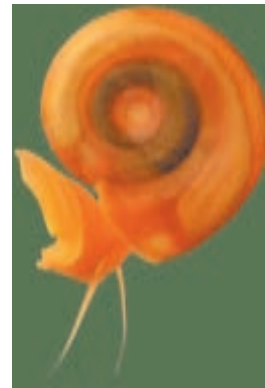


Arche de Noé immunologique

Immunité des mollusques vecteurs de parasites humains

Christine Coustau

► La bilharziose ou schistosomiase, seconde endémie parasitaire mondiale après le paludisme, n'existerait pas sans l'intervention cruciale de mollusques aquatiques. Les schistosomes débute en effet leur développement chez un mollusque où ils effectuent une extraordinaire multiplication clonale au terme de laquelle émergent des milliers de larves nageuses, infestantes pour l'homme et d'autres animaux. La compréhension des interactions moléculaires entre mollusques et trématodes pourrait suggérer de nouveaux moyens de lutte contre ces parasitoses, mais les particularités de ces modèles biologiques ont longtemps freiné la recherche dans ce domaine. Les avancées technologiques récentes permettent d'explorer l'immunité innée de ces invertébrés, de tracer les premières ébauches fonctionnelles de ces systèmes immunitaires et de révéler une complexité inattendue. ◀



U547 Inserm Schistosomiase, paludisme et inflammation, Institut Pasteur de Lille, 1, rue du Professeur Calmette, 59019 Lille Cedex, France.
Adresse actuelle : UMR 6243 INRA-CNRS-UNSA, Centre INRA Sophia Antipolis, 400 Route des Chappes, 06903 Sophia Antipolis, France.
christine.coustau@sophia.inra.fr

la libération quelques semaines plus tard de centaines voire de milliers de cercaires, larves nageuses capables de perforer la peau humaine et de rejoindre le système circulatoire. Elucider les interactions moléculaires sous-jacentes à la réponse ou à la non-réponse immunitaire des mollusques, connaître le système immunitaire de ces hôtes de parasites humains constituent donc des enjeux importants pour de futures stratégies de lutte intégrée.

Perception historique d'une réponse immunitaire simple, non spécifique et immédiate

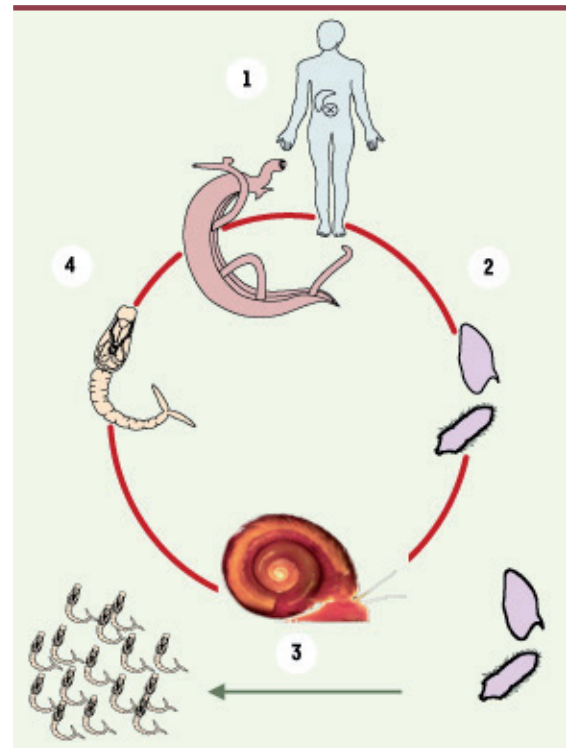
Les mollusques, comme tout autre invertébré, ne présentent pas de réponse immunitaire acquise faisant intervenir sélection et multiplication clonale de cellules spécialisées et production d'anticorps, mais ils sont néanmoins capables de reconnaître et d'éliminer efficacement et rapidement tout type de corps étranger faisant intrusion dans leur milieu interne.

L'immunobiologie des mollusques vecteurs de trématodes est principalement étudiée sur le gastéropode *Biomphalaria glabrata*, hôte de *Schistosoma mansoni*, agent de la bilharziose intestinale. Les travaux réalisés bien avant « l'ère moléculaire » ont montré que la réponse immunitaire repose sur une coopération entre des facteurs humoraux et cellulaires. Les hémocytes circulants (cellules

Les nombreuses campagnes de lutte contre la bilharziose menées depuis les années 1980 et fondées principalement sur la chimiothérapie n'ont pas permis d'éradiquer cette parasitose qui touche encore plus de 200 millions d'individus [1]. Les traitements de masse des populations dans les foyers de forte endémie s'avèrent efficaces à court terme, mais ils affectent peu le taux de réinfection récurrent de l'ensemble des populations exposées. Les schistosomes sont maintenus dans l'environnement naturel grâce aux mollusques aquatiques (premiers hôtes intermédiaires) et aux animaux d'élevage (hôtes définitifs) qui leur permettent d'accomplir leur cycle de vie malgré le traitement des populations humaines. L'une des voies de contrôle intégré envisagée actuellement a donc pour objectif de réduire la transmission et ainsi de prévenir l'infection [1].

L'interaction des schistosomes avec leurs premiers hôtes intermédiaires mollusques est cruciale pour la distribution et la transmission de ces parasitoses puisque c'est chez cet hôte que les schistosomes se multiplient de façon asexuée (Figure 1). L'infection d'un mollusque susceptible par une seule larve infestante (le miracidium) conduit à

Figure 1. Cycle de développement de *Schistosoma mansoni*. 1. Les femelles adultes accouplées émettent des œufs éperonnés qui traversent les tissus et rejoignent le milieu extérieur avec les selles. 2. Au contact de l'eau, les œufs éclosent et libèrent des larves nageuses ciliées, les miracidium. 3. Les miracidium infectent activement un mollusque, premier hôte intermédiaire, chez lequel ils se transforment en sporocystes et effectuent une multiplication asexuée au terme de laquelle émergent des centaines voire des milliers de cercaires. 4. Les cercaires infectent l'hôte définitif. Elles se transforment en schistosomules qui effectuent une migration complexe en empruntant le système circulatoire puis s'établissent dans les veines mésentériques où elles atteignent la maturité sexuelle (mâles ou femelles) (avec l'aimable autorisation de André



sanguines chez les invertébrés) sont les principaux effecteurs cellulaires responsables de l'encapsulation et de l'élimination des parasites comme *S. mansoni*. Ces cellules sont capables d'émettre des pseudopodes (Figure 2), d'adhérer à un corps étranger, de phagocyter ou, lorsqu'il s'agit d'un organisme multicellulaire comme un trématode, de l'encapsuler en formant des couches concentriques autour du pathogène. L'activation cytotoxique des hémocytes conduit à la libération d'oxyde nitrique et de dérivés réactifs de l'oxygène, particulièrement toxiques pour le parasite [2, 3]. De nombreuses études ont également montré que des facteurs solubles de l'hémolymphe contribuent à l'initiation ou à la modulation de la réponse cellulaire, ainsi qu'à l'induction de la dégénérescence et à la mort du parasite [4]. La présence d'une multitude d'opsonines, d'agglutinines et de lectines solubles avait été détectée, dès les années 1980, dans l'hémolymphe de *B. glabrata*, mais leur caractérisation avait rarement dépassé le stade de la fraction protéique ou du poids moléculaire [5]. Jusqu'au début des années 2000, la perception du fonctionnement de la réponse à une infection parasitaire chez un mollusque restait donc simple : un système inné basé sur (1) une reconnaissance non spécifique et rapide de molécules étrangères par le biais de récepteurs de reconnaissance de motifs [6] tels des lectines, (2) l'activation de la réponse cellulaire menant à une encapsulation du parasite, puis (3) une activation cytotoxique entraînant la mort du parasite.

Mise en évidence d'une réponse complexe et dynamique

Découverte des FREP (*fibrinogen-related proteins*) : des protéines hyperdiversifiées

Différents laboratoires intéressés par l'immunité innée et en particulier par la réponse anti-parasitaire de *B. glabrata* ont utilisé, en plus de *S. mansoni*, deux autres trématodes parasites naturels de *B. glabrata* : *Echinostoma paraensei* et *E. caproni*. L'un des atouts de ces parasites est qu'ils provoquent chez les mollusques résistants une réponse beaucoup plus forte que ne le fait *S. mansoni* et qu'ils exercent, chez les individus sensibles, une immunosuppression ou une immunomodulation propice à l'étude des cibles immunitaires du mollusque [7, 8].

Des travaux initiés dans les années 1990 par l'équipe de E.S. Loker (*University of New Mexico*, Albuquerque, États-Unis) ont montré que des complexes protéiques de l'hémolymphe de *B. glabrata*, présentant des activités de type lectine, formaient un précipité une fois au

contact des produits d'excrétion-sécrétion (ES) de *E. paraensei* [5]. La formation de ce précipité a permis d'isoler, de purifier et séquencer ces protéines, puis de révéler qu'il s'agissait de protéines liées au fibrinogène ou FREP (*fibrinogen-related proteins*) constituées d'un domaine de la superfamille des immunoglobulines (IgSF) en position amino-terminale, et d'un domaine de type fibrinogène (FBG) en position carboxy-terminale [9]. Ce résultat était particulièrement original puisque cette association de domaines IgSF et FBG était unique au moment de la découverte des FREP.

L'obtention de différentes séquences de FREP et l'observation de gros complexes peu résolus en électrophorèse suggéraient l'existence de multiples FREP chez *B. glabrata*. Les travaux qui ont suivi, focalisés sur la caractérisation de l'ensemble des FREP, ont révélé une impressionnante diversité de ces protéines, faisant intervenir des processus de diversification moléculaire alors insoupçonnés chez les invertébrés en général.

À l'heure actuelle, 14 sous-familles de gènes codant des FREP fortement similaires ont été identifiées et nommées FREP1 à FREP14. Elles diffèrent entre elles par leur structure introns-exons et la présence d'un ou deux domaines IgSF arrangés en tandem en amont du domaine FBG [10]. L'analyse de séquences génomiques complètes ainsi que de transcrits a montré deux niveaux de diversité supplémentaires : un polymorphisme mono-nucléotidique (SNP, *single nucleotide polymorphism*), et des phénomènes d'épissage alternatif [10, 11].

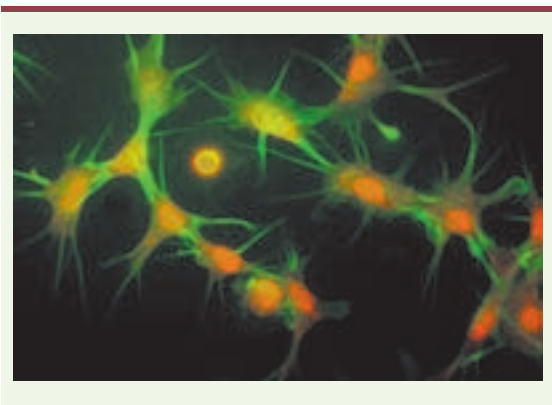


Figure 2. Morphologie des hémocytes de *B. glabrata*.

Ce niveau de diversité apparemment élevé étant peu compatible avec la notion d'une détection de motifs conservés par un groupe limité de lectines à large spectre de reconnaissance [6], les auteurs ont davantage exploré la diversité des FREP. L'ADN génomique de deux individus fut utilisé pour amplifier une région de 330 nucléotides dans l'exon 2 de FREP3. Après clonage et séquençage des amplicons, il est apparu que toutes les séquences étaient clairement dérivées de FREP3, mais que les 2 individus présentaient respectivement 45 et 37 séquences nucléotidiques différentes correspondant à 36 et 31 séquences protéiques avec seulement une séquence commune [12]. L'analyse fut répétée à partir de l'ARN extrait de 22 individus, et cette fois, 314 séquences nucléotidiques furent obtenues. Cette diversité inter et intra-individus était d'autant plus surprenante que des analyses par *Southern blot* conduisaient à une estimation d'un nombre de locus compris entre 3 et 5 pour FREP3. Une analyse biomathématique poussée a alors montré que la totalité de ces séquences pouvait être expliquée par un processus de mutations somatiques (impliquant conversion génique et/ou mutations ponctuelles) de séquences dites « séquences sources » dont le nombre limité correspondait aux estimations du nombre de locus de FREP3 [12].

Il n'existe pas à ce jour d'explication à ce phénomène de diversification somatique des FREP chez *B. glabrata*, et l'élucidation de ce processus reste un défi majeur. De même, le rôle exact de ces molécules lors d'une infection n'est pas élucidé. Il semble que les FREP soient capables de reconnaître une large gamme de molécules provenant de divers pathogènes aussi bien procaryotes que eucaryotes [13]. Elles montrent également une spécialisation fonctionnelle puisque ce sont différentes gammes de FREP qui se lient à des trématodes ou à des microorganismes [13]. Par ailleurs, de nombreuses autres FREP ont depuis été identifiées chez d'autres

invertébrés et vertébrés chez qui elles semblent également jouer le rôle de molécules de reconnaissance.

Même si les FREP n'ont pas encore révélé tous leurs secrets, elles représentent une famille de protéines hyper-diversifiées capables de lier des antigènes de pathogènes variés et dont le répertoire est potentiellement illimité. En effet, si l'on considère (1) le nombre de sous-familles de FREP, (2) le nombre de locus par FREP, (3) les événements d'épissage alternatif, de mutations mononucléotidiques et de concaténation de segments, ainsi que (4) la configuration des protéines natives sous forme de multimères complexes, on réalise que l'ampleur du répertoire des FREP n'a rien à envier à celui des immunoglobulines de mammifères !

Premières analyses de transcriptomes et protéomes

Un effort particulier a été fourni au cours de la dernière décennie pour identifier les gènes et/ou protéines impliqués dans la réponse immunitaire de *B. glabrata*. Différents laboratoires ont développé des stratégies complémentaires telles que le séquençage aléatoire de transcrits d'hémocytes [14], l'analyse comparative d'EST (*expressed sequence tags*) de mollusques avant et après induction d'une réponse immunitaire [15-19] ou l'analyse comparée d'EST chez des individus susceptibles et résistants [20, 21]. Des analyses protéomiques ont également été menées pour identifier les différences d'expression de protéines hémocytaires ou plasmatiques selon que les individus sont susceptibles ou résistants [22, 23].

L'ensemble de ces travaux a permis d'identifier une multitude de gènes, potentiellement importants pour la réponse immunitaire, et appartenant à différentes catégories fonctionnelles telles que des gènes codant des protéines de reconnaissance, d'adhérence entre cellules, ou entre les cellules et la matrice, des protéines antimicrobiennes, des protéines impliquées dans le stress oxydant ou la détoxification du stress oxydant (Figure 3) (voir [8]). Parmi les candidats les plus inattendus figurent deux potentiels régulateurs de l'immunité similaires à des cytokines de vertébrés, le MIF, *macrophage migration inhibitory factor*, et AIF, ou *allograft inflammatory factor* [14], dont l'analyse fonctionnelle est actuellement en cours.

Parallèlement à ces potentiels effecteurs ou régulateurs de l'immunité, différents éléments impliqués dans les voies de signalisation classiquement associées à la réponse immunitaire ont été identifiés, par exemple des éléments de la voie Toll et des voies MAPK, et l'implication des voies MAPK (p38/ERK) est confortée par les premières études fonctionnelles [21, 24]. Il est donc maintenant envisageable d'explorer l'activation et la régulation des réponses immunitaires sur ces modèles mollusques-pathogènes.

« Mémoire » et spécificité ?

Priming et réponse secondaire

Le dogme de l'absence de mémoire et de spécificité de l'immunité innée chez les invertébrés, récemment remis en question par une série de résultats originaux [25], mérite d'être également revisité chez ces mollusques. Plusieurs études réalisées par le passé chez *B. glabrata* indiquent qu'un phénomène de « *priming* » (sensibilisation) immunitaire pourrait exister.

Ainsi, dans les années 1970, une série d'expériences a montré que des individus *B. glabrata* exposés à des larves d'échinostomes irradiés (non viables mais capables de pénétrer chez les hôtes mollusques) devenaient réfractaires à une infection ultérieure par le même parasite cette fois non irradié (auquel ces hôtes sont normalement sensibles) [26, 27]. De même, Sire *et al.*, [28] ont montré que des individus susceptibles, infectés par *S. mansoni*, ne pouvaient pas être réinfectés une seconde fois. Lors de la seconde infection expérimentale, les parasites ne sont pas encapsulés par les hémocytes (comme ils le sont lorsque l'on infecte des mollusques résistants), mais dégèrent rapidement sans être encapsulés, ce qui soulève la question de l'existence de plusieurs types de réponse anti-parasitaire. Cet échec de l'infection secondaire alors appelé « résistance acquise » [28] prend effet à partir de 2 semaines après la première infection, et perdure durant au moins 6 semaines. Ces résultats montrent qu'il existe chez ce mollusque une protection durable contre la réinfection, comparable aux phénomènes de « priming » immunitaire récemment documentés chez d'autres invertébrés. Les questions majeures, actuellement en cours d'étude, sont celles de la durabilité de cette protection, de sa spécificité, et bien entendu, des processus cellulaires et moléculaires sous-jacents.

Spécificité de la réponse anti-parasitaire

Le rôle majeur de ces mollusques dans la transmission d'importantes parasitoses humaines a naturellement orienté les recherches vers leur réponse antiparasitaire au détriment d'une approche plus globale, et la question

d'une relative spécificité de la réponse de *B. glabrata* commence seulement à être explorée.

Les réponses d'encapsulation de *B. glabrata* vis-à-vis de *S. mansoni* ou de *E. caproni* ne semblent pas associées aux mêmes modifications d'expression génique. Le suivi de l'expression de plusieurs gènes d'intérêt immunitaire chez des individus sensibles et résistants, après infection par ces deux parasites, a en effet montré des différences significatives : on observe globalement une stabilité du taux de transcrits chez les individus exposés à *S. mansoni*, qu'ils soient sensibles ou résistants, alors que chez les individus exposés à *E. caproni*, seuls les résistants présentent une forte augmentation de l'expression de ces gènes candidats [8]. De même, l'échantillonnage des transcriptomes de *B. glabrata* après stimulations (*challenge*) immunitaires suggère que les réponses dirigées contre les bactéries Gram positif et Gram négatif sont identiques entre elles, mais diffèrent d'une réponse à l'infection par *S. mansoni* [29]. La question du niveau de spécificité de la réponse immunitaire de *B. glabrata* est actuellement en cours d'investigation, notamment par l'étude comparée des transcriptomes lors de réponses antiparasitaires, antimicrobiennes et antifongiques. Ces travaux, ainsi que ceux qui ciblent une éventuelle protection lors de la ré-infection, devraient fournir des informations essentielles pour

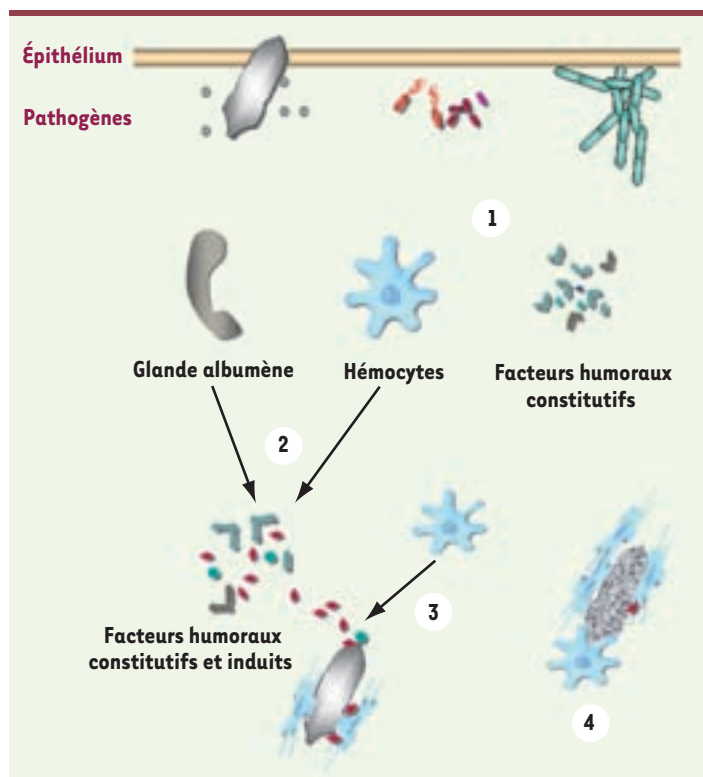


Figure 3. Principales étapes de la réponse immunitaire de *B. glabrata*.

Certains candidats identifiés dans les approches de découverte de gènes ou de protéines (revues dans [8]) sont indiqués pour chaque étape. 1. Reconnaissance du non-soi: les hémocytes et les facteurs humoraux constitutifs assurent une détection rapide de tout pathogène dans le milieu intérieur - *Fibrinogen-related proteins*, *peptidoglycan recognition proteins*, *Gram-negative bacteria binding protein*, *LPS binding protein/bactericidal permeability increasing proteins*, *galectines*. 2. Activation et amplification de la réponse: Les hémocytes ainsi que la glande albumène produisent des facteurs humoraux induits (quantitativement et/ou qualitativement différents des facteurs constitutifs). Nombreuses lectines de type C, *Ca-binding proteins*, *mannanases*, régulateurs de type cytokines (*allograft inflammatory factor*, *macrophage migration inhibitory factor*). Une forte hématopoïèse se met également en place et le nombre d'hémocytes circulants peut être multiplié par 10. 3. Chimiotactisme - adhérence: les hémocytes migrent vers le corps étranger et y adhèrent puis ils le phagocytent ou l'encapsulent. *Macrophage migration inhibitory factor*, *dermatopontines*, *galectines*, *intégrines*, *sélectine*, *von Willebrand domain-containing proteins*. 4. Stress oxydant et détoxification du stress oxydant: Production d'oxyde nitrique et de dérivés réactifs de l'oxygène particulièrement toxiques

pour les larves de trématodes, puis détoxification. *Dual oxidases*, *Glutathion S transférase*, *Peroxydase*, *Peroxydase*, *Peroxydase*, *Cu/Zn superoxyde dismutases*, *Mn superoxyde dismutases*, *Thiorédoxine*, *Thiorédoxine peroxydase*.

une future compréhension de l'immunité de ces mollusques et de l'épidémiologie de la transmission de certains parasites.

Perspectives

Depuis quelques années, un effort collaboratif s'est organisé à travers un consortium international (<http://biology.unm.edu/biomphalaria-genome/index.html>) pour séquencer le génome de *B. glabrata* (estimé à 930 Mbases). Les travaux de séquençage préparatoire ont été effectués par le *Washington University Genome Sequencing Center* et le séquençage global et sa première mise en ligne sur banques de données devraient être réalisés dans un futur proche [30].

Les technologies récentes telles que le séquençage parallèle massif permettent maintenant d'analyser les transcriptomes associés à des phénomènes complexes comme les réponses immunitaires ou les interactions hôte-parasite chez des organismes non modèles comme *B. glabrata*. Ces approches, actuellement en cours, complétées par les futures données génomiques, permettront des avancées majeures dans notre connaissance de l'immunité chez ce groupe d'invertébrés encore peu étudié, et, très certainement dans le développement de nouvelles stratégies de lutte contre les parasites qu'ils transmettent. ♦

SUMMARY

Immunity in parasite-vector snails

Aquatic snails play a key role in the transmission of parasites such as the human blood or liver flukes (*Schistosomes* and *Fasciola* sp.). During the last decade, particular efforts have been made by a small number of scientists to progress in our understanding of the molecular mechanisms underlying snail immune responses and/or host parasite interactions. Complementary approaches using the gastropod snail *Biomphalaria glabrata*, an intermediate host of *Schistosoma mansoni*, have yielded a number of unexpected results such as the existence of highly diversified pathogen-binding proteins (FREPs), or potential immune regulators similar to mammalian cytokines. Although molecular immune processes largely remain to be elucidated, accumulating data support the idea that snail innate immunity is much more complex than originally thought. ♦

REMERCIEMENTS

L'auteure remercie Mme Buzoni-Gatel et Mr Kourilsky pour leur invitation à la journée « Arche de Noé immunologique » (Collège de France, 8 Avril 2008) à l'origine de cette synthèse, ainsi que le CNRS et l'ANR pour leur soutien financier.

RÉFÉRENCES

1. Fenwick A, Rollinson D, Southgate V. Implementation of human schistosomiasis control: challenges and prospects. *Adv Parasitol* 2006 ; 61 : 567-622.
2. Van der Knaap WP, Loker ES. Immune mechanisms in trematode-snail interactions. *Parasitol Today* 1990 ; 6 : 175-82.
3. Hahn UK, Bender RC, Bayne CJ. Involvement of nitric oxide in killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts by hemocytes from resistant *Biomphalaria glabrata*. *J Parasitol* 2001 ; 87 : 778-85.
4. Granath WO, Yoshino TP. *Schistosoma mansoni*: passive transfer of resistance by serum in the vector snail, *Biomphalaria glabrata*. *Exp Parasitol* 1984 ; 58 : 188-93.
5. Hertel LA, Stricker SA, Monroy FP, et al. *Biomphalaria glabrata* hemolymph lectins: binding to bacteria, mammalian erythrocytes, and to sporocysts and rediae of *Echinostoma paraensei*. *J Invertebr Pathol* 1994 ; 64 : 52-61.
6. Medzhitov R, Janeway CJ. Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunol Rev* 2000 ; 173 : 89-97.
7. Loker ES, Adema CM. Schistosomes, echinostomes and snails: comparative immunobiology. *Parasitol Today* 1995 ; 11 : 120-4.
8. Coustau C, Gourbal B, Mitta G, Adema C. Echinostomes and snails : exploring complex interactions. In : Fried B, Toledo R, eds. *The biology of echinostomes*. New York : Springer, 2008 : 35-60.
9. Adema CM, Hertel LA, Miller RD, Loker ES. A family of fibrinogen-related proteins that precipitates parasite-derived molecules is produced by an invertebrate after infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 8691-6.
10. Zhang SM, Léonard PM, Adema CM, Loker ES. Parasite responsive IgSF members in the snail *Biomphalaria glabrata*: characterization of novel genes with tandemly arranged IgSF domains and a fibrinogen domain. *Immunogenetics* 2001 ; 53 : 684-94.
11. Zhang SM, Loker ES. The FREP gene family in the snail *Biomphalaria glabrata*: additional members, and evidence consistent with alternative splicing and FREP retrosequences. *Fibrinogen-related proteins*. *Dev Comp Immunol* 2003 ; 27 : 175-87.
12. Zhang SM, Adema CM, Kepler TB, Loker ES. Diversification of Ig superfamily genes in an invertebrate. *Science* 2004 ; 305 : 251-4.
13. Zhang SM, Zeng Y, Loker ES. Expression profiling and binding properties of fibrinogen-related proteins (FREPs), plasma proteins from the schistosome snail host *Biomphalaria glabrata*. *Innate Immunol* 2008 ; 14 : 175-89.
14. Mitta G, Galinier R, Tisseyre P, et al. Gene discovery and expression analysis of immune-relevant genes from *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Dev Comp Immunol* 2005 ; 29 : 393-407.
15. Raghavan N, Miller AN, Gardner, et al. Comparative gene analysis of *Biomphalaria glabrata* hemocytes pre- and post-exposure to miracidia of *Schistosoma mansoni*. *Mol Biochem Parasitol* 2003 ; 126 : 181-91.
16. Lockyer AE, Noble LR, Rollinson DS. *Schistosoma mansoni*: resistant specific infection-induced gene expression in *Biomphalaria glabrata* identified by fluorescent-based differential display. *Exp Parasitol* 2004 ; 107 : 97-104.
17. Nowak TS, Woodards AC, Jung Y, et al. Identification of transcripts generated during the response of resistant *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* infection using suppression subtractive hybridization. *J Parasitol* 2004 ; 90 : 1034-40.
18. Guillou F, Mitta G, Galinier R, Coustau C. Identification and expression of transcripts generated during an anti-parasitic response in *Biomphalaria glabrata*. *Dev Comp Immunol* 2007 ; 31 : 657-71.
19. Lockyer AE, Spinks J, Noble LR, et al. Identification of genes involved in interactions between *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* by suppression subtractive hybridization. *Mol Biochem Parasitol* 2007 ; 151 : 18-27.
20. Bouchut A, Roger E, Coustau C, et al. Compatibility in the *Biomphalaria glabrata*/*Echinostoma caproni* model : potential involvement of adhesion genes. *Int J Parasitol* 2006 ; 36 : 175-84.
21. Lockyer AE, Spinks JN, Walker AJ, et al. 2007. *Biomphalaria glabrata* transcriptome: identification of cell-signalling, transcriptional control and immune-related genes from open reading frame expressed sequence tags (ORESTES). *Dev Comp Immunol* 2007 ; 31 : 763-82.
22. Vergote D, Bouchut A, Sautière PE, et al. Characterisation of proteins differentially present in the plasma of *Biomphalaria glabrata* susceptible or resistant to *Echinostoma caproni*. *Int J Parasitol* 2005 ; 35 : 215-24.
23. Bouchut A, Sautière PE, Coustau C, Mitta G. Compatibility in the *Biomphalaria glabrata*/*Echinostoma caproni* model: Potential involvement of proteins from hemocytes revealed by a proteomic approach. *Acta Tropica* 2006 ; 98 : 234-46.
24. Humphries JE, Yoshino TP. Regulation of hydrogen peroxide release in circulating hemocytes of the planorbis snail *Biomphalaria glabrata*. *Dev Comp Immunol* 2008 ; 32 : 554-62.
25. Schulenburg H, Boehnisch C, Michiels NK. How do invertebrates generate a highly specific innate immune response ? *Mol Immunol* 2007 ; 44 : 3338-44.
26. Lie KJ, Heyneman D, Lim HK. Studies on resistance in snails: specific resistance induced by irradiated miracidia of *Echinostoma lindoense* in *Biomphalaria glabrata* snails. *Int J Parasitol* 1975 ; 5 : 627-31.
27. Lie KJ, Jeong KH, Heyneman D. Further characterization of acquired resistance in *Biomphalaria glabrata*. *J Parasitol* 1982 ; 68 : 529-31.
28. Sire C, Rognon A, Théron A. Failure of *Schistosoma mansoni* to reinfect *Biomphalaria glabrata* snails : acquired resistance or intra-specific larval antagonism ? *Parasitol* 1998 ; 117 : 117-22.
29. Hanelt B, Lun CM, Adema CM. Comparative ORESTES-sampling of transcriptomes of immune-challenged *Biomphalaria glabrata* snails. *J Invertebr Pathol* 2008 ; 99 : 192-203.
30. Raghavan N, Knight M. The snail (*Biomphalaria glabrata*) genome project. *Trends Parasitol* 2006 ; 22 : 148-51.

TIRÉS À PART

C. Coustau

