

Comportement de la muqueuse intestinale vis-à-vis d'entéro-bactéries marquées par ^{59}Fe . Etude autoradiographique chez le Lapin.

par M. PETITPREZ, R. MONCOULON, L. ALBERTINI, P. RAYNAUD

Laboratoire de Zootechnie, E.N.S.A.T.,
145, avenue de Muret, 31076 Toulouse.

Summary. *The fate of ^{59}Fe -labelled caecal microorganisms during intestinal mucosa absorption. Autoradiographic study in rabbit.*

^{59}Fe -labelled caecal microorganisms were put into contact with the mucosa of different intestinal loop segments of rabbit to determine the fate of bacterial iron in the different levels of the small intestine. Some organs were tested after 2-hr incubation and the ^{59}Fe located by autoradiography. The results showed that part of the iron recovered by the microflora seeped through the intestinal mucosa and that it passed more rapidly through the duodenal mucosa than through the jejuno-ileal mucosa. High amounts of absorbed ^{59}Fe were found in the liver and the lymphoid formations of the spleen and appendix. Significant activity was also observed in the intestinal tract wall, and especially at the level of the jejunum.

Introduction.

L'importance de la microflore digestive n'est plus à démontrer et les multiples études comparatives d'animaux axéniques et holoxéniques ont largement mis en évidence le rôle primordial des bactéries intestinales dans la fonction de digestion. Les micro-organismes sont en effet capables de synthèses protéiques, lipidiques, glucidiques, vitaminiques et interviennent aussi en captant divers éléments minéraux. A ce sujet, Peters et Warren (1968) ont mis en évidence la capture d'ions ferreux par *Bacillus subtilis* : le fer est d'abord complexé par un trimère de dihydroxybenzoyl-glycine puis incorporé dans le cytoplasme. Etudiant la teneur en fer du bol alimentaire tout au long du tractus intestinal du Lapin, Moncoulon *et al.* (1971) ont trouvé que la partie distale du tube digestif — iléon, cæcum et côlon — qui renferme la majeure part de la microflore, est aussi la plus riche en fer. D'autre part Reddy *et al.* (1965) ont montré que l'absence de microflore intestinale chez le Lapin s'accompagne d'une forte anémie avec hyposidérémie. On peut donc penser qu'en raison de l'importance de l'absorption du fer dans l'intestin grêle du Lapin, l'association de la microflore avec l'hôte se traduit par un passage de fer bactérien à travers la barrière intestinale, vers le milieu intérieur.

Nous avons essayé de savoir à quel niveau de l'intestin, sous quelle forme et par quelles voies peut s'effectuer le passage du fer bactérien à travers la muqueuse intestinale. Pour cela, nous avons suivi par autoradiographie le devenir de bactéries, marquées par du ^{59}Fe , mises pendant 2 h au contact de la muqueuse d'anses intestinales isolées.

Matériel et méthodes.

Pour étudier les réactions des différents segments de l'intestin grêle vis-à-vis de la microflore, nous avons réalisé des anses intestinales isolées sur le duodénum, le jéjunum, ou l'iléon de 12 Lapins. Ainsi, pendant l'expérimentation, les animaux n'ont pas à être placés sous anesthésie et présentent un transit digestif normal.

Le but essentiel de ce travail étant de voir comment le matériel bactérien, porteur de fer, peut franchir la barrière intestinale, nous avons eu recours à des méthodes histologiques. Ces techniques permettent une bonne observation des tissus et des micro-organismes non lésés mais n'autorisent pas un repérage sûr des micro-organismes en voie de lyse. Afin de suivre avec plus de sécurité le devenir du fer bactérien dans les processus d'absorption et de transfert, nous avons opté pour un marquage des bactéries par du ^{59}Fe dont la détection est assurée par histo-autoradiographie. Le ^{59}Fe émet, outre des particules β , des particules γ très pénétrantes qui ne sont enregistrées que par des émulsions hautement sensibles. Ces particules, source importante de voile de fond, limitent l'investigation à l'échelle tissulaire.

1. — *Réalisation d'anses isolées de Thiry-Vella.* — Sur des Lapins âgés de plus de 3 mois, pesant 2,5 kg en moyenne, nous avons réalisé au niveau du duodénum, du jéjunum ou de l'iléon, des anses isolées, de 15 cm environ, en utilisant la technique adoptée

Etude du passage transmuqueux du fer bactérien au moyen de bactéries cæcales marquées au ^{59}Fe (10 $\mu\text{Ci/ml}$) mises au contact d'anses isolées pendant 2 h.

Fixation : éthanol-acide acétique 3/1. Coloration : vert de méthyl-pyronine

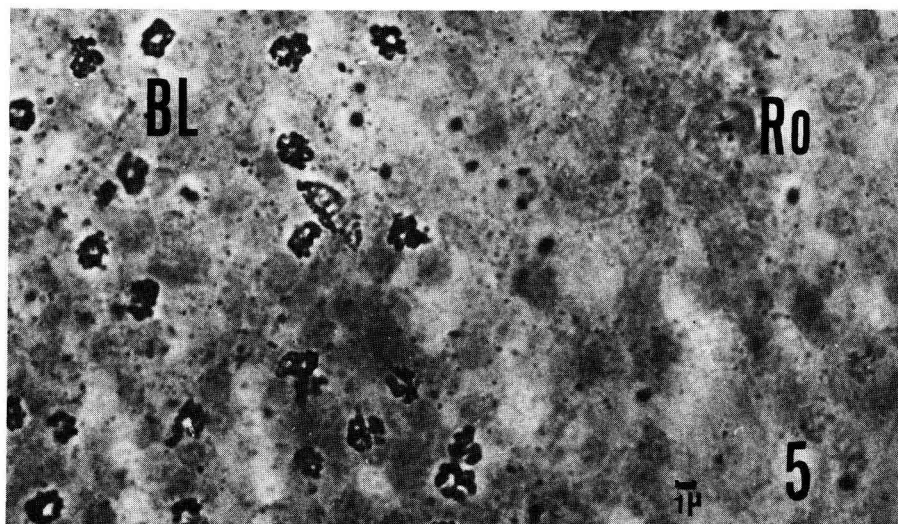
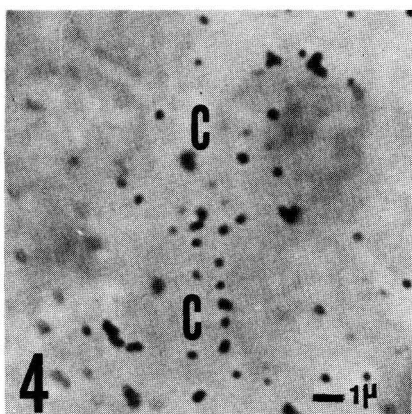
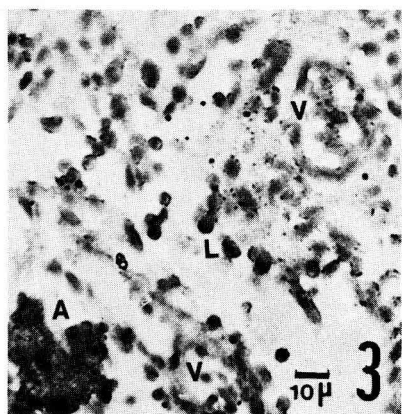
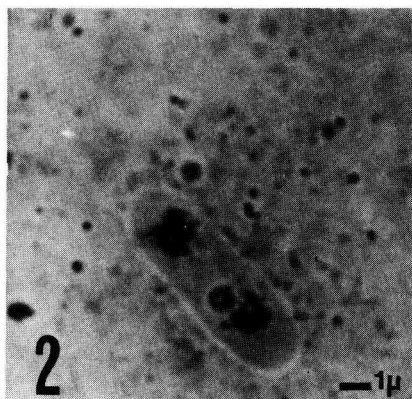
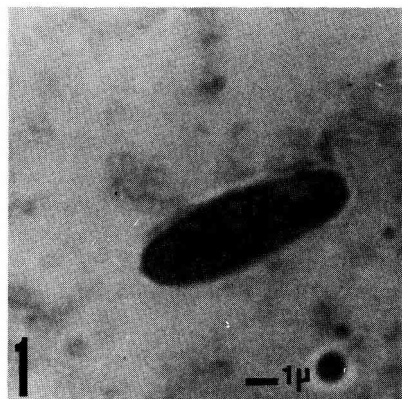
PHOTO 1. — *Bactéries cæcales incubées pendant 6 h sur citrate de ^{59}Fe (G \times 3 600).*

PHOTO 2. — *Bactéries cæcales incubées pendant 48 h sur citrate de ^{59}Fe . Le cytoplasme de bacilles observés est abondamment marqué. Le fer est concentré en deux masses situées au voisinage des pôles de la cellule. Le marquage, assez réduit après 6 h, est intense après 48 h de culture sur l'isotope radioactif (G \times 3 600).*

PHOTO 3. — *Mésentère (G \times 360). Le réseau épithélial est traversé par des vaisseaux (V) ; il contient aussi des lymphocytes soit libres (L) soit groupés en amas lymphoïdes (A).*

PHOTO 4. — *Amas de lymphocytes dans le mésentère. Le marquage est abondant et surtout localisé dans le cytoplasme (C) des lymphocytes (G \times 3 600).*

PHOTO 5. — *Rate d'animaux porteurs d'une anse iléale (G \times 1 800). Jonction entre la pulpe rouge (Ro), faiblement colorée en rose par la pyronine, et la pulpe blanche (BL) dont les noyaux sont intensément colorés par le vert de méthyle. Le fer bactérien est fortement incorporé dans les cellules lymphoïdes constituant la pulpe blanche.*



par Moncoulon *et al.* (1976). Huit jours après l'intervention, les animaux ont repris leur poids initial : l'ingestion de nourriture et l'excrétion fécale sont redevenues normales. De nombreux contrôles histologiques effectués sur des anses isolées depuis 8 jours ont montré qu'elles n'avaient pas subi de modification notable par rapport aux segments homologues en place (Petitprez, 1977).

2. — *Extraction et marquage des bactéries.* — Les micro-organismes que nous avons utilisés ont été obtenus à partir de matériel cæcal de Lapin. Après prélèvement de l'organe sur un animal qui vient d'être sacrifié, le contenu cæcal est délayé dans 300 ml de solution isotonique de NaCl à 9 p. 1 000. Après 2 filtrations sur coton et une centrifugation à 2 500 g pendant 5 mn le surnageant est débarrassé des particules végétales. Une centrifugation à 18 000 g pendant 20 mn conduit à l'obtention d'un culot bactérien. Un gramme de ce culot est remis en suspension dans 20 ml du surnageant additionné de 20 mg de peptone et de citrate de ^{59}Fe (CEA Saclay) à la concentration finale de $10 \mu\text{Ci/ml}$. L'incubation est réalisée à 38°C pendant 48 h. La suspension bactérienne subit alors 3 lavages successifs à l'aide de liquide physiologique éliminé par centrifugation ; cette opération vise à débarrasser la culture de toute trace de ^{59}Fe en solution. La suspension ainsi obtenue est introduite, par fractions de 2 ml, dans les diverses anses intestinales isolées, et laissée en contact pendant 2 h.

3. — *Techniques histologiques.* — Les Lapins sont sacrifiés par section d'une carotide. Les anses intestinales sont prélevées avec le mésentère, débarrassées de leur contenu et lavées au liquide physiologique à 5°C . Des segments de duodénum et de jéjunum, n'ayant pas été en contact avec les micro-organismes marqués, sont prélevés de la même façon en même temps que des fragments de foie, de rein et d'appendice cæcal. Ces échantillons sont fixés par un mélange éthanol-acide acétique 3/1, puis inclus à la paraffine. Ils sont débités en coupes de $6 \mu\text{m}$ que l'on soumet au procédé autoradiographique de Ficq (1961) : les coupes sont recouvertes d'émulsion liquide Ilford type K_2 , exposées en chambre noire pendant 20 jours et révélées au diaminophénol ; avant montage, elles sont colorées au vert de méthyl-pyronine (Brachet, 1940).

L'observation microscopique des préparations et le comptage des grains sont effectués au grossissement 1250 à l'aide d'un oculaire quadrillé en aires de $100 \mu\text{m}^2$. L'activité spécifique d'une structure est, dans le présent travail, le nombre de grains d'argent recouvrant $100 \mu\text{m}^2$ de la structure tissulaire considérée. Tous les résultats des figures 1, 2 et 3 sont les moyennes arithmétiques d'activités spécifiques (30 à 40 comptages), accompagnés de leur erreur type. La comparaison de ces moyennes a été effectuée par la méthode du « t » de Student.

Résultats.

Les frottis effectués à partir de la suspension bactérienne révèlent un marquage important des micro-organismes, essentiellement localisé dans le protoplasme (photos 1 et 2).

Tous les segments d'anses intestinales prélevés renferment du fer bactérien dans la paroi. La répartition du ^{59}Fe dans les tissus des anses duodénales est très différente de celle rencontrée dans les tissus des anses jéjunales ou iléales (fig. 1). Le maximum de radioactivité est situé plus profondément dans les premières que dans les dernières.

L'activité spécifique du mésentère des anses duodénales est toujours plus importante ($2,21 \pm 0,32$) que celle des anses jéjunales ($1,32 \pm 0,39$) ou iléales ($1,06 \pm 0,11$). Le ^{59}Fe est fréquemment retrouvé dans les lymphocytes (photos 3 et 4), cellules mobiles que l'on peut mettre en évidence dans la paroi intestinale, dans des vaisseaux lymphatiques et dans des ganglions mésentériques.

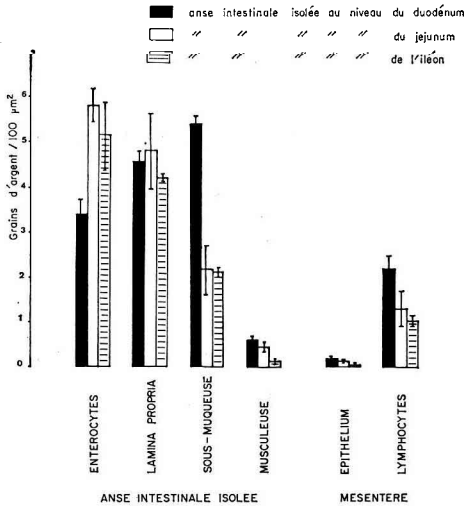


FIG. 1. — Activités tissulaires d'anses intestinales mises en contact pendant 2 h avec 2 ml de suspension bactérienne marquée au ^{59}Fe ($10 \mu\text{Ci/ml}$) (Activité spécifique tissulaire exprimée en nombre de grains d'argent par $100 \mu\text{m}^2$).

L'activité globale du rein est très faible ; le marquage du néphron et du tissu conjonctif ne diffèrent pas significativement et ce, quelle que soit la situation de l'anse intestinale (fig. 2). Par contre, l'ensemble du tissu hépatique est marqué ; l'activité spécifique du parenchyme du foie des animaux porteurs d'anse iléale est moins élevée ($0,81 \pm 0,29$) que celle d'animaux munis d'une anse duodénale ($5,38 \pm 0,43$) ou jéjunale ($6,85 \pm 1,04$). Donc après 2 h de contact dans les anses duodénales et jéjunales, le fer bactérien absorbé est retrouvé, pour une part importante, dans le tissu hépatique.

Dans la rate, le ^{59}Fe est, pour l'essentiel, contenu dans la pulpe blanche, tissu constitué de réticulocytes et de lymphocytes (photo 5). Nous constatons de plus que les formations lymphoïdes spléniques des Lapins munis d'une anse iléale ont une activité spécifique plus importante ($19,95 \pm 0,09$) que celles d'animaux porteurs d'une anse duodénale ($5,65 \pm 0,88$) ou jéjunale ($4,41 \pm 0,53$). Ce phénomène est à rapprocher de l'observation faite précédemment sur le parenchyme hépatique.

Les segments intestinaux du tractus, qui n'ont jamais été en contact direct avec les bactéries radioactives, révèlent toujours un marquage important (fig. 3). De façon globale, tous les segments prélevés chez des animaux porteurs d'anse duodénale sont beaucoup plus marqués que ceux prélevés chez des Lapins possédant une anse jéjunale ou iléale. D'autre part, c'est au niveau du jéjunum que nous avons retrouvé le maximum de ^{59}Fe . Dans l'appendice cæcal, le marquage est localisé dans les formations lymphoïdes profondes, associé à des lymphocytes.

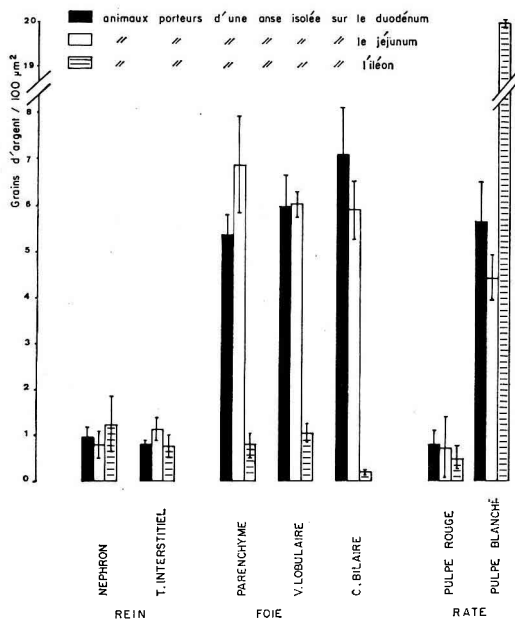


FIG. 2. — Activités tissulaires d'organes prélevés chez les Lapins dont les anses intestinales isolées ont contenu, pendant 2 h, 2 ml de suspension de bactéries marquées à l'aide de ^{59}Fe (10 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$) (Activité spécifique tissulaire exprimée en nombre de grains d'argent par 100 μm^2).

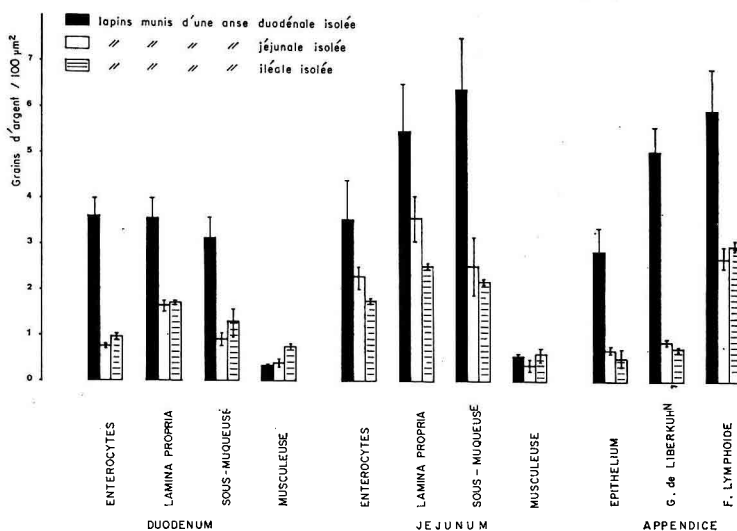


FIG. 3. — Activités tissulaires (activités spécifiques exprimées en nombre de grains d'argent pour 100 μm^2) de quelques segments du tractus digestif n'ayant pas été en contact direct avec des bactéries radioactives, prélevés chez des Lapins dont les anses intestinales isolées ont contenu, pendant 2 h, 2 ml de suspension bactérienne marquée à l'aide de ^{59}Fe (10 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$).

Discussion.

1. — Fer et microflore.

Les micro-organismes du cæcum sont capables de fixer le ^{59}Fe présent dans le milieu, et de le concentrer. Les autoradiographies montrent en effet qu'une part importante du métal est liée aux bactéries au sein du cytoplasme. Ces observations, en accord avec celles de Moncoulon *et al.* (1971), permettent de penser que la microflore peut capter le fer disponible dans le contenu cæcal pour constituer une réserve cytoplasmique. Ganongo (1974) a montré que les micro-organismes du cæcum renferment de 1,5 à 2,5 fois plus de fer que le milieu dans lequel ils se développent. Ce stock métallique revient, par l'intermédiaire des cœcotrophes, au contact des muqueuses gastrique et intestinale. La microflore digestive joue ainsi un rôle d'économie en limitant les pertes de fer.

2. — Absorption aux différents niveaux de l'intestin grêle.

Des éléments d'origine microbienne sont capables de franchir la muqueuse de l'intestin grêle quel que soit le niveau considéré. Cependant, le fer bactérien est absorbé plus rapidement par les anses duodénales que par les anses jéjuno-iléales. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par Mouriquand (1960) et par Wheby et Crosby (1963).

A ce stade pourtant, un problème subsiste : celui de savoir par quels mécanismes s'effectue le passage du fer bactérien. Nos résultats autoradiographiques montrent une migration depuis la muqueuse vers les couches profondes de l'intestin grêle, puis vers les formations lymphoïdes du mésentère ; mais la dispersion du rayonnement β émis par le ^{59}Fe ne permet pas une investigation précise à l'échelle cellulaire. A ce sujet Crosby (1963) précise que la résorption du fer dans l'intestin grêle se fait selon deux voies métaboliques distinctes : une voie duodénale rapide, impliquant des aminoacides et une voie jéjunale lente utilisant des molécules protéiques. Un tel mécanisme d'absorption du fer bactérien nécessiterait une lyse préalable des micro-organismes afin que leurs réserves martiales puissent être transférées à la cellule épithéliale. Cette lyse ne pourrait intervenir que par les facteurs enzymatiques du milieu intestinal (lysozyme, amylase, trypsine, chymotrypsine, etc...) ; or les travaux de Coudert (1967) semblent démentir ce fait.

Les techniques histologiques apportent quelques éclaircissements en ce qui concerne les interactions entre micro-organismes et entérocytes. Savage (1970) ainsi que Nelson et Mata (1970) ont observé des bactéries emprisonnées dans des mucines intestinales ; certains micro-organismes peuvent être directement rattachés aux cellules épithéliales. Hampton et Rosario (1965) observent, en microscopie électronique, des fragments bactériens dans des lysosomes d'entérocytes. Par des méthodes d'immunofluorescence et d'autoradiographie, Gryns (1966) montre la présence d'*E. coli* dans le cytoplasme des entérocytes. L'ensemble de ces travaux semble donc indiquer que les cellules épithéliales de l'intestin grêle sont capables de phagocyter certains éléments de la microflore.

Un autre mécanisme de capture des micro-organismes par les cellules intestinales a été révélé par les travaux de Pitha (1968) et d'Erlandsen et Chase (1972) sur la cellule

de Paneth. Ces auteurs ont observé des bactéries emprisonnées dans des phagosomes à l'intérieur des cellules de Paneth. Récemment Balas (1974) a montré, qu'après une phase d'excrétion, la cellule forme une dépression superficielle et que, lors de la reconstruction de la membrane apicale, des micro-organismes sont emprisonnés dans des phagolysosomes qui évoluent pour former des corps myéliniques caractéristiques. D'après Balas (1974), les cellules de Paneth sont réparties en nombre croissant du duodénum vers l'iléon ; ce mécanisme, à lui seul, ne peut donc pas rendre compte de l'absorption plus rapide et plus intense que nous observons dans le duodénum.

3. — Rôle des phagocytes mononucléés.

Dans la rate, la pulpe blanche semble constituer une unité de mise en réserve du fer bactérien absorbé. Dans l'appendice cæcal, la formation lymphoïde est la plus riche en métal marqué, enfin, dans le mésentère, seuls les amas lymphocytaires contiennent du ^{59}Fe . Toutes ces observations montrent que les cellules lymphoïdes sont fortement impliquées dans le transport et la fixation du fer bactérien. Ces cellules seraient capables de migrer aussi bien de la circulation vers les lymphatiques (Farr et Debruyne, 1975) que des vaisseaux lymphatiques vers le sang (Sainte-Marie, 1974). Les phagocytes mononucléés transportent donc du matériel bactérien. Cette relation entre la microflore et les phagocytes est à rapprocher d'observations faites par Trier (1965) : dans certains cas de stéatorrhée, la lamina propria est infiltrée par des macrophages chargés de phagosomes renfermant des bactéries. D'autre part, en étudiant l'absorption martiale chez le cobaye, Cattani *et al.* (1965) ont montré l'importance des histiocytes des villosités duodénales. Ces cellules se chargent en fer au contact des entérocytes saturés (Mouriquand, 1960) et migrent ensuite vers les ganglions mésentériques (Crosby, 1963). Les observations de Gillman et Ivy (1957) vont aussi dans ce sens, puisque 2 à 3 h après une prise orale de fer, les auteurs observent chez le cobaye, des phagocytes abondamment chargés au sein des ganglions lymphatiques. Plus récemment, Lagunoff et Curran (1972) ont montré que les macrophages sont capables d'absorber la ferritine : leur membrane plasmique possède des sites récepteurs et la liaison ferritine-site détermine une invagination membranaire vacuolisant ainsi le substrat préalablement adsorbé.

Tous ces résultats nous incitent à penser que le fer bactérien, au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle, est pris en charge par des phagocytes mononucléés qui le véhiculent par la voie lymphatique jusqu'aux ganglions mésentériques. Ces cellules mobiles pourraient ensuite passer dans la circulation générale pour atteindre les divers organes.

4. — Fer bactérien contenu dans le tractus intestinal.

Moins de 2 h après la mise en contact des bactéries avec la muqueuse de l'anse, la totalité de l'intestin grêle est fortement marquée. Ceci signifie que le fer microbien absorbé est ensuite distribué tant en amont qu'en aval du lieu d'absorption en vue d'une élimination dans la lumière du tube digestif.

Nos résultats montrent que l'excrétion de ^{59}Fe absorbé à partir d'une anse duodénales est supérieure à celle du ^{59}Fe absorbé par une anse jéjuno-iléale. Or la quantité de fer absorbé à partir des ^{59}Fe -bactéries est plus importante dans les anses duodénales

que dans les anses jéjuno-iléales. Il semble donc que la quantité excrétée soit liée à l'intensité d'absorption. Ceci nous incite à parler d'une fonction de régulation jouée par la muqueuse intestinale dans l'homéostasie en fer de l'organisme.

Ces observations sont en désaccord avec les travaux de Conrad et Crosby (1963) pour qui l'équilibre entre l'excrétion et l'absorption est le fait de l'entérocyte. D'après la théorie du « mucosal block » de Hahn *et al.* (1943) et Granick (1946) le fer ingéré serait mis en réserve dans les entérocytes sous forme de ferritine. Une saturation de la ferritine cellulaire bloquerait les capacités d'absorption de l'entérocyte, alors qu'une faible teneur cytoplasmique en ferritine saturée favoriserait la capture du métal par la muqueuse. Ce fer passerait ensuite dans la lumière intestinale lors de la desquamation des entérocytes sénescents. Cette vision du métabolisme martial appelle plusieurs remarques : tout d'abord, l'élimination du fer serait exclusivement apicale puisque tel est le lieu de desquamation des entérocytes dégénérés ; d'autre part, le ^{59}Fe absorbé dans l'anse serait uniquement éliminé par les entérocytes de ce segment. Or nous avons retrouvé du ^{59}Fe sur la totalité de l'intestin grêle et ce métal est réparti sur tout l'épithélium de la villosité.

Nos résultats vont davantage dans le sens des observations faites par Mouriquand (1961) sur le duodénum de cobayes en hypersidérémie. Cet auteur constate une surcharge très rapide des cellules réticulo-endothéliales (phagocytes mononuclées) de la rate, du foie et de la moelle osseuse ; il remarque après 24 h une migration des macrophages entre les entérocytes vers la lumière digestive.

Déjà en 1911, Champy avait constaté qu'après une surcharge orale en fer chez le Lapin, la totalité du tube digestif est colorée par le bleu de Prusse, réaction histo-chimique spécifique du fer. Les entérocytes ne sont pas colorés mais seuls des phagocytes situés entre les cellules épithéliales fixent le réactif. L'excrétion du fer bactérien absorbé pourrait donc se faire par sortie de macrophages du chorion (Crosby, 1963) et provenant d'un site dans lequel le fer capté serait redistribué ; Cattan *et al.* (1965) attribuent cette dernière fonction aux macrophages péricapillaires.

Les quantités de radioactivité retrouvées tout au long de l'intestin grêle montrent qu'une excrétion plus importante a lieu au niveau de la muqueuse jéjunale. Ce fait, déjà mentionné par Moncoulon *et al.* (1971) à partir de dosages effectués sur le contenu intestinal, a été confirmé dans des travaux plus récents (Moncoulon *et al.*, 1976) par perfusion d'anses isolées de Thiry-Vella.

Si nous admettons l'importance du rôle des macrophages villositaires dans le transport et l'excrétion du fer, il faut convenir de ce que la muqueuse jéjuno-iléale, lieu privilégié pour l'excrétion, est soit plus apte à laisser sortir des macrophages, soit plus riche en macrophages que la muqueuse duodénale. Cette dernière hypothèse pourrait être rapprochée de la grande richesse de l'iléon en tissu lymphoïde.

En fait, les mécanismes intervenant dans les mouvements du fer bactérien à partir de la lumière intestinale permettent de penser que les formations lymphoïdes interviennent plus efficacement dans l'excrétion que dans l'absorption.

Conclusion.

L'étude autoradiographique de la répartition du ^{59}Fe dans les différents organes du Lapin, apporte quelques éléments qui permettent de mieux comprendre la nature

des relations existant entre la microflore et la muqueuse digestive. La présence de marquage dans les entérocytes des anses intestinales est la preuve d'un passage du fer bactérien à travers l'épithélium de l'intestin grêle. Le métal ainsi absorbé traverse l'épithélium villositaire, passe dans la « lamina-propria » pour être transporté vers les différents organes par des cellules mobiles. Les bactéries présentes dans la lumière, peuvent franchir la muqueuse sur toute la longueur de l'intestin grêle ; cependant, cette activité semble avoir lieu, de façon préférentielle au niveau du duodénum. Le fer bactérien ainsi transporté est retrouvé, après 2 h, dans le foie et dans les formations lymphoïdes de la rate et de l'appendice cæcal. Le tractus intestinal en place en retient lui-même une partie ; ce phénomène d'accumulation est surtout intense dans la partie distale de l'intestin grêle.

L'observation des phénomènes de capture, puis de transport des ^{59}Fe -bactéries semble montrer que le système des phagocytes mononucléés est fortement impliqué dans le métabolisme martial du Lapin, l'acheminement et l'utilisation des réserves constituées par la microflore digestive. Cependant une étude complémentaire devra préciser les modalités de pénétration dans l'entérocyte et de transfert vers les autres organes du matériel bactérien.

Reçu en mars 1978.

Accepté en juillet 1978.

Références

- BALAS D., 1974. *La cellule de Paneth. Etude histologique et histophysiological*. Thèse Doct. Etat, Toulouse.
- BONNAFOUS R., 1973. *Quelques aspects de la physiologie colique en relation avec la dualité de l'excrétion fécale chez le lapin*. Thèse Doct. Etat Sci. nat., Toulouse.
- BRACHET J., 1940. La localisation de l'acide thymonucléique pendant l'oogenèse et la maturation chez les amphibiens. *Arch. Biol.*, **51**, 151-165.
- CATTAN O., DEBRAY C. H., JORI J. P., MARCHE C. P., 1965. Le macrophage péricapillaire du chorion villositaire duodénal : plaque tournante du métabolisme martial. *Bull. Soc. fr. Hématol.*, **6**, 431-435.
- CHAMPY P., 1911. Recherches sur l'absorption intestinale et le rôle des mitochondries dans l'absorption et la sécrétion. *Arch. Anat. microsc.*, **13**, 556.
- CONRAD M. E., CROSBY W., 1963. Intestinal mucosal mechanisms controlling iron absorption. *Blood*, **22**, 406-415.
- COUDERT F., 1967. *Recherches sur l'activité des sucs digestifs sur la microflore de l'estomac et de l'intestin du lapin*. Thèse Spécial. Toulouse.
- CROSBY W. H., 1963. The control of iron balance by the intestinal mucosa. *Blood*, **22**, 441-449.
- ERLANDSEN S. L., CHASE LD. G., 1972. Paneth cell function : phagocytosis and intracellular digestion of intestinal microorganisms. I. — Hexamita muris, II. — Spiral microorganisms. *J. Ultrastruct. Res.*, **41**, 296-318, 319-333.
- FARR A. G., DE BRUYN P., 1975. The mode of lymphocyte migration through post capillary venule endothelium in lymph node. *Amer. J. Anat.*, **43**, 59-92.
- FICQ A., 1961. *Contribution à l'étude du métabolisme cellulaire au moyen de la méthode autoradiographique*. Monographie. Inst. Interunivers. Sc. nucl., Bruxelles.
- GANONGO G., 1974. *Contribution à l'étude du métabolisme du fer chez le lapin domestique. Influence d'une surcharge martiale par voie orale*. Thèse Doct. Spécial., Toulouse.
- GILLMAN T., IVY A. C., 1957. A histological study of the participation of the intestinal epithelium, the R. E. S. and lymphocytes in iron absorption and transport. *Gastroenterology*, **9**, 162-169.
- GRANICK S., 1946. Increase of the protein apoferritin in the gastro intestinal mucosa as a direct response to iron feeding. *J. Biol. Chem.*, **164**, 737.

- GRYS S., 1966. The mode of passage of *E. coli* and its antigens across the intestinal barrier of sheep. Intracellular localization of bacteria antigens in some internal organs. *Polon. Archiv. Wet.*, **10**, 243-260.
- HAHN P. F., BALE W. F., ROSS J. F., BALFOUR W. N., WHIPPLE G. M., 1943. Radioactive iron absorption by the gastro intestinal tract. Influence of anemia, anorexia and antecedent feeding. *J. exper. Med.*, **78**, 169-188.
- HAMPTON J. C., ROSARIO B., 1965. The attachment of microorganisms to epithelial cells in the distal ileum of the mouse. *Labor. Investig.*, **14**, 1465-1481.
- LAGUNOFF D., CURRAN D. E., 1972. Rôle of bristle coated membrane in the uptake of ferritin by rat macrophage. *Exper. Cell Res. USA*, **75**, 337-346.
- MONCOULON R., RAYNAUD P., BOZZOLO G., 1971. Influence de la microflore sur l'absorption intestinale du fer chez le lapin domestique. *Ann. Rech. vétér.*, **2**, 239-257.
- MONCOULON R., MANDJOBA V., PETITPREZ M., 1976. Etude de l'excrétion intestinale du fer chez le lapin par la méthode des anses isolées. 1^{er} Congr. int. cunicole, Dijon. *Communic. n° 60*.
- MOURIQUAND Cl. 1960. Villosité intestinale et métabolisme du fer. Une étude expérimentale. *Rev. Hématol.*, **15**, 472-488.
- MOURIQUAND Cl., 1961. Exploration des réserves de fer par des techniques histologiques. *Pathol. Biol.*, **9**, 1557-1560.
- NELSON D. P., MATA J. L., 1970. Bacterial flora associated with human gastro-intestinal mucosa. *Gastroenterology*, **58**, 56-66.
- PETITPREZ M., 1977. *Recherches sur le passage trans-muqueux de microorganismes au niveau de l'intestin grêle de lapin*. Thèse spécial., Toulouse.
- PETERS W. J., WARREN R. A. J., 1968. Phenolic acids and iron transport in *B. subtilis* *Biochim. biophys. Acta*, **165**, 225-232.
- PITHA J., 1968. The fine structure of membraneous inclusions in the Paneth cells of rabbit. *Z. Zellforsch.*, **90**, 563-569.
- REDDY B. S., PLEASANTS J. R., ZIMMERMAN D. R., WOSTMANN B. S., 1965. Iron and copper utilization in rabbits as affected by diet and germfree status. *J. Nutrit. USA*, **87**, 189-196.
- SAINTE-MARIE G., 1974. Reactive drugs on radioautographs of lymphoid tissues from rats injected with thymidine ³H. *Rev. canad. Biol.*, **33**, 287-294.
- SAVAGE D. C., 1970. Associations of indigeneous microorganisms with gastro-intestinal mucosal epithelium. *Amer. J. clin. Nutrit.*, **23**, 1495-1501.
- TRIER J. S., 1965. Studies on small intestinal crypt epithelium. *Gastroenterology*, **48**, 684-707.
- WHEBY M. S., CROSBY W. H., 1963. The gastro-intestinal tract and iron absorption. *Blood*, **22**, 416-428.
-