ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Volume 60

1985

N° 5

© Masson, Paris, 1985.

Ann. Parasitol. Hum. Comp.,
1985, 60, n° 5, pp. 509-522.

MÉMOIRES ORIGINAUX

SUR L'ÉVOLUTION DES XÉNOMES ET LE DOUBLE RÔLE DES POLYNUCLÉAIRES NEUTROPHILES DANS LA MICROSPORIDIOSE A *GLUGEA STEPHANI* (HAGENMULLER, 1899) CHEZ LE FLET *PLATICHTHYS FLESUS* (LINNE, 1758)

N. BEKHTI et G. BOUX

RÉSUMÉ. *Glugea stephani* forme des xénomes dans la paroi intestinale et divers organes du Flet des étangs languedociens, *Platichthys flesus*. L'évolution de ces xénomes est marquée par quatre étapes caractéristiques : renforcement de la paroi et maintien de l'équilibre hôte-parasite, inflammation, granulomatoses, cicatrisation. Le rôle des polynucléaires neutrophiles s'avère essentiel en hébergeant dans un premier temps le sporoplasme, en contribuant dans un second temps, à détruire les spores. L'ensemble des phénomènes est décrit au niveau des ultrastructures.

Evolution of xenomas formed by *Glugea stefani* (Hagenmüller, 1899) and double role of neutrophiles in the intestinal wall and several organs of the flounder *Platichthys flesus* (Linné, 1758).

SUMMARY. *Glugea stephani* forms xenomas in the intestinal wall and in several organs of the flounder *Platichthys flesus* in the Languedoc's ponds. Four characteristic stages are recognised in the development of these xenomas : reinforcement of the wall and maintenance of the host-parasite equilibrium, inflammation, granulomaformation, cicatrisation. The role of the polymorph neutrophiles is essential, first because it harbours the sporoplasm and then because it contributes to the destruction of the spores. The entire phenomenon is described at the ultrastructure level.

Introduction

La transmission des Microsporidies par voie orale est reconnue dans la plupart des cas (Delisle, 1972 ; Berrebi, 1978). Pour atteindre le site favorable à son dévelop-

Laboratoire d'Ichthyologie et de Parasitologie générale, Université des Sciences et Techniques du Languedoc,
Place E.-Bataillon, F 34060 Montpellier Cedex.

Accepté le 22 novembre 1984.

pement à partir de la lumière intestinale, le sporoplasme emprunte nécessairement la voie sanguine : soit directement en suivant le courant circulatoire jusqu'à sa cellule-hôte, soit indirectement en étant pris en charge par une cellule circulante qui le conduira jusqu'à l'organe où se formera le xénome. Dans la première hypothèse, le germe (ou sporoplasme) reste un certain temps en milieu extracellulaire. Les études faites par Weidner (1972) montrent que le sporoplasme n'est pas viable hors de sa cellule-hôte. La deuxième hypothèse semble plus vraisemblable, le sporoplasme est d'emblée hébergé par sa cellule. Une étude ultrastructurale des cellules sanguines du Flet *Platichthys flesus* s'avère indispensable pour déterminer la nature de la (ou des) cellule-hôte.

Dans un travail sur le Flet parasité par *Glugea stephani*, une réaction immunitaire a été mise en évidence, se traduisant notamment par une augmentation du nombre des monocytes aux dépens des lymphocytes (Bekhti, Romestand et Bouix, 1984). Des réactions cellulaires du Poisson-hôte contre leur Microsporidie ont été signalées chez *Crenilabrus melops* parasité par *Glugea gigantea* (Mercier, 1921), *Osmerus mordax* parasité par *Glugea hertwigi* (Fantham, Porter et Richardson, 1941), *Silurus glanis* parasité par *Nosema fennica* (Lom et Weiser, 1969), *Hippocampus erectus* parasité par *Glugea heraldi* (Blasiola, 1979), *Lophius americanus* parasité par *Spraguea lophii* (Lom, 1972), *Gadus palladius* et *G. morhua* parasités respectivement par *Loma branchialis* et *L. morhua* (Lom, 1972 ; Morrison et Sprague, 1981), *Leiosotomus xanthurus* parasité par *Ichthyosporidium giganteum* (Sprague et Hussey, 1980), *Gambusia affinis* parasité par *Glugea sp.* (Crandal et Bowser, 1981).

Dykova (1979) et Dykova et Lom (1978, 1979, 1980) ont publié une série d'études histopathologiques sur plusieurs espèces de Poissons microsporidiés. Les réactions tissulaires agissant sur la forme kystique (xénome) sont identiques dans plusieurs genres (*Glugea*, *Ichthyosporidium*, *Spraguea*) et se déroulent en trois temps :

— *Étape de faible réaction* : la paroi du kyste est très mince. Le tissu hôte est endommagé par la pression atrophique qui entraîne une prolifération du tissu conjonctif et des fibres de collagène.

— *Étape productive* : elle correspond à une multiplication des fibrocytes et histiocytes et à une néovascularisation. Ces structures constituent un tissu granuleux.

— *Étape régressive* : la masse de spores est progressivement éliminée par phagocytose. Le tissu granuleux diminue et est remplacé par un tissu conjonctif fibreux.

Aucune étude n'a été entreprise sur le processus intime de phagocytose des spores ni sur la nature des cellules impliquées dans ce mécanisme de défense. Ce sont les deux phases extrêmes de la microsporidiose, début d'infestation et élimination des spores, que nous aborderons ici au niveau ultrastructural. Le rôle des polynucléaires neutrophiles y est prépondérant.

Matériel et techniques

Le Poisson hôte est le Flet *Platichthys flesus* (Pleuronectidae), des côtes languedociennes : étangs palavasiens et Golfe du Lion. La Microsporidie *Glugea stephani*

(Hagenmuller, 1899) forme des xénomes dépassant rarement 1 mm de diamètre, sur le tube digestif et le foie. D'autres organes sont atteints lorsque l'infestation est massive.

Le sang est prélevé par ponction intracardiaque sur des individus anesthésiés au MS 222. Quelques gouttes sont fixées au tétroxyde d'osmium tamponné selon Palade ; après centrifugation, le culot est découpé et inclus dans une résine Spurr. Les xénomes à *G. stephani* sont traités de la même façon, quant à la fixation et à l'inclusion.

Résultats

1 - Les cellules sanguines

Cinq types cellulaires ont été mis en évidence sur frottis sanguins, chez le Flet. Nous retenons la terminologie utilisée par Ferguson (1976) et Ellis (1976) chez la Plie :

— *Les érythrocytes* sont des cellules de forme elliptique, à contour régulier et noyau sphérique et central. Les organites cytoplasmiques peuvent être masqués par l'hémoglobine (Weinreb, 1963).

— *Les thrombocytes* sont des cellules rondes, ovoïdes, en aiguille ou en fuseau. Le noyau volumineux présente une chromatine dense en amas périphérique ou en réseau irrégulier. Très fréquemment, une mitochondrie allongée est observée contre le noyau. Les sommets du fuseau sont occupés par des microtubules, déjà signalés dans les thrombocytes de *Pleuronectes platessa* (Ferguson, 1976), de *Clarias gariepinus* (Boomker, 1981) et de *Ictalurus punctatus* (Breazile, Mass, Wollscheid et Zinn, 1982).

— *Les lymphocytes* sont des cellules sphériques à rapport nucléo-plasmatique très élevé. Le noyau présente des formes diverses suivant le plan de section. La chromatine est soit uniformément répartie, soit condensée en un amas central ou contre l'enveloppe nucléaire.

— *Les monocytes* sont sphériques, avec un noyau excentré, repoussé sur l'un des bords cellulaires. Le cytoplasme est essentiellement caractérisé par des lysosomes arrondis (100 Å de diamètre), contenant une substance homogène et dense, et par de grosses vacuoles de phagocytose (30 nm de diamètre), à contour plus ou moins régulier et contenant des amas denses.

— *Les neutrophiles* (fig. 1) sont des cellules sphériques, émettant des pseudopodes. Dans le noyau, la chromatine peut être homogène ou condensée en amas. Le cytoplasme présente des ribosomes, de l'ergastoplasme, quelques mitochondries, un appareil golgien, de nombreuses vésicules de pinocytose et un centriole parfois très net. Les neutrophiles sont surtout définis par leurs granules spécifiques (fig. 2), fusiformes, ovoïdes ou parfois très allongés. Ces granules formés de fibrilles parallèles ou agencées en fuseau sont limités par une membrane unitaire. L'observation de coupes transversales suggère une organisation tridimensionnelle en un feuillet enroulé

FIG. 1 à 3. — Polynucléaires neutrophiles de *Plactichthys flesus*.

Fig. 1 : vue d'ensemble montrant le noyau (n) et les granules spécifiques (g.s.) ($\times 25\ 000$).

Fig. 2 : Granules spécifiques en coupe longitudinale ($\times 62\ 500$). Fig. 3 : Granules spécifiques en coupe transversale ($\times 62\ 500$).

sur lui-même (*fig. 3*). De tels granules ont également été observés chez la Plie (Ferguson, 1976 et Ellis, 1976).

2 - Reconnaissance de la cellule-hôte et évolution de la Microsporidie

Dans les xénomes jeunes, où la composante hôte est encore bien représentée, des granules fibrillaires identiques aux granules spécifiques des neutrophiles (*fig. 4 et 4a*) sont très nettement visibles. Nous pouvons déduire de ces fréquentes observations, et sans exclure la possibilité d'invasion d'autres éléments cellulaires, que la cellule-hôte est le *granulocyte neutrophile*.

FIG. 4 et 4a. — Xénome à *G. stephani* montrant dans la composante cytoplasmique hôte un granule spécifique de neutrophile (4 : $\times 25\ 00$; 4a : $61\ 500$).

Formé dans les organes hématopoïétiques et notamment au niveau du rein (Jarowska, 1956 ; Ellis, 1977), le neutrophile est une cellule très mobile, se rencontrant dans les vaisseaux sanguins ou lymphatiques et différents tissus, surtout la muqueuse et la sous-muqueuse intestinales. En tenant compte d'une transmission *per os*, le neutrophile, après pénétration du sporoplasme, peut s'immobiliser sur place ou se déplacer, véhiculant le parasite vers d'autres tissus. L'immobilisation pourrait alors être due à l'inhibition des mouvements du neutrophile ou à l'hypertrophie cellulaire

qui en résulte. La majorité (84,70 %) des xénomes à *Glugea stephani* se rencontrent dans la sous-muqueuse intestinale, tissu conjonctif lâche richement vascularisé. D'autres s'installent sur le foie (10,75 %), dans le mésentère (2,28 %), ou encore le rein, le péritoine et le tissu conjonctif sous-cutané (2,27 %). L'implantation la plus observée dans la paroi intestinale peut s'expliquer par la proximité de la zone d'ouverture des spores (lumière intestinale). Une même évolution dans l'implantation s'observe chez *Glugea hertwigi* (Chen et Power, 1972), *G. tisiae* (Lom et Weiser, 1969) et *G. capverdensis* (Lom, Gayenvskaya et Dykova, 1980).

3 - Réaction de l'hôte et élimination des spores

a) *au niveau tissulaire* : la réaction de l'hôte se fait en plusieurs étapes :

— *renforcement de la paroi du xénome et maintien de l'équilibre*, au cours des stades initiaux. Une couche monostratifiée de fibrocytes allongés s'organise autour du xénome (*fig. 5*). Les fibrocytes sécrètent des fibres de collagène qui s'ajoutent aux premières strates sécrétées par la cellule-hôte. L'origine de la paroi est double, cellule-hôte et organisation périphérique (Weidner, 1976 et Canning, Lom et Nicholas, 1982) ;

— *inflammation* qui se déclenche quand le rapport stades mûrs (spores)/stades jeunes s'accroît, c'est-à-dire quand la composante-hôte commence à disparaître. Elle se manifeste par une migration des cellules de défense vers le xénome (*fig. 5 à 7*) ;

— *granulomatose* : quand le parasite est totalement développé et la composante hôte entièrement dégradée, les cellules de défense forcent la paroi du xénome, s'infiltrant et phagocytent les spores. Certaines cellules se retrouvent dans les strates périphériques, chargées de spores (*fig. 8 et 9*). A des niveaux profonds des xénomes, au sein de la masse sporale, on assiste souvent à une néovascularisation lymphatique, source supplémentaire d'éléments de défense ;

— *cicatrisation* au moment où, le processus de phagocytose s'intensifiant, on assiste à la destruction plus ou moins totale du xénome. Un tissu fibreux se développe, formé de collagène (*fig. 14 et 15*). Dans quelques cas, le mécanisme de défense est mis en échec et des foyers de nécrose s'installent dans le granulome.

b) *au niveau cellulaire et ultrastructural*.

Le mécanisme de défense décrit ci-dessus met en jeu les cellules spécialisées de la lignée leucocytaire : neutrophiles et monocytes sont les plus actives dans la « digestion » des spores. Cette digestion est assurée par les lysosomes, précédemment

FIG. 5 à 7. — Xénomes de *G. stephani*.

Fig. 5 : très jeune xénome (xé) situé sous la muqueuse intestinale et montrant déjà une migration des cellules de défense et des fibrocytes (fib.) ($\times 350$). *Fig. 6* : jeune xénome avec cellules de défense plus nombreuses (flèches) ($\times 350$). *Fig. 7* : xénome mûr entouré d'une gaine de cellules de défense, contre les villosités intestinales (int) ($\times 350$). La partie encadrée montre le détail de la gaine périphérique ($\times 850$).

FIG. 5 à 7.

FIG. 8. — Périphérie d'un xénome montrant des spores (sp) phagocytées dans la gaine périphérique ($\times 950$).

FIG. 9. — Macrophage (ma) traversant la paroi kystique (p) ; à droite, les spores (sp) ($\times 6150$).

décrits : dans le monocyte, granules sphériques à contenu opaque ; dans le neutrophile, granules allongés, ovoïdes ou en fuseau, d'aspect fibrillaire.

Quelle que soit la nature de la cellule concernée, monocyte ou neutrophile, le déroulement est identique et se divise en trois phases, correspondant à l'activité classique des lysosomes :

— *formation de vacuoles digestives* (ou phagosomes) : chaque spore est phagocytée isolément, dans une vacuole digestive. Une même cellule phagocyte plusieurs spores (*fig. 10 et 12*).

— *formation de phagolysosomes* : les lysosomes viennent au contact du phagosome. Leurs membranes se moulent contre la paroi des phagosomes (*fig. 12*).

— *transformation en corps résiduel* : dans le phagolysosome, la spore se dégrade par attaque enzymatique. Le phagolysosome devient corps résiduel qui évolue seul ou en association : il se forme ainsi des masses plus ou moins hétérogènes, contenant des résidus et des spores non encore dégradées (*fig. 13 et 14*). Dans une même cellule, on peut trouver un ou plusieurs corps résiduels. Le produit final de la dégradation sporale est un granule de nature lipoprotéique probable (*fig. 15*).

Discussion

Au début de l'infection microsporidienne, la réaction de l'hôte est favorable au parasite. Elle le protège par la formation d'une paroi organisée, mais en même temps lui permet d'assurer sa subsistance. Cette paroi est interprétée par Weidner (1976) comme un filtre sélectif retenant d'une part les substances toxiques ou antigéniques produites par le parasite et empêchant d'autre part le passage inverse de matériaux hôtes inappropriés. Certains auteurs pensent que cette entité est durable (Sprague et Vernick, 1968 ; Canning, 1977 ; Weissenberg, 1968). Ce n'est pas général car, chez certains Poissons, une fois le développement du parasite achevé, la paroi du xénome est attaquée et le parasite détruit. Sprague et Vernick (1974) font observer que le kyste d'*Ichthyosporidium giganteum* chez *Leiostomus xanthurus* se nécrose à un stade avancé de développement. La phagocytose s'exerce lorsque tous les stades deviennent mûrs et uniquement sur les spores : Mercier (1921) note que la réaction de *Crenilabrus melops* n'apparaît qu'au moment de la formation des spores dans la microsporidiose à *Glugea gigantea*. La structure kystique se rompt quand les kystes à *Nosema fennica* sont mûrs, l'activité phagocytaire y est alors importante (Lom et Weiser, 1969). Après sporulation, la paroi du kyste à *Ichthyosporidium giganteum* se disloque et les spores libres sont phagocytées (Sprague et Hussey, 1980). Les spores mûres de *Pleistophora hyphessobryconis* sont phagocytées après leur libération du muscle (Dykova et Lom, 1980). Les œufs infestés par *Pleistophora ovariae* chez *Notemigonus chryssoleucas*, non pondus, sont attaqués par les phagocytes et les spores sont digérées (Lom, 1972). D'une manière générale, les réactions de défense se déclenchent dès l'apparition des premières spores comme si ces dernières exerçaient une action stimulante.

FIG. 10 à 12. — Images de phagocytose dans les xénomes âgées.

Fig. 10 et 11 : Monocytes (mon) avec noyau (n), lysosomes (ly) et quelques vacuoles de phagocytose contenant des spores (sp) ($\times 8\ 200$). Fig. 12 : Spores (sp) phagocytés dans un polynucléaire neutrophile (neu) ($\times 8\ 200$).

FIG. 13 à 15. — Stades terminaux de la destruction des spores.

Fig. 13 et 14 : corps résiduel (c.r.) avec spores (sp) dans des vacuoles de phagocytose et globules lipidiques (g.l.) ; noter la présence du tissu fibrillaire de remplacement (t.r.) ($\times 5\,400$).
Fig. 15 : Vue d'ensemble d'un xénome en fin de destruction ($\times 4\,000$).

De plus, il faut remarquer le double rôle joué par le neutrophile dans l'évolution de la microsporidiose :

- dans un premier temps, au tout début du cycle, le neutrophile héberge le parasite avec hospitalité en ne manifestant aucune réaction néfaste à son développement malgré son « arsenal » défensif. Bien au contraire, les lysosomes gardent leur structure intacte et en aucun cas ne s'attaquent aux stades jeunes de la Microsporidie ;
- les neutrophiles non infestés présentent une activité phagocytaire importante envers les spores qu'ils dégradent et détruisent par leurs lysosomes fibrillaires.

Des observations comparables ont été faites. Dans les muscles de *Carassius auratus* infestés par *Pleistophora hyphessobryconis*, les spores mûres sont éliminées par phagocytose alors que les stades végétatifs prolifèrent dans d'autres parties du même tissu (Lom, 1972). Les lysosomes du macrophage hôte sont incapables d'agir sur les vacuoles parasitophores contenant les schizontes d'*Encephalitozoon cuniculi* (Weidner, 1975). On peut avancer l'hypothèse suivante = les stades végétatifs seraient masqués (importance du cytoplasme-hôte encore abondant) et assimilés au « moi » de la cellule-hôte ; ils sécrèteraient plutôt une substance stimulante permettant à cette dernière une activité métabolique intense (hypertrophie cellulaire et xénogenèse). Les spores, stades de repos physiologique sans aucune action sur leur environnement (sauf possible action toxique ?), sont libérées de tout enveloppement cytoplasmique et subiraient alors l'action des macrophages. D'autre part, lorsque les spores ont entièrement envahi la cellule-hôte, avec destruction de son cytoplasme, elles peuvent alors être ingérées par les macrophages et les neutrophiles qui ont traversé la paroi du xénome. Enfermées dans un phagosome, leur digestion par les lysosomes est alors possible.

Des réactions du même ordre se rencontrent par ailleurs chez d'autres Protozoaires. Les phagocytes ne s'attaquent aux Grégaires du genre *Diplocystis* qu'après leur sporulation (Loubés, 1971). Il n'y a pas fusion entre les lysosomes des macrophages-hôtes et les stades de développement de *Toxoplasma gondii* (Jones et Hirsch, 1972). La réaction de l'hôte *Fundulus grandis* ne se manifeste qu'après l'apparition des stades sexuels d'*Eimeria funduli* (Hawkins, Solangi et Overstreet, 1981). Weidner (1975) pense que l'absence de fusion entre les lysosomes et le parasite serait un phénomène général induit par les parasites intracellulaires.

Dans la littérature, le rôle des polynucléaires neutrophiles chez les Poissons n'est pas clairement défini. Chez la Plie *Pleuronectes platessa*, ils ne phagocytent pas les particules de carbone (Ellis, 1976 ; Ferguson, 1976). Chez la Truite Arc-en-ciel *Salmo gairdneri irideus*, les neutrophiles migrent vers le site d'inflammation mais ne participent pas à la phagocytose des bactéries (Klontz, 1972). Par contre, Weinreb et Weinreb (1969) montrent que les neutrophiles de *Carassius auratus* phagocytent l'encre de Chine. Finn et Nielson (1971) notent enfin qu'ils peuvent migrer et phagocyter les bactéries infectant la Truite Arc-en-ciel. Chez le Flet, les neutrophiles sont présents dans les sites inflammatoires et participent activement à la phagocytose et à la dégradation des spores de *Glugea stephani* par l'intermédiaire de leurs lysosomes.

L'augmentation du nombre de monocytes en circulation (Bekhti, Romestand

et Bouix, 1984) indique que ces derniers sont certainement plus actifs que les neutrophiles dans la phagocytose, ce qui est le cas avec le « thorotrast » (encre de Chine) chez *Carassius auratus* (Weinreb et Weinreb, 1969). La transformation des monocytes en macrophages dans les sites d'infection est signalée par Lewis et Lewis (1926). Katz (1950) observe une migration des neutrophiles et des monocytes vers les sites de lésions bactériennes chez un *Oncorhynchus* et note que seuls les macrophages phagocytent les bactéries. Il pense que les macrophages seraient des monocytes spécialisés. Les lymphocytes, monocytes et granulocytes de *Fundulus grandis* et *F. similis* sont tous engagés dans la réaction de défense contre la Coccidie *Eimeria funduli*, les monocytes et les éosinophiles étant les plus actifs dans la phagocytose (Hawkins, Solangi et Overstreet, 1981).

La réaction de défense de *Platichthys flesus* contre *Glugea stephani* n'est pas spécifique comme le montre la granulomatose et la modification de la formule leucocytaire chez les Flets microsporidiés. C'est un phénomène assez général chez les Poissons (Sindermann, 1970 ; Roberts, 1978), son but étant de rétablir l'intégrité des structures attaquées en éliminant par phagocytose l'agent en cause. Chez le Flet, la cicatrisation du tissu lésé après élimination des spores se fait par fibrose, que ce soit dans la muqueuse intestinale, le foie ou le rein. Ce tissu de remplacement est identique dans les lésions à granulomes signalées par Corbel (1975) et Roberts (1978).

BIBLIOGRAPHIE

- BEKHTI M., ROMESTAND B., BOUX G. : Influence of *Glugea stephani* (HAGENMULLER, 1899) (Microsporidia) on some haematological constants of the fish host *Platichthys flesus* (LINNAEUS, 1758). *J. Fish Dis.* (sous presse).
- BERREBI P. : Contribution à l'étude biologique des zones saumâtres du littoral Méditerranéen français. Biologie d'une Microsporidie *Glugea atherinae* n. sp., parasite de l'Atherine *Atherina boyeri* Risso, 1810 (Poisson, Téléostéen) des étangs côtiers. *Thèse de 3^e cycle*, U.S.T.L., Montpellier, 1978, 1-196.
- BLASIOLA G., JR. : *Glugea heraldi* n. sp. (Microsporida Glugeidae) from the seahorse *Hippocampus erectus* Perry. *J. Fish. Biol.*, 1979, 2, 493-500.
- BOOMKER J. : The haemocytology and histology of the haemopoietic organs of South African freshwater fish. IV. Ultrastructure of some cells of *Claria gariepinus* and *Sarotherodon mossambicus*. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1981, 48, 195-205.
- BREAZILE J. E., MASS H. J., WOLLSCHIED J., ZINN L. L. : A light and electron microscopic study of the leucocytes of Channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Zbl. Vet. Med. Anat. Histol. Embryol.*, 1982, 11, 107-116.
- CANNING E. U. : Microsporida. In : « Parasitic Protozoa », vol. IV, by Kreier Julius P., pp. 155-191. *Plenum Press*, 1977, N. Y., USA, pp. 137-161.
- CANNING E. U., LOM J., NICHOLAS J. P. : Genus *Glugea* Thelohan, 1891 (Phylum Microspora). Redescription of the type species *Glugea anomala* (Monier, 1887) and recognition of its sporogonic development within sporophorous vesicles (pansporoblastic membranes). *Protistologica*, 1982, 18, 193-210.
- CHEN M., POWER G. : Infection of American smelt in Lake Ontario and Lake Erie with microsporidian parasite *Glugea hertwigi* (Weissenberg). *Can. J. Zool.*, 1972, 50, 1183-1188.
- CORBEL M. J. : The immune response in fish : a review. *J. Fish Biol.*, 1975, 7, 539-563.
- CRANDAL T. A., BOWSER P. R. : A microsporidian infection in a natural population of mosquitofish *Gambusia affinis* (Baird and Girard). *J. Fish Dis.*, 1981, 4, 317-324.
- DELISLE C. E. : Variations mensuelles de *Glugea hertwigi* (Sporozoa : Microsporida) chez différents tissus et organes de l'éperlan adulte dulcicole et conséquences de cette infection sur une mortalité massive annuelle de ce poisson. *Can. J. Zool.*, 1972, 50, 1589-1600.
- DYKOVA I. : Host tissue reaction to microsporidian infection in fishes. *J. Protozool.*, 1979, 26, 1 (abst.).

- DYKOVA I., LOM J. : Tissue reaction of *Glugea anomala* infection in sticklebacks. *J. Fish Dis.*, 1978, **1**, 83-90.
- DYKOVA I., LOM J. : *Glugea plecoglossi* : tissue reaction of the natural Japanese fish host, ayu (*Plecoglossus altivelis*). *J. Protozool.*, 1979, **26**, 1 (abst. 41 A).
- DYKOVA I., LOM J. : Tissue reactions to microsporidian infections in fish. *J. Fish Dis.*, 1980, **3**, 265-283.
- ELLIS A. E. : Leucocytes and related cells in the plaice *Pleuronectes platessa*. *J. Fish Biol.*, 1976, **8**, 143-156.
- ELLIS A. E. : The leucocytes of fish : a review. *J. Fish Biol.*, 1977, **11**, 453-491.
- FANTHAM H. B., PORTER A., RICHARDSON L. R. : Some Microsporidia found in certain fishes and insects in eastern Canada. *Parasitology*, 1941, **33**, 186-209.
- FERGUSON H. W. : The ultrastructure of plaice (*Pleuronectes platessa*) leucocytes. *J. Fish Biol.*, 1976, **8**, 139-142.
- FINN J. P., NIELSON N. O. : Inflammatory response in rainbow trout. *J. Fish Biol.*, 1971, **3**, 463-478.
- HAGENMULLER M. : Sur une nouvelle Myxosporidie *Nosema stephani*, parasite du *Flesus passer* Moreau. *C.R. Acad. Sci., Paris*, 1899, **129**, 836-839.
- HAWKINS W. E., SOLANGI M. A., OVERSTREET R. M. : Ultrastructural effects of the Coccidium *Eimeria funduli* Duszynski, Solangi and Overstreet, 1979 on the liver of Killifishes. *J. Fish Dis.*, 1981, **4**, 281-295.
- JAROWSKA S. : Revue générale : Morphologie et nomenclature des cellules du sang des Téléostéens. *Rev. Hématol.*, 1956, **11**, 519-539.
- JONES T. C., HIRSCH J. G. : The interaction of *Toxoplasma gondii* and mammalian cells. I. The absence of lysosomal fusion with phagocytic vacuoles containing living parasites. *J. Exp. Med.*, 1972, **136**, 1173-1194.
- KATZ M. : Some interesting cells in the blood of a diseased silver salmon fingerling. *Copeia*, 1950, **4**, 295-298.
- KLONTZ G. W. : Haematological techniques and the immune response in rainbow trout. In : « Diseases of Fish » (L. E. Mardesley-Thomas, ed). Symposium Zool. Soc. Lond., n° 30. Academic Press, London, 1972, 89-99.
- LEWIS M. R., LEWIS W. H. : Transformation of mononuclear blood cells into macrophages, epithelioid cells and giant cells in hanging drop cultures from lower Vertebrates. *Contre. Embryol., Carnegie Inst. Wash.*, 1926, **18**, 95-126.
- LOM J. : On the structure of the extruded microsporidian polar filament. *Z. Parasitenkd.*, 1972, **38**, 200-213.
- LOM J., GAYENVSKEYA A. V., DYKOVA I. : Two microsporidian parasites found in marine fishes in the Atlantic ocean. *Folia Parasitol.*, 1980, **27**, 197-202.
- LOM J., WEISER J. : Notes on two Microsporidian species from *Silurus glanis* and on the systematic status of the genus *Glugea* Thélohan. *Folia Parasitol.*, 1969, **16**, 193-200.
- LOUBES C. : Sporozoaires des Embloptères du Languedoc-Roussillon : cycle, ultrastructure, relations hôte-parasite. Thèse de 3^e Cycle, U.S.T.L., Montpellier, 1971, 1-139.
- MERCIER L. : *Glugea gigantea* Thélohan. Réaction des tissus de l'hôte à l'infection. *C.R. Soc. Biol.*, 1921, **84**, 261-264.
- MORRISON C. M., SPRAGUE V. : Electron microscope study of a new genus and new species of Microsporidia in the gill of atlantic cod *Gadus morhua* L. *J. Fish Dis.*, 1981, **4**, 15-32.
- ROBERTS R. J. : Pathologie des Poissons. Maloine S. A., Paris 1978, 303.
- SINDERMAN C. J. : Principal diseases of marine fish and shellfish. Academic Press, N. Y., London, 1970, 369 p.
- SPRAGUE V., HUSSEY L. : Observations on *Ichthyosporidium giganteum* (Microsporida) with particular reference to the host parasite relations during merogony. *J. Protozool.*, 1980, **27**, 169-175.
- SPRAGUE V., VERNICK S. H. : Light and electron microscope study of a new species of *Glugea* (Microsporida, Nosematidae) in the 4 spined stickleback *Apeltes quadracus*. *J. Protozool.*, 1968, **15**, 547-571.
- SPRAGUE V., VERNICK S. H. : Fine structure of the cyst and some sporulation stages of *Ichthyosporidium* (Microsporida). *J. Protozool.*, 1974, **21**, 667-677.
- WEIDNER E. : Ultrastructural study of microsporidian invasion into cells. *Z. Parasitenkd.*, 1972, **40**, 227-242.
- WEIDNER E. : Interactions between *Encephalitozoon cuniculi* and macrophages. Parasitophorous vacuole growth and the absence of lysosomal fusion. *Z. Parasitenkd.*, 1975, **47**, 1-9.
- WEIDNER E. : Some aspects of microsporidian physiology. Comparative Pathology, vol. I, Biology of Microsporidia. Plenum Press, New York, 1976, 111-126.
- WEINREB E. L. : Studies on the fine structure of teleost blood cells. I. — Peripheral blood. *Anatomical Record*, 1963, 219-238.
- WEINREB E. L., WEINREB S. : A study of experimentally induced endocytosis in teleost. I. — Light microscopy of peripheral blood cell responses. *Zoologica*, 1969, **54**, 25-34.
- WEISSENBERG R. : Intracellular development of the microsporidian *Glugea anomala* Moniez in hypertrophying migratory cells of the fish *Gasterosteus aculeatus* L. an example of the formation of « xenoma tumors ». *J. Protozool.*, 1968, **15**, 44-57.