ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome 51

1976

N° 1

Annales de Parasitologie (Paris), 1976, t. 51, n° 1, pp. 1 à 14.

MÉMOIRES ORIGINAUX

Recherches cytochimiques approfondies sur les Microsporidies parasites du Crabe vert de la Méditerranée, *Carcinus mediterraneus* Czerniavsky, 1884

par C.-P. VIVARES, C. LOUBES et G. BOUX

Laboratoire de Zoologie I,

Université des Sciences et Techniques du Languedoc F 34060 Montpellier Cédex

Résumé.

L'étude cytochimique des Microsporidies de *Carcinus mediterraneus* permet de faire les remarques suivantes : existence chez *Thelohania maenadis* de mucopolysaccharides intrasporoblastiques, acides ou très acides, réagissant comme des sulfomucines et s'opposant à des mucosubstances externes, non sulfatées et riches en groupements électronégatifs ; *Nosema pulvis* a une composition en mucopolysaccharides proche de *Nosema orthocladii*. Les deux espèces sont également caractérisées par la richesse en protéines soufrées de leurs enveloppes sporales et par l'absence de substances de réserve.

Summary.

Further cytochemical researches on Microsporidia parasites of the Mediterranean Shore Crab, *Carcinus mediterraneus* Czerniavsky, 1884.

A cytochemical study of Microsporidia in *Carcinus mediterraneus* points out the following data : acid or very acid intrasporoblastic mucopolysaccharides, are found in *Thelohamia maenadis* which react as sulfomucins in opposition to external asulfated mucosubstances rich in electronegative groups.

In *Nosema pulvis*, the mucopolysaccharid compound is nearly equivalent of that of *Nosema orthocladii*. Both species are also characterized by the abundance of sulfured proteins in their spore walls and the lack of stock substances.

Annales de Parasitologie humaine et comparée (Paris), t. 51, n° 1

I

Depuis plusieurs années, des recherches cytochimiques comparées sont effectuées sur diverses espèces de Microsporidies (Maurand et Bouix, 1969 ; Maurand et Loubès, 1973 ; Bouix, Loubès et Maurand, 1974). Les tests histochimiques classiques permettent de mieux comprendre certaines particularités structurales ou autres de ces parasites intracellulaires : nature des enveloppes sporales, sécrétion au cours de la sporoblastogenèse, notamment.

Dans un premier temps, les observations ont porté sur des Microsporidies de larves de Simulies : *Thelohania fibrata* (Strickland, 1913), *T. bracteata* (Strickland, 1913), *Pleistophora simulii* (Lutz et Splendore, 1904), *P. debaisieuxi* Jirovec, 1943, *Stempellia simulii* Maurand et Manier, 1968, de larves de Chironomes : *Nosema orthocladii* Coste-Mathiez et Manier, 1968, de l'Ecrevisse *Austropotamobius pallipes* : *T. contejeani* Henneguy, 1892. Les conclusions étaient les suivantes :

1° D'une manière générale, en cours de sporoblastogenèse, les pansporoblastes réagissent intensément aux tests glucidiques : la présence de mucosubstances acides est générale, liée à ce stade de l'évolution du parasite. Ces mucosubstances apparaissent sous forme de globules ou de trainées, aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des sporoblastes ; dans ce dernier cas, elles sont associées à la spirale du filament polaire. Riches en éléments électro-négatifs, ces éléments fixent fortement le bleu Luxol.

2° Durant la sporogenèse, les enveloppes sporales s'enrichissent en protéines soufrées : les jeunes spores de toutes les espèces sont positives au test de Barnett et Seligman, une minorité seulement conservant cette coloration à maturité (*Pleistophora simulii*, *Thelohania contejeani*). Dans le cas général, il est possible que les protéines s'associent en fin d'évolution à la chitine endosporale (Vavra, 1967) et ne réagissent plus aux tests de détection classiques.

3° Contrairement à la majorité des Protozoaires, les Microsporidies semblent dépourvues de substances de réserve glucidiques ou lipidiques.

Ces premiers résultats nous ont incités à élargir nos observations. De plus, l'utilisation de nouveaux tests permet de mieux préciser ou nuancer la séquence des phénomènes caractérisant la sporoblastogenèse d'une part, la maturation des spores d'autre part.

Matériel et méthodes

Le présent travail porte sur les deux espèces décrites par Pérez (1904, 1905) dans la musculature de *Carcinus maenas*, Linné, 1758, provenant d'Arcachon, et retrouvées sur le Crabe vert méditerranéen, *Carcinus mediterraneus* Czerniavsky, 1884 (les exemplaires ont été récoltés dans divers étangs littoraux languedociens et catalans).

a) *Thelohania maenadis* Pérez, 1904. Récemment redécrite en microscopies photonique et électronique par l'un de nous (Vivarès, 1975), *T. maenadis* présente un pansporoblaste octosporé, arrondi, de 12 μm de diamètre, des spores ovoïdes longues de 4,8 μm , larges de 3,4 μm .

Intramusculaire, cette espèce, peut exceptionnellement envahir l'ovaire de son hôte (Pérez, 1906).

b) *Nosema pulvis* Perez, 1905. Microsporidie *Apansporoblastina* (Tuzet et coll., 1971), cette espèce est caractérisée par ses spores ovoïdes et de très petite taille (1,25 sur 1 μ m environ). Ce n'est que récemment qu'elle a été découverte chez *Carcinus mediterraneus* où l'invasion parasitaire est tout à fait comparable aux images données par Pérez : spores en groupes fusiformes intercalés entre les fibres musculaires (pl. III, fig. 4).

Techniquement, l'appréciation qualitative précise des mucosubstances déjà mises en évidence et des protéines soufrées de la paroi sporale constituait l'élément le plus important à aborder. Ainsi, aux réactions utilisées lors des précédentes contributions (Maurand et Loubès, 1973), nous avons ajouté les techniques suivantes.

A) Recherche des glucides.

— Blocages et prétraitements spécifiques employés avant ou en cours d'A.P.S. : aniline-acide acétique (Lillie et Glenner, 1957, in Culling, 1974), borhydrate de soude (Lillie et Pizzolato, 1972, in Culling, 1974), chlorure de phénylhydrazine (Spicer, 1961).

— Utilisation de pH différents avec le Bleu Alcian : pH = 1 et pH = 2,5 (Lev et Spicer, 1964), pH = 3,5 (Mowry, 1963).

— Utilisation de pH différents avec la réaction métachromatique (Azur A) pH = 1,42 et pH = 3,61 (Spicer, 1960 et 1962).

— Méthodes aux diamines de Spicer (1965) : réactifs en solution concentrée (H.I.D. de Spicer) ou solution diluée (L.I.D. de Spicer) avec, dans le dernier cas, association d'un colorant cationique (Bleu Alcian).

D'une manière générale, ces nouvelles méthodes permettent la caractérisation histologique de plusieurs variétés de mucosubstances : sulfatées ou carboxyliques, très acides ou peu acides.

B) Recherche des protides.

— Réaction de Vainer et Bona (1963, in Ganter et Jolles, 1970) à la ninhydrine-vert de méthyle pour la visualisation des groupes aminés libres.

— Technique de Bennett et Watts (1958, in Culling, 1974) au « mercure-orange », en complément des méthodes déjà mentionnées pour les groupements « thiol ».

C) Recherche des lipides.

— Coloration par le Bleu de Nil selon Menschik (1953, in Ganter et Jolles, 1970), pour vérifier les résultats obtenus avec le Bleu Luxol.

Observations personnelles et interprétation

Les tableaux I, II et III résument les caractéristiques cytochimiques des divers stades de la sporogénèse de *Thelohania maenadis* et *Nosema pulvis*. Conventionnellement, les signes suivants ont été utilisés dans ces tableaux : +++ coloration intense, ++ coloration moyenne, + coloration faible, $\pm$ coloration irrégulière, — coloration nulle. L'examen des différents résultats permet une série d'analyses et remarques que nous abordons en trois temps : les mucosubstances en cours de sporoblastogénèse, la paroi sporale durant la maturation des spores, l'absence de substances de réserve.

1° Les mucosubstances en cours de sporoblastogénèse.

a) Chez *Thelohania maenadis*. Une coloration préalable à l'azan de Heidenhain donne la même séquence de couleurs déjà observée dans les autres espèces : jaune au niveau des sporontes et des plasmodes sporogoniaux, bleue au niveau des sporoblastes, rouge au niveau des spores mûres. Cependant, entre les jeunes spores, identifiables grâce à leur teinte orangée, le reste du pansporoblaste présente une intense coloration bleue, témoin de la présence de mucosubstances. Cette même zone réagit très fortement à l'A.P.S. utilisé soit en technique simple, soit après acétylation et saponification (dans le deuxième cas, la réaction est encore plus accusée) : la fuchsine forme un lacis plus ou moins granuleux, très dense et très régulier, isolant les sporoblastes et jeunes spores (pl. I, fig. 1). Ceux-ci sont toujours A.P.S.-négatifs, quel que soit le niveau de la sporogénèse (exception faite du pôle antérieur toujours très positif sur les spores mûres).

Ce résultat initial montre nettement que, dans les sporoblastes en voie d'évolution de *T. maenadis*, une différence de composition oppose des mucosubstances situées à l'intérieur des sporoblastes à des mucosubstances externes. Les premières que, par mesure de commodité, nous nommons « substances intra-sporoblastiques », sont histo-chimiquement définies, outre leur négativité à l'A.P.S., par une métachromasie de type γ à pH 1,42 (pl. I, fig. 2), une coloration régulière et uniforme par la fuchsine-paraldéhyde, une forte réactivité aux diamines (H.I.D. et L.I.D.) selon les données de Spicer (pl. I, fig. 3) ; signalons par ailleurs qu'elles ne se colorent par l'A.P.S. qu'après le traitement au chlorure de phenylhydrazine que préconise Spicer dans l'identification des glycoprotéines sialo-sulfatées. Sur coupes, les images sont particulièrement nettes ; le plus fréquemment, la coloration n'affecte qu'une moitié du sporoblaste ou de la jeune spore. Les « substances extra-sporoblastiques » paraissent correspondre aux granules alcianophiles précédemment décrits chez *Thelohania fibrata* (Maurand et Bouix, 1969) et

PLANCHE I. — Réactions cytochimiques sur *Thelohania maenadis*.

Fig. 1. — A.P.S. Le lacis caractéristique obtenu avec cette réaction est bien visible dans certaines zones (flèches). Fig. 2. — Métachromasie à pH 1,42. Fig. 3. — Spicer : méthode aux diamines (H.I.D.). Fig. 4. — Bleu Alcian à pH 3,5 (forte positivité au niveau des flèches).

TABLEAU I. — *Thelohania maenadis*. Résultats des tests utilisés dans l'identification des glucides.

Tests		Stade de la sporogénèse	Jeune pansporoblaste	Plasmode sporogonial	Pansporoblaste âgé		Spore mûre	
					Sporoblaste (et jeune spore)	Reste du pansporoblaste	Disque basal	Paroi sporale
Azan			Jaune	Jaune	Bleu ↓ orange	Jaune ↓ bleu	Rouge intense	
A.P.S.	seul		—	—	±	++	++	—
	après acétylation		—	—	—	—	—	—
	après acétylation saponification		—	—	±	+++	++	—
	Lillie et Glenner		—	—	±	—	—	—
	Lillie et Pizzolato ...		—	—	—	—	—	—
	Spicer		—	—	++	—	+	—
Bleu Alcian	pH = 1		—	—	±	—	—	—
	pH = 2,5		—	—	+	+++	—	—
	pH = 3,5		—	±	+	+++	—	—
	pH = 3,5 après acétyl. saponification		—	±	+	+++	—	—
Métachromasie	pH = 1,42		—	—	++	±	—	—
	pH = 3,61		—	—	++	++	—	—
Fuchisine-Paraldéhyde (Gomori)			—	—	+	±	—	—
Diamines (Spicer)	HID		—	—	++	—	—	—
	LID + bleu alcian	Bleu	—	—	++	—	—	—
		Noir	±	—	±	++	—	—

retrouvés sous des aspects parfois divers dans de nombreuses espèces (Maurand et Loubès, 1973). Cependant, chez *T. maenadis*, elles se singularisent par leur forte positivité à l'A.P.S. ; alcianophilie à pH supérieur à 2,5 (*pl. I, fig. 4*), métachromasie faible

PLANCHE II. — Aspect ultrastructural du contenu pansporoblastique de *Thelohania maenadis*.

Fig. 1. — Formations filamenteuses denses emplissant tous les espaces pansporoblastiques, entre les sporoblastes ($\times 10.400$). *Fig. 2.* — Mêmes formations, au stade de spores immatures ($\times 16.400$). *Fig. 3.* — Sécrétions vésiculo-tubuleuses, à parois épaisses, au niveau de spores mûres ($\times 16.400$). *Fig. 4.* — Mêmes formations, pendant la sporoblastogénèse ($\times 6.000$).

ou absente à pH 1,42, absence de coloration par les diamines sont leurs autres caractères cytochimiques essentiels.

Confrontée aux nombreuses espèces déjà étudiées, *T. maenadis* occupe une position tout à fait marginale et plusieurs problèmes se posent à son égard. Nous avons émis l'hypothèse (Maurand et Bouix, 1969) que les mucosubstances intra- et extrasporoblastiques seraient en continuité directe, les secondes dérivant des premières, au cours d'une phase sécrétoire des sporoblastes. Le phénomène peut, dans cette optique, être superposé à la réaction d'épuration observée en microscopie électronique dans plusieurs espèces, par exemple *Pleistophora simulii* (Maurand, 1966). Cette interprétation semble tout à fait logique, la similitude parfaite des résultats acquis jusqu'à maintenant sur les deux types de substances fournissant un argument supplémentaire.

T. maenadis est évidemment plus difficile à intégrer dans le raisonnement : ici, les substances intrasporoblastiques correspondent à des mucosubstances très acides réagissant en histochimie comme des sulfomucines ; elles se retrouvent en faible quantité à l'extérieur. Les granules alcianophiles ou A.P.S.-positifs externes (substances extrasporoblastiques) présentent quant à eux des réactions typiques de mucosubstances moins acides, riches en groupements électro-négatifs dûs à des fonctions carboxyles. Si l'hypothèse d'une sécrétion sporoblastique est encore admise, il reste à expliquer les transformations subies par les mucosubstances au moment de leur sortie du sporoblaste.

D'autre part, les résultats obtenus dans ce travail sur *T. maenadis* sont intéressants à confronter aux structures des pansporoblastes de la même espèce, révélées par la microscopie électronique dans une étude antérieure (Vivarès, 1975) : entre les lobes du plasmode sporogonial d'abord, les sporoblastes ensuite, le pansporoblaste est rempli de formations finement filamenteuses occupant tous les espaces (pl. II, fig. 1 et 2, fig.) ; en outre, il existe des structures vésiculo-tubuleuses, à parois épaisses, formant le plus souvent des amas agglomérés dans une ou quelques zones très localisées (pl. II, fig. 3 et 4, sec.). Les deux éléments correspondent-ils à la sécrétion des sporoblastes ? Il est difficile de répondre à ce stade de nos observations. Il semble que les filaments représentent l'aspect primitif du pansporoblaste, les corps vésiculo-tubuleux ne se formant que plus tardivement. Etant donné l'intensité et la large répartition dans le pansporoblaste des zones A.P.S.-positives, on peut penser que les structures filamenteuses sont responsables de cette coloration, quelques résultats parfois inattendus sinon contraire aux autres tests (métachromasie, Bleu Alcian) pouvant s'expliquer par la sortie de mucosubstances figurées ou non (Maurand et Loubès, 1973) dans un deuxième temps. Nous essayons actuellement de confirmer ces hypothèses.

b) Chez *Nosema pulvis*. Une seule *Nosema* a jusqu'à présent été étudiée par les méthodes histochimiques : *Nosema orthocladii*, parasite du Chironome *Orthocladus* sp. : les résultats sont tout à fait conformes aux résultats obtenus sur les Microsporidies *Pansporoblastina* (Maurand et Loubès, 1973). Plus particulièrement, la présence d'éléments alcianophiles dans les sporoblastes et les jeunes spores est classique.

Le tableau III montre qu'il en est de même pour *Nosema pulvis* ; aucun élément ne permet donc d'opposer à l'heure actuelle les *Nosematidae* (*N. orthocladii*, *N. pulvis*)

TABLEAU II. — *Thelohania maenadis*. Résultats des tests utilisés dans l'identification des protéines.

Tests \ Stades de la sporogénèse	Jeune pansporoblaste	Plasmode sporogonial	Pansporoblaste âgé		Spore mûre	
			Sporoblaste (et jeune spore)	Reste du pansporoblaste	Disque basal	Paroi sporale
Alloxane-Schiff	±	±	++	—	—	—
Tétrazoréaction de Danielli	+	±	±	±	—	—
Vainer et Bona	±	±	+	++	—	—
Bennett et Watts (Mercure Orange) ..	±	—	+	++	—	—
Barnett et Seligman .	±	—	+++	+	—	—

TABLEAU III. — *Nosema pulvis*. Résultats des tests utilisés (glucides et protides).

Stades de la sporogénèse			Sporonte	Sporoblaste et jeune spore	Spore mûre	
Tests					Disque basal	Paroi sporale
Azan			jaune	bleu	rouge	
GLUCIDES	APS	seul	—	—	++	—
		après acétylation .	—	—	—	—
		après acétylation et saponification .	—	—	++	—
		Spicer	—	++	—	—
	Bleu Alcian	pH = 1	—	±	—	—
		pH = 2,5	—	++	—	—
	Méta-chroma-sie	pH = 1,42	—	++	—	—
		pH = 3,61	—	++	—	—
Spicer H.I.D.		—	+	—	—	
PROTIDES	Alloxane-Schiff		±	+	—	—
	Danielli		±	++	—	—
	Vainer et Bona		±	+	—	—
	Bennett et Watts (mercure-orange)		±	+	—	—

aux autres Microsporidies. Parmi les résultats les plus significatifs concernant les sporoblastes et jeunes spores de la *Nosema* de *Carcinus mediterraneus*, il faut relever la forte positivité à l'A.P.S. après traitement par le chlorure de phénylhydrazine et aux diamines en solution concentrée (H.I.D.) ; d'autre part, aucune différence sensible ne s'observe dans la réaction métachromatique employée soit à pH faible 1,42, soit à pH plus élevé 3,61. Ces observations sur deux *Nosema* sont confirmées par les résultats récents de Takizawa, Vivier et Petitprez (1975) : localisation par la microscopie électronique, de polysaccharides au niveau de la coiffe polaire et du filament polaire de *Nosema bombycis*.

2° La paroi sporale durant la maturation des spores.

Les tableaux II et III indiquent respectivement les réponses de *Thelohania maenadis* et *Nosema pulvis* aux tests de détection protéinique. Dans les deux espèces, les stades jeunes (sporontes) ne réagissent que très faiblement ou encore de manière très irrégulière aux différentes colorations, aucune conclusion ne pouvant être tirée à ce niveau. Ces résultats ne présentent par ailleurs aucune originalité car ils sont comparables aux observations effectuées sur les Microsporidies de Simulies. Encore une fois, les aspects les plus significatifs sont fournis par les spores immatures dont la paroi se charge progressivement en protéines, surtout protéines soufrées : ainsi, avec la réaction de Barnett et Seligman (pl. III, fig. 2), complétée ici par la méthode de Bennett et Watts au mercure-orange, la positivité est très nette. En ce qui concerne *Thelohania maenadis*, le D.D.D. (2,2' dihydroxy-6,6' disulfure de dinaphtyle) de Barnett et Seligman ne réagit plus sur la paroi des spores mûres, ce qui permet de classer cette espèce dans le cas le plus général, aux côtés de *Thelohania bracteata*, *T. fibrata*, *Pleistophora debaisieuxi* (Maurand et Loubès, 1973).

3° Absence de substances de réserve.

L'emploi des colorants lipidiques (Rouge Soudan III ou Noir Soudan B) sur les deux espèces ne donne aucun résultat : d'une façon générale, l'absence de substances de réserve de nature lipidique est donc confirmée chez les Microsporidies. Les résultats obtenus avec le Bleu de Nil, utilisé suivant la méthode de Menschik (pl. III, fig. 3),

PLANCHE III. — Réactions cytochimiques sur *Thelohania maenadis* (fig. 1 à 3) et *Nosema pulvis* (fig. 4).

Fig. 1. — Alloxane-Schiff. Fig. 2. — Barnett et Seligman. Fig. 3. — Menschik. Fig. 4. — A.P.S. (noter l'aspect caractéristique de l'infestation à *Nosema pulvis*).

Explications des abréviations indiquées sur les figures : fip, filaments dans le pansporoblaste. — ip, filament polaire. — mp, membrane pansporoblastique. — mu, muscle. — n, noyau. — po, polaroplaste. — sec, sécrétions vésiculo-tubuleuses. — sp, spore. — spb, sporoblaste. — vg, vésicules golgiennes.

1

2

mu

3

mu

4

confirme la coloration par le Bleu Luxol (d'après Kluver et Barrera) : positivité dans le « reste du pansporoblaste » chez *T. maenadis* et sur la paroi des jeunes spores chez *T. maenadis* et *N. pulvis*. Tous ces résultats sont à interpréter de la même manière. Comme le dit Gabe (1968, p. 464), « la coloration bleue n'indique, au contraire, que la présence de groupements électronégatifs ; en effet, le Bleu de Nil est un colorant basique et met en évidence tous les groupements acides, qu'ils soient lipidiques ou non ».

Conclusions

Par l'emploi de tests et réactions choisis, nous avons pu préciser dans ce travail les caractéristiques histochimiques des deux Microsporidies du Crabe *Carcinus mediterraneus* : *Thelohania maenadis* et *Nosema pulvis*. Sur cette dernière espèce les résultats sont comparables à ceux obtenus sur *Nosema orthocladii*, précédemment étudiée (Maurand et Loubès, 1973) ; par contre, chez *Thelohania maenadis*, les images observées permettent des remarques fort intéressantes concernant la composante mucopolysaccharidique : en cours de sporoblastogenèse comme en début de maturation des spores, existe une opposition très nette entre des mucosubstances intrasporoblastiques (acides ou très acides, réagissant comme des sulfomucines) et des granules externes présentant au contraire des réactions typiques de substances non sulfatées, riches en éléments électro-négatifs (fonctions carboxyliques).

Il est encore impossible de conclure de manière définitive sur la cytochimie des Microsporidies. A la lumière des données acquises, les résultats divergent souvent d'une espèce à l'autre. Ainsi et pour s'en tenir au seul genre *Thelohania*, l'espèce *T. contejeani* s'oppose à toutes les autres par la composition de la paroi sporale (Maurand et Loubès, 1973 ; Maurand et Vey, 1973) et l'espèce *T. maenadis* se singularise par la dualité de ses éléments mucopolysaccharidiques. Des recherches ultérieures sont alors nécessaires pour tenter d'établir des règles générales concernant la structure cytochimique des Microsporidies.

Bibliographie

- BOUX (G.), MAURAND (J.) et LOUBÈS (C.), 1974. — La sporogonie des Microsporidies. Remarques cytochimiques sur quelques espèces. *3d Int. Cong. Paras., Proc.*, 1, 160-161.
- CULLING (C. F. A.), 1974. — Handbook of histopathological and histochemical technics. *Butterworths*, edit., London, 3^e ed., 1-712.
- DASGUPTA (B.), 1958. — Cytochemical detection of nucleic acid in *Nosema apis*. *Trans, 1st Int. Conf. Insect. Pathol. Biol. Control., Prague*, 315-317.
- ERICKSON (B. W.) et BLANQUET (R.), 1969. — The occurrence of chitin in the spore wall of *Glugea weissenbergi*. *J. Inv. Pathol.*, 14, 358-364.
- ERICKSON (B. W.) et SPRAGUE (V.), 1970. — Summary of contribution of cytochemistry to our knowledge of Microsporidia. *Proc. 4th Int. Colloq. Insect. Pathol.*, 404-409.

- GABE (M.), 1968. — Techniques histologiques. *Masson*, édit., Paris, 1113 p.
- GANTER (P.), 1972. — Histochimie des mucines digestives. *Ann. Anat. Pathol.*, 17, 251-278.
- GANTER (P.) et JOLLES (G.), 1970. — Histochimie normale et pathologique. *Gauthier-Villars*, édit., Paris, 1902 p.
- JIROVEC (O.), 1932. — Ergebnisse der Nuclealfärbung an den sporen der Mikrosporidien nebst einigen Bermer Kungen über Lymphocystis. *Arch. Protistenk.*, 77, 379-390.
- LEV (R.) et SPICER (S. S.), 1964. — Specific staining of sulphate groups with Alcian Blue at low pH. *J. Histochem. Cytochem.*, 12, 309.
- MAURAND (J.), 1956. — *Plistophora simulii* (Lutz et Splendore, 1904), Microsporidie parasite des larves de Simulies : cycle, ultrastructure, ses rapports avec *Thelohania bracteata* (Strickland, 1913). *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 91, 621-629.
- MAURAND (J.) et BOUIX (G.), 1969. — Mise en évidence d'un phénomène sécrétoire dans le cycle de *Thelohania fibrata* (Strickland, 1913), Microsporidie parasite des larves de *Simulium*. *C.R. Ac. Sci.*, 269, 2216-2218.
- MAURAND (J.) et LOUBÈS (C.), 1973. — Recherches cytochimiques sur quelques Microsporidies. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 98, 373-383.
- MAURAND (J.) et VEY (A.), 1973. — Etudes histopathologique et ultrastructurale de *Thelohania contejeani* (Microsporida Nosematidae), parasite de l'Ecrevisse, *Austropotamobius pallipes* Lereboullet. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 48, 411-421.
- MOWRY (R. W.), 1963. — The special value of methods that color both acidic and vicinal hydroxyl groups in the histochemical study of mucins with revised directions for the colloidal iron stain, the use of Alcian Blue G8X and their combinations with the periodic acid-Schiff reaction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 106, 402-423.
- PÉREZ (C.), 1904. — Sur une Microsporidie parasite du *Carcinus maenas*. *C.R. Soc. Biol.*, 57, 214-215.
- PÉREZ (C.), 1905. — Microsporidies parasites des Crabes d'Arcachon. Note préliminaire. *Soc. Sc. Arcachon, Trav. Lab.*, 8, 15-36.
- PÉREZ (C.), 1905. — Sur une nouvelle Glugeidée parasite du *Carcinus maenas*. *C.R. Soc. Biol.*, 58, 146-148.
- PÉREZ (C.), 1906. — Sur un cas d'envahissement de l'ovaire par *Thelohania maenadis*. *C.R. Soc. Biol.*, 60, 1091-1092.
- SCHREVEL (J.), 1971. — Les polysaccharides de réserve chez les Sporozoaires. *Ann. Biol.*, 10, 31-51.
- SCHREVEL (J.), 1972. — Les polysaccharides associés à la surface cellulaire des Grégarines (Protozoaires Parasites). I. — Ultrastructure et cytochimie. *J. Microsc.*, 15, 21-40.
- SPICER (S. S.), 1960. — A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.*, 8, 18-35.
- SPICER (S. S.), 1961. — The use of various cationic reagents in histochemical differentiation of mucopolysaccharides. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 36, 393-407.
- SPICER (S. S.), 1962. — Histochemical differentiation of sulfated rodent mucins. *Ann. Histochem.*, 7, 23-28.
- SPICER (S. S.), 1965. — Diamine methods for differentiating mucosubstances histochemically. *J. Histochem. Cytochem.*, 13, 211-234.

- SZOLLOSI (D.), 1971. — Development of *Pleistophora* sp. (Microsporidian) in eggs of the Polychaete *Armandia brevis*. *J. Invertebr. Pathol.*, 18, 1-15.
- TAKIZAWA (H.), VIVIER (E.) et PETITPREZ (A.), 1975. — Recherches cytochimiques sur la Microsporidie *Nosema bombycis* au cours de son développement dans le Ver à Soie (*Bombyx mori*). *J. Protozool.*, 22, 359-368.
- TUZET (O.), MAURAND (J.), FIZE (A.), MICHEL (R.) et FENWICK (B.), 1971. — Proposition d'un nouveau cadre systématique pour les Microsporidies. *C.R. Ac. Sci.*, 272, 1268-1271.
- VAVRA (J.), 1967. — Hydrolyse enzymatique des spores de Microsporidies. *J. Protozool.*, 14, 49.
- VIVARÈS (C.-P.), 1972. — Le parasitisme chez les Brachyours (*Crustacea, Decapoda*) de la côte méditerranéenne française et des étangs du Languedoc-Roussillon. *Vie et Milieu*, 23, 191-218.
- VIVARÈS (C.-P.), 1973. — Etude du parasitisme des Crustacés Décapodes Brachyours en Méditerranée Occidentale : premiers résultats. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.*, 21, 661-663.
- VIVARÈS (C.-P.), 1975. — Etude comparative faite en microscopies photonique et électronique de trois espèces de Microsporidies appartenant au genre *Thelohania* Henneguy, 1892, parasites de Crustacés Décapodes marins. *Ann. Sci. Nat., Zool.*, 12^e sér., 17, 141-178.
- VIVARÈS (C.-P.) et TUZET (O.), 1974. — Ultrastructures comparées du développement de trois espèces de Microsporidies parasites de Crustacés Décapodes Marins. *J. Protoz.*, 21, 476.
- WEIDNER (E.), 1970. — Ultrastructural study of Microsporidian development. I. — *Nosema* sp. Sprague, 1965 in *Callinectes sapidus* Rathbun. *Z. Zellforsch.*, 105, 33-54.
-