne doit pas nécessairement précéder la phase d'internalisation par les hémocytes pour que cette dernière ait lieu.

La présence de lysozyme dans l'hémolymphe a été signalée chez des bivalves (Cheng et al., 1975) mais également chez d'autres mollusques (Cheng, 1977; Cheng, 1978; Kassim et Richards, 1978; Granath et Yoshino, 1983). La présence de lipases a été relevée dans l'hémolymphe de B. glabrata (Cheng et Yoshino, 1976).

2. Les facteurs opsonisants

Chez les Vertébrés, les opsonines facilitent l'attachement aux phagocytes du matériel étranger entrant dans l'organisme. La fonction de reconnaissance incombe aux facteurs humoraux.

Chez les Invertébrés, on connaît les propriétés opsonisantes de l'hémolymphe (Renwartz et Mohr, 1978) mais les molécules responsables de cette activité n'ont pas été identifiées. Ce problème nécessiterait en outre des informations plus précises sur la chimie de la membrane hémocytaire.

Pauley et al. (1971), chez le lièvre de mer (Aplysia californica) et Hardy et al. (1977), chez l'huître (Crassostrea gigas), ont démontré que la phagocytose de bactéries introduites dans l'animal augmente quand les bactéries ont été préalablement incubées avec des agglutinines purifiées provenant de l'hémolymphe des mollusques. On ne sait

pas de façon certaine s'il existe une relation entre la présence d'agglutinines et l'opsonisation.

Cooper-Willis (1979) remarque que certaines enzymes, en altérant la surface des bactéries, favorisent leur phagocytose par les hémocytes de Patella vulgata. Les enzymes rendraient en quelque sorte les bactéries plus "étrangères" encore au système de défense du mollusque. Le même fait avait été relevé par Renwrantz et al. (1981), travaillant sur Helix pomatia. Ces auteurs pensent que ces facteurs opsonisants sont des molécules agglutinantes qui se lient à des chaînes glucidiques puis s'attachent à la surface des cellules de défense en les activant. Les lectines seraient alors impliquées dans l'opsonisation.

3. Les facteurs de reconnaissance

La nature des molécules responsables de la reconnaissance n'a pas encore été déterminée avec certitude. L'absence d'immunoglobulines et de système complément chez les mollusques, est un fait notoire (Cheng, 1983). La question est alors de savoir s'il existe, dans cette classe, des récepteurs sur la membrane des hémocytes qui détermineraient une reconnaissance spécifique du non-self et peut-être une mémoire immune.

En d'autres termes, ont été caractérisés, d'une part, des hémocytes qui ont la propriété de phagocyter et d'encapsuler, et, d'autre part, des facteurs du sérum possédant des facultés agglutinantes et opsonisantes. Y a-t-il coopération entre les deux systèmes et, si la réponse s'avère positive, comment la coopération se réalise-t-elle ?

Vu l'absence d'anticorps, la plus grande part de la reconnaissance doit être non immunologique. Elle est alors basée sur les propriétés physico-chimiques des surfaces en présence. L'adhésion au verre ou la reconnaissance de particules inertes seraient dues à ce type de phénomène. Les hémocytes doivent ensuite synthétiser et sécréter des facteurs agglutinants et opsonisants. Nous avons vu que des lectines ou agglutinines lient spécifiquement certains déterminants carbohydratés. De plus, les lectines semblent être présentes avec constance sur la surface des cellules de défense. La reconnaissance doit se faire grâce à ces facteurs, libres ou liés. Ensuite, interviennent les mécanismes de défense cellulaire.

L'attachement de lectines de plantes sur la surface des hémocytes a été décrit par Yoshino (1981) chez B. glabrata. On ne sait pas si les lectines natives du mollusque se lient également aux hémocytes. La présence sur les hémocytes de récepteurs spécifiques pour certains sucres est prouvée mais le mécanisme d'attachement est encore inconnu. Il est possible que les lectines puissent s'attacher et se détacher à volonté mais il n'est pas exclu qu'elles fassent partie intégrante de la membrane hémocytaire.

Ajoutons que certains facteurs plasmatiques, une fois sécrétés, peuvent probablement être actifs sans la présence des hémocytes. Ceci expliquerait les nombreuses images de destruction des sporocytes, sans la présence d'une capsule organisée. Les facteurs lytiques peuvent peut-être suffire dans certains cas à la réalisation de la défense. Granath et Yoshino (1983), étudiant les enzymes lysosomales de deux souches de *B. glabrata*, remarquent que la souche résistante présente une activité enzymatique plus intense que la souche susceptible, ainsi qu'une quantité d'hémocytes circulants plus grande. Nous pensons que les potentialités des facteurs lytiques ou agglutinants varient également selon les espèces de mollusques considérés. Certains mollusques font peut-être d'avantage appel aux facteurs humoraux pour élaborer leur défense ou en produisent une quantité plus conséquente, ou encore synthétisent des facteurs plus actifs. La part jouée par chacun des phénomènes (cellulaire et humoral) dans la défense semble assez constante à l'intérieur d'une population de mollusques d'une souche donnée mais varie considérablement à l'intérieur d'une espèce et entre les différentes espèces utilisées. L'étape initiale des événements est certainement due à l'élément cellulaire. La suite des événements découle d'une association entre mécanismes humoraux et cellulaires, laissant la prédominance à l'un ou à l'autre selon des critères qui nous sont inconnus. Les différences de modalité dans la destruction des sporocystes trouveraient là une explication.

D. Synthèse

La comparaison du système immunitaire des mollusques avec celui des Vertébrés nous montre qu'une défense spécifique telle qu'elle existe chez les Vertébrés fait défaut chez les Invertébrés. Cela n'exclut pas une forme de reconnaissance spécifique chez les mollusques, dont les agents et les modalités seraient propres à cette classe. La reconnaissance de matériel étranger pourrait se faire de manière non-spécifique avant l'intervention des mécanismes de destruction du non-self. Cheng (1986), dans un travail récent sur le rôle des hydrolases dans l'inflammation chez les mollusques, avance l'idée que la réponse non-spécifique n'existe pas. Dans tous les cas de réaction cellulaire, il y aurait un certain degré de spécificité au niveau moléculaire. L'attachement du non-self sur les hémocytes ferait intervenir des lectines spécifiques. L'endocytose pose d'avantage de problèmes à l'auteur qui se demande quel est le mécanisme spécifique qui décide du mode d'internalisation adopté. La fusion entre les phagosomes et les lysosomes primaires se fait de façon spécifique; elle nécessite une compatibilité de surface des organelles en question. La synthèse et la libération d'enzymes lysosomales par les hémocytes dépendent du corps étranger entrant dans le mollusque. L'auteur y voit un nouvel exemple de l'existence d'une certaine spécificité au niveau moléculaire. Il reste cependant beaucoup de points à

élucider en ce qui concerne les mécanismes gouvernant la spécificité.

Etant donné que les hémocytes observés, dont l'activité peut être comparée à celle des macrophages, sont les seules cellules trouvées dans l'hémolymphe des mollusques choisis, la présentation d'un corps étranger à une autre cellule, de type lymphocytaire, ne se fait pas. Il n'existe donc pas à proprement parler de mémoire immunologique chez les mollusques, même si l'on constate parfois une augmentation du nombre total des hémocytes et de leur activité lors d'un second contact avec le non-self. De toute manière, quand cela survient, la réponse secondaire est de très faible spécificité (Fletcher et Cooper-Willis, 1982).

Il est alors difficile d'expliquer qu'une même espèce de mollusque soit compatible avec telle souche de schistosome et incompatible avec telle autre. On serait à nouveau tenté de répondre que l'"allure" spécifique de la reconnaissance est le fait du parasite lui-même, capable ou non d'éviter une reconnaissance non-spécifique du mollusque. Cependant nous l'avons vu, les mécanismes d'évasion parasitaire ne peuvent à eux-seuls, expliquer la complexité de l'interaction "mollusque-trématode".

Une connaissance plus approfondie des mécanismes à médiation humorale permettra d'établir avec plus d'exactitude le rôle de chacun des partenaires dans la reconnaissance immune.

VI. IMPORTANCE DU TRAVAIL DANS LE CONTEXTE ACTUEL DE LA RECHERCHE SUR LA BILHARZIOSE

Nous avons vu (chapitre I.2.) que le cycle évolutif des schistosomes présentait plusieurs impératifs pour pouvoir s'accomplir.

Le premier impératif veut que l'oeuf de schistosome tombe dans de l'eau douce pour poursuivre son développement. Le second veut que le mollusque, chez lequel a pénétré le miracidium, soit celui qui, spécifiquement, permet la suite de l'évolution parasitaire.

De plus, le comportement humain peut influencer notablement certaines étapes de ce développement. L'accroissement de la densité humaine et les déplacements fréquents des populations contaminées, les règles d'hygiène insuffisamment appliquées, la création de barrages, l'extension de réseaux d'irrigation non protégés, l'abus de pesticides sont autant de facteurs qui introduisent un déséquilibre redoutable et agissent directement sur la propagation de la maladie.

Il est évident que l'interruption d'un cycle parasitaire dont l'accomplissement cause des troubles graves, est un but de recherche en soi. Cela dit, les efforts actuels sont réalisés dans l'espoir, non pas d'éradiquer une maladie propagée par l'homme lui-même, mais plutôt de réduire la morbidité sans introduire de déséquilibres graves dans les biocénoses aquatiques.

Les divers moyens de lutte adoptés (chimiothérapie, évaluation épidémiologique quantitative, destruction des mollusques, éducation communautaire, immunologie) doivent être utilisés parallèlement pour un résultat plus probant (OMS, 1985) et doivent se prolonger même après la réduction du niveau d'endémie car les parasites et les mollusques sont capables de reconquérir très vite le terrain perdu (Combes et Cheng, 1986).

Du point de vue immunologique, le problème de la relation hôte-parasite peut être considéré dans son déroulement chez l'hôte définitif mais également dans son accomplissement chez l'hôte intermédiaire. Malheureusement, les études sur la compatibilité des schistosomes et de leurs hôtes intermédiaires restent encore incomplètes en raison de l'absence d'un système capable d'exprimer la compatibilité de façon satisfaisante et faute de résultats concernant les populations naturelles (Combes, 1985). Pallier à ces imperfections favoriserait l'évaluation quantitative précise de la maladie en zones d'endémie.

En outre, la campagne axée sur l'hôte définitif, bien qu'efficace, ne suffit pas à réduire la propagation de la

maladie. Elle est associée à une action plus approfondie visant également l'hôte intermédiaire. Malheureusement, les méthodes actuelles de lutte contre les mollusques (molluscicides chimiques ou plantes molluscicides) sont coûteuses (OMS, 1985) et présentent toutes les inconvénients inhérents à la suppression d'un animal dans un milieu naturel. Une démarche plus subtile consiste alors dans l'étude des mécanismes internes qui règlent le développement larvaire du parasite. Ces phénomènes, physiologiques et immunologiques, influent sur l'acceptation et l'établissement du parasite dans l'hôte ou sur son rejet et sa destruction.

L'analyse plus fine de ces facteurs influents permettrait une définition plus précise de la compatibilité (ou de l'incompatibilité) d'un hôte et par là-même, du pouvoir infectieux d'un parasite.

VII. CONCLUSION GENERALE ET RESUME

Dans notre étude, nous avons abordé le problème des relations hôte-parasite selon le but défini sous I.4. Le travail s'est effectué en plusieurs étapes.

La première étape comporte une description qualitative (au microscope électronique) et quantitative des hémocytes de B. glabrata B, suivie de l'observation de leur comportement in vitro, face à un support de verre. La population cellulaire comprend deux types de cellules, les granulocytes et les hyalinocytes, dont l'origine et la fonction sont discutées. Cinq stades d'évolution au contact du support sont définis en rapport avec l'étalement des cellules sur le verre. Les hémocytes d'O. hupensis sont également décrits au MEB. Ils sont plus petits que ceux du Planorbe et ne s'étaient que modestement.

La deuxième partie est consacrée à une étude, au MET, des mécanismes de défense de trois espèces de mollusques face à diverses transplantations.

La première série d'expériences étudie la réponse cellulaire du Planorbe B. glabrata B face à une allogreffe composée de glande digestive de mollusque de même espèce et d'un parasite compatible (S. mansoni B). Le mollusque reconnaît la glande digestive comme non-self; le parasite compatible, lui, se développe parfaitement. Les performances des mollusques face aux allogreffes sont discutées. La réaction d'encapsulation est décrite au MEB et au MET.

La deuxième série d'expérience illustre la réponse cellulaire du même mollusque face à un parasite compatible (S. mansoni B) et à un parasite incompatible (S. mansoni G). Le parasite incompatible est détruit en 48 heures. Le parasite compatible n'est pas endommagé malgré l'infiltration hémocytaire constatée sur certaines images. Nous rappelons que, pour les couples compatibles, l'infiltration intéresse les zones du greffon ayant subi des lésions au cours de l'opération. Un autre couple incompatible est étudié pour comparer la réaction cellulaire de deux mollusques d'espèce différente : S. haematobium N, transplanté chez B. truncatus E. Là aussi, le parasite est détruit avec des modalités propres au Bulin.

La troisième série d'expériences s'attache à la description de l'encapsulation de S. mansoni B chez deux espèces de mollusques, B. truncatus E et O. hupensis J. Les couples utilisés sont totalement artificiels et ne se retrouvent jamais en milieu naturel. La réponse cellulaire, très nette, survient avec des modalités et une dynamique particulières à chaque mollusque. Le parasite est détruit dès le stade 24 heures.

Dans une discussion plus générale, nous abordons ensuite les mécanismes de reconnaissance aboutissant aux phénomènes de

défense observés et à la notion de compatibilité. Nous terminons par un survol des connaissances dans le domaine de l'immunité humorale chez les mollusques après une discussion sur les mécanismes cellulaires de la défense (phagocytose et encapsulation).

La compatibilité entre un mollusque hôte intermédiaire et un schistosome ne peut être mesurée par un test unique (Combes, 1985). Dans un couple déterminé, il s'agit de connaître séparément le pouvoir infestant du parasite, les capacités de défense de l'hôte et la performance du système hôte-parasite quand il est fonctionnel. Nous nous sommes intéressés à la performance du mollusque et à l'amplitude de sa réaction cellulaire afin d'évaluer ses capacités défensives et les nuances de cette réaction.

Il est évident que, pour pouvoir établir une échelle de la compatibilité pouvant servir de référence, il faut disposer d'un échantillonnage très complet de mollusques et procéder systématiquement à des transplantations avec un parasite de référence, soit par injection de miracidiums, soit par injection de sporocystes. Comme le souligne également Combes (1985), les souches entretenues au laboratoire présentent un appauvrissement considérable du pool génétique initial et ne peuvent constituer un échantillonnage satisfaisant. Il est donc indispensable d'entreprendre les tests de compatibilité sur des populations naturelles.

La mesure de la compatibilité peut se faire de manière assez précise, sur la base des résultats ultrastructuraux, ou de façon plus rapide, d'après les résultats de microscopie photonique. La technique adoptée est fiable, la méthode d'examen dépendra des moyens techniques à disposition.

La compréhension des phénomènes humoraux en est, elle, aux balbutiements et aux hésitations d'un début d'étude. Elle nécessiterait un affinement des méthodes utilisées car les difficultés techniques sont immenses.

Notre conclusion relève combien il a été passionnant de travailler dans un contexte de lutte intégrée contre une parasitose dont le contrôle est fondé sur la connaissance de plusieurs facteurs, liés au cycle du parasite et à sa stratégie démographique, et à l'écologie de sa transmission. Nous nous sommes cependant intéressés à un domaine particulier de ce contexte, domaine de recherche fondamentale qui offre de vastes perspectives de découvertes et qui, de plus, prend actuellement une valeur pratique non négligeable dans l'analyse de la compatibilité entre un mollusque et un parasite en foyer naturel : l'immunologie de l'hôte intermédiaire.

VIII. Remerciements

C'est avec un réel plaisir que j'exprime toute ma gratitude et ma sympathie au Prof. A. Aeschlimann, Directeur de l'Institut de Zoologie de l'Université de Neuchâtel, qui a dirigé cette thèse. Grâce à ses conseils et à sa confiance, j'ai pu mener une recherche originale en helminthologie. Je le prie de croire à mon attachement.

Je remercie chaleureusement le Dr. J. Jourdane, Directeur de Recherche au CNRS. Il fut non seulement un précieux conseiller scientifique mais aussi mon initiateur aux techniques utilisées dans ce travail. Que notre collaboration amicale soit encore de longue durée.

Je tiens à exprimer mes plus profonds remerciements aux Prof. T. Cheng (Medical Univ. S. Carolina, U.S.A.), C. Combes (Université de Perpignan, France), P.A. Diehl (Université de Neuchâtel) et au Dr. A. Degrémont (Institut Tropical Suisse, Bâle) pour avoir accepté de faire partie du jury de thèse.

Je remercie également :

Les Dr. A. Fournier et A. Théron pour leurs conseils techniques très utiles et leur accueil amical.

Le Dr. C. Vaucher (Dir. Museum d'Histoire Naturelle, Genève) et Hélène Moné (Dpt de Biologie Animale, Perpignan) pour les photographies des mollusques.

Le Prof. L. Duspaquier (Institut d'Immunologie, Bâle) pour ses conseils épistolaires.

Michèle Vlimant pour son aide au cours du tirage des planches photographiques.

Maino Morici pour la réalisation des diapositives.

Daniel Borcard et Lise Gern pour leur lecture attentive du manuscrit et leurs remarques judicieuses.

Toute l'équipe du Département de Biologie Animale de l'Université de Perpignan et son Directeur le Prof. C. Combes pour leur accueil toujours extrêmement chaleureux et leur soutien.

Un merci tout particulier à mes amis de l'Institut de Zoologie et spécialement à Lina, Jean et Jorge qui ont bravement supporté mes sautes d'humeur au long de notre "cohabitation" quotidienne.

Un clin d'oeil complice à Christian pour son attente patiente et sa confiance.

Une tendre reconnaissance à mes parents qui m'ont sans cesse encouragée et entourée. Cette thèse leur est dédiée.

A

- ABDUL-SALAM J.M. et MICHELSON E.H., 1980. Biomphalaria glabrata amoebocytes : effect of Schistosoma mansoni infection on in vitro phagocytosis. J. Invert. Pathol. 35:241-248.
- ARNOLD J.D., 1978. Präparationsverfahren in Medizin und Biologie. Rasterelektron-mikroskopische Technik, Rosenbauer, Kegel, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 44.

B

- BANG F.B., 1973. Immune reactions among marine and other Invertebrates. BioScience 23:584-589.
- BARNES R.D., 1980. Invertebrate Zoology. Saunders Ed., Philadelphia, 1089 pp.
- BASCH P.F., 1976. Intermediate host specificity in Schistosoma mansoni. Exp. Parasitol. 39:150.
- BAYNE C.J., 1973. Molluscan internal defense mechanism : The fate of C 14-labeled bacteria in the land snail Helix pomatia (L). J. Comp. Physiol. 86:17-25.
- BAYNE C.J., 1980. Molluscan immunity : induction of elevated immunity in the land snail Helix pomatia by injections of bacteria (Pseudomonas aeruginosa). Dev. Comp. Immunol. 4:43-54.
- BAYNE C.J., 1983. Molluscan immunology. In "The Mollusca. Vol.5". (K.Wilbur Ed.), pp. 407-486. Academic Press, Orlando, Florida.
- BAYNE C.J., BUCKLEY P.M. & DE WAN P.C., 1980. Macrophagelike hemocytes of resistant Biomphalaria glabrata are cytotoxic for sporocysts of Schistosoma mansoni. J. Parasitol. 66:413-419.
- BAYNE C.J., LOKER E.S., YUI M.A., 1986. Interactions between the plasma proteins of Biomphalaria glabrata (Gastropoda) and the sporocyst tegument of Schistosoma mansoni (Trematoda). Parasitology 92:653-664.
- BAYNE C.J., LOKER E.S., YUI M.A. & STEPHENS J.A., 1984. Immune-recognition of Schistosoma mansoni primary sporocysts may require specific receptors on Biomphalaria glabrata hemocytes. Par. Immunol. 6:519-528.
- BENEX J. & JACOBELLI , 1980. Exploration de l'immunité cellulaire chez les mollusques hôtes de Schistosomes :

Biomphalaria glabrata. Bull. Soc. Pathol. Exot. 2: 206-213.

BOSWELL C.A., BAYNE C.J., 1984. Isolation, characterization and functional assessment of a hemagglutinin from the plasma of Biomphalaria glabrata, intermediate host of Schistosoma mansoni. Dev. Comp. Immunol. 8:559-568.

BOYD W.C. & BROWN A.C., 1965. A specific agglutinin in the snail Helix lactea. Nature 208:593-594.

BURNET F.M., 1971. "Self-recognition" in colonial marine forms and flowering plants in relation to the evolution of immunity. Nature 232:230.

BURNET F.M., 1976. The evolution of receptors and recognition in the immune system. In Receptors and Recognition, vol. I., Cuatrecasas & Greaves Ed. Chapman and Hall, London, pp. 35-58.

C

CAPO C., BONGRAND P., BENOLIEL A.M. & DEPIEDS R., 1979. Non-specific recognition in phagocytosis : Ingestion of aldehyde-treated erythrocytes by rat peritoneal macrophages. Immunology 36:501.

CAPRON A., BIGUET J., ROSE F. & VERNES A., 1968. Les antigènes de Schistosomes. II. Etude comparée immunoélectrophorétique de divers stades larvaires et des adultes des deux sexes. Ann. Inst. Pasteur 109:798-810.

CARTER O.S. & BOGITSH B.J., 1975. Histologic and cytochemical observations of the effects of Schistosoma mansoni on Biomphalaria glabrata. Ann. N.-Y. Acad. Sci. 266:380-393.

CHENG T.C., 1968. The compatibility and incompatibility concept as related to trematodes and molluscs. Pac. Sci. 22:141.

CHENG T.C., 1970. Immunity in Mollusca with special reference to reactions to transplants. Transpl. Proc. 2:226-230.

CHENG T.C., 1975. Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. Ann. N.-Y. Acad. Sci. 266:343-379.

CHENG T.C., 1977. Role of hemocytic hydrolases in the defense of Mollusks against invading parasites. Haliotis 8:193-209.

CHENG T.C., 1978. The role of lysosomal hydrolases in molluscan cellular response to immunological challenge.

- Comp. Pathobiol. 4:59-71.
- CHENG T.C., 1979. Cellular immunity in Molluscs with emphasis on the intermediate host of human-infecting schistosomes. Nat. Acad. Sci., Ilar News 22:9-16.
- CHENG T.C., 1983. Internal defense mechanisms of molluscs against invading microorganisms : personal reminiscences. Trans. Am. Microsc. Soc. 102:185-193.
- CHENG T.C., 1985. Evidences for molecular specificities involved in molluscan inflammation. Comp. Pathobiol. 8:129-142.
- CHENG T.C., 1986. Specificity and the role of lysosomal hydrolases in molluscan inflammation. Int. J. Tiss. Reac. 12:1-7.
- CHENG T.C. & AULD R.K., 1977. Hemocytes of Pulmonates. J. Invert. Pathol. 30:119-122.
- CHENG T.C. & BIER J.W., 1972. Studies on molluscan schistosomiasis : an analysis of the development of cercaria of Schistosoma mansoni. Parasitology, 64:129-141.
- CHENG T.C. & BUTLER M.S., 1979. Experimentally induced elevations in acid phosphatase activity in hemolymph of Biomphalaria glabrata (Mollusca). J. Invert. Pathol. 34:119.
- CHENG T.C. & CALI A., 1974. An electron microscope study of the fate of bacteria phagocytized by granulocytes of Crassostrea virginica. Contemp. Top. Immunol. 4:25-35.
- CHENG T.C. & GALLOWAY P.C., 1970. Transplantation immunity in molluscs : The histoincompatibility of Helisoma duryi normale with allografts and xenografts. J. Invert. Pathol. 15:177-192.
- CHENG T.C. & GARRABRANT T.A., 1977. Acid phosphatase in granulocytic capsules formed in strains of Biomphalaria glabrata totally and partially resistant to Schistosoma mansoni. Int. J. Parasitol. 7:467-472.
- CHENG T.C. & GUIDA V.G., 1980. Behavior of Bulinus truncatus rohlfsi hemocytes. Trans. Am. Microsc. Soc. 99:101-111.
- CHENG T.C. & JOURDANE J., 1987. Transient cellular reaction in Biomphalaria glabrata (Mollusca) to heterotopic isografts, J. Invert. Pathol., sous presse.
- CHENG T.C. & HOWLAND K.H., 1979. Chemotactic attraction between hemocytes of the oyster Crassostrea virginica and bacteria. J. Invert. Pathol. 33:150-152.
- CHENG T.C. & RIFKIN E., 1970. Cellular reactions in marine molluscs in response to helminth parasitism. Diseases of

- Fish and Shellfish. Am. Fisher. Soc. Symp. 5:443-496.
- CHENG T.C. & RUDO B.M., 1976. Chemotactic attraction of Crassostrea virginica hemolymph cells to Staphylococcus lactus. J. Invert. Pathol. 27:137-139.
- CHENG T.C. & YOSHINO T.P., 1976. Lipase activity in the serum and hemolymph cells of the soft-shelled clam, Mya arenaria, during phagocytosis. J. Invert. Pathol. 27:243.
- CHENG T.C., BUTLER M.S., GUIDA V.G. & GERHART P.L., 1979. A scanning electron microscope study of the pseudopodia of Biomphalaria glabrata granulocytes. J. Invert. Pathol. 66:118-120.
- CHENG T.C., RODRICK G.E., FOLEY D.A. & KOEHLER S.A., 1975. Release of lysozyme from haemolymph cells of Mercenaria mercenaria during phagocytosis. J. Invert. Pathol. 25:261-265.
- CHEMNIN, E., 1964. Maintenance in vitro of larval Schistosoma mansoni in tissue from the snail, Angiostrongylus cantonensis. J. Parasitol. 50:531-545.
- CHEMNIN E., 1966. Observations on hearts explanted in vitro from the snail Australorbis glabratus. J. Parasitol. 49:356-364.
- CHEMNIN E., 1966. Transplantation of larval Schistosoma mansoni from infected to uninfected snails. J. Parasitol. 52:473-482.
- CHORNEY M.J. & CHENG T.C., 1980. Discrimination of self and non-self in Invertebrates. Contemp. Top. Immunobiol., N.-Y. 9:37-54.
- COMBES C., 1985. L'analyse de la compatibilité schistosomes-mollusques vecteurs. Bull. Soc. Path. Ex. 78:742-746.
- COMBES C. & CHENG T.C., 1986. Les bases conceptuelles du contrôle des schistosomoses. IVème Congrès sur la Protection de la Santé Humaine et des Cultures en Milieu Tropical, Marseille.
- COOPER E.L., 1968. Transplantation immunity in annelids. I. Rejection of xenografts exchanged between Lumbricus terrestris and Eisenia foetida. Transplantation 6:322-337.
- COOPER-WILLIS C.A., 1979. Changes in the acid phosphatase levels in the haemocytes and haemolymph of Patella vulgata after challenge with bacteria. Comp. Biochem. Physiol. A. 63:627.
- COWDEN R.R. & CURTIS S.K., 1973. Observations on living cells dissociated from the leukopoietic organ of Octopus briareus. Exp. Mol. Pathol. 19:178.

COWDEN R.R. & CURTIS S.K., 1974. The octopus white body : An ultrastructural survey. *Invertebrate Immunology*, E.L.Cooper Ed., Plenum Press, New-York, 77-90 pp.

CUENOT L., 1914. Les organes phagocytaires des Mollusques. *Arch. Zool. Exp. Gén.* 54:268-305.

D

DAMIAN R.T., 1979. Molecular mimicry in biological adaptation. *In Host-Parasite Interfaces*, B.B.Nickol Ed., Academic Press, New-York, p. 103.

DAMIAN R.T., GREENE N.D. & HUBBARD W.J., 1973. Occurrence of mouse 2-macroglobulin antigenic determinants on Schistosoma mansoni adults, with evidence on their nature. *J. Parasitol.* 59:64-73.

DAVID H., 1978. Ortho- and pathomorphology of human and animal cells in drawings, diagrams and constructions. *GTL, VEB, G. Thieme, Leipzig*, 503 pp.

DE BRUYNE M., 1893. La phagocytose observée sur le vivant dans les branchies de mollusques lamellibranches. *Cptes. Rendus Hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris* 116:65-68.

DE BRUYNE M., 1895. Contribution à l'étude de la phagocytose. *Arch. Biol., Paris* 14:161-241.

DI CONZA J.J. & HANSEN E.L., 1972. Multiplication of transplanted daughter sporocysts. *J. Parasitol.* 49:181-183.

DREW G.H. & MORGAN W., 1910. The origin and formation of fibrous tissue produced as a reaction to injury in Pecten maximus, as a type of the Lamellibranchiata. *Quart. J. Microsc. Sci.* 55:595-620.

E

EUZET L. & COMBES C., 1980. Les problèmes de l'espèce chez les animaux parasites. *Mém. Soc. Zool. France* 40:239-285.

F

FAWCETT D.W., 1966. *The cell. An atlas of fine structure.*

Saunders Ed., Philadelphia & London, 448 pp.

- FENG S.Y., 1959. Defense mechanisms of the oyster. Bull. N.Y. Acad. Sci. 4:17.
- FENG S.Y., 1965. Pinocytosis of proteins by oyster leukocytes. Biol. Bull. 129:95.
- FENG S.Y., 1966. Experimental bacterial infections in the oyster Crassostrea virginica. J. Invert. Pathol. 8:505.
- FENG S.Y., FENG J.S. & YAMASU T., 1977. Roles of Mytilus coruscus and Crassostrea gigas blood cells in defense and nutrition. Comp. Pathobiol. 3:31-68.
- FENG S.Y., FENG J.S., BURKE C.N. & KHAIRALLAH L.H., 1971. Light and electron microscopy of the leucocytes of Crassostrea virginica (Pelecypoda). Z. Zellforsch. 120:222-245.
- FLETCHER T.C. & COOPER-WILLIS C.A., 1982. Cellular defense systems of the Mollusca. In The Reticuloendothelial System, vol.3., Cohen & Sigel Ed., Plenum Press, New-York & London, pp. 141-162.
- FONT W.F., 1980. Effects of hemolymph of the American oyster Crassostrea virginica, on marine cercariae. J. Invert. Pathol. 36:41-47.

G

- GHADIALLY F.N., 1982. Ultrastructural pathology of the cell and matrix. Butterworths, London.
- GORDON R.M. & GRIFFITHS R.B., 1951. Observations on the means by which the cercariae of Schistosoma mansoni penetrate mammalian skin, together with an account of certain morphological changes observed in the newly penetrated larvae. Ann. Trop. Med. Parasitol. 45:227-243.
- GRANATH W.O. & YOSHINO T.P., 1983. Lysosomal enzyme activities in susceptible and refractory strains of Biomphalaria glabrata during the course of infection with Schistosoma mansoni. J. Parasitol. 69:1018-1026.
- GRANATH W.O. & YOSHINO T.P., 1984. Schistosoma mansoni : passive transfer of resistance by serum in the vector snail Biomphalaria glabrata. Exp. Parasitol. 58:188-193.

H

- HANSEN E.L., PEREZ-MENDEZ G., YARWOOD E. & BUECHER E.J., 1974. Second generation daughter sporocysts of Schistosoma mansoni in axenic culture. J. Parasitol. 60:371-372.
- HARDY S.W., FLETCHER T.C. & OLAFSEN J.A., 1977. Aspects of cellular and humoral defence mechanisms in the Pacific oyster Crassostrea gigas. In Developmental Immunobiology, Solomon & Horton Ed., Elsevier, North Holland, Amsterdam, pp.59-66.
- HARRIS K.R., 1975. Fine structure of encapsulation in Biomphalaria glabrata. Ann. N.-Y. Acad. Sci. 266:446-465.
- HARRIS K.R. & CHENG T.C., 1975. The encapsulation process in Biomphalaria glabrata experimentally infected with the Metastrongylid Angiostrongylus cantonensis : light microscopy. Int. J. Parasitol. 5:521-528.
- HOSKIN G.P., 1975. Light and electron microscopy of the host-parasite interface and histopathology of Nassarius obsoletus infected with rediae of Himasthla quissetensis. Ann. N.-Y. Acad. Sci. 266:497-512.
- J
- JEONG K.H. & HEYNEMAN D., 1976. Leucocytes of Biomphalaria glabrata : morphology and behavior of granulocytic cells in vitro. J. Invert. Pathol. 28:357-362.
- JEONG K.H., LIE K.J. & HEYNEMAN D., 1980. Leucocytosis in Biomphalaria glabrata sensitized and resensitized to Echinostoma lindoense. J. Invert. Pathol. 35:9-13.
- JEONG K.H., LIE K.J. & HEYNEMAN D., 1983. The ultrastructure of the amoebocyte-producing organ (APO) in Biomphalaria glabrata. Dev. Comp. Immunol. 7:217-228.
- JEONG K.H., SUSSMAN S., ROSEN S.D., LIE K.J. & HEYNEMAN D., 1981. Distribution and variation of hemagglutinating activity in the hemolymph of Biomphalaria glabrata. J. Invert. Pathol. 38:256-263.
- JOURDANE J., 1978. Perspectives de maintenance de Schistosoma mansoni chez le mollusque vecteur par la technique de transplantation. Proc. 4th. Int. Congr. Parasitol. 100 C, Warszawa.
- JOURDANE J., 1982. Etude des mécanismes de rejet dans les couples "mollusque-schistosome" incompatibles à partir d'infestations par voie naturelle et par transplantation microchirurgicale de stades parasitaires. Acta Tropica 39:325-335.

JOURDANE J. & CHENG T.C., 1987. The two-phase recognition process of allografts in a brazilian strain of Biomphalaria glabrata. J. Invert. Pathol., sous presse.

JOURDANE J. & THERON A., 1980. Schistosoma mansoni : cloning by microsurgical transplantation of sporocysts. Exp. Parasitol. 50:349-357.

JOURDANE J., KECEMIR N., COMBES C., 1981. Mise en évidence d'une répllication des sporocystes-fils de Schistosoma haematobium après transplantation microchirurgicale chez Bulinus truncatus. Cptes. Rendus Acad. Sci., III, 293:531-533.

JOURDANE J., THERON A. & COMBES C., 1980. Demonstration of several sporocyst generations as a normal pattern of reproduction of Schistosoma mansoni. Acta Trop. 37:177-182.

K

KASSIM O.O., RICHARDS C.S., 1978. Schistosoma mansoni : Lysozyme activity in Biomphalaria glabrata during infection with two strains . Exp. Parasitol. 46:213.

KASSIM O.O., RICHARDS C.S., 1979. Host reactions in Biomphalaria glabrata to Schistosoma mansoni miracidia : variation in parasite strains, numbers and sequence of exposure. Int. J. Parasitol. 9:565-570.

KECEMIR N., THERON A., 1980. Existence of replicating sporocysts in the developmental cycle of Schistosoma haematobium. 66:1068-1070.

KRUPA P.L., LEWIS L.M. & DEL VECCHIO P., 1977. Schistosoma haematobium in Bulinus guernei : electron microscopy of hemocyte-sporocyst interactions. J. Invert. Pathol. 30:35-45.

KUNTZ R.E., 1955. Biology of the schistosome complexes. Am. J. Trop. Med. Hyg. 4:383.

L

LACKIE A.M., 1980. Invertebrate immunity. Parasitology 80:393-412.

LIE K.J., 1969. Role of immature rediae in antagonism of Paryphostomum segregatum to Schistosoma mansoni and larval development in degenerated sporocysts. Z.

Parasitenkd. 32:316-323.

- LIE K.J., 1982. Survival of Schistosoma mansoni and other trematode larvae in the snail Biomphalaria glabrata. A discussion of the interference theory. Trop. Geogr. Med. 34:111-122.
- LIE K.J. & HEYNEMAN D., 1975. Studies on resistance in snails : a specific tissue reaction to Echinostoma lindoense in Biomphalaria glabrata snails. Int. J. Parasitol. 6:621-625.
- LIE K.J. & HEYNEMAN D., 1976. Studies on resistance in snails. 5. Tissue reactions to Echinostoma lindoense in naturally resistant Biomphalaria glabrata. J. Parasitol. 62:292-297.
- LIE K.J. & HEYNEMAN D., 1976. Studies on resistance in snails. 6. Escape of Echinostoma lindoense sporocysts from encapsulation in the snail heart and subsequent loss of the host's ability to resist infection by the same parasite. J. Parasitol. 62:298-302.
- LIE K.J. & HEYNEMAN D., 1978. Destruction of Schistosoma mansoni in snails with self-cure. Proc. 4th. Int. Congr. Parasitol., Warszawa.
- LIE K.J., HEYNEMAN D. & PERCY YAU, 1975. Origin of amoebocytes in Biomphalaria glabrata. J. Parasitol. 61:574-576.
- LIE K.J., HEYNEMAN D. & RICHARDS C.S., 1979. Specificity of natural resistance to trematode infections in Biomphalaria glabrata. Int. J. Parasitol. 9:529-531.
- LIE K.J., JEONG K.H. & HEYNEMAN D., 1980. Tissue reactions induced by Schistosoma mansoni in Biomphalaria glabrata. Ann. Trop. Med. Par. 74:157-166.
- LIE K.J., RICHARDS C.S. & HEYNEMAN D., 1977. Schistosoma mansoni : temporary reduction of natural resistance in Biomphalaria glabrata induced by irradiated miracidia of Echinostoma paraensei. Exp. Parasitol. 43:54-62.
- LIM H.K., 1970. Parameters and mechanisms of antagonistic interactions between Schistosoma mansoni and Paryphostomum segregatum in the snail Biomphalaria glabrata. Doct. Dissert., University of California, San Francisco.
- LOKER E.S., BAYNE C.J., 1982. In vitro encounters between Schistosoma mansoni primary sporocysts and hemolymph components of susceptible and resistant strains of Biomphalaria glabrata. Am. J. Trop. Med. Hyg. 31:999-1005.
- LOKER E.S., BAYNE C.J., BUCKLEY P.M. & KRUSE K.T., 1982. Ultrastructure of encapsulation of Schistosoma mansoni

mother sporocysts by hemocytes of juveniles of the 10-R2 strain of Biomphalaria glabrata. J. Parasitol. 68:84-94.

LO VERDE P.T., SHOULBERG N. & GHERSON J., 1984. Role of cellular and humoral components in the encapsulation response of Biomphalaria glabrata to Schistosoma mansoni sporocysts, in vitro. In Progress in clinical and biological research (Recognition proteins, receptors and probes : Invertebrates , pp.17-29) Symp. Philadelphia.

M

MACKIN J.G., 1962. Oyster disease caused by Dermocystidium marinum and other microorganisms found in Louisiana. Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Texas 7:132-229.

MALEK E.A., 1980. Snail-transmitted parasitic diseases. Vol.I., CRS Press, Inc. Boca Raton, Florida.

MALEK E.A. & CHENG T.C., 1974. Medical and Economic Malacology. Academic Press, New-York & London, 398 pp.

METCHNIKOFF E., 1883. Untersuchung ueber die intrazellulare Verdauung bei wirbellosen Tieren. Arch. Zool. Inst., Univ. Wien 5:144.

METCHNIKOFF E., 1884. Uber die Beziehung der Phagocyten zu Melzbrandbacillen. Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med. (Virchow's Arch.) 97:102.

MEULEMAN E.A., 1972. Host-parasite interrelationships between Biomphalaria pfeifferi and Schistosoma mansoni. Netherl. J. Zool. 22:355-427.

MICHELSON E.H., 1961. An acid-fast pathogen of freshwater snails. Am. J. Trop. Med. Hyg. 10:423.

MICHELSON E.H., 1964. Miracidia-immobilizing substances in extracts prepared from snails infected with Schistosoma mansoni. Am. J. Trop. Med. Hyg. 13:36-42.

MICHELSON E.H., 1975. Cellular defense mechanisms and tissue alterations in gastropod molluscs. Invert. Immun., Acad. Press, New-York, 181-195.

MICHELSON E.H. & DUBOIS L., 1977. Agglutinins and lysins in the molluscan family Planorbidae : A survey of hemolymph, egg-masses and albumen-gland extracts. Biol. Bull. 153:219-227.

MICHELSON E.H. & DUBOIS L., 1978. Susceptibility of Bahian populations of Biomphalaria glabrata to an allopatric strain of Schistosoma mansoni. Am. J. Trop. Med. Hyg. 27:782-786.

MOORE C.A. & EBLE A.F., 1977. Cytochemical aspects of Mercenaria mercenaria hemocytes. Biol. Bull. 152:105

MOORE D.V. & SANDGROUND J.H., 1956. The relative egg-producing capacity of Schistosoma mansoni and Schistosoma japonicum. Am. J. Trop. Med. Myg. 5:831-840.

MORONA D., JOURDANE J. & AESCLIMANN A., 1985. Etude ultrastructurale de la formation d'une capsule hémocytaire lors de la transplantation de glande digestive parasitée par des sporocystes de Schistosoma mansoni chez Biomphalaria glabrata. Ann. Par. Hum. Comp. 60: 133-146.

N

NEWTON W.L., 1952. The comparative tissue reaction of two strains of Australorbis glabratus to infection with Schistosoma mansoni. J. Parasitol. 38:362-366.

NEWTON W.L., 1954. Tissue response to Schistosoma mansoni in second generation snails from a cross between two strains of Australorbis glabratus. J. Parasitol. 40:1-4.

O

Organisation Mondiale de la Santé, 1985. Septième rapport du programme spécial de Recherche et de Formation concernant les Maladies tropicales. OMS, Genève 3:1-24.

OWCZARZAK A., STIBBS H.H., DEWAN P. & GALLENSTEIN T.W., 1977. Ultrastructural studies of the interactions of snail blood cells with primary sporocyst. J. Cell. Biol. 75:97a

P

PAN C.T., 1956. Studies on the biological control of schistosome-bearing snails : a preliminary report on pathogenic microorganisms found in Australorbis glabratus. J. Parasitol. 42:33.

PAN C.T., 1958. General histology and topographic microanatomy of Australorbis glabratus. Bull. Museum Comp. Zool. 119:3.

PAN C.T., 1963. Generalized and focal tissue response in Australorbis glabratus infected with Schistosoma mansoni. Ann. N.-Y. Acad. Sci. 475-485.

PAN C.T., 1965. Studies on the host-parasite relationship between Schistosoma mansoni and the snail Australorbis glabratus. Am J. Trop. Med. Hyg. 14:931-976.

PARISH C.R., 1977. Simple model for self-non-self discrimination in Invertebrates. Nature 267:711.

PAULEY G.B., KRASSNER S.M. & CHAPMAN F.A., 1971. Bacterial clearance in the California seahare Aplysia californica. J. Invert. Pathol. 18:227-239.

PFLUGER W., 1980. Experimental epidemiology of schistosomiasis. I. The prepatent period and cercarial production of Schistosoma mansoni in Biomphalaria snails at various constant temperatures. Z. Parasitenkunde 63:159-169.

R

RATCLIFFE N.A. & ROWLEY A.F., 1979. A comparative synopsis of the structure and function of the blood cells of insects and other invertebrates. Dev. Comp. Immunol. 3:189.

RATCLIFFE N.A., ROWLEY A.F., FITZGERALD S.W. & RHODES C.P., 1985. Invertebrate Immunity : basic concepts and recent advances. Int. rev. Cytol. 97:183-350.

READE P.C., 1968. Phagocytosis in Invertebrates. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 46:219.

RENWRANTZ L.R. & CHENG T.C., 1977. Identification of agglutinin receptors on hemocytes of Helix pomatia. J. Invert. Pathol. 31:171-179.

RENWRANTZ L.R. & MOHR W., 1978. Opsonizing effect of serum and albumin gland extracts on the elimination of human erythrocytes from the circulation of Helix pomatia. J. Invert. Pathol. 31:164-170.

RENWRANTZ L.R., YOSHINO T.P., CHENG T.C. & AULD K.R., 1979. Size determination of hemocytes from the American oyster Crassostrea virginica and the description of a phagocytosis mechanism. Zool. Jahrb. Abt. Allg. Zool. Physiol. Tiere 83:1.

RENWRANTZ L.R., SCHANCKE W., HARM H., ERL H, LIEBSCH H & GERCKEN J., 1981. Discriminative ability and function of the immunobiological recognition system of the snail Helix pomatia. J. Comp. Physiol. 141:447-488.

- REYNOLDS E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17:208-212.
- RICHARDS C.S., 1970. Pearl formation in Biomphalaria glabrata. *J. Invert. Pathol.* 15:459-460.
- RICHARDS C.S. & MERRITT J.W., 1967. Studies on Angiostrongylus cantonensis in molluscan intermediate hosts. *J. Parasitol.* 53:382.

S

- SCHUTTE H.J., 1974. Studies on the south african strain of Schistosoma mansoni. *South Afr. J. Sci.* 70:299-346.
- SCHUTTE H.J., 1975. Studies on the south african strain of Schistosoma mansoni. *South Afr. J. Sci.* 71:8-20.
- SMINIA T., 1972. Structure and function of blood and connective tissue cells of the fresh water Pulmonate Lymnea stagnalis studied by electron microscopy and enzyme histochemistry. *Z. Zellforsch.* 130:497-526.
- SMINIA T. & BARENDSSEN L., 1980. A comparative morphological and enzyme histochemical study on blood cells of the freshwater snails Lymnea stagnalis, Biomphalaria glabrata and Bulinus truncatus. *J. Morphol.* 165:31-37.
- SMINIA T. & VAN DER KNAAP W.P.W., 1986. Immunorecognition in invertebrates with special reference to Molluscs. In *Immunity in Invertebrates*, M. Brehélin Ed., Springer-Verlag, Berlin, pp. 112-124.
- SMINIA T., BORGHART-REINDERS E. & VAN DE LINDE A.W., 1974. Encapsulation of foreign materials experimentally introduced into the fresh water snail Lymnea stagnalis. *Cell. Tissue Res.* 153:307.
- SMINIA T., VAN DER KNAAP W.P.W. & EDELENBOSCH P., 1979. The role of serum factors in phagocytosis of foreign particles by blood cells of the freshwater snail Lymnea stagnalis. *Dev. Comp. Immunol.* 3:37-44.
- STANISLAWSKI E., RENWRANTZ L. & BECKER W., 1976. Soluble blood group reactive substances in the hemolymph of Biomphalaria glabrata. *J. Invert. Pathol.* 28:301-308.
- STAUBER L.A., 1950. The fate of India ink injected intracardially into the oyster Ostrea virginica Gmelin. *Biol. Bull.* 89:227-241.
- STEIN P.C. & BASCH P.F., 1979. Purification and binding properties of hemagglutinin from Biomphalaria glabrata. *J. Invert. Pathol.* 33:10-18.

STUMPF J.L. & GILBERTSON D.E., 1978. Hemocytes of Biomphalaria glabrata : factors affecting variability. J. Invert. Pathol. 32:177-181.

STUMPF J.L. & GILBERTSON D.E., 1980. Differential leukocytic responses of Biomphalaria glabrata to infection with Schistosoma mansoni. J. Invert. Pathol. 35:217-218.

T

THERON A., 1981. Dynamics of larval populations of Schistosoma mansoni in Biomphalaria glabrata. 1. Rhythmic production of cercariae in monomiracidial infections. Ann. Trop. Med. Parasitol. 75:71-77.

THERON A., 1982. Le compartiment cercaire dans le cycle de Schistosoma mansoni Sambon 1907. Thèse de Doctorat, Université, Perpignan.

THERON A. & JOURDANE J., 1979. Séquence de reconversion des sporocystes producteurs de cercaires en vue de la production de nouvelles générations de sporocystes. Z. Parasitenkde. 61:63-71.

TRIPP M.R., 1958. Disposal by the oyster of intracardially injected red blood cells of vertebrates. Proc. Nat. Shellfish. Assoc. 48:143-147.

TRIPP M.R., 1958. Studies on the defense mechanism of the oyster. J. Parasitol. 44:35-36.

TRIPP M.R., 1960. Mechanisms of removal of injected microorganisms from the American oyster Crassostrea virginica Gmelin. Biol. Bull. 119:210-223.

TRIPP M.R., 1961. The fate of foreign materials experimentally introduced into the snail Australorbis glabratus. J. Parasitol. 47:745-751.

TRIPP M.R., 1974. Molluscan immunity. Ann. N.-Y. Acad. Sci. 234:23-27.

TRIPP M.R. & KENT V.E., 1967. Studies on oyster cellular immunity. In Vitro 47:129-135.

TSUJII T., 1960. Studies on the mechanism of shell- and pearl-formation in Mollusca. J. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie. 5:1-70.

TYLER A., 1946. Natural heteroagglutinins in the body-fluids and seminal fluids of various invertebrates. Biol. Bull. 213-219.

V

VAN OSS C.J., 1978. Phagocytosis as a surface phenomenon. *Annu. Rev. Microbiol.* 32:19.

W

WALTERS M.N.I., PAPADIMITRIOU J.M., 1978. Phagocytosis : A review. *Crit. rev. Toxicol.* 5:377.

WATSON M.L., 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cyt.* 4:475-478.

WITTKE M. & RENWRANTZ L., 1984. Quantification of cytotoxic hemocytes of Mytilus edulis using a cytotoxicity assay in agar. *J. Invert. Pathol.* 43:248-253.

WRIGHT C.A., 1966. The pathogenesis of helminths in the Mollusca. *Helm. Abs.* 35:207-224.

WRIGHT C.A., 1974. Snail susceptibility or trematode infectivity ? *J. Nat. Hist.* 8:545-548.

Y

YOSHINO T.P., 1976. Encapsulation response of the prosobranch Cerithidea californica to natural infections of Renicola buchanani sporocysts (Trematoda : Renicolidae). *Int. J. Parasitol.* 6:423-431.

YOSHINO T.P., 1981. Concanavalin A-induced receptor redistribution on Biomphalaria glabrata hemocytes : characterization of capping and patching responses. *J. Invert. Pathol.* 38:102-112.

YOSHINO T.P. & BAYNE C.J., 1983. Mimicry of snail host antigens by miracidia and primary sporocysts of Schistosoma mansoni. *Par. Immunol.* 5:317-328.

YOSHINO T.P. & CHENG T.C., 1978. Sharing of snail host-like antigens by Schistosoma mansoni miracidia. 4th. Int. Congr. Parasitol., Warszawa.

YOSHINO T.P., CHENG T.C. & RENWRANTZ L.R., 1977. Lectin and human blood group determinants of Schistosoma mansoni : Alteration following in vitro transformation of miracidium to mother sporocyst. *J. Parasitol.* 63:818.

Z

ZACKS S.I., 1955. The cytochemistry of the amoebocytes and intestinal epithelium of Venus mercenaria (Lamellibranchiata) with remarks on a pigment resembling ceroid. Q. J. Microsc. Sci. 96:57.

LISTE DES ABREVIATIONS

Des caractères majuscules sont parfois utilisés pour une meilleure lisibilité.

b	: bactérie
bt	: bouton terminal
cap	: capsule
cd	: corps dense
ce	: cercaire
ced	: cercaire en voie de dégénérescence
cee	: cercaire embryonnaire
cr	: corps résiduel
ct	: cellule tégumentaire
ec	: ectoplasme
ed	: endoplasme
f	: filopode
gi	: appareil de Golgi
gd	: glande digestive
gly	: glycogène
gr	: granulocyte
gs	: grain de sécrétion
hp	: hétérochromatine périphérique
hy	: hyalinocyte
la	: lacune
li	: lipide
ly	: lysosome
n	: mitochondrie
meb	: microscopie électronique à balayage
met	: microscopie électronique à transmission
md	: matériel dense
mf	: matériel fibrillaire
mo	: microscopie photonique
mp	: membrane plasmique
mu	: muscles
mv	: microvillosités
n	: noyau
pt	: protonéphridie
reg	: réticulum endoplasmique granulaire
sp	: sporocyste
tm	: tissu du mollusque
v	: vacuole

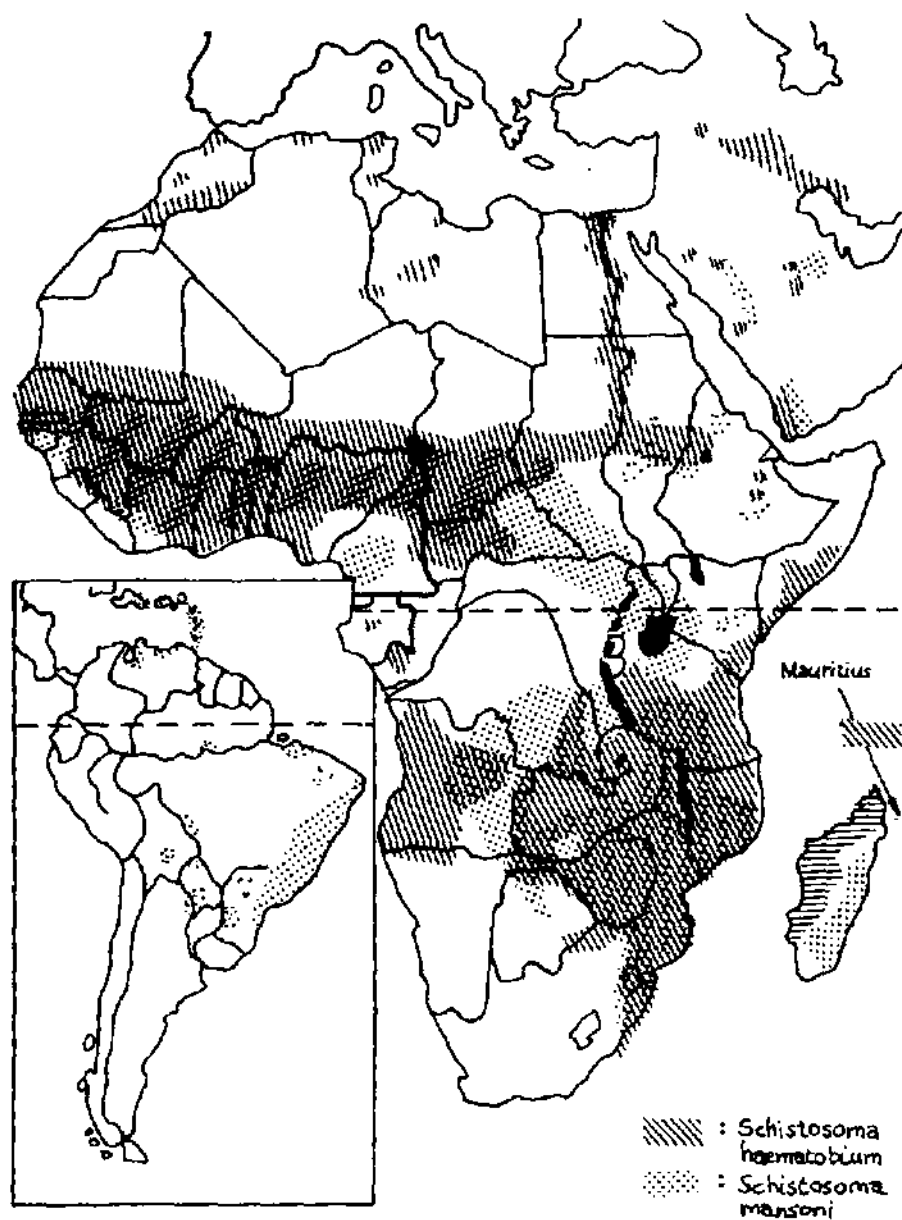


Fig. 1 . Répartition géographique de *Schistosoma mansoni* et de *Schistosoma haematobium*.
 D'après J. Dönges, Parasitologie, G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1980.



Fig. 2 . Schistosoma mansoni, Cycle. Hôte intermédiaire : Biomphalaria glabrata.

Ad : adultes, C : cercaires, Mir : miracidium,
 Oe : oeufs, Spm : sporocyste-mère, Spf : sporocyste-fils.

Fig. 3. Les éléments du cycle de S. mansoni :

- a) Oeuf. L'éperon latéral est bien visible. MO. x250.
- b) Miracidium. Les plaques ciliées sont caractéristiques. MO. x250.
- c) Sporocystes-fils (Sp) dans la glande digestive. Une cercaire (Ce) s'est développée dans l'un des sporocystes. MO. x250.
- d) Cercaires. Les papilles sensorielles ont été noircies au nitrate d'argent. MO. x250.
- e) Adultes mâle et femelle. MEB x12.

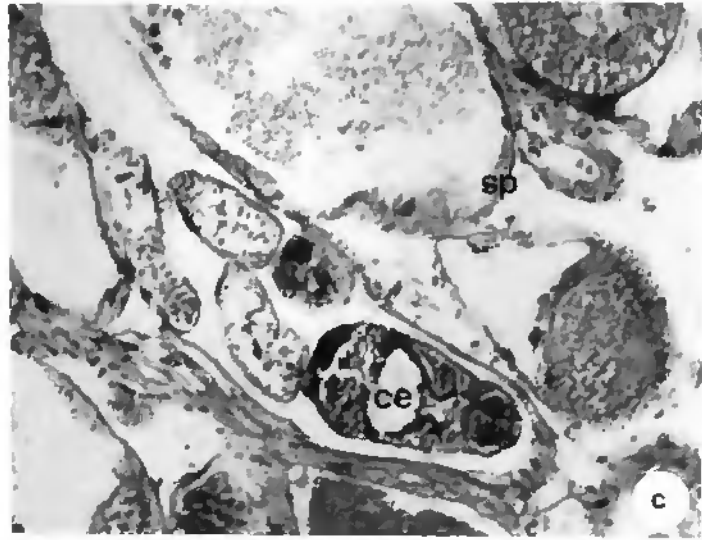
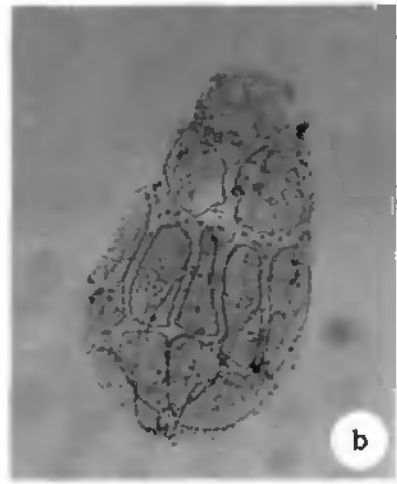


Fig. 4. B. glabrata Brésil. Souche albinos. M0.

Fig. 5. B. glabrata Guadeloupe. M0.

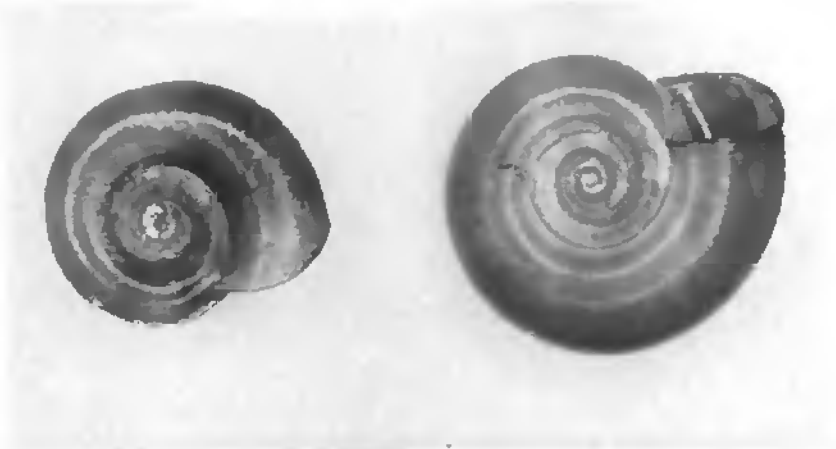
Fig. 6. B. truncatus Egypte. M0.

Fig. 7. O. hupensis Japon. M0.

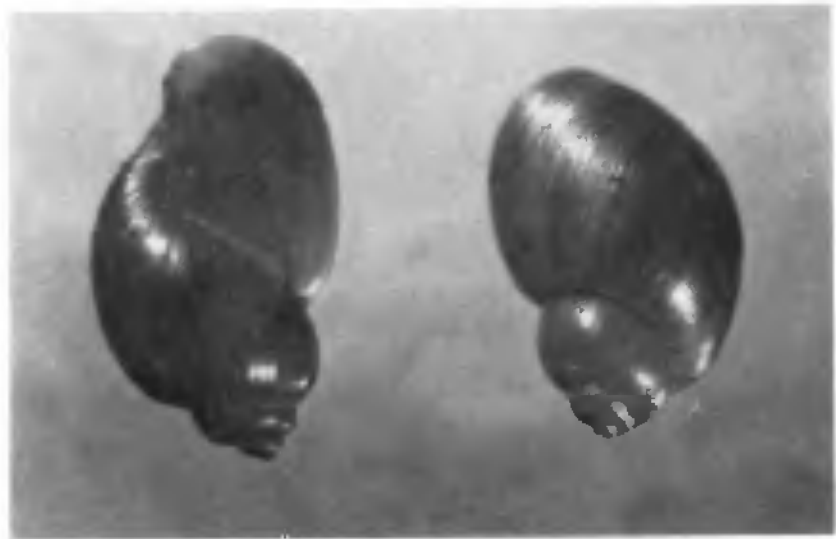
1cm



1cm

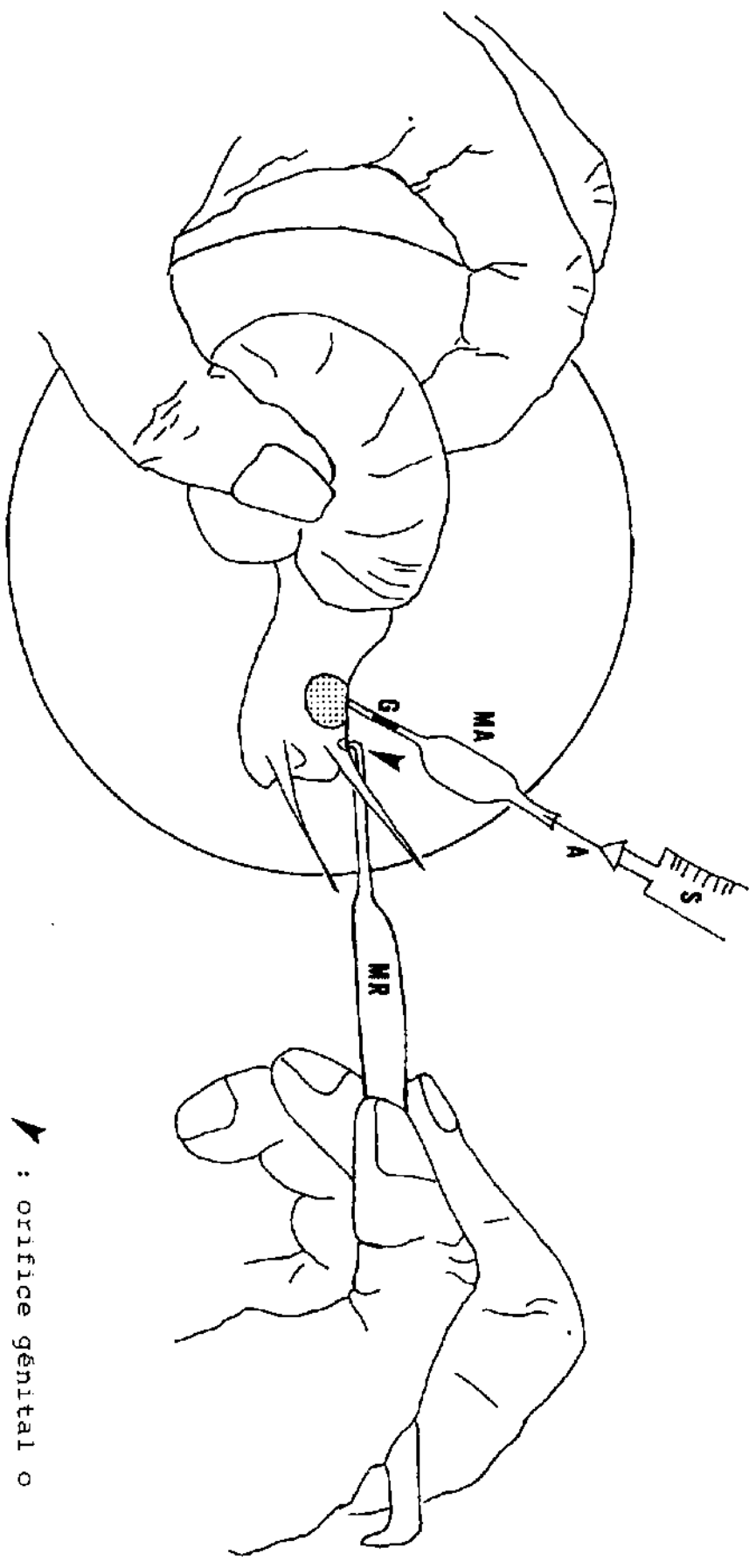


1cm



0,5cm





- ▲ : orifice génital o
- ▨ : zone d'injection
- A : aiguille
- G : greffon
- MA : microaiguille de verre
- MR : microrétracteur
- S : seringue

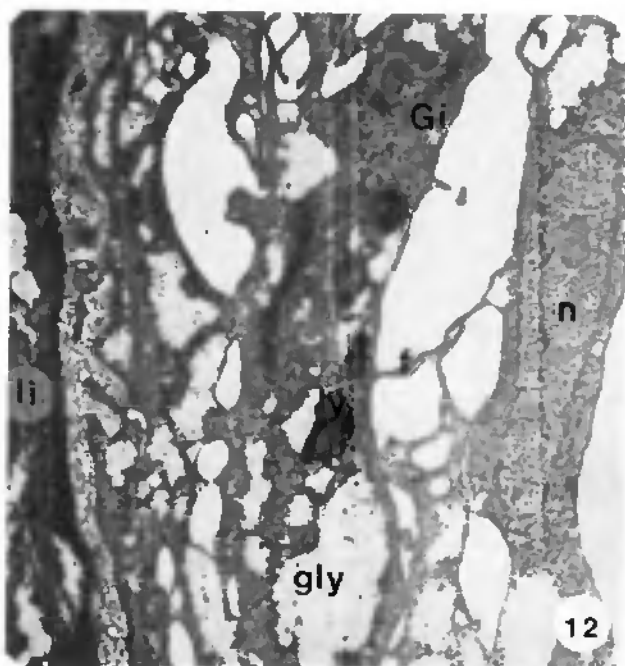
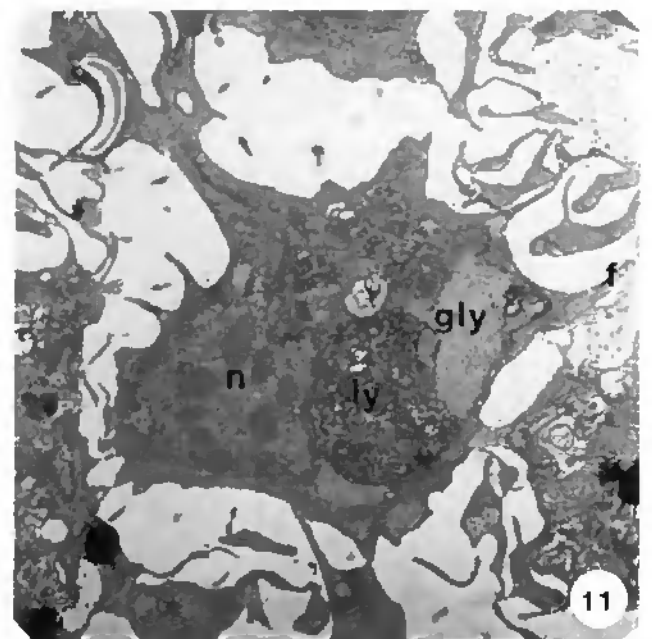
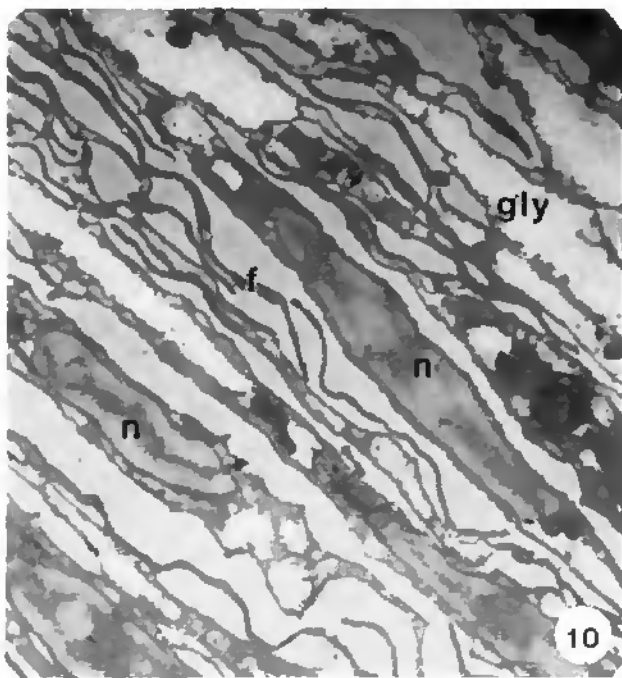
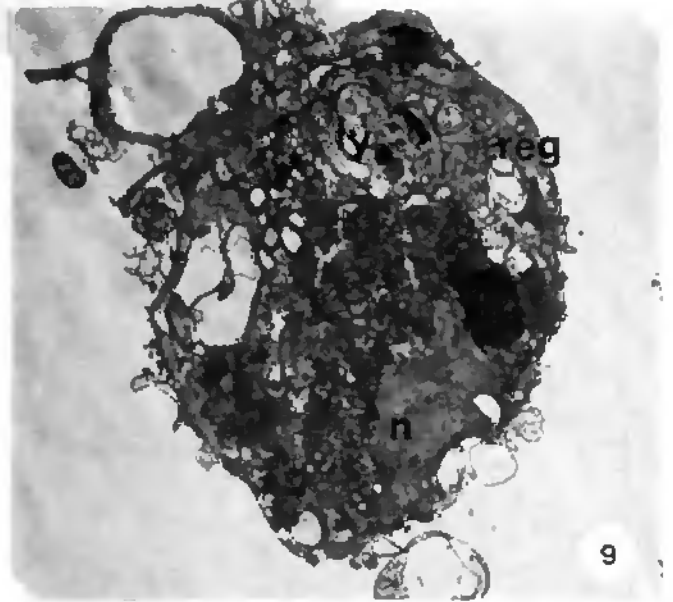
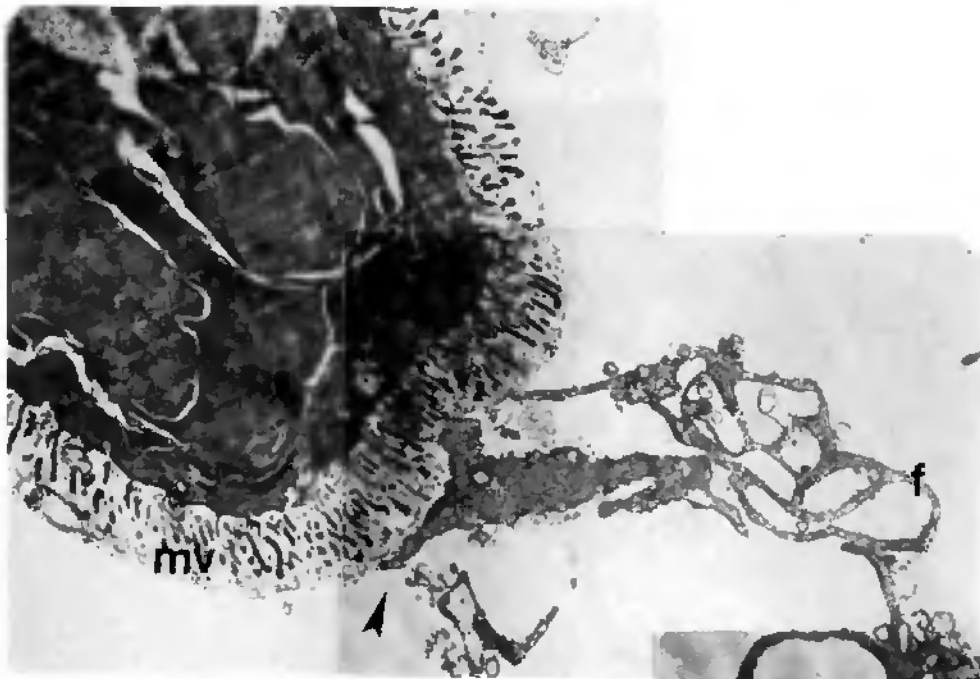
Fig. 8 . Transplantation microchirurgicale. Schéma.

Fig. 9. Granulocyte dont les filopodes (f) entrent en contact (▲) avec les microvillosités (mv) d'un sporocyste. MET.
x 11500

Fig. 10. Granulocytes étirés dans une capsule dense. Les réserves de glycogène (gly) sont importantes. MET.
x 10950

Fig. 11. Granulocyte arrondi. L'endoplasme contient le noyau (n), des lysosomes (ly) et du glycogène (gly). L'ectoplasme se prolonge dans les filopodes (f). MET.
x 8200

Fig. 12. Granulocytes participant à l'encapsulation. MET.
x 11500



- Fig. 13. Hyalinocyte avec court filopode (/). MET.
x 11500
- Fig. 14. Contacts (/) entre un hyalinocyte et les
filopodes (f) des granulocytes. MET.
x 10950
- Fig. 15. a) Zone externe de la capsule avec l'association
de granulocytes (gr) et de hyalinocytes (hy). MET.
x 2750
- Fig. 15. b) Hyalinocyte (HY) entouré très étroitement par
des granulocytes (GR). MET.
x 8200

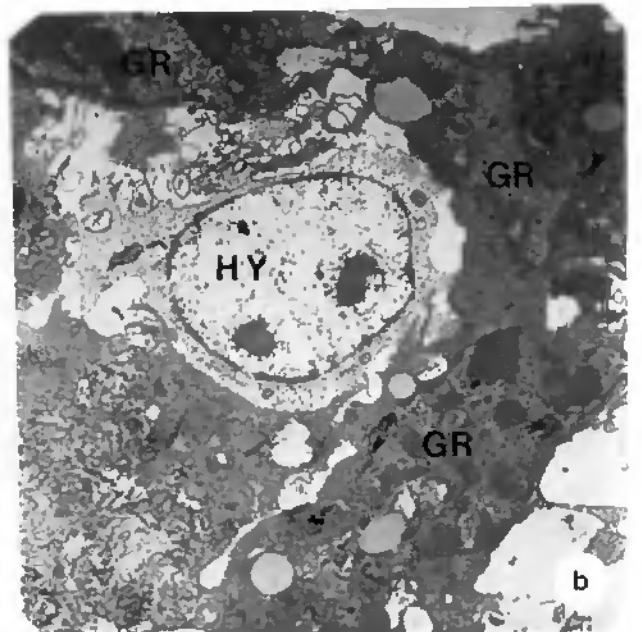
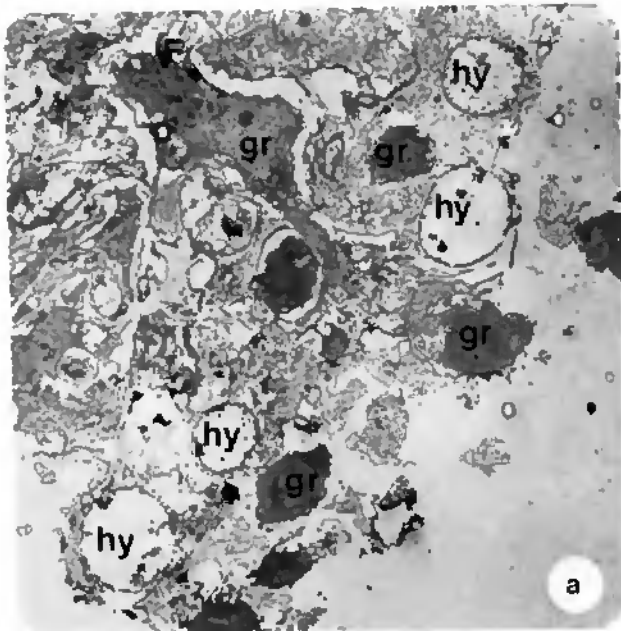
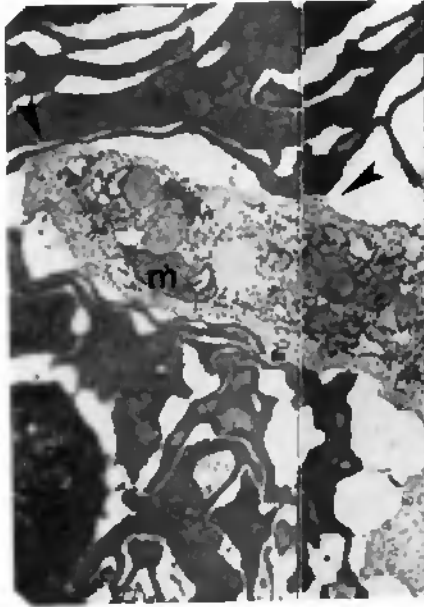
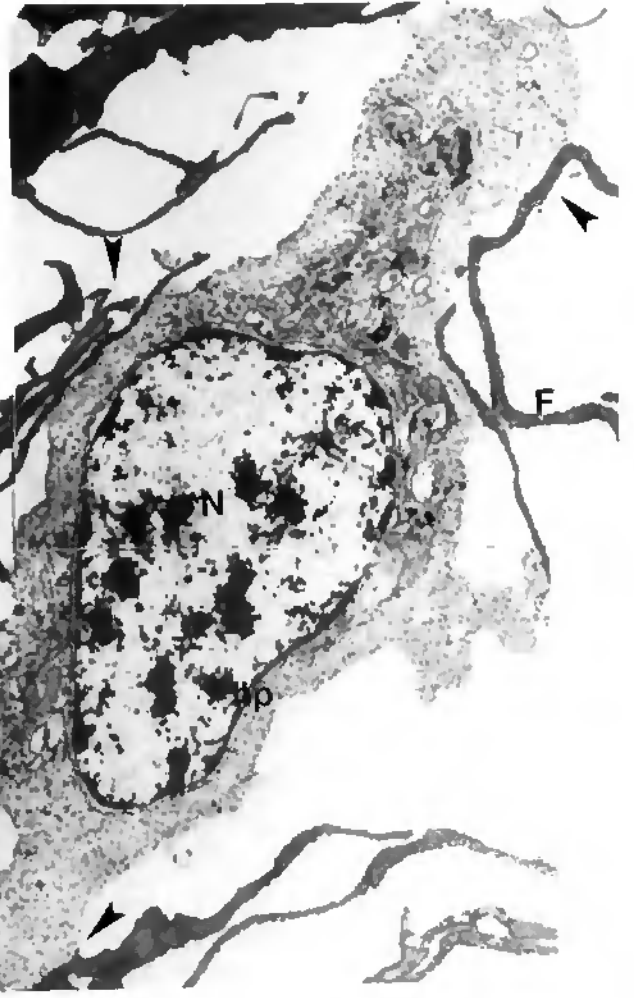
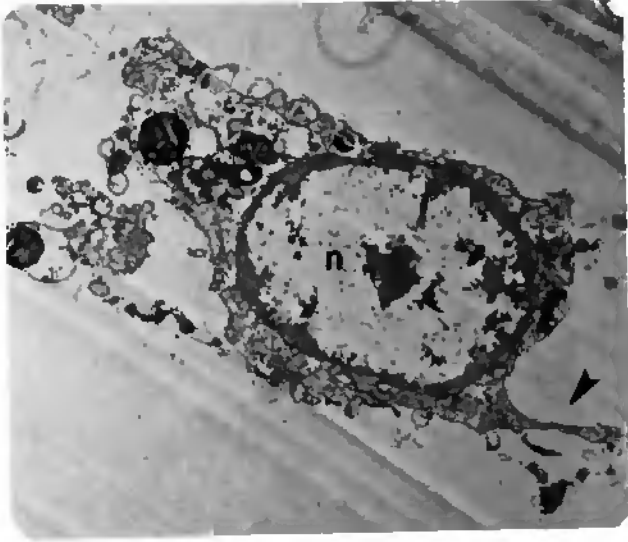


Fig. 16. Hémocyte. Stade 1. Phagocytose de bactéries (b).
MEB.
x 10170

Fig. 17. Hémocyte. Stade 1. Emission d'un filopode (f).
MEB.
x 10170

Fig. 18. Hémocyte. Stade 1. Adhésion au verre. MEB.
x 10170

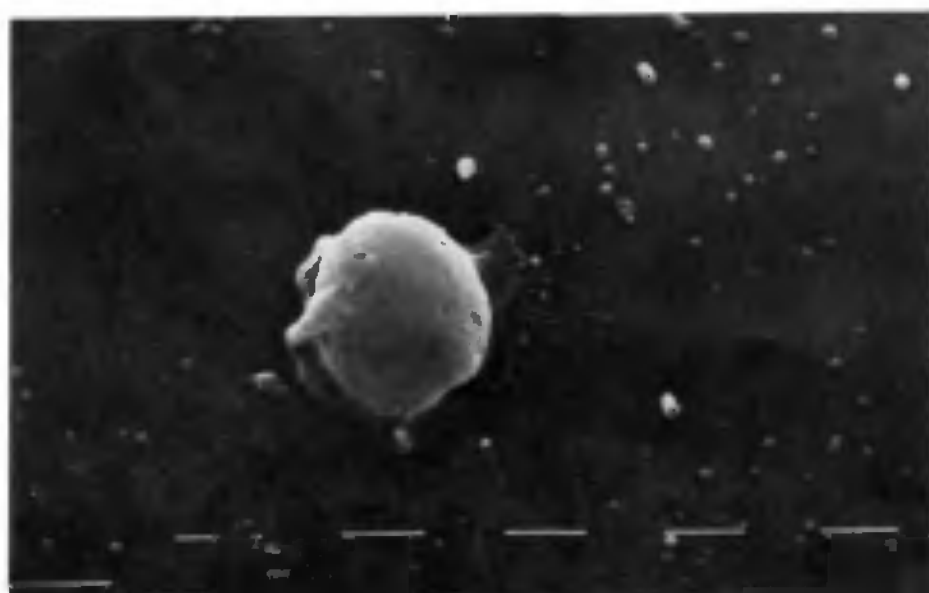
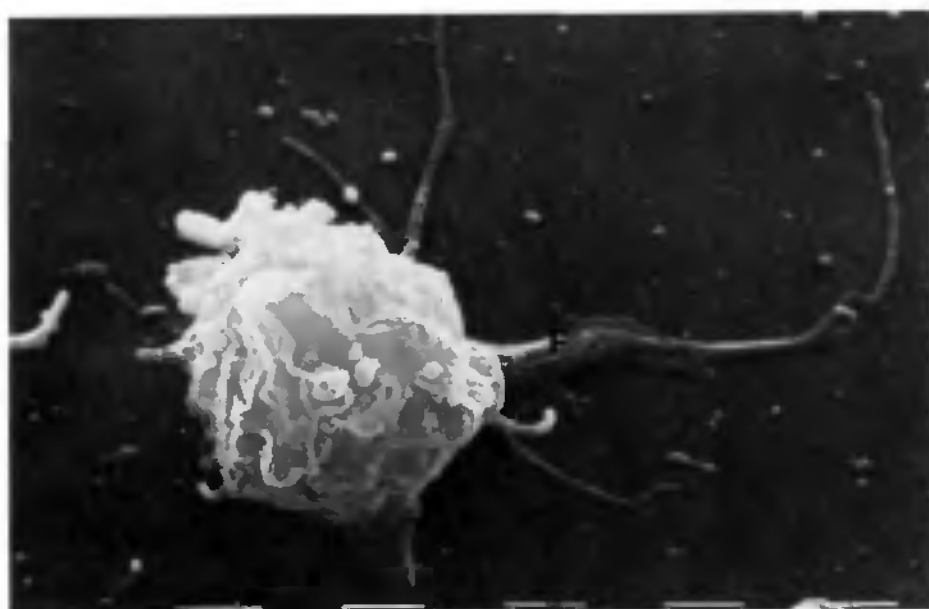
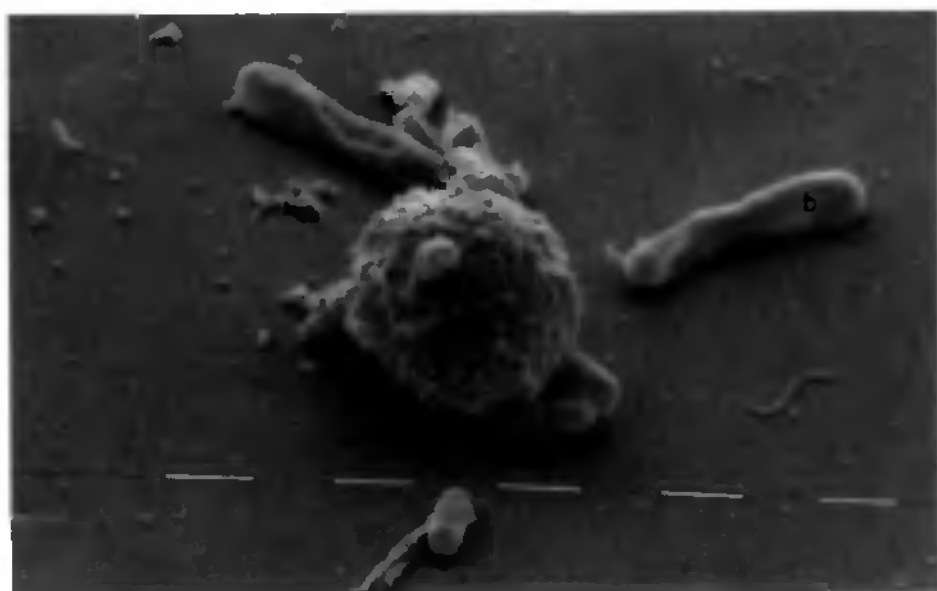


Fig. 19. Hémocyte. Stade 2. Distinction de deux zones :
L'ectoplasme (ec) et l'endoplasme (ed). MEB.

Fig. 20. Hémocyte. Stade 2.

- a) L'ectoplasme (ec) peut se surélever.
- b) Les filopodes (f) deviennent très allongés.

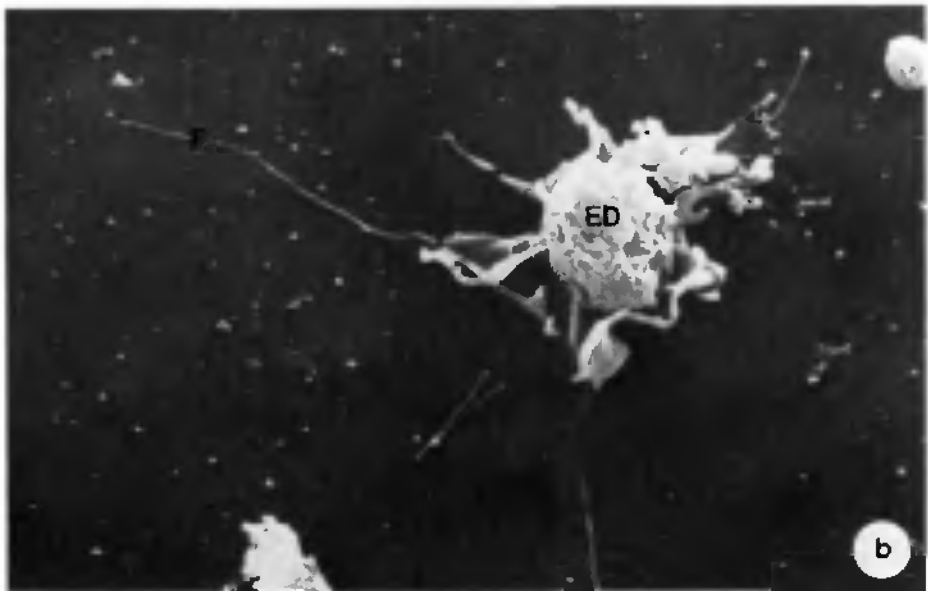
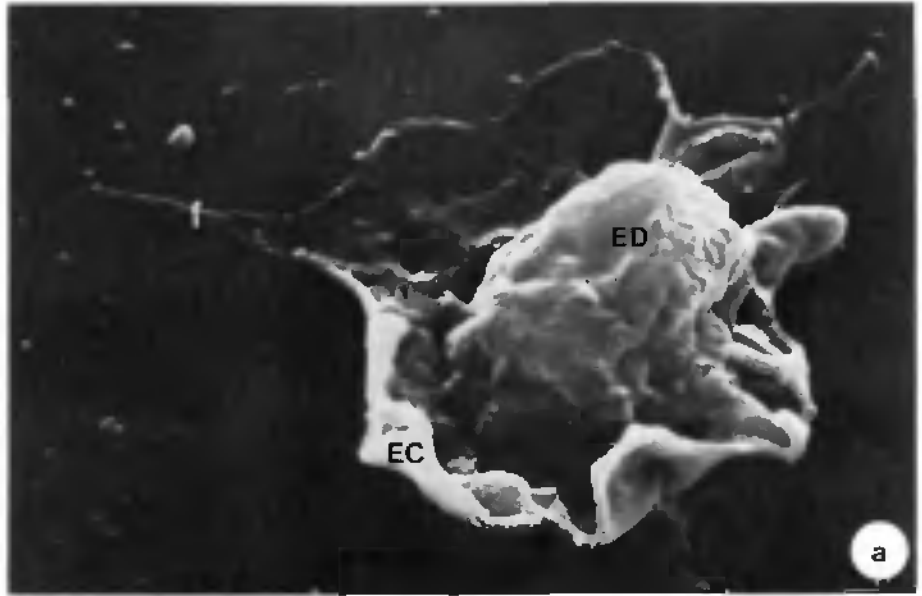
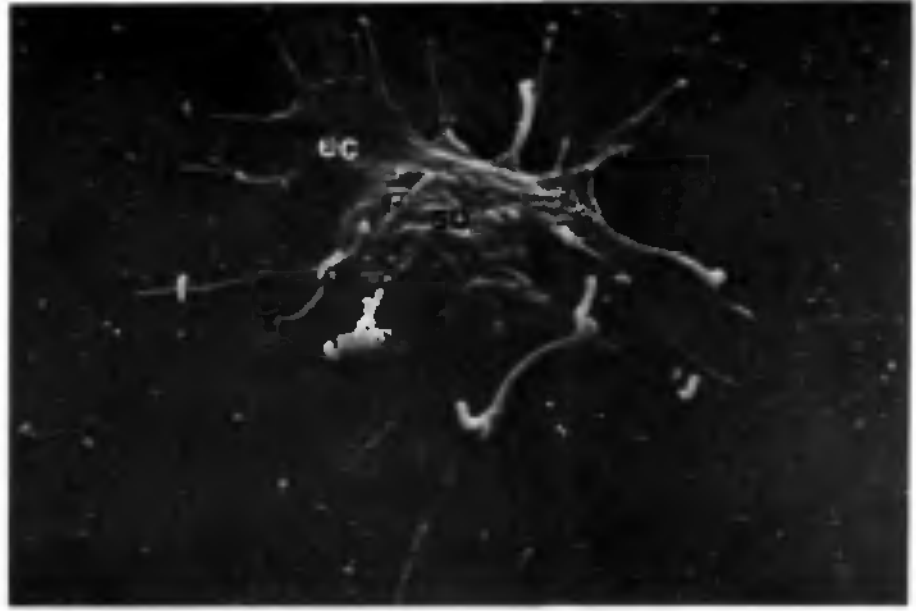


Fig. 21. Hémocytes. Stade 3. MEB.
a) b) et c) : Surélévement progressif des cellules
au-dessus de la lamelle.
a) x 2540
b) et c) x 5080

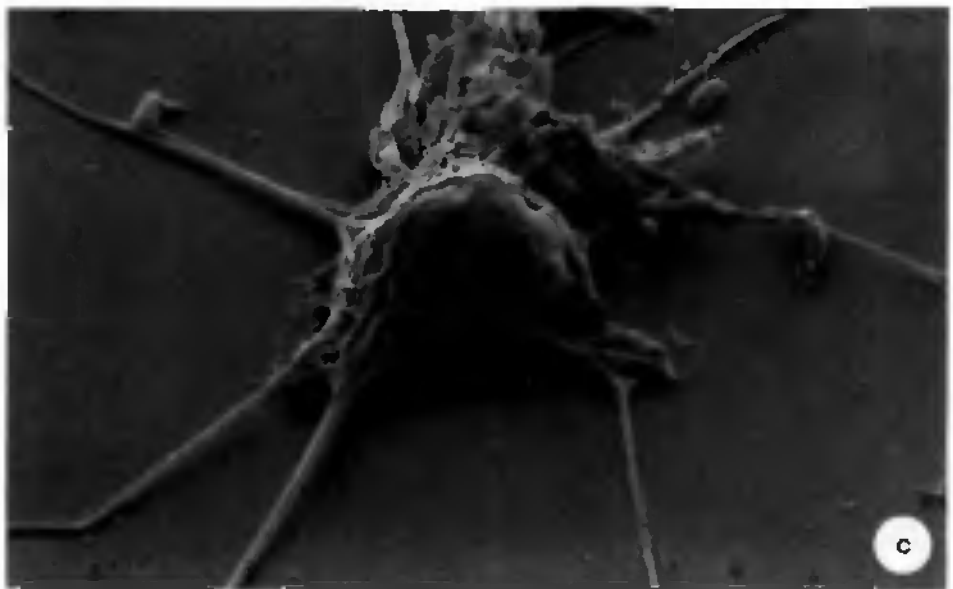
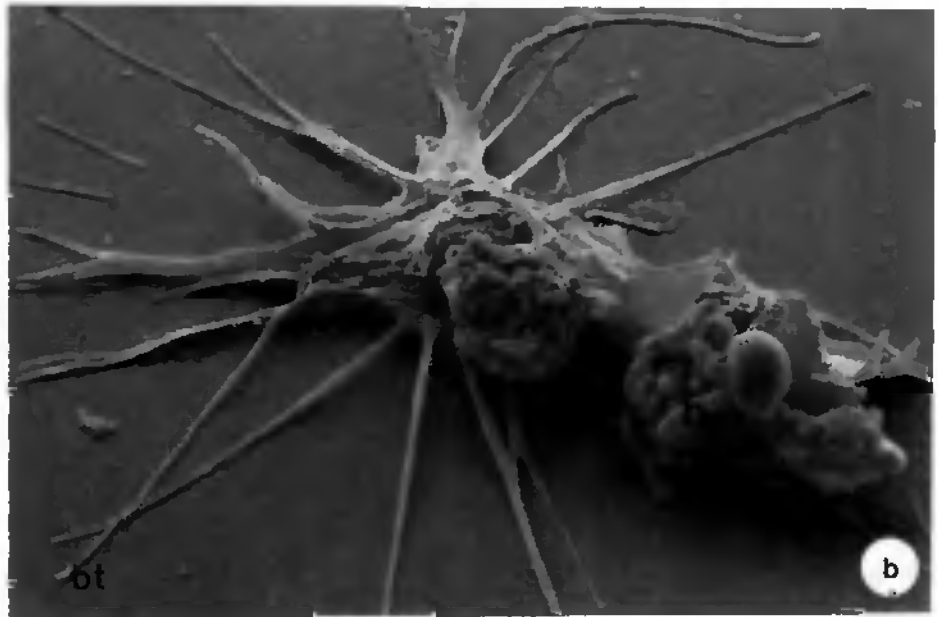
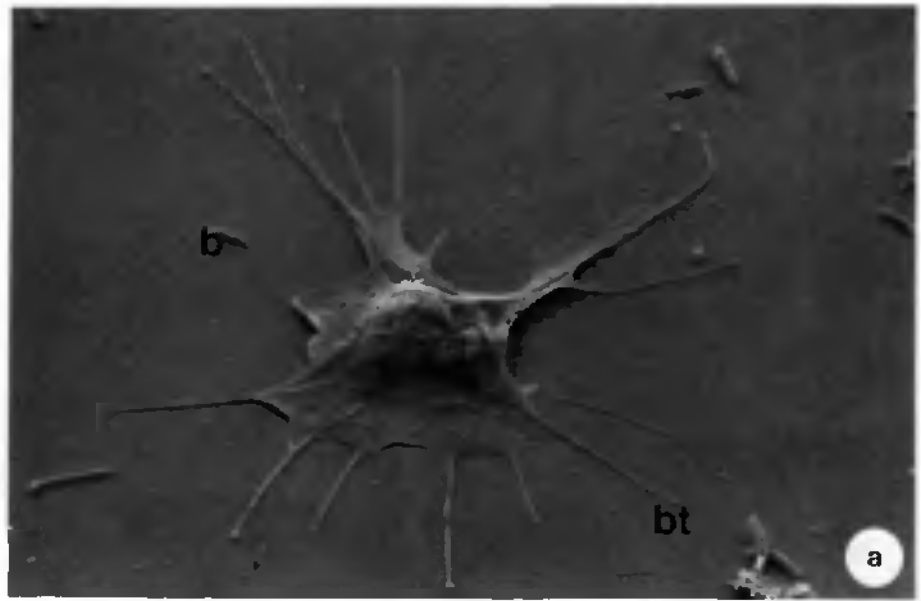


Fig. 22. Hémocyte. Stade 3. La cellule a enveloppé une structure cristalline. MEB.
x 2540

Fig. 23. Hémocyte. Stade 4. MEB.
x 2540

Fig. 24. Contact entre l'ectoplasme (ec) de deux cellules. Les filopodes présentent des boutons terminaux (bt). MEB.
x 12600

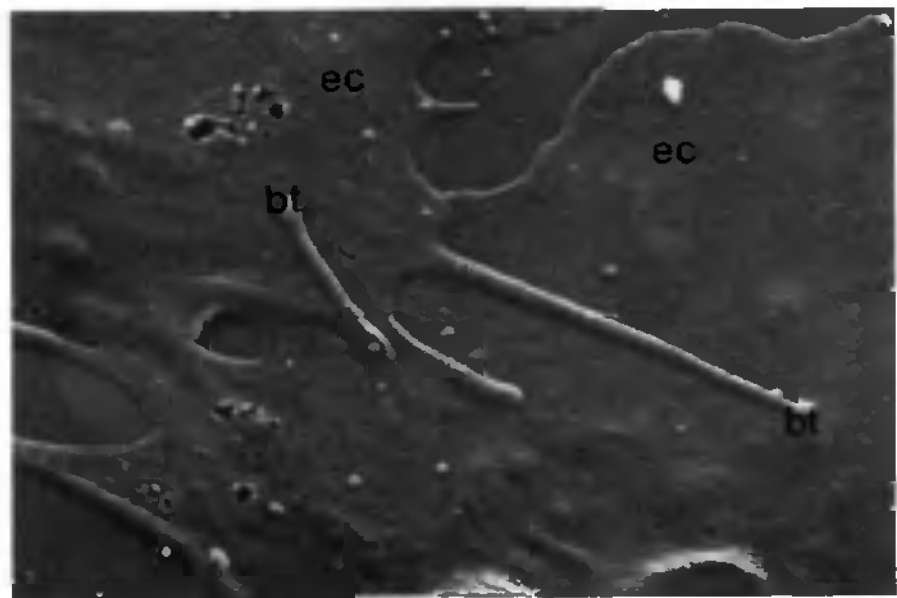


Fig. 25. Hémocyte. Stade 4. Les filopodes s'entrelacent au-dessus de la cellule. MEB.
x 5080

Fig. 26. Hémocyte. Stade 4. Les filopodes (f) s'éloignent de l'endoplasme (ed) et donnent à la cellule un aspect étoilé. MEB.
x 2540

Fig. 27. Hémocyte. Stade 4. Les boursouflures au-dessus de l'endoplasme (ed) sont signe d'une activité phagocytaire. L'ectoplasme (ec) est très mince. MEB.
x 2540

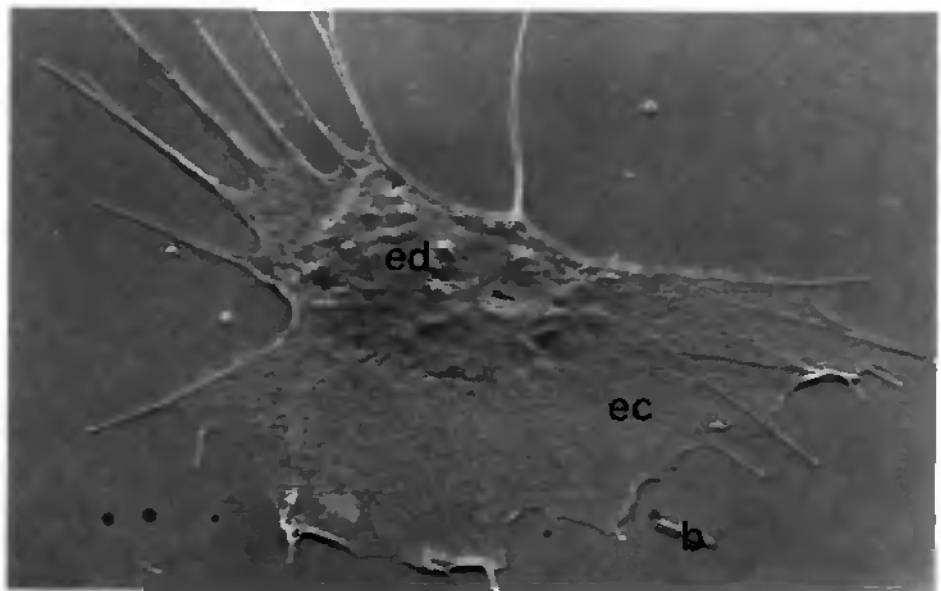
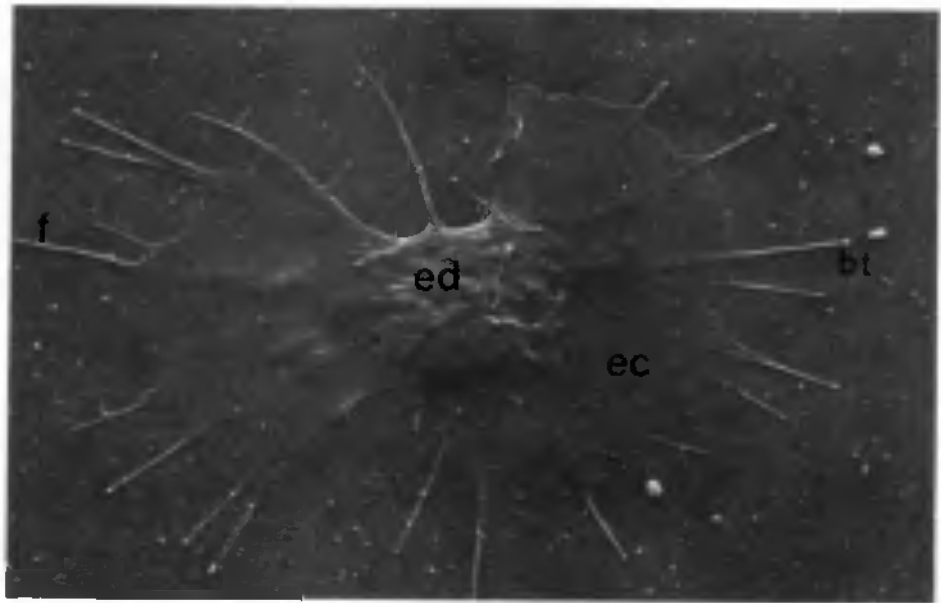


Fig. 28. Hémocyte. Stade 5. La cellule s'est
considérablement allongée. MEB.
x 2540

Fig. 29. Hémocyte. Stade 5. La distinction entre ectoplasme
(ec) et endoplasme (ed) devient difficile.
x 5080

Fig. 30. Hémocyte. Stade 5. Bourrelet en bordure de
l'ectoplasme. MEB.
x 15500

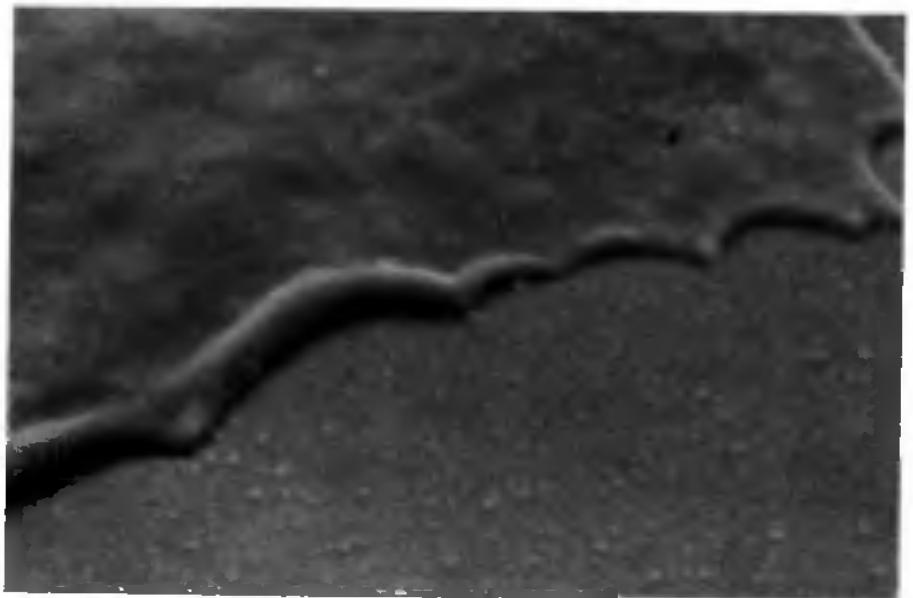
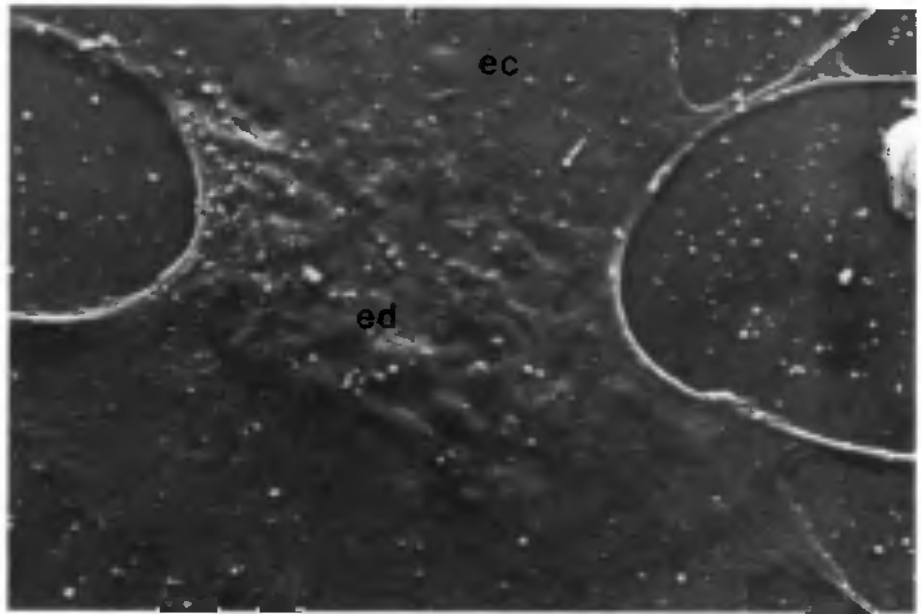
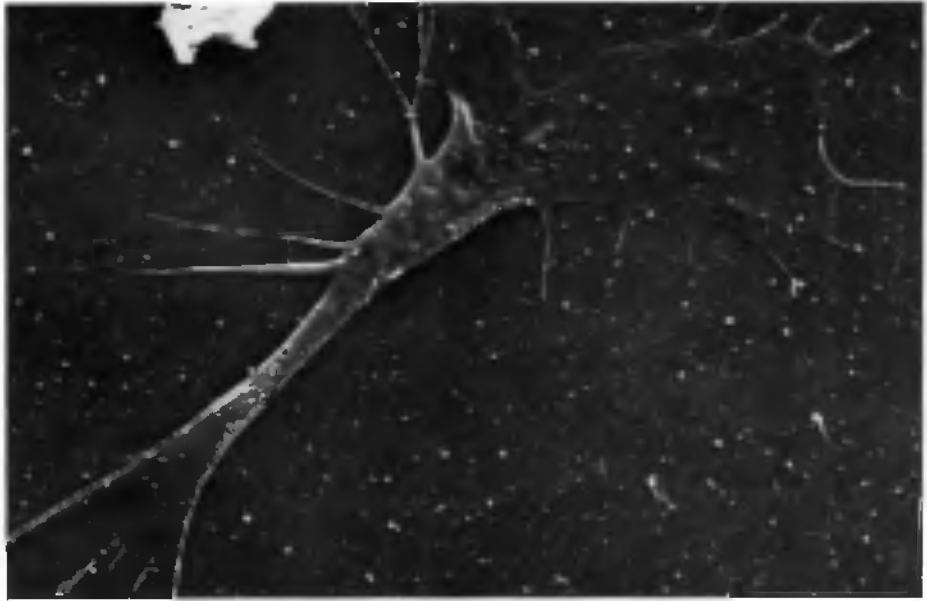


Fig. 31. Association des hémocytes.

- a) Association par les filopodes
x 2540
- b) Association entre ectoplasme et filopodes
x 5080
- c) Association entre l'ectoplasme d'une
cellule (ec1) et l'ectoplasme d'une autre
(ec2). MEB.
x 2540

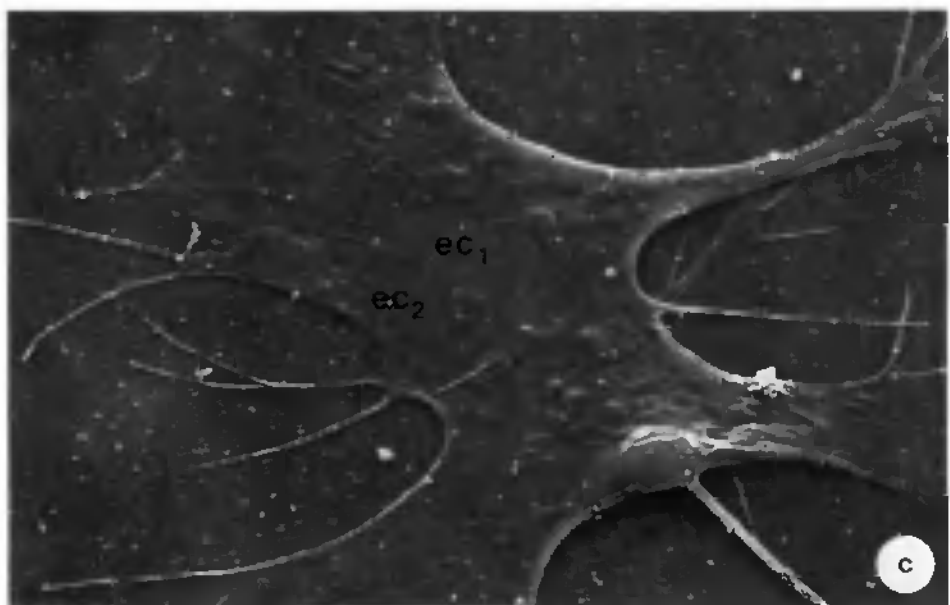
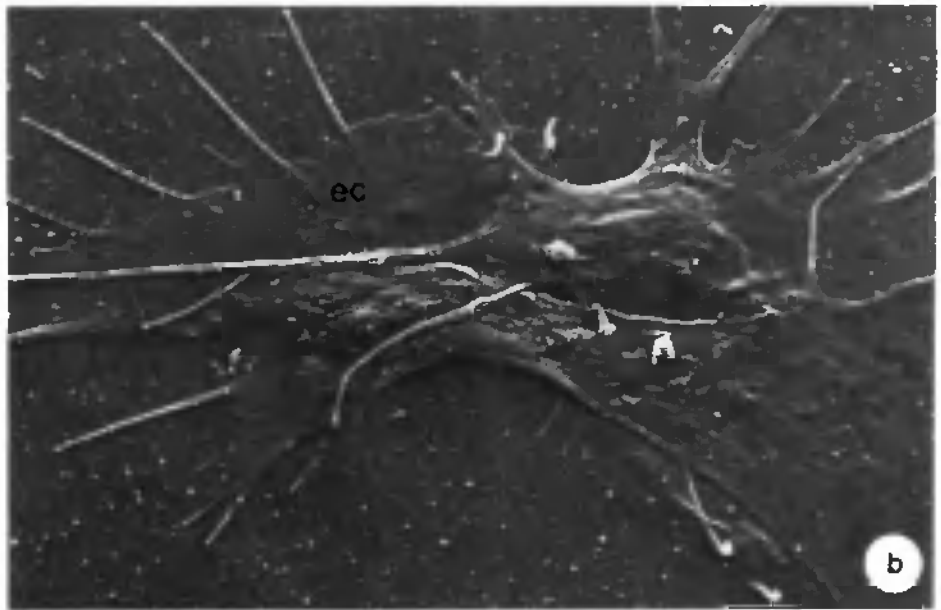
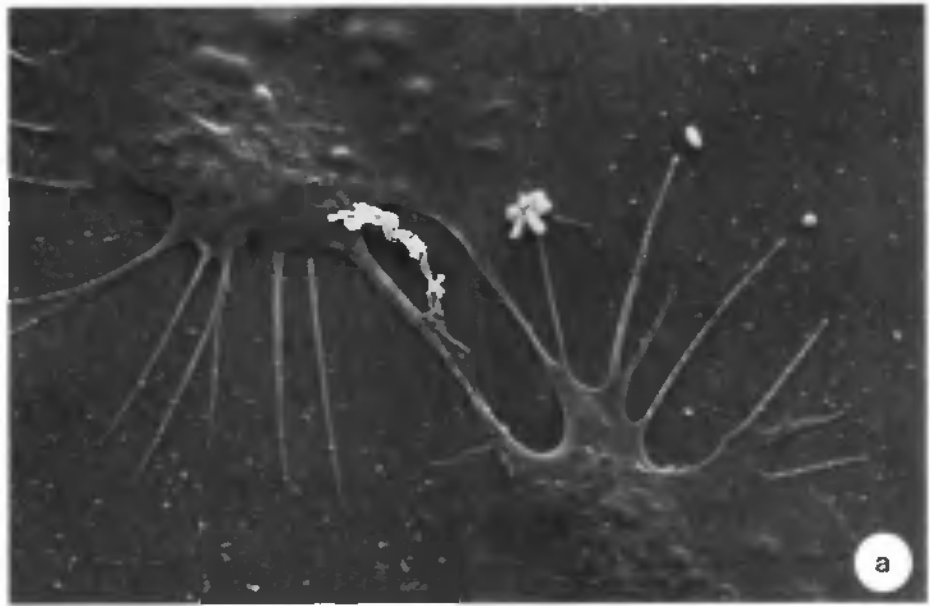
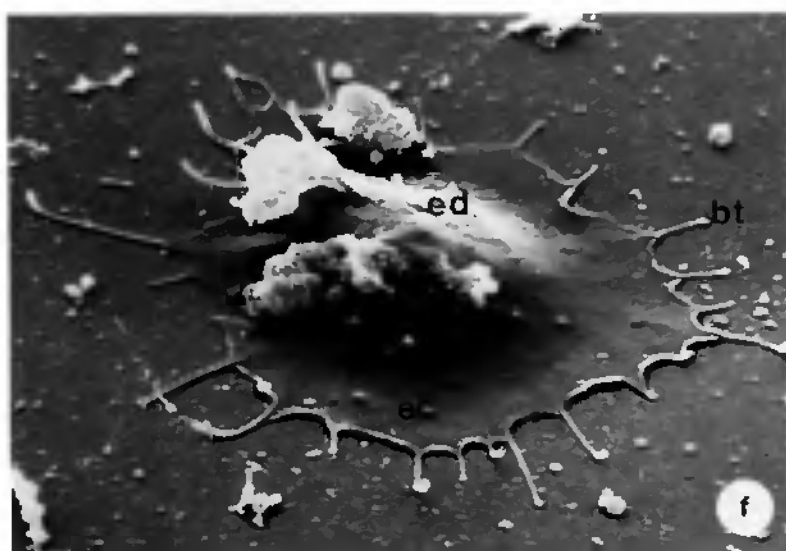
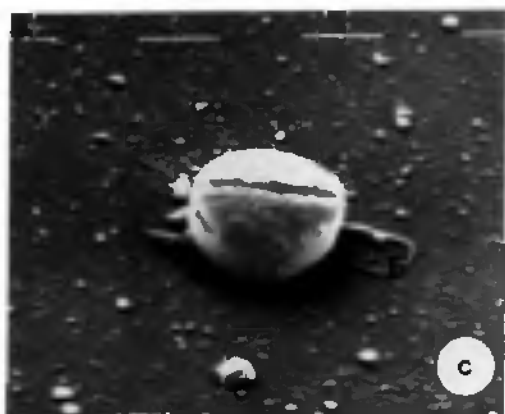
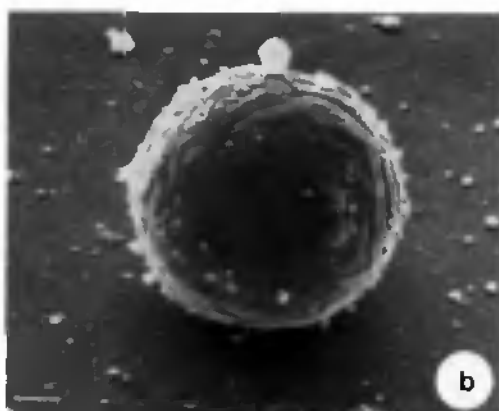


Fig. 32. Hémocytes de O. hupensis. MEB. x 5080

- a) b) Hémocytes arrondis.
- c) d) Emission d'un filopode (f).
- e) Hémocyte en extension. On devine le bouton terminal (bt) des filopodes (f).
- f) Hémocyte étalé. On peut distinguer l'ectoplasme (ec) et l'endoplasme (ed).



Glande digestive de B.glabrata, non greffée

Fig. 33. Vue générale.

On distingue des cellules de type A, B et C avec leur noyau (n). MET.
x 1900

Fig. 34. Détail.

Cellule de type C contenant des grains de sécrétion (gs) et une vacuole (V). MET.
x 10900

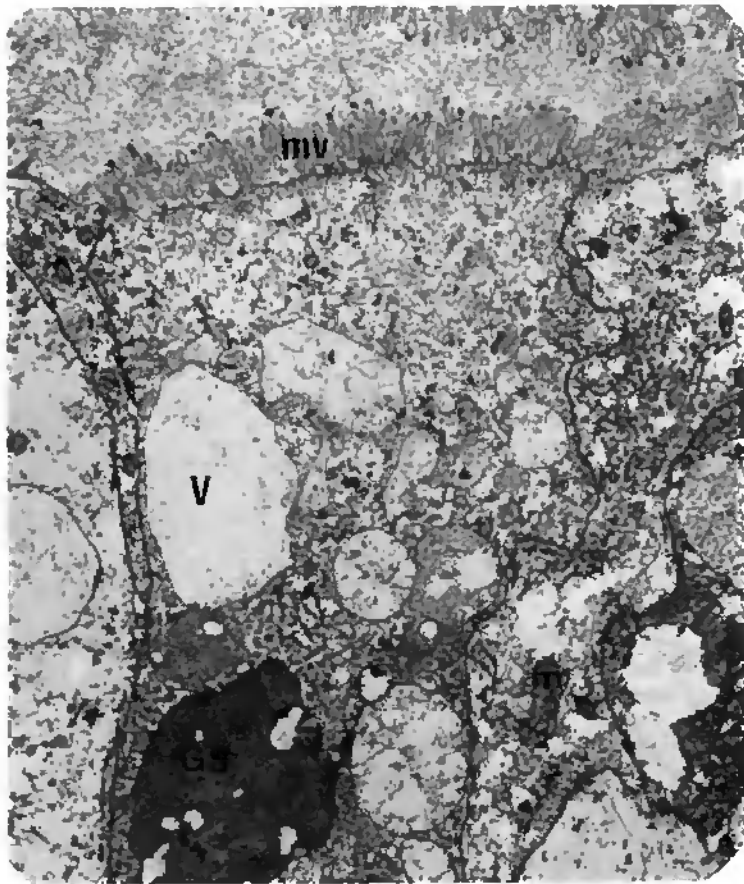
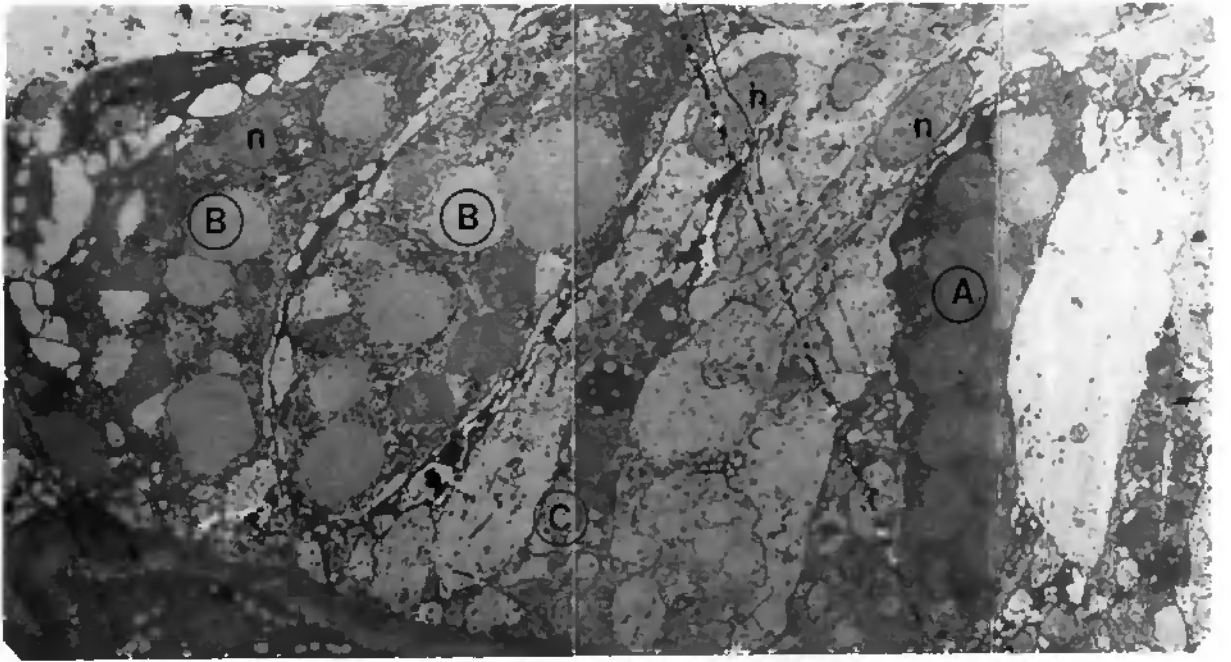


Fig. 35. Glande digestive de B.glabrata parasitée par S. mansoni, non greffée. MEB.

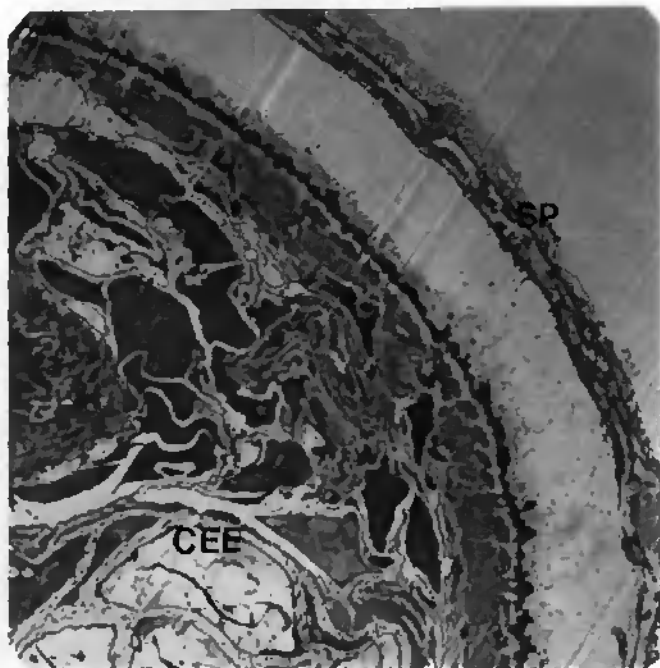
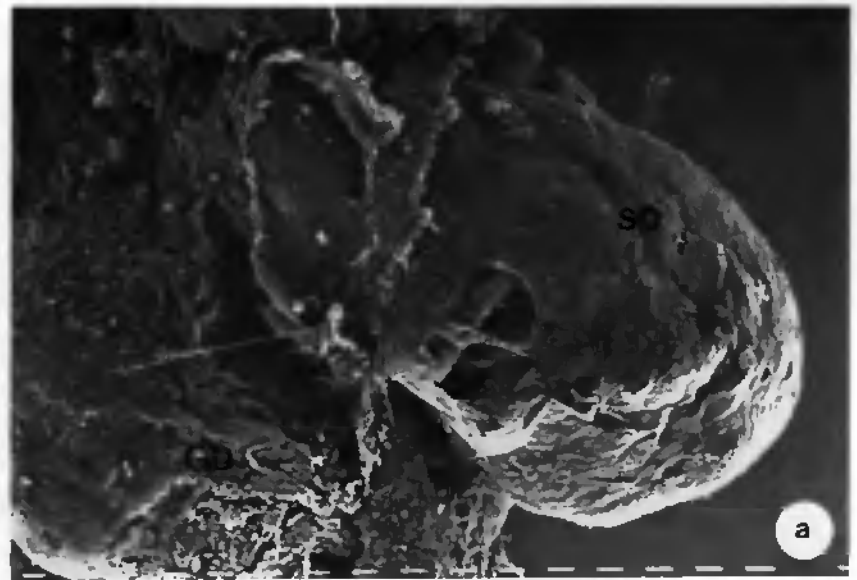
a) Le sporocyste (sp) montre une surface lisse. Sur la gauche du cliché, on voit la glande digestive (gd).

x 2540

b) Détail du tégument du sporocyste (sp) laissant entrevoir une cercaire (ce).

x 8750

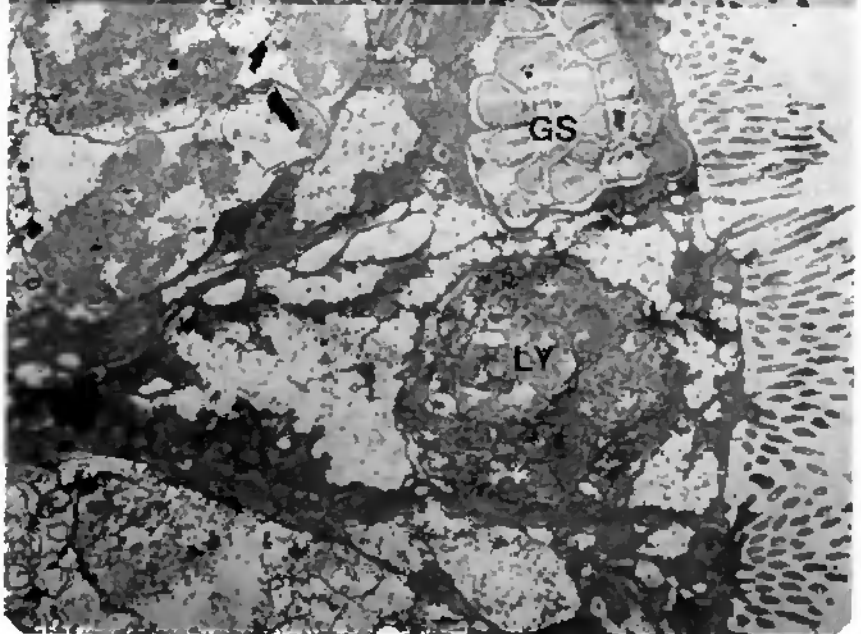
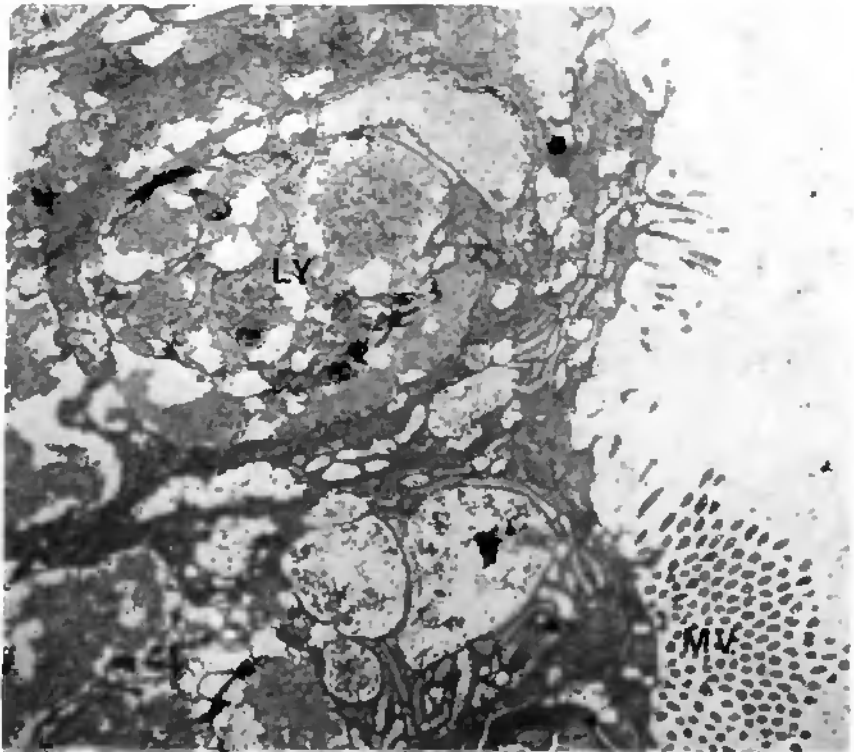
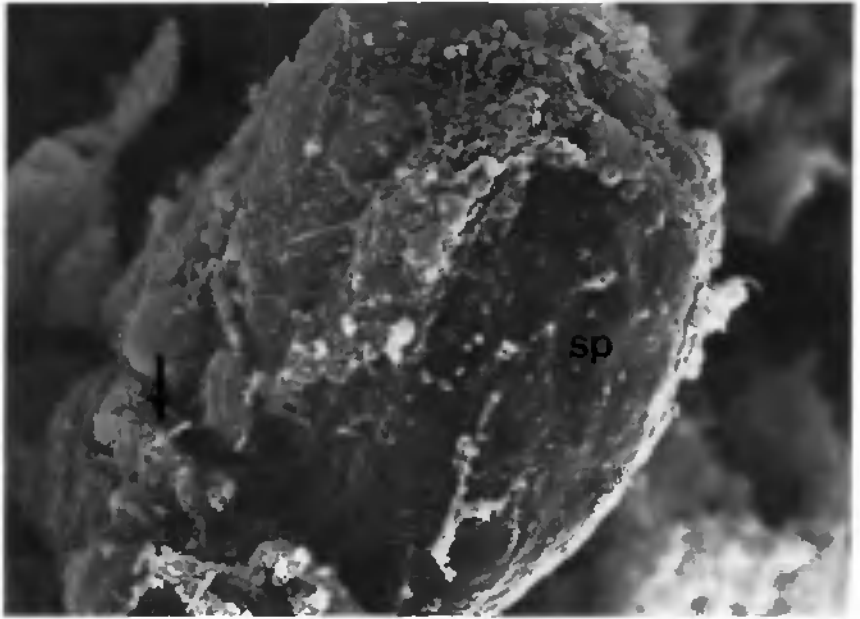
Fig. 36. Sporocyste (sp) de S. mansoni non greffé. Une cercaire embryonnaire (cee) s'y développe. MET.
x 3900



Glande digestive de B. glabrata, parasitée par
S. mansoni. Greffon 2 h

Fig. 37. Vue générale au MEB.
Le sporocyste (sp) apparaît dénudé.
Quelques cellules (▲) s'aplatissent contre la
glande digestive.
x 3050

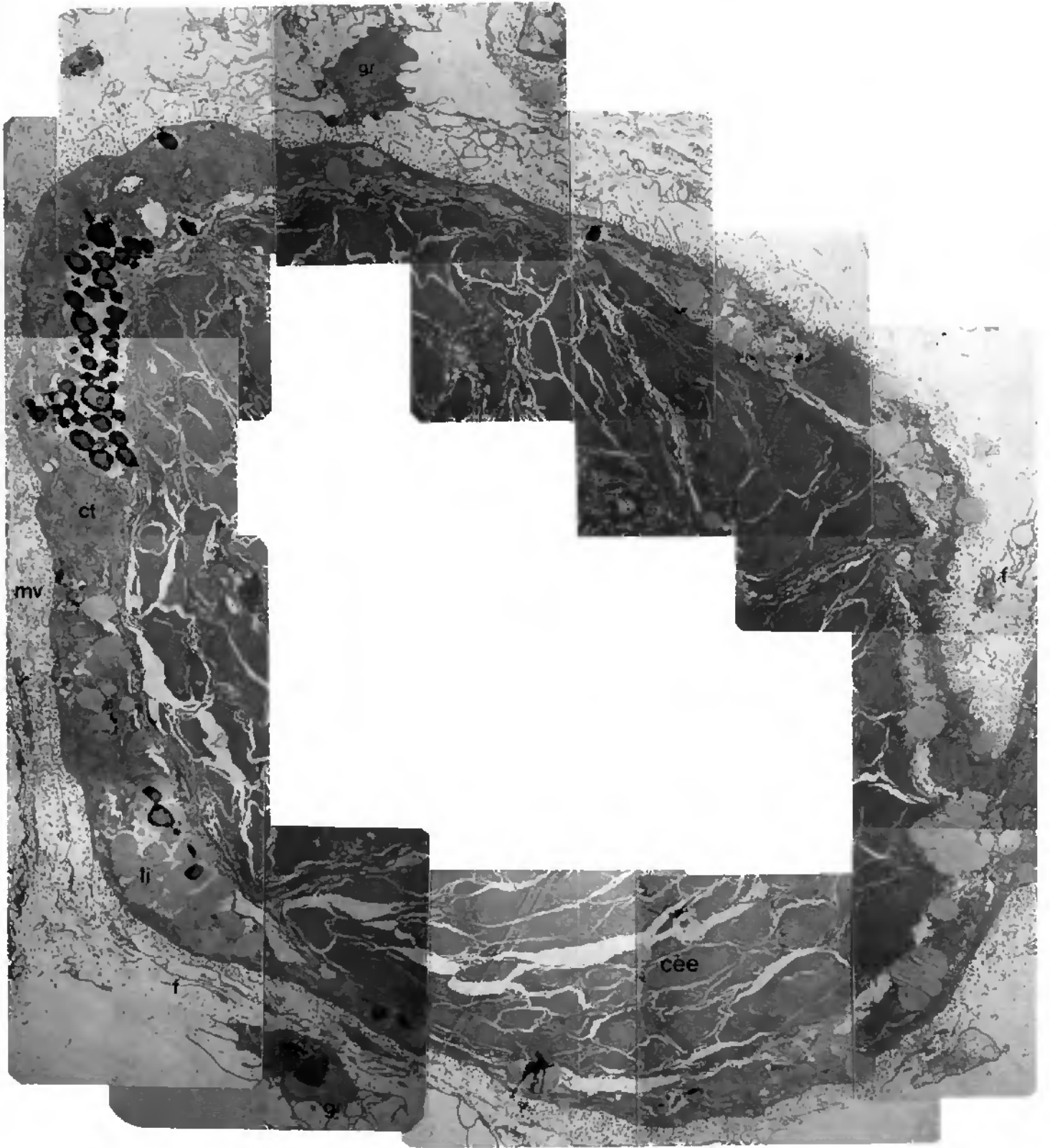
Fig. 38. Composante "glande digestive".
Le tissu paraît sain et on retrouve les
structures habituelles : microvillosités (mv),
grains de sécrétion (gs) et lysosomes (ly).
x 10400



Glande digestive de B. glabrata, parasitée par
S. mansoni. Greffon 2 h

Fig. 39. Composante "parasite".

Le sporocyste est en bon état comme
l'attestent les microvillosités (mv) et les
lipides (li) des cellules tégumentaires (ct) et le
tissu embryonnaire (cee) contenu. Un granulocyte
(gr) projette ses filopodes (f) parallèlement au
greffon. MET.
x 5050

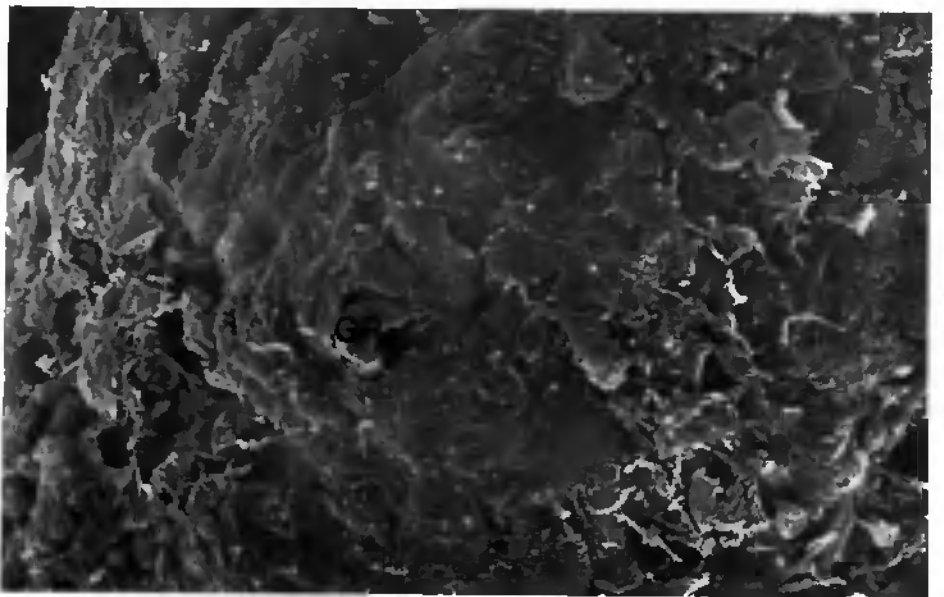
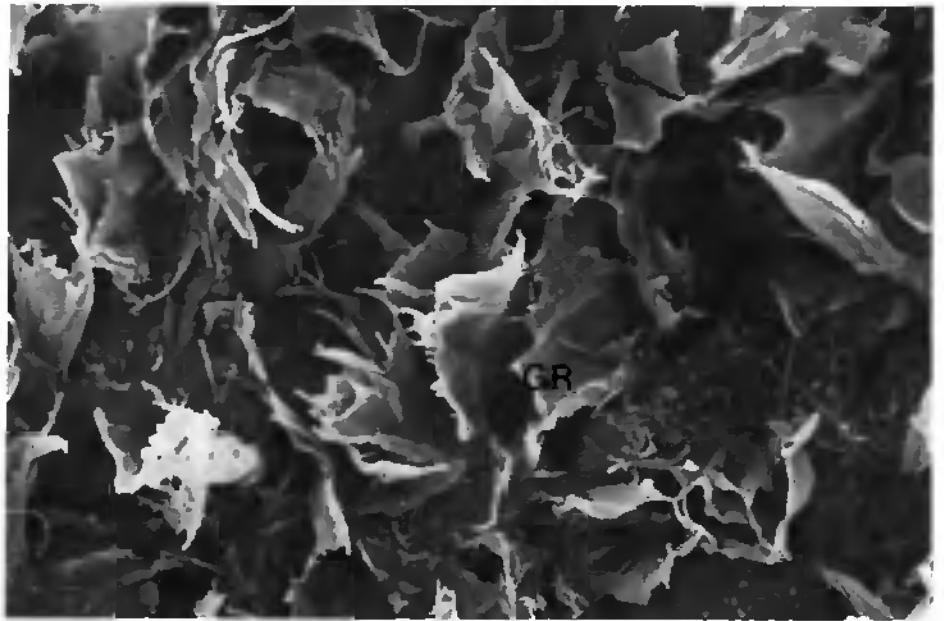
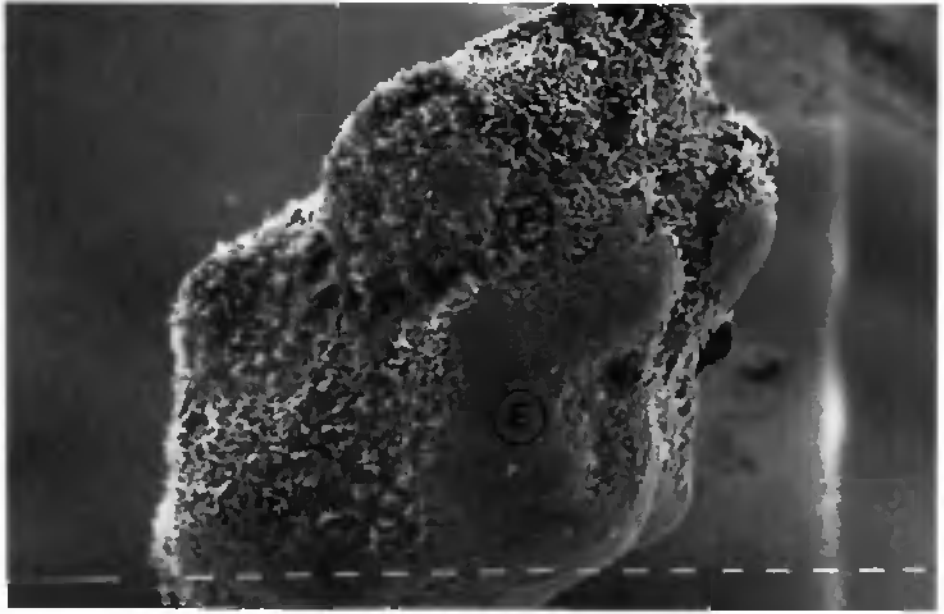


Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 24 h

Fig. 40. Le greffon présente, en surface, des zones P et
des zones E de répartition des hémocytes. MEB.
x 320

Fig. 41. Détail d'une zone P. Les granulocytes (GR) sont
dressés. MEB.
x 2540

Fig. 42. Détail d'une zone E. Les granulocytes (GR) sont
aplatis. MEB.
x 1270

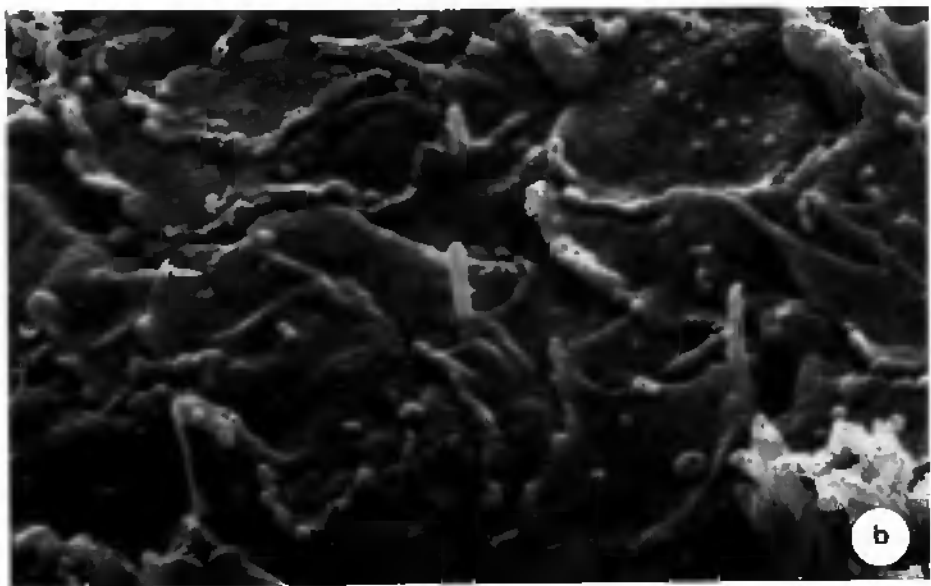
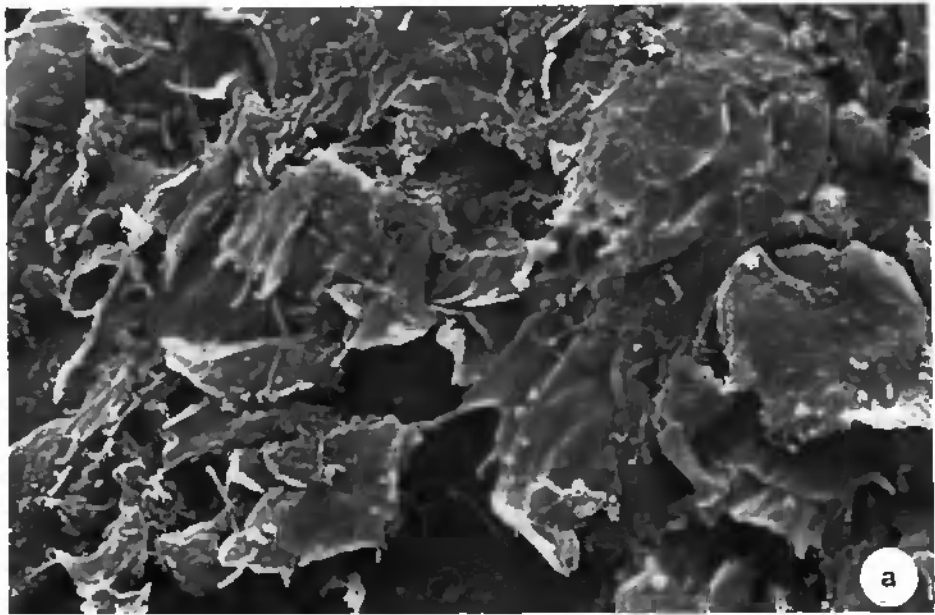
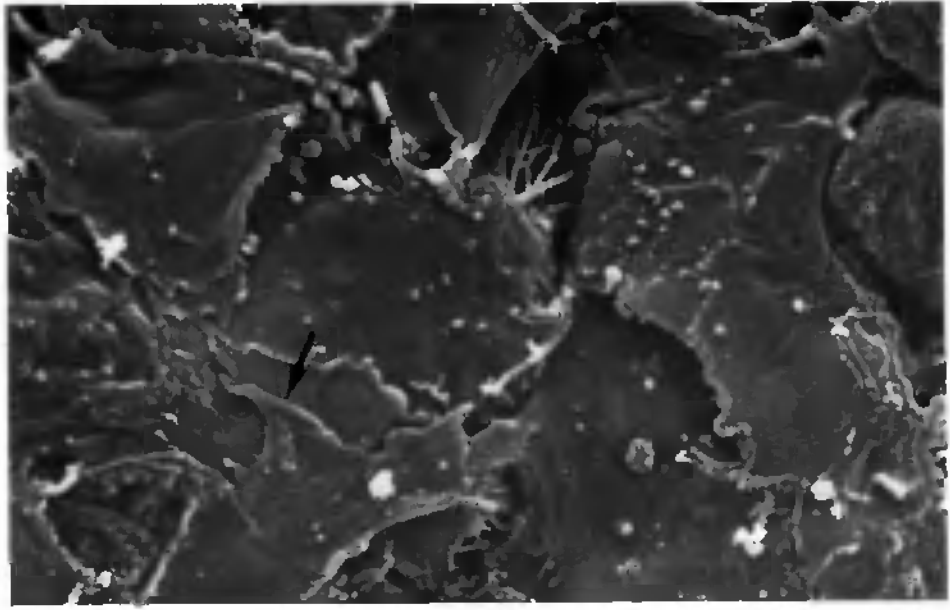


Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 24 h

Fig. 43. Détail. Les filopodes (f) peuvent se ramifier
(↘) ou s'entrecroiser (↙). MEB.
x 5080

Fig. 44. Agencement des hémocytes dans la capsule. MEB.

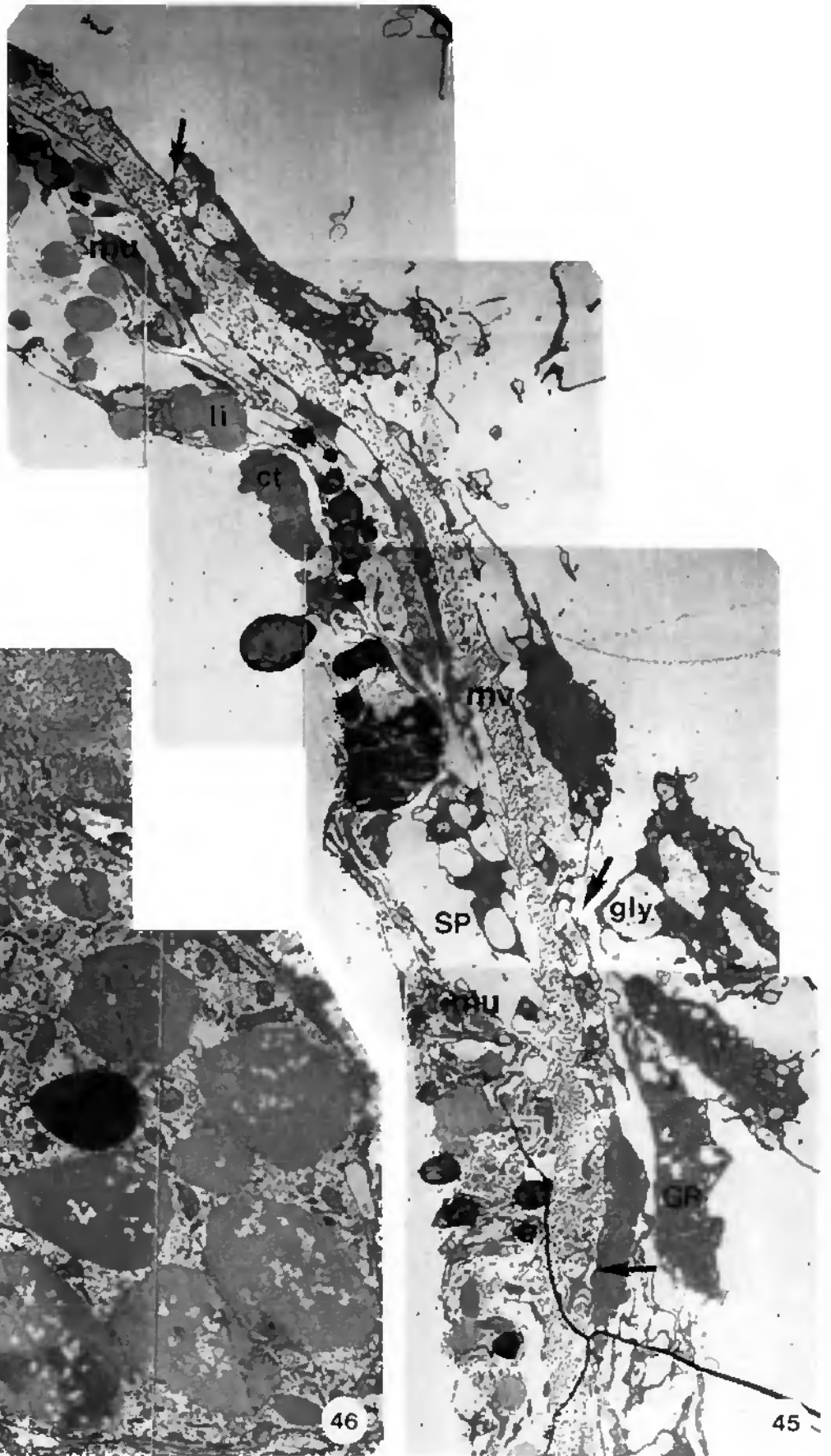
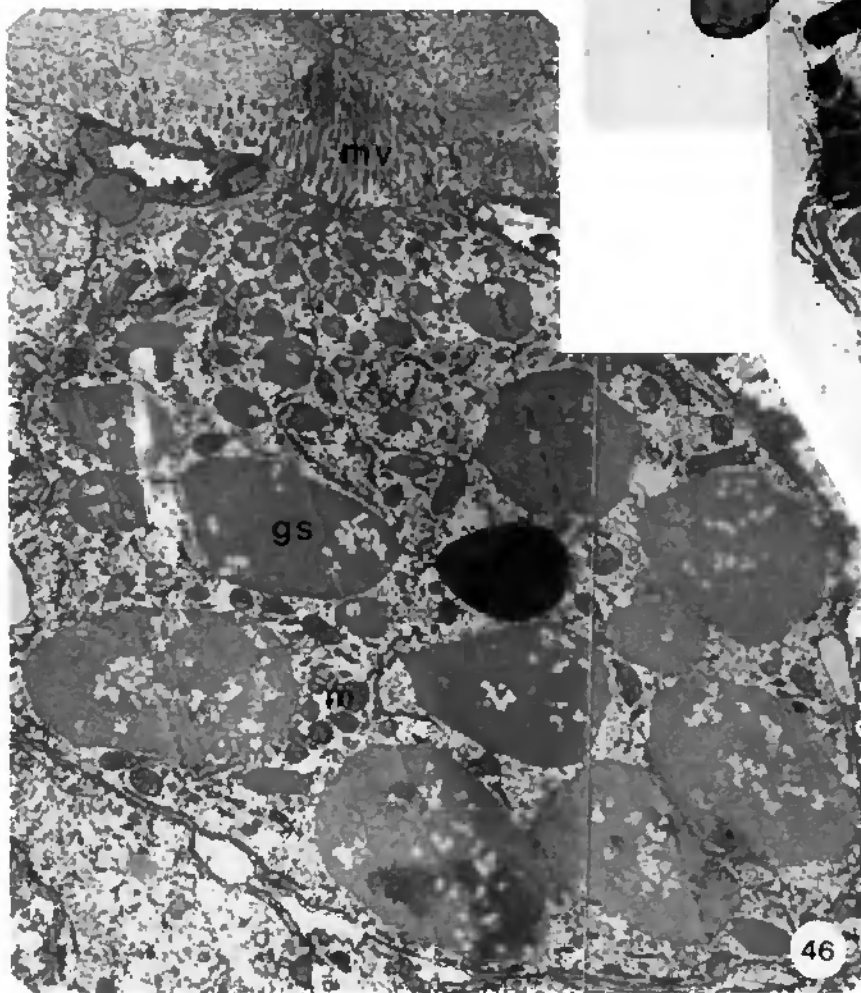
- a) Disposition en "tuiles".
x 2540
- b) Détail.
x 10170



Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 24 h

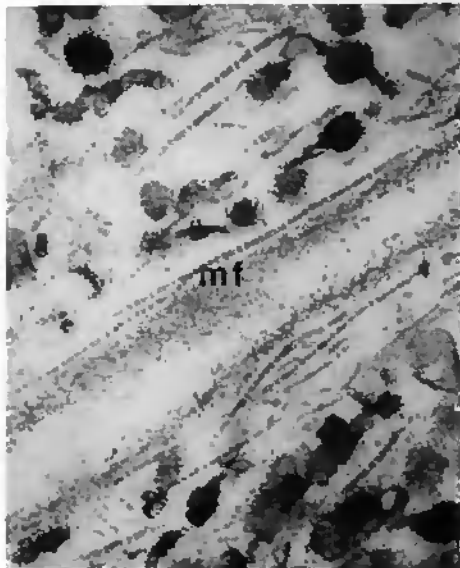
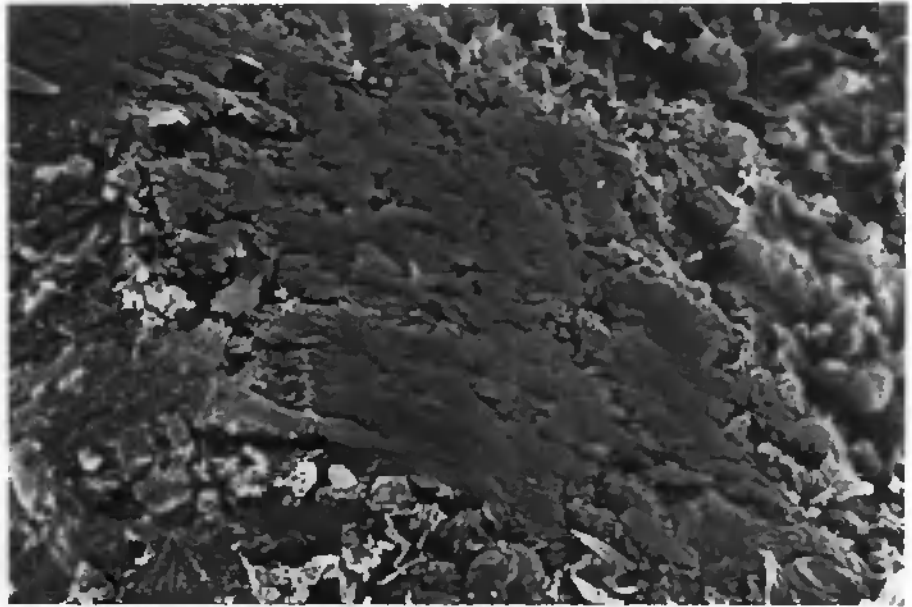
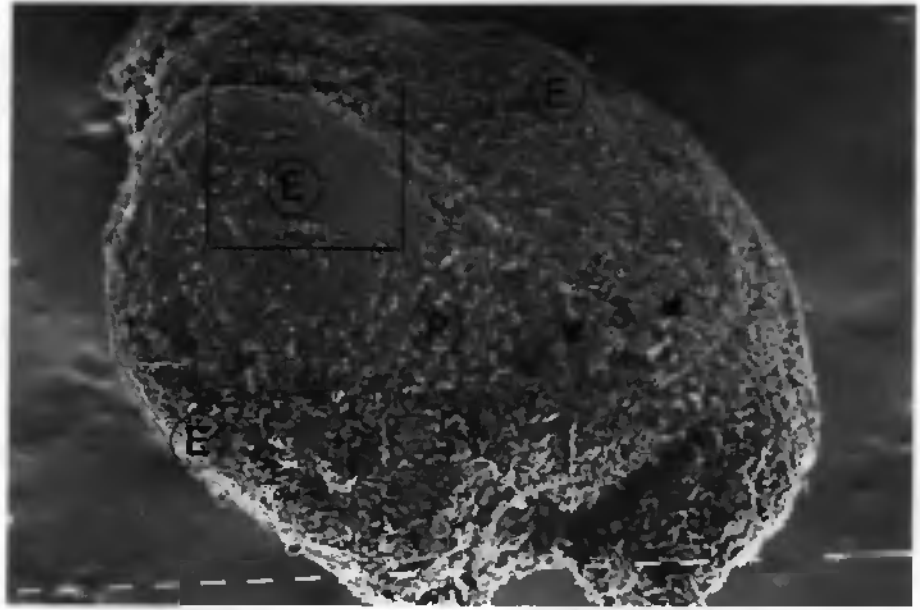
Fig. 45. Accumulation lâche de granulocytes (GR) sur les microvillosités (mv) du sporocyste (SP) dont on voit les muscles (mu) et les cellules tégumentaires (ct) et leur réserves lipidiques (li). Les granulocytes englobent les microvillosités en plusieurs endroits (↙) et ont déjà des réserves de glycogène (gly). MET.
x 5050

Fig. 46. Détail d'une cellule de type B contenant des grains de sécrétion (gs) et des mitochondries (m).
MET.
x 7750



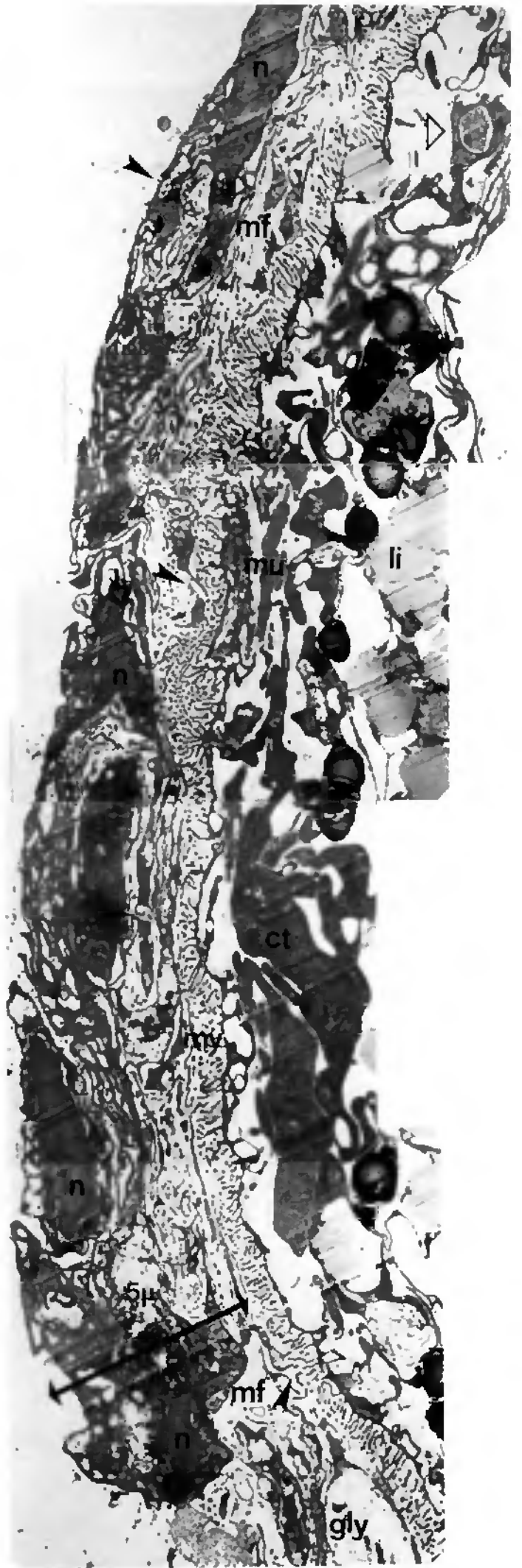
Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 48 h

- Fig. 47. Vue générale au MEB.
On distingue des zones E et des zones P à la
surface du greffon. Les zones P apparaissent aux
endroits incurvés (▲).
x 320
- Fig. 48. Détail d'une zone E. MEB.
x 1270
- Fig. 49. Matériel fibrillaire interstitiel (mf). MET.
x 54700
- Fig. 50. Détail de l'englobement de matériel par les
filopodes des granulocytes (f) qui montrent
un lysosome secondaire (ly) et du glycogène (gly).
MET.
x 24500



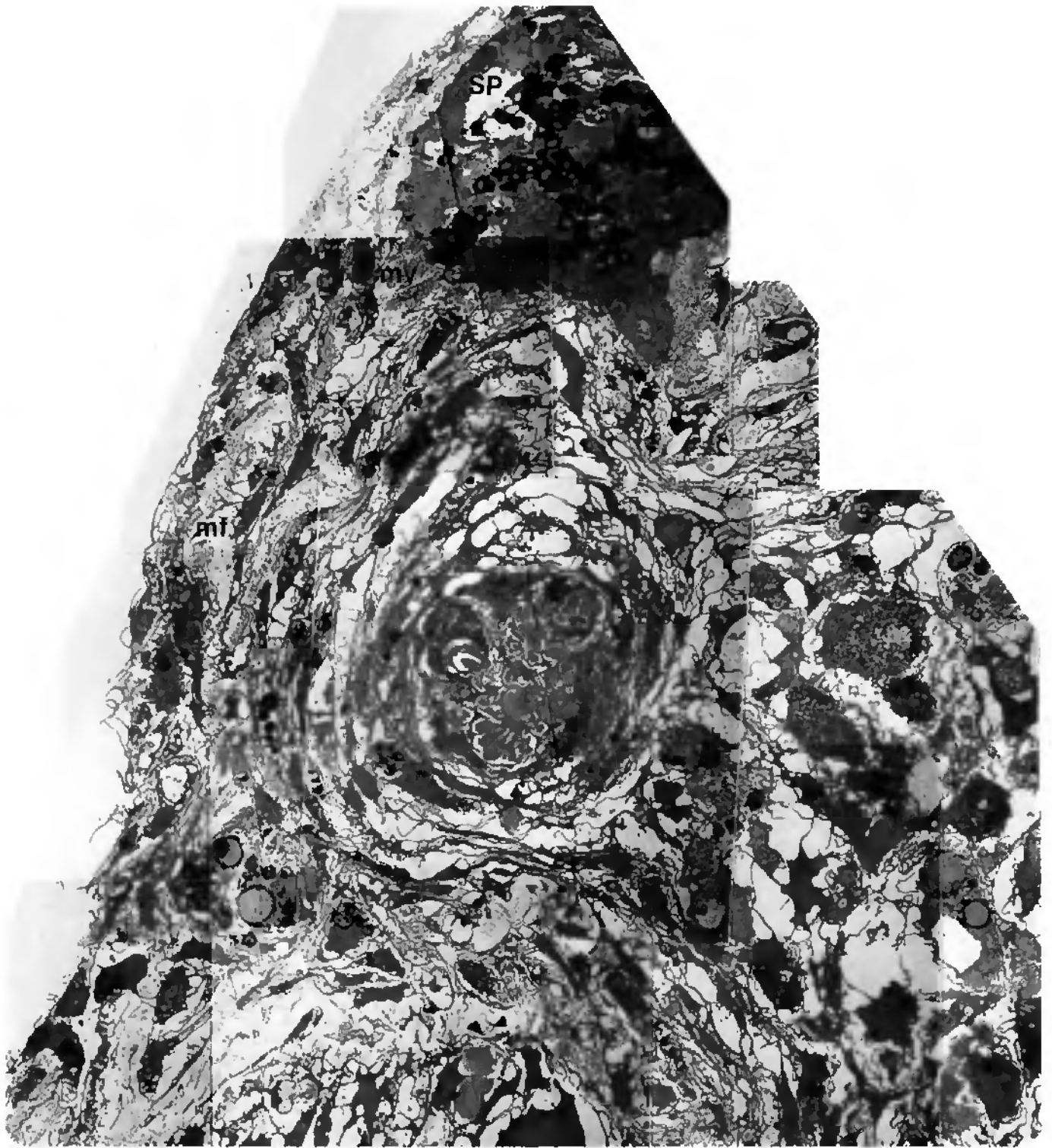
Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 48 h

Fig. 51. Composante "parasite"
Malgré une capsule dense de granulocytes à intense
activité phagocytaire (▲), le sporocyste semble
en parfait état. On note une protonéphridie (◁).
MET.
x 7020



Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 48 h

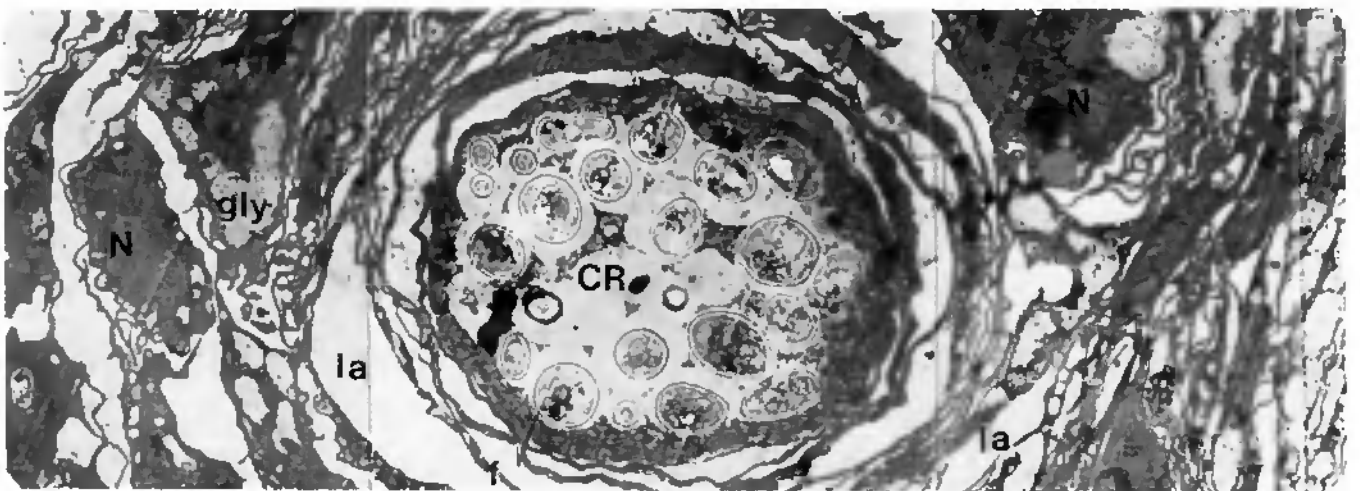
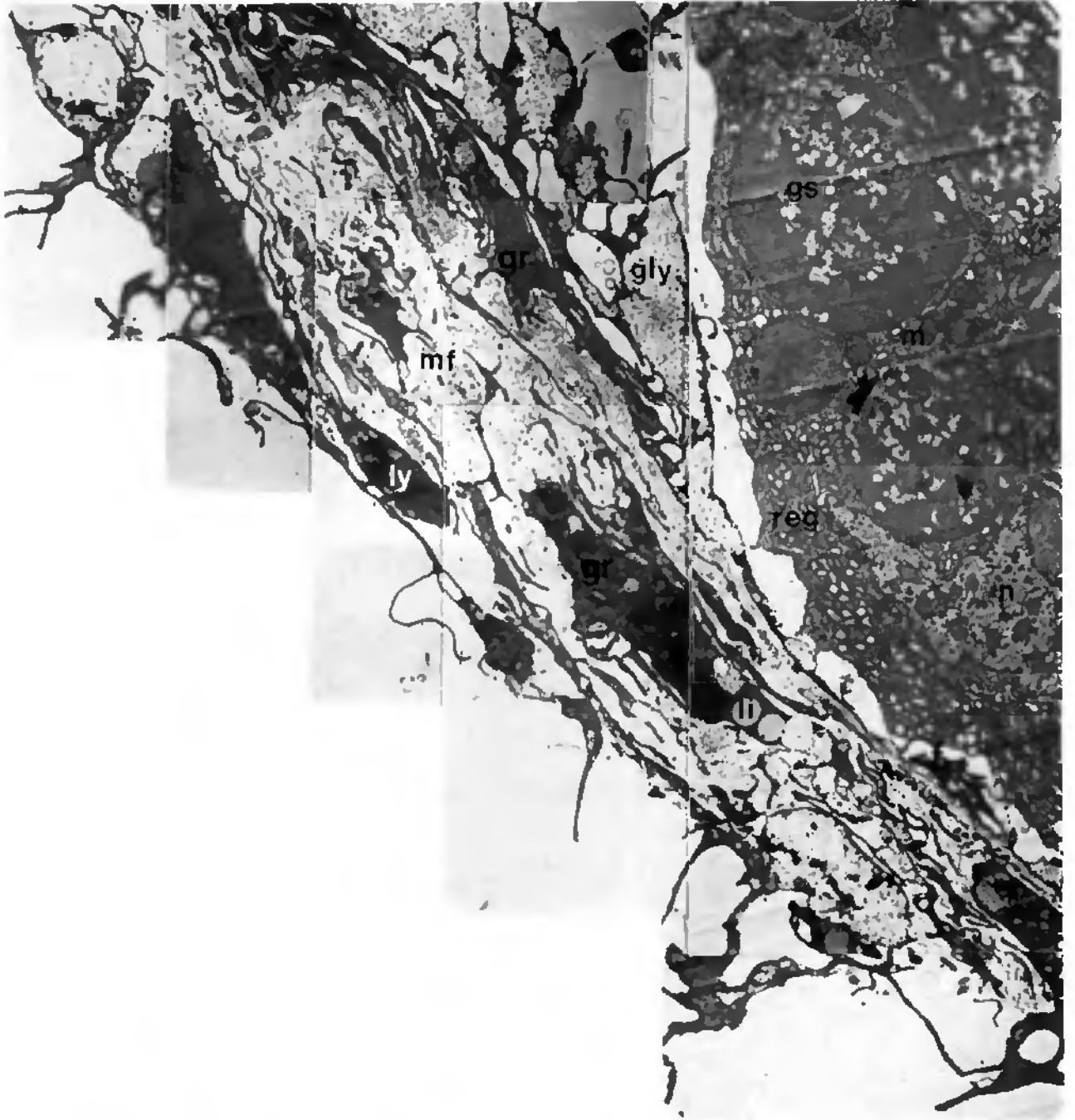
Fig. 53. Composante "glande digestive"
Formation granulomateuse avec du matériel
fibrillaire (mf) au sein de la glande digestive.
Le sporocyste (SP) est en bon état. MET.
x 1700



Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 48 h

Fig. 54. Composante "glande digestive"
Capsule avec matériel fibrillaire (mf) au-dessus
de la glande digestive. Les granulocytes (gr) ont
des réserves glycogéniques importantes (gly). MET.
x 7020

Fig. 55. Composante "glande digestive"
Détail d'un granulome. Des corps résiduels (CR)
occupent le centre de la réaction. Des lacunes
(la) font leur apparition. MET.
x 5050

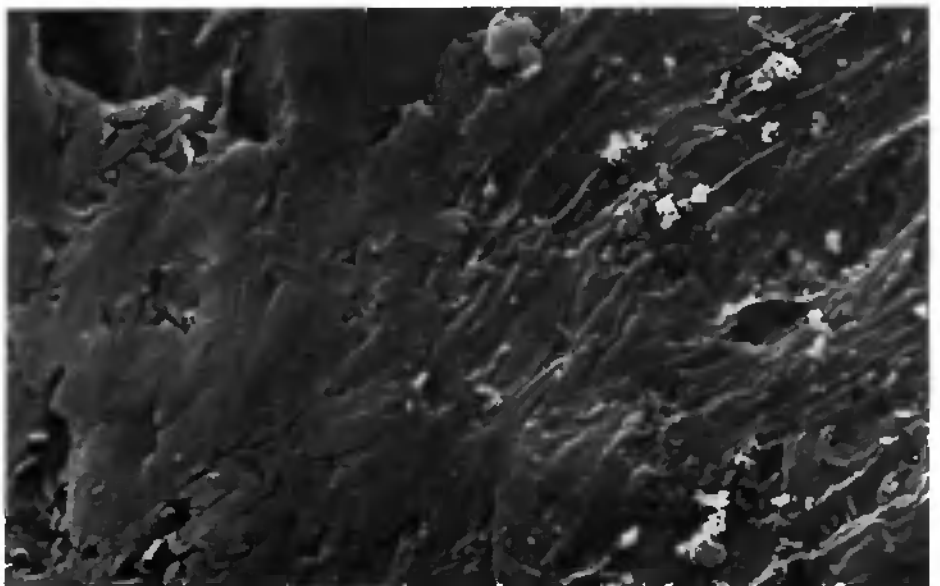
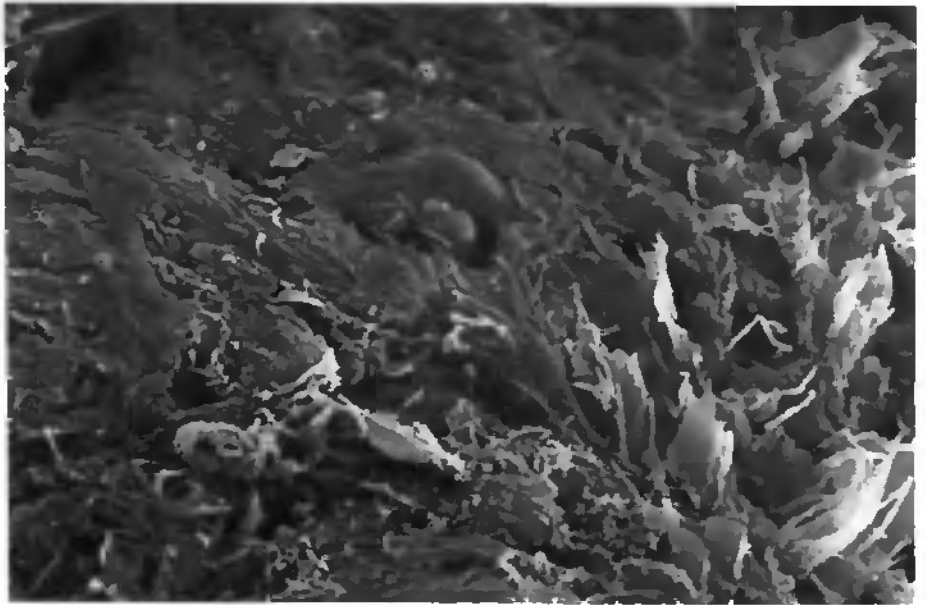
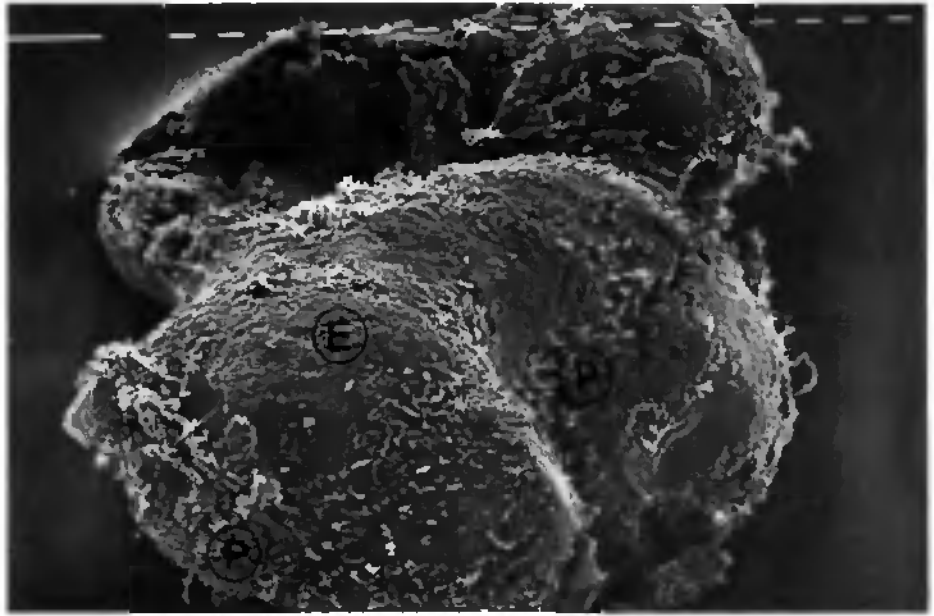


Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 7 j

Fig. 56. Les zones E sont de plus en plus nombreuses à
la surface du greffon. MEB.
x 320

Fig. 57. Détail de la transition entre une zone E et une
zone P. MEB.
x 2540

Fig. 58. Détail d'une zone E. On note le parallélisme
des filopodes. MEB.
x5080



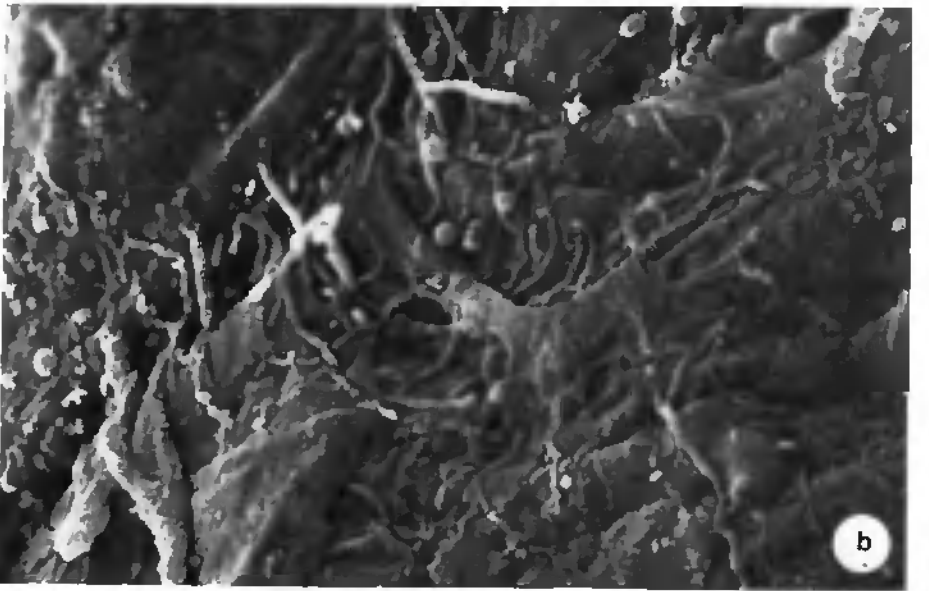
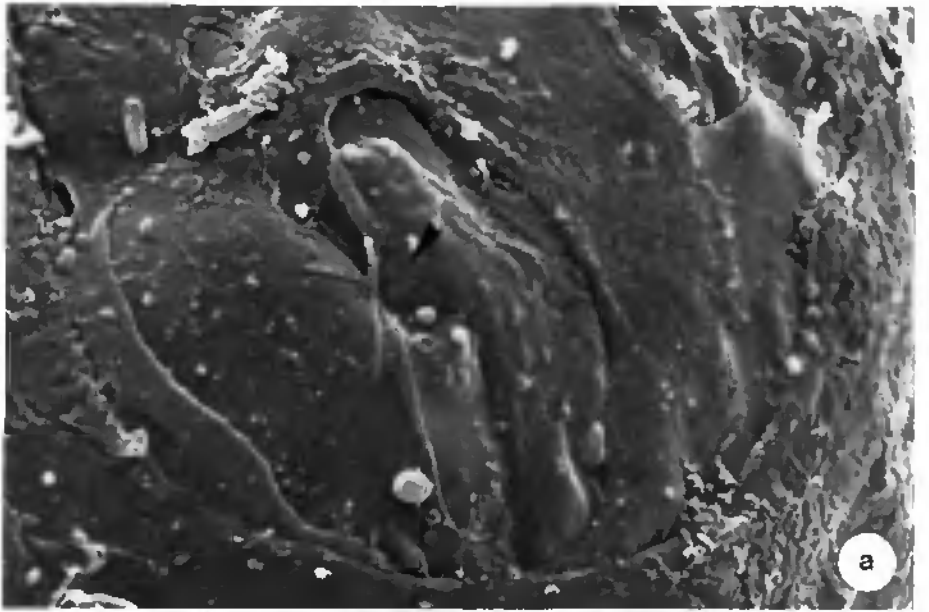
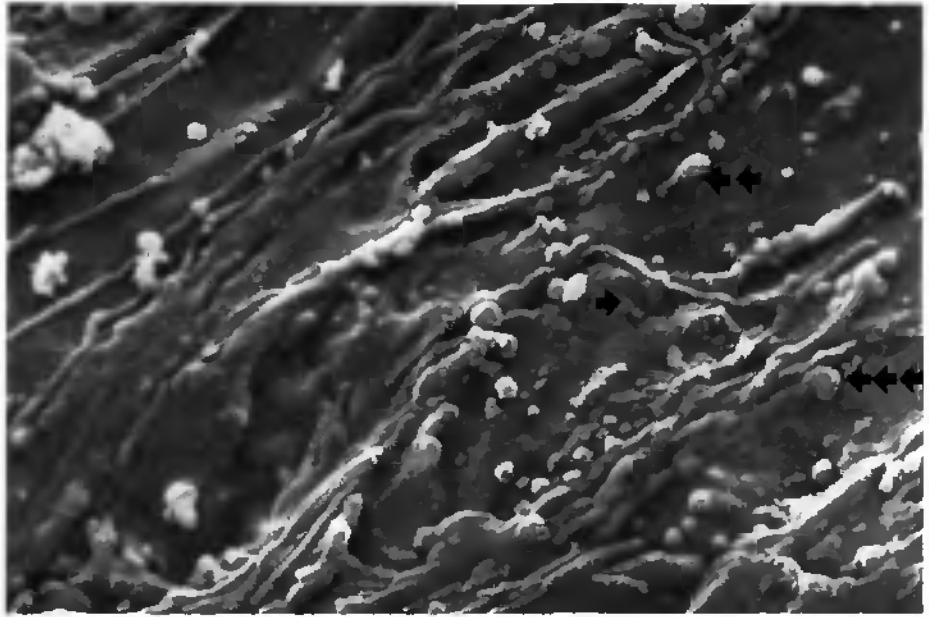
Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 7 j: MEB.

Fig. 59. Détail de l'évolution d'une cloque (◄) en
pseudopode élargi (◄◄) puis en pseudopode plus
mince (◄◄◄).
x 10170

Fig. 60. Agencement superficiel de la capsule.

a) Les différentes couches sont visibles. Les
filopodes s'entrecroisent.(▲)
x 5080

b) Détail des ramifications des filopodes.
x 10170

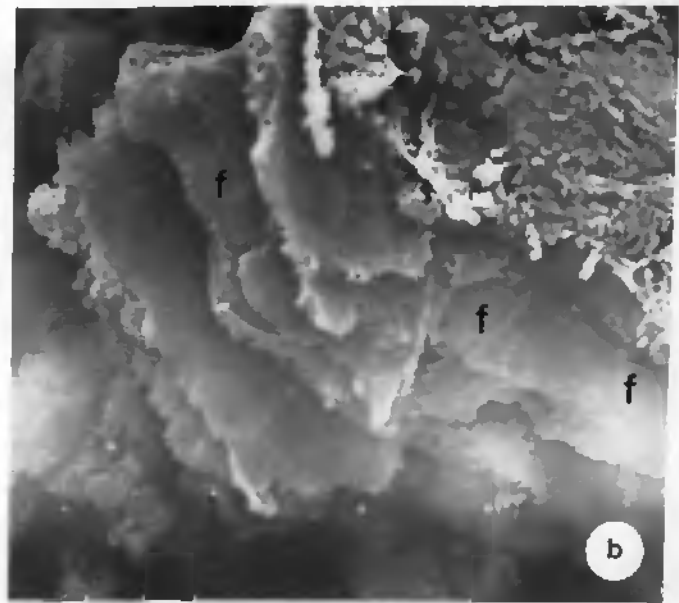
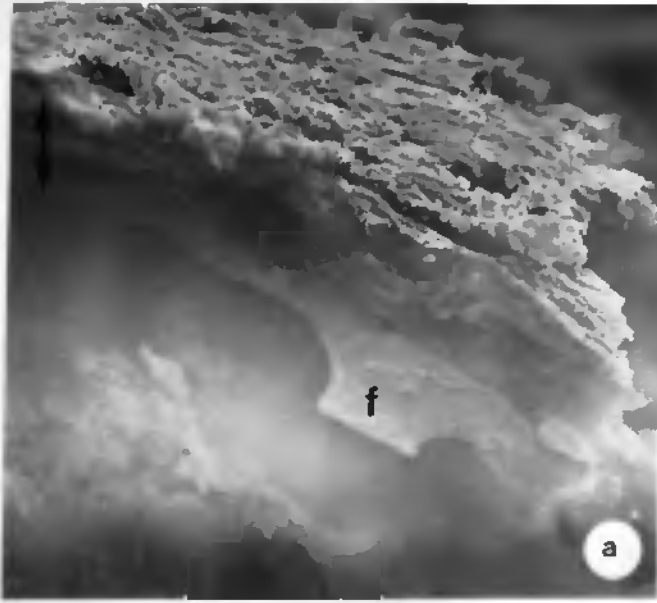


Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 7 j

Fig. 61. Cryofracture des greffons. Les couches de la capsule sont visibles ainsi que les filopodes (f) des granulocytes.

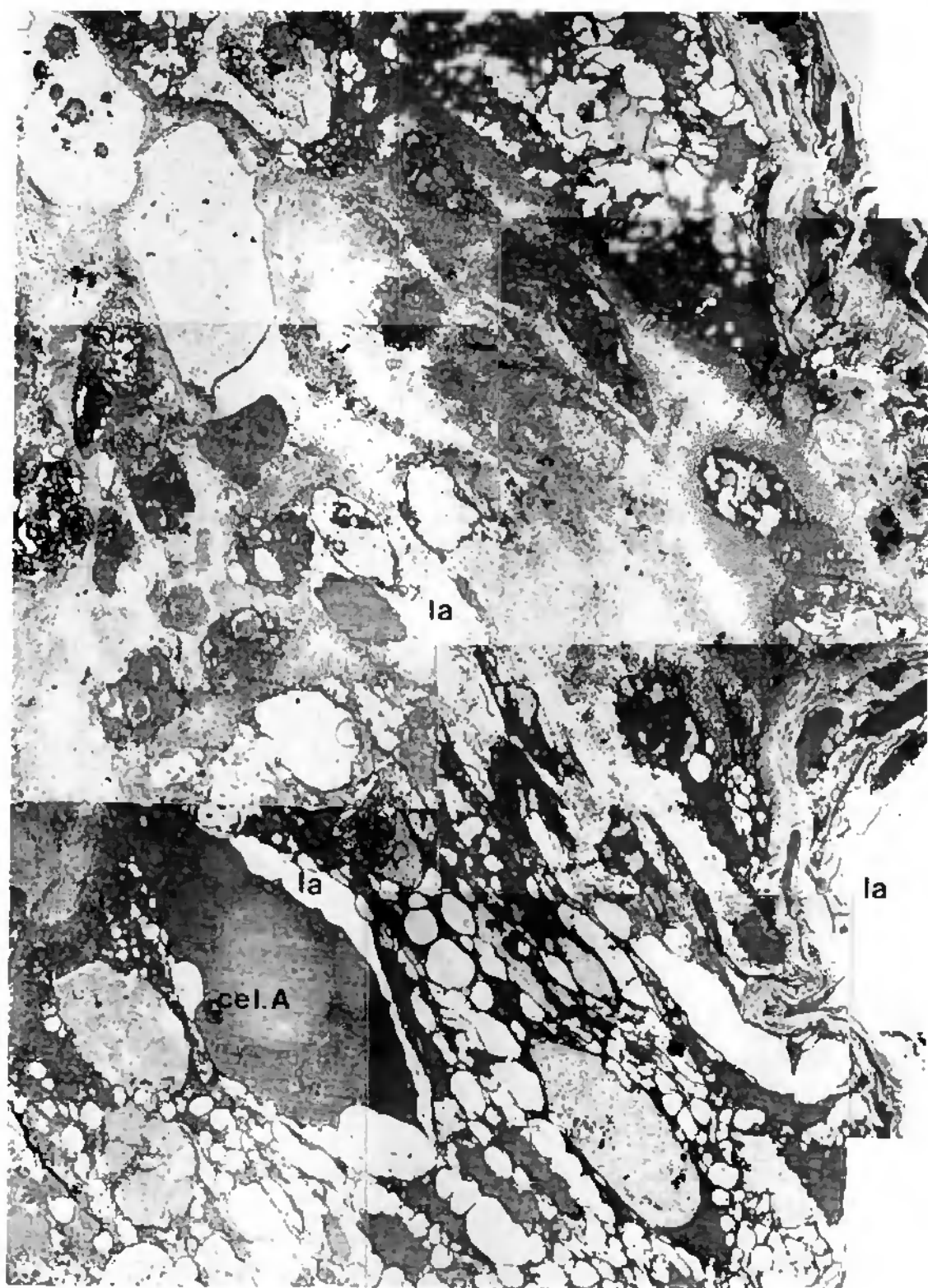
a) et b) x 5080

Fig. 62. Composante "parasite"
Le sporocyste est en bon état et contient une cercaire dont les épines sont bien visibles (▲) et encart (x 38300).
x 2750



Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 7 j. MET.

Fig. 63. Composante "glande digestive"
Le tissu glandulaire montre des lacunes (la) et
est désorganisé même s'il reste quelques cellules
reconnaissables (cel.A = cellule de type A).
x 2500



Glande digestive de B. glabrata parasitée par
S. mansoni. Greffon 7 j. MET.

Fig. 64. Composante "glande digestive"

La capsule au-dessus du tissu digestif est très importante. Entre la glande en destruction et les hémocytes, on trouve du matériel fibrillaire (mf). On peut observer des grains de sécrétion (gs) et des granules plus denses (gd) au sein de la glande pourtant lacuneuse (la).
x 5050



Fig. 65. Hyalinocytes (HY) entourés par les filopodes (f) des granulocytes. Du matériel fibrillaire (mf) est noté. MET.
x 11500

Fig. 66. Contact entre hyalinocytes et granulocytes. MET.

a) Long contact (↙) entre le hyalinocyte dont on voit le noyau (n) et des mitochondries (m), et le filopode (f) d'un granulocyte.
x 10950

b) Détail du contact.
mp = membrane plasmique du hyalinocyte.
x 26900

Fig. 67. Couche externe d'une capsule avec l'association entre granulocytes et hyalinocytes (HY). MET.
x 7750

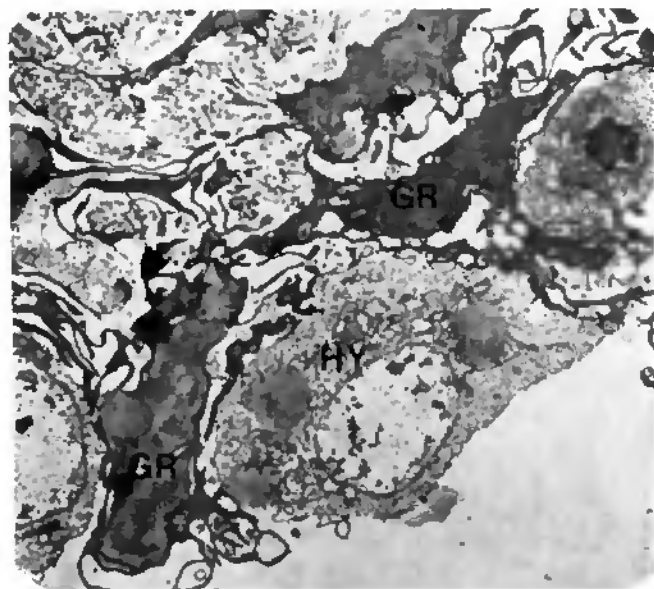
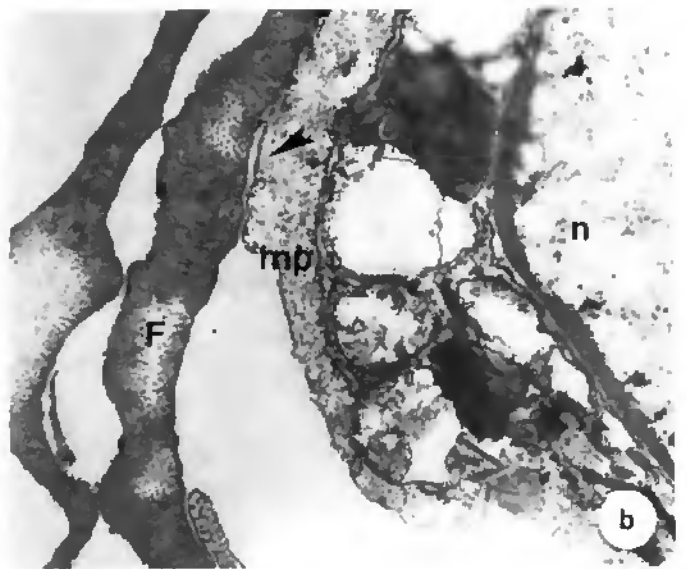
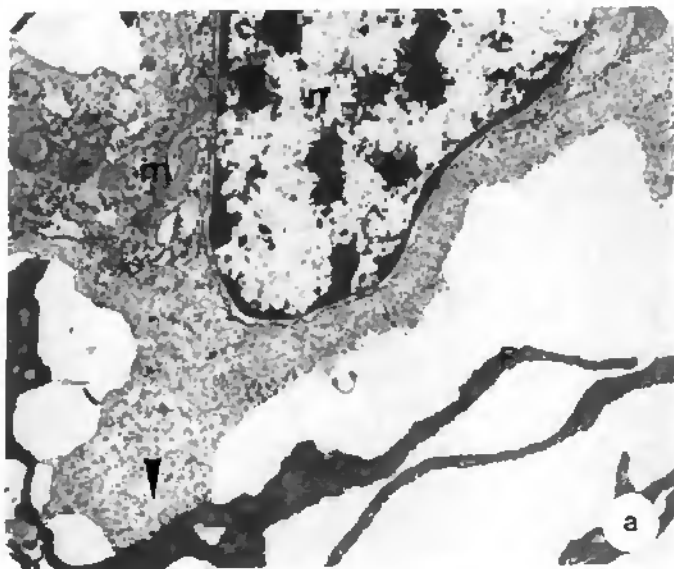
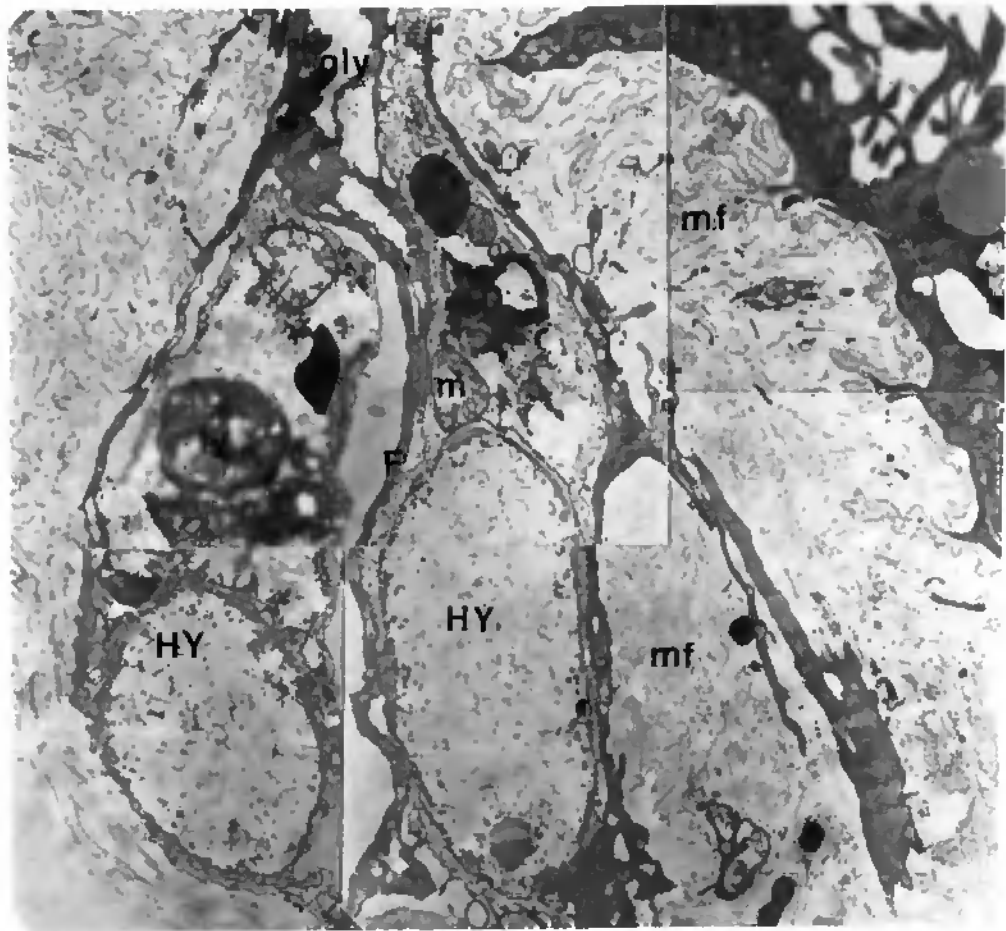


Fig. 68. S. mansoni B. / B. glabrata B. Greffon 2 h.
Schéma.

Le sporocyste (SP) et les éléments embryonnaires
qu'il contient (CEE) sont en bon état.

Quelques granulocytes se sont légèrement étirés
à sa surface (flèches).



S. mansoni B / B. glabrata B. Greffon 2 h. MET.

Fig. 69. Le sporocyste (sp) est en parfait état et contient une cercaire en formation (CEE).
Un granulocyte s'est étiré à la surface du greffon (↙).
x 2750

Fig. 70. Granulocyte arrondi avec ses caractéristiques habituelles.
x 7300

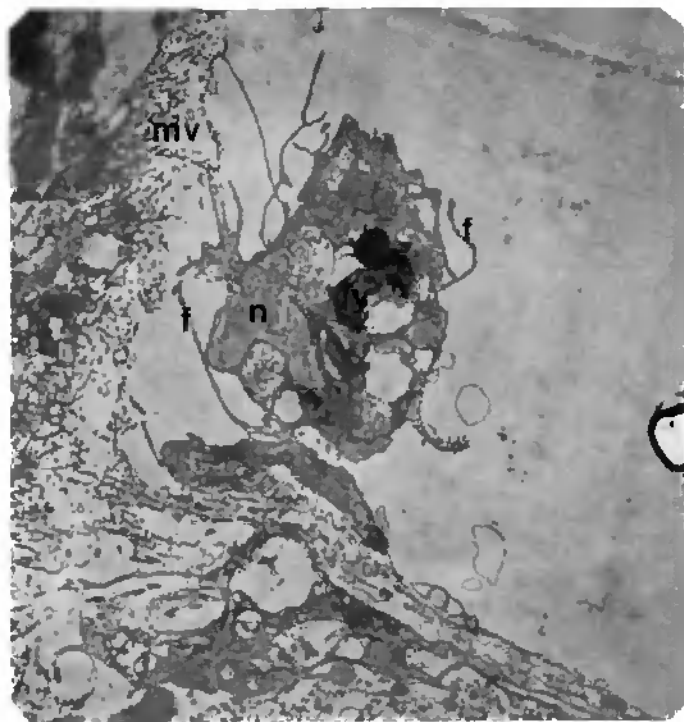
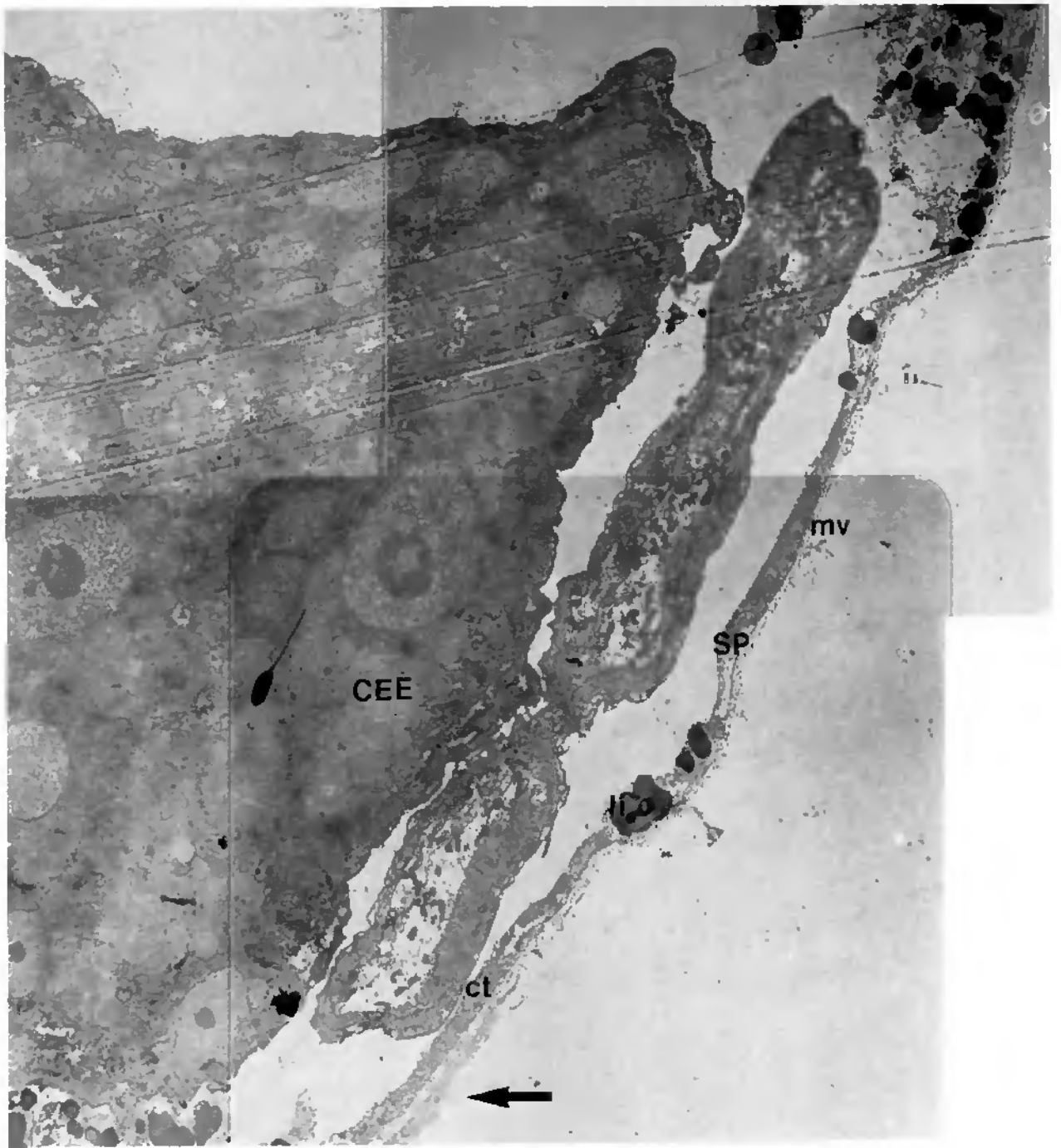
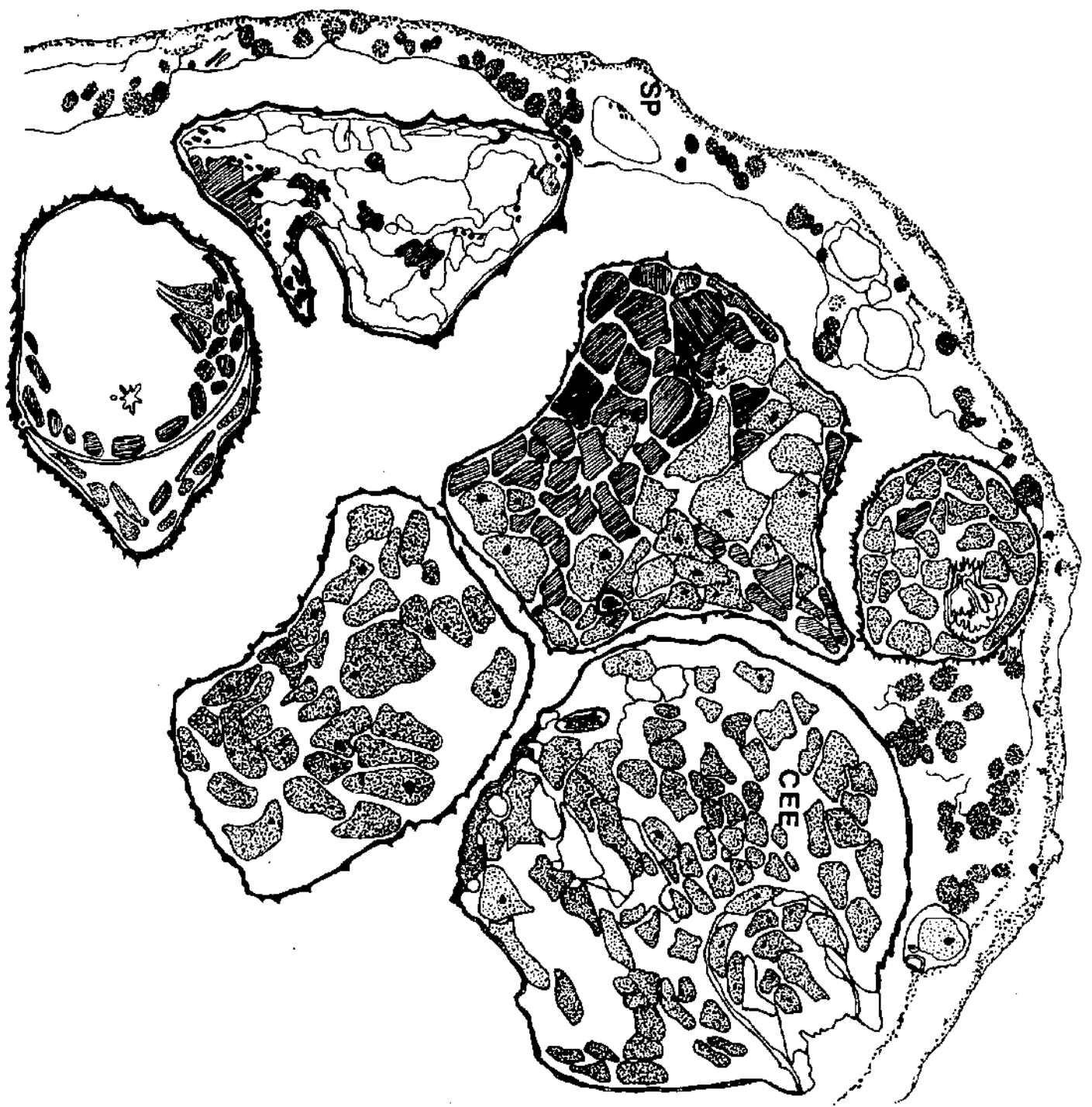


Fig. 71. S. mansoni G. / B. glabrata B. Greffon 2 h.

Schéma.

Le sporocyste (SP) et les éléments embryonnaires (CEE) sont en bon état. Aucun granulocyte n'est visible à la surface du greffon.



S. mansoni G / B. glabrata B. Greffon 2 h. MET.

Fig. 72. Des lacunes (La) apparaissent à l'intérieur du sporocyste qui n'est plus très cohérent. Des cellules musculaires (mu) sont isolées. Des granulocytes s'étalent au contact du greffon (▼).
x 2700

Fig. 73. Détail. Protonéphridie isolée (pt) et mitochondries libres (m).
x 11500

Fig. 74. Granulocytes arrondis. n = noyau.
x 5540

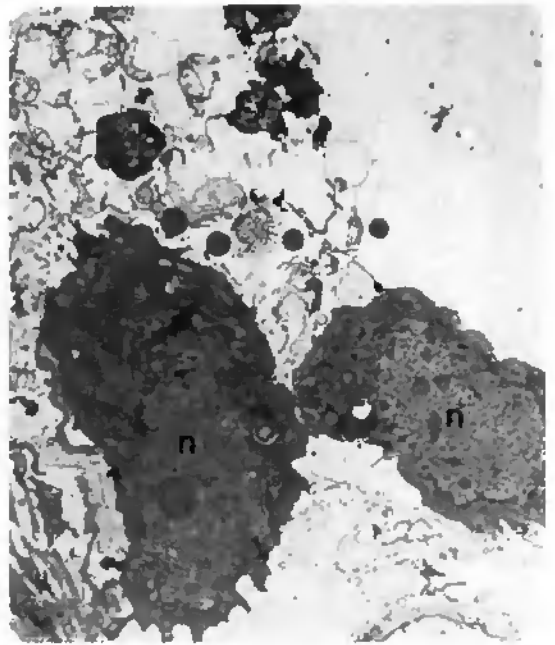
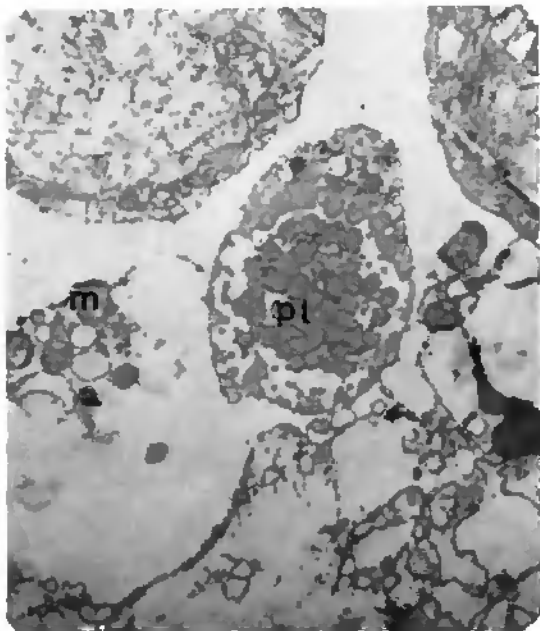
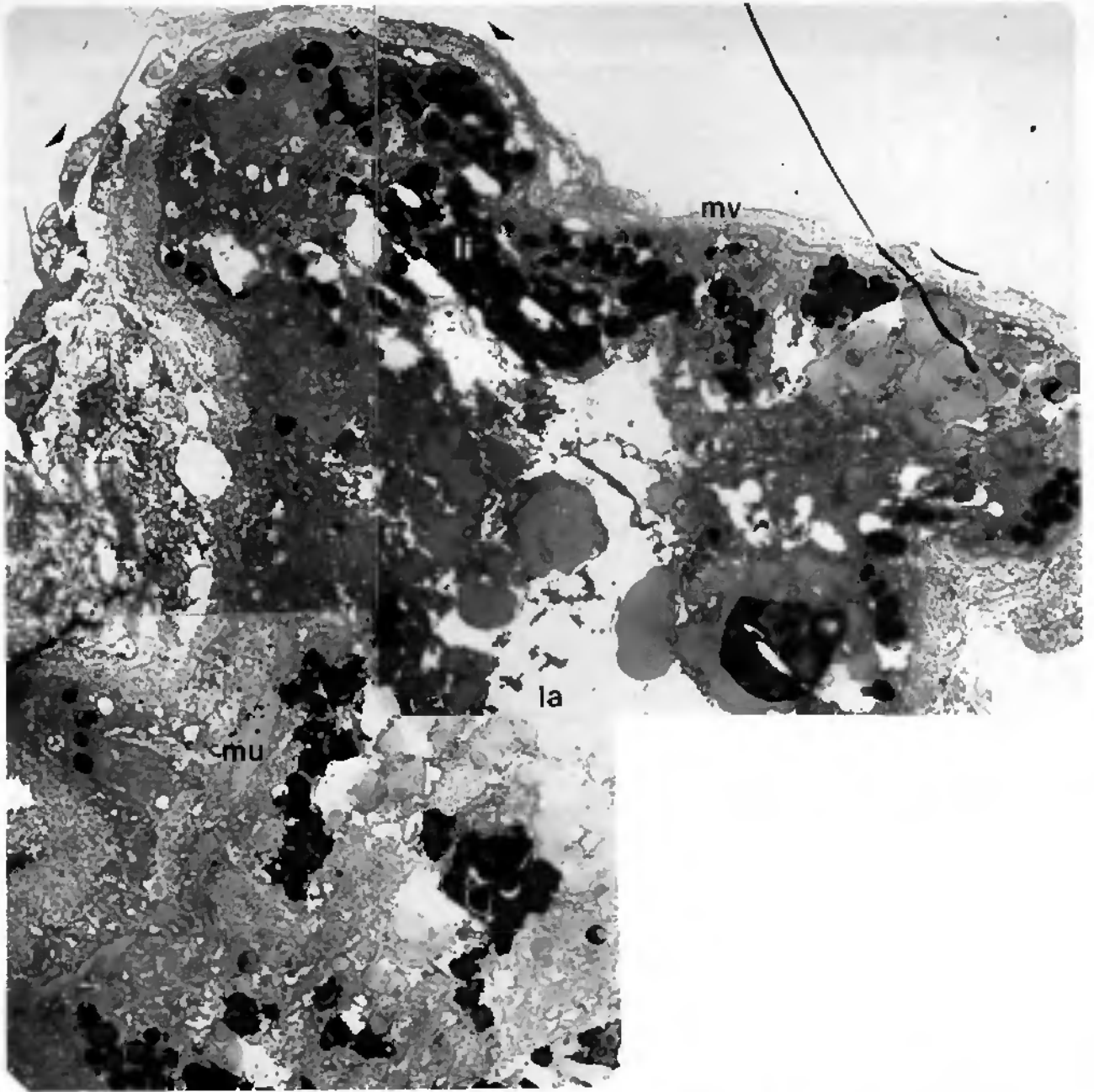


Fig. 75. S. mansoni B. / B. glabrata B. Greffon 24 h.
Schéma.

Le sporocyste (SP) et la cercaire contenue (CE)
sont en parfait état malgré une épaisse
capsule (CAF).

Simons & sur. of *Pteroda*
1928



S. mansoni B / B. glabrata B. Greffon 24 h. MET.

Fig. 76. Sporocyste (SP) et cercaire (CE) sont en parfait état malgré les granulocytes (GR) accumulés à la surface du greffon.
x 3600

Fig. 77. Détail du tégument cercarien. On note les muscles (mu), une protonéphridie (pt), le noyau (n) d'une cellule tégumentaire et des mitochondries (m).
x 11500

Fig. 78. Capsule lâche.

a) Hyalinocytes et granulocytes (GR) au-dessus des microvillosités (mv) du ver.
x 5570

b) Idem. x 5570

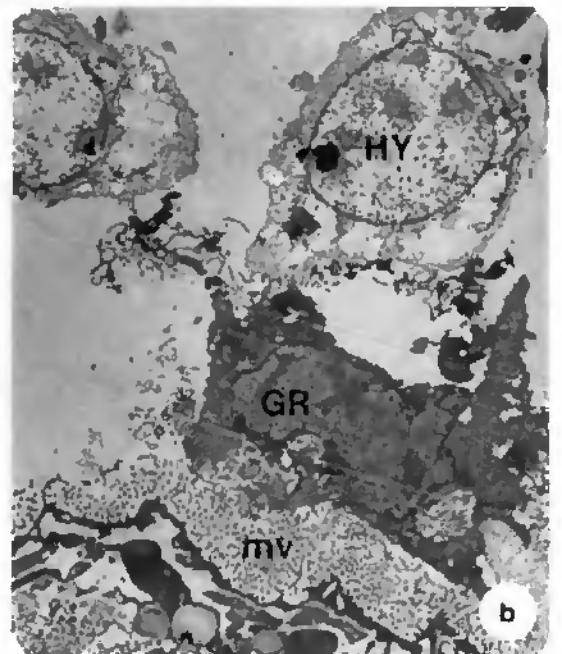
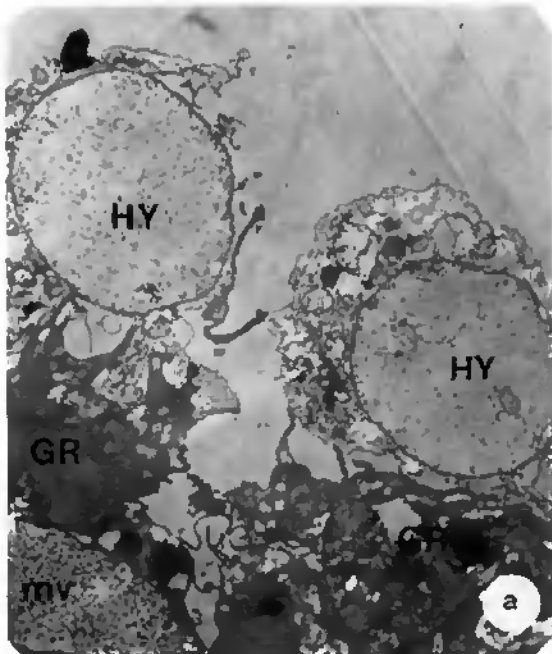
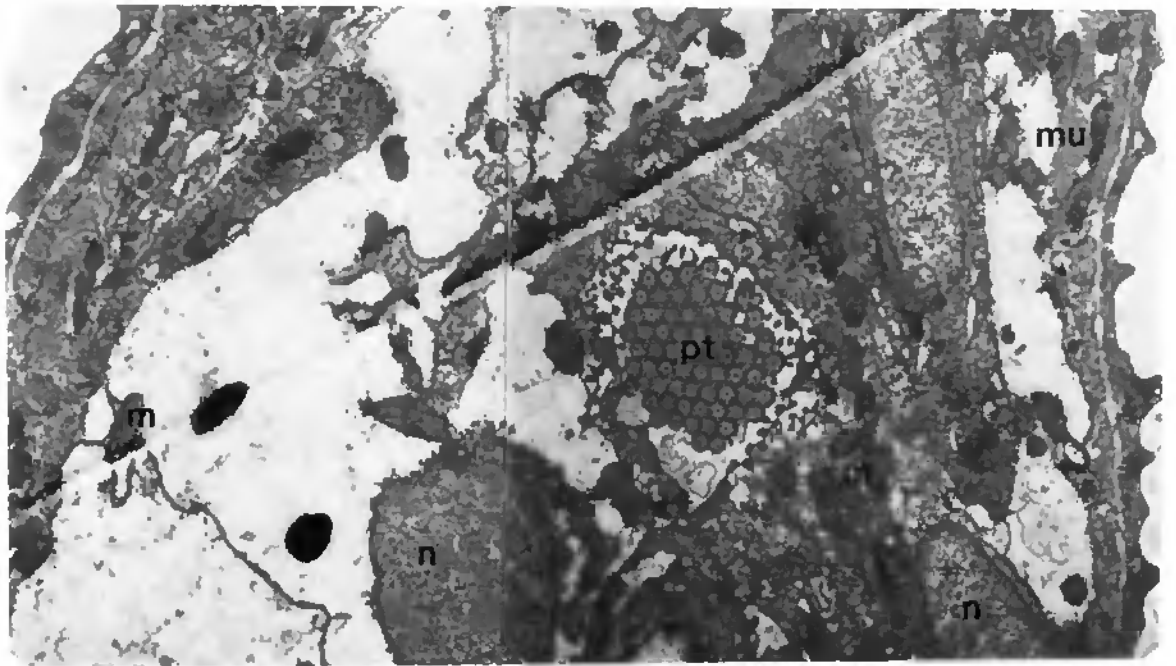
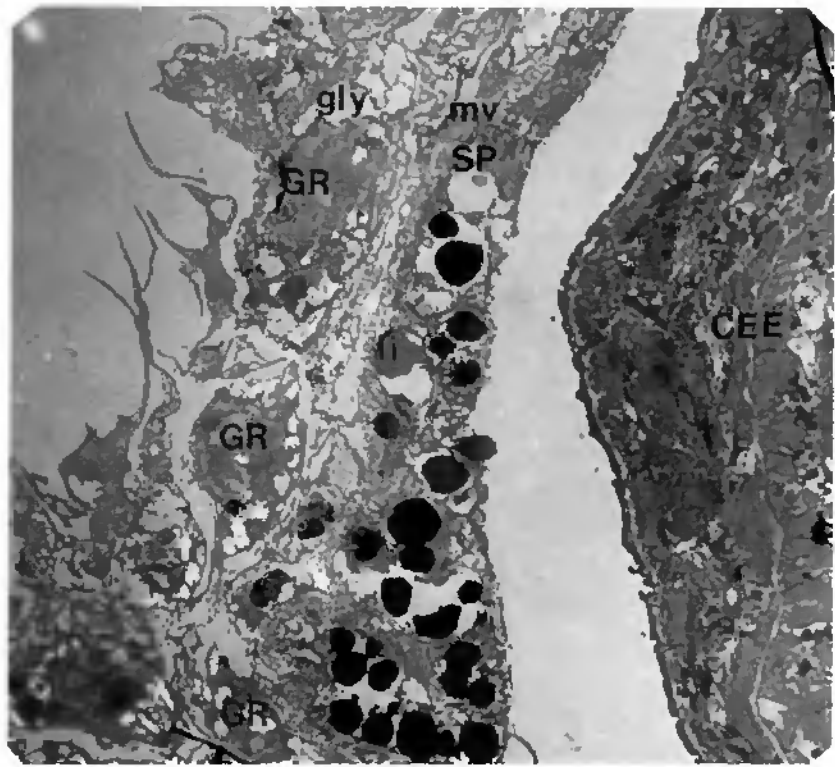
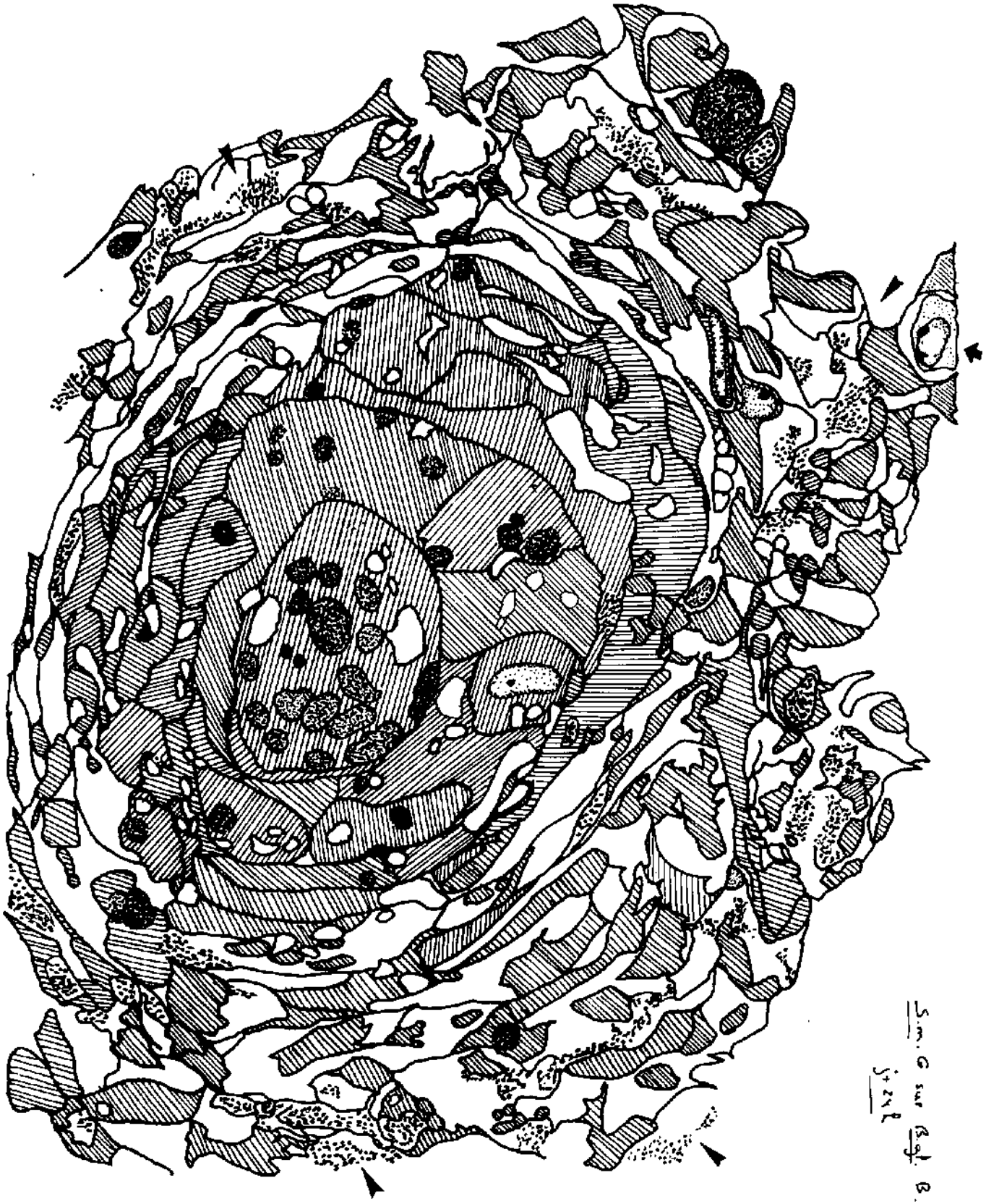


Fig. 79. S. mansoni G. / B. glabrata B. Greffon 24 h.
Schéma.

Granulome. Par endroits subsistent des
microvillosités du ver (flèches). Un hyalinocyte
est entouré par des granulocytes (▼)



Sim. G. var. B. gl. B.
Sp. 217

S. mansoni C / B. glabrata B. Greffon 24 h. MET.

Fig. 80. Le tissu est dissocié. Il devient difficile de faire la distinction entre les granulocytes (gr) et le tissu du ver.
x 2500

Fig. 81. Détail. Filopode (F) entourant des microvillosités (mv).
x 11500

Fig. 82. Détail. Phagocytose des microvillosités (mv).

a) Granulocyte phagocytant des microvillosités.
x 11500

b) Idem. Le cytoplasme du granulocyte contient un lysosome secondaire (LY) et des inclusions lipidiques (li).
x 17850

Fig. 83. Détail. Contact hyalinocyte-granulocyte. Le noyau du hyalinocyte (N) présente l'hétérochromatine périphérique (hp) caractéristique. On voit les nombreuses jonctions entre les filopodes (F) et le hyalinocyte (↙).
x 17850

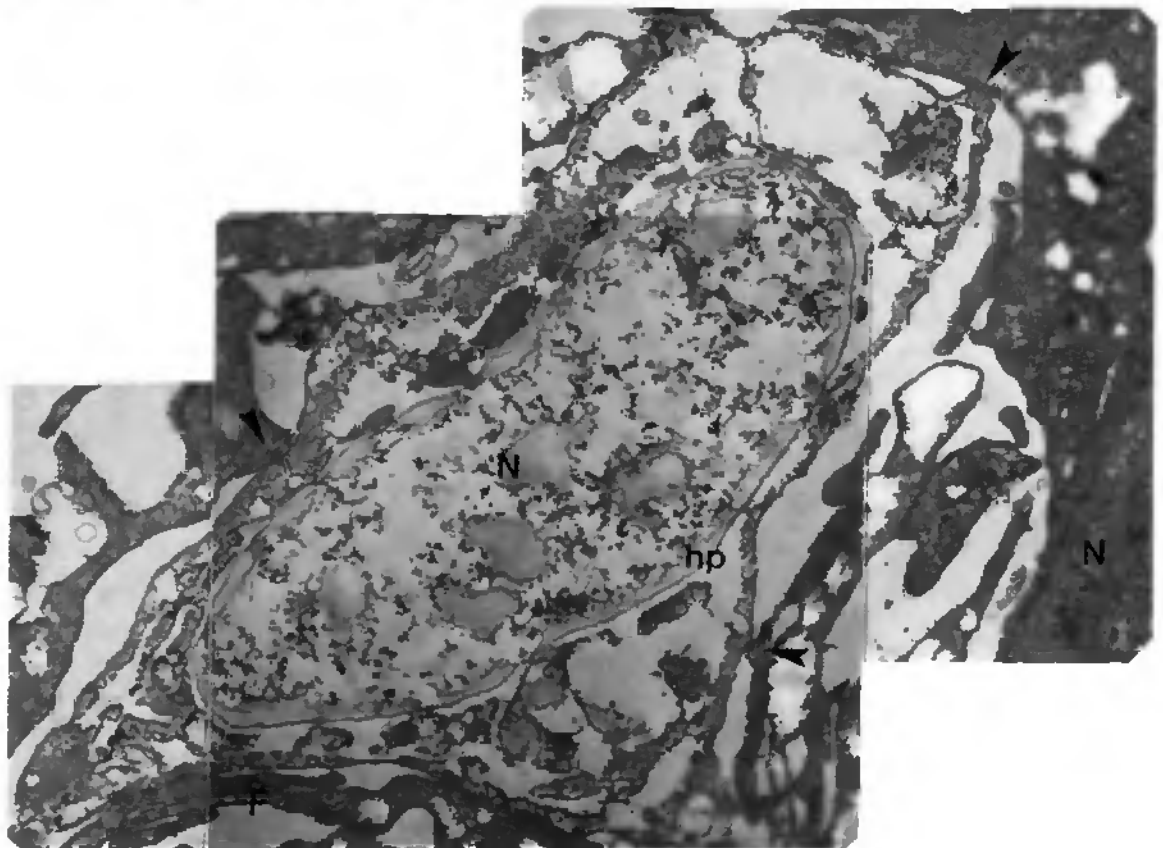
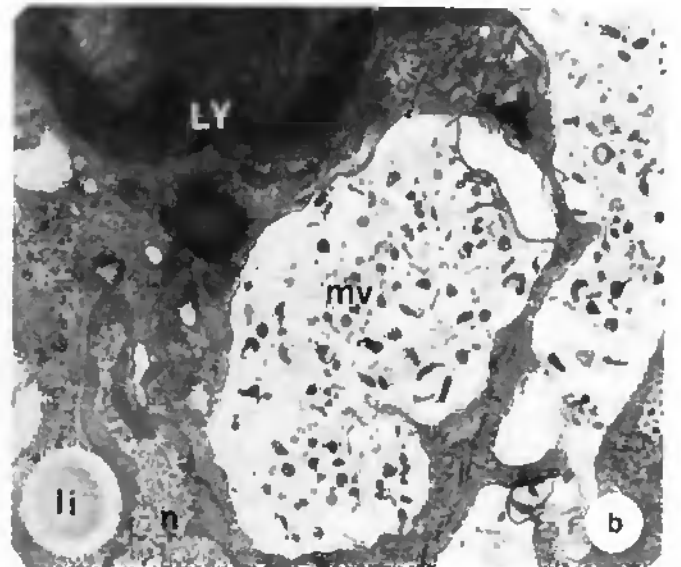
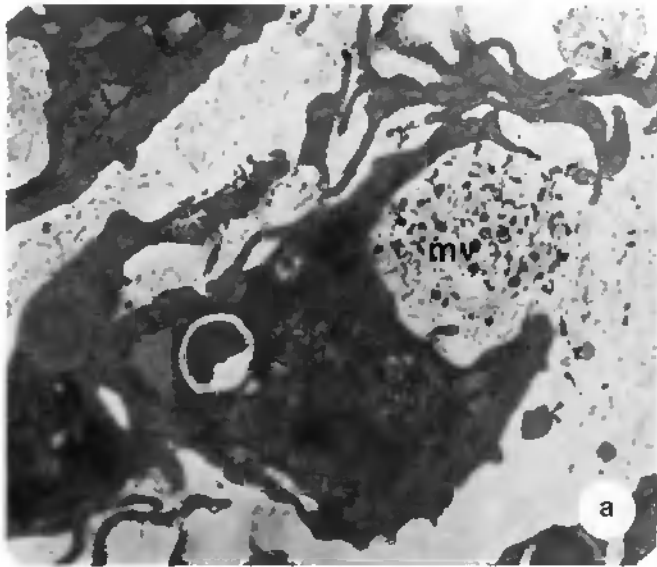
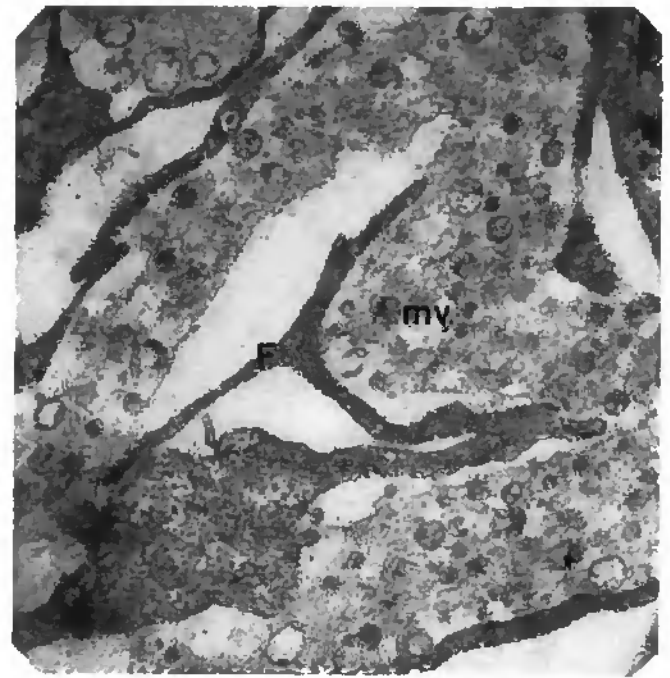
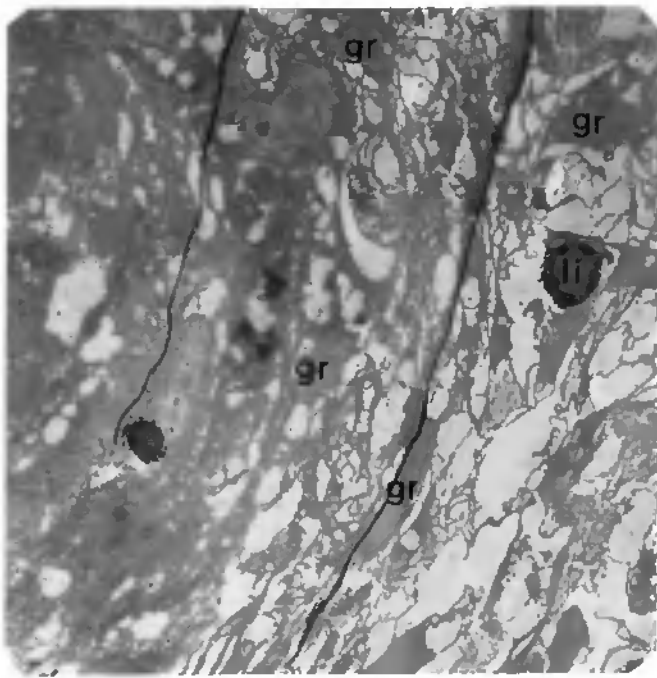


Fig. 84. S. mansoni B. / B. glabrata B. Greffon 48 h.
Schéma.

Des granulocytes (flèches) phagocytent les
microvillosités du sporocyste (SP). Les cercaires
(CE) sont cependant encore en bon état.



S. mansoni B / B. glabrata B. Greffon 48 h. MET.

Fig. 85. Il devient difficile de suivre les microvillosités du sporocyste (■) car il a disparu par endroits. On note une prolifération des inclusions lipidiques (li). La cercaire (CE) est encore en bon état.
x 2500

Fig. 86. Détail. Cellules musculaires isolées (mu).
x 26900

Fig. 87. Capsule lâche. Hyalinocytes (HY) et granulocytes (GR) ronds.
x 5570

Fig. 88. Détail. Filopode contenant du matériel fibrillaire (mf). bt = bouton terminal.
x 26900

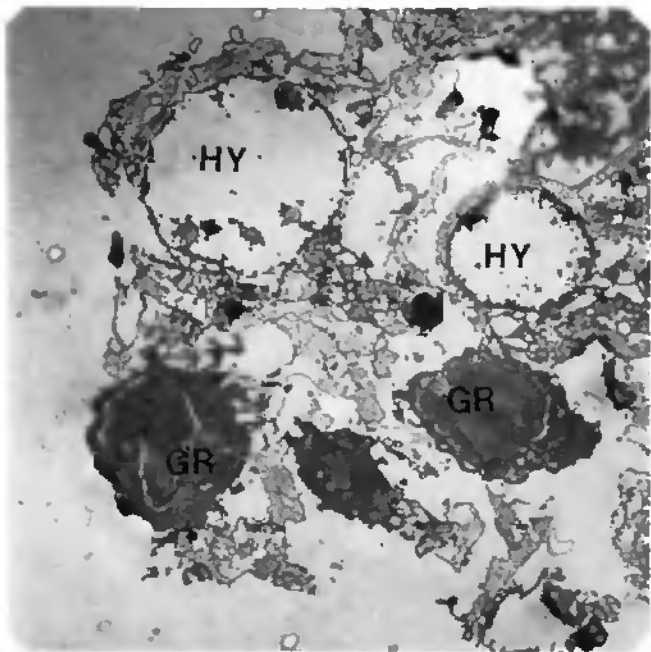
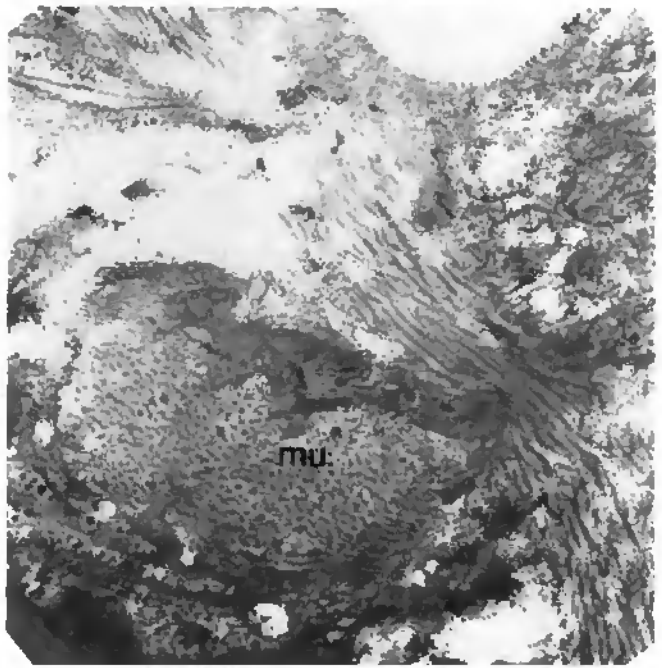
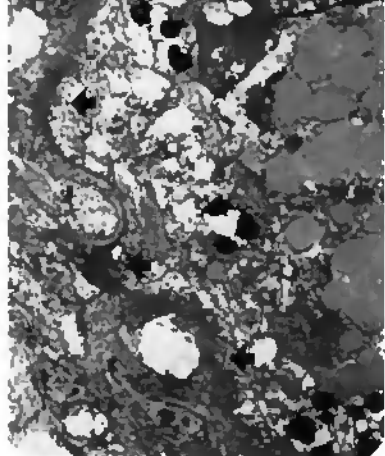
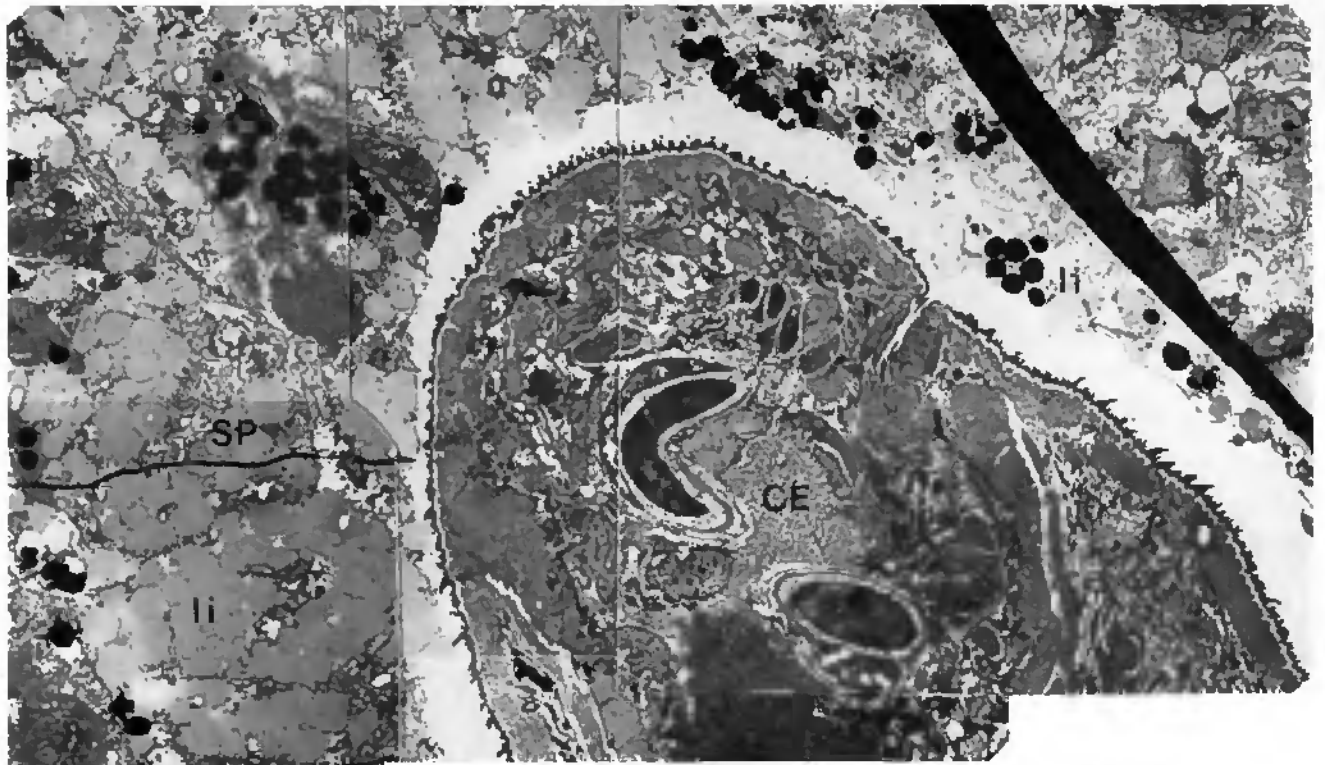
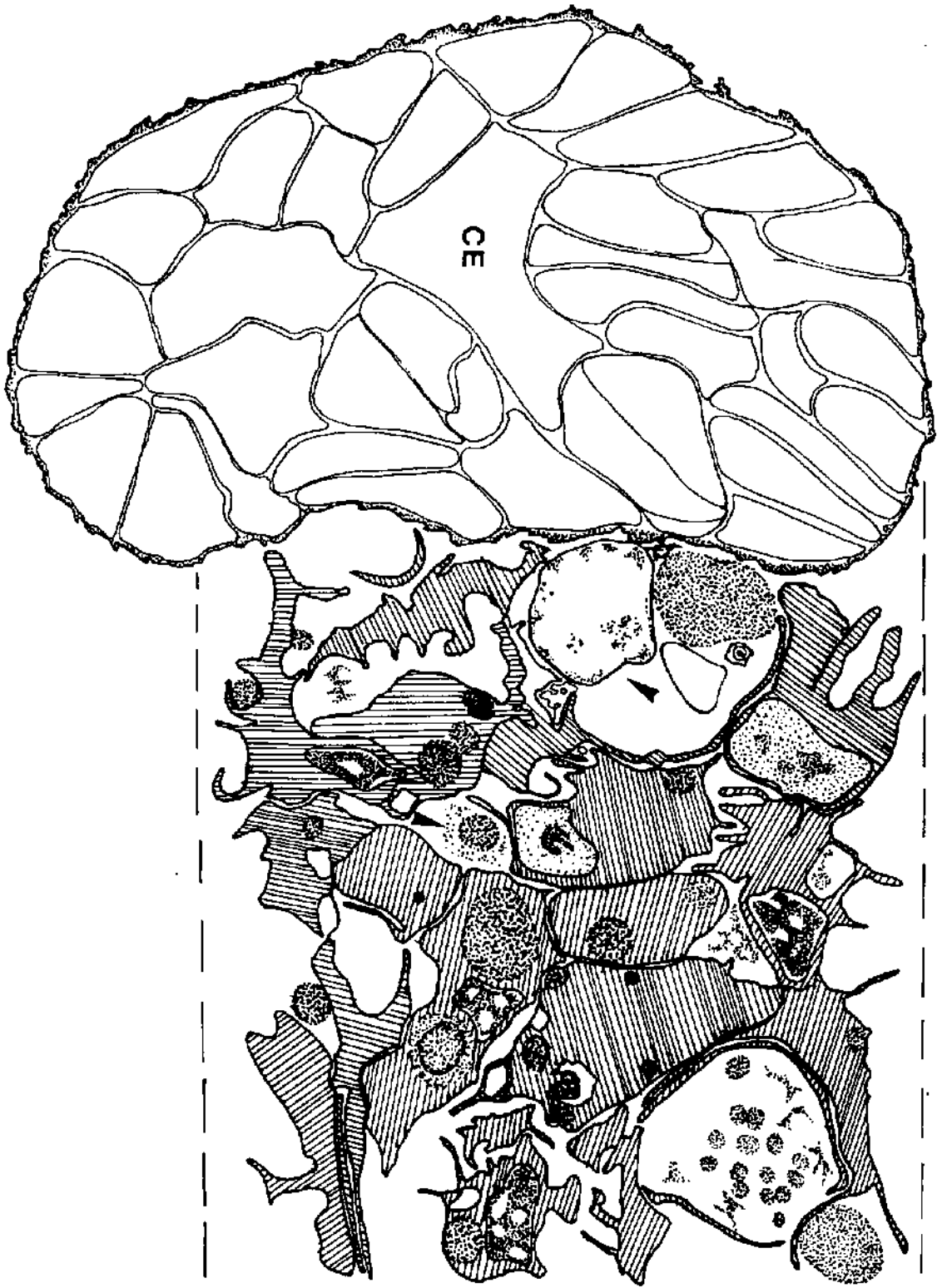


Fig. 89. S. mansoni G. / B. glabrata B. Greffon 48 h.
Schéma.
Capsule (CAP) partiellement représentée au-dessus
d'une cercaire (CE) en dégénérescence. Par
endroits, subsistent des traces du sporocyste
fils détruit (flèches).



CE

CAP

S. Mendenhall, G. 1948

S. mansoni G / B. glabrata B. Greffon 48 h. MET.

Fig. 90. Sporocyste (SP) et cercaire (CE) sont en mauvais état. Les granulocytes (GR) ne forment pas une capsule dense.
x 1900

Fig. 91. Détail. Au dessous des filopodes (F) d'un granulocyte, on reconnaît des muscles isolés (mu) et des mitochondries (m).
x 17850

Fig. 92. Détail. Tégument cercarien dont les épines ont disparu (▲). On note des lacunes (LA) au sein du tissu larvaire.
x 3940

Fig. 93. Détail. Contenu d'un granulocyte. Structure particulière du réticulum endoplasmique granulaire (▲).
x 10950

Fig. 94. Détail. Phagocytose par les filopodes (F) de matériel fibrillaire (mf). N = noyau d'un granulocyte.
x 17850

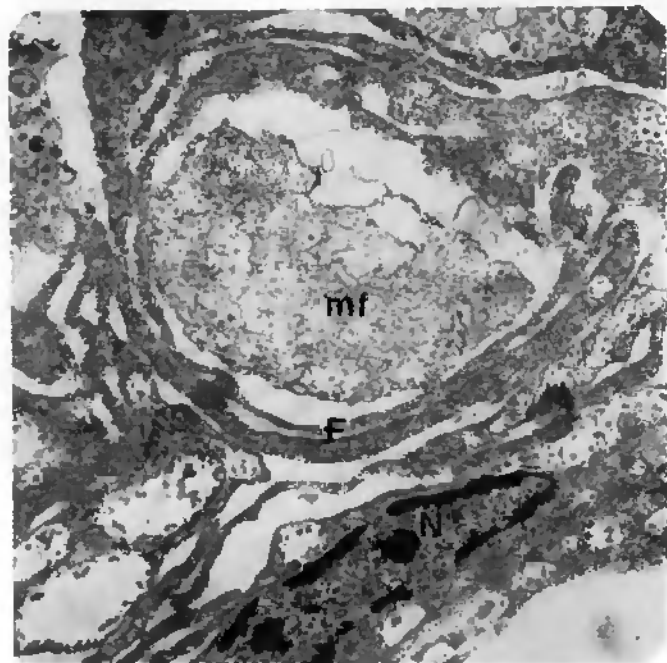
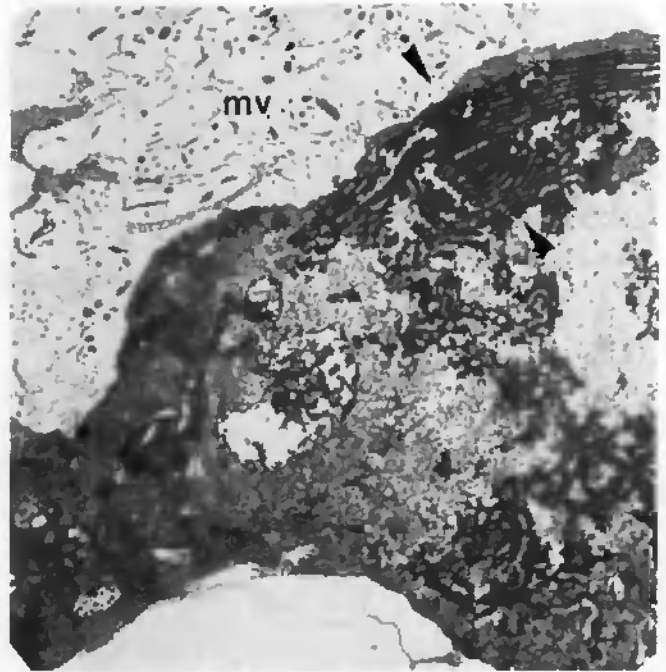
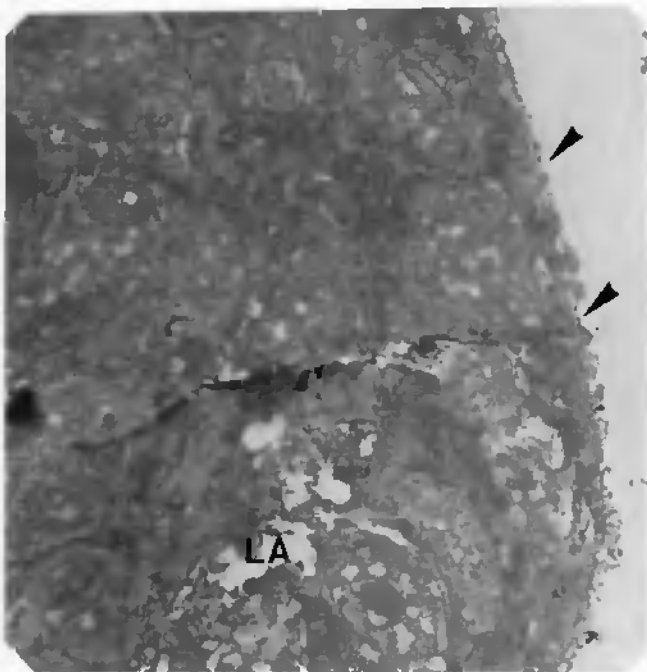
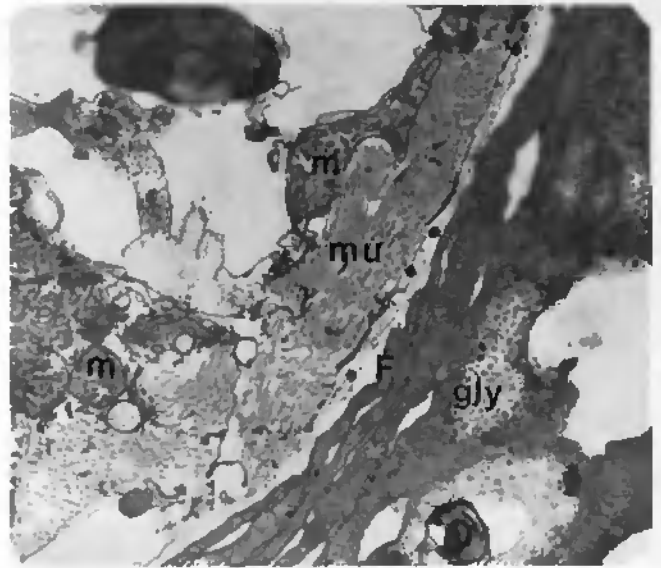
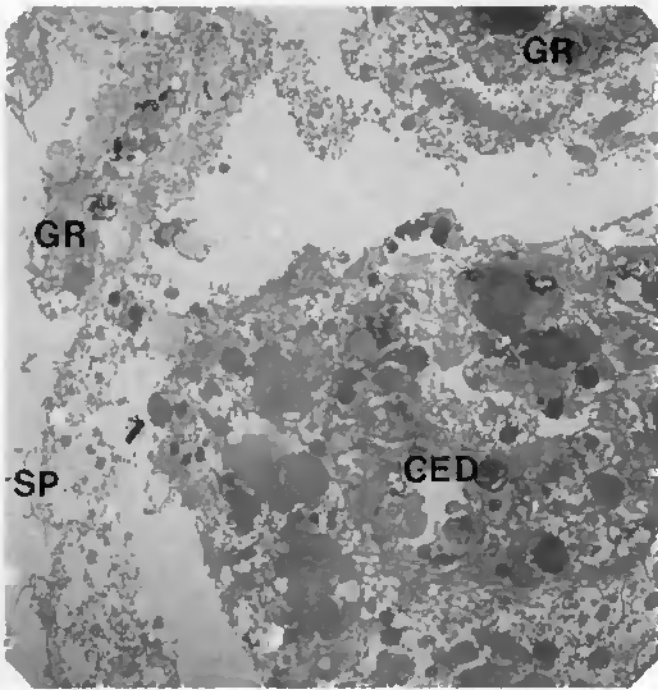
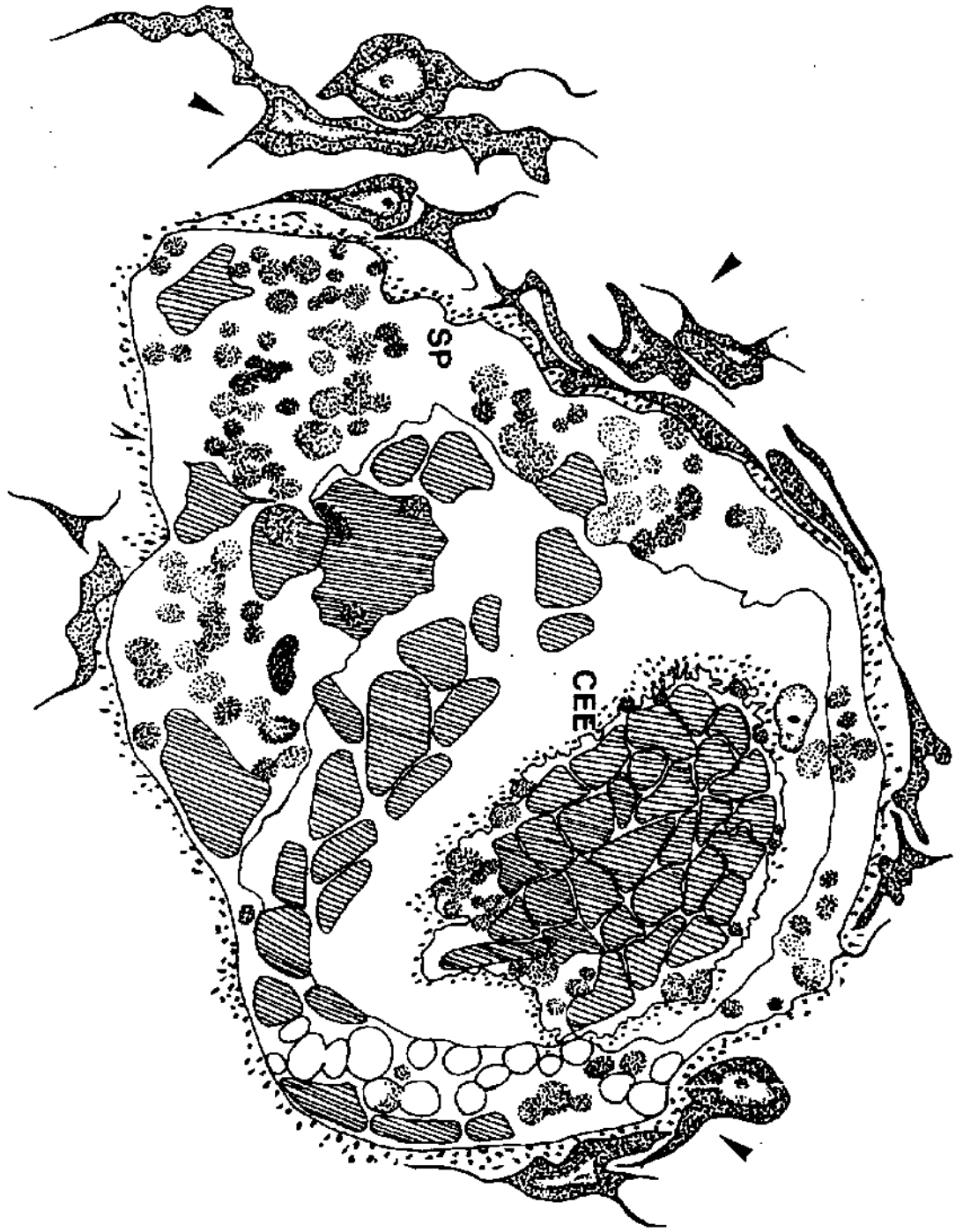


Fig.95. S. haematobium N / B. truncatus E. Greffon 2 h

Schéma

Le sporocyste (SP) et les cercaires embryonnaires (CEE) sont en bon état. La réaction cellulaire est faible (⚡).



S. haematobium N / B. truncatus E. Greffon 2 h. MET.

Fig. 96. Détail du tégument du sporocyste (SP) avec ses cellules tégumentaires (ct) et leur microvillosités (mv), sa musculature (mu). L'embryon cercarien (CEE) présente des réserves lipidiques (li).
x 21000

Fig. 97. A la surface du greffon , on observe des granulocytes arrondis dont les filopodes pénètrent parfois profondément entre les microvillosités (▲). Du tissu musculaire (mu) est visible en surface sans que le greffon ne paraisse endommagé.
x 7100

Fig. 98. Détail. Phagocytose de tissu musculaire par les filopodes.
x 21000

Fig. 99. Détail. Lysosome secondaire à l'intérieur d'un granulocyte.
x 70100

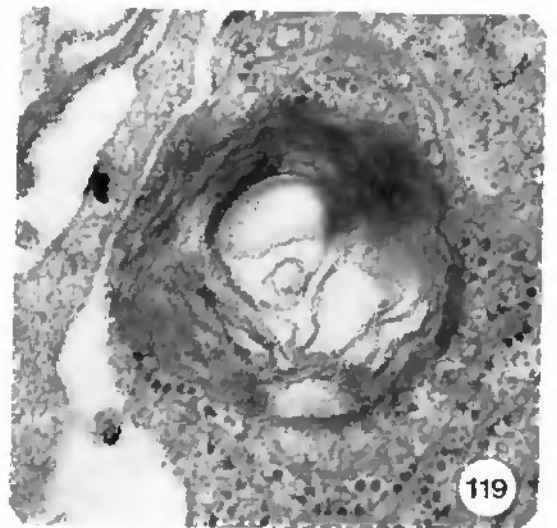
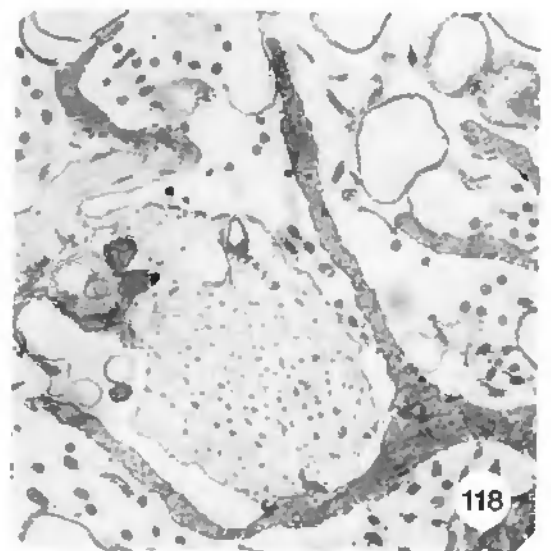
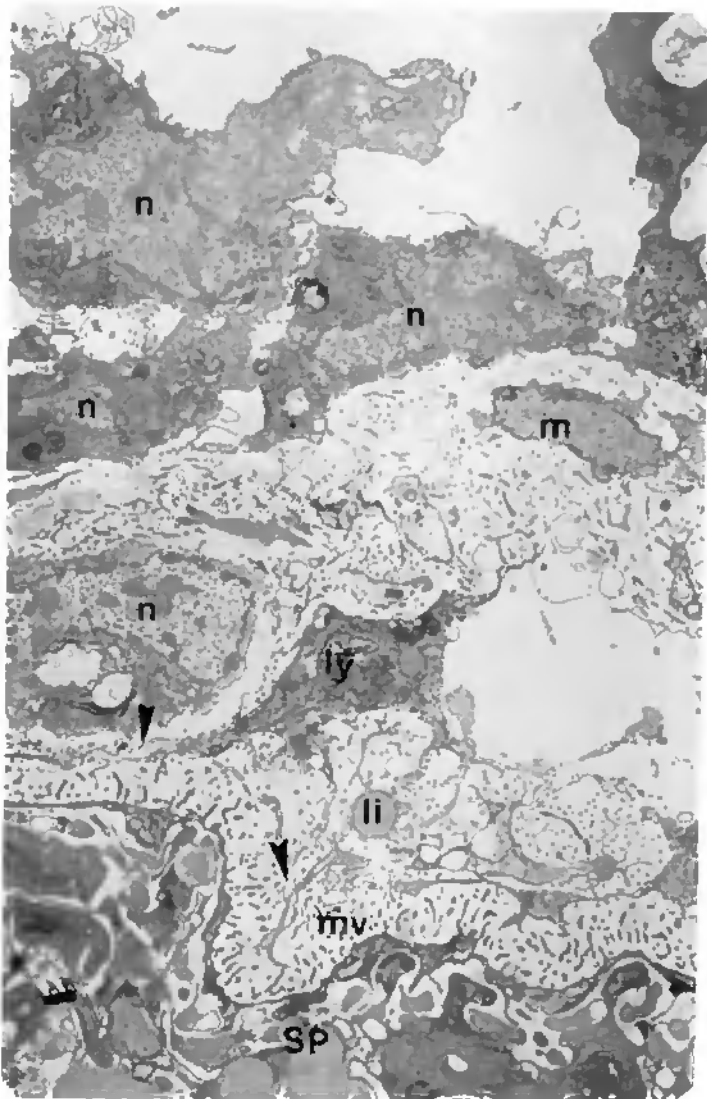
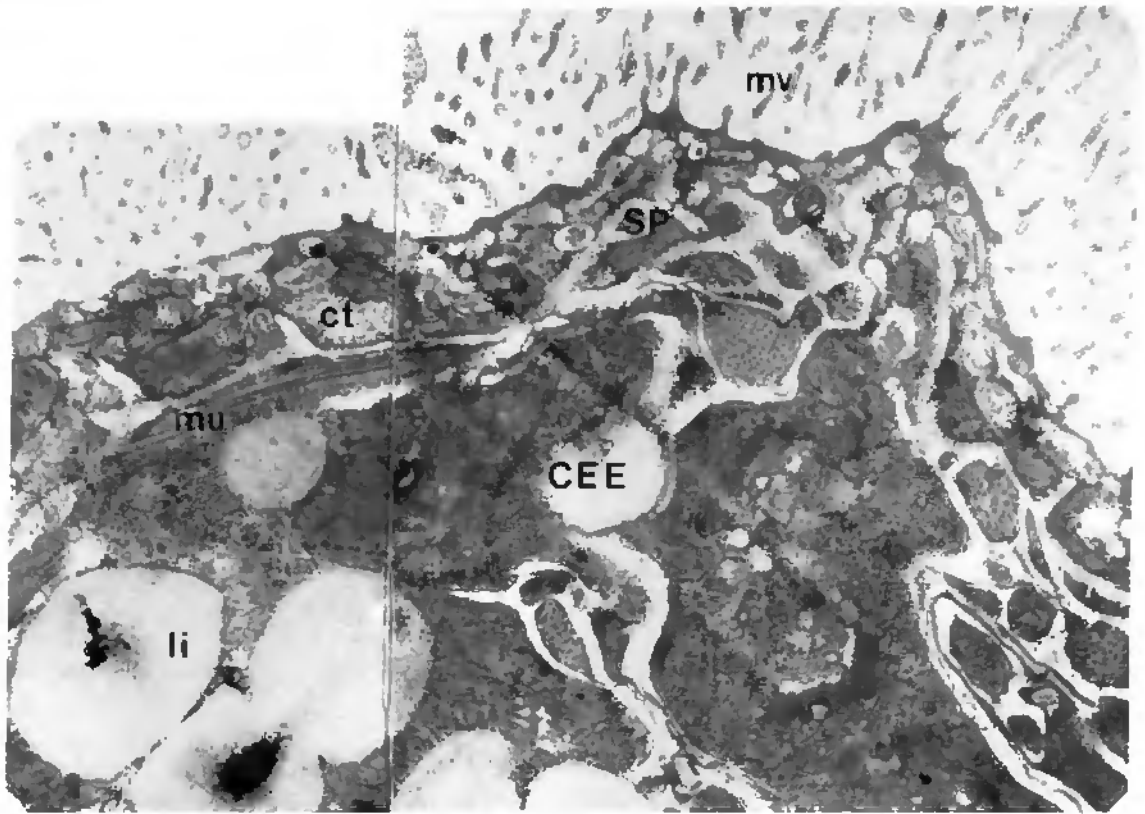


Fig. 100. S. haematobium N / B. truncatus E.

Greffon 24 h. Schéma.

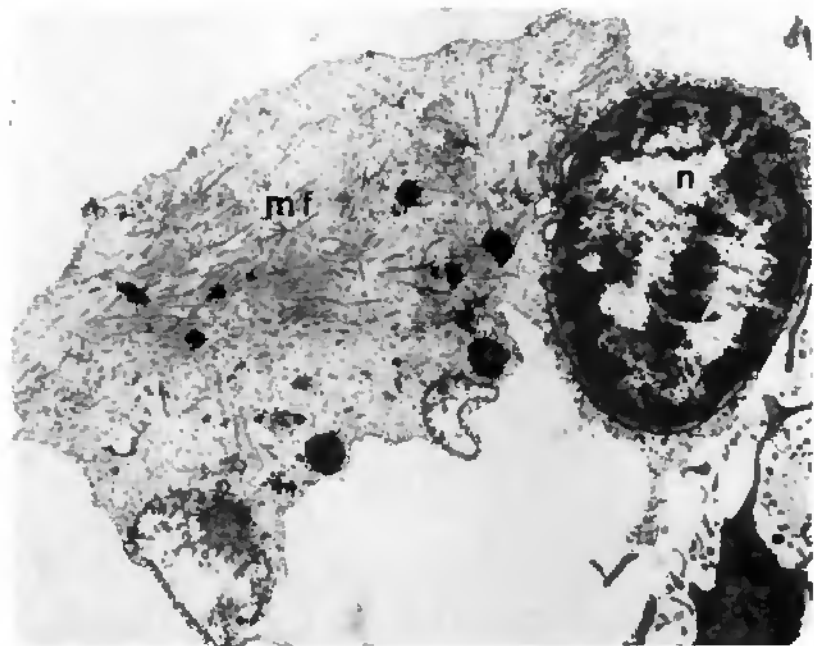
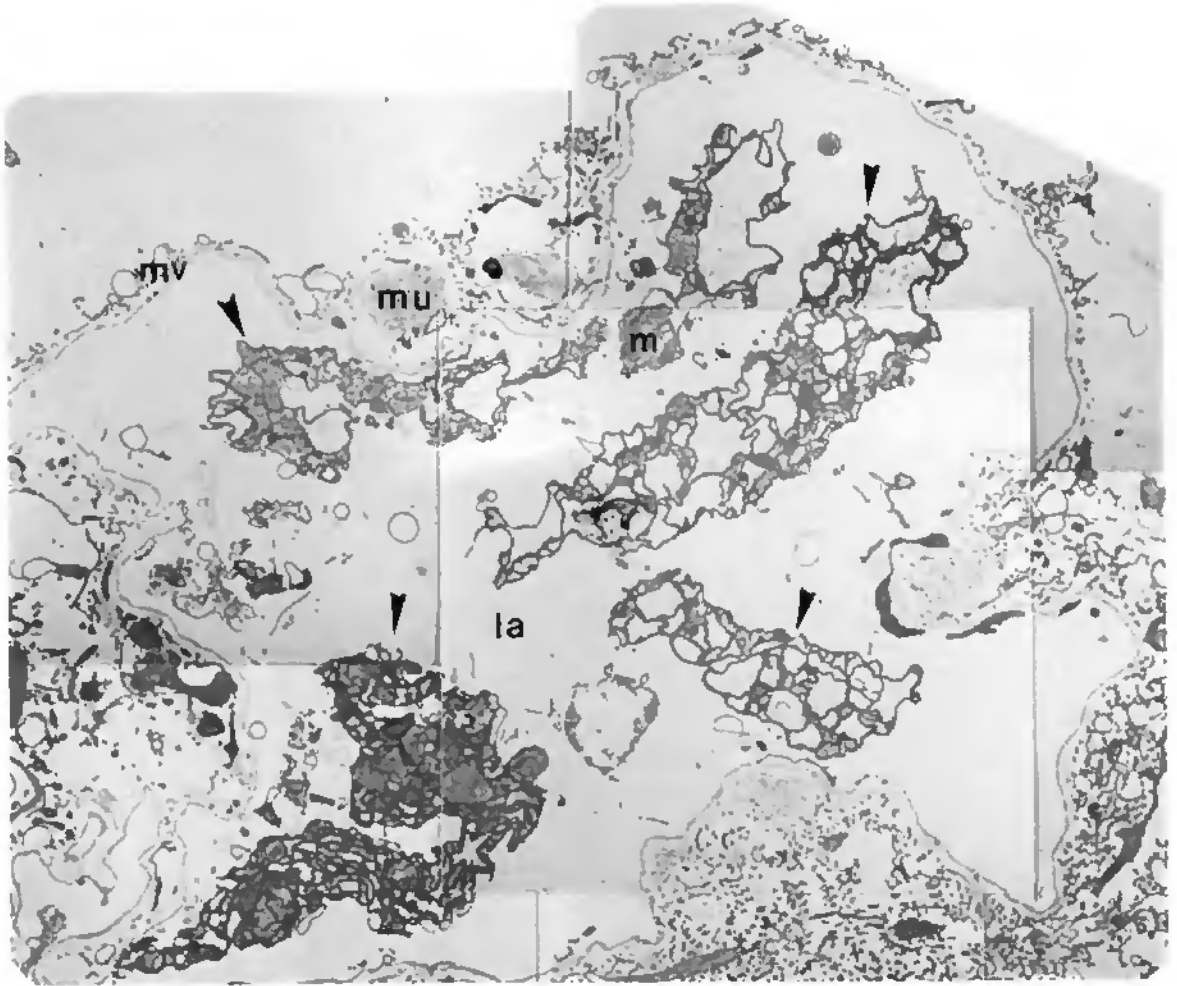
Le sporocyste (SP) est vidé de son contenu. Il reste des structures membranaires (▲) et les microvillosités (mv) et des cellules musculaires (mu). Des granulocytes (gr) et un hyalinocyte (HY) sont visibles à la surface du greffon ainsi que des mitochondries libres (m).



S. haematobium N / B. truncatus E. Greffon 24 h. MET.

Fig. 101. Le sporocyste dont on voit encore quelques microvillosités (mv) paraît vidé de son contenu. D'immenses lacunes (la) remplacent le tissu du ver. Seules des cellules musculaires isolées (mu), des mitochondries (m) et des structures lamellaires particulières (/) subsistent.

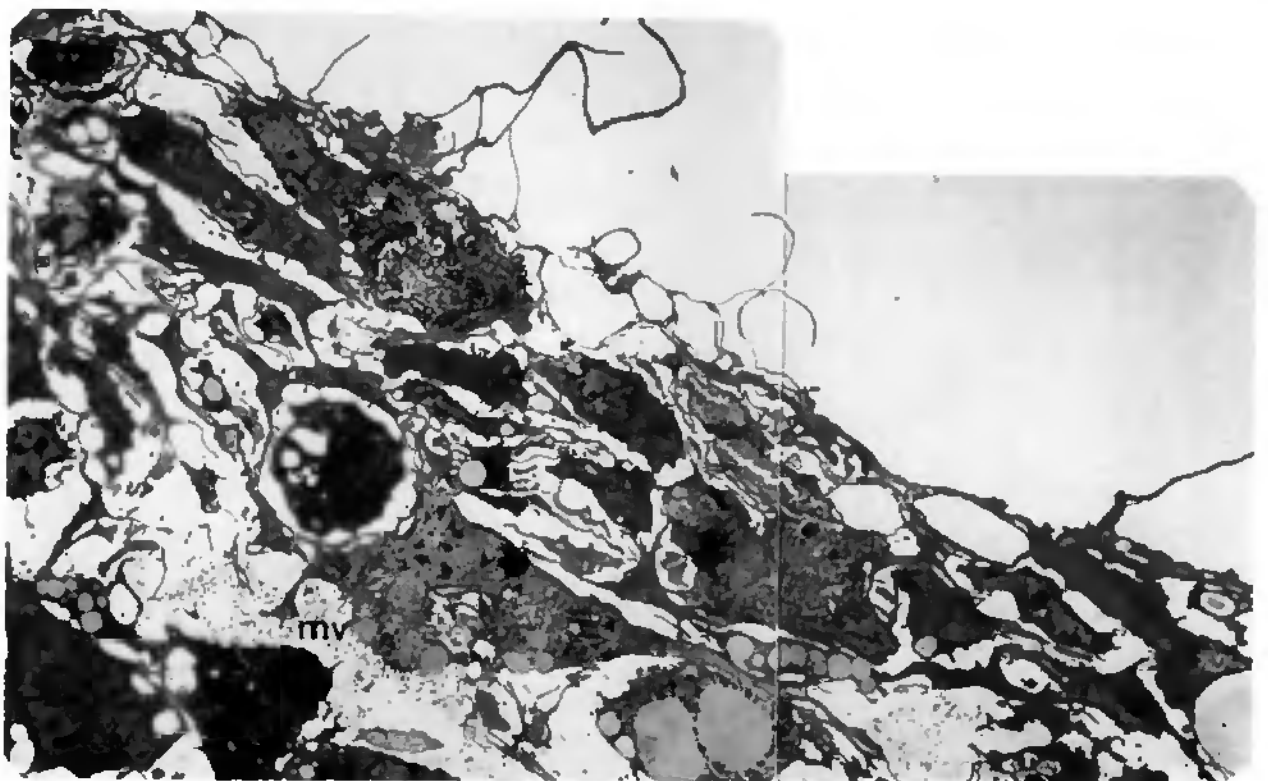
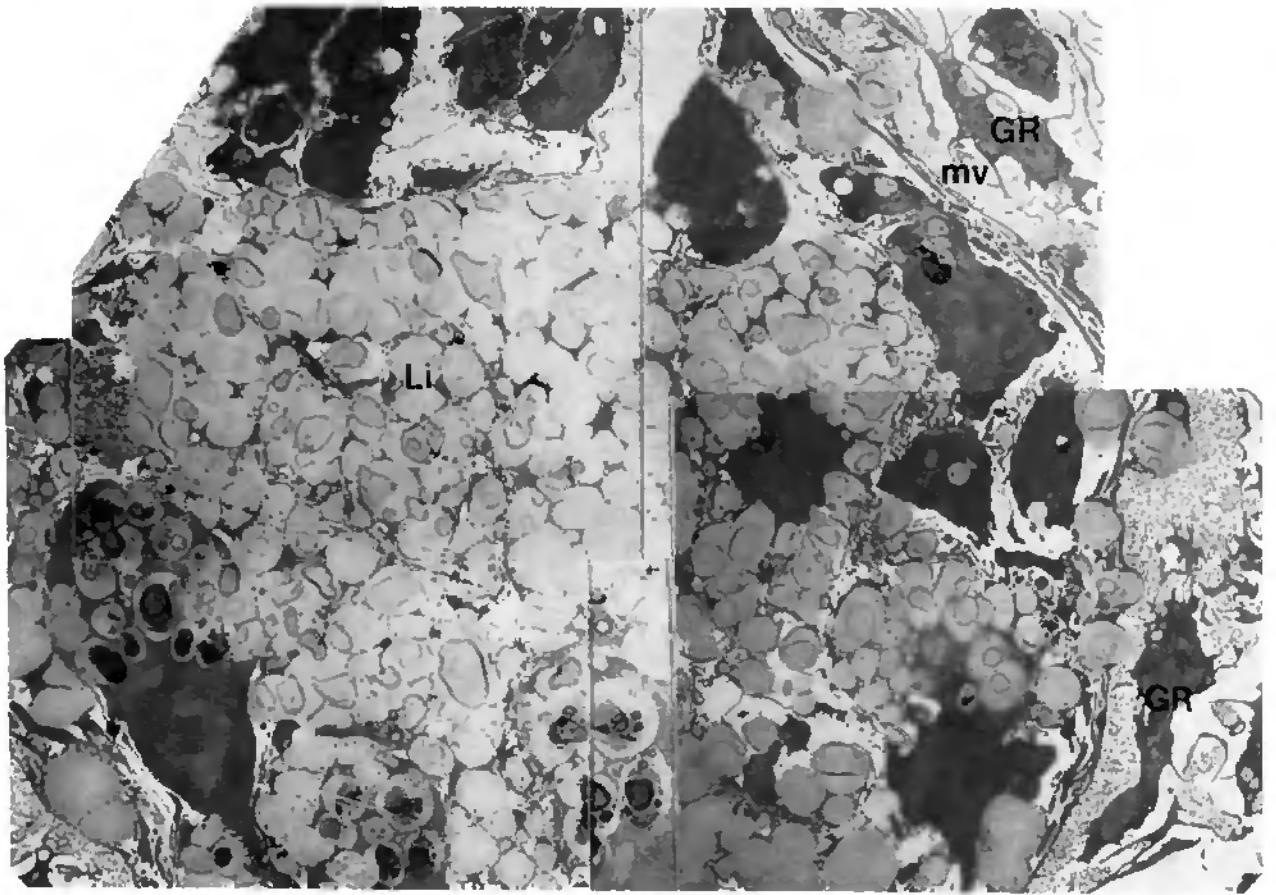
Fig. 102. Contenu fibrillaire (mf) d'un hyalinocyte.
n = noyau.
x 14000



S. haematobium N / B. truncatus E. Greffon 24 h. MET.

Fig. 103. Sporocyste présentant une quantité aberrante d'inclusions lipidiques (Li) malgré l'état apparemment sain des microvillosités (mv).
x 2490

Fig. 104. Capsule au dessus des microvillosités (mv) du ver. Les granulocytes gardent une forme arrondie et présentent de nombreuses inclusions.
x 3500



S. haematobium N / B. truncatus E. Greffon 24 h. MET.

Fig. 105. Le greffon est réduit à quelques mitochondries (m), des faisceaux musculaires isolés (mu) et des lacunes (la). La capsule est dense .
x 9900

Fig. 106. Détail. Capsule dense. On note le parallélisme des filopodes (F) des granulocytes.
x 21000

Fig. 107. Détail. Lysosome secondaire dans un granulocyte.
x 16400

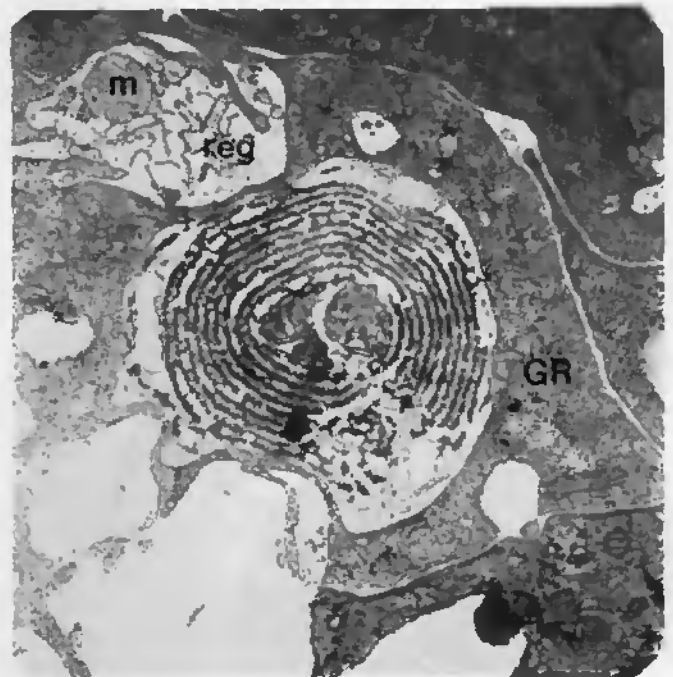
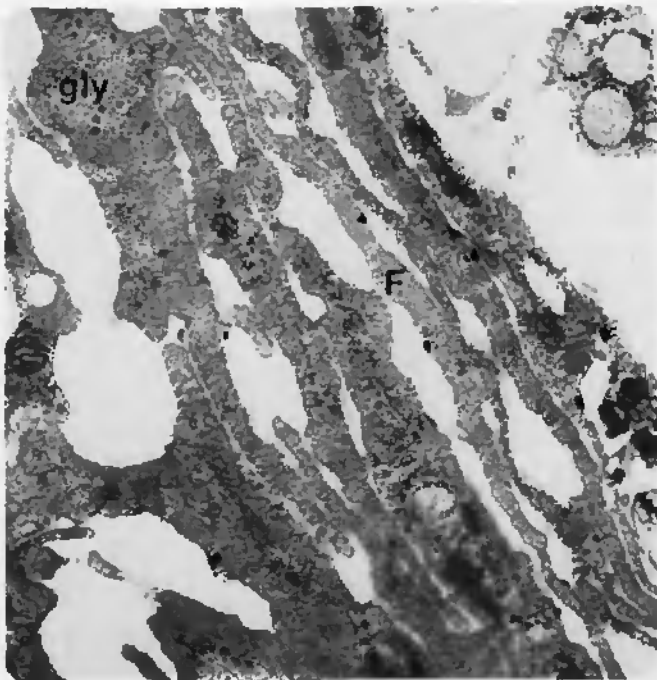
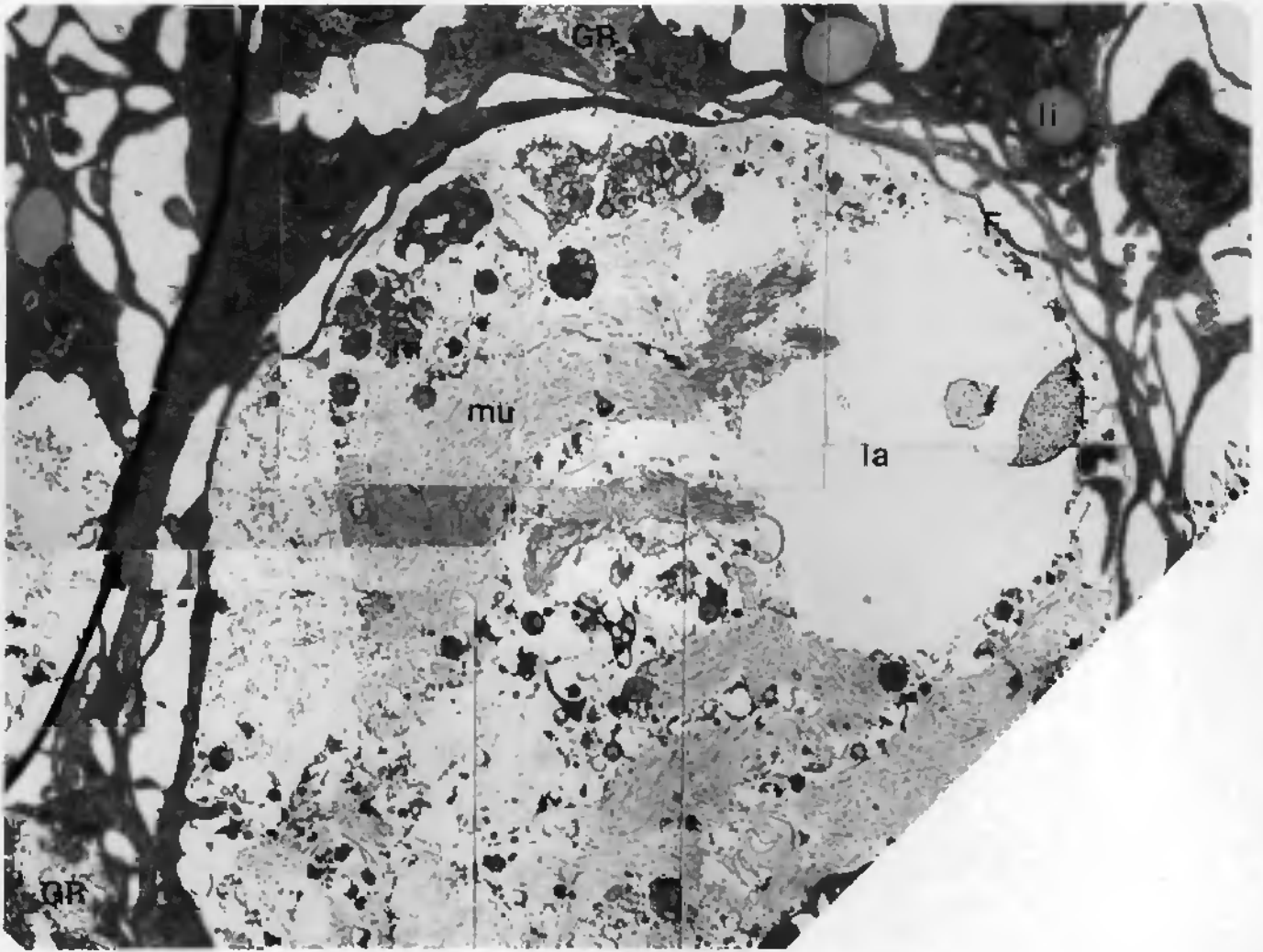
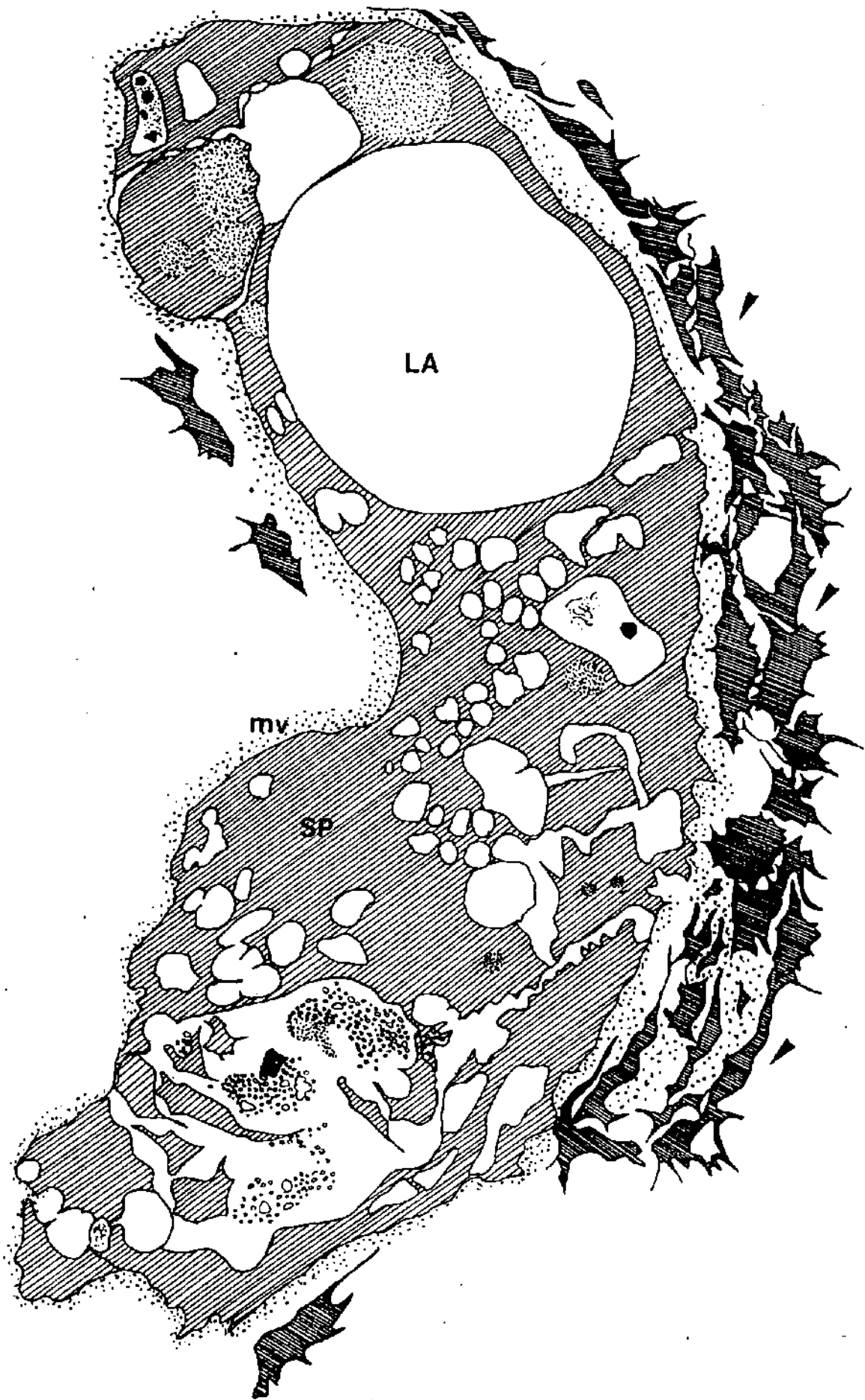


Fig.108. S. haematobium N / B. truncatus E.

Greffon 48 h. Schéma.

Le sporocyste (SP) est lacunaire (LA) mais présente encore des microvillosités (mv). La réaction cellulaire n'est pas très importante sur cette partie du greffon. Quelques granulocytes phagocytent des microvillosités (▲).



S.R.W./B.A.E.

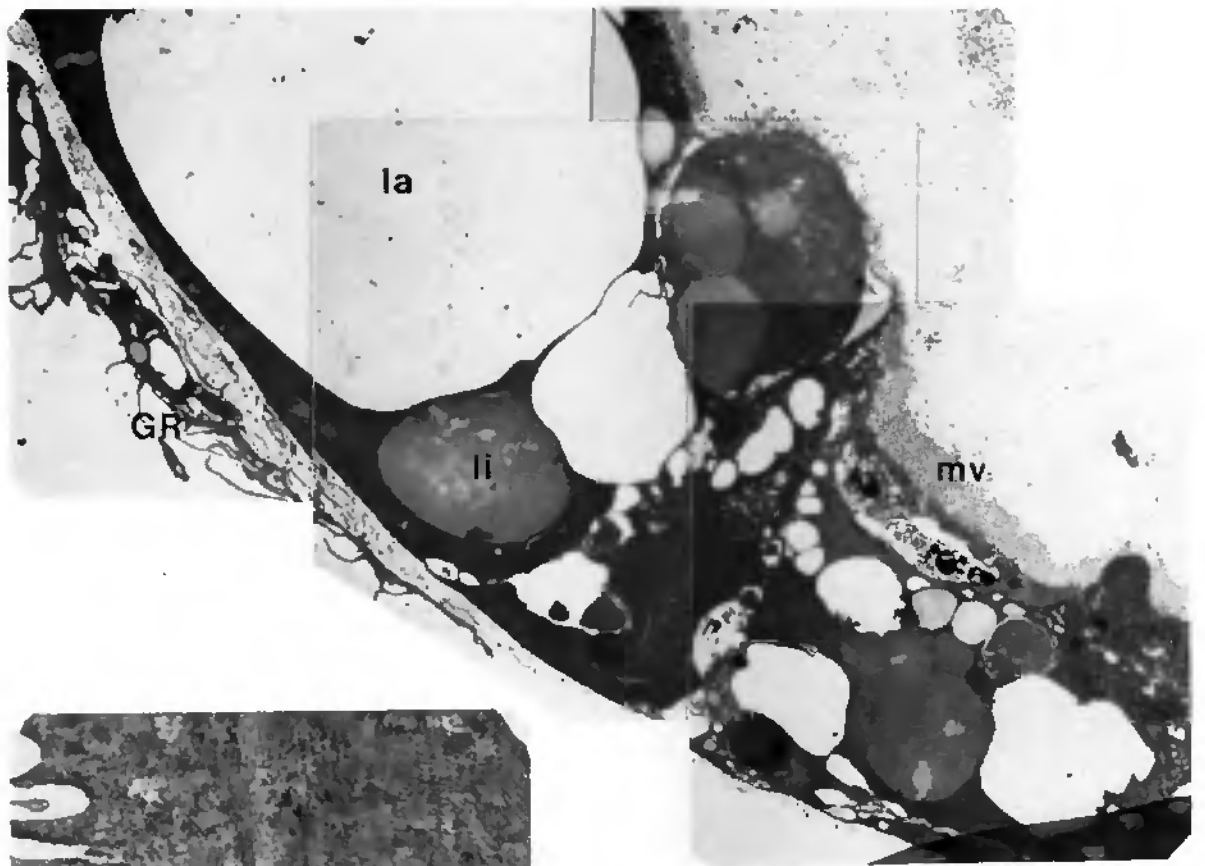
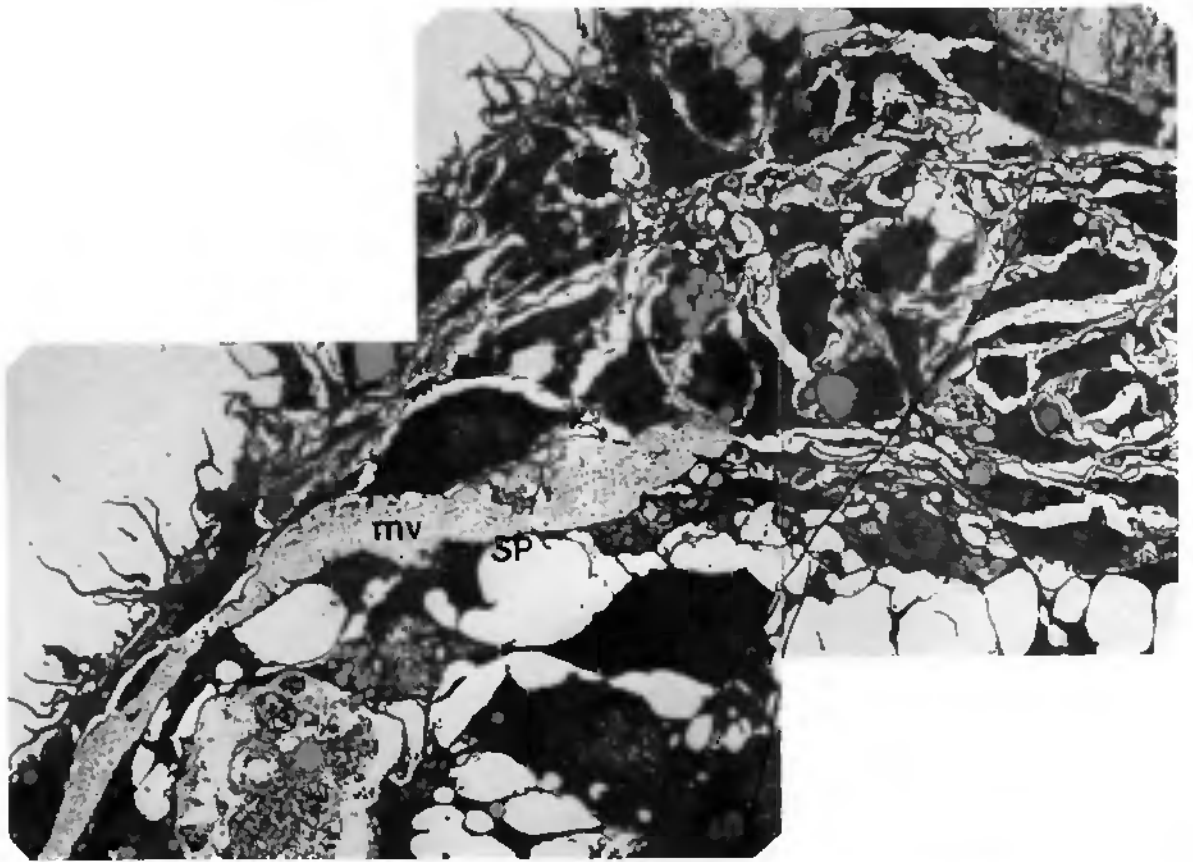
472

S. haematobium N / B. truncatus E. Greffon 48 h. MET.

Fig. 109. Une importante capsule recouvre le sporocyste greffé (SP).
x 2600

Fig. 110. Le tissu du ver est lacuneux (la) et présente de gros granules lipidiques (li).
x 2490

Fig. 111. Détail. La densité des tissus dégénérés du ver est due à l'importance dans les cellules restantes du réticulum endoplasmique qui dessine des stries très serrées.
x 5570



S. haematobium N / B. truncatus E. Greffon 48 h. MET.

Fig. 112. Détail. Corps résiduels (CR) au centre de la zone réactionnelle.
x 11500

Fig. 113. Détail. Arrangement particulier des granulocytes au-dessus des microvillosités du ver (mv).
x 4160

Fig. 114. Détail. Jonctions (/) entre les filopodes (F) des granulocytes et l'extrémité d'un hyalinocyte (HY).
x 16400

Fig. 115. Hyalinocyte (HY) étranglé par des granulocytes.
x 5540

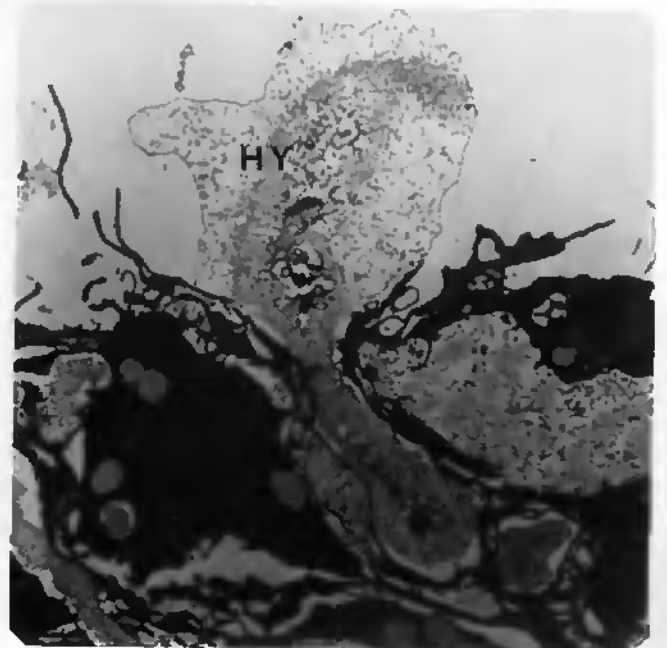
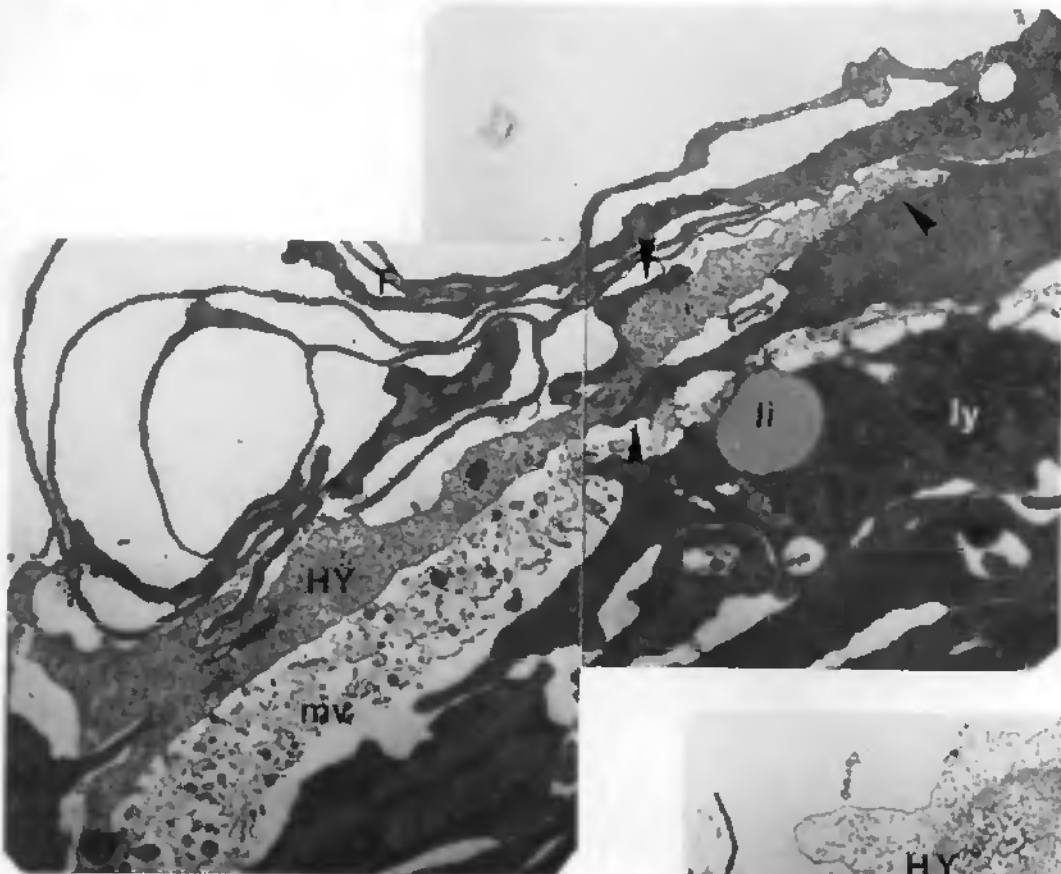
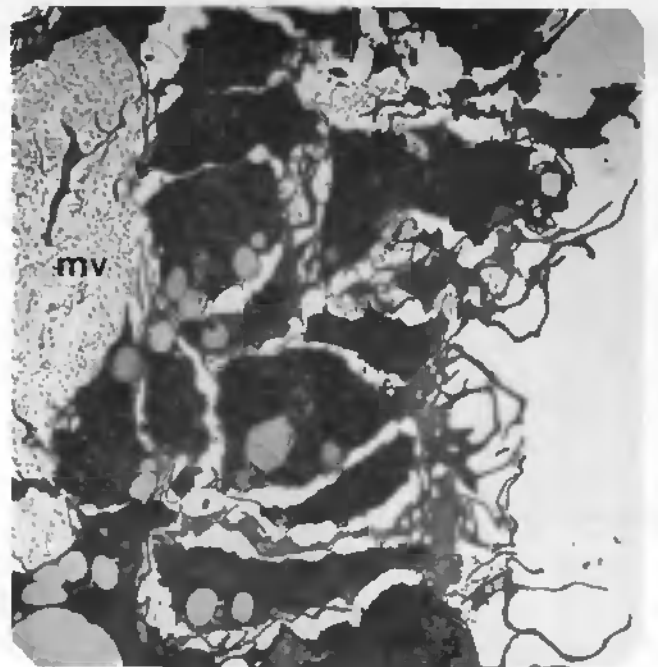
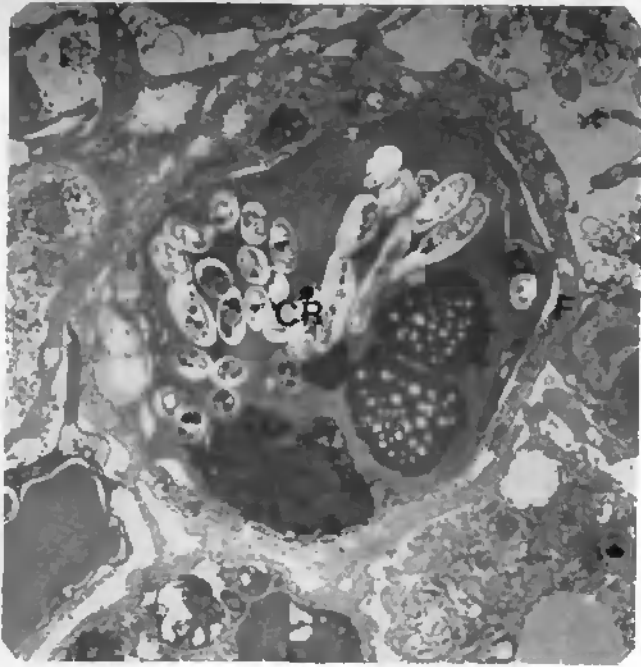


Fig. 116. S. mansoni B / B. truncatus E. Greffon 2 h.

Schéma.

Le sporocyste (SP) et les cercaires (CE) sont en parfait état. Seuls quelques granulocytes ronds sont visibles à la surface du greffon (⚡)



S. mansoni B / B. truncatus E. Greffon 2 h. MET.

Fig.117. Détail du tégument du sporocyste (SP) avec ses microvillosités (mv), sa musculature (mu) et ses réserves lipidiques (li).
x 24650

Fig.118. Granulocyte rond avec son noyau (n), des lysosomes (ly), du réticulum endoplasmique granulaire (reg), et des vacuoles lipidiques (li). On aperçoit les microvillosités du ver (mv) et du matériel fibrillaire (mf).
x 14000

Fig.119. Tégument cercarien (CE) en mauvais état (⚡) et muscles isolés (mu).
x 16400

Fig.120. Capsule lâche avec un hyalinocyte parmi des granulocytes.
x 7100

Fig.121. Granulocytes (GR) au-dessus d'un greffon où le sporocyste (SP) est dégénéré. On peut encore suivre les microvillosités (mv) mais le tissu larvaire est lacuneux.
x 4160

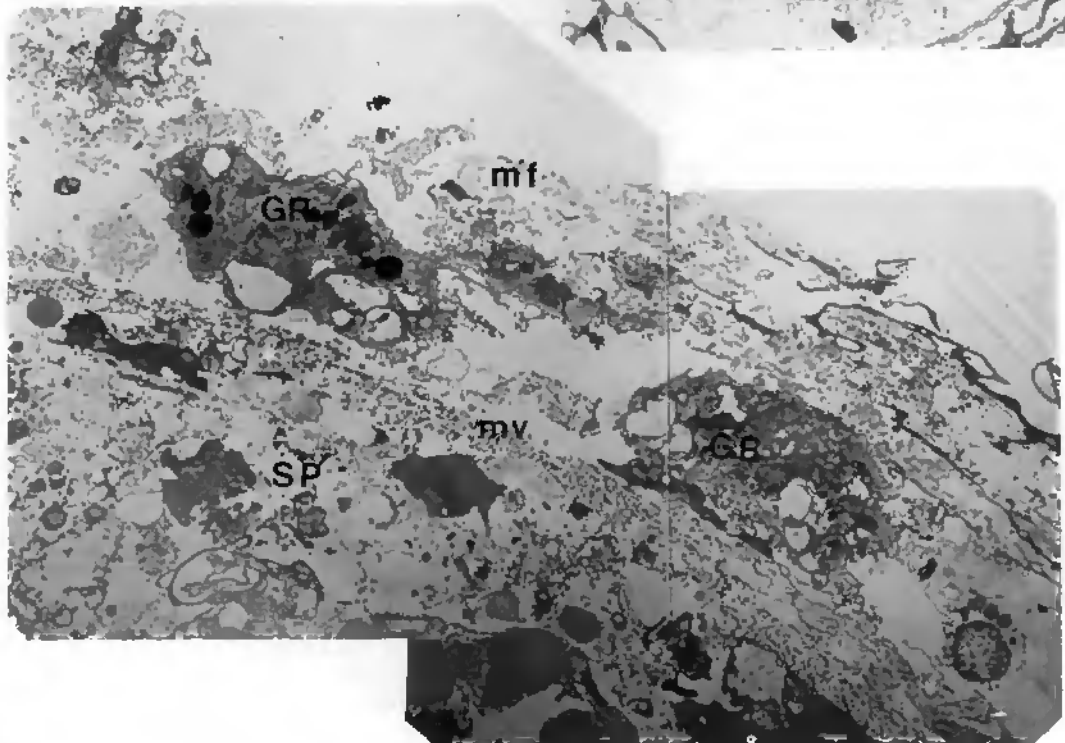
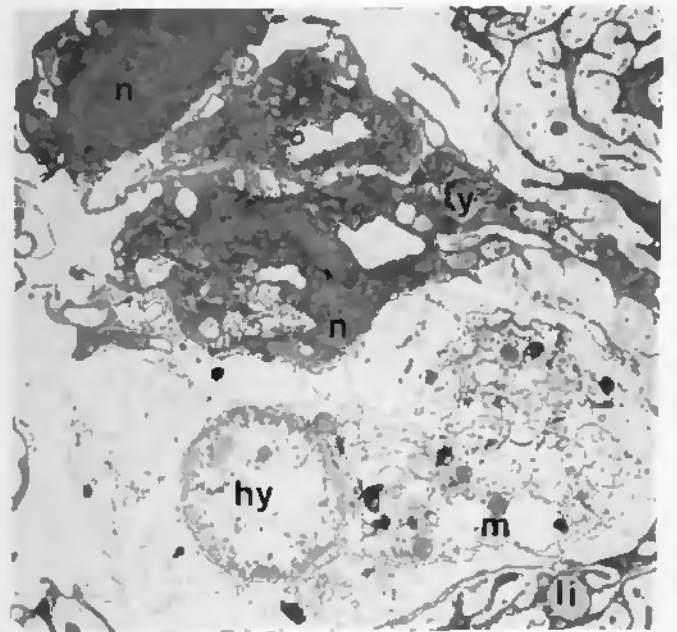
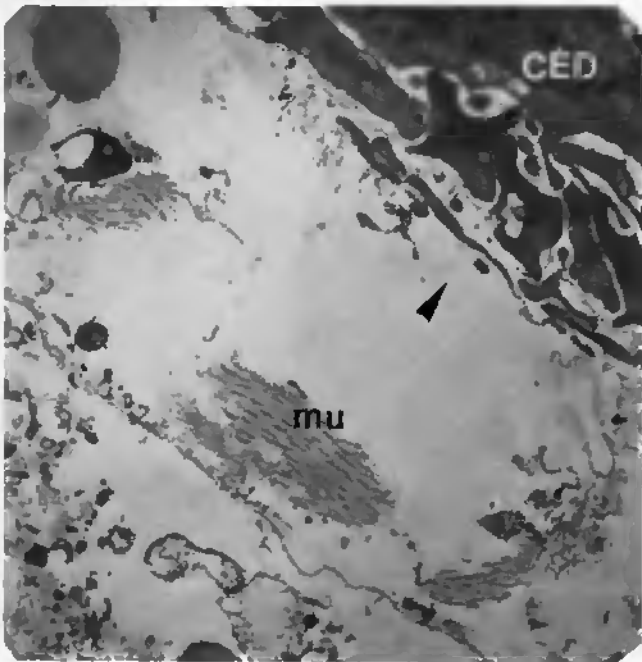
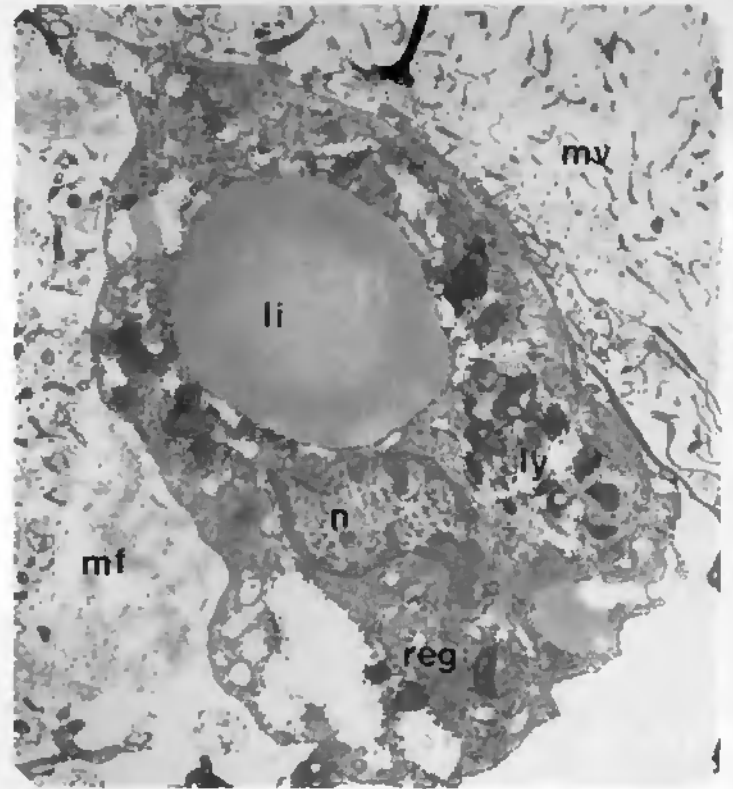
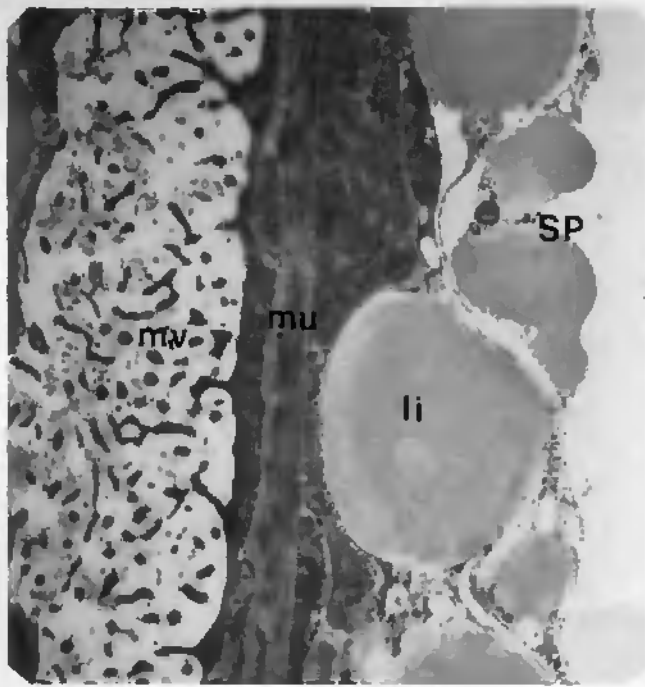
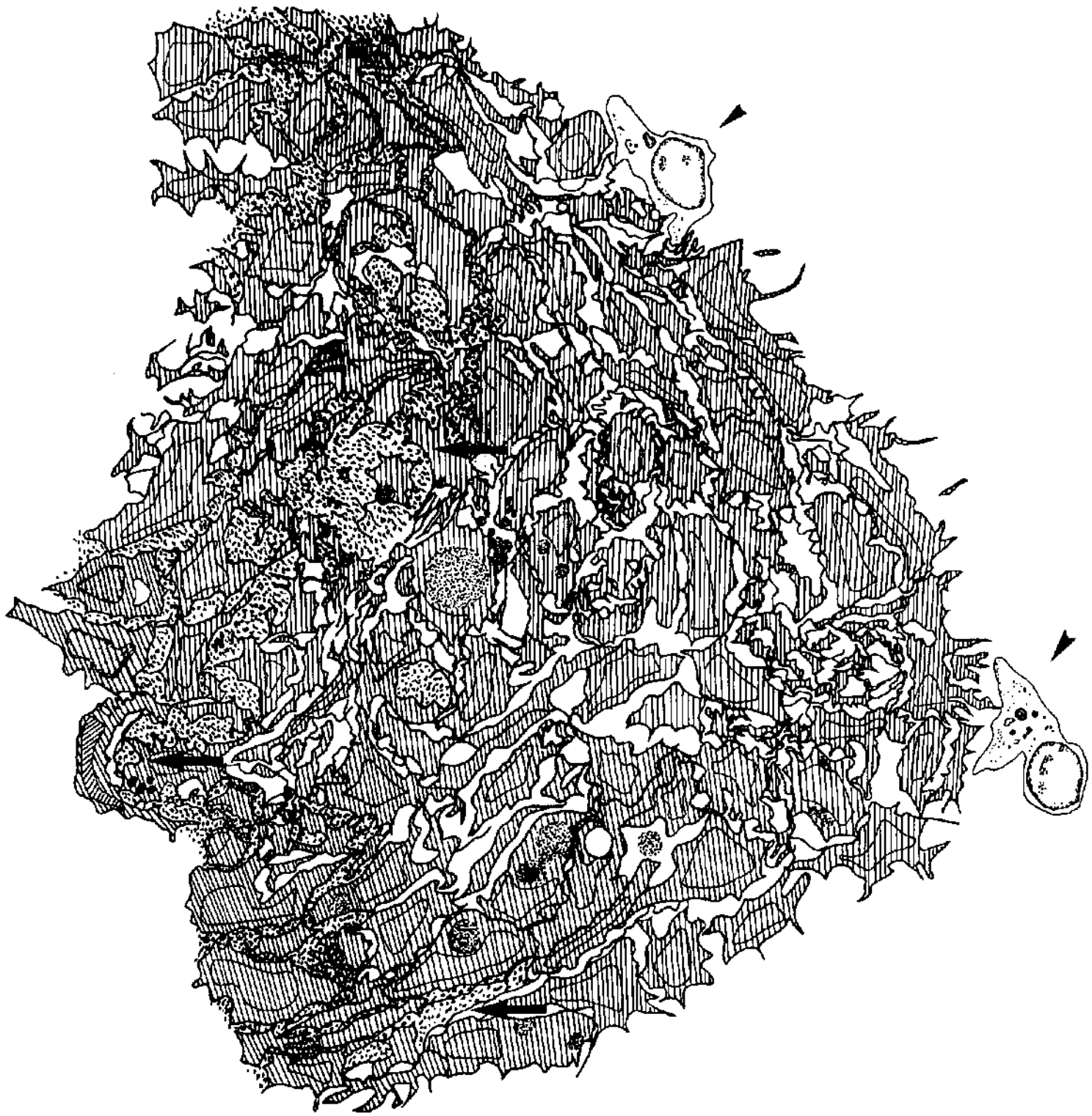


Fig. 122. S. mansoni B / B.truncatus E. Greffon 24 h.

Schéma.

On note quelques traces de microvillosités du ver (grandes flèches) et des hyalinocytes (⚡) dans la zone externe de la réaction. Le ver est complètement dissocié.

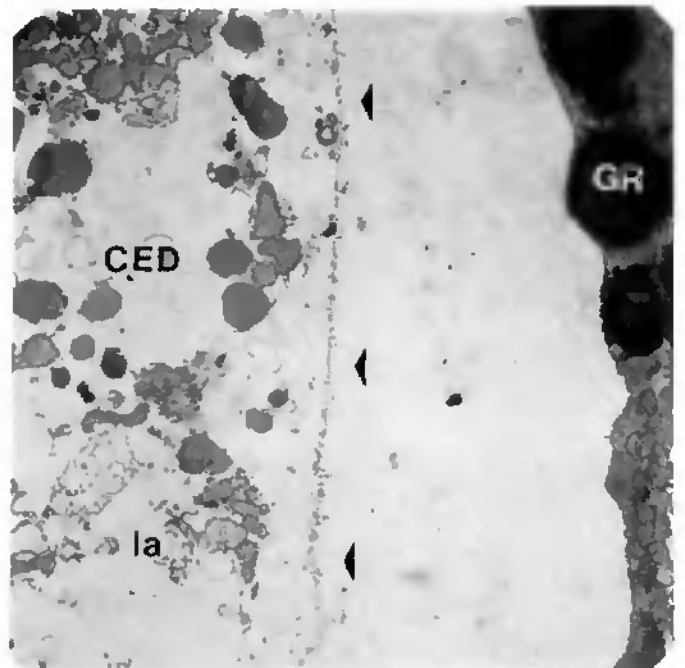
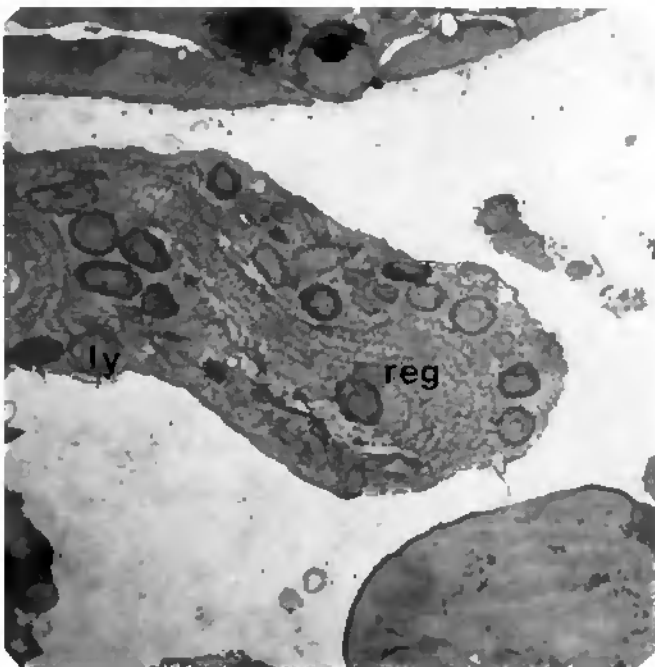


S. mansoni B / B. truncatus E. Greffon 24 h. MET.

Fig. 123. La dissociation du ver est presque complète. Les structures cercariennes sont en voie de destruction (CED). On voit des corps denses (cd) et des mitochondries libres (m). A une extrémité, la musculature de la cercaire (mu) s'est groupée de façon particulière. La capsule (cap) reste dans une zone de bordure.
x 2600

Fig. 124. Détail. Cellule dense avec un abondant réticulum endoplasmique granulaire (reg) et des lysosomes (ly). On la trouve dans la zone de destruction.
x 16400

Fig. 125. Détail. Tégument cercarien à l'état de trace (▼). On observe des lacunes (la) à l'intérieur du ver et un granulocyte (GR) en surface.
x 14000



S. mansoni B / B. truncatus E. Greffon 24 h. TEM.

- Fig. 126. Détail. Granulocytes étirés dans la capsule avec leur réserves lipidiques (li), glycogéniques (gly) et leur filopodes (F).
x 14000
- Fig. 127. Détail. Accumulation de granulocytes autour des microvillosités (↗) du sporocyste qui ont été emportées vers le bord du greffon.
x 2750
- Fig. 128. Détail. Filopodes phagocytant des microvillosités (mv) (↗).
x 10950
- Fig. 129. Détail. Zone externe de la capsule. Hyalinocyte (HY) entouré par les filopodes (F) des granulocytes (GR).
x 8200
- Fig. 130. Détail. Matériel fibrillaire (mf) à l'intérieur du hyalinocyte (HY). Des filopodes (F) s'insinuent dans le cytoplasme du hyalinocyte en traversant la membrane plasmique.
x 16400
- Fig. 131. Détail. Filopode traversant la membrane plasmique (mp) du hyalinocyte.
x 57500

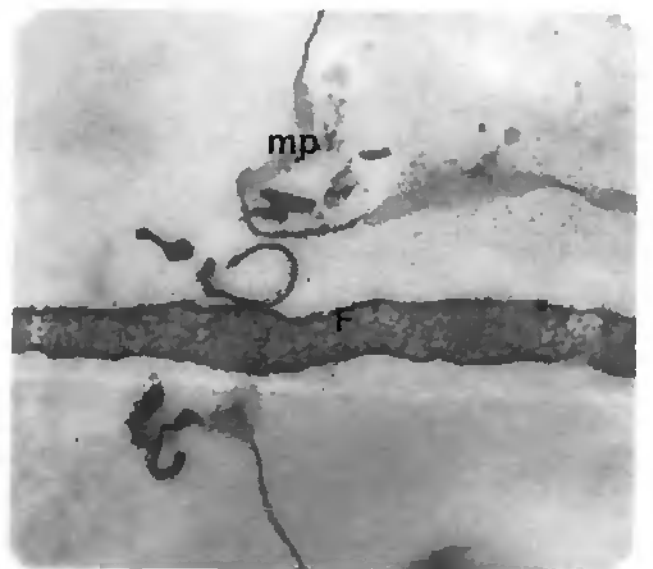
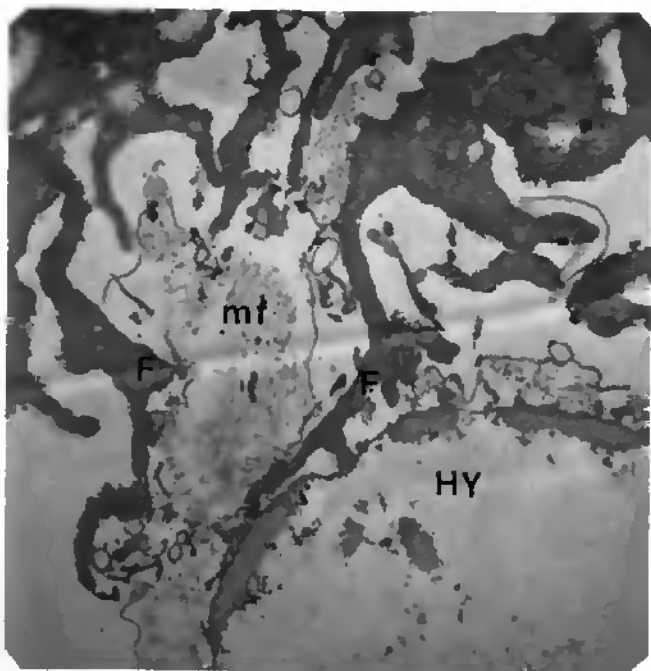
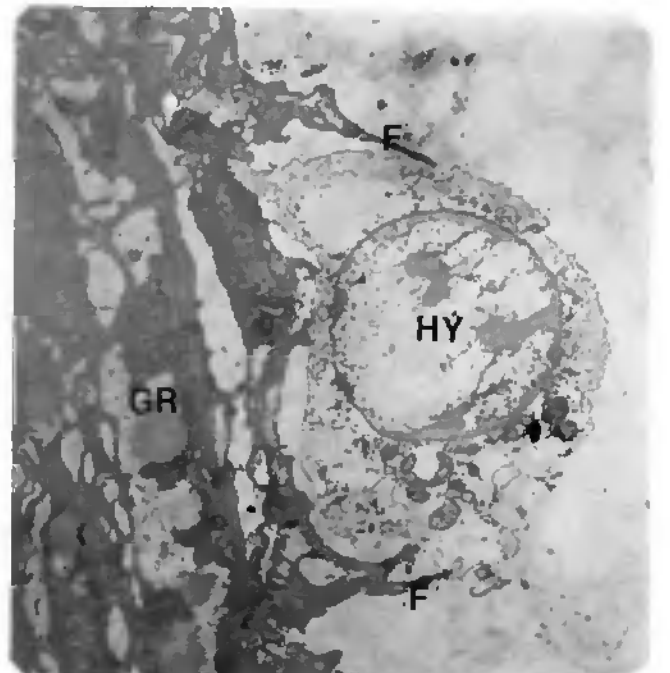
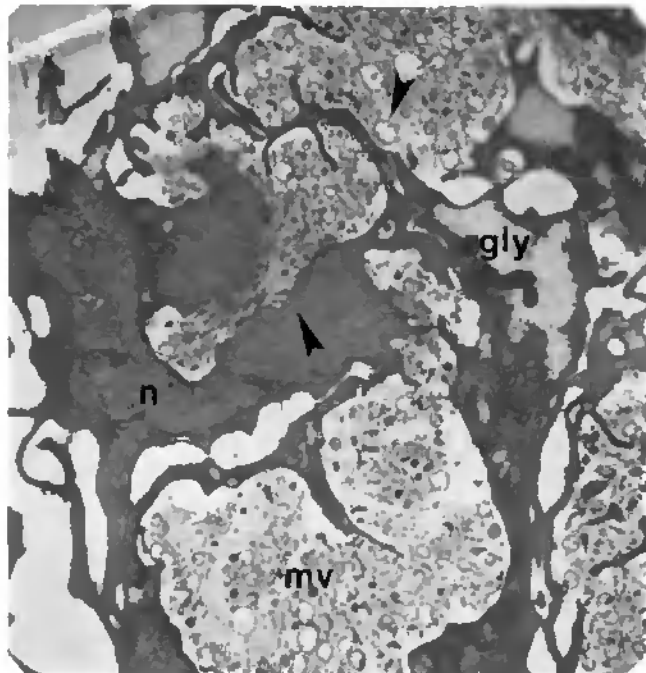
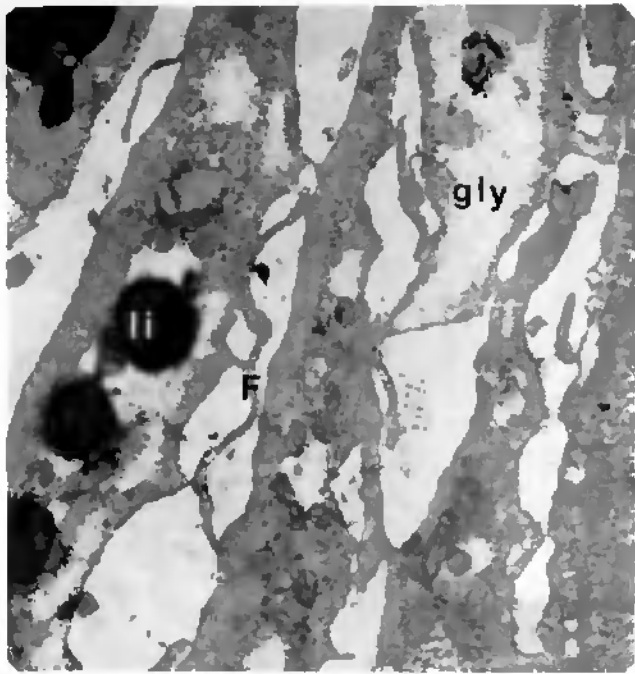
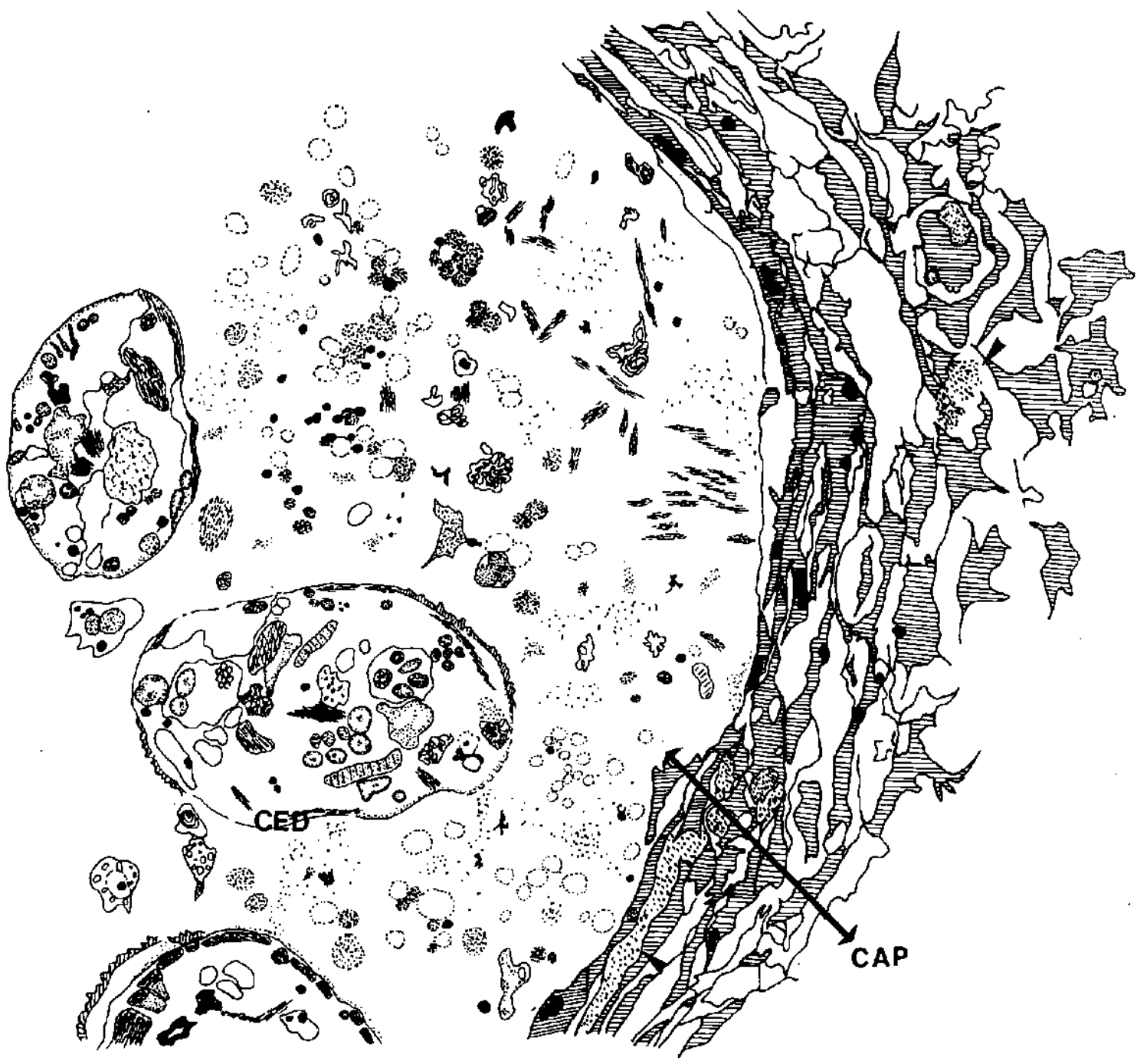


Fig.132. S. mansoni B / B. truncatus E. Greffon 48 h.
Schéma.

Le ver est dissocié. On voit des traces des
cercaires (CED) sous une importante capsule
(CAP). Quelques microvillosités sont encore
phagocytées (⚡).

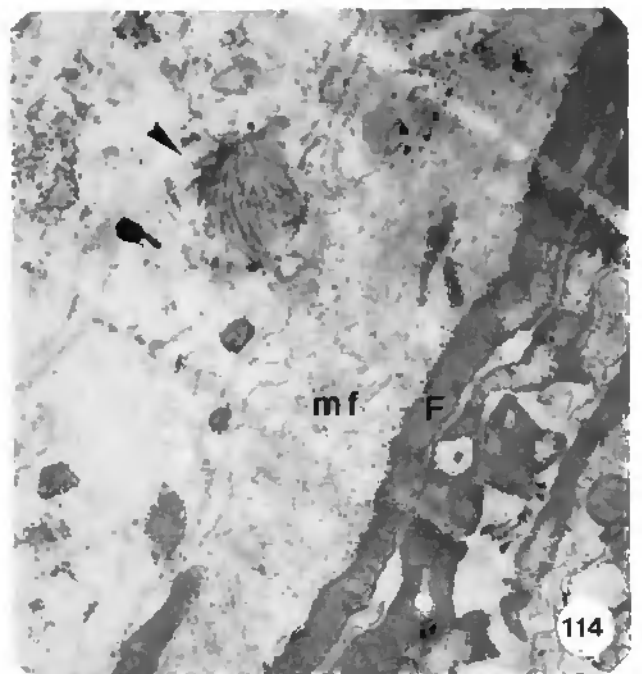
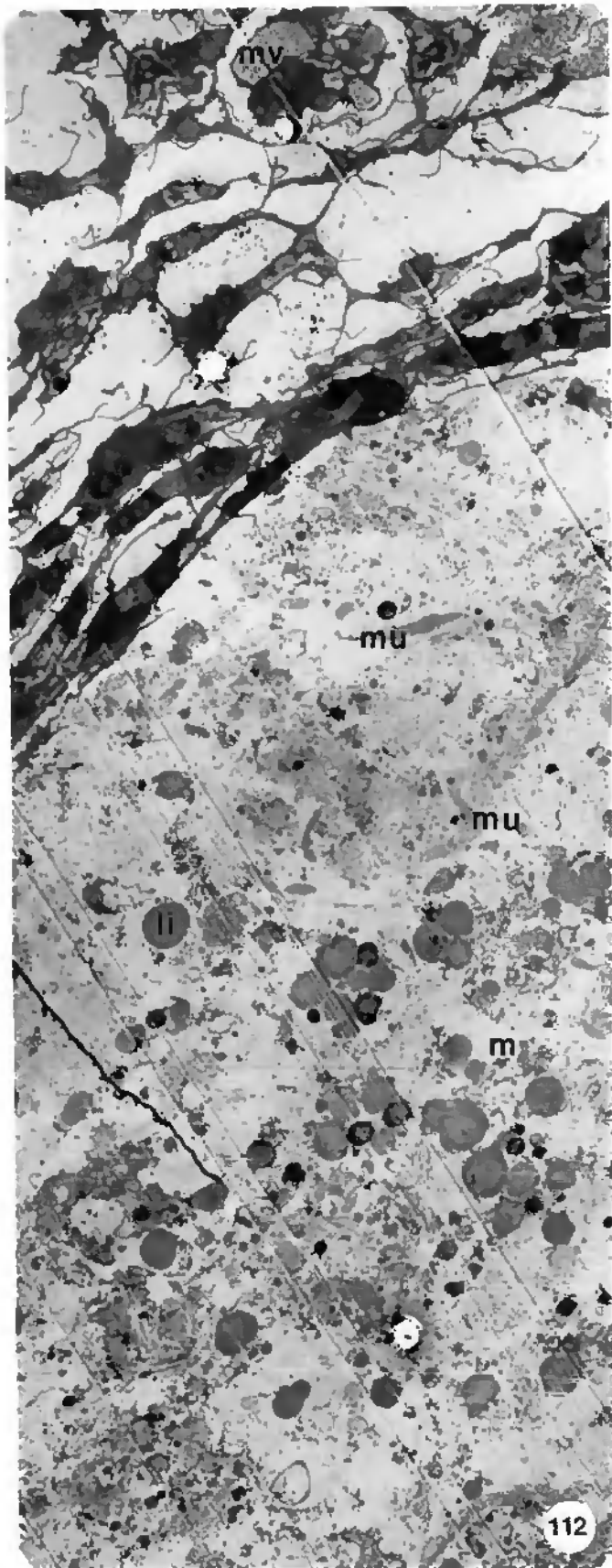


S. mansoni B / B. truncatus E. Greffon 48 h. MET.

Fig. 133. Le ver est complètement désagrégé. Il ne reste que quelques traces de son existence sous la forme de cellules musculaires isolées (mu), des mitochondries (m). La capsule est lâche mais entoure la zone de destruction de façon continue. Les microvillosités (mv) ont été emportées vers l'extérieur.
x 2600

Fig. 134. Détail. Capsule plate. Les granulocytes sont très étirés. n = noyau des granulocytes.
x 2750

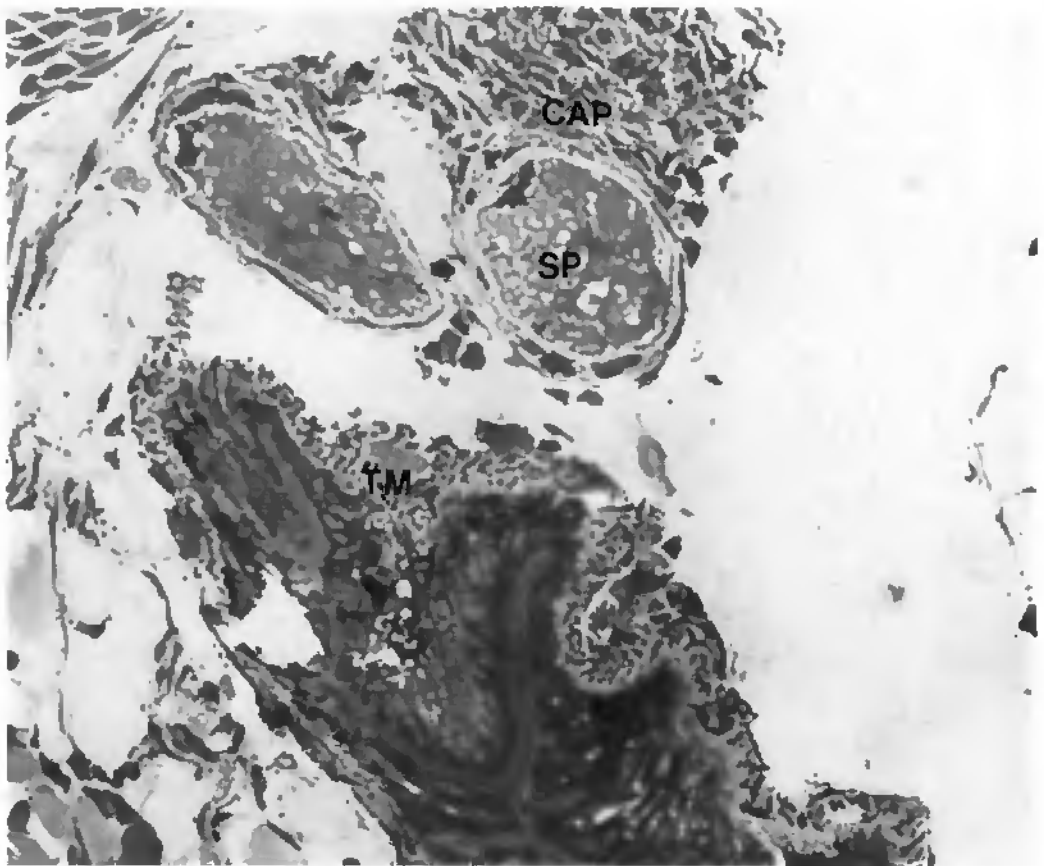
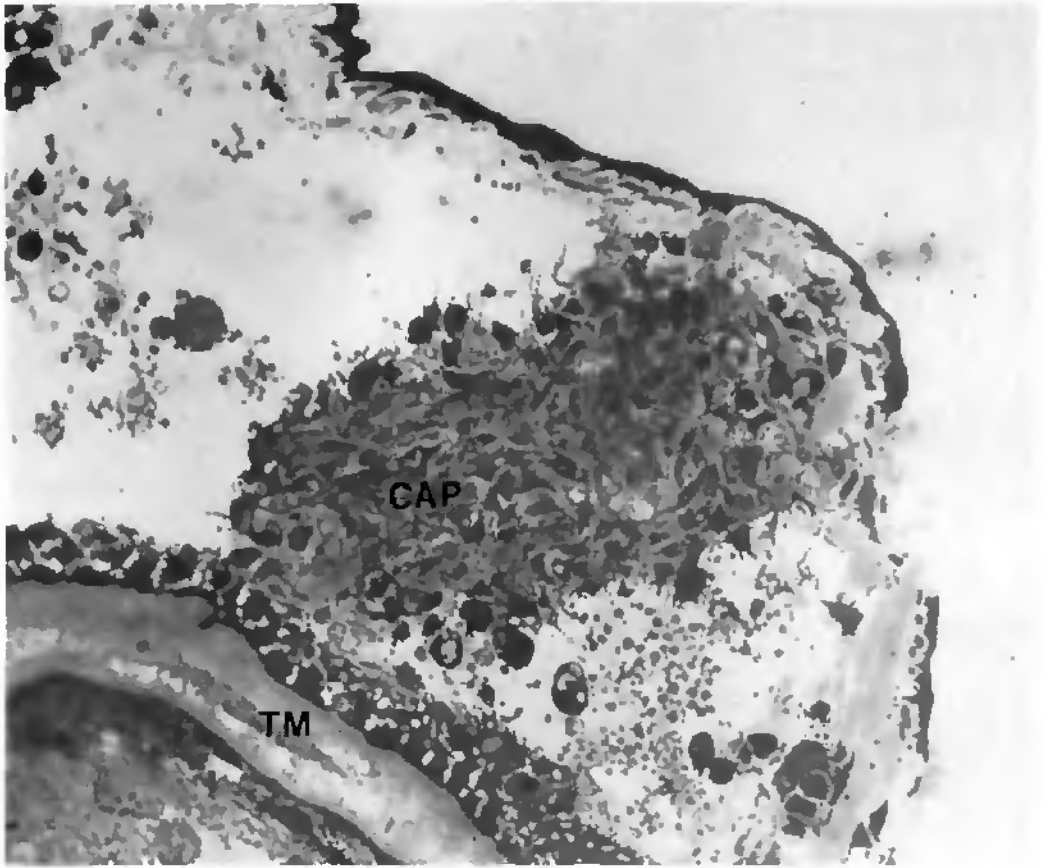
Fig. 135. Détail. Muscles isolés (↙) et matériel fibrillaire (mf) immédiatement sous la capsule.
F = filopode
x 164000



S. mansoni B / O. hupensis J. Greffon 2 h. M0.

Fig. 136. Accumulation intense d'hémocytes formant une capsule (CAP). TM = tissu du mollusque.
x 510

Fig. 137. Coupe montrant la capsule (CAP) et le tissu du sporocyste (SP) déjà lacuneux.
TM = tissu du mollusque
x510



S. mansoni B / O. hupensis J. Greffon 24 h. MO.

Fig. 138. Vue générale de l'implant au sein du tissu du mollusque (TM).
x 250

Fig. 139. On reconnaît une cercaire (CE) et des cercaires embryonnaires (CEE) à l'intérieur du sporocyste (SP). La cercaire présente des épines (↙).
TM = tissu du mollusque
x 510

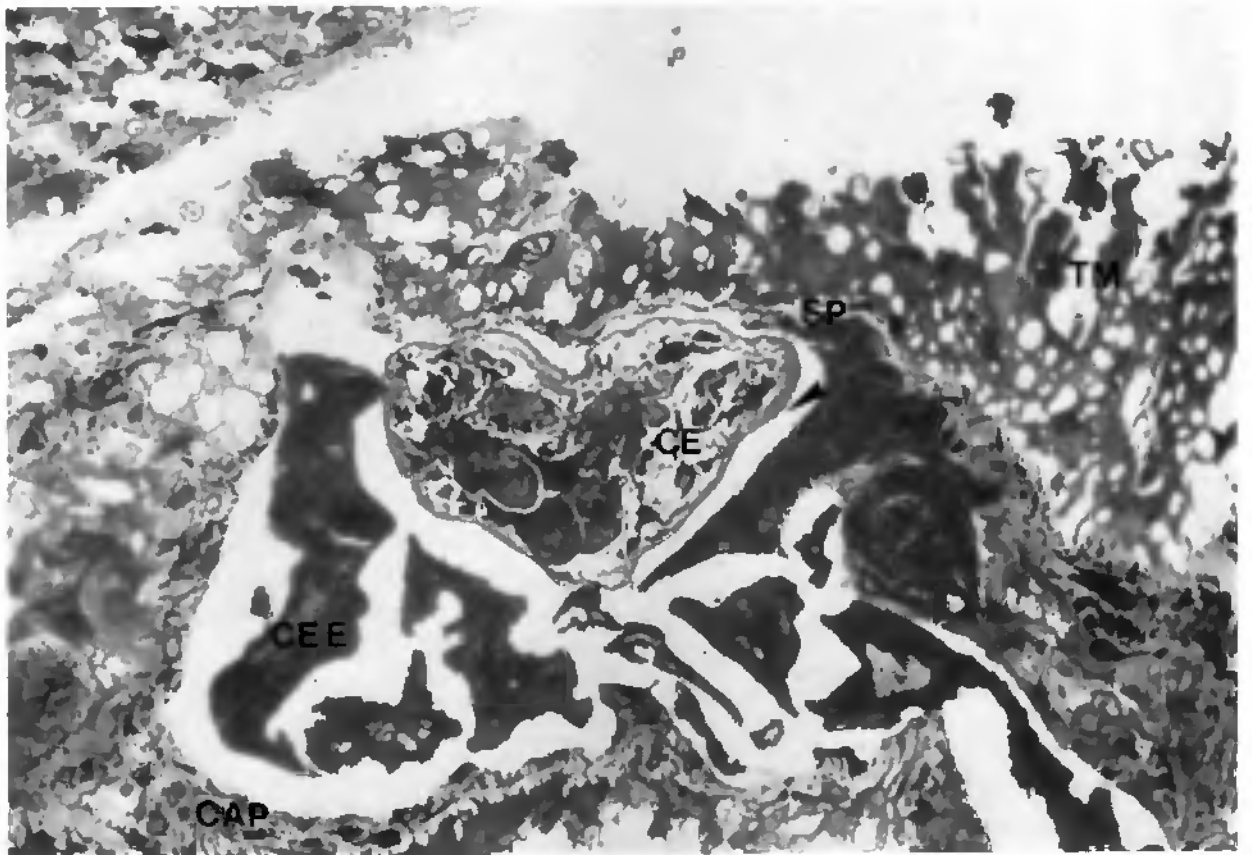
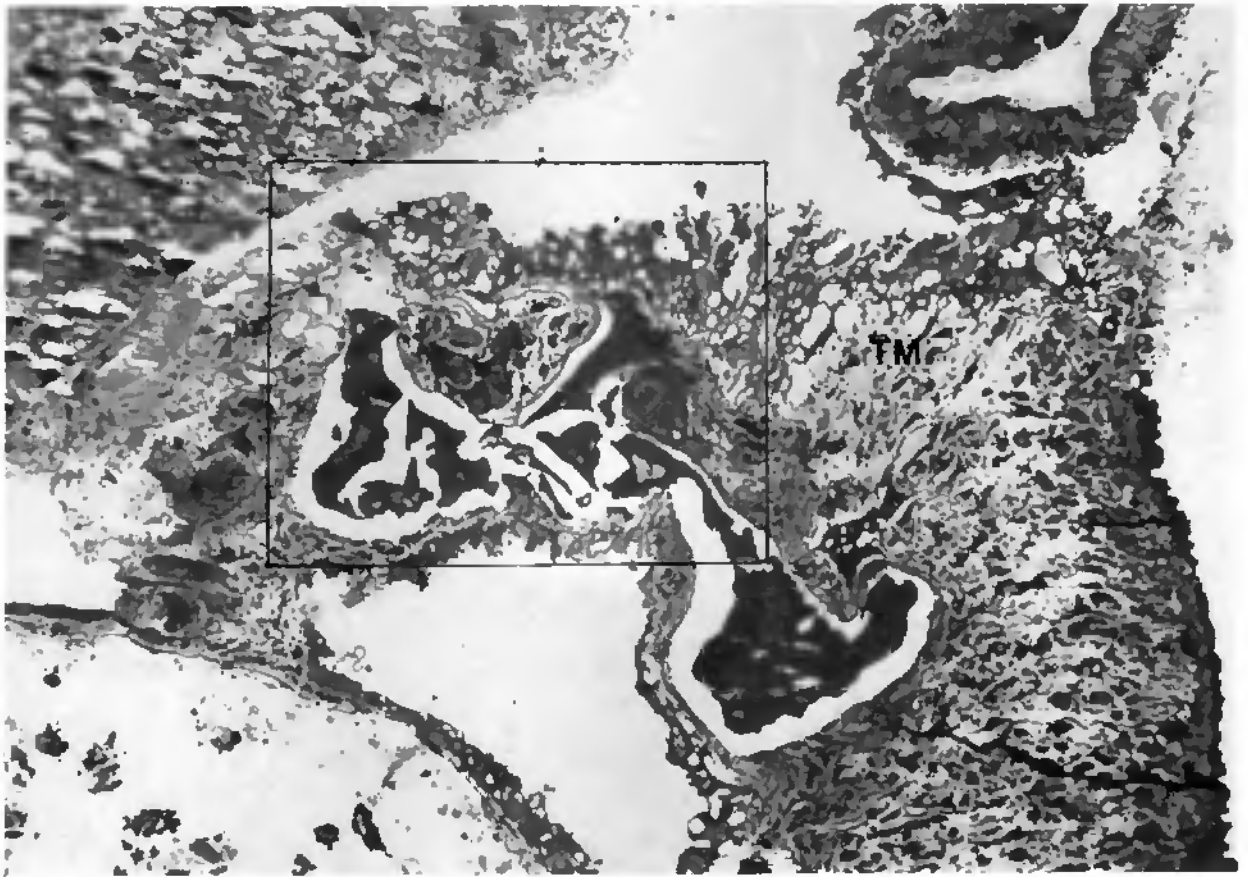


Fig.140. S. mansoni B / O. hupensis J. Greffon 48 h.
Schéma.

Le ver (SP) est détruit et présente
des grandes lacunes (LA). Les granulocytes (GR)
forment une capsule lâche où se rencontre aussi
des hyalinocytes (▲) et les traces de tissus
dégradés.



528 1027
416

S. mansoni B / O. hupensis J. Greffon 48 h. MET.

- Fig. 141. Les granulocytes (GR) séparent des faisceaux musculaires dissociés (mu) d'un matériel très dense (★) provenant de la dégradation des microvillosités du ver.
x 5540
- Fig. 142. Phagocytose des microvillosités (mv) par les granulocytes (GR).
x 5540
- Fig. 143. Zone externe de la capsule. Détail. Déversement d'un granule lipidique (li) hors de la zone réactionnelle.
x 4160
- Fig. 144. Zone externe de la capsule. Hyalinocytes (HY) entourés par les filopodes (F) des granulocytes.
x 7100

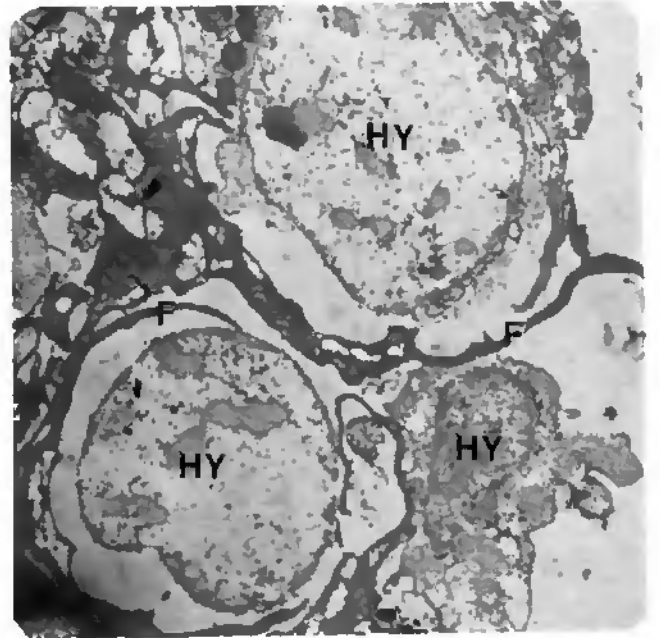
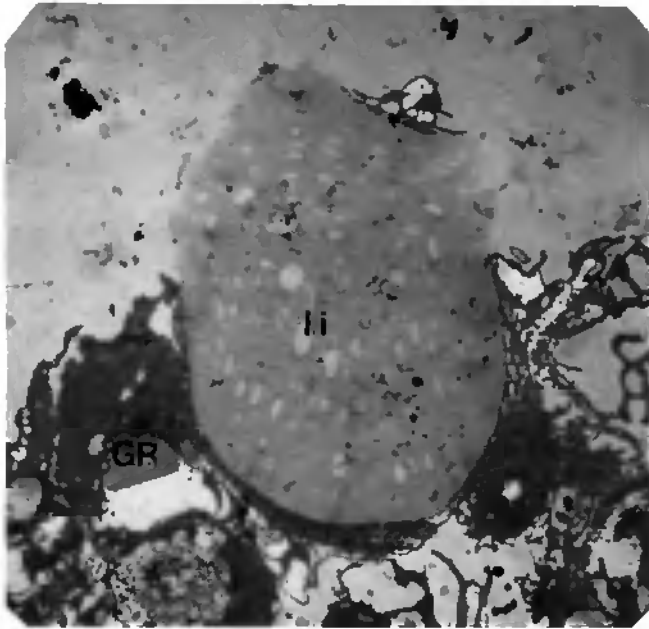
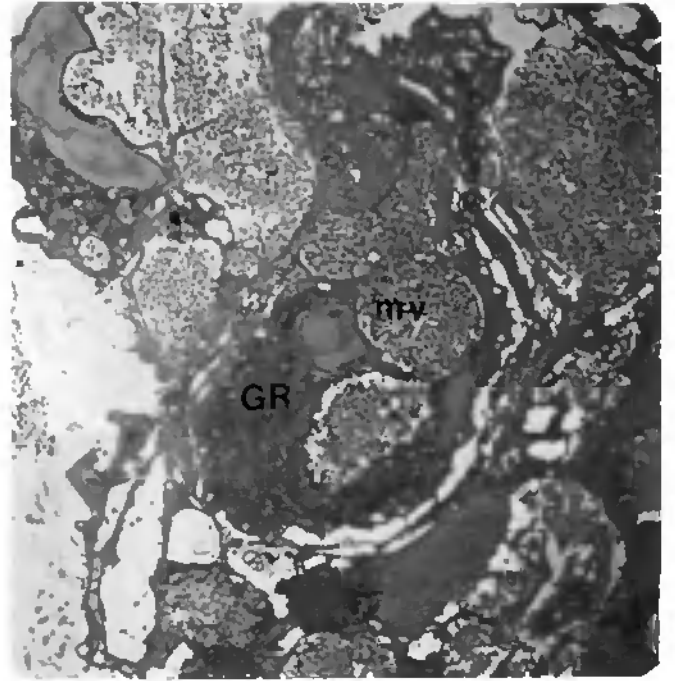
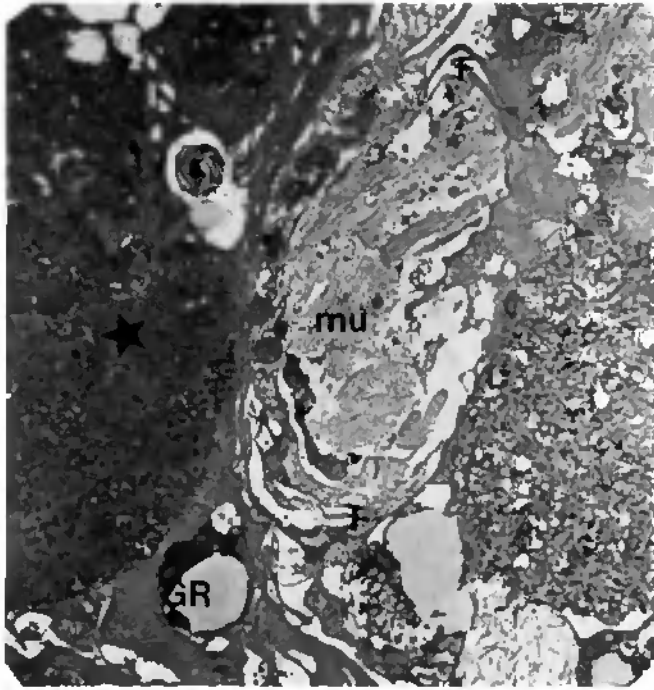


Fig. 149. Phagocytose des hyalinocytes par les granulocytes.

- a) Hyalinocyte (HY) recouvert par un granulocyte (GR). MEB.
x 5080
- b) Les filopodes (F) du granulocyte entourent un hyalinocyte dont on reconnaît le noyau (n).
x 5540
- c) Les filopodes se sont rejoints et forment une vacuole dans laquelle s'insinue encore l'extrémité d'un filopode.
x 10950
- d) Le processus continue. Le hyalinocyte semble se rétracter. Son noyau (n) est très peu dense.
x 7750
- e) Il ne reste plus guère que le noyau (n) et du matériel dense qui semble être encore phagocyté (▲) par un granulocyte (GR).
x 11500
- f) Détail. L'infiltration des filopodes (F) rompt la membrane plasmique du hyalinocyte comme pour isoler le noyau (n) du reste des constituants cellulaires.(▲)
x 26900

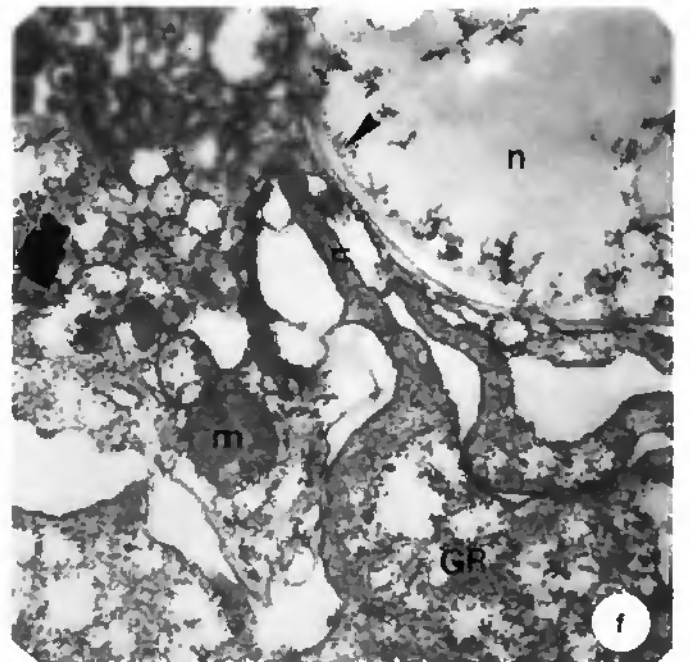
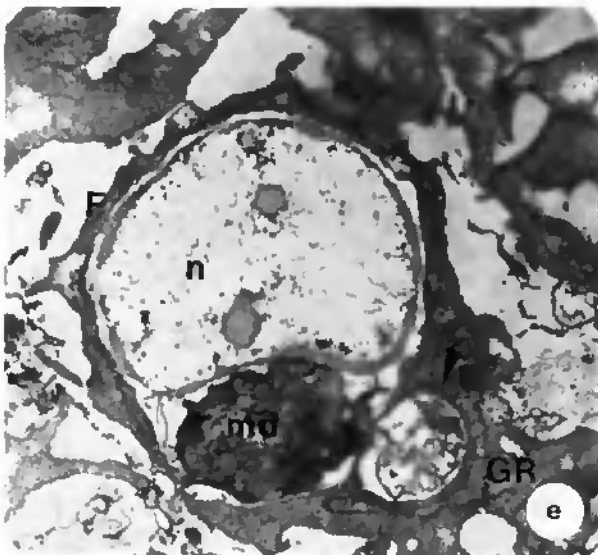
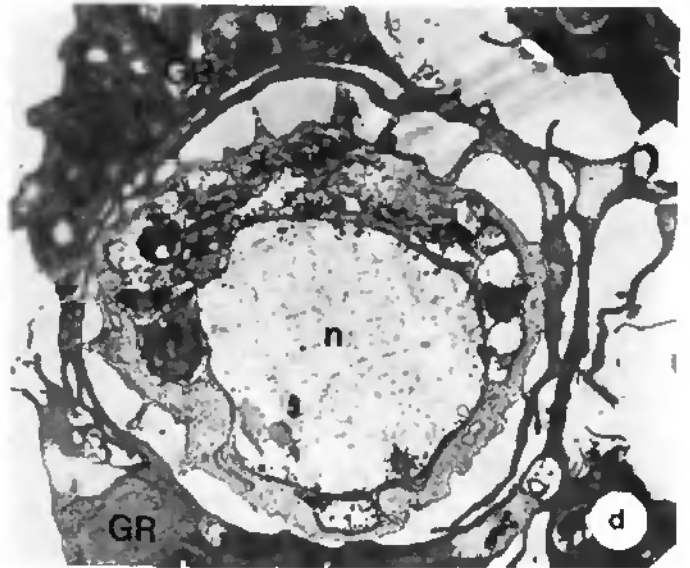
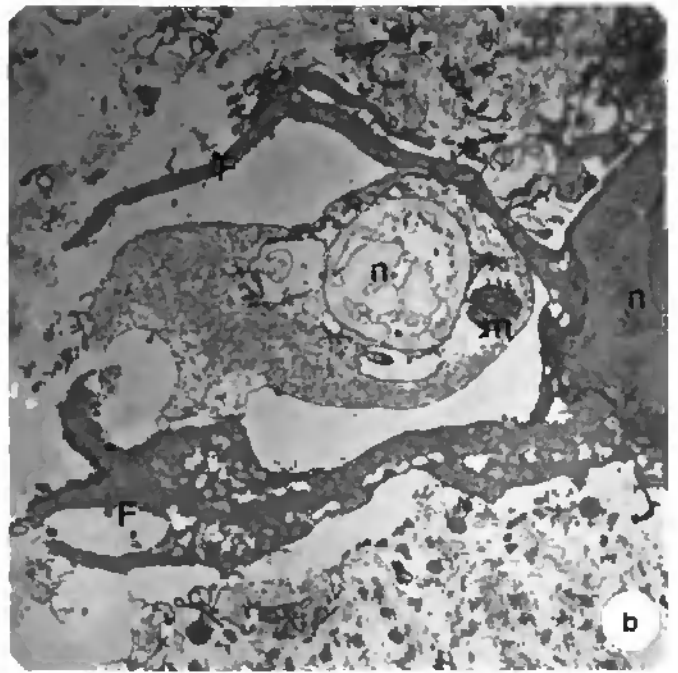
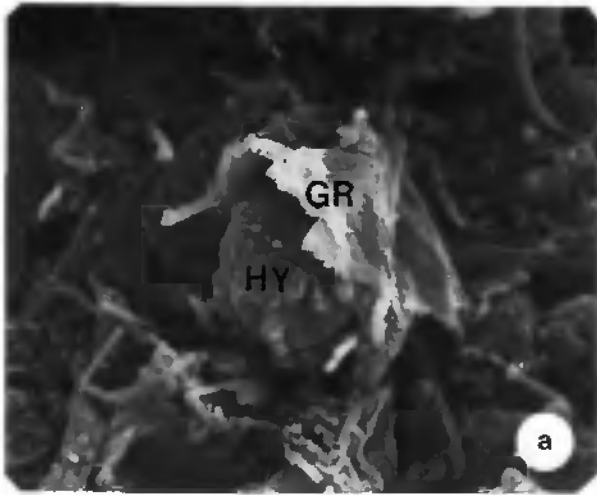


Fig. 150. Cytoplasme des hyalinocytes. Evolution. MET.

- a) Cytoplasme relativement dense avec des inclusions lipidiques (li), du glycogène (gly) et des mitochondries (m).
x 31600
- b) Cytoplasme en deux zones délimitées : endo- et ectoplâsme.
x 7750
- c) Les organelles restantes sont groupées à une extrémité de la cellule.
x 7750
- d) Le volume cytoplasmique diminue.
x 5570
- e) Une partie du cytoplasme est vidée de toute organelle (▲). Le noyau (n) est déformé.
x 11500

Fig. 151. Marginalisation de la chromatine dans un noyau de hyalinocyte (n).

- hp = hétérochromatine périphérique
- mf = matériel fibrillaire dans le cytoplasme
- x 17850

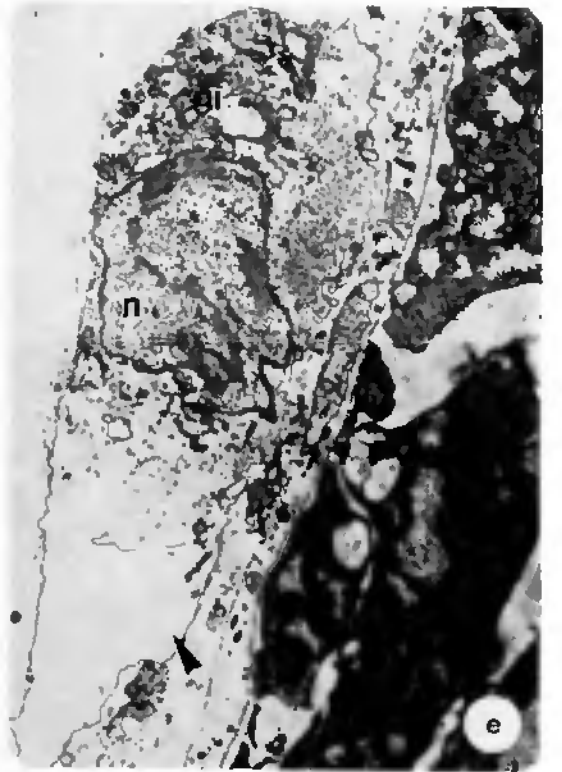
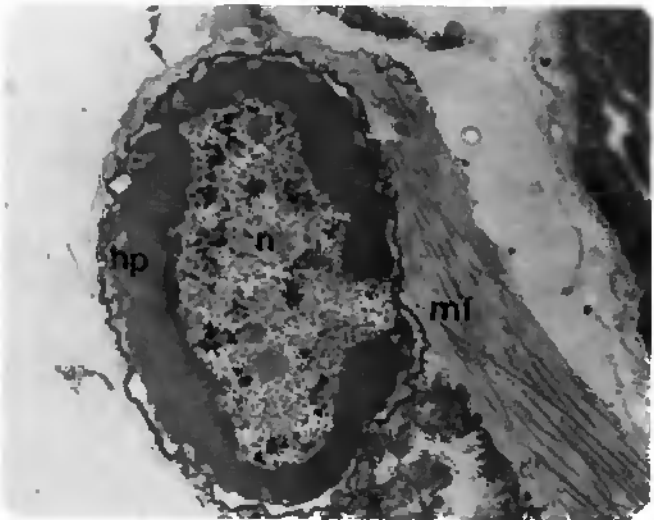
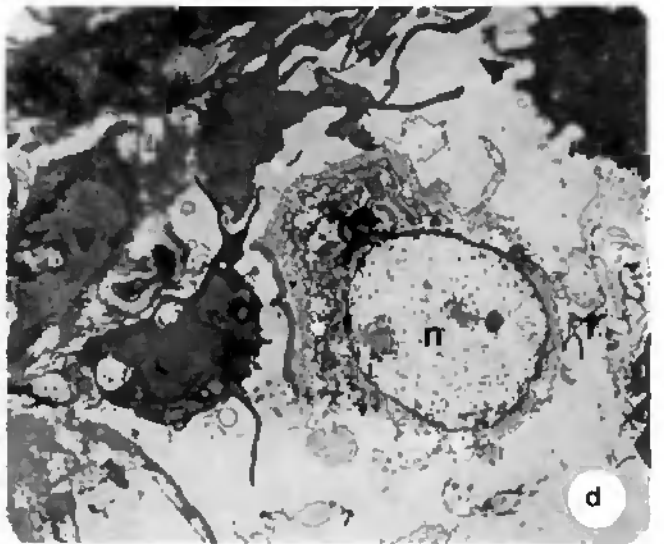
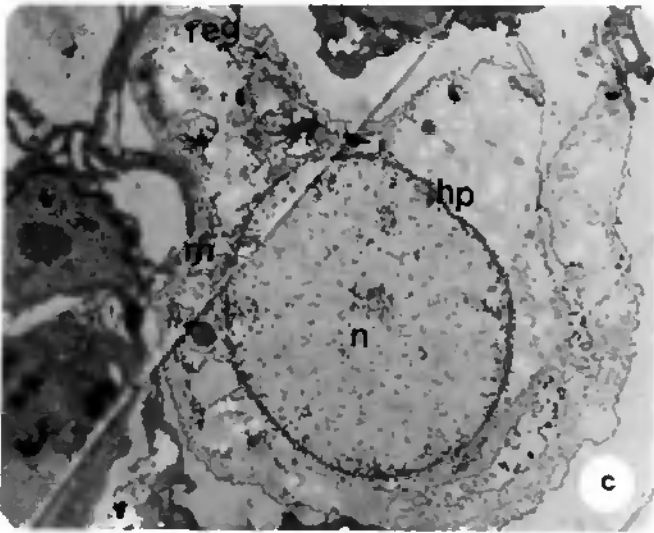
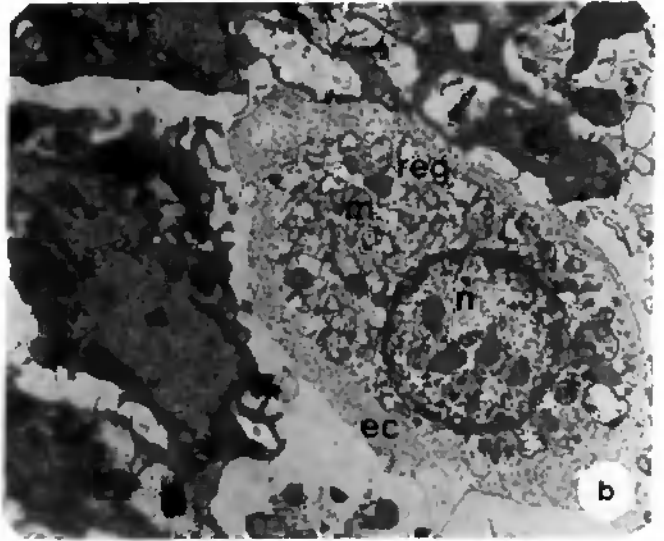
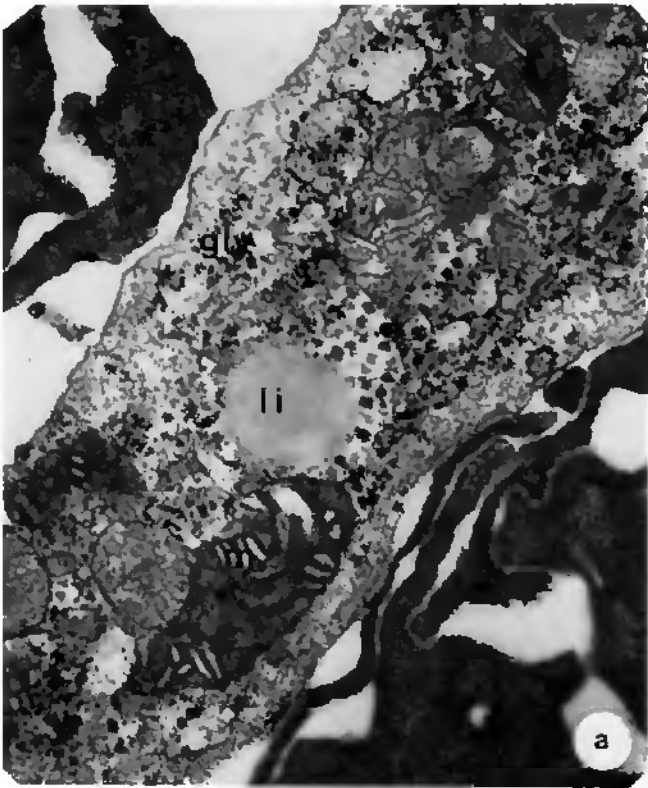


Fig. 152. Granulocyte. MET.

a) Matériel fibrillaire (mf) dans le cytoplasme.
x 24500

b) Détail. Sortie du matériel fibrillaire (mf)
par l'extrémité de la cellule.
x 51900

Fig. 153. Vacuole de phagocytose formée par la réunion des
filopodes (F) de granulocytes.
N = noyau des granulocytes.
x 17850

Fig. 154. Phagocytose d'une microvillosité par un
granulocyte (▲).
x 38300

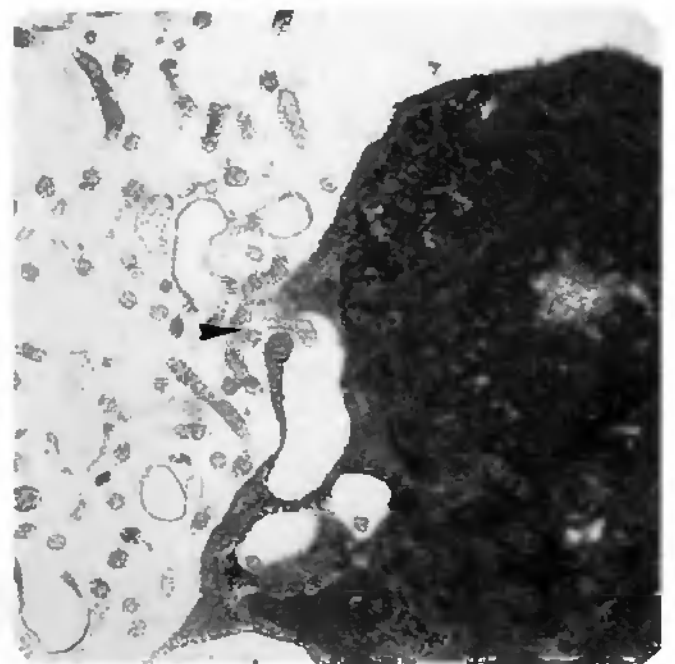
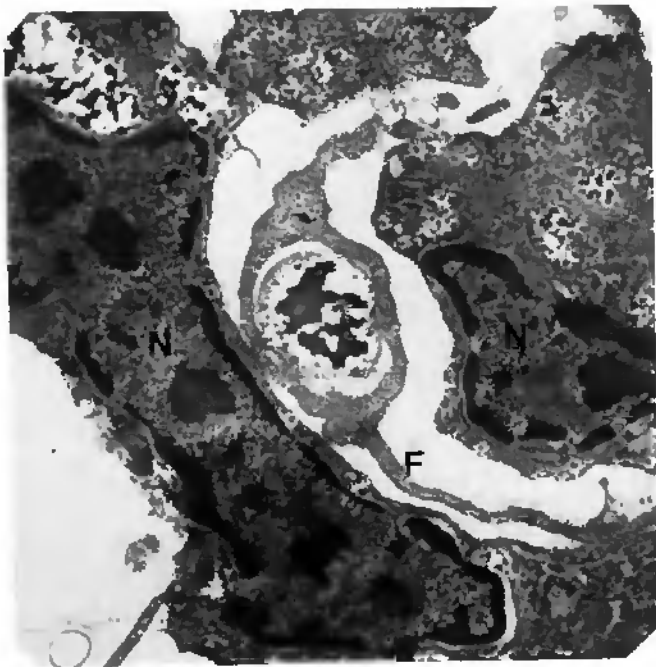
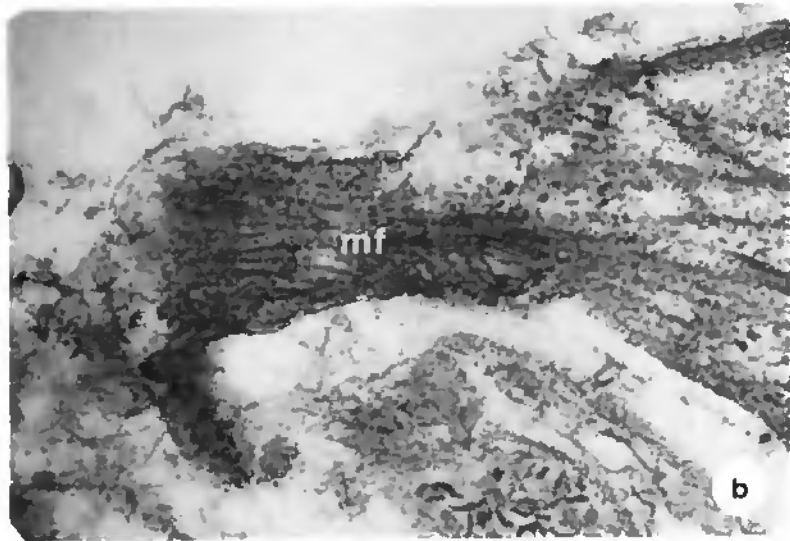
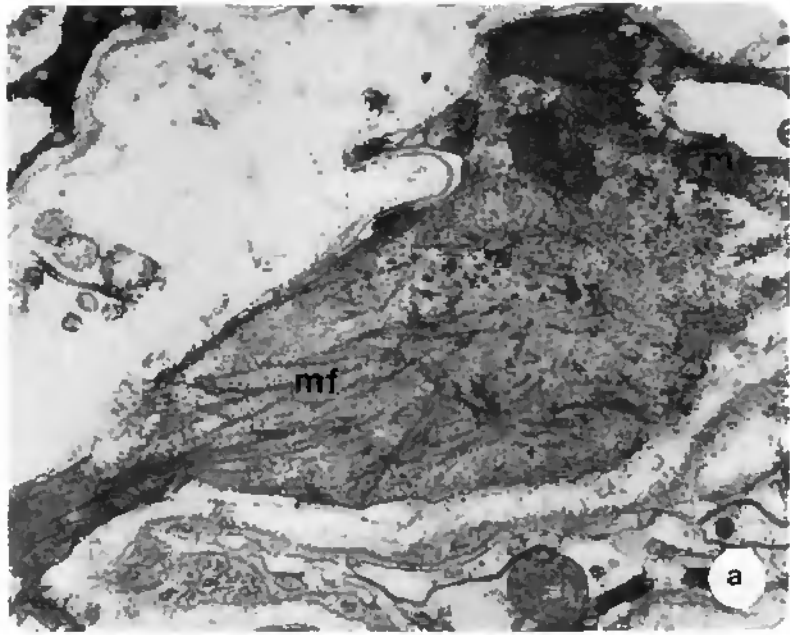


Fig. 156. Représentation schématique de l'évolution d'un granulocyte de B. glabrata au contact d'un support.
Tous les stades sont représentés à la même échelle.

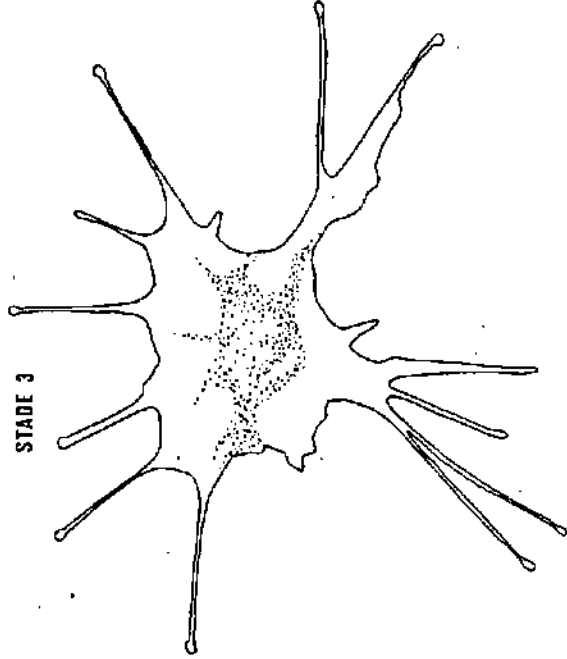
STADE 1



STADE 2



STADE 3



STADE 4



STADE 5

