

20/570 - 05/02

Doc/24-18/02

B/1032

THESE

PRÉSENTÉE

DEVANT L'UNIVERSITÉ D'ORAN

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR D'ÉTAT

ES-SCIENCES BIOLOGIQUES (PARASITOLOGIE)

par

D 18/2

Cheikb-Arslane BAKI



CONTRIBUTION À L'ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA BILHARZIOSE

À *Schistosoma mansoni*

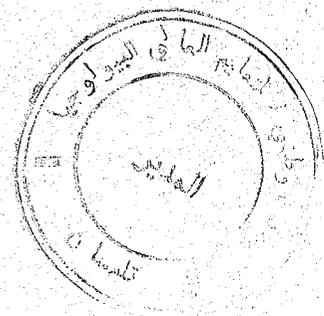
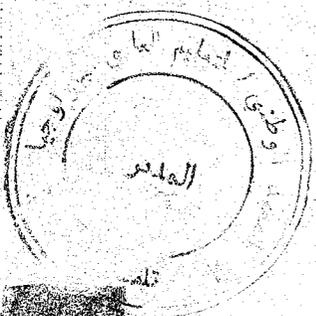
Laboratoire de Pathologie Cellulaire - CNRS URA 602

Institut Pasteur

Avenue Tony Garnier

69007 Lyon (France)

Directeur : Jean-Alexis Grimaud



THESE

B/032

PRÉSENTÉE

DEVANT L'UNIVERSITÉ D'ORAN

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR D'ÉTAT

ES-SCIENCES BIOLOGIQUES (PARASITOLOGIE)



par

Inserit sous le N°	<i>M.e. 8</i>
Date le	<i>2007</i> <i>05</i> <i>11</i>
Coste

Chekib-Arslane BAKI

**CONTRIBUTION À L'ÉTUDE
EXPÉRIMENTALE DE LA BILHARZIOSE**

À *Schistosoma mansoni*

Bilharziose à schistoma mansoni.

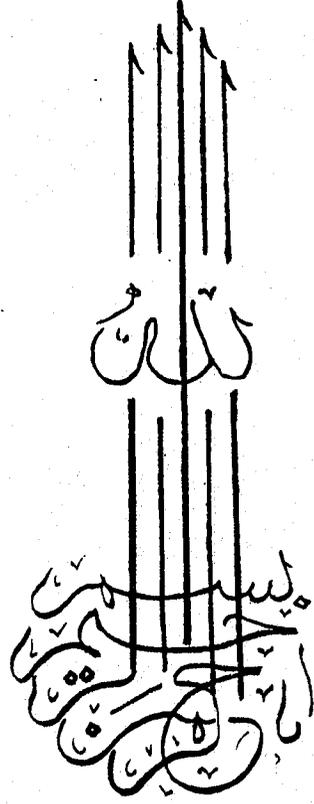
Laboratoire de Pathologie Cellulaire - CNRS URA 602

Institut Pasteur

Avenue Tony Garnier

69007 Lyon (France)

Directeur : Jean-Alexis Grimaud



“وَعَالِمَكَ مَا لَمْ تَكُنْ تَعْلَمُ وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا”

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

Je dédie cette thèse

A mon épouse pour sa compréhension et son appui de tous les moments,

A mes enfants,

A mon père,

A ma mère,

A tous les miens.

Ce travail a été entièrement effectué au Laboratoire de Pathologie Cellulaire, Institut Pasteur de Lyon, sous la direction du Docteur Jean-Alexis GRIMAUD. Je lui exprime ici toute ma gratitude pour m'avoir fait profiter de ses précieux conseils.

Monsieur le Professeur SLIMANE-TALEB Said, vous me faites l'honneur de présider le jury de cette thèse que vous m'avez d'ailleurs vivement encouragé à mener à terme. Je vous exprime ici toute ma reconnaissance.

Je remercie très sincèrement les Professeurs TABET-DERRAZ Omar et ZIDANE Charef d'avoir si spontanément accepté de juger ce travail.

Merci de tout coeur au Docteur KECHEMIR Nadia de me faire l'amitié d'accepter de faire partie de ce jury.

A toute l'équipe de l'Institut Pasteur de Lyon. La collaboration de tous a été précieuse au début de mes recherches. Qu'ils trouvent ici le témoignage d'une sincère amitié.

A mes amis de Lyon, les familles ALLOUANI et MAZOUNI, Marie-Thérèse et Mamy QUESSADA. Je les remercie de m'accueillir toujours si spontanément.

Je remercie très sincèrement le Docteur Louis VALETTE (Fondation Mérieux) et le Docteur Mohamed KAIROUANAIS (Rhône-Mérieux) pour leur précieuse contribution à la réalisation matérielle de ce document.

AVANT-PROPOS

Mon séjour au Laboratoire de Pathologie Cellulaire de l'Institut Pasteur de Lyon m'a permis de découvrir une dimension de la Biologie très différente de celle à laquelle me conduisait tout naturellement ma formation universitaire non médicale.

Fort de cette expérience, j'ai cherché à aller au-delà de l'étude systématique de l'agent de la Bilharziose, d'autant plus que cette maladie menace plus de 600 millions de personnes dans 74 pays dont le mien.

Voilà pourquoi, dans ce travail, l'étude du schistosome sera suivie de celle des lésions induites chez l'hôte, puis de l'effet d'un traitement anti-parasitaire sur ces lésions.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
MATÉRIELS.....	10
1. Cycle expérimental de <i>Schistosoma mansoni</i>	11
2. Traitement des souris par le Praziquantel.....	16
TECHNIQUES.....	17
1. Technique d'immuno-fluorescence indirecte.....	18
2. Préparation à la microscopie optique.....	19
3. Préparation à la microscopie électronique.....	21
RÉSULTATS	
PREMIERE PARTIE : Etude ultrastructurale du ver adulte et de la cercaire de <i>Schistosoma mansoni</i>.....	25
LE VER ADULTE DE <i>S. MANSONI</i>.....	28
1. Morphologie externe.....	29
2. Morphologie interne.....	31
2.1. Tégument et structures associées.....	31
2.2. Le tractus digestif.....	35
2.3. L'appareil reproducteur.....	38
2.4. Le système nerveux.....	42
2.5. Le système excréteur ou osmorégulateur.....	44
LE CERCAIRE DE <i>S. MANSONI</i>.....	47
1. Morphologie externe.....	48
2. Morphologie interne.....	50
2.1. Tégument et structures associées.....	50

2.2. Le tractus digestif.....	55
2.3. L'organe céphalique et les glandes de pénétration	55
2.4. L'appareil osmorégulateur	57
<i>DISCUSSION</i>	58
DEUXIEME PARTIE: Histopathologie expérimentale chez la souris.....	64
1. Histopathologie hépatique des souris témoins	68
2. Histopathologie hépatique des souris traitées	70
<i>DISCUSSION</i>	74
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	84
BIBLIOGRAPHIE	88

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1. RAPPEL PARASITOLOGIQUE

Les parasites du genre *Schistosoma* sont des vers plats (Plathelminthes - Trématodes Digènes), à sexes séparés, généralement connus comme parasites hétéroxènes dont le cycle biologique implique un mollusque d'eau douce comme hôte intermédiaire et l'homme ou l'animal comme hôte définitif.

Les vers adultes vivent dans les vaisseaux sanguins, en particulier ceux qui irriguent les intestins, le foie et la vessie. Bien que ces vers produisent un grand nombre d'oeufs dans ces vaisseaux (entre 300 et 3 000 oeufs par jour selon Warren, 1984) ils ne se multiplient pas chez l'hôte définitif (Warren, 1980). Une partie des oeufs passent dans les fécès ou les urines et permettent la continuation du cycle biologique.

En présence d'eau douce, ces oeufs éclosent et donnent naissance chacun à une larve ciliée libre, le miracidium. Les miracidia ont besoin d'un hôte intermédiaire, mollusque gastéropode d'eau douce d'un genre déterminé pour l'achèvement de leur cycle biologique.

L'évolution du miracidium dans le mollusque dure 25 à 40 jours et donne naissance à des larves infestantes appelées cercaires. Les cercaires, actives pendant 24 h environ après leur émission vont, au contact de la peau, pénétrer à travers l'épiderme et se localiser dans les couches superficielles du derme. Après une pause pendant laquelle elles s'adaptent aux nouvelles conditions de vie dans l'hôte, elles se transforment en schistosomules et gagnent par la circulation sanguine les poumons, puis les veines mésentériques du système porte.

Arrivés à maturité après quelques semaines, les vers adultes peuvent vivre dans le courant sanguin pendant des années.

2. LA BILHARZIOSE HUMAINE

La bilharziose est classée par l'Organisation Mondiale de la Santé comme l'une des maladies tropicales les plus importantes sur les plans socio-économique et de santé publique dans 74 pays et menace 600 millions de personnes du fait de leurs activités en relation étroite avec l'eau.

Quatre espèces ont été identifiées chez l'homme :

- *Schistosoma haematobium* sévit en Afrique et au Moyen-Orient et occasionne la bilharziose uro-génitale. Son hôte intermédiaire est un mollusque du genre *Bulinus*.
- *Schistosoma mansoni* se trouve notamment dans certains pays d'Afrique, dans la péninsule arabique, dans les îles Caraïbes, au Vénézuéla, en Guyane et au Brésil. Ce parasite est responsable de la bilharziose hépatosplénique. Son hôte intermédiaire est le mollusque du genre *Biomphalaria*.
- *Schistosoma japonicum* dont l'hôte intermédiaire appartient au genre *Oncomelania* est une variété orientale endémique en Chine, aux Philippines, au Japon et dans les îles Célèbes. Cette forme reproduit en plus grave les manifestations de la bilharziose à *S. mansoni*.
- *Schistosoma intercalatum* dont l'hôte intermédiaire appartient au genre *Physopsis* se rencontre en Afrique Centrale, et dans l'Ouest africain ; dans cette forme, les manifestations rectales sont au premier plan, les atteintes génitales sont plus rares.

La bilharziose procède en 3 phases chez l'homme et sa sévérité dépend de l'intensité de la charge parasitaire.

La 1ère phase est celle de la pénétration des cercaires par la peau produisant une irritation cutanée. Lorsque les parasites migrent vers le système vasculaire, deviennent mûrs et produisent des oeufs, une maladie en résulte connue sous le nom de fièvre de Katayama, du nom d'une région endémique dans la province d'Hiroshima au Japon. Intervenant 3 à 9 semaines après l'infection, cette phase aiguë peut causer des complications avec diarrhées, hémorragies et hypertrophie du foie et de la rate (Jordan et al., 1969).

3. LA BILHARZIOSE EXPÉRIMENTALE

3.1. LES MODELES EXPÉRIMENTAUX

Les schistosomes peuvent infester naturellement certaines espèces animales. C'est ainsi qu'en Extrême-Orient, le chien, le chat, le cheval, le mouton, peuvent héberger *S. Japonicum* et devenir ainsi des réservoirs de parasites.

Toutefois, pour *S. Haematobium* et *S. mansoni*, la spécificité est plus stricte et le réservoir de parasites est essentiellement humain. Tous les carnivores sont résistants à *S. mansoni* ; par contre, quelques ordres de mammifères sont, en Afrique et en Amérique du Sud, naturellement infestés par ce parasite (Dias et al., 1978 ; Dias et al., 1980). Il en est ainsi de quelques primates et de certains rongeurs (Tribouley, 1969). Beaucoup de ces animaux ont d'ailleurs été utilisés à des fins expérimentales.

Après de nombreuses études faites sur la réceptivité de différentes espèces de mammifères, les rongeurs apparaissent les plus réceptifs, bien que certaines espèces soit très résistantes.

Le rat blanc, le cobaye et le lapin sont beaucoup plus résistants à l'infestation que la souris et le hamster (Moore et al., 1949 ; Stirewalt et al., 1951 ; Warren et al., 1967). Mais, alors que la plupart des souris parasitées survivent à

l'infestation, les hamsters ont un taux de mortalité très élevé dès la 6ème semaine de l'infestation.

Chez le rat blanc, la mortalité est à peu près nulle et le pourcentage des cercaires qui se développent en adultes est faible. De plus, le nombre de parasites diminue au fur et à mesure que l'infestation progresse chez le rat (Smithers et al., 1965).

Il apparaît donc que la souris est un hôte favorable pour le maintien au laboratoire du cycle évolutif de *S. mansoni* ; il s'établit en effet un équilibre hôte-parasite permettant la survie de l'hôte, sans qu'il y ait élimination du parasite. Alors que chez le hamster cet équilibre est précaire, et ne peut être longtemps maintenu, l'hôte succombant à ses parasites, chez le rat, au contraire, c'est l'hôte qui se débarrasse de ses parasites. Le rat peut d'ailleurs constituer un hôte de choix pour l'étude du mécanisme de l'immunité naturelle entraînant la destruction des schistosomules dans un premier temps, puis la destruction des vers survivants.

La souris offrant l'avantage de permettre d'étudier l'évolution de l'infection parasitaire pendant un temps assez long, nous avons choisi cet animal comme modèle pour notre expérimentation.

3.2. LA BILHARZIOSE EXPÉRIMENTALE À *S. MANSONI* CHEZ LA SOURIS

La première description détaillée des réactions tissulaires déclenchées au niveau du foie et de la rate de la souris a été faite par Brumpt et Chevalier (1931). Ces auteurs signalent notamment l'hypertrophie du foie, son aspect bosselé et sa couleur brun foncé ; la réaction majeure étant celle qui se développe autour des oeufs du parasite disséminés dans le parenchyme hépatique et constituant le "nodule bilharzien", encore appelé "granulome bilharzien".

Historiquement, le granulome associe :

- a) Une réaction cellulaire à polynucléaires et histiocytes au contact de l'oeuf.
- b) Une réaction fibreuse en périphérie avec fibroblastes et dépôt de fibres de collagène.

Ces mêmes auteurs constatent également que le reste du foie est peu modifié. Un pigment noir existe en grande quantité dans les macrophages des granulomes et dans les cellules de Küpffer disséminées dans le parenchyme hépatique. Ce pigment résulte de la transformation de l'hémoglobine du sang dans le système digestif du parasite qui l'élimine dans le courant sanguin de l'hôte. Au niveau des veines portes, les réactions sont minimales, malgré la présence de vers adultes.

4. OBJECTIFS

Dans la bilharziose hépatosplénique (ou intestinale) la pathologie hépatique est liée à l'action synergétique de l'agent pathogène, le ver adulte, de l'oeuf et des nombreuses substances toxiques ou antigéniques qu'il libère dans la circulation hépatomésentérique (Warren, 1978).

L'objectif recherché dans ce travail est double.

4.1. L'ÉTUDE DESCRIPTIVE DE L'AGENT PATHOGENE

au moyen de la microscopie électronique (transmission et balayage) constitue une nouvelle approche des éléments taxonomiques de l'espèce *Schistosoma mansoni*.

Ce parasite est le premier Trématode digène à avoir fait l'objet d'une étude ultrastructurale (Gonnert, 1955). La possibilité du maintien du cycle, donc de la souche, en laboratoire, son importance sur le plan médical et les progrès de la microscopie électronique sont autant de facteurs qui justifient l'intérêt particulier réservé à ce ver par comparaison aux autres digènes.

Parmi les nombreux travaux sur le sujet, nous retiendrons ceux de Morris et al. (1967, 1968), Smith et al. (1969), Silk et al. (1969), Hockley (1972, 1973) qui ont principalement porté sur l'ultrastructure du tégument (ou cuticule) et ceux de Spence et al. (1970, 1971) concernant l'ultrastructure des appareils digestif et reproducteur du ver adulte.

La microscopie électronique à balayage a été largement utilisée depuis les travaux de Hockley (1968) afin de préciser la morphologie externe de *Schistosoma mansoni* et de ses stades larvaires (Silk et al., 1970 ; Race et al., 1971 ; Miegville et al., 1978, 1979).

4.2. L'ÉTUDE HISTOPATHOLOGIQUE DES LÉSIONS

expérimentalement induites chez la souris est notre deuxième objectif.

L'utilisation de divers moyens d'approche sur un modèle expérimental tel que la souris permettra d'étudier le mécanisme de l'histogénèse des lésions hépatiques au cours de l'évolution de la maladie. Il est actuellement bien établi que la pathologie hépatique de la bilharziose passe par deux phases :

- Une infiltration cellulaire inflammatoire ou hépatite granulomateuse. Ce granulome est sous la dépendance de deux facteurs :
- a) une réaction à corps étranger de caractère non spécifique,



- b) une réaction spécifique de nature immuno-allergique, liée à l'activité sécrétoire du miracidium (Von Lichtenbers, 1962 ; Andrade, 1965 ; Warren et al., 1967 ; Warren, 1972 et 1978 ; Boros, 1976 ; Grimaud et al., 1977a).
- Une fibrose secondaire caractérisant l'évolution chronique de la maladie (Andrade et al., 1964, 1971 ; Warren, 1966 et 1972 ; Grimaud et al., 1977a).

Cette fibrose périportale qui apparait au cours de la phase chronique est la forme la plus fréquente de fibrose hépatique observée chez l'homme (Warren, 1973). Elle est le résultat d'un processus réparateur consécutif à la rupture de l'équilibre entre synthèse et dégradation du collagène (Rodjkind et Dunn, 1979). Cette lésion a pu être reproduite expérimentalement chez la souris (Andrade et al., 1964). Toutefois, son histogénèse est encore mal définie. Tandis que certains auteurs rendent directement responsable la réaction granulomateuse périovulaire (Aidaros et al., 1961), d'autres auteurs relient cette fibrose à la réaction inflammatoire périportale initiale (Von Lichtenberg, 1955, Grimaud et al., 1977a) qui débute avec la colonisation du système porte par les schistosomules. De récentes études ont montré *in vitro* que les macrophages et les lymphocytes des granulomes périovulaires sécrètent un facteur stimulant l'activation et la prolifération des fibroblastes (Wyler et al., 1987). D'autre part, les myofibroblastes (Gabbiani et al., 1971), cellules intermédiaires entre les fibroblastes et les cellules musculaires lisses ont été impliquées dans le processus de fibrogénèse hépatique (Grimaud et al., 1977b ; Lieber, 1983). Les myofibroblastes ont été mis en évidence dans la bilharziose hépatosplénique chez l'homme (Grimaud et al., 1977b). De même, une lignée de cellules présentant les caractères morphologiques des myofibroblastes, mise en évidence dans les fibroses hépatiques humaines (Voss et al., 1982) a été obtenue après trois mois de culture de granulomes isolés de foies de souris infestées par *Schistosoma mansoni* (Borojevic et al., 1985).

Par l'infection expérimentale unisexuée chez la souris, nous avons tenté de distinguer les effets pathologiques liés au ver adulte et aux substances qu'il libère dans la circulation hépato-mésentérique de ceux liés aux oeufs et aux antigènes ovulaires (Baki et al., 1985).

L'effet d'un traitement antiparasitaire déjà réalisé dans les infections bisexuées chez la souris (Andrade et al., 1986) sur la stabilité de la fibrose sera étudié. Il nous permettra de déterminer si la disparition de l'agent pathogène est à l'origine d'un remodelage de la matrice conjonctive portale ou sans effet à ce niveau, démontrant ainsi le caractère auto-entretenu des lésions fibreuses induites.

La première partie du travail présente un intérêt théorique immédiat dans la systématique des Trématodes digènes et de *Schistosoma mansoni* en particulier puisqu'elle contribuera à en préciser les caractères taxonomiques au plan ultrastructural.

La seconde partie, consacrée à l'étude histopathologique des lésions hépatiques pourra avoir un double intérêt :

- Sur le plan pratique d'une part, s'il est démontré que le traitement spécifique antiparasitaire est à l'origine d'une diminution des lésions hépatiques. Certains cliniciens rejettent en effet un tel traitement chez l'homme, considérant qu'une éventuelle libération d'antigènes parasitaires pourrait intensifier les lésions.
- Sur le plan théorique d'autre part, car elle permettra de préciser la nature et l'importance des réactions tissulaires déclenchées par le ver adulte de *S. mansoni* au niveau du foie, en l'absence de toute pathologie due à l'oeuf. Elle permettra aussi d'identifier les populations cellulaires impliquées dans la synthèse du collagène.

MATÉRIELS

1. CYCLE EXPÉRIMENTAL DE SCHISTOSOMA MANSONI

Le cycle parasitaire est maintenu en laboratoire avec une souche portoricaine de *Schistosoma mansoni*, entretenue avec un mollusque, *Biomphalaria glabrata* (Planorbidés, Biomphalariinés). Ce mollusque possède une coquille discoïde dont le diamètre peut atteindre 25 mm. Le mollusque utilisé est de même origine géographique. Il a été observé en effet que la diversité d'origine pouvait entraîner une incompatibilité entre souches géographiques différentes de planorbes et de schistosomes se traduisant par une baisse plus ou moins importante de la réceptivité du mollusque (Newton, 1952 ; Buttner, 1956 ; Barbosa et al., 1960).

1.1. INFESTATION DU MOLLUSQUE

Les oeufs du schistosome sont isolés à partir de hamsters infestés 42 jours auparavant par un millier de cercaires. L'intestin grêle du hamster conservé dans l'eau physiologique pendant 24 h à 4 °C est ensuite coupé en fragments de 1 cm de long. Chaque fragment est ouvert sur toute sa longueur, puis étalé dans une boîte de Pétri. La muqueuse intestinale est éliminée par grattage superficiel.

Après rinçage à l'eau, on gratte de nouveau plus profondément à l'aide d'une lame porte-objet sous une loupe binoculaire. La suspension obtenue est ensuite mélangée à l'eau d'aquarium préalablement filtrée ; le tout est versé à travers un morceau de toile à bluter dans une seconde boîte de Pétri que l'on place à 27 °C à la lumière artificielle.

Les Miracidia éclos au bout de 10 à 15 mn sont recueillis à la pipette Pasteur sous la loupe et mis en présence des mollusques dans de petits béchers, à raison de 8 à 10 miracidia par mollusque pour les infestations bisexuées et

d'un seul miracidium par mollusque pour les infestations unisexuées (Rowntree et al., 1977). Pour les infestations unisexuées, il a été jugé prudent d'utiliser une pipette par miracidium afin d'éviter d'introduire dans le bécher contenant le mollusque d'autres miracidia restés éventuellement collés à la pipette. La pénétration des miracidia est contrôlée à la loupe au bout d'une heure environ. Il a été démontré que le facteur thermique (Dewitt, 1955), l'âge des mollusques et l'âge des miracidia (Maldonado et al., 1948 ; Purnell, 1966) jouent un rôle important dans la réceptivité du mollusque au miracidium. C'est pourquoi nous avons choisi des mollusques jeunes de 3 à 4 semaines et utilisé des miracidia au maximum 30 mn après leur éclosion. Les mollusques infestés sont ensuite conservés en aquarium à 27 °C en lumière artificielle ; ils reçoivent 12 h d'éclairage pour 12 h d'obscurité.

1.2. INFESTATION DE LA SOURIS

Dès la 3^{ème} semaine d'infestation, certains mollusques commencent à libérer des cercaires, mais la plupart n'émettent qu'après 28 jours d'infestation.

Il a été démontré que l'émergence des cercaires était influencée par l'illumination du milieu (Glaudiel et al., 1973). Cette particularité a été mise à profit en plaçant les aquariums dès la 3^{ème} semaine à l'obscurité totale afin d'éviter l'émission des cercaires.

Au moment choisi pour l'infestation des souris, chaque mollusque est isolé dans un bécher propre contenant quelques millilitres d'eau d'aquarium filtrée et préalablement contrôlée (absence de cercaires). Les béchers sont maintenus à 27 °C à la lumière artificielle pendant quelques heures. Sous l'effet de la lumière, les cercaires émergent produisant une légère suspension dans le bécher. Après avoir homogénéisé cette suspension par agitation, on en prélève 1 ml que l'on répartit dans une plaque à godets. Une goutte de lugol permet de tuer les cercaires et les colore en jaune, ce qui facilite leur

numération. Le total des cercaires contenues dans les godets de la plaque représentera donc le nombre de cercaires présentes par millilitre de suspension dans le bécher.

Dans l'infestation unisexuée, chaque lot de souris Swiss-Albino SWR a été parasité par les cercaires provenant d'un même mollusque, à raison de 300 cercaires par souris.

Pour l'infestation bisexuée, nous avons utilisé une suspension de cercaires provenant d'une dizaine de mollusques ayant reçu auparavant 8 à 10 miracidia.

Les infestations de souris ont été pratiquées par injection sous-cutanée d'une petite quantité de suspension contenant 300 cercaires (généralement 0,5 ml) de préférence à l'infestation par immersion de la queue dans un tube à essai contenant les cercaires qui est plus longue (environ 2 h) et moins fiable. Des essais préalables nous ont montré en effet, que les résultats sont meilleurs avec l'injection sous-cutanée.

Les tableaux ci-dessous donnent le détail des mollusques et souris utilisés pour l'expérimentation.

Mollusques	Nombre	ont émis des cercaires
Infestés par 1 miracidium	789	302 { 32 (N > 3000) 94 (N < 2000) 176 morts
Infestés par 8 à 10 miracidia	271	149 + 43 morts
TOTAL	1060	N : cercaires par émission

Mollusques émettant des cercaires	ont permis d'infester	soit au total
08	8 lots de 19 souris	152 souris
05	5 lots de 20 souris	100 souris
19	19 lots de 10 souris	190 souris
32 mollusques	32 lots de souris	432 souris

Souris Swiss-Albino SWR pesant 18 à 20 g au moment de l'infestation.

Infestation	Nombre	Mortes
Unisexuée	432	17
Bisexuée	33	4
Témoins (non infestées)	30	
TOTAL	495	

1.3. RÉCOLTE DES VERS ADULTES

Les vers adultes sont recueillis par perfusion sur des souris ayant subi une infestation bisexuée (méthode de Duvall et Dewitt 1967 modifiée). Le liquide de perfusion se compose de :

- Chlorure de sodium (Na Cl) 8,5 g
- Citrate de sodium (C₆H₅Na₃O₇·5H₂O)... 7,5 g
- Eau distillée..... q.s.p 1 litre

La souris à perfuser est tuée par élongation. La peau est incisée au niveau de l'abdomen, puis retournée par étirement. Après avoir été complètement dégagé, l'abdomen est ouvert à l'aide de ciseaux à bout pointu. Une partie de

la cage thoracique ainsi que le diaphragme sont coupés. Les viscères et les cavités thoracique et abdominale sont lavés à l'eau distillée dans un récipient de verre ; cette eau est contrôlée à la loupe en vue de déceler la présence éventuelle de vers.

La souris est ensuite maintenue sur le bord d'un verre à pied par des bandes adhésives fixées au niveau de la tête et des pattes postérieures, les viscères étant orientés vers le fond du verre.

Le liquide de perfusion est prélevé à l'aide d'une grosse seringue. L'aiguille à perfusion est introduite dans l'aorte thoracique.

Après avoir coupé la veine porte (à 1 cm environ du hile), on injecte lentement le liquide de perfusion. En général 30 ml suffisent pour recueillir tous les vers.

2. TRAITEMENT DES SOURIS PAR LE PRAZIQUANTEL

Le Praziquantel (Biltricide, Bayer) a été choisi du fait que c'est un schistosomicide qui présente le double avantage d'être efficace en prise unique et de ne pas créer de résistance chez le parasite (Archer, 1985).

Les 32 lots de souris ont été séparés les uns des autres dans des cages appropriées. Chaque lot a été réparti en 6 groupes identifiés par des marques extérieures faciles à repérer. Un groupe a été utilisé comme témoin et n'a pas été traité. Les cinq autres groupes diffèrent par la période à laquelle le traitement a lieu (après 15, 20, 25, 30 ou 35 semaines d'infestation).

Le Praziquantel a été administré par voie buccale en une seule journée à raison de 3 prises espacées de 4 heures. La dose administrée a été de 25 mg par souris dilués dans l'eau (soit 800 mg de produit par kg de poids).

TECHNIQUES

Les souris sont tuées par élongation. Elles sont ensuite disséquées et le foie est prélevé. Chaque lobe hépatique est coupé en trois (3) parties :

- une partie est congelée en l'état pour la technique d'immunofluorescence indirecte,
- une partie est destinée à la fixation au Bovin,
- une partie est destinée à l'observation en microscopie électronique.

1. TECHNIQUE D'IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE

Tous les immunsérums sont préparés à l'Institut Pasteur de Lyon (par l'UA602 CNRS-Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Centre de Radio analyse).

Les anticorps anticollagène 1 et anticollagène 3 de souris, antiprocollagène 3 bovin sont préparés chez le lapin et sont des anticorps polyclonaux.

L'anticorps antidesmine de poulet est préparé chez la souris, il est monoclonal.

Les anticorps sont purifiés par chromatographie d'affinité et les réactions croisées sont contrôlées par Elisa (Grimaud et al., 1986).

1.1. PRÉLEVEMENT CONGELÉ

Le foie est initialement congelé dans l'Isopentane refroidi dans l'azote liquide.

L'immunomarquage est réalisé sur coupes à congélation de 5 μm d'épaisseur par la technique d'immunofluorescence indirecte. Les marqueurs sont des immunoglobulines (anti IgG de lapin et anti IgG de souris) conjuguées à l'Isothiocyante de fluoresceine (Institut Pasteur Production - Code 74561 et 74641).

1.2 COUPES SEMI-FINES

L'immunomarquage a pu être réalisé sur coupes semi-fines (1 μm) de matériel inclu dans l'Epon. Les coupes sont désosmiées par l'Acide périodique à 1 % (10 mn) et déplastiquées par passage dans un bain de 5 mn dans une solution de 14 mg KOH dans 70 ml de méthanol et 35 ml d'oxyde de Propylène.

1.3 LECTURE

Les résultats sont lus sur un microscope à épifluorescence Leitz Dialux équipé d'une lampe HBO 200 alimentée en courant continu.

Pour les réactions de contrôle, seules les immunoglobulines conjuguées sont appliquées sur les coupes.

2. PRÉPARATION À LA MICROSCOPIE OPTIQUE

Les prélèvements destinés à la microscopie optique sont fixés au bouin aqueux.

Après inclusion dans la paraffine, ils sont débités en coupes de 4 μm . Les colorations suivantes sont pratiquées :

- Coloration trichromique de Masson et HPS (Hemalun - Phloxine - Safran) pour l'étude topographique.
- Imprégnation argentique selon la méthode de Gordon et Sweet pour la réticuline.

3. PRÉPARATION À LA MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

3.1. MICROSCOPIE À BALAYAGE (VERS ADULTES ET CERCAIRES)

a) Fixation

Nous avons utilisé la double fixation qui fait intervenir :

- Une première fixation au glutaraldehyde à 4 % tamponé au cacodylate 0,2 M à pH 7,4 et à 4 °C pendant 2 heures. Le temps de fixation a été augmenté jusqu'à 4 h sans modification apparente des résultats.
- Un rinçage dans le tampon cacodylate 0,2 M allant de 4 à 12 heures.
- Une postfixation d'une heure dans un mélange osmié constitué de Tetroxyde d'osmium (OsO₄) à 2 %) dans du tampon cacodylate 0,3 M ajusté à pH 7,4.

b) Déshydratation

Nous avons utilisé l'acétone en concentrations de plus en plus élevées (30, 50, 70, 90 et 100 %) comme agent de déshydratation.

c) Métallisation et observation

Les spécimens secs ont été couverts d'une fine pellicule de carbone puis d'une couche d'or (Sputtering ISI).

Ils sont ensuite examinés au MEB Geol. 1200 CX à des voltages variant de 15 à 20 k Volts.

3.2. MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE À TRANSMISSION

a) *Fixation*

Nous avons utilisé la simple fixation dans le mélange osmié constitué de Tetroxyde d'osmium (Os 04 à 2 %) dans du tampon cacodylate 0,3 M ajusté à pH 7,4 à 4 °C.

b) *Déshydratation*

Après rinçage à l'eau distillée, les échantillons sont déshydratés par l'éthanol en concentrations croissantes (30°, 50°, 70°, 90° et trois bains d'éthanol absolu 100°). Pour les cercaires, les différents bains sont changés à la seringue après centrifugation lente.

c) *Inclusion*

Les échantillons sont ensuite inclus dans la résine Epoxy (Epon) (Luft, 1961).

Nous avons utilisé la méthode "lente" qui consiste en trois bains de 12 heures dans la résine pure et d'un bain d'une heure dans le mélange résine pure -accélérateur (DMP 30) précédant l'inclusion définitive.

L'inclusion définitive est faite dans des gélules pour les fragments de foie et les cercaires et dans des moules à plat pour les vers adultes. La polymérisation se réalise à 60° pendant 3 jours.

d) *Ultramicrotomie*

Les coupes sont réalisées sur ultramicrotome LKB U 3.

Des coupes semi-fines de 1 μm d'épaisseur sont faites pour l'étude préalable en microscopie optique. Elles sont colorées au bleu de Méthylène -Azur 2 selon la méthode de Richardson et al., 1960.

Les coupes ultra-fines de 500 A sont recueillies sur grilles et contrastées 30 mn par l'Acétate d'Uranyle (à saturation dans l'alcool éthylique à 50°) à l'obscurité et colorées 10 à 12 mn par le citrate de plomb après rinçage soigneux dans l'alcool éthylique 50° filtré (Reynolds, 1963).

Les observations sont faites au MET Philips EM 300 à 60 et 80 kV.

3.3. IMMUNOMARQUAGE À L'OR COLLOIDAL (TABLEAU CI-APRES)

Cette technique est réalisée sur coupes ultra-fines. Les coupes sont d'abord désosmiées par l'acide périodique 1 % (10 mn) puis "déplastiquées" (élimination de l'Epon par passage dans une solution de 14 g KOH dans 70 ml d'alcool méthylique et 35 ml d'oxyde de propylène). Elles sont ensuite réhydratées par passages successifs dans le méthanol à degrés décroissants puis dans deux bains d'eau distillée et enfin dans du tampon phosphate (Phosphate Buffer Saline PBS). Après blocage des sites non spécifiques, les anticorps spécifiques sont appliqués. La "coloration" par la protéine A couplée à l'or colloidal (10 nm) est réalisée avant le contraste à l'Acétate d'Uranyle (5 mn) citrate de plomb (2 mn).

Technique d'immunomarquage

	Coupes ultra-fines (500 A)	Coupes semi-fines (1 μ)
Elimination de l'osmium	10 mn dans l'acide périodique 1 %	
Rinçage	1 heure dans l'eau distillée	
Elimination de l'Epon	10 secondes dans une solution de 14g KOH 70 ml méthanol et 35 ml oxyde de propylène	5 mn dans la même solution
Rinçage	méthanol	
Réhydratation	Eau distillée et PBS	
Perméabilisation de la matrice conjonctive		Hyaluronidase 0,2 % dans tampon Veronal 30 mn 37 °C
Blocage des sites non spécifiques	30 mn dans ovalbumine 1 % PBS	30 mn dans ovalbumine 1 % véronal
Incubation avec anticorps	Antiséra spécifiques dilués dans PBS	Antiséra spécifiques dilués dans véronal
Coloration	30 mn dans protéine A couplée à l'or colloïdal (10 nm)	30 mn dans IgG marquée à l'isothiocyanate de fluoresceine
Contraste	5 mn acétate d'uranyle 2 mn citrate de plomb	

N.B. : Pour les témoins l'incubation est réalisée avec du sérum de lapin non immunisé dilué au 1/40ème dans le tampon à la place des anticorps anticollagène.

PREMIERE PARTIE

ETUDE ULTRA-STRUCTURALE DU VER ADULTE ET DE LA CERCAIRE

DE SCHISTOSOMA MANSONI

PRÉAMBULE

La première partie de notre travail est consacrée à l'étude ultra-structurale du ver adulte et de la cercaire qui représentent, dans le cycle parasitaire de *Schistosoma mansoni*, deux phases en relation étroite avec l'homme.

La première phase correspond à l'infestation par la *cercaire* (initiatrice du cycle) et la seconde est liée à la présence des vers adultes dans le système hépatomésentérique de l'hôte définitif. *Le ver adulte* est en effet l'agent pathogène principal par l'action des substances antigéniques et toxiques qu'il libère dans la circulation hépato-mésentérique et des oeufs qu'il y dépose.

Les schistosomes constituent un genre inhabituel et assez particulier dans la classe des Trématodes Digènes par leur morphologie et leur biologie.

Si la plupart des Digènes de l'homme et des mammifères sont des vers plats ou *sub-cylindriques*, les schistosomes se caractérisent par leur minceur et leur *forme nématoïde* particulièrement adaptée à leur localisation vasculaire ainsi que par leurs oeufs fusiformes pourvus d'un éperon permettant de perforer la paroi vasculaire ou celle du viscère irrigué par le vaisseau parasité.

Exception faite des Digènes du genre *Paragonimus*, parasites électifs de l'appareil respiratoire et des localisations erratiques de certains autres Digènes dans le conjonctif sous-cutané ou dans les centres nerveux (cas de *Fasciola hepatica*), les Trématodes Digènes sont en général des parasites de l'appareil digestif. Les schistosomes sont, quant à eux, tous parasites de l'appareil circulatoire.

D'autre part, alors que les Digènes sont en général hermaphrodites, les schistosomes se distinguent par leur *gonochorie*, caractère très exceptionnel chez les Trématodes.

Ajoutons enfin que leur cycle évolutif ne comporte pas de stade métacercaire, les furcocerques pénétrant activement chez l'hôte définitif par voie per-cutanée.

LE VER ADULTE DE SCHISTOSOMA MANSONI

1. MORPHOLOGIE EXTERNE (PLANCHE 1)

Avec 7 à 12 mm de longueur et moins de 1,5 mm d'épaisseur pour les vers mâles, et 10 à 17 mm de longueur et 0,6 à 0,8 mm d'épaisseur pour les femelles, les schistosomes sont considérés comme des vers de petite taille.

Le tégument est recouvert d'épines qui sont portées, chez le mâle, par des protubérances tégumentaires d'apparence verruqueuse (tubercules). Ces protubérances sont très abondantes sur la face dorsale du ver mâle. La présence des tubercules et la disposition de la spinulation sont deux aspects du dimorphisme sexuel connus depuis fort longtemps (Gonnert, 1949). Il a fallu toutefois attendre les années 1970 pour que les études en microscopie électronique à balayage fournissent des illustrations intéressantes de la morphologie externe du schistosome adulte (Hockley, 1970 ; Silk et al., 1970 ; Race et al., 1971).

A l'instar de la plupart des Digènes, les schistosomes sont pourvus d'une ventouse buccale et d'une ventouse ventrale ou acetabulum très rapprochées l'une de l'autre. Au niveau de l'acetabulum, l'intestin se bifurque en deux caecums qui se rejoignent aux deux tiers du corps pour n'en former qu'un seul dans la partie postérieure du ver.

Chez les spécimens que nous avons étudiés, les surfaces internes des ventouses buccales des deux sexes sont couvertes de nombreuses épines.

La surface interne de l'acetabulum (plus large et plus proéminent chez le mâle) est couverte d'épines et de papilles (ou récepteurs) sensorielles. On observe à la périphérie, un bourrelet dépourvu d'épines mais garni de nombreuses papilles sensorielles. La face externe des ventouses buccale et ventrale montre de rares épines situées à la périphérie.

Les gonopores des deux sexes sont situés sur la face ventrale, postérieurement à l'acetabulum, et très près de ce dernier.

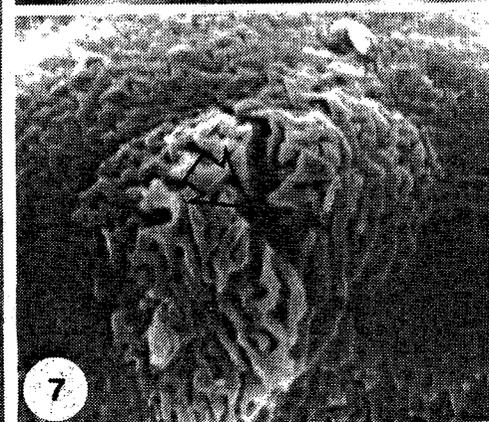
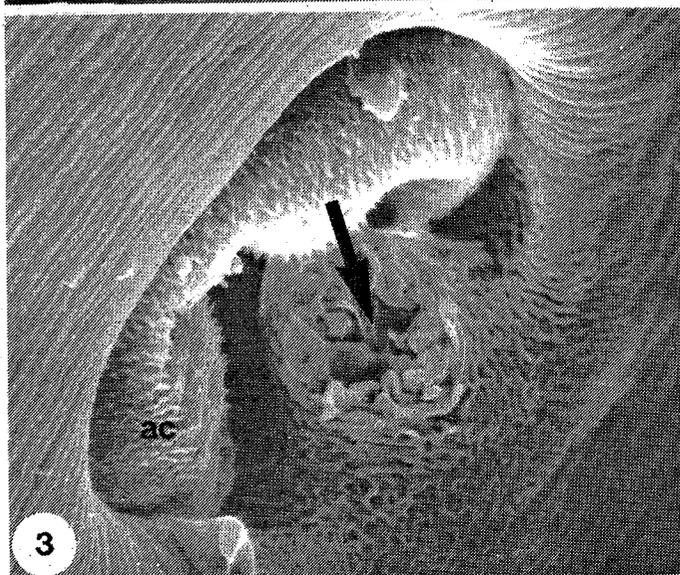
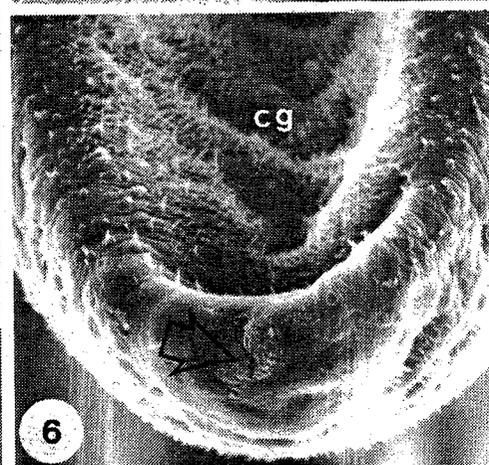
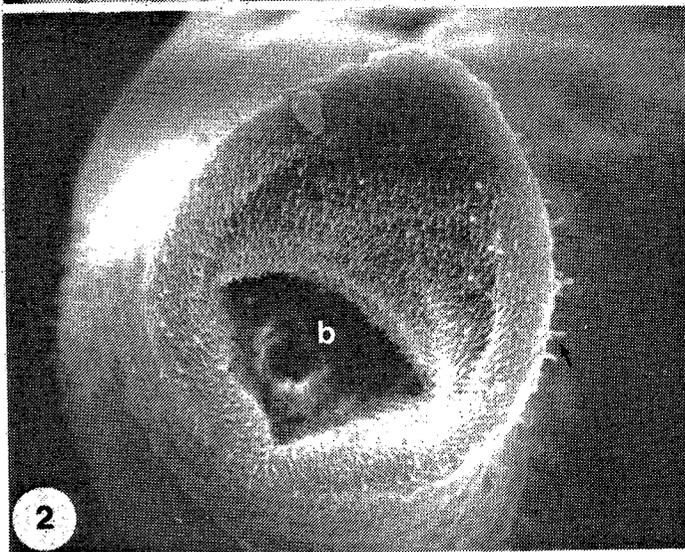
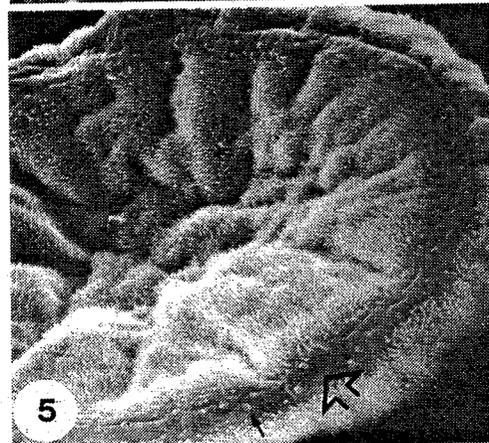
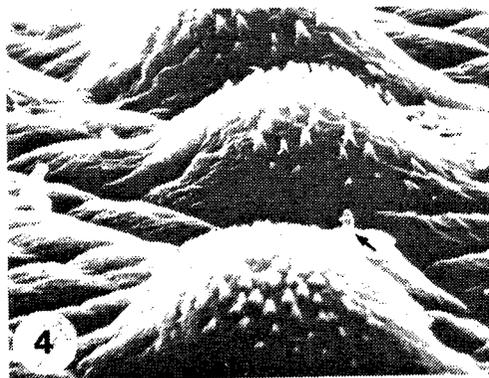
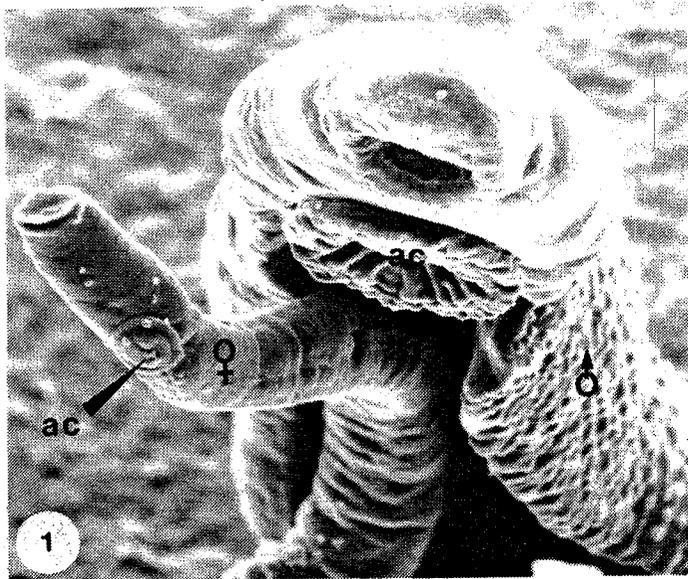
La face dorsale du ver mâle comporte des tubercules sur toute la partie postérieure à la ventouse ventrale.

Chaque tubercule est couvert de nombreuses épines orientées vers l'apex qui semble glabre. Le nombre de tubercules diminue progressivement vers les bords latéraux de la surface dorsale. Dans ces zones, ainsi qu'entre les tubercules, on observe de nombreuses rides délimitant des dépressions pourvues de micropores. Quelques épines isolées et des récepteurs sensoriels sont visibles entre les rides.

Chez le ver mâle, les bords latéraux se rapprochent l'un de l'autre en se repliant sur la face ventrale pour former le canal gynécophore, gouttière qui s'étend de l'acetabulum à l'extrémité postérieure du ver. Ces bords latéraux comportent de grandes épines qui s'entrecroisent probablement pour maintenir la femelle dans le canal. La surface du canal gynécophore est couverte d'épines de petite taille dont la disposition est irrégulière.

La surface du ver femelle est similaire à celle du mâle, mais elle est moins verruqueuse et comporte moins d'épines.

Un pore excréteur est situé dans l'extrémité postérieure du ver. Le tégument s'invagine à cet endroit et l'environnement immédiat est dépourvu d'épine ou de récepteur sensoriel. La surface qui entoure le pore excréteur est, de ce fait, relativement lisse.



2. MORPHOLOGIE INTERNE

2.1. TÉGUMENT ET STRUCTURES ASSOCIÉES

2.1.1. Le tégument (Planche 2)

a) *Le syncytium tégumentaire*

L'irrégularité de la surface externe rend difficile la mesure exacte de l'épaisseur du tégument.

Sur les spécimens adultes observés, l'épaisseur du tégument peut atteindre 4,5 nm, mais elle est plus réduite sur les ventouses, sur la face ventrale et sur les tubercules du mâle (elle varie dans ces zones de 1,8 nm à 3 nm environ).

Les micropores observés en microscopie électronique à balayage à la surface du tégument, montrent en section des canaux profonds et tortueux, pouvant se ramifier ou s'anastomoser. Ces canaux sont présents sur toute la surface du ver, mais sont moins développés dans les zones moins épaisses du tégument.

L'étude ultra-structurale révèle que le tégument est de nature syncytiale et montre, de l'extérieur vers l'intérieur :

- La *membrane tégumentaire* externe limitant la surface tégumentaire. Elle possède une structure heptalaminée et une épaisseur de 16 nm environ.
- La *matrice tégumentaire* ou cytoplasme du tégument. Cette matrice est constituée d'une substance fondamentale contenant un matériel finement granuleux, dense aux électrons. Cette couche dense, limitée par la membrane externe, mesure environ 50 nm d'épaisseur, mais elle est moins

importante sous les sillons de la surface du corps. Le matériel granuleux est plus abondant dans la partie externe du tégument que dans la zone basale. Cette particularité rend la partie externe du syncytium plus dense aux électrons.

Enfin, le tégument ventral du mâle montre une matrice plus dense que dans les autres régions du corps.

- *La membrane tégumentaire basale*, de structure trilaminée et mesurant 10 nm d'épaisseur. Cette membrane s'invagine dans le cytoplasme tégumentaire en circonvolutions pouvant atteindre 200 nm de longueur et 25 nm d'épaisseur. Ces circonvolutions forment des plis dont les extrémités sont occasionnellement renflées pour former des vacuoles ou des canaux dans le cytoplasme tégumentaire.

b) *Les épines*

Elles sont situées entre la membrane externe et la membrane basale du tégument, et pénètrent complètement dans le tégument. Leur extrémité pointue émerge au-dessus du niveau général du tégument et leur base est entourée par une grande invagination de la membrane basale.

Des densifications sont nettement visibles entre la base de l'épine et la membrane basale qui l'entoure. Ces densifications représentent probablement des points d'attache à cette membrane.

A très fort grossissement, les épines montrent une structure cristalline composée d'éléments longitudinaux parallèles, mesurant 5 nm d'épaisseur environ, séparés de jonctions claires de même taille. En section transversale, chaque groupe de 4 éléments forme un parallélogramme équilatéral ayant des angles internes de 60 et 120°.

c) Les organites et inclusions cytoplasmiques

Le tégument ne renferme que très peu de mitochondries, petites et ne contenant souvent qu'une seule crête.

Des inclusions bacilliformes très abondantes et très denses, mesurant environ 40 nm d'épaisseur sur 200 nm de longueur et des inclusions sphériques lamellaires de 150 à 200 nm de diamètre sont observées dans tout le tégument. Les inclusions bacilliformes semblent beaucoup plus abondantes chez le ver mâle.

2.1.2. Lamelle basale et fibres musculaires (Planche 2)

a) Lamelle basale et matériel interstitiel

La lamelle basale, bien développée, consiste en une lamelle granulaire de 40 nm environ d'épaisseur, située sous la membrane basale du tégument proprement dit, à 50 nm approximativement de cette dernière.

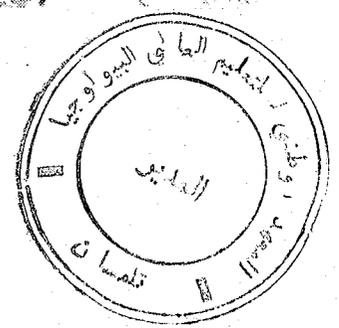
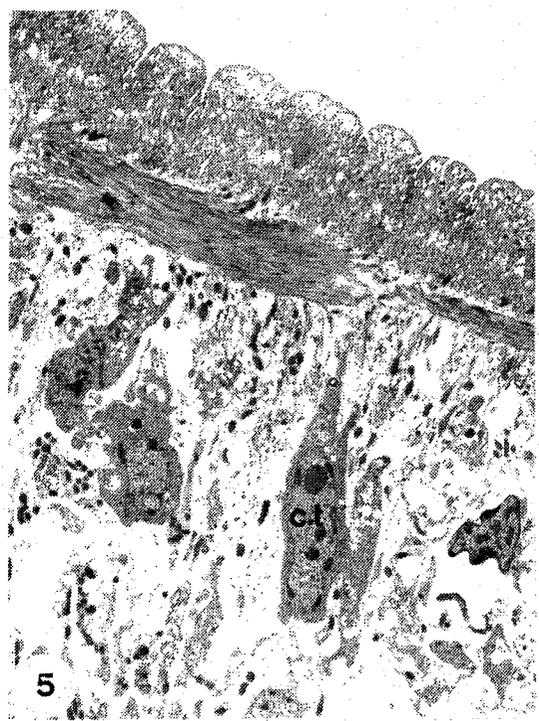
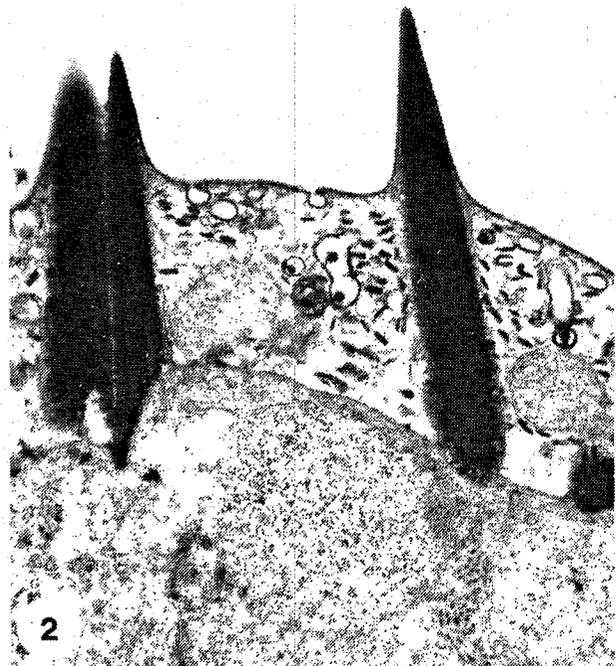
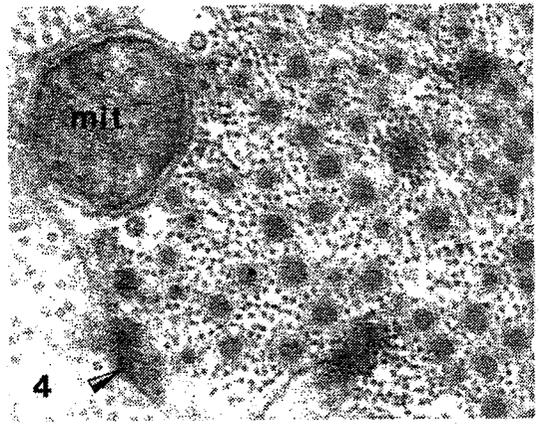
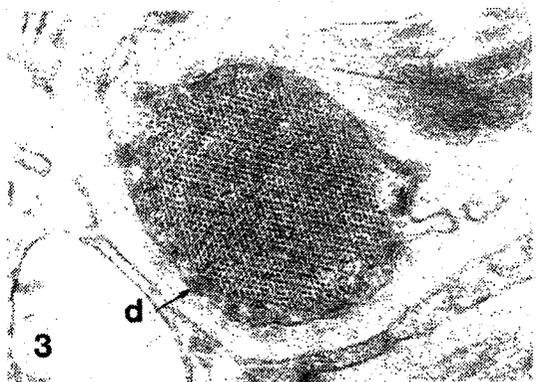
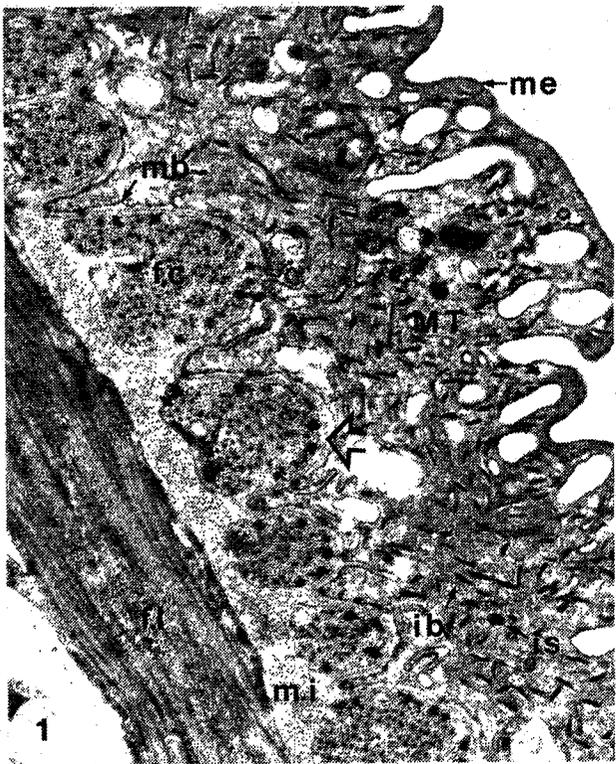
Un matériel fibreux interstitiel forme une couche assez épaisse pouvant atteindre 250 nm sous la lamelle basale, entre les fibres musculaires circulaires ou sous ces fibres.

b) Musculature

La musculature sous-tégumentaire est régulièrement disposée en couches circulaires et longitudinales.

Les fibres circulaires sont disposées à intervalles réguliers sous la lamelle basale, et reposent sur le matériel interstitiel.

La musculature du ver mâle est plus développée que celle du ver femelle.



Les myofibrilles sont arrangées en faisceaux composés de filaments épais de 15 à 40 nm d'épaisseur entourés par 10 à 12, et parfois jusqu'à 14 éléments plus fins de 5 nm d'épaisseur.

A la périphérie des myofibrilles, on observe des amas osmiophiles en continuité avec le sarcolemme et en association avec des filaments fins. Des éléments tubulaires du reticulum sarcoplasmique ainsi que des mitochondries sont présents à la périphérie des myofibrilles.

2.1.3. Les cellules sous-tégumentaires (Planche 2)

De taille assez irrégulière, ces cellules sont situées sous les fibres musculaires et sont profondément incluses dans le parenchyme du ver.

Elles sont parfaitement reconnaissables, car leur noyau apparaît dense, du fait de la présence de plusieurs nucléoles et d'une chromatine condensée en mottes. Les mitochondries sont peu nombreuses et le reticulum endoplasmique est peu développé.

Relativement dense, le cytoplasme montre les mêmes granulations (bacilliformes et sphériques) présentes dans le tégument.

Les cellules sous-tégumentaires sont caractérisées par la présence, au pôle tégumentaire, de longues et fines terminaisons de structure tubulaire, qui s'insinuent entre les fibres musculaires et semblent mettre en relation le corps cellulaire et le tégument. Nous n'avons pas observé de jonction complète entre le tégument et les cellules sous-tégumentaires. Toutefois, ces structures tubulaires ont été trouvées en contact direct avec le tégument ; à ce niveau, en effet, une vingtaine de microtubules disposées longitudinalement forment une jonction mesurant environ 100 nm de diamètre.

2.1.4. Les organites sensoriels (Planche 3)

Les éléments sensoriels apparaissent à la surface du tégument sous forme de papilles uniciliées émergeant à travers des ouvertures cratériformes. Ces papilles sont présentes sur toutes les parties du corps, mais sont particulièrement abondantes au niveau de l'extrémité antérieure du canal gynécophore.

Chaque papille est en fait une terminaison bulbeuse nerveuse de 2 μm environ de diamètre, rattachée au tégument par un desmosome circulaire. Un cil apical émerge à 2 μm environ de la surface du corps, mais reste recouvert d'une couche tégumentaire. Ce cil, dont l'arrangement tubulaire est de type (9 + 2), présente un corps basal situé dans le milieu du bulbe nerveux. Un anneau dense réticulé entoure le corps basal. Le bulbe contient, d'autre part, de nombreux grains de glycogène, une ou plusieurs mitochondrie(s), ainsi que de nombreuses vésicules et microtubules. Des structures satellites sont reliées à ce corps basal par des bras rayonnants.

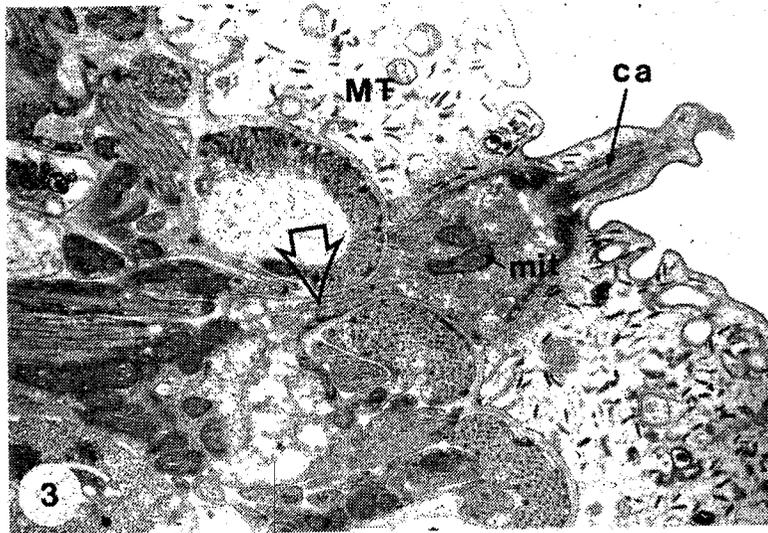
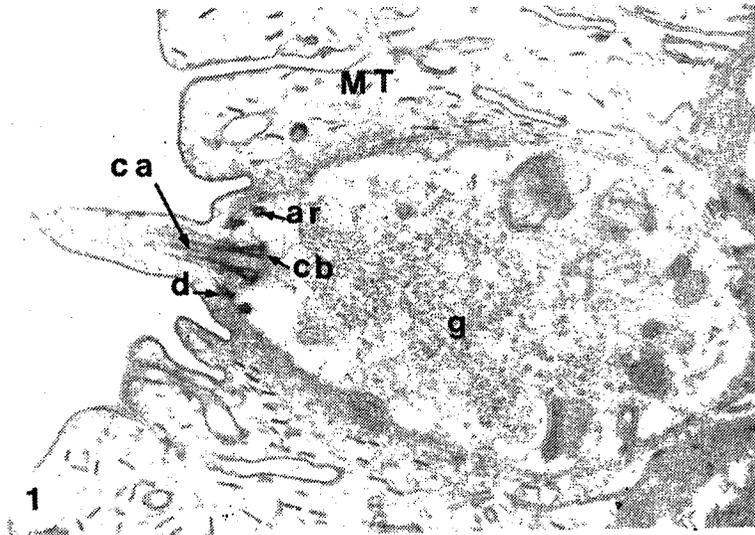
2.2. LE TRACTUS DIGESTIF (PLANCHE 4)

Le tégument fin et épineux de la ventouse orale se prolonge dans l'orifice buccal en se creusant et se plissant de plus en plus.

2.2.1. L'oesophage

a) *Partie antérieure*

Dans sa partie antérieure, l'oesophage montre un tégument de même structure que celle du revêtement du corps, mais qui devient très plissé, à tel point que les replis semblent remplir toute la lumière oesophagienne.



Du matériel vésiculaire extra-cellulaire est souvent emprisonné entre les plis. La membrane basale tégumentaire s'invagine et pénètre profondément dans les plis. Elle se dilate parfois pour former des structures vacuolaires contenant de petits granules ou des vésicules. Les inclusions sphériques sont nombreuses dans le cytoplasme et il y a peu de corps bacilliformes.

Les extrémités des plis forment de longues microvillosités dans la lumière oesophagienne et contiennent de petites vésicules et des mitochondries.

Les cellules sous-tégumentaires ont la même structure que celles du tégument qui recouvre le corps ; elles sont toutefois relativement plus grande et plus nombreuses, et leurs liaisons avec le syncytium tégumentaire sont plus courtes et plus larges.

b) Partie médiane

Dans la région médiane, les plis sont plus uniformes et de taille régulière. Ils sont peu ramifiés et sont très étroitement et très régulièrement disposés.

De petites quantités de matériel cristallin ou lamellaire sont observées entre les plis dans la lumière de l'oesophage. La membrane basale tégumentaire pénètre profondément jusqu'au sommet de chaque pli. Des granulations bacilliformes, de petites vésicules, des mitochondries et des microtubules sont présentes dans les plis. Des inclusions denses ovoïdes ou sphériques sont observées dans cette région de l'oesophage, formant parfois une protubérance à la surface du repli tégumentaire. Dans cette région, les cellules sous-tégumentaires sont grandes, souvent multinucléées et montrent un reticulum endoplasmique développé.

c) Partie postérieure

Les plis sont moins réguliers et ressemblent de plus en plus à des microvillosités. Ces microvillosités sont longues et fines avec de nombreuses projections courtes. Leurs extrémités sont souvent renflées.

Des granules sécrétoires sont présents dans cette région de l'oesophage. Leur taille varie de 2,8 à 4,2 μm de long sur 1,6 à 2,2 μm de large. Il s'agit de granules ovoïdes de structure lamellaire bien visible sur les spécimens intacts. Chaque granule consisterait, semble-t-il, en une membrane simple de 75 Å d'épaisseur, repliée sur elle-même de nombreuses fois, et dont une partie formerait la limite extérieure du granule. Parfois, des structures similaires, mais ne montrant pas de membrane limitante, sont observées entre les plis dans la lumière oesophagienne.

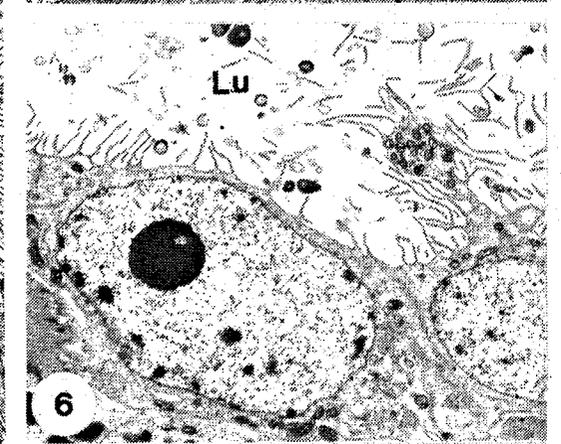
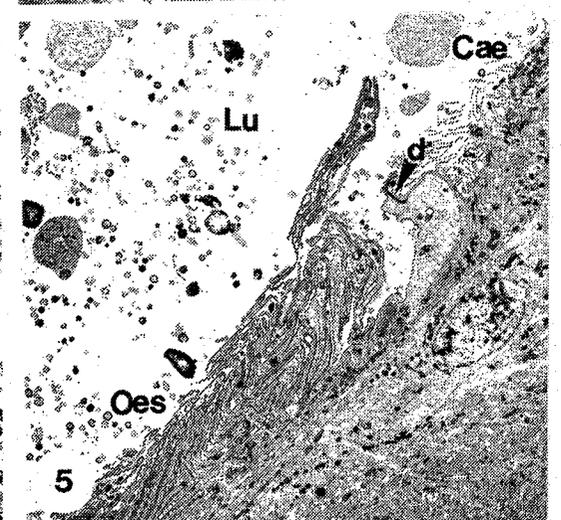
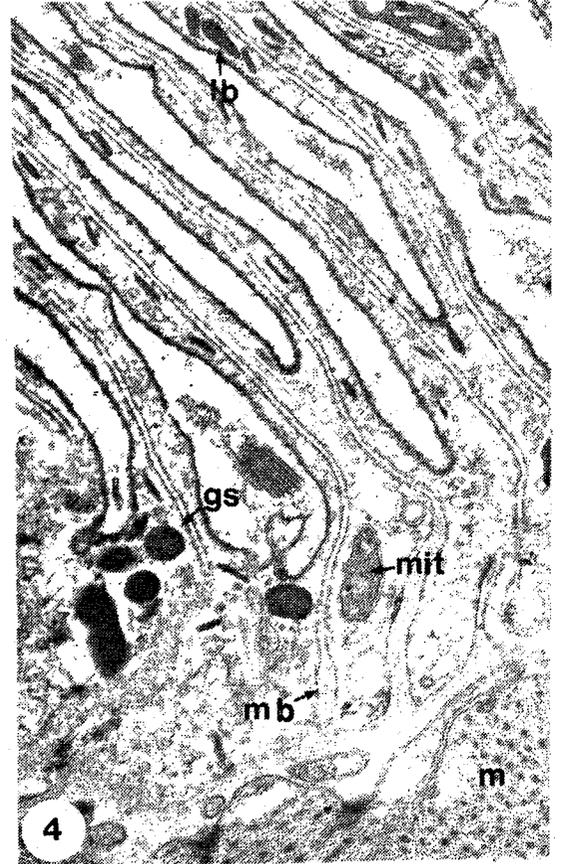
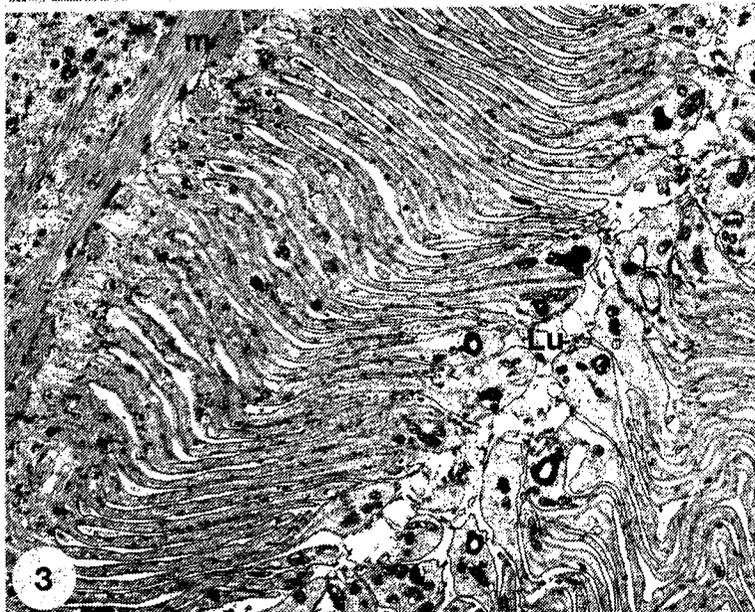
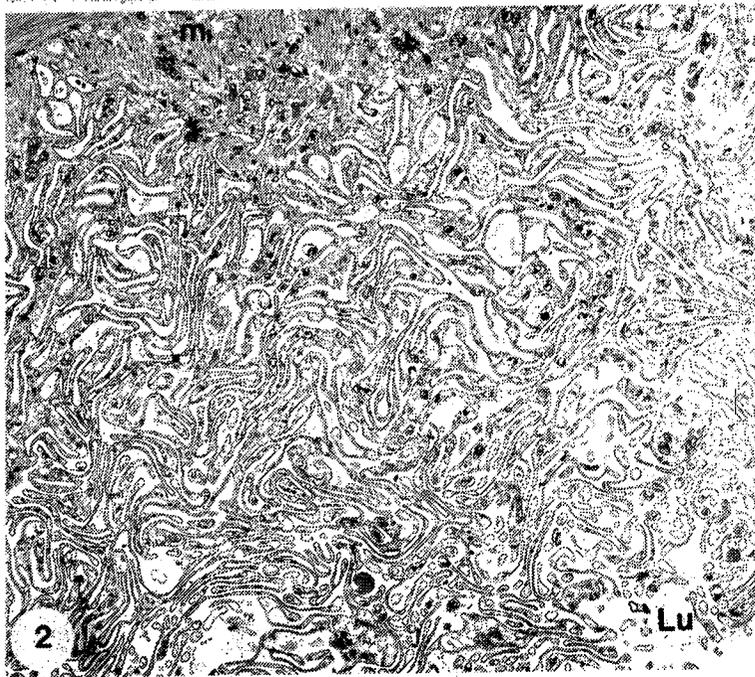
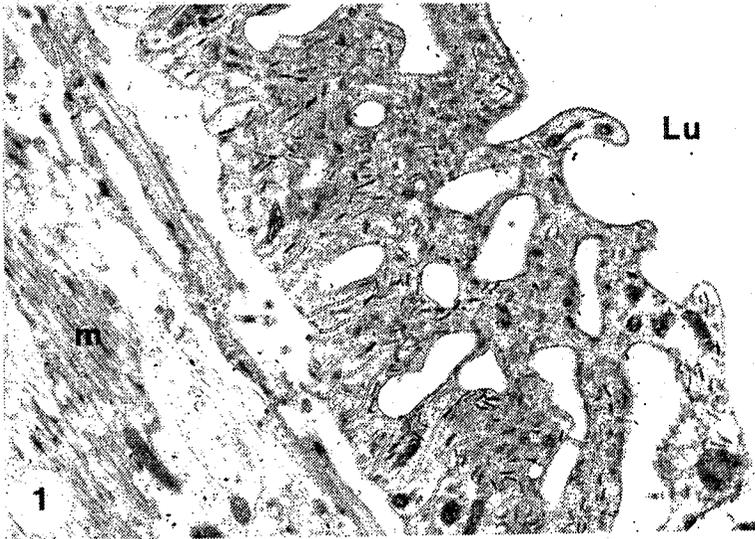
La lumière oesophagienne est plus grande dans cette région postérieure, et contient souvent des amas de matériel en voie de digestion.

2.2.2. Les caecums intestinaux

La jonction entre l'oesophage et le caecum intestinal est marquée par la présence d'un desmosome septé qui s'étend sur plusieurs microns, le long des parties distales de la membrane tégumentaire, et de celle du syncytium caecal. A ce niveau, le tégument s'étend au-dessus du syncytium caecal, de telle sorte qu'une longue jonction cellulaire est formée.

L'observation en microscopie optique montre que deux longs tubes caeaux sinueux partent de l'oesophage, puis se rejoignent en un seul tube dans la partie postérieure du ver.

L'observation ultra-structurale montre que l'épithélium caecal est de nature syncytiale. A l'opposé du syncytium tégumentaire, on y observe de



nombreux noyaux de grande taille avec, le plus souvent, un seul nucléole excentré.

La bordure de la lumière caecale forme des boucles dont la section ressemble à des microvillosités. Ces boucles sont des extensions du cytoplasme caecal et sont limitées par une membrane typique (trilaminée).

On observe de longues invaginations de la membrane basale dans le syncytium caecal, mais qui n'atteignent jamais la lumière. Des poches sarcoplasmiques afibrillaires, remplies de lipides et de glycogène, se trouvent sous la couche unique de faisceaux de myofibres de soutien.

La lumière caecale contient parfois un matériel finement granulaire. On n'observe pas de figures de phagocytose ou de pinocytose.

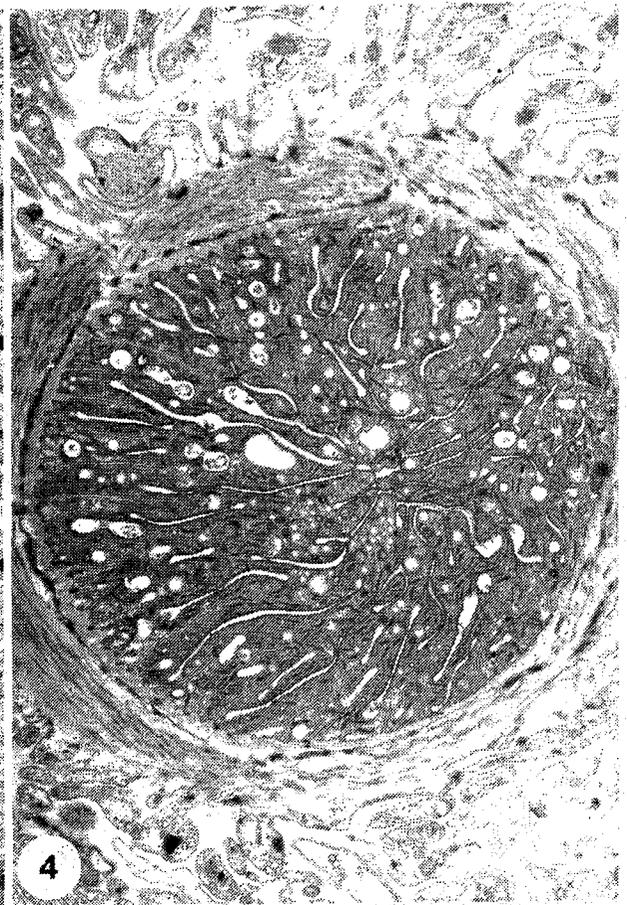
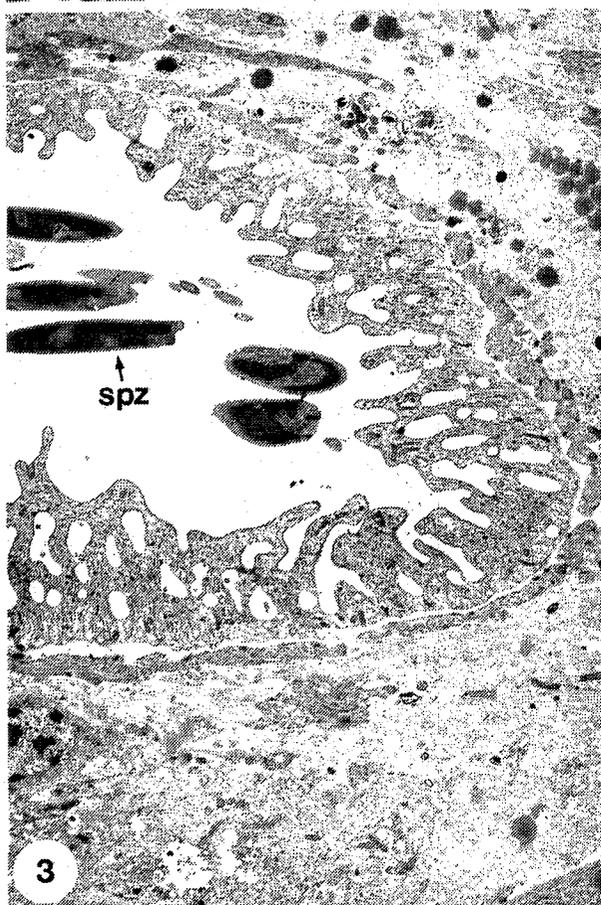
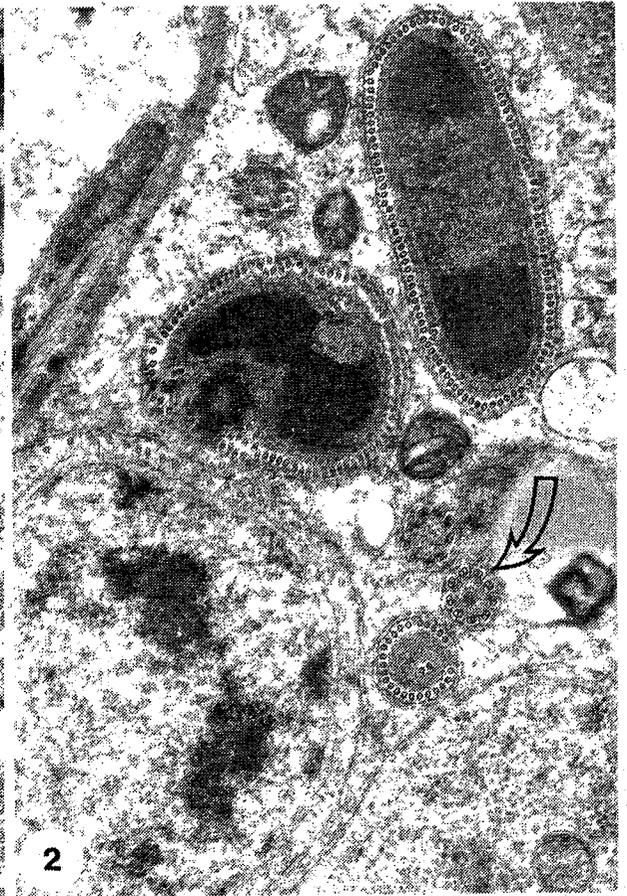
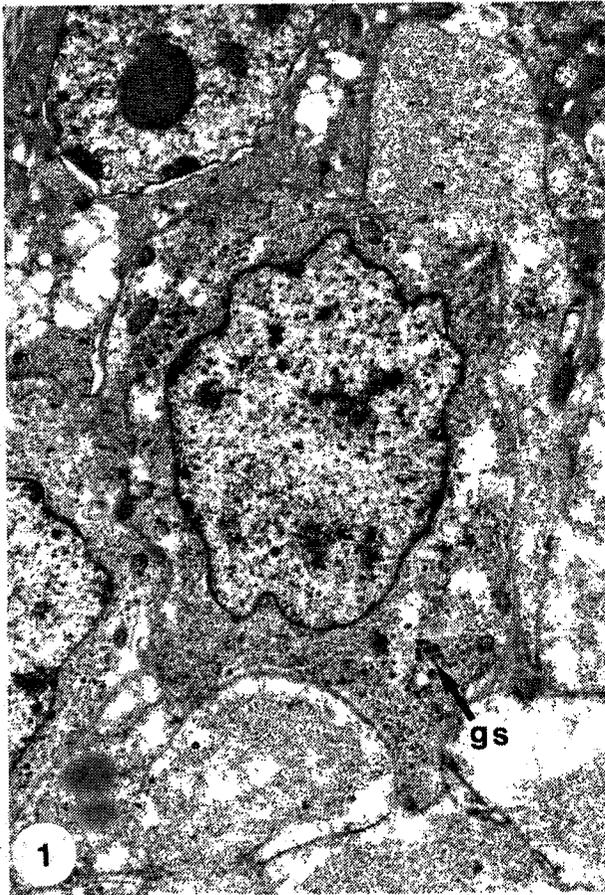
2.3. L'APPAREIL REPRODUCTEUR

2.3.1. L'appareil mâle (Planche 5)

Les testicules, au nombre de 6 à 10, sont situés en arrière de l'acetabulum, et possèdent deux types de cellules :

- Des cellules non germinales de grande taille au cytoplasme dendritique contenant de nombreuses inclusions telles que des granules sécrétoires.
- Des spermatozoïdes au cytoplasme uniformément dense aux électrons. Chaque gamète possède un centriole unique constitué de 9 triplets.

A la sortie du corps spermatique, le flagelle montre un cylindre axonématique constitué de neuf doublets, ainsi qu'un ensemble de microtubules situés contre la membrane flagellaire. Ces microtubules sont en fait les extrémités des microtubules sous-membranaires longitudinaux, présents sur



toute la surface du spermatozoïde. En arrière de cette zone, le flagelle ne comporte plus que les doublets de l'axonème présents sur toute la longueur. En coupe transversale, le flagelle montre 9 doublets périphériques dépourvus de bras. La région centrale de l'axonème ne comporte pas de tubule, toutefois, un matériel non tubulaire, dense aux électrons, est présent.

Le canal déférent comporte un épithélium simple qui se termine en nombreuses lamelles, tandis que la vésicule séminale montre des parois de nature tégumentaire, de même que le gonopore.

2.3.2. L'appareil femelle (Planches 6 et 7)

Le gonopore s'ouvre dans la face ventrale du ver, sous la bordure de l'acetabulum. La couche tégumentaire qui recouvre le corps s'élargit et s'invagine pour former ce *pore génital*. Le pore génital débouche postérieurement dans *l'utérus*. Le tégument utérin comporte des plis et des cavités beaucoup plus grands que ceux du tégument du corps ; ceci semble indiquer que la lumière utérine peut changer de volume dans des proportions considérables. Le cytoplasme est plus dense et les inclusions cytoplasmiques plus disparates. La couche cytoplasmique formant la lumière utérine est reliée par de fins prolongements cytoplasmiques aux corps cellulaires nucléés, situés sous la couche musculaire.

Le syncytium utérin anucléé fait ensuite place à un épithélium cubique nucléé constituant la lumière de *l'ootype*. Les sécrétions de la *glande de Mehlis*, située à proximité, sont déversées dans la lumière de l'ootype, le long de canaux cytoplasmiques passant entre les faisceaux de myofibres et les cellules cubiques bordant cette lumière.

La glande de Mehlis est composée par un groupe de cellules glandulaires adjacentes à l'ootype. Lorsque les cellules sont immatures et que le cytoplasme n'est pas encore entièrement remplacé par la sécrétion de la glande, on peut observer un reticulum endoplasmique bien développé et de nombreuses

citernes. Des complexes de Golgi, ainsi que de nombreuses petites vésicules, sont présents au contact du reticulum endoplasmique. Le noyau est identique à ceux des autres tissus tégumentaires, avec un nucléole excentré et une chromatine dispersée. Lorsque le processus sécrétoire est avancé, le cytoplasme est totalement rempli de granules sécrétoires, et la plupart des organites cytoplasmiques ont disparu.

Un prolongement cytoplasmique, long et ténu, part de chaque cellule glandulaire et s'insinue entre les cellules cubiques de l'ootype. Ces prolongements sont soutenus par un anneau de microtubules. Au point où la sécrétion se déverse dans la lumière de l'ootype, la membrane plasmique du prolongement cytoplasmique est rattachée à celle des cellules voisines de l'ootype par un desmosome septé.

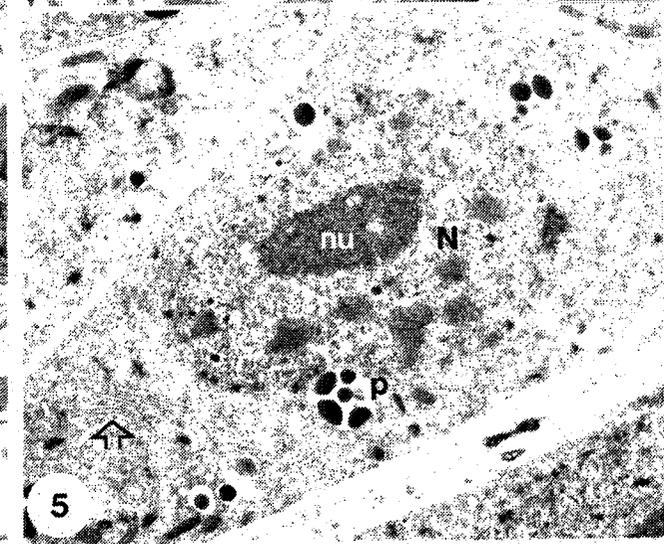
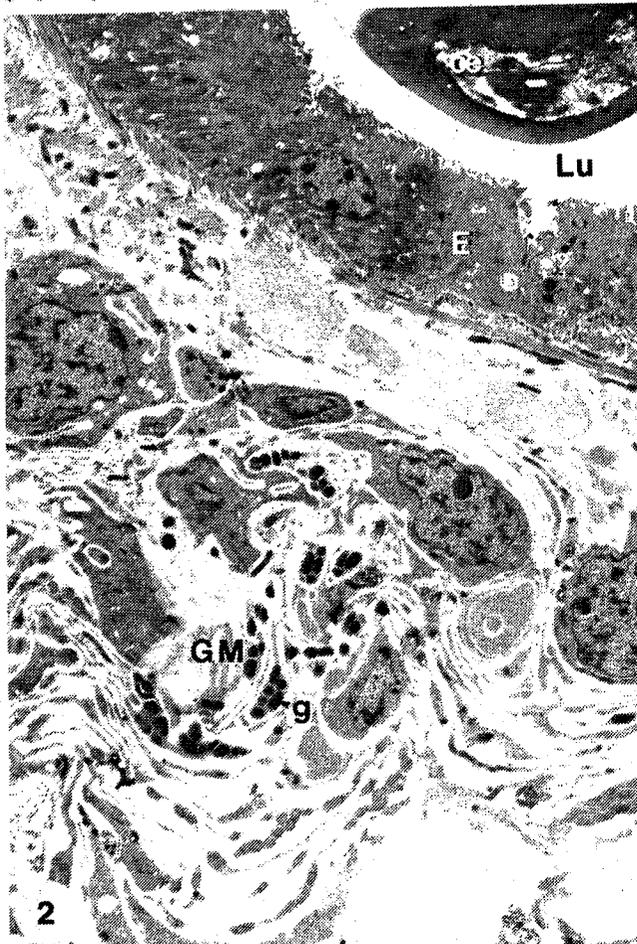
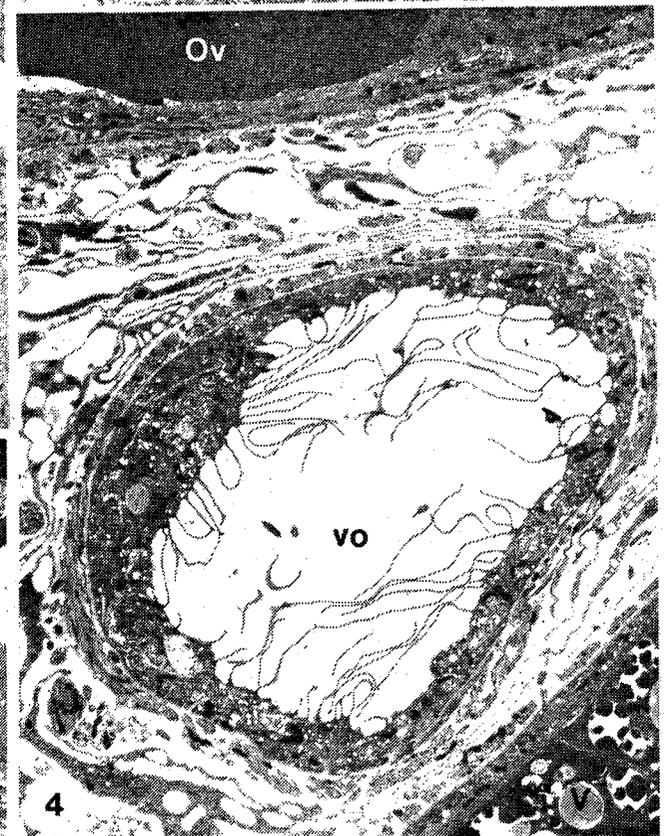
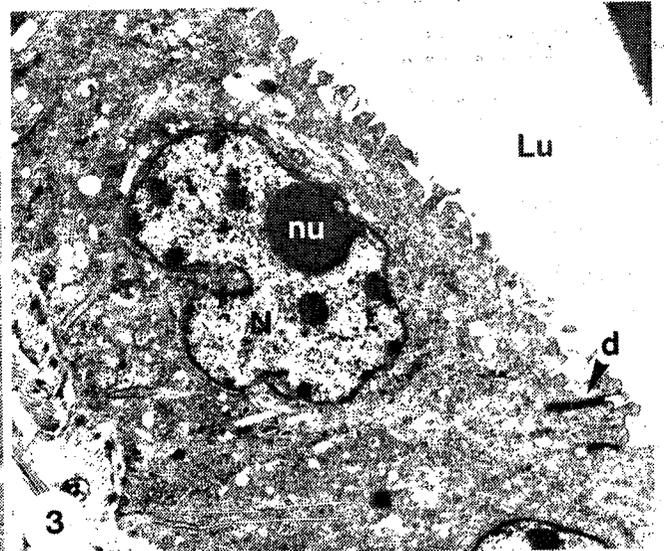
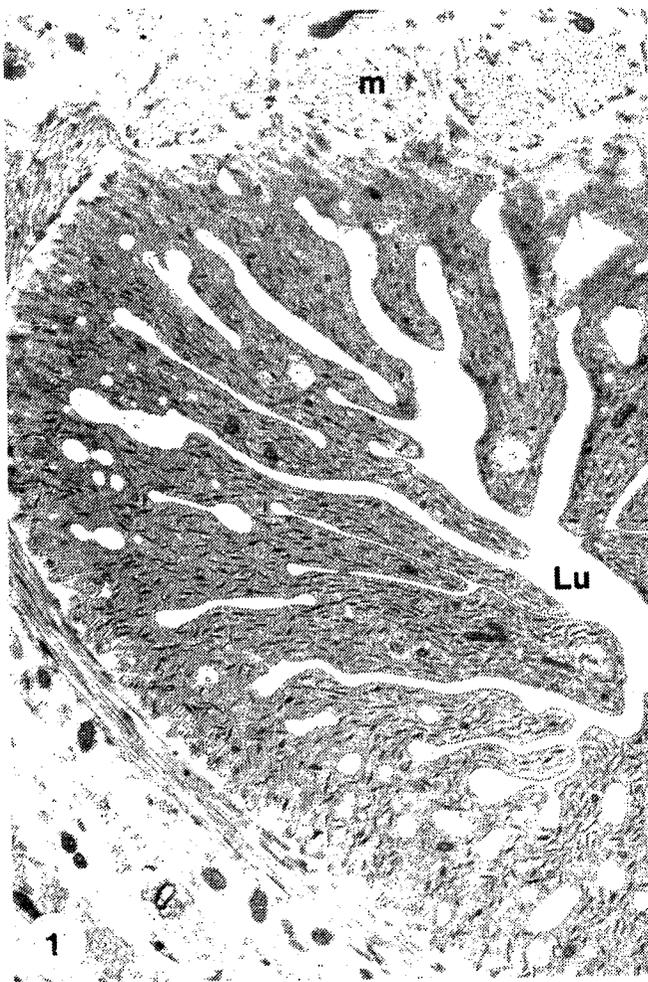
Elle est de même recouverte par une extension de la membrane basale de l'épithélium de l'ootype.

Postérieurement à l'ootype part un canal cilié commun, le *vitello-oviducte* dans lequel débouchent à la fois le vitelloducte et l'oviducte. Le *vitelloducte* cilié part de cette zone puis traverse toute la longueur du ver, et forme des orifices à proximité des follicules vitellins, et devient dépourvu de cils à ce niveau.

La *glande vitellogène* est constituée par un grand nombre de follicules disposés le long du corps, postérieurement à l'ovaire.

Chaque follicule contient des cellules à différents stades de développement.

La cellule vitelline mûre est une cellule de grande taille, caractérisée par la présence de protéines en amas (matériel précurseur de la coque de l'oeuf), concentrés principalement à la périphérie, et un grand nombre de gouttelettes lipidiques dispersées dans le cytoplasme. Ce dernier est rempli de ribosomes libres ou associés au reticulum endoplasmique. Les mitochondries



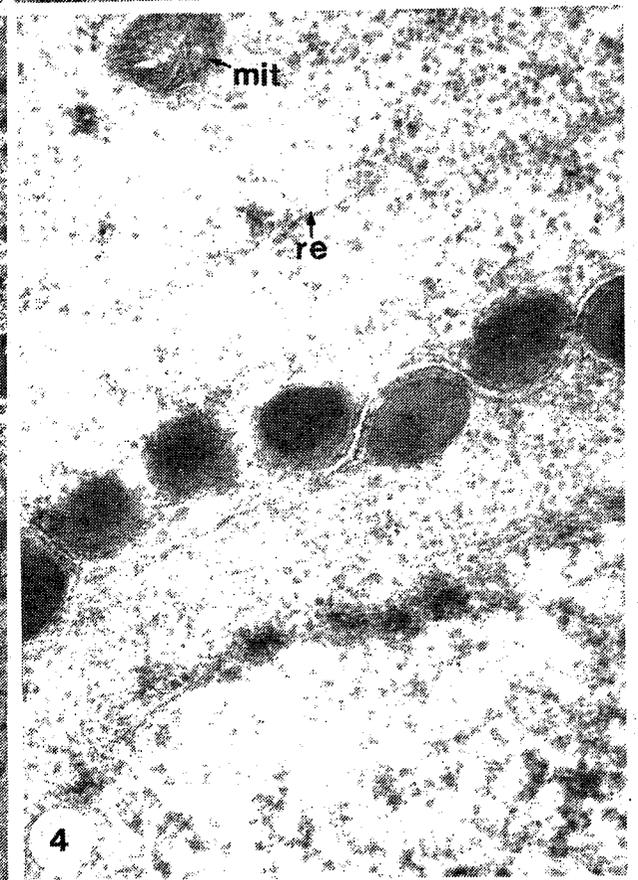
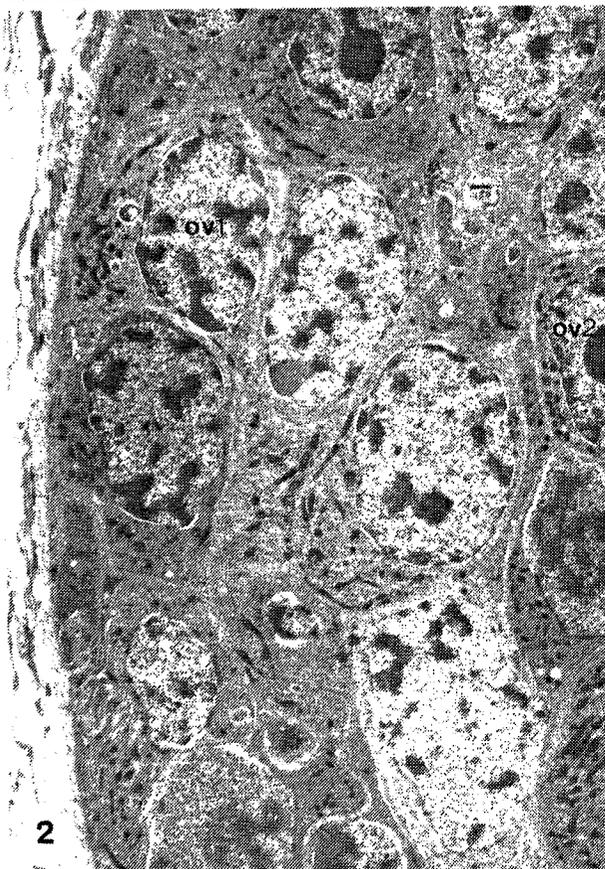
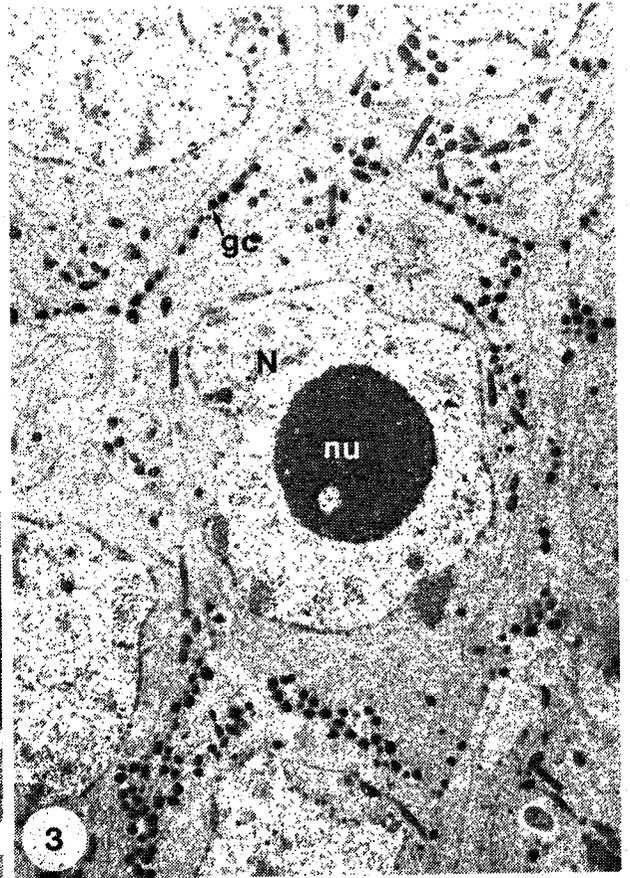
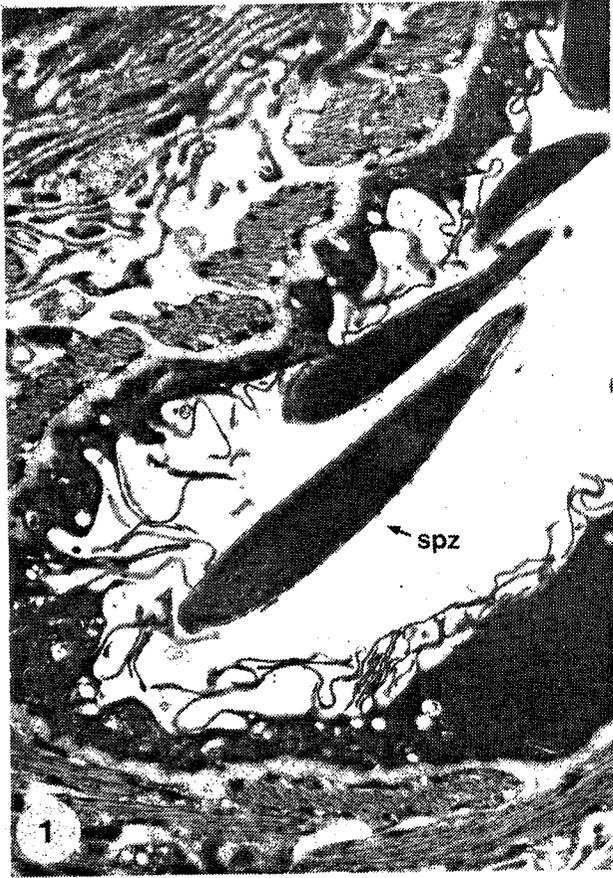
sont nombreuses. Le noyau de grande taille possède un gros nucléole central et une chromatine en amas, dispersés dans le nucléoplasme.

L'oviducte part du sommet du vitello-oviducte à proximité de la limite antérieure de l'ovaire, formant un canal non cilié qui passe postérieurement entre l'ovaire et l'intestin. Près de la limite postérieure de l'ovaire, ce canal devient cilié, puis perd à nouveau ses cils et s'élargit pour former le *réceptacle séminal*. Il se rétrécit ensuite et débouche enfin dans la région postérieure de l'ovaire renfermant les ovules.

L'ovaire est d'un aspect piriforme, la partie antérieure étant la plus étroite. Dans cette région prédominent les *ovogonies* étroitement appliquées à l'enveloppe ovarienne. Ce sont les plus petites cellules de l'ovaire. Elles ont un cytoplasme très peu développé et un noyau de grande taille, avec un nucléole bien défini et une chromatine en amas.

Les *ovocytes* de premier et second ordre se trouvent dans la région centrale de l'ovaire antérieur. Leur cytoplasme est plus important et contient des mitochondries, quelques longs filaments de reticulum endoplasmique, mais peu de complexes de Golgi.

Les *ovules* sont visibles dans la région postérieure de l'ovaire. Ils sont plus grands que les ovocytes 1 et 2 et s'en distinguent par la présence de granules corticaux. Leur noyau contient un gros nucléole bien évident, mais pas d'amas de chromatine. Le cytoplasme n'est pas très dense, et contient de fins filaments de reticulum endoplasmique non dilaté, des mitochondries et des complexes de Golgi.



2.4. LE SYSTEME NERVEUX

2.4.1. Le tissu nerveux (Planche 8)

Une commissure circumoesophagienne réunit deux paires de ganglions nerveux desquels partent des fibres vers la ventouse orale d'une part, et postérieurement vers quatre troncs nerveux latéraux.

Les coupes effectuées au niveau des ganglions circumoesophagiens montrent des cellules à gros noyau contenant parfois un nucléole très osmiophile. Ces cellules donnent naissance à des axones amyéliniques étroitement groupés.

Leur noyau montre une chromatine finement dispersée et un fin liseré de condensation contre la membrane nucléaire interne. Le nucléole, quand il est présent, est souvent excentré, et on ne distingue pas de membrane nucléolaire. Le cytoplasme contient de nombreux amas de ribosomes autour de mitochondries allongées à crêtes rares mais bien définies. On peut y reconnaître aussi des dépôts qui rappellent les amas de glycogène, ainsi que des granules osmiophiles de 65 à 70 nm environ de diamètre, un appareil de Golgi, mais le reticulum endoplasmique est mal défini. Dans la région circum-oesophagienne, la forme, la taille et le contenu des axones varient considérablement. Une couche faiblement osmiophile de 12 nm environ d'épaisseur sépare les axolèmes adjacents.

L'axoplasme, généralement clair, contient de nombreux organites parmi lesquels on peut distinguer :

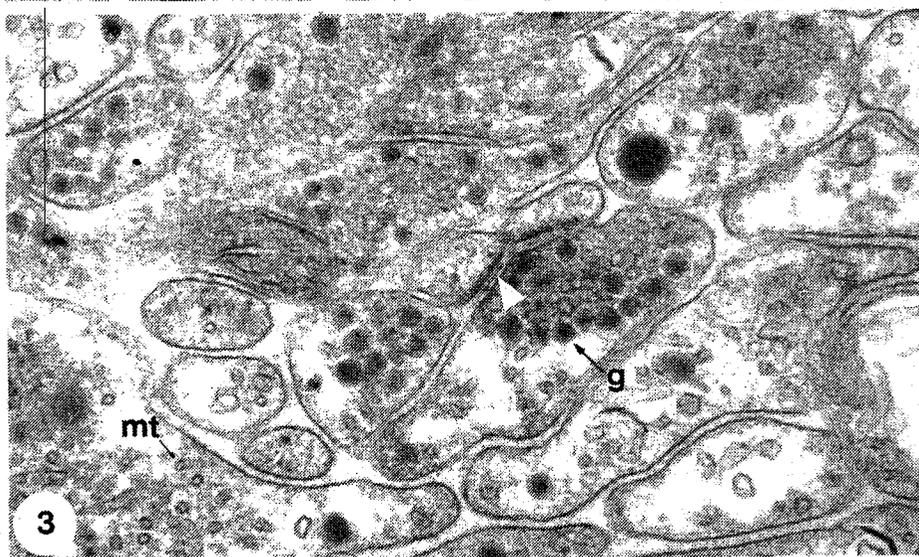
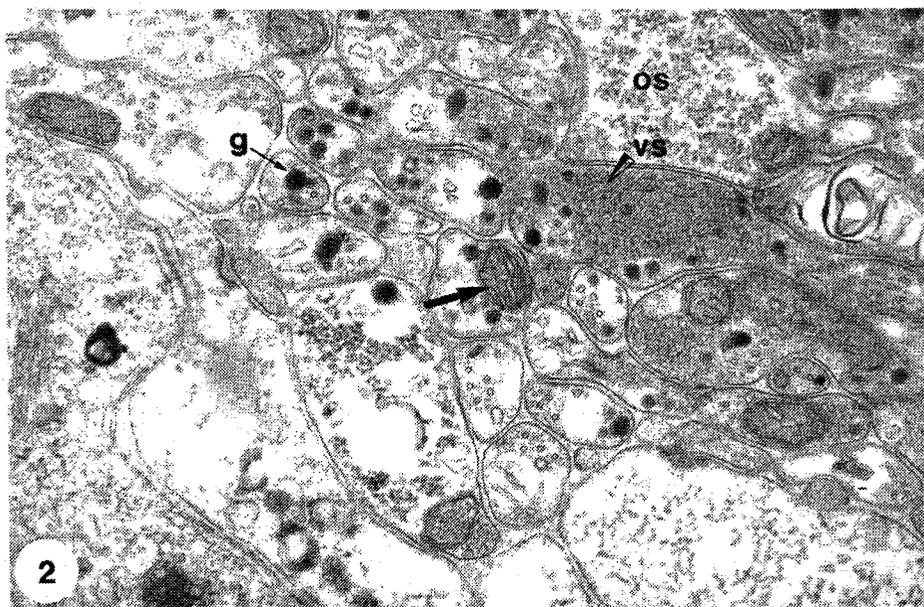
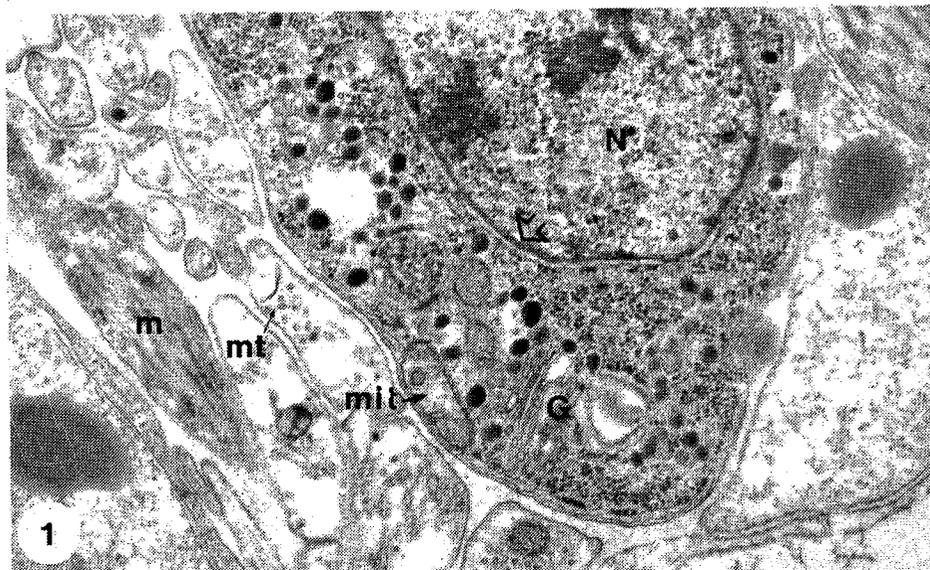
- 1) Des mitochondries circulaires ou allongées à crêtes rares, mais bien développées.
- 2) Des amas osmiophiles étoilés ressemblant au glycogène.



- 3) Des microtubules de 25 nm de diamètre.
- 4) Des vésicules claires de 20 à 50 nm de diamètre ou vésicules synaptiques.
- 5) Des granules denses circulaires ou ovoïdes mesurant 30 à 100 nm, parfois limités par une membrane. Dans quelques cas, ces granules sont observés en association avec les vésicules synaptiques.
- 6) Des granules denses plus gros de 100 à 160 nm et limités par une membrane. Ce type est apparemment de nature neurosécrétoire. On les observe souvent en petits groupes ou en rang unique, dans les terminaisons nerveuses envahissant les myofibres ou les autres cellules.
- 7) Des vésicules claires mesurant 50 à 150 nm généralement ovoïdes, et le plus souvent associées aux granules neurosécréteurs.

Les synapses entre axones sont visibles dans la commissure circum-oesophagienne, ainsi que dans d'autres régions. Elles apparaissent sous l'aspect d'une densification le long de l'une des deux membranes opposées. Elles sont caractérisées par une accumulation de vésicules synaptiques dans un axone étroitement appliqué à un autre, dans lequel l'espace axoplasmique est relativement dépourvu d'inclusions.

Les axolemmes opposés sont séparés par un espace de 10 à 20 nm, dans lequel apparaît parfois un dépôt dense assez fin (5 à 7 nm d'épaisseur). Les vésicules synaptiques sont rattachées à la membrane présynaptique qui apparaît moins épaisse et moins osmiophile que la membrane opposée. Les petits granules denses (30 à 100 nm) sont quelquefois associés aux vésicules synaptiques dans l'axoplasme. En dehors de ces structures synaptiques unilatérales, d'autres, de type bilatéral, sont aussi présentes.



2.4.2. Les organites sensoriels

Éléments associés au tégument, ces organites ont été décrits dans la partie consacrée à ce dernier (paragraphe 2.1.4).

2.5. LE SYSTEME EXCRÉTEUR OU OSMORÉGULATEUR (PLANCHE 9)

Les cellules-flammes, distribuées symétriquement dans le corps, représentent l'extrémité aveugle du système excréteur : il en part des canalicules protonéphridiens qui confluent pour former les canaux collecteurs latéraux. Ceux-ci se rejoignent postérieurement et aboutissent à un pore excréteur qui s'ouvre à l'extrémité postérieure du ver.

2.5.1. la cellule-flamme ou solénocyte

Elle est située dans le parenchyme, enfoncée plus ou moins profondément sous les couches musculaires sous-tégumentaires. On peut distinguer, d'une part la région apicale nucléée, d'autre part l'entonnoir qui comprend l'appareil de filtration, dans la zone proche de la région nucléaire.

a) La région apicale nucléée

Le noyau de forme irrégulière est situé à la périphérie du corps cellulaire dont il occupe le tiers environ du volume. Des amas de chromatine sont bien visibles contre la membrane nucléaire. Le cytoplasme qui entoure le noyau est peu abondant ; il renferme de nombreux ribosomes libres, un réticulum endoplasmique lisse et rugueux, quelques mitochondries, de petites vésicules limitées par une membrane et des microtubules. La base élargie de cette portion cellulaire est incurvée et loge les racines d'un faisceau de flagelles ; les corps parabasaux sont situés hors de la masse cytoplasmique ; chacun est rattaché à une courte racine striée faisant légèrement saillie dans la cavité tubulaire ; il en part le système microtubulaire typique de toute struc-

ture flagellaire, c'est-à-dire neuf doublets de microtubules périphériques et une paire de microtubules axiale. Les flagelles sont tous parallèles et forment un pinceau qui se projette dans l'entonnoir.

b) L'entonnoir

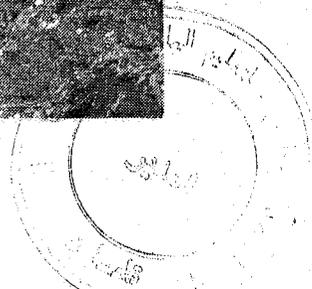
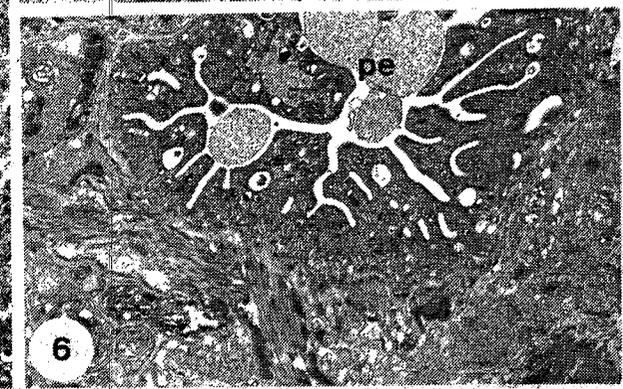
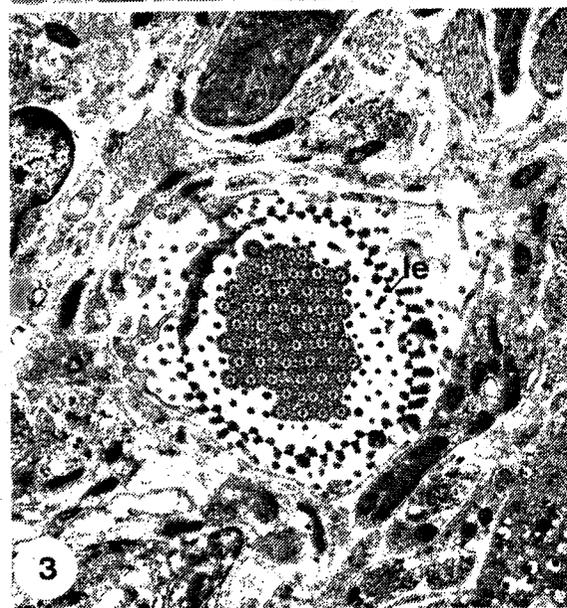
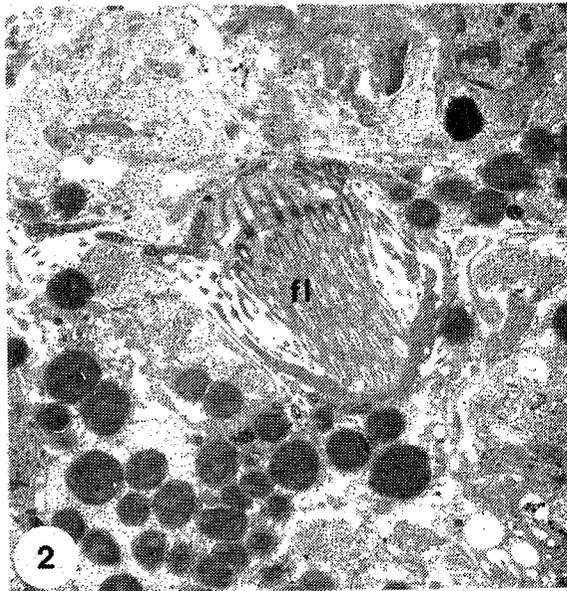
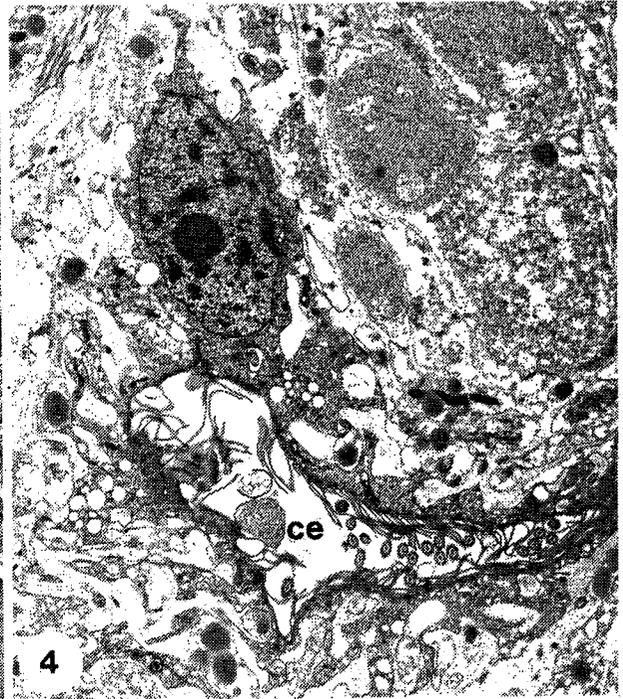
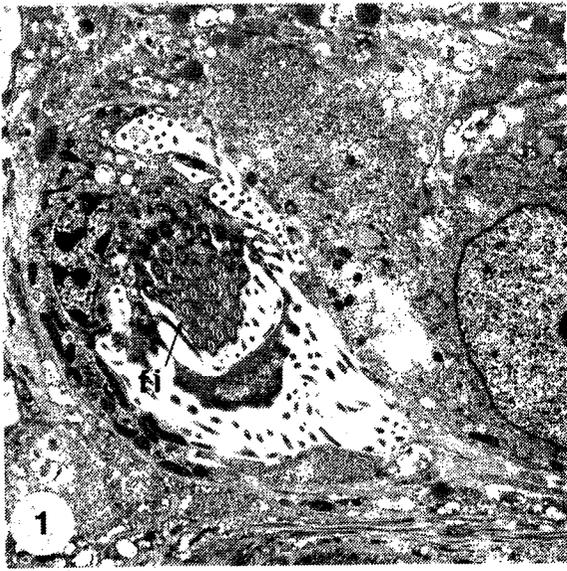
C'est le cytoplasme qui se développe en un fin feuillet puis s'enroule graduellement pour former l'entonnoir qui entoure la cavité de la cellule-flamme et dont les bords sont joints par des desmosomes septés. L'épaisseur de l'entonnoir est variable. On distingue deux régions :

- La région apicale caractérisée par une structure d'apparence dentelée en coupe transversale. La paroi de l'entonnoir est formée à ce niveau par un "grillage" comportant une rangée externe de barres ou piliers de 160 nm et une rangée interne de barres plus fines (100 nm d'épaisseur). Chaque barre est reliée à la suivante par une jonction simple. Des projections cytoplasmiques ou leptotriches partent des piliers internes vers l'extérieur de l'entonnoir ; elles sont courtes et relativement peu nombreuses, alors que les projections qui partent des piliers externes sont plus longues et plus nombreuses, et occupent la zone périnéphridienne.
- L'autre région de l'entonnoir, plus distale, est plus épaisse et non fenestrée ; elle renferme de très nombreuses mitochondries allongées, denses, des ribosomes, des complexes golgiens et quelques inclusions. Des microtubules sont observés dans la partie cytoplasmique bordant la lumière centrale. On n'observe aucun noyau dans la paroi de l'entonnoir.

2.5.2. Les canaux et le pore excréteurs

a) Les tubes collecteurs

Ils sont formés par des prolongements cytoplasmiques semi-circulaires d'une même cellule, soudés par une jonction septée. Leur diamètre varie de



2 à 4 μm . Le cytoplasme ressemble à celui des solénocytes mais on n'y observe pas de microtubules. L'épaisseur de la paroi est très irrégulière et, du côté de la lumière, la membrane plasmique est soulevée en lamelles toujours parallèles à la surface cytoplasmique. Une fine couche cytoplasmique de très forte densité apparaît en bordure de la membrane plasmique.

b) Les conduits terminaux

Les tubes collecteurs confluent dans leur région terminale pour former, de chaque côté du corps, un tronc latéral de diamètre plus important (6 à 8 μm). Ces deux canaux latéraux se rejoignent postérieurement avant de se déverser dans le pore excréteur.

La membrane plasmique bordant la lumière se projette en lamelles très nombreuses restant disposées parallèlement à la surface cellulaire ; on peut dénombrer jusqu'à huit lamelles superposées. De nombreuses sections de flagelles sont visibles dans la lumière. De même, quelques racines de flagelles sont présentes au niveau de la membrane plasmique.

c) Le pore excréteur

Le conduit terminal postérieur débouche à l'extérieur par un pore excréteur situé à l'extrémité postérieure du ver.

Une jonction septée soude ces deux structures.

C'est la couche tégumentaire qui recouvre le corps qui s'élargit et s'invagine pour former ce pore excréteur. A ce niveau, le tégument comporte des plis plus nombreux et des cavités plus prononcées que sur le reste du corps.

LA CERCAIRE DE SCHISTOSOMA MANSONI

1. MORPHOLOGIE EXTERNE (PLANCHE 10)

Les cercaires de *Schistosoma mansoni*, de type furcocerque ont une taille qui varie considérablement en raison des continuelles déformations du corps en mouvement. La longueur totale peut atteindre 1 mm et la largeur 40 à 60 μm .

La queue et les branches terminales occupent environ les deux tiers de l'ensemble corps-queue.

Comme chez la plupart des Digènes, on observe deux ventouses caractéristiques, une ventouse buccale, plus précisément "organe céphalique" représentée par le quart antérieur du corps et une ventouse ventrale petite mais très saillante, située à l'extrémité postérieure du corps.

Le tégument est régulièrement mince et épineux. La spinulation est hétérogène. Elle est absente autour de l'extrémité antérieure de l'organe céphalique et au niveau de l'orifice buccal qui est situé sur la face ventrale, postérieurement à l'organe céphalique.

L'observation en microscopie électronique à balayage (MEB) nous a permis de préciser les détails morphologiques. Ainsi, l'hétérogénéité de la spinulation observée en microscopie optique a pu être confirmée.

Sur les spécimens étudiés, le tégument montre de petites dépressions ainsi que des épines mesurant 0,7 à 0,9 μm de long sur 0,2 μm de large, orientées vers la partie postérieure du corps. Les épines de la face dorsale sont légèrement plus petites que celles de la face ventrale et celles situées au voisinage de l'extrémité antérieure du corps sont légèrement plus arrondies que celles se trouvant sur la partie postérieure.

Les épines de la queue sont plus longues (1,2 μm) et plus larges (0,3 μm) et présentent une distribution moins dense que celle du corps. D'autre part, la distribution des épines de la queue n'est pas homogène ; elles sont en effet moins denses sur la face ventrale que sur les parties latérales. Chaque branche terminale de la queue est couverte d'épines beaucoup plus petites et plus denses.

Un pore excréteur d'aspect ampulaire s'ouvre à l'extrémité de chaque branche caudale.

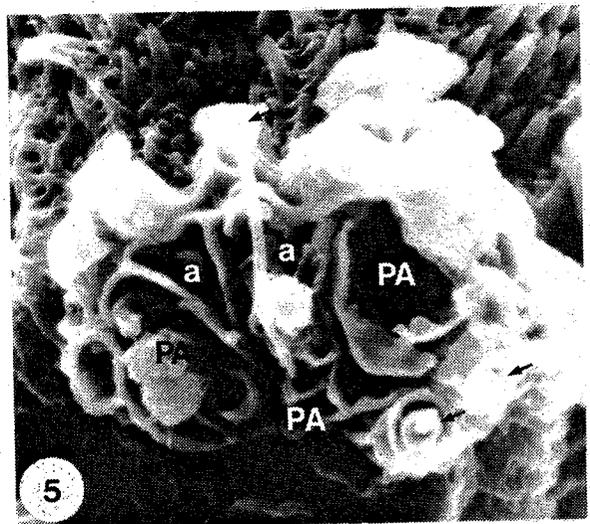
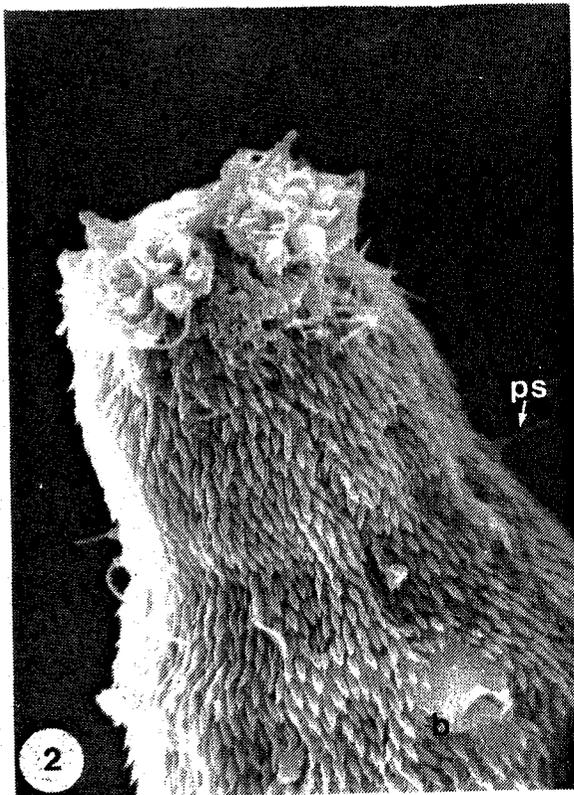
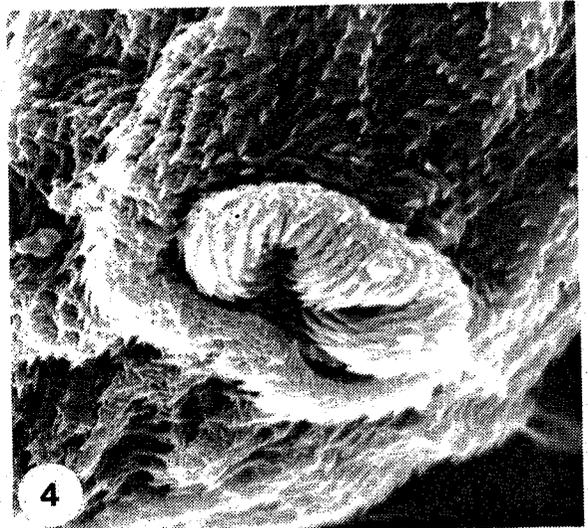
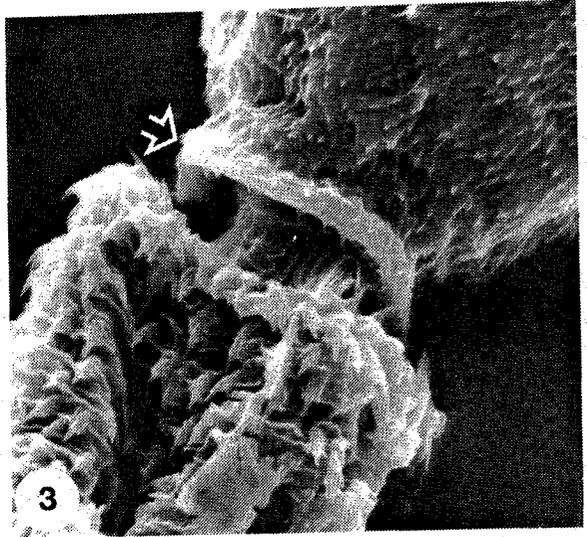
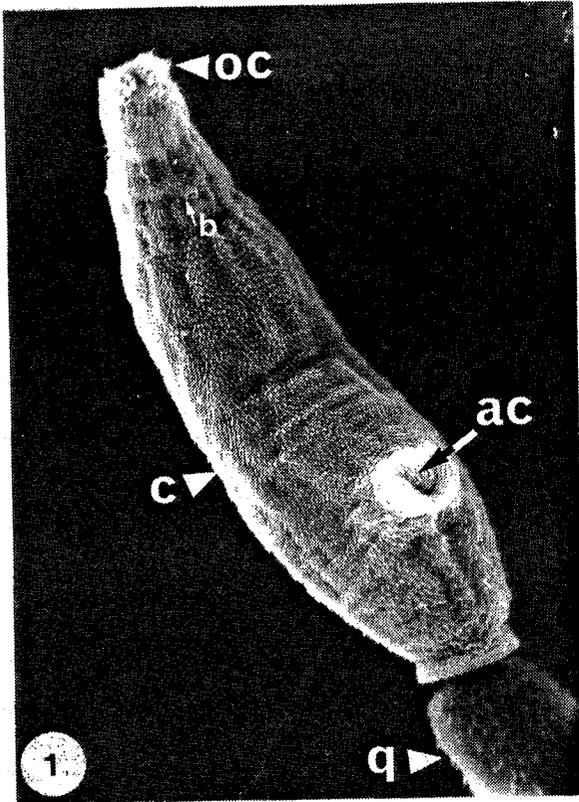
La ventouse ventrale est couverte d'épines légèrement plus grandes que celles du reste du corps.

On observe, entre le corps et la queue, un collier tégumentaire présentant de nombreuses épines.

A l'extrémité antérieure de l'organe céphalique s'ouvrent les canaux des glandes pré et postacétabulaires et de la glande céphalique. Ces orifices, entourés chacun par un bourrelet tégumentaire, sont disposés en deux arcs de cercle latéraux. Ils forment ensemble un demi-cercle dont la courbure est orientée vers la face ventrale du corps.

Des papilles uniciliées sont disposées sur le corps et la queue suivant une topographie régulière et constante. Leur nombre exact n'a pu être précisé avec certitude en microscopie optique après imprégnation argentique ; ces observations préliminaires ont toutefois permis de situer ces papilles sur le corps et ont rendu leur repérage et leur numération plus faciles sur les photos de microscopie électronique à balayage. C'est ainsi que nous avons pu identifier :

- sept (7) paires de papilles à l'extrémité antérieure du corps,
- neuf (9) paires sur la face ventrale,



- quatre (4) paires sur la face dorsale,
- dix (10) papilles sur la face latérale gauche,
- dix (10) papilles sur la face latérale droite,

soit au total 76 papilles uniciliées.

2. MORPHOLOGIE INTERNE

2.1. TÉGUMENT ET STRUCTURE ASSOCIÉES (PLANCHE 11)

2.1.1. Le tégument

a) Le syncytium tégumentaire

La structure du tégument a pu être précisée à la suite des observations en microscopie électronique à transmission. Ce tégument apparaît comme une structure cytoplasmique syncytiale, identique sur toute l'étendue du corps et de la queue, mais plus épaisse sur le corps (0,5 μm) que sur la queue (0,2 μm). Elle est renforcée en un collier à l'union entre le corps et la queue.

L'étude ultra-structurale du tégument montre de l'extérieur vers l'intérieur :

- Une membrane tégumentaire externe de structure trilaminée et mesurant 8 nm d'épaisseur environ.
- Une couche dense de 15 nm environ d'épaisseur.

- Une matrice tégumentaire constituée d'une substance fondamentale contenant un matériel granuleux.
- Une membrane basale mesurant 3 à 4 nm apparaissant rarement de structure trilaminée. Cette membrane basale est souvent plus invaginée que la membrane externe.

b) Les épines

Les épines sont situées entre la membrane externe et la membrane basale et pénètrent complètement dans le tégument. Elles sont constituées d'éléments parallèles, longitudinaux de 5 nm de diamètre, séparés par des jonctions claires de 5 nm. Les sections transversales montrent que chaque groupe de quatre éléments forme un parallélogramme équilatéral ayant des angles de 60 à 120 degrés.

c) Les organites et inclusions cytoplasmiques

Des mitochondries sont présentes dans le syncytium tégumentaire. Elles sont petites et ne contiennent que deux ou trois crêtes.

L'inclusion caractéristique du tégument est un corps sphérique de 100 nm de diamètre environ, limité par une membrane trilaminée. La partie centrale est dense aux électrons et granuleuse, et sa périphérie est translucide. Les inclusions de ce type sont très nombreuses dans le tégument du corps, mais sont absentes de celui de la queue.

Un deuxième type d'inclusion est représenté par des inclusions bacilliformes pointues mesurant environ 100 nm de long sur 10 à 15 nm d'épaisseur. Elles sont limitées par une membrane trilaminée et leur contenu est dense et granuleux. Ces corps allongés sont présents dans le tégument du corps et de la queue, mais ne sont pas aussi abondants que les corps sphériques.

2.1.2. La lame basale et les fibres musculaires

Sous le tégument, on observe successivement une lame basale, une épaisse couche de matériel interstitiel et des fibres musculaires circulaires (externes) et longitudinales (internes).

a) *La lame basale et le matériel interstitiel*

La lame basale est une couche granuleuse de 20 nm environ d'épaisseur qui longe intérieurement la membrane basale tégumentaire et à laquelle elle se juxtapose.

Quant au matériel interstitiel, il consiste en des fibres de 6 nm d'épaisseur disposées de manière diffuse.

Ce matériel se trouve entre les fibres musculaires, en couches minces, et entoure la plupart des cellules de la cercaire. Il forme, sous le tégument, une couche dont l'épaisseur est sensiblement égale à celle de ce dernier. Quelques petits hémidesmosomes forment des points d'attache entre la membrane basale tégumentaire et la lame basale. Ils sont situés sur la membrane basale.

b) *La musculature*

La musculature sous-tégumentaire est disposée régulièrement en couches circulaires et longitudinales. Les fibres circulaires sont disposées sous la lame basale et sont entourées par le matériel interstitiel. Les fibres longitudinales sont plus internes. Les filaments sont disposés en arrangement irrégulier dans les fibres musculaires du corps ; elles n'ont pas d'apparence striée.

Les fibres longitudinales de la queue sont toutes striées et possèdent un réticulum sarcoplasmique plus important. Elles contiennent des réserves de glycogène et un grand nombre de mitochondries.

2.1.3. Les organites sensoriels

a) *Les papilles uniciliées*

Au plan ultra-structural, elles apparaissent comme des terminaisons nerveuses bulbeuses de 1 à 1,5 μm de diamètre situées au niveau du tégument. Un cil émerge du sommet du bulbe par une ouverture dans le tégument.

Un desmosome circulaire rattache ce bulbe au tégument. Le cil peut atteindre une longueur de 8 μm et présente un arrangement tubulaire de type (9 + 2) et un corps basal situé au milieu du bulbe nerveux. Un anneau dense aux électrons est adjacent au desmosome et encercle le corps basal.

Les papilles situées dans la partie antérieure de l'organe céphalique ont un cil court (2 μm environ de long) partiellement gainé par un bourrelet tégumentaire. Les cils des papilles du reste du corps sont dépourvus de gaine.

b) *Les dépressions multiciliées*

Ce sont des cavités situées dans la partie antérieure du corps. Elles sont plus rares que les papilles. Elles mesurent 1 μm de diamètre et sont situées sous le tégument auquel elles se rattachent par l'intermédiaire d'un desmosome circulaire.

Ce type d'organite sensoriel s'ouvre à l'extérieur par un pore. La paroi de ces organites constitue une terminaison nerveuse ; on y distingue des vésicules et des corps basaux de 5 à 6 cils qui se jettent dans la cavité de l'organite. Parfois on observe aussi dans la cavité de petites vésicules denses.

c) *Les cavités lamellaires*

Il s'agit d'un troisième type de structure sensorielle que l'on observe au niveau de l'extrémité antérieure du corps. Ce sont deux cavités situées sous

le tégument et séparées de lui par une mince couche de fibres musculaires au voisinage de la base des bulbes sensoriels de l'organe céphalique.

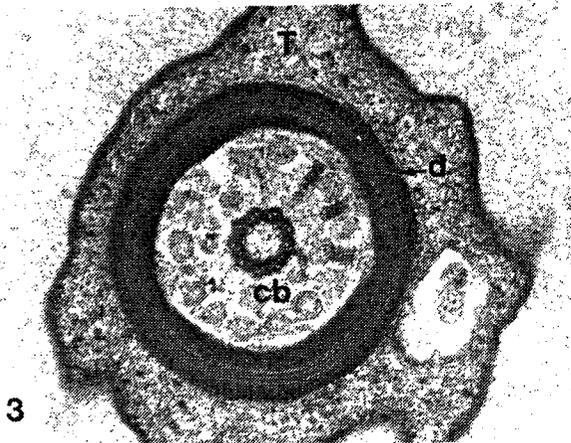
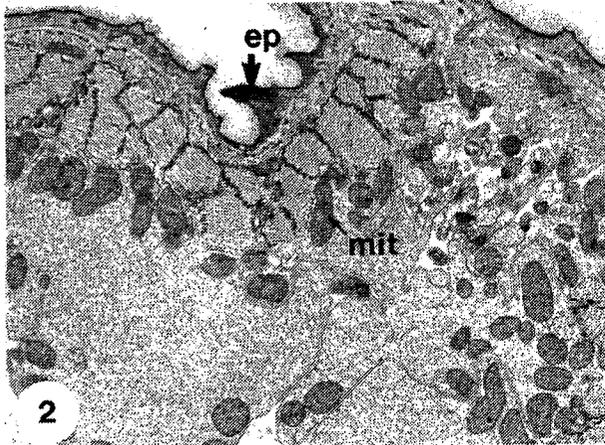
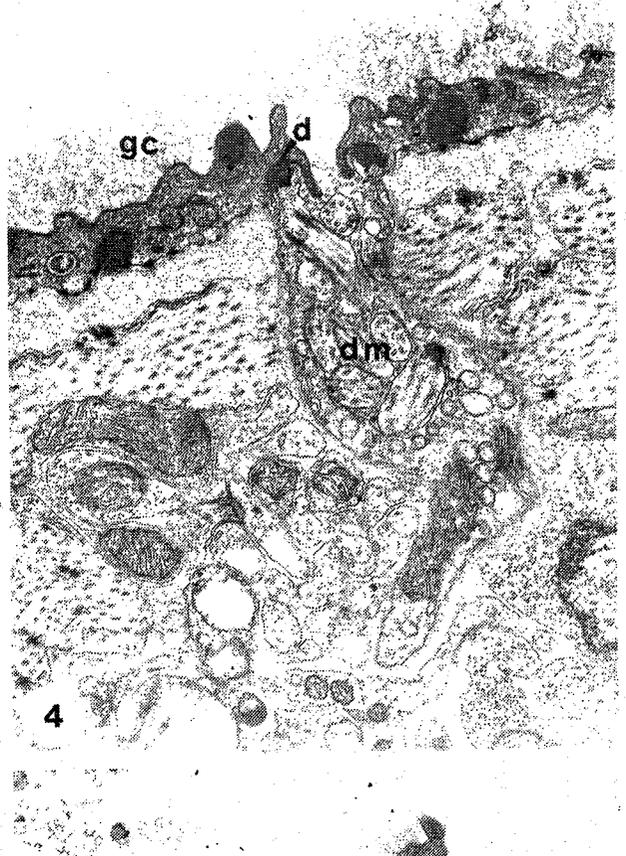
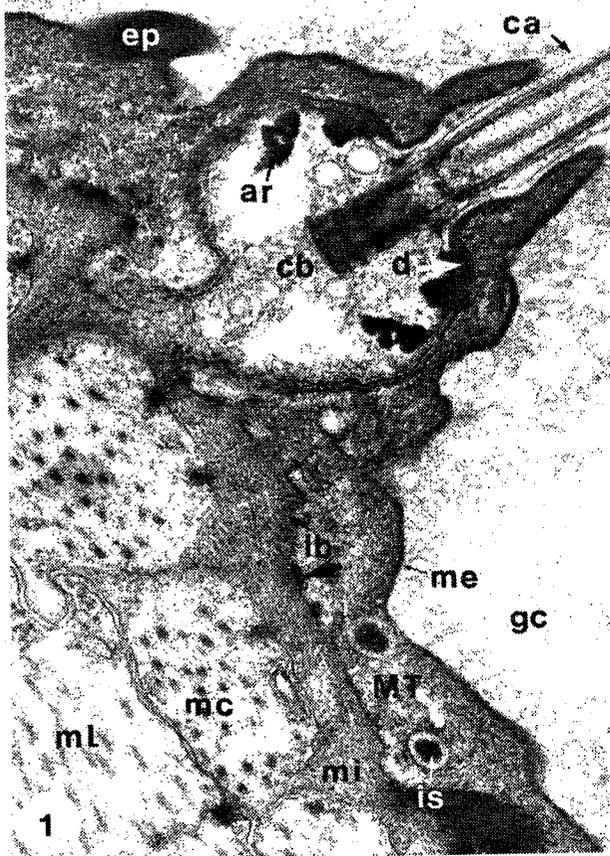
Cette structure sensorielle est de forme ovoïde ; son plus grand axe, parallèle à celui de la cercaire, mesure 2 à 2,5 μm . Chacune des cavités est entourée d'une mince paroi cytoplasmique et contient de nombreux cils, des membres et des particules de différentes tailles. La paroi contient un nombre important de corps basaux desquels partent des cils qui donnent naissance à des structures lamellaires.

Chaque cavité lamellaire présente une légère dépression antérieure au niveau de laquelle un pédicule est rattaché par un desmosome septé. Ce pédicule est lui-même rattaché en quelques endroits au tissu intercellulaire voisin par des hémidesmosomes. Ce pédicule est dense aux électrons et montre une striation longitudinale. Ces deux cavités lamellaires rappellent les dépressions multiciliées décrites plus haut, par la taille, la structure de la paroi et par le fait que les cils provenant de la paroi se projettent à l'intérieur de la cavité. Elles en diffèrent cependant par la présence des extensions lamellaires des membranes ciliaires, par l'absence d'ouverture vers l'extérieur et par leur association avec un pédicule.

2.1.4. Le relèvement externe du corps

A la surface du tégument de la cercaire, on observe un revêtement ou glycocalyx formé d'une couche de matériel granuleux ou filamenteux. Il consiste en des filaments courts, ramifiés et entrelacés et en des granules denses, tous deux ayant un diamètre de 1,5 nm environ.

Les filaments forment une couche diffuse et tressée sur le tégument, comblant toutes les irrégularités de la surface. Quelques filaments semblent en continuité avec la membrane tégumentaire.



Le glycocalyx, plus épais, sur le corps que sur la queue et sur la ventouse ventrale, a une épaisseur qui varie entre 0,5 μm et 1,5 μm . Il est moins dense au niveau des glandes de pénétration et au niveau des cils sensoriels mais recouvre les épines tégumentaires.

2.2. LE TRACTUS DIGESTIF (PLANCHE 12)

Le tube digestif, assez rudimentaire, ne comporte pas de pharynx.

L'oesophage s'ouvre dans un intestin ou caecum dans la lumière duquel on peut observer de longues microvillosités et un corps dense volumineux de 1 à 2 μm . Contre l'oesophage, on observe les glandes oesophagiennes avec de nombreux granules circulaires mesurant 200 à 250 nm de diamètre. Quelques granules montrent un centre clair entouré par une périphérie dense. D'autres sont limités par une membrane et d'autres encore sont denses et homogènes.

2.3. L'ORGANE CÉPHALIQUE ET LES GLANDES DE PÉNÉTRATION (PLANCHE 12)

2.3.1. L'organe céphalique

Pendant longtemps on a désigné par "ventouse orale" ou "buccale" le quart antérieur du corps cercarien.

En fait, étant donné sa complexité histologique et ses multiples fonctions, cette partie du corps est plus qu'une simple ventouse, et le terme organe antérieur ou organe céphalique serait plus approprié.

La partie postérieure de cet organe est occupée par la glande céphalique de laquelle partent des troncs débouchant par des conduits courts dans le tégument. Deux cellules volumineuses sont situées dorsalement dans la partie

centrale de cet organe. Elles semblent séparer et soutenir les troncs de la glande céphalique et les conduits acétabulaires, qu'ils soient groupés en faisceau ou individualisés. Ces cellules ont été appelées "cellules-support" par certains auteurs (Cousin et al., 1981). Chaque cellule possède un gros noyau situé dans une masse cytoplasmique granulaire homogène et claire.

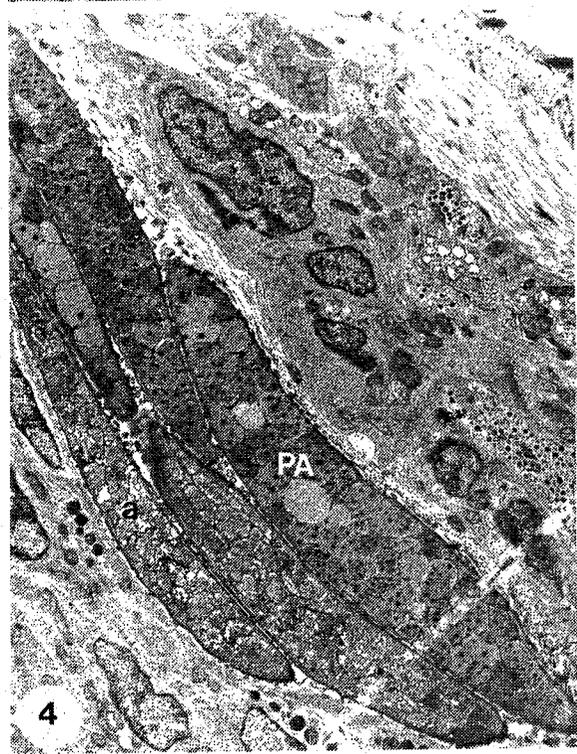
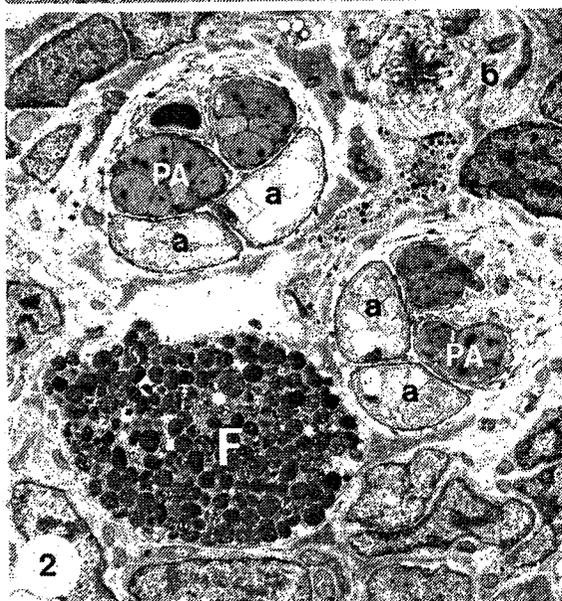
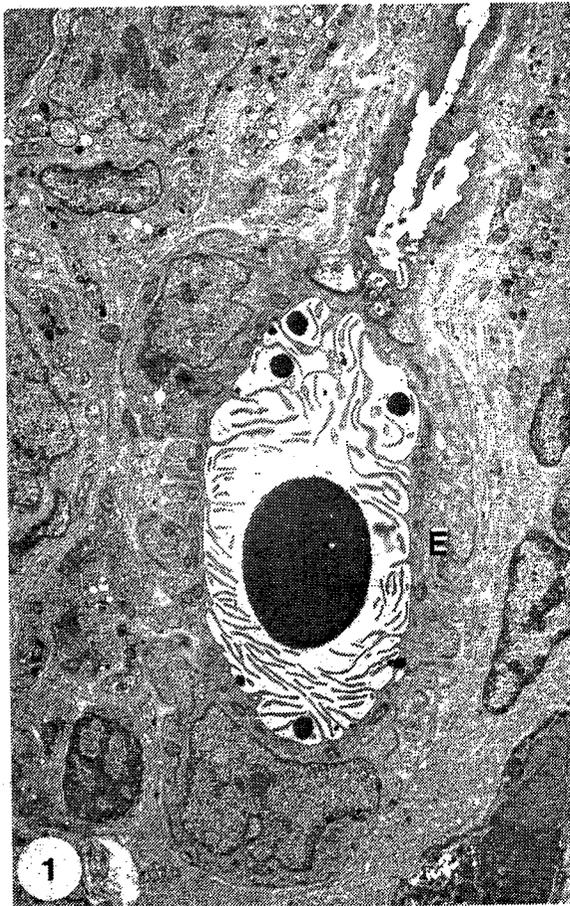
Un autre type de cellules est observé à proximité du fundus de la glande céphalique, il s'agit des cellules circumfundales. Elles possèdent un noyau volumineux et de rares mitochondries ; le cytoplasme est rempli de vésicules denses de différentes tailles, mais toujours plus petites que celles du fundus.

2.3.2. Les glandes de pénétration

Les glandes postacétabulaires et préacétabulaires qui occupent plus de deux tiers du corps sont caractérisées par le fait qu'elles sont remplies de granules sécrétoires. Chaque glande acétabulaire est composée d'un corps basal rempli de granules sécrétoires appelé "fundus", duquel part un canal qui se rétrécit graduellement pour communiquer avec l'extérieur par un orifice situé à l'apex du corps. On observe deux paires de glandes préacétabulaires, et trois paires de glandes postacétabulaires.

Au niveau de la ventouse ventrale, les trois canaux postacétabulaires forment un faisceau de chaque côté du corps. Les deux faisceaux sont repoussés latéralement par les fundus préacétabulaires. Antérieurement, les trois canaux postacétabulaires de chaque faisceau sont rejoints par les deux canaux préacétabulaires, de sorte qu'au niveau de la bouche, chaque faisceau comporte cinq canaux.

Les canaux sont limités par des microtubules et leurs parois montrent de petites projections dans le matériel intersticiel environnant. De petites fibres musculaires encerclent partiellement chaque faisceau de canaux glandulaires.



A l'extrémité antérieure, les canaux glandulaires sont rattachés au tégument par des desmosomes circulaires. Autour du canal glandulaire, adjacente au desmosome, la bordure tégumentaire forme un repli très net en microscopie électronique à balayage. On n'observe pas de mécanisme de fermeture ou d'ouverture des canaux glandulaires.

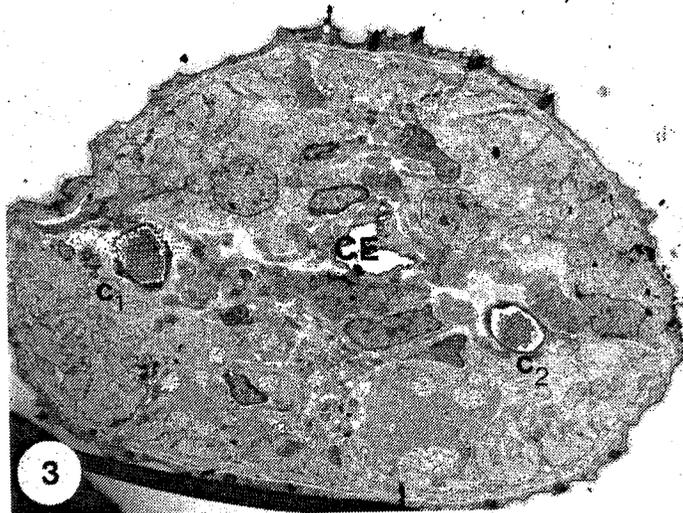
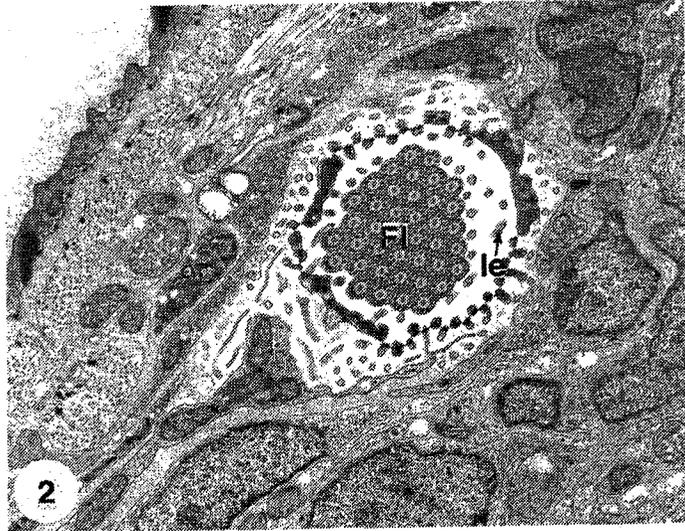
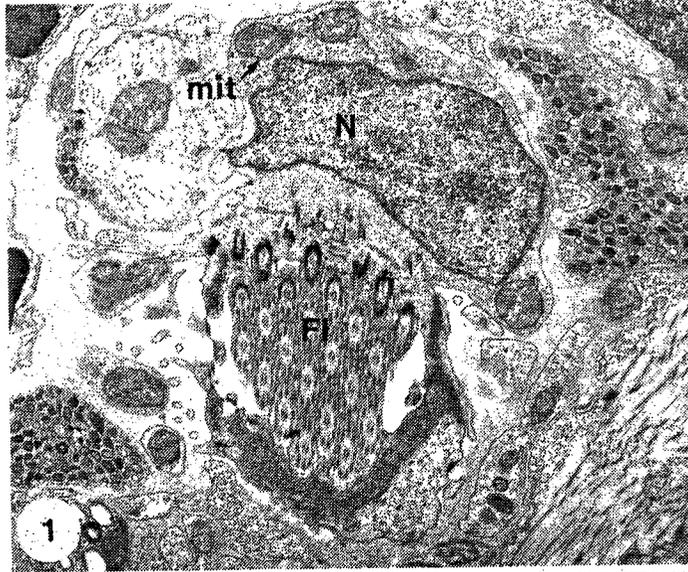
Des globules de sécrétion se déversent pour former, au niveau des orifices, une masse granulaire emprisonnée par les replis tégumentaires. La sécrétion des glandes ne semblent pas s'étaler à la surface du tégument de la cercaire.

2.4. L'APPAREIL OSMORÉGULATEUR (PLANCHE 13)

On retrouve chez la cercaire les mêmes éléments que ceux que nous avons décrits chez le ver adulte : cellule-flamme, canaux et pores excréteurs.

On dénombre quatre paires de cellules-flammes situées dans le corps (respectivement au niveau du tiers antérieur du corps, de l'extrémité du caecum, de la ventouse ventrale et un peu avant la jonction entre le corps et la queue) et une paire sur la queue (à la racine de l'appendice caudal).

Les canaux excréteurs des cellules-flammes caudales rejoignent ceux du corps. Ces derniers débouchent dans une vésicule excrétrice située à la jonction corps-queue. Un long canal émanant de la vésicule excrétrice parcourt la partie non bifurquée de la queue puis se divise dans chaque branche pour enfin s'ouvrir en un pore excréteur à l'extrémité de chacune de ces branches.



DISCUSSION

Les premières observations intéressantes faites sur la morphologie du schistosome sont dues aux travaux de Smith et al. (1969), Silk et al. (1969), Hockley (1970), Dike (1971) sur *Schistosoma mansoni* et Inatomi et al. (1969) sur *S. japonicum*, bien que la plupart de ces auteurs se soient limités à l'étude du tégument.

L'approche ultra-structurale que nous avons faite de *Schistosoma mansoni* et de sa cercaire nous a permis de préciser certains caractères morphologiques décrits par ailleurs, mais l'étude des données de la littérature appelle quelques remarques à ce sujet.

S'agissant du tégument du schistosome adulte, nos observations confirment le fait que celui-ci est légèrement moins épais que celui des autres Digènes. Il semblerait que l'épaisseur du tégument dépende de la taille du ver, et de son environnement. Ainsi, *Fasciola hepatica*, qui est un ver relativement de grande taille, aurait un tégument mesurant, selon Threadgold (1963) 15 à 20 μm d'épaisseur, alors que celui de *S. mansoni* atteint rarement 5 μm .

La *membrane externe tégumentaire*, décrite par Smith et al. (1969) comme ayant une structure pentalaminée de 16 nm d'épaisseur environ au niveau du canal gynécophore, nous est apparue heptalaminée, confirmant en cela les observations de Hockley et Mac Laren (1973). Selon ces auteurs, la membrane heptalaminée formée chez le schistosomule persisterait chez le ver

adulte. Cela est confirmé, par ailleurs, par Wilson et Barnes (1974, 1977), Mac Larent et Hockley (1976), Voge et al. (1978), qui ont montré que la membrane externe, typiquement trilaminée chez la cercaire, est remplacée par une membrane heptalaminée ou membranocalyx dans les trois heures qui suivent la pénétration chez l'hôte, elle permettrait alors la fixation des anticorps de ce dernier. Irie et Yasuraoka (1981), pour leur part, font les mêmes observations sur *Schistosoma japonicum*.

Torpier et al. (1977) ont montré que les glyco-protéines (qui font partie du groupe de substances que l'organisme est capable de reconnaître et correspondent aux antigènes de surface) apparaissent avec la mise en place de la membrane heptalaminée, lors du passage de la cercaire dans l'hôte.

La perte du revêtement externe de la cercaire ou glyco-calyx pendant la transformation en schistosomule a été étudiée par Samuelson et Carlfield (1985). L'étude morphologique et biochimique montre que le glyco-calyx qui mesure de 1 à 2 μm d'épaisseur et se compose d'un réseau de fibrilles de 8 à 15 nm de long, de nature antigénique, ne se détache pas complètement au cours de la transformation.

Comme chez *S. mansoni*, une matrice dense et granuleuse qui aurait, selon Burton (1966), un rôle protecteur, a été décrite chez plusieurs Digènes comme *Fasciola hepatica* (Threadgold, 1963 et 1967) *Haplometra cylindracea*, *Cyathocotyle bushiensis* et *Gorgoderina sp.* (Threadgold, 1968 ; Erasmus, 1967 ; Burton, 1966).

Au niveau de la *membrane basale* ou membrane tégumentaire interne, les longues invaginations que l'on observe ont été décrites comme étant tubulaires (Morris et Threadgold, 1968 ; Smith et al., 1969) ; toutefois, l'absence de sections circulaires en coupe transversale suggère plutôt une structure plissée (Hockley, 1973). D'une façon générale, de telles invaginations traduisent l'intervention de phénomènes de transport actif : des mitochondries y sont souvent associées.

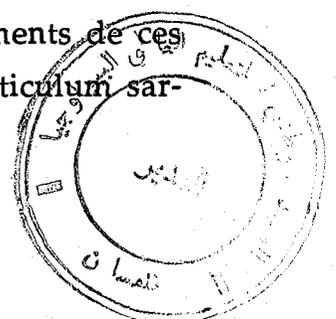
Elles s'observent aussi chez les vertébrés et chez les invertébrés. Bresciani (1973) pense que l'existence de ces invaginations est en relation avec le métabolisme et l'environnement. On peut en effet interpréter ce plissement de la membrane basale comme nécessaire au réajustement osmotique du parasite dans le milieu sanguin.

Un *matériel intersticiel* a été décrit aussi bien chez le ver adulte que chez la cercaire, à cela près qu'il est plus important chez la cercaire, puisqu'il forme une couche sous-tégumentaire pouvant atteindre 250 nm. La présence de cette couche fibreuse nous semble être liée à la contractilité de la membrane tégumentaire.

S'agissant de la *musculature*, notre étude permet de faire ressortir les caractères suivants :

- La partie contractile est lisse, non striée et possède les deux catégories de myofilaments (fins et épais) typiques de toute fibre musculaire. Le reticulum sarcoplasmique est situé uniquement en surface ; les mitochondries et le glycogène sont localisés dans les expansions du sarcolemme.
- Des jonctions desmosomiales sont observées entre ces fibres musculaires et le tégument, soit directement, soit par l'intermédiaire de la couche fibreuse intersticielle.
- Des synapses à vésicules moyennes et denses constituent les jonctions neuro-musculaires.
- Dans la queue des cercaires, la musculature est composée de fibres striées, donc à contraction rapide.

Bien que la nature des filaments fins et épais ne soit pas connue chez les Plathelminthes parasites, il est évident que ce sont les glissements de ces myofilaments qui assurent le mécanisme de contraction ; le reticulum sar-



coplasmique et les mitochondries représentent les compartiments de réserves de calcium intracellulaire. Le faible développement du reticulum sarcoplasmique et sa situation superficielle, l'absence de corps denses, sont conformes avec le fait que ces muscles ont une contraction lente par opposition à la contraction plus rapide des muscles à fibres striées.

Les *organites sensoriels*, présents à la surface du ver adulte et de la cercaire, ont été décrits en détail dans notre étude. Nos observations confirment pour l'essentiel celles des autres auteurs. Toutefois, Smith et al. (1969) rapportent que le cil du ver adulte atteint l'extérieur à travers une ouverture dans le tégument. Nous montrons, au contraire, que le tégument recouvre l'intégralité du cil chez le ver adulte, et un desmosome circulaire a été décrit, auquel sont associés deux anneaux denses autour de la base du cil. Certains auteurs suggèrent que l'organite sensoriel pourrait détecter la direction du courant (Morris et Threadgold, 1967), mais sa symétrie radiale est incompatible avec une sensibilité directionnelle. Toutefois, des structures satellites reliées au corps basal du cil ont été décrites par Silk et Spence (1969b) et apparaissent nettement sur l'un de nos clichés. Si ces structures sont semi-circulaires comme semble le montrer notre cliché, l'hypothèse d'une sensibilité directionnelle serait alors vérifiée.

Chez la cercaire, le nombre des papilles sensorielles est l'un des caractères taxonomiques les plus importants. Nous en avons dénombré 76 dont 14 au niveau de l'extrémité antérieure, confirmant par là les observations de Short et Cartrett (1973), alors que Sakamoto et al. (1978) n'en dénombrent, chez *Schistosoma japonicum*, que 60 dont 14 au niveau de l'extrémité antérieure.

L'oesophage de *S. mansoni* a été décrit en détail par Dike (1971) et brièvement mentionné par Morris et Threadgold (1968) et Spence et Silk (1970). Les auteurs décrivent, dans la région postérieure de l'oesophage, des structures vésiculaires entourées d'une membrane, auxquelles Bogitsh et Shanon (1971) donnent le nom de "corps multivésiculaires". Ces mêmes granules

sont décrits par ailleurs comme des granules à structure cristalline (Spence et Silk, 1970 ; Ernst, 1975). Bogitsh et Carter (1977) pour leur part, révèlent que cette structure, qui semble cristalline à l'observation superficielle, montre en fait, après examen approfondi, une configuration membranaire qui, en section transversale, pourrait montrer la structure multivésiculaire décrite chez *S. mansoni* (Bogitsh et Shannon, 1971) et chez l'espèce très voisine *S. douthitti* (Shannon et Bogitsh, 1969). Sur ce point, nos observations confirment la nature membranaire de ces granules sécrétoires.

D'autre part, tous les auteurs s'accordent sur le fait que la jonction entre l'oesophage et le caecum est marquée par un long desmosome. Les avis divergent toutefois concernant l'existence ou non d'une continuité entre le cytoplasme tégumentaire oesophagien et celui du caecum. Tandis que Spence et Silk (1970) observent une continuité entre les cytoplasmes tégumentaires oesophagien et caecal malgré la présence du desmosome, et que Shannon et Bogitsh (1969) affirment ne pas avoir observé de nette démarcation entre l'oesophage et le caecum de *S. douthitti*, Hockley (1970) et plus tard Dike (1971) montrent que les membranes forment une jonction complète chez *S. mansoni*. Sur notre matériel, aucun des clichés ne montre une continuité entre les deux cytoplasmes oesophagien et caecal. Au contraire, il semble même qu'il existe une nette séparation entre ces deux structures et que les membranes forment en effet une jonction complète.

Il apparait enfin que la structure du flagelle spermatique est particulière aux schistosomes avec neufs doublets périphériques dépourvus de bras et la présence dans la région centrale d'un matériel dense aux électrons et non tubulaire. Ce caractère distinctif s'ajoute donc à la gonochorie, au mode de vie sanguinicole et au cycle parasitaire pour isoler les schistosomes au sein du groupe des Trématodes (Kitajima et al., 1976 ; Justine et al., 1981).

DEUXIEME PARTIE

HISTOPATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE CHEZ LA SOURIS

Dans la bilharziose hépatosplénique à *S. mansoni*, l'agent pathogène (le ver) ne se multiplie pas dans le foie, mais les couples de vers libèrent dans les veines mésentériques des oeufs et des excréments véhiculés par le sang portal jusqu'au foie qui, de ce fait, est l'organe le plus affecté.

Il a été montré que la plupart des lésions tissulaires sont liées à une réponse immuno-pathologique de l'hôte au parasite (Andrade, 1965). Bien que des études détaillées aient montré que le facteur déterminant dans le développement de la schistosomiase hépatosplénique est la réponse inflammatoire à caractère granulomateux de l'hôte aux oeufs du schistosome enclavés dans le foie (Warren, 1972 ; Boros, 1976), il est en général admis que le développement de cette maladie est le résultat de l'action synergétique de nombreux antigènes provenant aussi bien des vers adultes que des oeufs (Warren, 1973).

De nombreux auteurs signalent par ailleurs l'existence d'une circulation permanente de substances toxiques ou antigéniques, produites par les schistosomules ou les vers adultes (Auriault et al., 1983 ; Nash et al., 1981 ; De Water et al., 1988), ainsi que d'allergènes et d'hormones (Pierce et al., 1983).

Il a été suggéré d'autre part que les sécrétions des vers vivants ainsi que leurs excréments pénétraient dans le foie en empruntant la circulation portale,

et que ces produits seraient, au moins en partie, responsables des modifications pathologiques observées dans le foie (Van Marck et al., 1975 ; Grimaud et al., 1977a ; Andrade, 1965).

Alors que la pathologie hépatique de la schistosomiase hépatosplénique a été l'objet de très nombreux travaux, on notera curieusement que très peu d'auteurs ont tenté de distinguer dans cette pathologie la part des oeufs du schistosome et les modifications liées aux substances que libère le ver adulte.

Nous avons montré l'existence d'une hépatite portale dans un modèle d'infestation unisexuée mâle chez la souris. Cette hépatite portale prédominait dans les troncs principaux, et son importance était directement liée à la charge parasitaire (nombre de vers présents) et à la durée de l'infection. Une nette réaction fibreuse portale avait été observée au-delà de la 25ème semaine d'infection (Baki et al., 1985).

Dans cette seconde partie de notre travail, nous nous proposons :

- D'une part, de vérifier la reproductibilité du modèle d'infestation unisexuée et des lésions induites, en particulier au cours de la phase chronique.
- D'autre part, de tester l'effet d'un traitement antiparasitaire sur la stabilité des lésions fibreuses.

RÉSULTATS

1. HISTOPATHOLOGIE HÉPATIQUE DES SOURIS TÉMOINS

Au plan macroscopique, les modifications observées chez les souris infestées et non traitées par le Praziquantel sont principalement :

- Un changement progressif de la couleur du foie, qui passe du marron clair à la 5ème semaine, au brun foncé, allant parfois jusqu'au noir au cours de la phase tardive de l'infection.
- Une hépatomégalie de plus en plus importante liée à la durée du parasitisme.

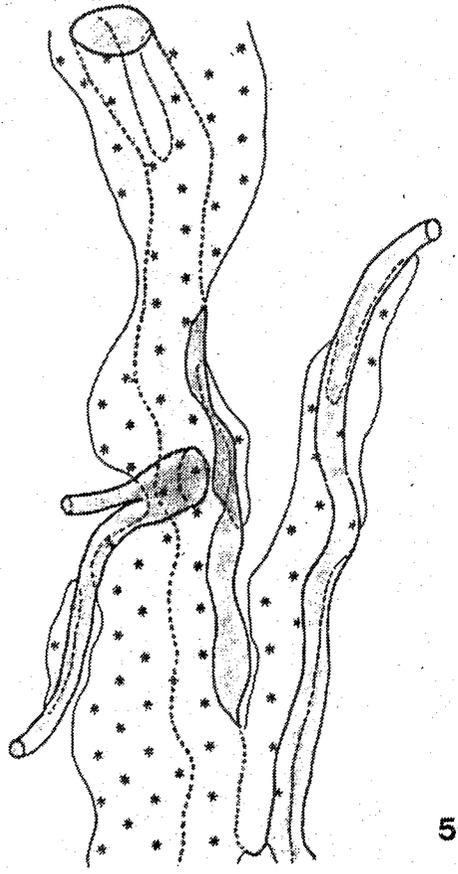
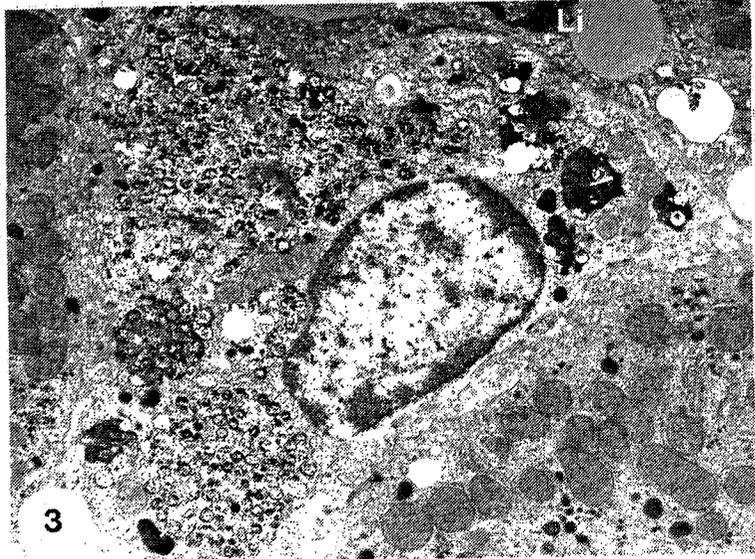
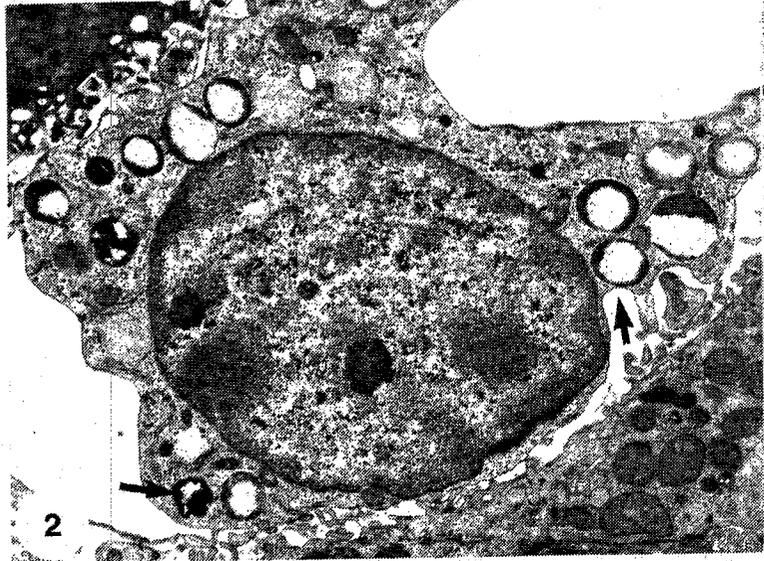
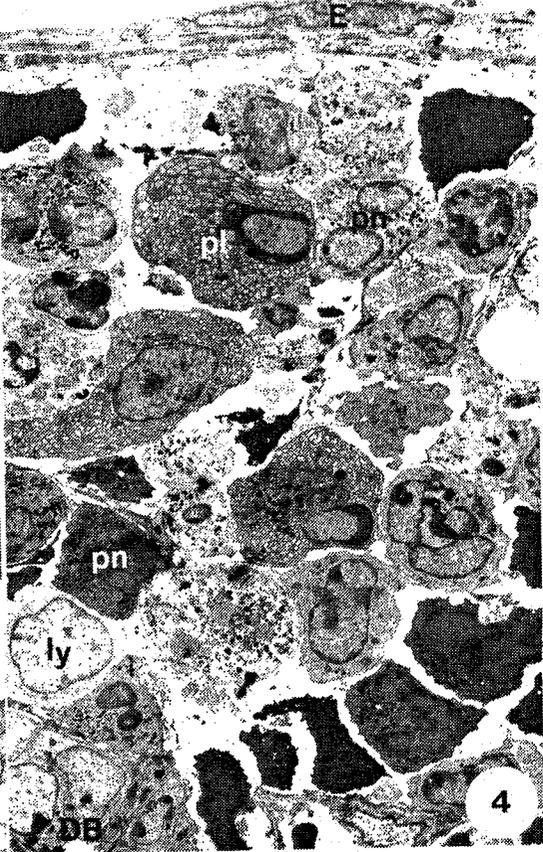
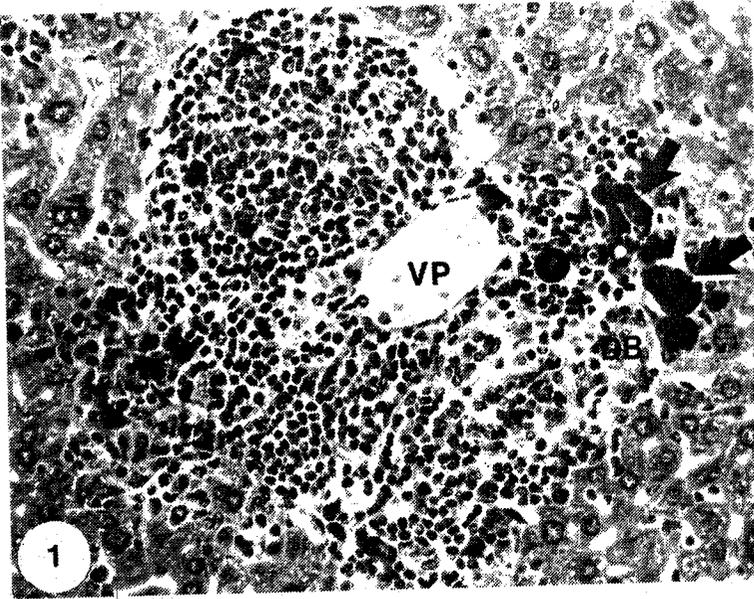
1.1. LA PHASE AIGUE (PLANCHE 14)

Au cours de cette phase qui dure jusqu'à la vingtième semaine d'infestation, l'observation microscopique révèle une nette hyperplasie réticulo-endothéliale doublée d'une hypertrophie des cellules de Küpffer qui apparaissent chargées de pigment bilharzien.

De véritables phlébites affectent les vaisseaux portaux. Débutant par une infiltration discrète à la cinquième semaine, elles évoluent au cours de la maladie, et touchent plus de 80 % des espaces portes à la vingtième semaine.

Les sections transversales montrent que cet infiltrat inflammatoire, composé de monocytes, de macrophages, de polynucléaires, de lymphocytes et de plasmocytes, n'est jamais homogène sur tout le pourtour de la veine.

La reconstitution des vaisseaux à partir de coupes sériées montre une distribution irrégulière de l'infiltrat inflammatoire le long de ces veines.



L'architecture du parenchyme hépatique est toujours préservée. Quelques foyers de nécrose dus à l'embolisation de vers morts sont parfois observés.

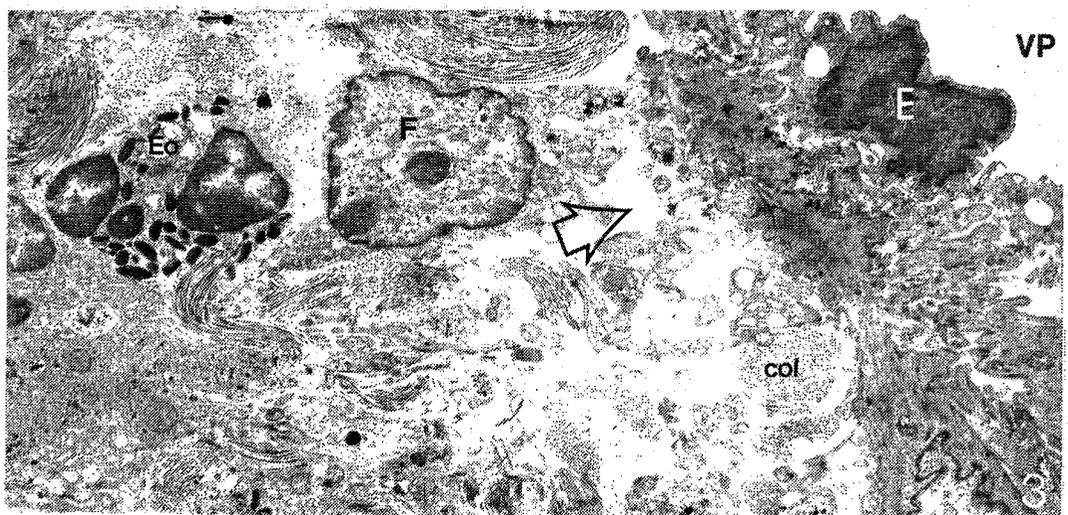
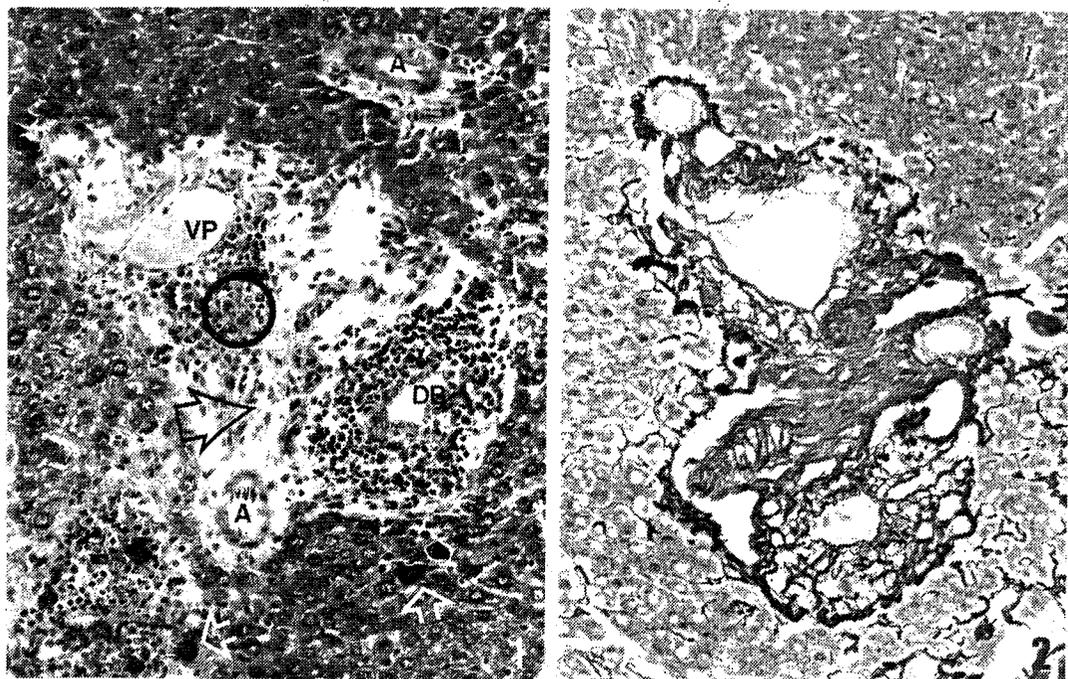
A proximité des zones inflammatoires, le pôle vasculaire des hépatocytes montre une réduction des microvillosités de la membrane cytoplasmique qui, de ce fait, apparaît parfois presque linéaire. L'espace de Disse, élargi, apparaît encombré de fragments cytoplasmiques.

1.2. LA PHASE CHRONIQUE (PLANCHES 15 ET 16)

A partir de la 25ème semaine d'infestation, tous les espaces portes montrent des infiltrats inflammatoires limités à l'espace périvasculaire et composés de monocytes, lymphocytes, plasmocytes (légèrement prédominants) et de polynucléaires. Des oedèmes de la paroi vasculaire avec infiltration cellulaire sont observés. Dans les principales branches de la veine porte, à l'infiltrat inflammatoire, se substitue une réaction fibreuse périportale composée d'une population cellulaire mixte de cellules inflammatoires, et de cellules du tissu conjonctif (fibroblastes, myofibroblastes).

L'imprégnation argentique montre une augmentation des fibres de réticuline autour des vaisseaux portaux. L'hyperplasie réticulo-endothéliale est toujours importante.

Au plan cellulaire, les modifications pathologiques concernent tous les éléments de la barrière vasculaire. Alors que l'endothélium est régulier dans les segments vasculaires normaux ou peu modifiés, lorsque l'infiltrat inflammatoire devient intense, les cellules endothéliales deviennent globuleuses et se projettent dans la lumière vasculaire. Leur pôle basal est irrégulier et elles projettent, quelquefois, des pseudopodes dans les espaces oedémateux que l'on observe au niveau de la couche musculaire lisse. Focalement, certaines cellules de l'endothélium montrent des images de dégénérescence avec, notamment, de nombreux plis au niveau du noyau.



La couche musculaire lisse montre une dissociation des cellules qui sont dès lors séparées par une matrice conjonctive intercellulaire.

Au-delà de la 35ème semaine d'infestation, l'infiltrat inflammatoire est remplacé par des cellules du tissu conjonctif. Les principales branches de la veine porte montrent un épaississement de la barrière vasculaire dû à l'augmentation du collagène sub-endothélial.

Le pôle vasculaire des hépatocytes sous-jacents aux espaces portes montre une importante clasmotose.

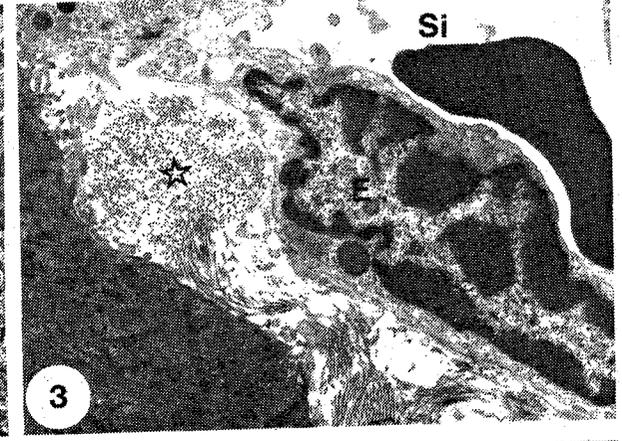
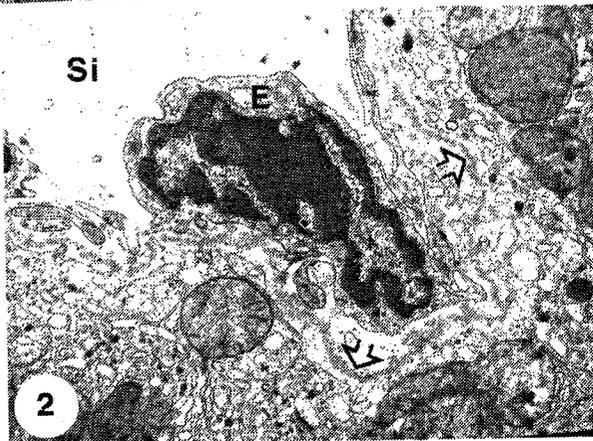
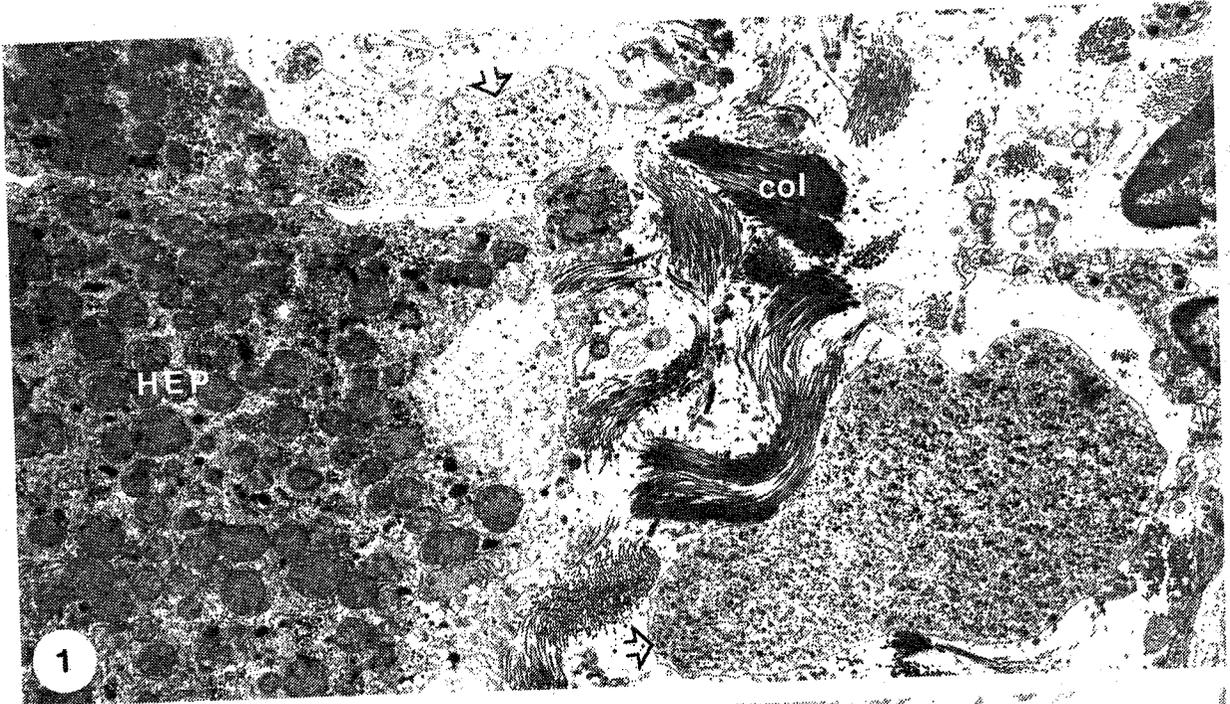
Les sinusoides sont modifiés et presque totalement obstrués par les cellules réticulo-endothéliales.

Le pôle sinusoidal des hépatocytes montre parfois une diminution des microvillosités assez importante. Le long de quelques sinusoides de grande taille, situés à proximité de l'espace porte, un dépôt discret de type membrane basale est observé ; il est associé à des dépôts de collagène intradissien d'importance variable, élargissant l'espace de Disse. Lorsque cette fibrose dissienne est importante, des fibres de collagène sont parfois observées entre les hépatocytes. Des cellules de Küpffer et des cellules de Ito (ou lipocytes) sont retrouvées au contact de l'espace de Disse.

Le marquage par immunofluorescence indirecte sur coupes de foie congelé prélevé au cours de la phase chronique, montre une localisation de la desmine autour des espaces portes fibreux.

2. HISTOPATHOLOGIE HÉPATIQUE DES SOURIS TRAITÉES

L'efficacité du traitement a été vérifiée de façon systématique ; à aucun moment nous n'avons retrouvé de vers vivants chez les animaux traités par le Praziquantel.



2.1. ASPECT MACROSCOPIQUE ET MICROSCOPIE OPTIQUE (PLANCHE 17)

Les animaux traités présentent un état général visiblement meilleur dès la huitième semaine après la date du traitement. Ces souris sont bien plus dynamiques que les témoins non traités.

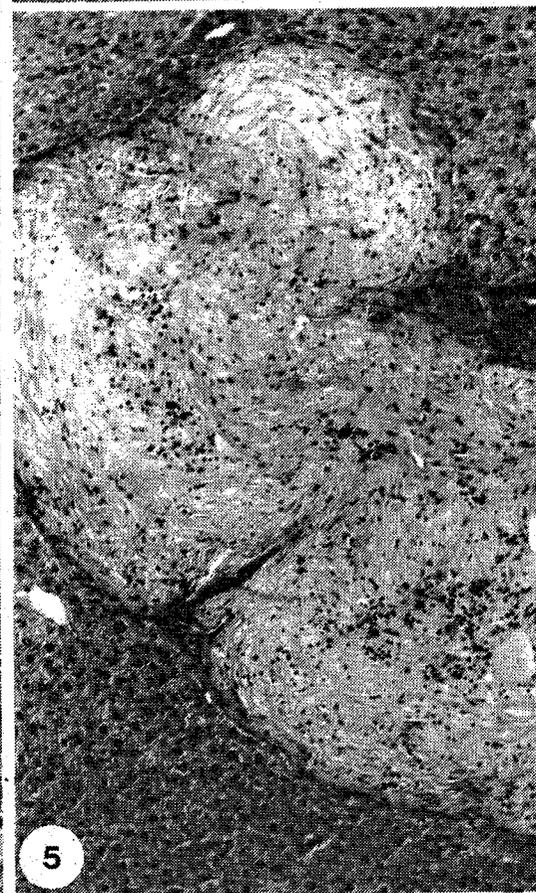
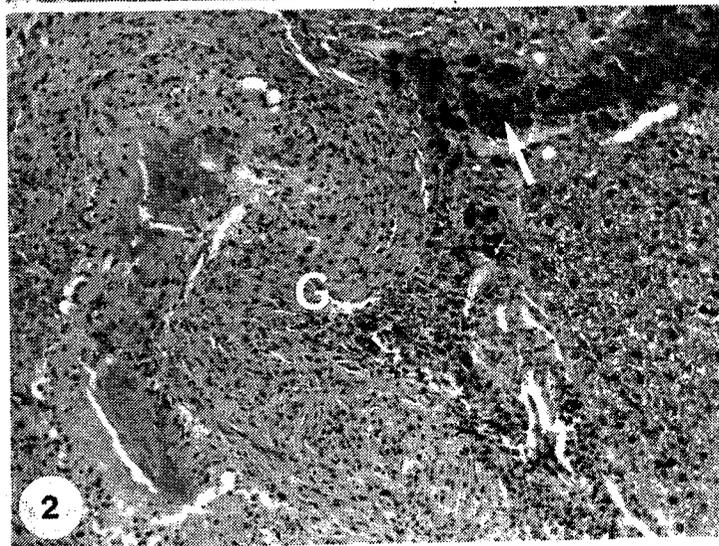
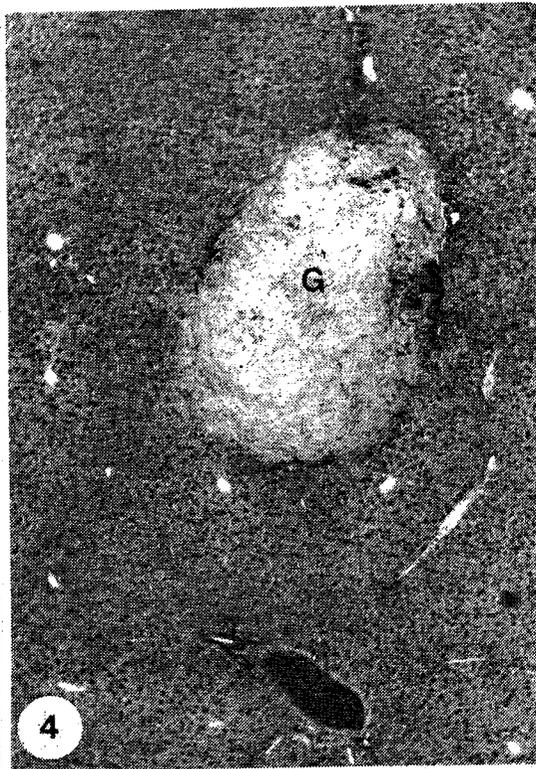
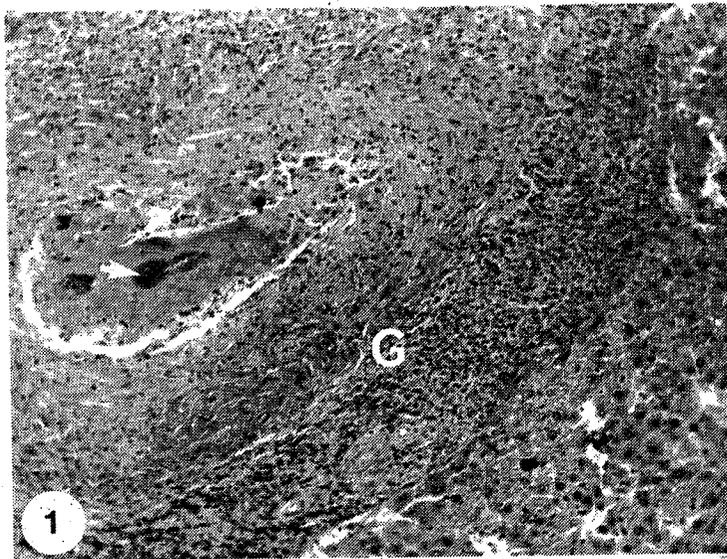
Au plan macroscopique, le foie des animaux traités depuis dix semaines est brun clair et montre quelques nodules blanchâtres (généralement 4 ou 5) en bordure des lobes hépatiques. La durée du parasitisme qui précède la date du traitement ne semble pas influencer de manière significative sur le résultat de ce traitement. Dans tous les cas, l'hépatomégalie est absente. Cette amélioration est encore plus nette chez les animaux sacrifiés à la 35ème et 45ème semaine après le traitement.

L'observation microscopique révèle que les nodules observés en bordure des lobes hépatiques correspondent à des zones de tissu cicatriciel formé autour de vers morts et désintégrés. Chez les animaux sacrifiés à la dixième semaine après le traitement, on peut quelque fois observer au milieu de ce tissu cicatriciel, des traces de pigment noir, vestiges de l'intestin.

L'hyperplasie réticulo-endothéliale est très faible. Les cellules de Küpffer chargées de pigment bilharzien, semblent localisées autour des vers morts et à proximité de quelques espaces portes. Les travées hépatocytaires sont normales. L'imprégnation argentique montre généralement une diminution de la réticuline autour des vaisseaux portaux, plus nette chez les animaux traités depuis 35 semaines et plus.

2.2. ASPECT ULTRA-STRUCTURAL (PLANCHE 18)

Au plan ultra-structural, les modifications les plus nettes sont celles que l'on observe après 15 semaines de traitement au niveau de la matrice conjonctive périportale. On remarque en effet une nette désorganisation des fais-

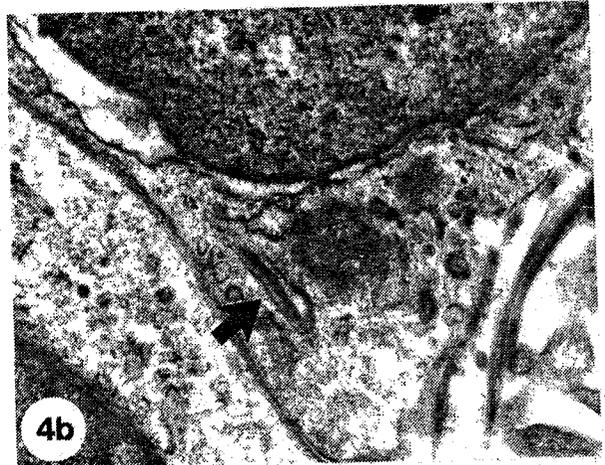
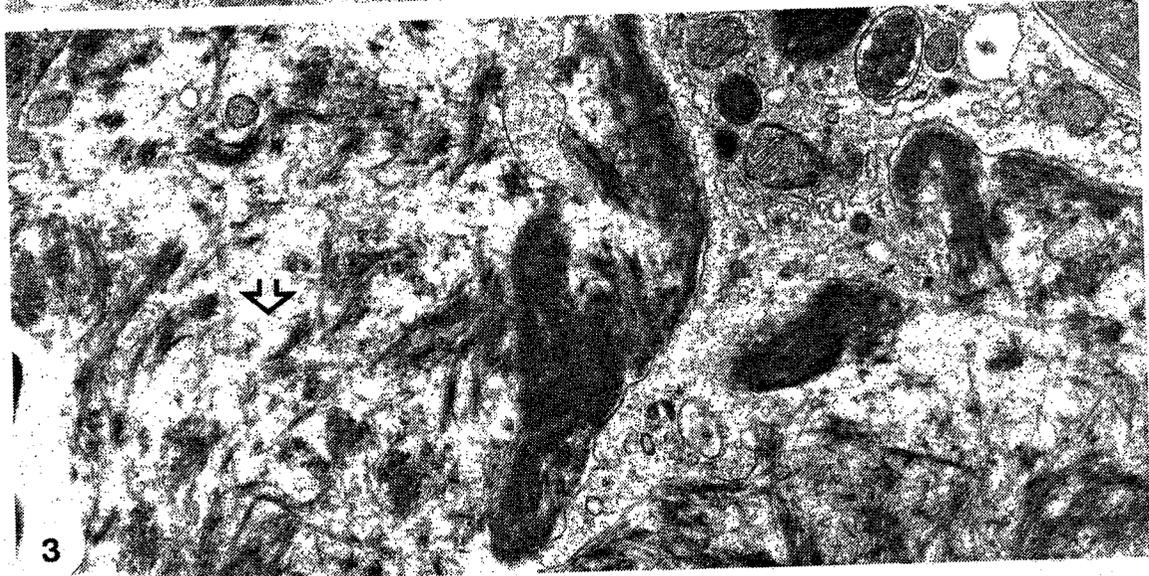
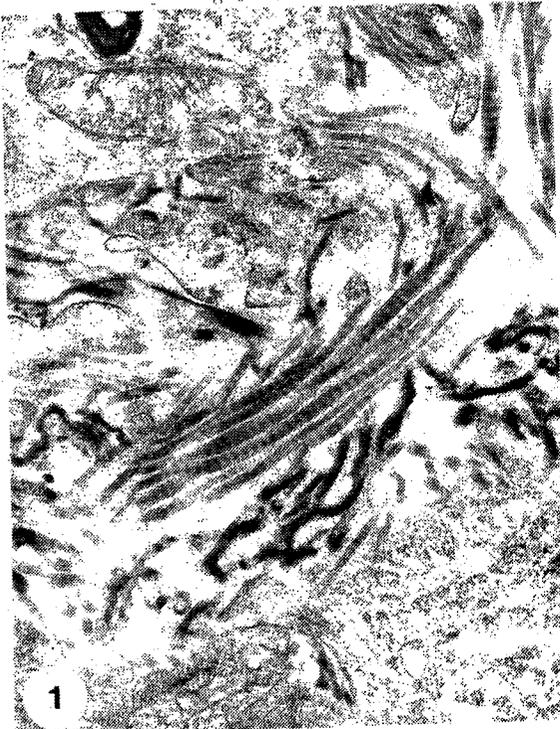


ceaux fibreux qui perdent toute orientation et présentent des fibres de collagène de tailles différentes, souvent très épaisses et montrant une torsion hélicoïdale, dispersées dans une matrice lâche. Des fragments de fibres sont quelquefois observés à l'intérieur de lysosomes secondaires dans le cytoplasme de fibroblastes ou de macrophages.

Un examen systématique des animaux révèle de nettes variations quantitatives d'un lot de souris à l'autre. On peut remarquer que, plus le sacrifice est tardif après le traitement et plus ce traitement est précoce, plus l'amélioration est nette.

- 10ème semaine post-traitement : la fibrose portale est moins dense que chez les animaux non traités. Des lysosomes secondaires englobant des fragments de fibres de collagène sont observés dans quelques fibroblastes.
- 15ème semaine post-traitement : la matrice conjonctive périportale montre une très nette désorganisation et des hyperfibres de collagène apparaissent à ce niveau.
- 35ème semaine post-traitement : chez les animaux traités à la 15ème semaine d'infestation, le foie est pratiquement normal, avec un parenchyme sain et des granulomes de vers beaucoup moins nombreux. L'hyperplasie kupfférienne est nulle et le pigment bilharzien n'est plus concentré qu'autour des granulomes de vers lorsqu'il en existe. A ce stade plus rien, dans ce granulome fibreux, ne rappelle la structure du ver désintégré.

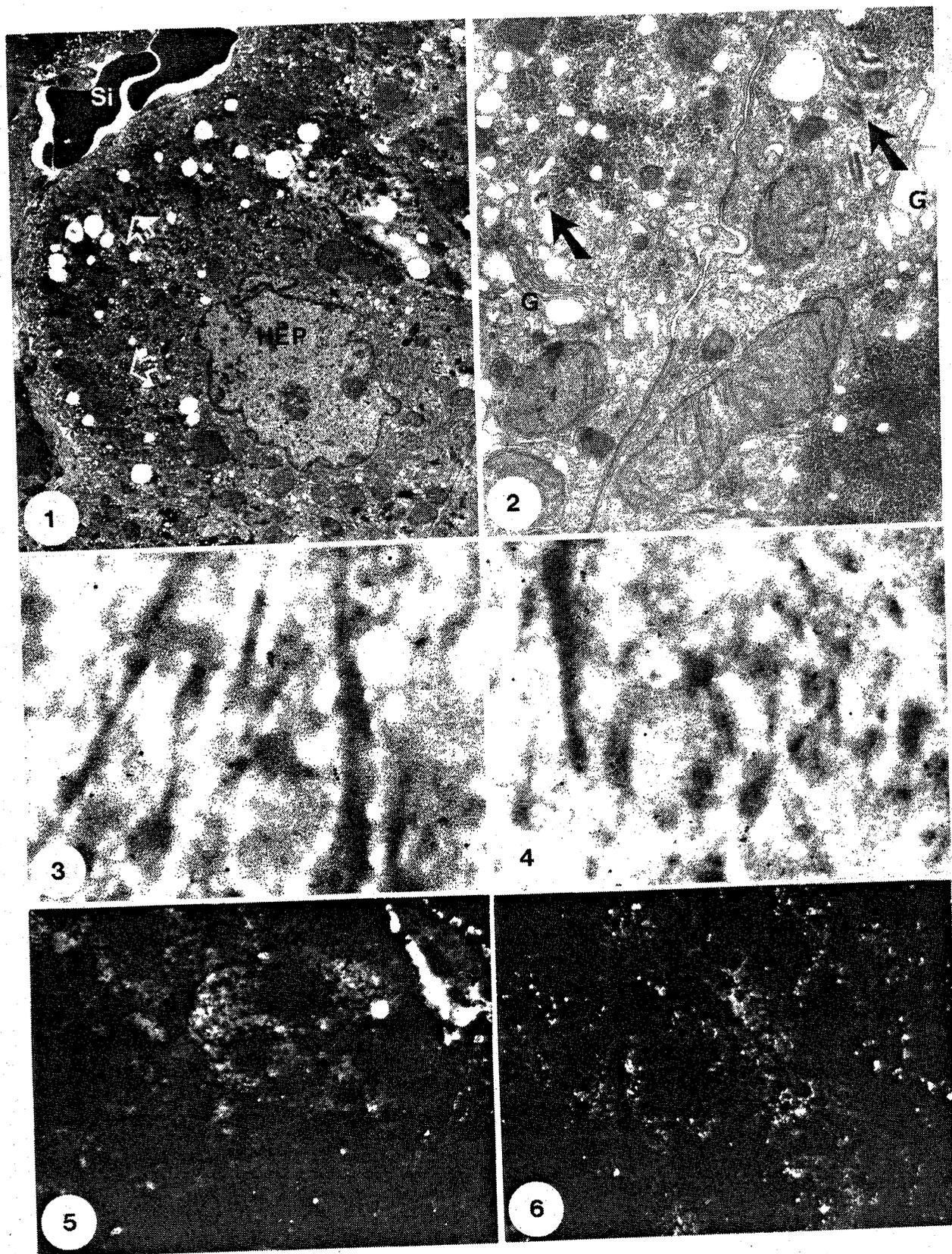
Chez les animaux traités au stade chronique de l'infestation, soit après 35 semaines et plus, le parenchyme hépatique semble normal. L'hyperplasie kupfférienne est absente et les nodules fibreux sont rares. L'observation ultra-structurale montre toutefois dans le cytoplasme de quelques hépatocytes, des structures fibrillaires semblables à des fibres de collagène. Ces fibres sont présentes en groupes de moins de dix fibres au sein de dilatations du



reticulum endoplasmique lisse et rugueux, et dans des vésicules golgiennes. Elles sont similaires aux fibres de la matrice extra-cellulaire et plus abondantes au pôle vasculaire de l'hépatocyte (Planche 19).

Un marquage par immunofluorescence indirecte sur coupes semi-fines montre une réaction positive pour les collagènes de types 1 et 3 dans le cytoplasme de ces hépatocytes, alors que pour le procollagène 3 et les CB-péptides, on n'observe pas de fluorescence.

Nous avons effectué sur coupes ultra-fines de ces prélèvements un immunomarquage des collagènes à l'aide de la protéine A, couplée à l'or colloïdal. Malgré l'altération due à la fixation osmique et à l'inclusion dans la résine, cette technique a confirmé les résultats de l'immunofluorescence indirecte, puisque les particules d'or se localisent exclusivement sur les fibres et à leur voisinage immédiat dans le cas des collagènes de type 1 et de type 3.



DISCUSSION

Dans la bilharziose chronique humaine ou murine, à *S. mansoni*, le foie est le siège de lésions importantes. Le premier site de ces lésions est le système porte qui est exposé à l'agression permanente due aux substances antigéniques libérées par les vers adultes et à la présence des oeufs embolisés dans les petites veinules hépatiques (Andrade et al., 1971). La réaction inflammatoire initiale qui se produit à la suite de la présence de ces substances antigéniques au niveau de la barrière vasculaire est remplacée par une fibrose portale dans la phase chronique de l'infection. Ces lésions représentent chez l'homme, comme chez l'animal, les principaux facteurs pathogènes de cette maladie (Andrade, 1965 ; Warren, 1978).

Il est admis que le développement de la fibrose peut résulter d'un processus réparateur après nécrose cellulaire ou d'une rupture de l'équilibre entre synthèse et dégradation du collagène (Rojkind et al., 1979 ; Rojkind, 1983), comme il peut résulter d'une prolifération des cellules productrices de collagène (Dunn, 1980).

Takahashi et al. (1980) rapportent que, lors des premières semaines de l'infection bilharzienne, synthèse et activité collagénasique sont toutes deux présentes. Plus tard, l'activité de la collagénase, ainsi que d'autres protéases, décroît rapidement tandis que la synthèse du collagène se poursuit, entraînant son accumulation dans le foie (Takahashi et al., 1980 ; Cheever et al., 1983). La fibrose prendrait alors progressivement place dans le foie.

Il a été démontré par ailleurs, que le granulome bilharzien formé autour des oeufs du schistosome, secrète des facteurs stimulant la prolifération et la synthèse du collagène (Wyler et al., 1978, 1982, 1987). Une activité similaire de stimulation des fibroblastes a été obtenue à partir de macrophages et de lymphocytes isolés de granulomes bilharziens (Wyler et al., 1983 ; Wahl et al., 1978). La sécrétion simultanée de cytokines et de facteurs spécifiques de l'oeuf agit sur le tissu conjonctif et induit une sécrétion locale de plusieurs composants de la matrice conjonctive (glycosamino-glycanes, fibronectine, isotypes du collagène) (Nishimura et al., 1985 ; Grimaud et al., 1987).

Dans notre modèle d'infestation unisexuée, l'architecture du lobule est toujours préservée et les lésions cellulaires ne sont pas intenses ; l'hypothèse selon laquelle la fibrose observée serait la conséquence d'une nécrose cellulaire ne peut être retenue. De même, l'action directe de facteurs provenant du granulome dans l'induction de cette fibrose doit être écartée du fait que nous n'ayons utilisé dans notre expérimentation que des vers mâles. Une autre cause doit donc être recherchée pour tenter d'expliquer le développement de la réaction fibreuse portale.

Nous avons pu observer que l'importance des lésions était directement liée à la durée de l'infestation ainsi qu'à la charge parasitaire (Baki et al., 1985). On peut donc penser que dans la bilharziose hépatosplénique, les lésions périportales ne sont pas la conséquence seulement du granulome, mais qu'elles sont aussi liées à la présence du ver lui-même et d'éléments autres que l'oeuf.

La présence d'antigènes circulants et d'immun-complexes a été démontrée aussi bien dans la bilharziose chronique (Santoro et al., 1979 et 1981 ; Auriault et al., 1983) que dans l'infection bilharzienne unisexuée expérimentale chez la souris (Van Marck et al., 1981). Il semble donc possible que la présence des substances antigéniques du ver dans la circulation sanguine puisse augmenter la perméabilité de la couche endothéliale et entraîner la diffusion de ces mêmes substances à travers la barrière vasculaire. La réac-

tion inflammatoire spécifique qui se produit dans la phase précoce au niveau de l'espace périportal (Baki et al., 1985) conduit à localiser, dans ce site, un grand nombre de cellules capables de relargage d'enzymes protéolytiques. Une désorganisation de la paroi vasculaire, y compris la couche musculaire lisse, peut se produire et augmenter la diffusion du sérum à travers la barrière vasculaire. Une réaction fibreuse en résulterait et constituerait un processus réparateur dans le site de l'agression.

Ross et al. (1973) ont démontré que l'endothélium intact joue un rôle de barrière à la pénétration de substances provenant du sang, certaines étant capables d'induire la prolifération de cellules musculaires lisses et la sécrétion de la matrice extra-cellulaire. Les cellules musculaires lisses partiellement dédifférenciées sont apparemment responsables de la sécrétion et de l'accumulation des éléments composant la matrice conjonctive.

Plusieurs types cellulaires ont été impliqués dans le processus de fibrogénèse qui entraîne une augmentation de la synthèse des composants matriciels.

- Les myofibroblastes ont été associés au processus de fibrose hépatique dans la bilharziose hépatosplénique (Grimaud et al., 1977b ; Andrade et al., 1986), dans la cirrhose alcoolique (Lieber, 1983 ; Rudolph et al., 1979 ; Nakano et al., 1982) et dans les cultures de cellules de foie bilharzien et cirrhotique (Voss et al., 1982 ; Borojevic et al., 1985).

Il a été suggéré que ces cellules pouvaient jouer un rôle déterminant dans le processus fibreux. Leur origine fait encore l'objet de controverses ; certains auteurs considèrent en effet que les myofibroblastes dérivent de fibroblastes préexistants (Gabbiani et al., 1976), tandis que d'autres pensent que ces cellules pourraient représenter des cellules musculaires lisses dédifférenciées (Grimaud et al., 1977b).

En pathologie humaine, et dans la schistosomiase chronique à *S. mansoni* en particulier, l'espace porte est le siège d'une fibrose extensive qui, selon Grimaud et al. (1986), résulterait, entre autres, de la désorganisation de la paroi vasculaire et de la dédifférenciation de cellules musculaires lisses en myofibroblastes.

L'observation ultra-structurale nous a révélé la présence, dans les espaces portes fibreux, d'un certain nombre de cellules présentant les caractéristiques du myofibroblaste (Gabbiani et al., 1981) sans toutefois en atteindre complètement le profil. Elles présentent, en effet, un noyau à contour irrégulier et un système fibrillaire cytosquelettique en relation avec des densifications contre la membrane plasmique. Un marquage desmine-positif a été obtenu par immuno-fluorescence indirecte sur des cellules dispersées dans ces mêmes espaces portes fibreux alors que chez les témoins, le marquage ne souligne que la paroi vasculaire, la couche musculaire lisse plus précisément. On sait par ailleurs que le myofibroblaste ne fait pas partie de la population cellulaire normalement présente dans l'espace porte de la souris. Il semble donc parfaitement plausible que les cellules décrites ici appartiennent à un type cellulaire myofibroblastique, issu de cellules musculaires lisses ou de fibroblastes portaux ayant migré dans l'espace conjonctif et acquis ce nouveau phénotype sous l'effet d'une cascade d'événements reliés au signal antigénique du schistosome adulte.

Ainsi donc, l'augmentation relative, au niveau des espaces portes, de cellules de type myofibroblastique, parfois associées à des cellules musculaires lisses et/ou à des fibroblastes, nous fait supposer que la réaction fibreuse portale observée au cours de la phase tardive de l'infection puisse dépendre des facteurs suivants :

- 1) La diffusion permanente des substances antigéniques du ver à travers la couche endothéliale.

- 2) La réaction inflammatoire qui en résulte et la désorganisation de l'architecture de la barrière vasculaire.
 - 3) La transformation de fibroblastes ou de cellules musculaires lisses en myofibroblastes.
- Les cellules de Ito, ou lipocytes, localisées dans l'espace de Disse, semblent jouer également un rôle important dans le processus de fibrogénèse (Kent et al., 1976 ; Canto et al., 1977 ; Tanaka et al., 1981 ; Knook et al., 1982 ; Fiedman et al., 1975 ; Peyrol et al., 1988). On signale qu'en culture prolongée, ces cellules présentent un phénotype rappelant celui des fibroblastes (De Leeuw et al., 1984). Mais, bien qu'elles soient morphologiquement voisines des fibroblastes, ces cellules possèdent un cytosquelette qui les rapproche plutôt des myofibroblastes (Bouliac-Sage et al., 1988). La desmine y a été détectée par des méthodes immuno-cytochimiques (Yokoi et al., 1984) et la dénomination de "cellules hépatiques périsinusoïdales desmine-positives" a même été proposée pour les désigner (Tsutsumi et al., 1987). On signale enfin que le contenu de ces cellules en desmine augmente dans les cas de lésions hépatiques (Ogawa et al., 1986).
 - Par ailleurs, de nombreux auteurs ont signalé la capacité des hépatocytes à produire du collagène *in vitro* (Sakakibara et al., 1976 ; Clément et al., 1988) et dans des conditions pathologiques (Grimaud et al., 1980 ; Clément et al., 1984 et 1986 ; Peyrol et al., 1988).

On sait que dans le foie normal, l'espace de Disse est caractérisé par l'absence de membrane basale et par la présence de fenestrations dans la couche endothéliale. Ces fenestrations permettent la projection de microvillosités de la membrane hépatocytaire dans la lumière du sinussoïde, et partant, un transfert rapide des constituants plasmiques et d'oxygène entre le sang et les hépatocytes.

Nous pouvons supposer que l'épaississement de la paroi endothéliale peut être la conséquence de l'hyperplasie kùpfférienne et endothéliale. La présence d'une membrane basale et de dépôts de collagène sous cette couche endothéliale pourrait être interprétée comme un processus de capillarisation des sinusoides déjà décrit dans la bilharziose chronique humaine (Grimaud et al., 1977), dans la cirrhose induite par le tétrachlorure de carbone (Stenger, 1966 ; Mac Gee et al., 1972 ; Okasaki, 1973) et dans l'hépatite chronique active (Bardadin et al., 1984 et 1985).

Les modifications pathologiques du micro-environnement cellulaire hépatique et la prolifération des cellules de Ito dans notre modèle au cours de la phase tardive, nous font supposer une participation directe de ces cellules ainsi que des hépatocytes dans la synthèse du collagène intradissien.

Une récente étude de l'effet d'un traitement curatif sur les lésions hépatiques chez la souris (Andrade et al., 1986) a montré que ce dernier provoque l'apparition synchrone du stade de résorption de la fibrose pour l'ensemble des granulomes. Ce stade intervient après la mort du miracidium et représente le stade ultime de l'involution spontanée du granulome périovulaire.

L'augmentation du taux de transaminases, d'éosinophiles et d'anticorps, observée par ailleurs dans le sang périphérique de patients traités (Silva et al., 1976) pouvait faire craindre une intensification des lésions par la libération de substances antigéniques et toxiques consécutive à la destruction des vers.

Cette supposition paraît quelque peu exagérée car les observations montrent, au contraire, que les signes pathologiques diminuent considérablement (désorganisation des faisceaux fibreux, fragmentation des fibres de collagène et disparition de beaucoup d'entre elles).

L'efficacité du Praziquantel dans la réversibilité des lésions fibreuses au cours de la schistosomiase expérimentale murine a été rapportée par Morcos

et al. (1985). Cela est confirmé par l'étude de l'activité collagénasique au cours du traitement (Emonard et al., 1989). D'autres auteurs observent une résorption du collagène mais suggèrent l'existence d'un stade d'irréversibilité des lésions fibreuses (El Badrawy et al., 1988). Ils rapportent en effet que, lorsque le traitement est administré au-delà de la douzième semaine d'infestation, les dépôts de collagène ne diminuent plus.

L'étude de la phase tardive de l'évolution des lésions, soit au-delà de quatre mois après le traitement, démontre au contraire qu'il n'existe pas de stade d'irréversibilité de la fibrose (Andrade et al., 1988).

Nos observations montrent une nette diminution des lésions fibreuses, même lorsque le traitement est administré à la 35ème semaine d'infestation. Nous devons toutefois tenir compte du fait que, dans notre modèle d'infestation unisexuée, la phase d'apparition de la fibrose n'intervient qu'à partir de la 25ème semaine d'infestation.

Toutes ces observations confirment l'hypothèse selon laquelle le processus de fibrolyse intervient dès que cesse le stimulus de fibrogénèse. En détruisant tous les vers en même temps, le traitement entraîne une évolution synchrone au niveau de tous les espaces portes et permet au foie de retrouver un aspect pratiquement normal au bout de quelques semaines.

Le phénomène de phagocyte du collagène a déjà été observé, aussi bien dans les fibroblastes que dans les macrophages, et interprété comme un mécanisme de résorption (Melcher et al., 1981 ; Svoboda et al., 1981).

Il a été montré dans le cas de l'involution postpartum de l'utérus chez le rat (Henell et al., 1983) que trois mécanismes possibles pouvaient être considérés dans la réduction de la taille de cet organe, l'autophagie, la phagocytose et la crinophagie. Dans ce dernier mécanisme, les cellules sécrétrices peuvent détruire une partie de leur propre sécrétion lorsqu'elle est en excès ; il pour

rait expliquer la présence de fragments de collagène dans les vacuoles digestives des fibroblastes.

Le collagène intrahépatocytaire que nous avons décrit nous semble être plus vraisemblablement le résultat d'une production de l'hépatocyte plutôt qu'une dégradation par ce dernier, bien que l'origine du collagène intracellulaire soit matière à controverse. Pour certains auteurs en effet, ces structures fibrillaires représentent une accumulation de collagène nouvellement synthétisé (Trelstad, 1971 ; Trelstad et al., 1976), alors que d'autres pensent que ce matériel provient de la matrice extra-cellulaire (Melcher et al., 1981). Nous pensons, pour notre part, à une origine intracytoplasmique en nous basant sur les faits suivants :

- 1) L'association de ces fibres avec la région golgienne suggérant un processus cellulaire sécrétoire.
- 2) L'absence dans les cellules de structures indentifiées comme lysosomes secondaires.
- 3) L'absence de tout signe d'endocytose, les fibres étant exclusivement enfermées dans des vésicules golgiennes et citernes du reticulum endoplasmique.
- 4) L'absence de quantités importantes de collagène dans l'espace extra-cellulaire excluant la possibilité d'une récupération par l'hépatocyte de ce collagène extra-cellulaire.

La participation possible du traitement par schistosomicide dans ce phénomène peut être envisagée, puisque ces structures intracytoplasmiques n'ont été observées que chez les animaux traités. On a montré que des substances chimiques telles que la Colchicine ou la Vinblastine sont capables de bloquer la sécrétion du collagène, alors que sa production se poursuit (Diegelman et al., 1972 ; Fernandez-Madrid et al., 1981 ; Scherft et al., 19875 ; Cho et al.,

1985). Le transport du site de la synthèse à la membrane cellulaire est donc perturbé. Bien que la formation complète de fibres de collagène dans l'environnement intracellulaire n'ait pas été démontrée comme un processus normal, on rapporte que les hépatocytes sont capables d'en produire *in vitro* et dans des conditions pathologiques (Diegelman et al., 1983 ; Clément et al., 1986). Quoiqu'il en soit, nos observations tendent à prouver, une fois de plus, que les hépatocytes sont impliqués dans le processus de fibrogénèse.

CONCLUSION

Dans la première partie de ce travail, l'approche ultra-structurale du schistosome adulte et de sa cercaire nous a permis de mettre en évidence deux types de caractères :

- 1) Des caractères liés à la vie parasitaire et que le schistosome partage avec d'autres Trématodes Digènes. Ce sont principalement :
 - la structure syncytiale du tégument,
 - la musculature,
 - l'appareil excréteur ou osmorégulateur,
 - l'appareil génital femelle.
- 2) Des caractères spécifiques de *Schistosoma mansoni* comme la gonochoirie et la structure du flagelle spermatique, avec ses neuf doublets périphériques dépourvus de bras et la présence, dans la région centrale, d'un matériel dense non tubulaire.

La comparaison des téguments de la cercaire, stade vivant en eau douce, et du ver adulte sanguicole, fait apparaître des modifications ultra-structurales qui semblent liées au réajustement osmotique du parasite en milieu

sanguin. Ainsi en est-il de l'invagination de la membrane tégumentaire interne et de la présence d'une couche fibreuse dense sous la membrane tégumentaire externe, qui ne sont en fait que des spécialisations de structures préexistantes. Quoiqu'il en soit, les variations qui apparaissent au niveau du revêtement du corps, ne remettent pas en cause sa structure typique avec une couche syncytiale superficielle anucléée et des corps cellulaires profonds.

L'appareil excréteur et l'appareil génital femelle, structures situées loin des contraintes sélectives, restent comparables chez tous les Trématodes.

Les récepteurs multiciliés, probablement des chémorécepteurs, décrits chez la cercaire, ont probablement un rôle complémentaire des récepteurs uniciliés qui apparaissent plutôt comme des mécanorécepteurs.

Dans la seconde partie de notre travail, l'étude des modifications pathologiques produites chez la souris par l'infection unisexuée chronique à *Schistosoma mansoni* nous a permis de montrer :

- 1) Que le tissu hépatique est le siège de lésions importantes, caractérisées par une réaction inflammatoire péri-portale initiale, relayée par une fibrose portale et dissienne au cours de la phase chronique de l'infection.

L'absence d'oeufs, et partant de granules périovulaires dans notre modèle, nous a permis de conclure que ces lésions étaient exclusivement dues aux substances antigéniques et toxiques libérées par les vers dans la circulation hépato-mésentérique. Les substances liées au ver adulte constituent donc une part non négligeable de l'ensemble des facteurs induisant la pathologie de la bilharziose hépatosplénique.

- 2) Que plusieurs types cellulaires sont impliqués dans le processus de fibrogénèse. Les fibroblastes et les myofibroblastes participent à la synthèse de la matrice conjonctive portale, tandis que les cellules de Ito et, à

un degré moindre, les hépatocytes, sont à l'origine de la fibrose de l'espace de Disse.

- 3) Enfin, que le traitement antiparasitaire par le Praziquantel est à l'origine d'une nette diminution des lésions, aussi bien au niveau des espaces portes que du parenchyme hépatique. La disparition du signal antigénique lié au ver adulte entraîne une réduction notable des manifestations pathologiques et la mise en route d'un processus réparateur, confirmant l'hypothèse selon laquelle le processus de fibrolyse intervient dès que cesse le stimulus de fibrogénèse.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aidaros S.M. et Soliman L.A. 1961

Portal vascular changes in human bilharzial cirrhosis
J. Pathol. Bacteriol. 82 : 19-22

Andrade Z.A. 1965

Hepatic schistosomiasis. Morphological aspects
in "Progress in Liver Diseases". II. Popper, H. et Shaffner F. Eds
Grune and Stratton, New-York, pp. 228-242

Andrade Z.A. et Warren K.S. 1964

Mild prolonged schistosomiasis in mice : alterations in host response with
time and the development of portal fibrosis.
Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 58 : 53-57

Andrade Z.A. et Cheever A.W. 1971

Alterations of the intrahepatic vasculature in hepatosplenic schistosomiasis
mansoni.
Am. J. trop. Med. Hyg. 20 : 425-432

Andrade Z.A. et Grimaud J.A. 1986

Evolution of the schistosomal hepatic lesions in mice after curative chemo-
therapy
Am. J. Pathol. 124 : 59-65

Andrade Z.A. et Grimaud J.A. 1988

Morphology of chronic collagen resorption. A study of the late stages of
schistosomal granuloma involution
Am. J. Pathol. 132 : 389-399

Archer S. 1985

The chemotherapy of schistosomiasis.
Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 25 : 485-508

Auriault C. ; Capron M. ; Cesari I.M. et Capron A. 1983

Enhancement of eosinophil effector function by soluble factors released by
S. mansoni : role of proteases.
J. Immunol. 131 : 464-469

Baki C.A. et Grimaud J.A. 1985

Experimental murine schistosomiasis : portal hepatitis in subacute infections.

Experientia. 41 : 1423-1426

Barbosa F.S. et Barreto A.C. 1960

Differences in susceptibility of brazilian strains of *Australobis glabratus* to *S. mansoni*

Exp. Paras. 9 : 137

Bardadin K.A. et Scheuer P.J. 1984

Endothelial cell changes in acute hepatitis. A light and electron microscopic study.

J. Path. 144 : 213-220

Bardadin K.A. et Desmet V.J. 1985

Ultrastructural observations on sinusoidal endothelial cells in chronic active hepatitis

Histopathol. 9 : 171-181

Bogitsh B.J. et Carter O.S. 1977

Schistosoma mansoni : ultrastructural studies of the oesophageal secretory granules

J. Parasitol. 63 : 681-686

Bogitsh B.J. et Shannon W.A. 1971

Cytochemical observations on the digestive tracts of digenetic trematodes. 7. Acid phosphatase activity in *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma douthitti*.

Exp. Paras. 29 : 337-347

Borojevic R. ; Vinhas S.A. ; Montero A.N.A. ; Domont G.B. ; Zyngier F.R. and Grimaud J.A. 1985

Liver connective tissue cells isolated from human schistosomal fibrosis or alcoholic cirrhosis represent modified phenotype of smooth muscle cells.

Biol. Cell. 53 : 231-238

Boros D.L. 1976

Schistosomiasis mansoni : a granulomatous disease of cell-mediated immune etiology.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 278 : 36

Bouliac-Sage P. ; Lafon M.E. ; Le Bail B. et Balabaud C. 1988

Perisinusoidal and pit cells in liver sinusoids.

Dans "Sinusoids in human liver : health and disease".

P. Bouliac-Sage et C. Balabaud, eds. pp. 39-63. Rijswijk, the kupffer cell foundation.

Bresciani J. 1973

The ultrastructure of the tegument of the Monogenean *Polystoma integerimum* (Fröhlich)

Kgl. Veterinaer. Og. Ladbohojsk. Arsskr : 14-27

Brumpt E. et Chevallier P. 1931

La rate et les spléno-hépatites des bilharzioses expérimentales.

Ann Parasit. hum. comp. 9 : 15-67

Burton P.R. 1966

The ultrastructure of the integument of the frog bladder fluke

Gorgoderina sp

J. Parasitol. 52 : 926-934

Buttner A. 1956

Quelques données pratiques et observations sur le cycle évolutif expérimental de *Schistosoma mansoni*.

Bull. Soc. Path. exot. 49 : 1197-1211

Canto A.L. ; Sesso A. et De Brito T. 1977

Human chronic mansoni schistosomiasis. Cell proliferation and fibre formation in the hepatic sinusoidal wall : a morphometric, light and electron microscopy study.

J. Path. 123 : 35-44

Cheever A.W. ; Dunn M.A. ; Dean D.A. et Duvall R.H. 1983
Differences in hepatic fibrosis in ICR, C3H and C57BL/6 mice infected with
Schistosoma mansoni.
Am. J. trop. Med. Hyg. 32 : 1364-1369

Cho M.I. et Garant P.R. 1985
Ultrastructural and cytochemical studies of the fate of unsecreted collagen
precursors after administration of colchicine mice.
Acta. anat. 121 : 205-215

Clément B. ; Emonard H. ; Rissel M. ; Druguet M. ; Grimaud J.A. ;
Herbage D. ; Bourel M. et Guillouzo A. 1964
Cellular origin of collagen and fibronectin in the liver
Cell. mol. Biol. 30 : 489-496

Clément B. ; Grimaud J.A. ; Campion J.P. ; Deugnier Y. et Guillouzo A 1986
Cell types involved in collagen and fibronectin production in normal and
fibrotic human liver.
Hepatology 6 : 225-234

Clément B. ; Gripon P. ; Guguen-Guillouzo C. et Guillouzo A. 1988
Interaction of cells and extracellular matrix in the liver.
Dans "Sinusoids in human liver : health and disease".
P. Bouliac-Sage et C. Baladaud, eds. pp. 111-137, Rijswijk, the kupffer cell
foundation

Cousin C.E. ; Stirewalt M.A. et Dorsey C.H. 1981
Schistosoma mansoni : ultrastructure of early transformation of skin - and
shear-pressure derived schistosomules.
Exp. Paras. 51 : 341-365

De Leeuw A.M. ; Mc Carthy S.P. ; Geerts A. et Knook D.L. 1984
Purified rat liver fat-storing cells in culture divide and contain collagen.
Hepatology. 4 : 392-403

De Water R. ; Van Marck E.A.E. ; Frandsen J.A.M. et Deelder A.M. 1988
Schistosoma mansoni : ultrastructural localization of the circulating anodic antigen and the circulating cathodic antigen in the mouse kidney glomerulus.

Am. J. trop. Med. Hyg. 38 : 118-124

De Witt W.B. 1955

Influence of temperature on penetration of snail hosts by *S. mansoni* miracidium.

Exp. Paras. 4 : 244

Dias L.C.S. ; Avila-Pires F.D. et Pinto A.C.M. 1978

Parasitological and ecological aspects of schistomiasis mansoni in the valley of the Paraiba do Sul river (Sao Paulo state, Brazil). I. Natural infection of small mammals with *Schistosoma mansoni*.

Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 72 : 496-500

Dias L.C.S. et Piedrabuena A.E. 1980

Morphological aspects of *Schistosoma mansoni* in naturally infected *Holochilus brasiliensis* *Leucogaster*

Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 74 : 690

Diegelmann R.F. et Peterkofsky B. 1972

Inhibition of collagen secretion from bone and culture fibroblasts by microtubular disruptive drugs.

Proc. nat. Acad. Sci. (Wash). 69 : 892-896

Diegelmann R.F. ; Guzelian P.S. ; Gay R. et Gay S. 1983

Collagen formation by the hepatocyte in primary monolayer culture in vivo.

Science 219 : 1343-1345

Dike S.C. 1971

Ultrastructure of the tegument of adult *Schistosoma mansoni*.

J. Parasitol. 54 : 15-27

Dunn M.A. 1980

Fibrosis in granulomas. In "Basic and clinical aspects of granulomatous diseases". Dov. L. Boros et Takeshi Yoshida eds. Elsevier North Holland.

pp. 133-150

Duvall R.H. et De Witt W.B. 1967

An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals.

Am. J. trop. Med. Hyg. 16 : 483-486

El Badrawy N.M. ; Hassanein H.I. ; Botros S.S. ; Nagy F.M. ; Abdallah N.M. et Herbage D. 1988

Effect of Praziquantel on hepatic fibrosis in experimental schistosomiasis mansoni.

Exp. mol. Pathol. 49 : 151-160

Emonard H. et Grimaud J.A. 1989

Active and latent collagenase activity during reversal of hepatic fibrosis in murine schistosomiasis.

Hepatology, in press.

Erasmus D.A. 1967

The host-parasite interface of *Cyathocotyle bushiensis*

Khan, 1962 (Trematoda : Strigeoidea). 2. Electron microscope studies of the tegument.

J. Parasitol. 53 : 703-714

Ernst S.C. 1975

Biochemical and cytochemical studies of digestive-absorptive functions of oesophagus, cecum and tegument in *Schistosoma mansoni* : acid phosphatase and tracer studies.

J. Parasitol. 61 : 633-647

Fernandez-Madrid F. ; Noonan S. et Riddle J. 1971

The "spindle-shaped" body in fibroblasts : intracellular collagen fibrils.

J. Clin. Invest. 60 : 157-166

Friedman S.L. ; Roll F.J. ; Boyles J. et Bissel M. 1985

Hepatic lipocytes : the principal collagen-producing cells of normal rat liver.

Proc. natl. Acad. Sci. USA. 82 : 8681-8685

Gabbiani G. ; Ryan G.B. et Majno G. 1971
Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role
in wound contraction.
Experientia 27 : 549-550

Gabbiani G. ; Le Lous M. ; Bailey A.J. ; Bazin S. et Delaunay A. 1976
Collagen and myofibroblasts of granulation tissue.
A chemical, ultrastructural and immunologic study.
Virchow. Arch. B. Cell. Path. 21 : 133-145

Gabbiani G. et Runger-Brandle E. 1981
The fibroblast. In "Tissue repair and regeneration".
Glynn L.E. Ed. Elsevier North Holland. pp. 1-50

Glaudel R.J. et Etges F.H. 1973
The effect of photoperiod inversion upon *S. mansoni* cercarial emergence
from *Biomphalaria glabrata*.
Intern. J. Paras. 3 : 619

Gonnert R. 1949
Die struktur der körperoberfläche von *Bilharzia mansoni* (Sambon, 1907).
Z. tropenmed. Parasit. 1 : 105-112

Gonnert R. 1955
Schistosomiasis - studien. 1. Beiträge zur anatomie und histologie von
Schistosoma mansoni.
Z. tropenmed. Parasit. 6 : 18-23

Grimaud J.A. et Borojevic R. 1977a
Les fibroses hépatiques bilharziennes.
Cah. Med. 3 : 563-572

Grimaud J.A. et Borojevic R. 1977b
Myofibroblasts in hepatic schistosomal fibrosis
Experientia 33 : 890-892

Grimaud J.A. et Borojevic R. 1980
Intercellular formation of collagen in human liver.
Cell. Mol. Biol. 26 : 555-562

Grimaud J.A. ; Druguet M. ; Peyrol S. et Guerret S. 1986
Collagen. In "Methods of enzymatic analysis". Vol. 9 Proteins and Peptides,
Bermeyer H.U. ed Weinheim VCE pp. 186-201

Grimaud J.A. et Borojevic R. 1986
Portal fibrosis : intrahepatic portal vein pathology in chronic human schis-
tosomiasis mansoni.
J. Submicrosc. Cytol. 18 : 783-793

Grimaud J.A. ; Boros D.L. ; Takiya C. ; Mathew R.C. et Emonard H. 1987
Collagen isotypes, laminin and fibronectin in granulomas of the liver and
intestine of *Schistosoma mansoni* infected mice
Am. J. trop. Med. Hyg. 37 : 332-345

Henell F. ; Bricsson J.L.E. et Glaumann H. 1983
An electron microscopic study of the post-partum involution of rat uterus :
with a note on apparent crinophagy of collagen.
Virchow Arch. (Cell. Path) 42 : 271-287

Hockley D.J. 1968
Scanning electron microscopy of *Schistosoma mansoni* cercaria.
J. Parasitol. 54 : 1241-1243

Hockley D.J. 1970
An ultrastructural study of the cuticle of *Schistosoma mansoni* Sambon,
1907.
PhD Thesis. University of London

Hockley D.J. 1972
Schistosoma mansoni : the development of the cercarial tegument
Parasitology 64 : 245-252

Hockley D.J. 1973
Ultrastructure of the tegument of *Schistosoma*
Advances in Parasitology 11 : 233-306

Hockley D.J. et Mc Laren D.J. 1973

Schistosoma mansoni : changes in the outer membrane of the tegument during development from cercaria to adult worm.

Int. J. Parasit. 3 : 13-25

Inatomi S. ; Tongu Y. ; Sakumoto D. ; Suguri S. et Itano K. 1969

Ultrastructure of helminths. 3. The body wall of *Schistosoma japonicum*.

Jap. J. Parasit. 18 : 174-181

Irie Y. et Yasuraoka K. 1981

Schistosoma japonicum : ultrastructural changes in the tegument during cercaria-schistosomulum transformation.

Jap. J. exp. Med. 51 : 53-63

Jordan P. et Webbe G. 1969

Human Schistosomiasis - London : William Heinemann

Medical Books. 212 p.

Justine J.L. et Mattei X. 1981

Etude ultra-structure du flagelle spermatique des schistosomes (Trematoda : Digenea)

J. ultrastr. Res. 76 : 89-95

Kent G. ; Inouye T. ; Minick O.T. et Bahu R.M. 1977

Role of lipocytes (perisinusoidal cells) in fibrogenesis in "Kupffer cells and other liver sinusoidal cells".

Eisse W. et Knook D.L. eds. Amsterdam. Elsevier North Holland Biomedical Press pp. 73-82

Kitajima E.W. ; Paraense W.L. et Correa L.R. 1976

The fine structure of *Schistosoma mansoni* sperm (Trematoda - Digenea)

J. Parasitol 62 : 215-222

Knook D.L. et De Leeuw M. 1952

Isolation and characterisation of fat storing cells from the rat liver. In "Sinusoidal liver cells"

Knook D.L. et Wisse E. eds. Elsevier Biomedical Press. pp. 45-52

Lieber C.S. 1983

Precursors of alcoholic cirrhosis.

Hepatology 13 : 11-12

Luft J.H. 1961

Improvements in epoxy resin embedding methods.

J. biophys. biochem. Cytol. 9 : 409

Maldonado J.F. et Acosta-Matienzo J. 1948

Biological studies on the miracidium of *S. mansoni*.

Am. J. trop. Med. 28 : 645

Melcher A.H. et Chan J. 1981

Phagocytosis and digestion of collagen by gingival fibroblasts in vivo : a study of serial sections

J. ultrastr. Res. 77 : 1-36

Mc Gee J.O.D. et Patrick R. 1972

The role of perisinusoidal cells in hepatic fibrogenesis

Lab. Invest. 26 : 429-440

Mc Laren D.J. et Hockley D.J. 1976

Schistosoma mansoni : the occurrence of microvilli on the surface of the tegument during transformation from cercaria to schistosomulum.

Parasitology. 73 : 169-187

Miegeville M. ; Marjolet M. et Vermeil C. 1978

Observations de *Schistosoma mansoni* en microscopie électronique à balayage.

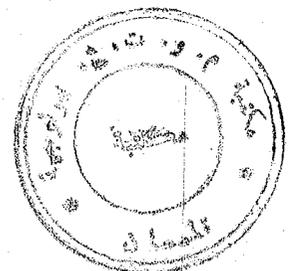
C.R. Acad. Sc. Paris, 286D : 901-903

Miegeville M. ; Marjolet M. et Vermeil C. 1979

Observations en microscopie électronique à balayage (MEB) des micracidium et des cercaires de *Schistosoma mansoni*.

Bull. Soc. Path. exot. 72 : 51-55

- Moore D.V. ; Yolles T.K. et Meleney H.E. 1949
A comparison of common laboratoy animals as experimental hosts for
Schistosoma mansoni.
J. Parasitol. 35 : 156-170
- Morcos S.H. ; Khayyal M.T. ; Mansour M.M. ; Saleh S. ; Ishak E.A. ;
Girgis N.I. et Dunn M.A. 1985
Reversal of hepatic fibrosis after Praziquantel therapy of murine schistoso-
miasis.
Am. J. trop. Med. Hyg. 34 : 314-321
- Morris G.P. et Threadgold L.T. 1968
Ultrastructure of the tegument of adult *Schistosoma mansoni*
J. Parasitol 54 : 15-27
- Nakano M. ; Worner T.M. et Lieber C.S. 1982
Periovular fibrosis in alcoholic liver injury : Ulstrastructure and histologic
progression.
Gastroenterol 83 : 777-785
- Nash T.E. ; Lunde M.N. et Cheever A.W. 1981
Analysis and antigenic activity of a carbohydrate fraction derived from adult
Schistosoma mansoni
J. Immunol. 126 : 805-810
- Newton W.L. 1952
The comparative tissue reaction of two strains of *Australobis glabratus* to
infection with *S. mansoni*
J. Parasitol. 38 : 362
- Nishimura M. ; Asahi M. ; Hayashi M. ; Takazono I. ; Tanaka Y. ; Kohda H.
et Urabe H. 1985
Extracellular matrix in hepatic granulomas of mice infected with
Schistosoma mansoni.
Arch. Pathol. Lab. Med. 109 : 813-818



Ogawa K. ; Suzuki I.J. ; Mukai H. et Mori M. 1986
Sequential changes of extracellular matrix and proliferation of Ito cells with enhanced expression of desmin and actin in focal hepatic injury.
Am. J. Pathol. **125** : 611-619

Okasaki I. ; Tsuchiya M. ; Kamegaya K. ; Oda M. ; Maruyama K. et Oshio C. 1973
Capillarization of hepatic sinusoids in carbon tetrachloride induced fibrosis.
Bibl. anat. **12** : 476-483

Peyrol S. et Grimaud J.A. 1988
Perisinusoidal connective matrix. Immunohistochemical mapping of the major matrix components. Dans "Sinusoids in human liver : health and disease". P. Bouliac-Sage et C. Balabaud, eds. pp. 323-340 Rijswijk. The Kupfer cell foundation

Pierce R.J. ; Werwaerde C. ; Damonville M. ; Le Presle T. et Capron A. 1983
Allergens of *Schistosoma mansoni*. 1. Comparison of the IgE response in human and experimental infections toward characterized allergens from adult worm products.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. **72** : 219-226

Purnell R.E. 1966
The effect of temperature on the survival of *S. mansoni* miracidia and on survival and infectivity of *S. mansoni* cercariae.
Ann. trop. Med. paras. **60** : 182

Race G.J. ; Martin J.H. ; Moore D.V. et Larsh J.E. 1971
Scanning and transmission electron microscopy of *Schistosoma mansoni* eggs, cercariae and adults.
Am. J. trop. Med. Hyg. **20** : 914-924

Reynolds E.S. 1963
The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy.
J. Biophys-Biochem. Cytol. **17** : 208

Rojkind M. et Dunn M.A. 1979
Hepatic fibrosis
Gastroenterol 76 : 849-863

Rojkind M. et Kershenobich D. 1983
Liver fibrosis : a dynamic process ?
Dans "Clinical hepatothology". G.C. Cosmos et H. Thaler, eds. pp. 126-142.
New York. Springer Verlag.

Ross R. et Glomset J.A. 1973
Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell.
Science 180 : 229-237

Rowntree S. et James C. 1977
Single-sex cercariae of *Schistosoma mansoni*, a comparison of male and female infectivity.
J. Helminthol. 51 : 69-70

Rudolph R. ; Mc Clure J.W. et Woodward M. 1979
Contractile fibroblasts in chronic alcoholic cirrhosis
Gastroenterol 76 : 704-709

Sakakibara K. ; Saito M. ; Umeda M. ; Enaka K. et Tsukada Y. 1976
Native collagen formation by liver parenchymal cells in culture.
Nature, 262 : 316-318

Sakamoto K. et Ishii Y. 1978
Scanning electron microscope observation on miracidium, cercaria and cercarial papillar patterns of *Schistosoma japonicum*.
J. Parasitol. 64 : 59-68

Samuelson J.C. et Caulfield J.P. 1985
The cercarial glycoalyx of *Schistosoma mansoni*.
J. Cell. Biol. 100 : 1423-1434

Santoro F. ; Vandemeulebrouke B. et Capron A. 1979
Schistosoma mansoni : circulating antigens and immune complexes in infected mice.
Exp. Paras. 47 : 392

Santoro F. ; Fruit J. ; Afchain D. ; Desjeux P. et Capron A. 1981
Complexes immuns en parasitologie.
Med. Prat. 3-4 : 51-58

Scherft J.P. et Heersche J.N.M. 1975
Accumulation of collagen-containing vacuoles in osteoblasts after administration of colchicine.
Cell. Tiss. Res. 157 : 353-365

Shannon W.A. et Bogitsh B.J. 1969
Cytochemical and biochemical observations on the digestive tracts of digenetic trematodes. 5. Ultrastructure of *Schistosoma douthitti*.
Exp. paras 26 : 344-353

Short R.B. et Cartrett M.L. 1973
Argentophilic "papillae" of *Schistosoma mansoni* cercariae.
J. Parasitol. 59 : 1041-1059

Silk M.H. et Spence I.M. 1969
Ultrastructural studies of the blood fluke *Schistosoma mansoni*.
2. The Musculature
S. Afr. J. med. Sci. 34 : 11-20

Silk M.H. et Spence IM. 1969b
Ultrastructural studies of the blood fluke *Schistosoma mansoni*
3. The nerve tissue and sensory structures.
S. Afr. J. med. Sci. 34 : 93-104

Silk M.H. ; Spence I.M. et Buch B. 1970
Observations of *Schistosoma mansoni* blood flukes in the scanning electron microscope.
S. Afr. J. med. Sci. 35 : 23-29

Silva L.C. ; Hoshino-Shimizu S. ; Kanamura H. ; Strassman P.C. ;
Camargo M.E. ; Sette H.Jr ; Lopes D. ; Chamone D.A.F. ; Raia S. et Silva G.R.
1976
Serum antibodies changes after repeated chemotherapeutic series in
"parasitologically cured" patients with *Schistosoma mansoni*.
Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo 18 : 28-49

Smithers S.R. et Terry R.J. 1965
Naturally acquired resistance to experimental infections of *Schistosoma mansoni* in the albino rat.
Parasitology 55 : 711-717

Stenger R.J. 1966
Hepatic sinusoids in carbon tetrachloride induced fibrosis.
Arch. Path. 81 : 439-447

Stirewalt M.A. ; Kuntz R.E. et Evans A.S. 1951
The relative susceptibilities of the commonly used laboratory animals to infection by *Schistosoma mansoni*.
Am. J. trop. Med. Hyg. 31 : 57-82

Spence I.M. et Silk M.H. 1970
Ultrastructural studies of the blood fluke *Schistosoma mansoni*.
4. The digestive system.
S. Afr. J. med. Sci. 35 : 93-112

Spence I.M. et Silk M.H. 1971
Ultrastructural studies of the blood fluke *Schistosoma mansoni*.
5. The female reproductive system, a preliminary report.
S. Afr. J. med. Sci. 36 : 41-50

Svoboda E.L.A. ; Shiga A. et Deporter D.A. 1981
A sterologic analysis of collagen phagocytosis by fibroblasts in three soft connective tissues with differing rates of collagen turn-over.
Anat. Rec. 199 : 473-480

Tanaka M. ; Fukunaga M. ; Watanabe K. ; Kaneko Y. ; Takahashi T. et Ishikawa E. 1981
Fat-storing cells (Ito's cells) of human liver. Biological characteristics and changes occurring in circulatory disturbance.
Acta. Pathol. Jpn. 31 : 55-63

Threadgold L.T. 1963
The tegument and associated structures of *Fasciola hepatica*.
Q.J. microsc. Sci. 104 : 505-512

Threadgold L.T. 1967

Electron microscopic studies of *Fasciola hepatica*.

3. Further observations on the tegument and associated structures.

Parasitology 57 : 633-637

Threadgold L.T. 1968

The tegument and associated structures of *Haplometra cylindracea*.

Parasitology 58 : 1-7

Torpier G. ; Capron M. et Capron A. 1977

Structural changes of the tegumental membrane complex in relation to developmental stages of *Schistosoma mansoni* (Platyhelminths : Trematoda).

J. ultrastruc. Res. 61 : 309-324

Trelstad R.L. 1971

Vacuoles in the embryonic chick corneal epithelium, an epithelium which produces collagen.

J. cell. Biol. 48 : 689-694

Trelstad R.L. ; Hayashi K. et Gross J. 1976

Collagen fibrillogenesis : intermediate aggregates and suprafibrillar order.

Proc. nat. Acad. Sci. USA 73 : 4027-4031

Tribouley J. 1969

Contribution à l'étude des relations hôte-parasite au cours du parasitisme par *Schistosoma mansoni*.

Thèse Doctorat d'Etat es-Sciences. Bordeaux.

Tsutsumi M. ; Takada A. et Takase S. 1987

Characterization of desmin-positive rat liver sinusoidal cells.

Hepatology 7 : 277-284

Van Marck E.A.E. ; Deelder A.M. et Gigase P.L.J. 1981

Schistosoma mansoni : Anodic polysaccharide antigen in glomerular immune deposits of mice with unisexual infections.

Exp. Parac. 52 : 62-68

Voge M. ; Price Z. et Bruckner D.A. 1978

Changes in tegumental surface during development of *Schistosoma mansoni*.

J. Parasitol. 64 : 585-592

Von Lichtenberg F. 1955

Lesions of the intrahepatic portal radicles in Manson's schistosomiasis.

Am. J. Pathol. 31 : 757-771

Von Lichtenberg F. 1962

Host-response to eggs of *Schistosoma mansoni*.

1. Granuloma formation in the insensitized laboratory mouse.

Am. J. Pathol. 41 : 711-731

Voss B. ; Rauterberg J. ; Pott G. ; Bredmer V. ; Allam S. ; Tedmann R. et Bassewitz D.B.V. 1982

Non parenchymal cells cultivated from explants of fibrotic liver resemble endothelial and smooth muscle cells from blood vessel walls.

Hepathology 2 : 19-28

Wahl S.M. ; Wahl L.M. et Mc Carthy J.B. 1978

Lymphocyte-mediated activation of fibroblast proliferation and collagen production.

J. Immunol. 121 : 942-946

Warren R.S. 1966

The pathogenesis of "Clay - pipe stem cirrhosis" in mice with chronic schistosomiasis mansoni, with a note on the longevity of the schistosomes.

Am. J. Pathol. 49 : 477-489

Warren K.S. 1972

The immunopathogenesis of schistosomiasis : a multidisciplinary approach.

Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 66 : 417

Warren K.S. 1973

The pathology of schistosome infections.

Helminthol. Abstr. 42 : 592-633

Warren K.S. 1978

The pathology, pathobiology and pathogenesis of schistosomiasis.
Nature 273 : 609-612

Warren K.S. 1980

The relevance of schistosomiasis.
N. Engl. J. Med. 303 : 203-206

Warren K.S. 1984

Water-poison disease.
World Health. Dec. 184. pp. 5-6

Warren K.S. et Peters P.A. 1967

Comparison of penetration and maturation of *Schistosoma mansoni* in the hamster, mouse, guinea-pig, rabbit and rat.
Am. J. trop. Med. Hyg. 16 : 718-722

Wilson R.A. et Barnes P.E. 1974

An in vitro investigation of dynamic process occurring in the schistosome tegument using compounds known to disrupt secretory processes.
Parasitology 68 : 259-270

Wilson R.A. et Barnes P.E. 1977

The formation and turn-over of the membranocalyx on the tegument of *Schistosoma mansoni*.
Parasitology 74 : 61-71

Wyler D.J. ; Wahl S. et Wahl L. 1978

Hepatic fibrosis in schistosomiasis : egg granulomas secrete fibroblast stimulating factor in vitro.
Science 202 : 438-440

Wyler D.J. et Rosenwasser L.J. 1982

Fibroblast stimulation in schistosomiasis. 2. Functionnal and biochemical characteristics of egg granuloma-derived fibroblast-stimulating factor.
J. Immuno. 129 : 1706-1710

Wyler D.J. 1983

Regulation of fibroblast functions by products of schistosomal egg granulomas : potential role in the pathogenesis of hepatic fibrosis. *Cytopathology of Parasitic disease.*

CIBA found. Symp. 99 : 190-206

Wyler D.J. ; Ehrlich H.P. ; Postlethwaite A.E. ; Raghov R. et Murphy M. 1987
Fibroblast stimulation in schistosomiasis. 7. Egg granulomas secrete factors that stimulate collagen and fibronectin synthesis.

J. Immunol. 138 : 1381-1585

Yokoi Y. ; Namihisa T. ; Kuroda H. ; Komatsu I. ; Miyazaki A. ; Watanabe S. et Ushi I. 1984

Immunocytochemical detection of desmin in fat-storing cell (Ito cell).

Hepathology 4 : 709-714

