**ÉTUDE 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***

D. MORONA*, J. JOURDANE**, A. AESCHLIMANN*

RÉSUMÉ. L'encapsulation d'un greffon mixte composé de glande digestive de *Biomphalaria glabrata* et de sporocystes fils de *Schistosoma mansoni* est décrite au microscope électronique à balayage et à transmission. Les explants sont étudiés 2 h, 24 h, 48 h et 7 jours après leur transplantation microchirurgicale. Par l'emploi du microscope électronique à transmission, il a été possible d'évaluer la différence de réaction cellulaire face aux deux tissus implantés.

La glande digestive est reconnue comme non-self par les cellules de défense et est détruite dès 48 h après la transplantation. Le sporocyste reste intact à tous les stades étudiés. Nous observons du matériel fibrillaire interstitiel sur nos images. Nous supposons qu'il est sécrété par les granulocytes. Nous abordons le problème du rôle possible des hyalinocytes, second type cellulaire de l'hémolymphe de *B. glabrata*.

Ultrastructural study of the formation of an hemocytic capsule after transplantation of digestive gland parasitized by the sporocysts of *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*.

SUMMARY. The encapsulation of a mixed graft composed of digestive gland of *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni* is described by using scanning and transmission electron microscopy (SEM and TEM). The explants were studied 2 h, 24 h, 48 h and 7 days after transplantation. By using TEM, it was possible to study the differences of the reaction of host cells against the digestive gland and the sporocyst. The digestive gland is recognized as non-self by the defense cells and begins to be destroyed 48 h after transplantation. The sporocyst remains intact in all stages studied. Fibrillar interstitial material is observed in several TEM photos. We hypothesize that it is secreted by the granulocytes. The problem of the role of hyalinocytes was approached.

On connaît deux modes de défense cellulaire chez les Invertébrés : la phagocytose et l'encapsulation. Ces deux phénomènes ont été décrits chez les Mollusques, en

* Institut de Zoologie (Directeur : Pr A. Aeschlimann), Université de Neuchâtel, CH-2000 Neuchâtel 7.
Les résultats de ce travail font partie de la thèse du premier des auteurs,

** Département de Biologie Animale (Directeur : Pr C. Combes), Université, avenue de Villeneuve, F 66025 Perpignan Cedex.

Accepté le 10 mai 1985.

particulier chez *Biomphalaria glabrata*, hôte de *Schistosoma mansoni*. (Newton, 1952 et 1954 ; Tripp, 1961 ; Cheng et Rifkin, 1970 ; Harris, 1975 ; Cheng, 1975). Rappelons que la population cellulaire de l'hémolymph de ce Planorbe est constituée de deux types cellulaires distincts : les granulocytes qui interviennent dans l'encapsulation de façon prépondérante et les hyalinocytes dont le rôle demeure encore imprécis (Cheng, 1975).

Une méthode classique pour examiner la spécificité de la défense cellulaire d'un Invertébré *in vivo* consiste à observer sa réponse aux greffes. Tripp (1961) a étudié le devenir de divers greffons transplantés chez *B. glabrata*. Il s'agissait, d'une part, d'une homogreffe (tissu pédieux de *B. glabrata* implanté chez *B. glabrata*), d'autre part, d'une hétérogreffe (tissu de *Planorbarius corneus* implanté chez *B. glabrata*). Le matériel homologue est accepté par le receveur alors que le tissu hétérologue suscite une vive réaction d'encapsulation. Cependant, même dans le cas d'une greffe homologue, si le matériel transplanté est altéré par une fixation préalable au formol, il est encapsulé en 24 heures. Cheng et Galloway (1970) ont confirmé ces résultats chez un autre Pulmoné, *Helisoma duryi normale*.

Sur la base des résultats acquis jusqu'ici, nous avons étudié le phénomène d'encapsulation en microscopie électronique, en utilisant un greffon formé par de la glande digestive de *B. glabrata* infectée par des sporocystes de *S. mansoni*, transplantée chez des *B. glabrata* sains. Nos résultats font l'objet du présent article.

Matériel et méthodes

A — Matériel

Le modèle hôte-parasite avec lequel nous avons travaillé se compose d'une souche brésilienne de *S. mansoni* et d'une souche albinos de *B. glabrata* de même origine géographique.

B — Transplantation microchirurgicale du greffon

La technique utilisée est celle mise au point par Jourdane (1978) et Jourdane et Théron (1980). On prélève chez un *B. glabrata* infecté depuis 30 jours un greffon mixte constitué par de la glande digestive de Mollusque parasitée par 2 ou 3 sporocystes. Après plusieurs lavages dans une solution physiologique (CBSS : solution saline de Chernin, 1966) additionnée d'antibiotiques, le greffon est introduit dans le sinus céphalo-pédieux des Mollusques receveurs. La transplantation est réalisée sous anesthésie, le Mollusque étant maintenu en extension à l'aide d'un microrétracteur enfoncé dans l'orifice génital mâle. Les greffons sont récupérés après incision de la paroi dorsale du sinus 2 h, 24 h, 48 h et 7 jours après la transplantation. Ils sont ensuite fixés pour l'observation au microscope électronique à balayage (MEB) et à transmission (MET).

1. MEB.

La technique adoptée est celle d'Arnold (1978). Les durées de fixation et les concentrations de fixateur ont été légèrement modifiées après quelques essais préalables.

- Préfixation au glutaraldéhyde 0,25 % + 2 % de glucose : 60' à 4° dans CBSS
- Fixation au glutaraldéhyde 2,5 % + 2 % de glucose : 60' à 4° dans CBSS
- Lavage au CBSS + 2,5 % de glucose : $2 \times 10'$ + 12 h
- Postfixation à l' OsO_4 1 % dans de la S-collidine 0,2 M, pH 7,4 : 60' à 4°
- Lavages à la S-collidine
- Déshydratation à l'acétone, point critique, charbonnage dans un Edwards 306, dorage dans un Sputter (Balzers)
- Observation au MEB (Philips 500)

2. MET.

La fixation est celle de Krupa, Lewis et Del Vecchio (1977).

- Fixation au glutaraldéhyde 4 % dans du cacodylate 0,1 M, pH 7,2 : 60' à 4°
- Lavage dans du cacodylate 0,1 M + 2 % de glucose : temps variables
- Postfixation à l' OsO_4 1 % dans du cacodylate 0,1 M, pH 7,2 : 60' à 4°
- Lavage dans du cacodylate 0,1 M + 2 % de glucose
- Déshydratation à l'acétone, inclusion dans un milieu Spurr (1969)
- Coupes fines à l'ultramicrotome Sorvall MT 2-B
- Double contrastation des grilles à l'acétate d'uranyle et au citrate de Pb
- Observation au MET (Philips EM 201)

Résultats

A — État du greffon 2 h après la transplantation

1 — Observation au MEB (Pl. Ia)

A ce stade, la morphologie du greffon semble normale. Le tégument du sporocyste ne montre aucune zone de recouvrement par des cellules hémocytaires. Parfois, en des endroits isolés, on observe quelques dépôts dont il est difficile d'évaluer la nature et l'origine.

2 — Observation au MET (Pl. Ib et Ic)

Le sporocyste présente de nombreuses microvillosités tégumentaires et des inclusions lipidiques qui attestent de son intégrité histologique.

La glande digestive greffée offre une organisation histologique identique à celle d'une glande normale.

PLANCHE I

Les rares granulocytes en contact avec le greffon se présentent sous forme globulaire. Leurs filopodes ne sont pas orientés parallèlement les uns aux autres ; leur cytoplasme est dépourvu de glycogène mais renferme déjà des corps lysosomaux.

B — État du greffon 24 h après la transplantation

1 — Observation au MEB (Pl. IIa, IIb et IIc).

Le greffon est maintenant recouvert d'un très grand nombre de granulocytes répartis de deux manières sur sa surface. Ainsi distingue-t-on deux zones de type différent que nous avons désignées par les lettres P et E (*Pl. IIa*).

Une des zones (zone P) correspond à des plages où les granulocytes contactent le greffon mais n'y adhèrent que par la crête de leur corps cellulaire orienté perpendiculairement à l'explant. Les filopodes sont dirigés vers l'extérieur (*Pl. IIb*).

Les zones P s'observent plus fréquemment au niveau des parties en creux du greffon qui constituent vraisemblablement des points où l'étalement des granulocytes se réalise plus difficilement.

L'autre zone (zone E) correspond à des plages où les granulocytes sont étirés, aplatis, jointifs et concourent à la formation d'une capsule (*Pl. IIc*). Les cellules s'organisent en plusieurs couches. Leurs filopodes disposés en étoile se développent dans un plan parallèle à la surface du greffon : ils peuvent s'entrecroiser et se ramifier. Ainsi les granulocytes tendent à constituer une capsule superficielle qui, progressivement, isolera le greffon.

2 — Observation au MET (Pl. II d)

La planche II d correspond à une zone de transition entre une zone P et une zone E. Les granulocytes adhèrent de façon encore lâche à la surface du greffon mais s'y étalent modérément et tendent déjà à se joindre. La pénétration des filopodes parmi les microvillosités du sporocyste est encore très discrète. En quelques endroits cependant, les villosités sont entourées par les filopodes (*Pl. II d*, flèches). Le corps cellulaire des granulocytes renferme des lysosomes et du glycogène.

Les coupes au niveau de la composante « glande digestive » du greffon montrent que celle-ci conserve, à ce stade, son intégrité cellulaire.

PLANCHE I. — Ultrastructure du greffon 2 heures après la transplantation.

a — Vue générale au MEB. Quelques dépôts recouvrent par endroits le greffon (flèches).

b — Vue du sporocyste au MET. Les inclusions lipidiques (Li) et les microvillosités (mv) prouvent que le sporocyste est en bon état. Au-dessous des cellules tégumentaires (ct) se développe un sporocyste-fils embryonnaire (SPFE). Un granulocyte (GR) encore peu étalé lance ses filopodes (F) vers la surface larvaire.

c — Vue de la glande digestive au MET. Plusieurs structures lysosomales (Ly) sont visibles ainsi que des corps résiduels (CR). Les grains de sécrétion (GS) et le glycogène stocké (Gly) témoignent de l'intégrité fonctionnelle de ce tissu. Les microvillosités (mv) sont en parfait état.

C — État du greffon 48 h après la transplantation

1 — Observation au MEB

Nous n'avons pas observé de différences histologiques marquées entre le stade 24 h et le stade 48 h.

2 — Observation au MET (Pl. IIIa et IIIb)

Le sporocyste ne montre aucune image de dégénérescence. Malgré la présence d'une capsule hémocytaire d'importance non négligeable (6 μ m d'épaisseur), on distingue nettement les cellules tégumentaires avec leurs microvillosités et leurs réserves lipidiques, la musculature et les protonéphridies. Les espaces existant entre les granulocytes et le sporocyste sont peu importants et remplis de matériel interstitiel dont les fibres présentent une périodicité régulière semblable à celle du collagène. Les réserves de glycogène des granulocytes sont très importantes (Pl. IIIa).

La glande digestive transplantée peut présenter des états très différents. En certains endroits, on observe en effet une infiltration hémocytaire massive qui concourt à la formation d'îlots de nature granulomateuse. 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. 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 (Pl. IIIb). Quelques fragments de ce tissu subsistent cependant sans aucun signe d'involution.

D — État du greffon 7 jours après la transplantation

1 — Observation au MEB (Pl. IVb et IVc)

Les zones E ont pris une extension considérable à la surface du greffon. 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

PLANCHE II. — Ultrastructure du greffon 24 heures après la transplantation.

a — Vue générale du greffon au MEB. Le greffon est recouvert de granulocytes qui se répartissent en deux zones : les zones de type E correspondent à des granulocytes étirés et jointifs. Les zones de type P correspondent à des plages où les granulocytes sont perpendiculaires au greffon. Leurs filopodes sont dirigés vers l'extérieur.

b — Détail d'une zone de type P au MEB.

c — Détail d'une zone de type E au MEB. Les filopodes (F) des cellules peuvent se ramifier et servir de points d'ancrage (flèche).

d — Ultrastructure de la capsule autour du sporocyste au MET. Coupe au niveau d'une zone de transition. Les granulocytes (GR) ne sont pas étalés au maximum et adhèrent de façon lâche aux microvillosités (mv) du sporocyste (SP). En quelques endroits, les filopodes entourent les microvillosités plus intimement (flèches).

Gly = glycogène Li = lipides

s'organise plus lentement. On peut y noter la présence de granulocytes à orientation perpendiculaire à la surface du greffon, comme au stade 24 h.

Dans les zones E, le parallélisme des filopodes est frappant. Des expansions cellulaires en cloques font leur apparition à la surface des granulocytes. Celles-ci pourraient être à l'origine de nouveaux filopodes se différenciant à partir de l'ectoplasme. Les limites cellulaires entre granulocytes sont de moins en moins nettes.

La figure 4b permet 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 cellulaires. L'épaisseur de la capsule peut varier de 4 à 10 μm (*pl. IVc*).

2 — Observation au MET (*Pl. IVa*)

L'ultrastructure de la capsule ne présente pas de différences marquées par rapport au stade 48 h.

Les sporocystes n'offrent aucune image de dégénérescence et renferment maintenant des cercaires bien différenciées. L'ultrastructure de la glande digestive, quant à elle, peut présenter des images variables, comparables à celles que nous avons observées au stade 48 h : zones en état de dégénérescence avancé et zones ayant conservé leur totale cohésion cellulaire.

E — Remarques (*Pl. Vb*)

Quel que soit le stade envisagé, le MET rend compte de la présence de cellules hématocytaires 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. Ce sont les hyalinocytes qui ont un cytoplasme peu dense aux électrons contrairement aux granulocytes dont le cytoplasme contient une grande quantité de réticulum endoplasmique granulaire, du glycogène, des phagosomes et des inclusions lipidiques. Le noyau des hyalinocytes montre une chromatine à localisation périphérique caractéristique. Les hyalinocytes ne se rencontrent jamais dans les couches profondes de la capsule mais sont plutôt localisés dans la partie la plus externe de celle-ci. Ils sont souvent entourés de granulocytes (*Pl. Vb*).

PLANCHE III. — Ultrastructure du greffon 48 heures après la transplantation.

a — Détail de la capsule formée autour du sporocyste au MET. On reconnaît les cellules tégumentaires (ct) avec leurs microvillosités (mv) et leurs réserves lipidiques (Li), la musculature (mu) et une protonéphridie (flèche). Les réserves de glycogène (Gly) des granulocytes sont très importantes.

b — Détail de la capsule formée autour du tissu digestif au MET. Au centre du granulome, on observe des corps résiduels (CR). De grandes lacunes (La) se créent dans le tissu désorganisé et entre les couches de granulocytes.

N = noyau des granulocytes Gly = glycogène

PLANCHE III

Discussion

Lors d'un travail préliminaire (Morona, Jourdane et Aeschlimann, 1984) nous avons étudié au MEB le comportement des granulocytes de *B. glabrata*, *in vitro*. Nous avons montré leur polymorphisme, leur mobilité et leur faculté de s'aggréger pour former des strates cellulaires jointives.

Nos images montrent que la réaction d'encapsulation ne conduit pas nécessairement à une cytolysse du matériel encapsulé puisque la composante sporocyste de la greffe, bien qu'entourée d'une épaisse capsule, conserve son intégrité cellulaire et fonctionnelle.

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 ci-dessus. Dans les replis difficiles à atteindre, les granulocytes s'étirent moins rapidement et restent plus longtemps en position perpendiculaire, par conséquent gardent leur aspect crêté (zones P). On peut supposer 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. 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 l'étalement horizontal et jointif. 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.

Par l'emploi du MET, il a été possible d'étudier la différence de la réaction cellulaire face aux deux tissus transplantés. Cette différence est frappante. C'est au sein de la glande digestive que l'on trouve les granulomes, les corps résiduels et les lacunes créées par la destruction des cellules (*Pl. IIIb*). C'est donc ce tissu qui est reconnu comme non-self par les cellules de défense. Soulignons cependant que dans la glande digestive disloquée subsistent des îlots cellulaires en apparence intacts avec un cytoplasme au réticulum endoplasmique granulaire abondant, des granules de sécrétion, un noyau en parfait état, des mitochondries et des microvillosités. Ce tissu, apparemment sain, finira cependant par être détruit.

Les sporocystes, bien qu'ayant suscité la formation d'une capsule hémocytaire, conservent leur intégrité cellulaire et fonctionnelle à tous les stades étudiés. Dans ce cas précis, le développement d'une capsule n'aboutissant pas à une cytolysse des sporocystes, elle pourrait avoir une fonction spécifique encore inconnue.

Nous n'avons pu confirmer l'opinion de Lie, Jeong et Heyneman (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. Ce phénomène n'a pas été vérifié dans notre cas où le sporocyste reste sain, même entouré par une capsule hémocytaire de 10 μm d'épaisseur.

D'autre part, ces auteurs relèvent la présence de « collagen-like fibres » chez des *B. glabrata* résistants à *S. mansoni*. Pour notre part, nous avons observé du matériel fibrillaire interstitiel sur plusieurs images de MET. On peut supposer que ce matériel

PLANCHE IV. — Ultrastructure du greffon
7 jours après la transplantation.

a - Détail de la capsule formée autour du tissu digestif au MET. Le tissu présente des zones en voie de dégénérescence. Des lacunes (La) se créent entre les cellules de la glande. Des éléments fibrillaires (mf) apparaissent au sein de la capsule.

C = capsule

gs = grains de sécrétion des cellules sécrétrices de la glande

mv = microvillosités des cellules glandulaires

b - Détail de la zone E au MEB. On observe les expansions en cloques (flèche). Les filopodes (F) constituent une véritable trame entre les couches cellulaires.

c - Détail de la capsule au MEB après rupture par pression. On distingue les différentes couches (cc₁, cc₂, cc₃) formées par les granulocytes. Épaisseur : 4 à 10 μm.

est synthétisé par les granulocytes et libéré par exocytose lors de l'encapsulation. Cette hypothèse est confortée par nos images montrant l'extrémité rétrécie de plusieurs granulocytes dont le cytoplasme est très riche en matériel fibrillaire (*Pl. Va*). 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. Ceci contredit l'opinion de Harris (1975) qui affirme qu'aucun matériel extracellulaire n'intervient dans la formation de capsules. Il est vrai que cet auteur a travaillé sur un autre modèle hôte-parasite : *B. glabrata*-*Angiostrongylus cantonensis*.

Cheng et Garrabrant (1977) ont suivi la formation d'une capsule autour de sporocystes de *S. mansoni* dans des *B. glabrata* résistant à ce parasite. Les larves sont alors éliminées par les cellules de défense. Les cellules décrites par ces auteurs et le mode de formation de la capsule sont comparables à nos observations bien que, dans notre cas, il s'agisse d'une souche de *B. glabrata* susceptible à *S. mansoni*, où le développement du ver a lieu normalement malgré l'encapsulation. Ainsi, le Mollusque différencie les souches de schistosomes qui lui sont compatibles de celles qui lui sont incompatibles. D'autres expériences sont en cours pour déterminer la spécificité des réactions de défense des Mollusques vis-à-vis de souches résistantes, en utilisant la technique de transplantation décrite ici.

Les granulocytes intervenant dans la réaction contre le greffon présentent tous une importante activité lysosomale, quel que soit le moment où ils ont été observés après la transplantation (*Pl. IIIa*). Cette activité cytoplasmique est plus importante que celle d'un granulocyte ne participant pas à l'encapsulation. De plus, au fur et à mesure que la dégradation de certains tissus du greffon se poursuit, les granulocytes stockent une grande quantité de glycogène. Il n'est pas impossible que les sporocystes prélèvent des substances nutritives par l'intermédiaire des granulocytes. Cette hypothèse expliquerait le contact étroit existant entre les filopodes et les microvillosités du ver (*Pl. Vc*).

Le rôle du hyalinocyte, le second type cellulaire rencontré dans l'hémolymph de *B. glabrata*, n'a pas encore été élucidé. Cheng et Garrabrant (1977) et Stumpf et Gilbertson (1980) ont mentionné l'existence de cette cellule mais n'en ont pas découvert la fonction. Nos observations laissent supposer que le hyalinocyte, grâce à sa forme sphérique, pourrait servir d'assise supplémentaire lors de la formation de la capsule : les granulocytes viendraient y adhérer (*Pl. Vb*). Nous ne pouvons pour l'instant établir avec certitude si les hyalinocytes jouent un rôle attractif pour les granulocytes ou s'ils interviennent dans la reconnaissance du matériel étranger

PLANCHE V.

a - Granulocyte contenant du matériel fibrillaire (mf). MET.

b - Hyalinocyte (Hy) entourés de granulocytes (GR). MET. A noter, la répartition particulière de la chromatine du noyau (hétérochromatine périphérique (flèche)) du hyalinocyte. N = noyau du hyalinocyte.

c - Détail du contact entre les microvillosités (mv) du sporocyste et les filopodes (F) d'un granulocyte (GR).

PLANCHE V

précédant la réaction immune. Nous tenons à préciser que ce type cellulaire n'est pas le premier à prendre place dans la réaction immune. Ceci semblerait contredire l'hypothèse d'un rôle éventuel dans la reconnaissance des greffons. Rappelons tout de même que cette cellule peut participer à ce phénomène sans pour autant adhérer au greffon. Elle n'apparaîtrait alors pas nécessairement sur les images de microscopie électronique.

Il nous reste à mentionner que les hyalinocytes sont peu représentés dans les centres réactionnels (5 % des hémocytes dans nos expériences ; 7,5 % d'après Stumpf et Gilbertson, 1980).

BIBLIOGRAPHIE

- ARNOLD J. D. : Präparationsverfahren in Medizin und Biologie. Rasterelektron-mikroskopische technik, Rosenbauer, Kegel, *Georg Thieme Verlag*, Stuttgart, 1978, 44 p.
- CHENG T. C. : Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. *Ann. N.-Y. Acad. Sci.*, 1975, 266, 000-000.
- CHENG T. C., GALLOWAY P. C. : Transplantation immunity in mollusks : the histoincompatibility of *Helisoma duryi normale* with allografts and xenografts. *J. Invert. Pathol.*, 1970, 15, 177-192.
- CHENG T. C., GARRABRANT T. A. : Acid phosphatase in granulocytic capsules formed in strains of *Biomphalaria glabrata* totally and partially resistant to *Schistosoma mansoni*. *Int. J. Parasitol.*, 1977, 7, 467-472.
- CHENG T. C., RIFKIN E. : Cellular reactions in marine mollusks in response to helminth parasitism. *Diseases of Fish and Shellfish. AM. Fish. Soc. Symp.*, 1970, 5, 443-496.
- CHERNIN E. : Transplantation of larval *Schistosoma mansoni* from infected to uninfected snails. *J. Parasitol.*, 1966, 52, 473-482.
- HARRIS K. R. : Fine structure of encapsulation in *Biomphalaria glabrata*. *Ann. N.-Y. Acad. Sci.*, 1975, 266, 446-465.
- JOURDANE J. : Perspectives de maintenance de *Schistosoma mansoni* chez le mollusque vecteur par la technique de transplantation. *Proc. 4th Int. Congress Parasitol.*, 1978, 100 C, Varsovie.
- JOURDANE J., THERON A. : *Schistosoma mansoni* : cloning by microsurgical transplantation of sporocysts. *Exp. Parasitol.*, 1980, 50, 349-357.
- KRUPA P. L., LEWIS L. M., DEL VECCHIO P. : *Schistosoma haematobium* in *Bulinus guernei* : Electron microscopy of hemocytesporocyst interactions. *J. Invert. Pathol.*, 1977, 30, 35-45.
- LIE K. J., JEONG K. H., HEYNEMAN D. : Tissue reactions induced by *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *Ann. Trop. Med. Par.*, 1980, 74, 157-166.
- MORONA D., JOURDANE J., AESCHLIMANN A. : Étude de l'évolution *in vitro* des granulocytes de l'hémolymphe de *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). Étude au microscope électronique à balayage (MEB). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1984, 59, 467-475.
- NEWTON : The comparative tissue reaction of two strains of *Australorbis glabratus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitol.*, 1952, 38, 362-366.
- NEWTON : Tissue response to *Schistosoma mansoni* in second generation snails from a cross between two strains of *Australorbis glabratus*. *J. Parasitol.*, 1954, 40, 1-4.
- STUMPF J. L., GILBERTSON D. E. : Differential leukocytic responses of *Biomphalaria glabrata* to infection with *Schistosoma mansoni*. *J. Invert. Pathol.*, 1980, 33, 217-218.
- TRIPP : The fate of foreign materials experimentally introduced into the snail *Australorbis glabratus*. *J. Parasitol.*, 1961, 47, 745-748.