

ORGANE DE PERFORATION DE *PURPURA LAPILLUS* (L.) (MURICIDE) : HISTOCHIMIE ET HISTOENZYMOLOGIE.

par

Monique Chétail, Danièle Binot et Mounira Bensalem
Laboratoire d'Anatomie comparée de la Faculté des Sciences de Paris.

Résumé

L'étude histochimique et histoenzymologique de l'organe accessoire de perforation de *Purpura lapillus* (L.) conduit aux résultats suivants :

des lipides, des acides gras, une lipase et de la phosphatase alcaline existent dans l'organe au repos comme en activité ;

l'organe au repos est caractérisé par sa teneur élevée en glycogène et par la présence d'anhydrase carbonique, en faible quantité, au niveau des cellules glandulaires ; la ciliature de la glande est toujours dépourvue de cette enzyme ;

l'organe en activité est exempt de glycogène du fait de l'utilisation de ce produit et contient en proportions considérables de l'anhydrase carbonique, non seulement au niveau des cellules glandulaires mais surtout au niveau de la ciliature de l'organe accessoire dont la sécrétion agit sur la coquille à perforer. Ce dernier résultat porte à croire que cette enzyme est responsable du percement des coquilles de proies de *Purpura lapillus* (L.).

I. INTRODUCTION.

Des coquilles de Mollusques portant des perforations circulaires ont été retrouvées dans les diverses couches géologiques. Réaumur (1708) et Bouchard-Chantereaux (1861) pensaient que ces perforations opérées chez *Mytilus edulis* étaient dues à l'action d'une sécrétion acide d'un autre Mollusque prédateur. Pelseneer (1925), étudiant le percement des valves de *Mytilus* par *Purpura*, attribuait cette perforation à un rôle purement mécanique de la radula. Fretter (1941-1946) fut le premier auteur à donner une description histologique de l'organe accessoire de perforation sous le nom de ventouse pédieuse et à faire un rapprochement entre l'existence de cet organe et le régime carnivore des Muricidés, cette ventouse permettant au prédateur d'adhérer sur sa proie plutôt que d'agir par sa sécrétion sur le matériel calcaire de la coquille à percer. Carriker (1943) appela cet organe : bulbe buccal accessoire ; il fut le premier (1955) à imaginer l'intervention d'une activité chimique de cet organe au cours du per-

cement et lui donna le nom d'organe accessoire de perforation, adopté depuis par tous. Il a mis en évidence, de façon convaincante (1959), la théorie chimio-mécanique du percement par des expériences d'ablations combinées du bulbe buccal et de l'organe accessoire chez les Muricidés *Urosalpinx cinerea* et *Eupleura caudata*. Les deux structures sont régénérées rapidement mais, seuls, les animaux possédant encore les deux organes peuvent percer des coquilles, ce qui suggère la collaboration étroite de ces organes dans ce processus : il y aurait un rôle mécanique de la radula pendant une courte période (râpement) et un rôle chimique de l'organe accessoire de perforation pendant une plus longue période (ramollissement). S'inspirant de la récente hypothèse de Schatz et coll. (1957-1958), expliquant l'origine de la carie dentaire chez l'Homme, Carriker suggère la possibilité, durant la phase chimique du percement, d'une sécrétion enzymatique par l'épithélium glandulaire, sans préciser laquelle ; cette enzyme ou d'autres sécrétions de la glande pourraient libérer des agents chélateurs formant des composés hydrosolubles avec le calcium de la coquille. Récemment, l'une d'entre nous, Bensalem, a mis en évidence l'existence de la phosphatase alcaline dans l'organe accessoire de perforation d'*Ocenebra erinacea*.

Nous avons repris l'étude de cet organe chez *Purpura lapillus* (L.) au point de vue histochimique et histoenzymologique afin de trouver la nature de la sécrétion intervenant au cours du percement.

II. MATÉRIEL ET TECHNIQUES.

Une centaine de Pourpres ont été élevées en aquarium marin au Laboratoire d'Anatomie comparée et nourries de *Mytilus edulis* (L.) et de *Cardium edule* (L.) : 25 Pourpres ont été prélevées pour cette étude.

Topographie : hémalun picro-indigo-carmin, Azan, trichrome de Cajal, sur pièces fixées au Bouin et au Gendre.

Recherche des glucides : sur coupes à la paraffine et sur coupes au cryostat avec fixation au Gendre 0°. Réaction de Hotchkiss-Mac Manus (A.P.S.) avec témoins à la maltase et à la salive ; carmin de Best ; réaction de Lison au bleu de toluidine avec gamme de pH ; réaction de Kramer à l'azur avec témoins soumis à la sulfatation.

Recherche des lipides : lipides osmiophiles d'après la technique de Flemming ; lipides hétérophasiques au noir Soudan B après fixation de Ciaccio ; lipides homophasiques sur coupes au cryostat, suivies de coloration au noir Soudan B.

Recherche des acides gras : par le sulfate de bleu de Nil sur coupes au cryostat.

Recherche des enzymes : estérases (lipases + aliestérases) : technique aux tweens, selon Gomori avec coupes témoins soumises à l'arsénilate de sodium. Phosphatase alcaline : technique de Gomori-Takamatsu et technique de Menten Junge et Green (variante de

Gomori) avec témoins ébouillantés et témoins soumis à un substrat dépourvu de glycérophosphate de sodium. Anhydrase carbonique : technique de Kurata modifiée par Häusler avec témoins ébouillantés et témoins mis dans le Diamox (2 acétylamino-1-3-4 thiadiazol-5-sulfonamide) à différentes concentrations.

III. RÉSULTATS.

L'organe accessoire de perforation se dresse au sein de la couche dermo-musculaire dans la ligne médiane ventrale au tiers antérieur du pied et en arrière de la glande pédieuse antérieure. En microscopie ordinaire, cet organe se présente sous la forme d'un manchon glandulaire bordé par un épithélium simple à ciliature dense rappelant une bordure en brosse. Les cellules glandulaires ont un corps ovoïde muni d'un prolongement très effilé s'insérant entre les cellules épithéliales (Fig. 1) et fonctionnent chacune comme une glande auto-

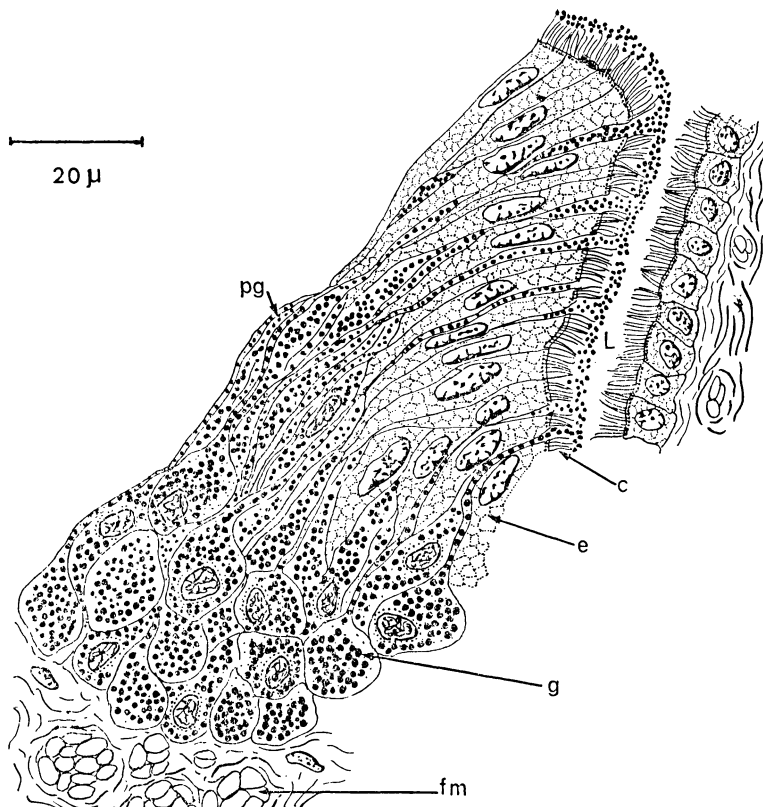


FIG. 1

Dessin de détail d'une coupe de l'organe accessoire de perforation de *Purpura lapillus* (L.).

Abréviation des figures : c : ciliature ; e : épithélium du canal de l'organe accessoire ; fm : fibres musculaires ; g : cellules glandulaires de l'organe accessoire ; L : lumière du canal ; pg : prolongement glandulaire ; S : sole pédieuse.

nome (1). Une forte musculature longitudinale périphérique entoure tout l'organe et en permet la protraction lors de son entrée en action (Fig. 2) ou la rétraction complète (Fig. 3). Les techniques mises en œuvre ont donné les résultats suivants.

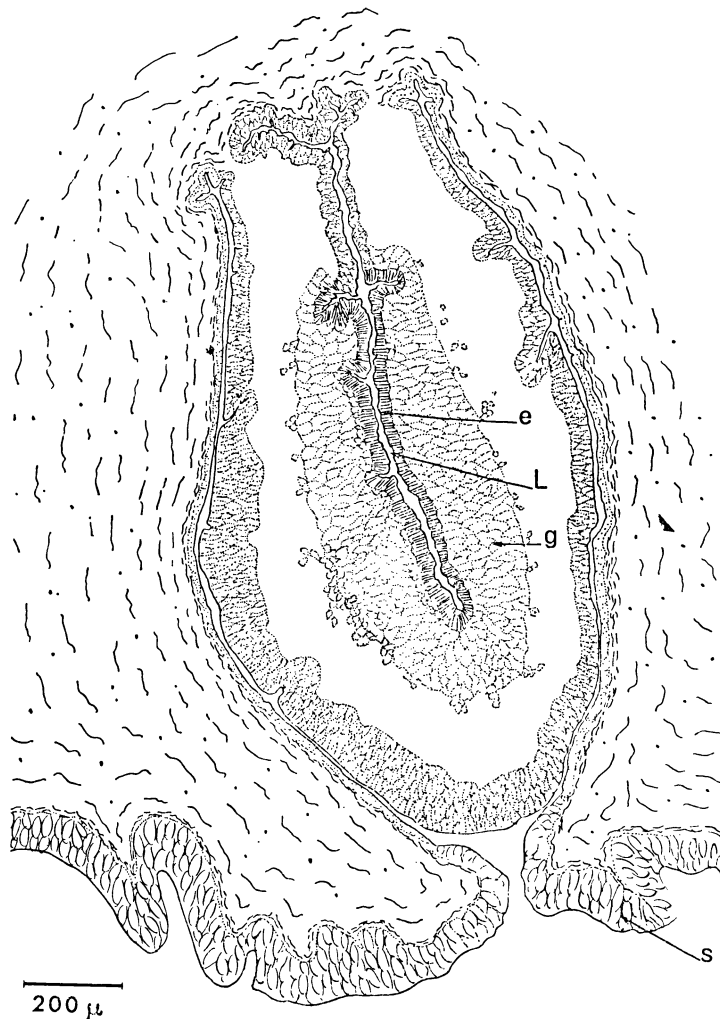


FIG. 2

Dessin d'ensemble d'une coupe de l'organe accessoire au moment de son entrée en action. L'organe est encore partiellement rétracté.

(1) Alors que ce travail était sous presse, une note préliminaire de Provenza, Nylen et Carriker concernant l'ultrastructure de l'organe de perforation d'*Urosalpinx* et d'*Eupleura* nous est parvenue. Ces auteurs ont montré que, chez ces deux Prosobranches, l'organe est tapissé par un épithélium simple glandulaire dont les cellules, d'un seul type, comportent une région basale sécrétrice et une région apicale microvillaire ; chez ces deux Prosobranches, l'organe de perforation n'est donc pas constitué par l'alternance de cellules glandulaires et de cellules épithéliales ciliées, comme nous l'avons observé en microscopie ordinaire, dans l'organe de *Purpura*. Il est très vraisemblable que l'ultrastructure de cet organe chez *Purpura* est très proche de celle décrite par ces auteurs chez *Urosalpinx* et *Eupleura*, ces trois espèces étant toutes des Prosobranches du groupe des Muricidés.

Cf. Provenza, D.V., Nylen, M.A. et Carriker, M.R., 1966. — Some cytologic observations of the secretory epithelium of the accessory boring organ of the Gastropods *Urosalpinx* and *Eupleura*. *Am. Zool.*, 6 (3), p. 170.

a) *Glucides*. Chez l'animal à jeun, le tissu glandulaire contient du glycogène sous forme de grains en grande quantité (Pl. II, 1) alors que chez l'animal en activité ce produit n'existe qu'à l'état

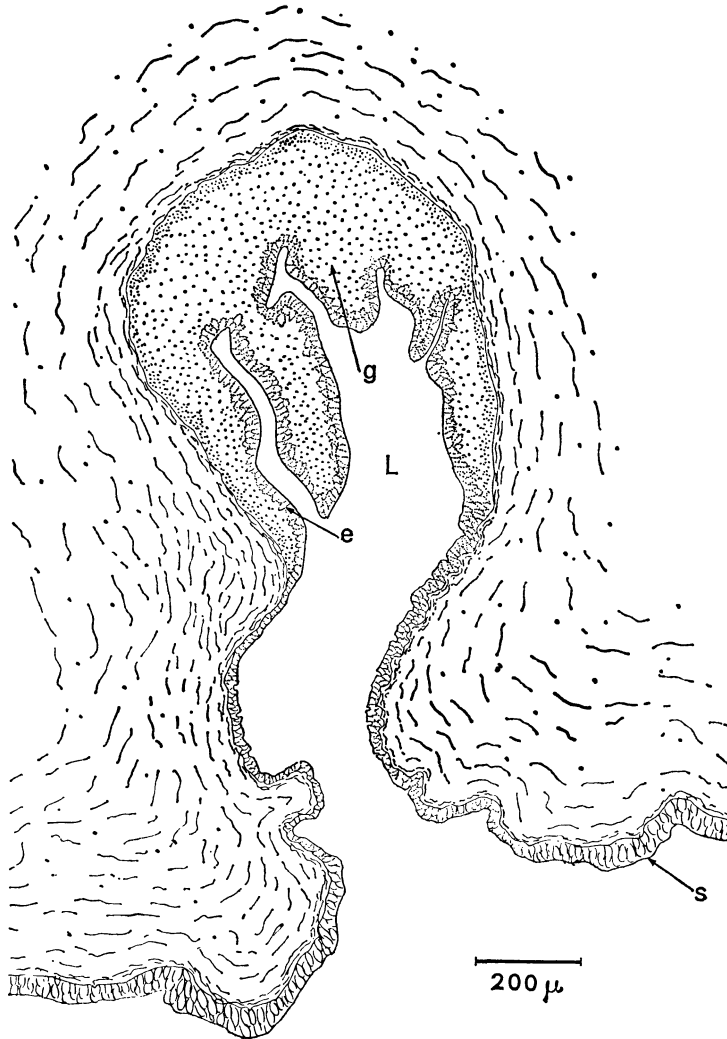


FIG. 3

Dessin d'ensemble d'une coupe de l'organe accessoire au repos. L'organe est ici totalement rétracté.

de traces. Au niveau de la ciliature, on le retrouve dans les deux phases en mêmes proportions. A ce glycogène, s'ajoute une petite quantité de mucopolysaccharides acides.

b) *Lipides*. Le noir Soudan décèle des lipides homophasiques dans les deux phases en quantité notable dans les cellules glandulaires (Pl. I, 1 et 2). La méthode de Ciaccio indique la présence de lipides hétérophasiques en faible quantité au niveau des cellules glandulaires

seulement (Pl. I, 3). Quant aux lipides osmiophiles, on n'en trouve que très peu et au niveau de l'épithélium.

c) *Acides gras*. Ils sont mis en évidence par la méthode au bleu de Nil et n'existent qu'au niveau du tissu glandulaire (Pl. I, 4).

d) *Enzymes*.

Estérases. L'organe accessoire de perforation contient des estérases, principalement au niveau des cellules glandulaires. Il s'agit probablement de lipase et non d'aliestérase puisque l'arsénilate de sodium est resté sans effet sur les coupes témoins (Pl. I, 5 et 6).

Phosphatase alcaline (Pl. II, 2 et 3). Le taux de phosphatase alcaline demeure constant dans l'organe accessoire de perforation au cours des deux phases (repos et activité) ; la réaction est plus intense au niveau de la ciliature qu'au niveau des cellules glandulaires.

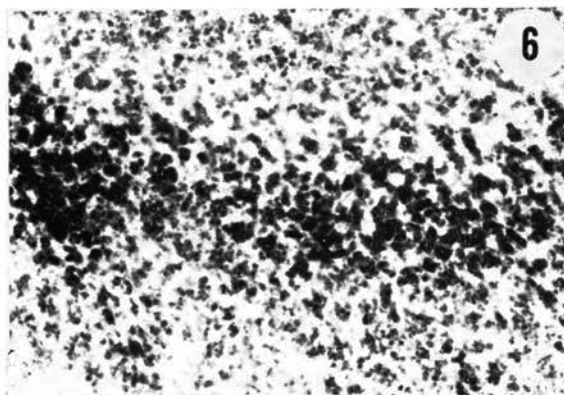
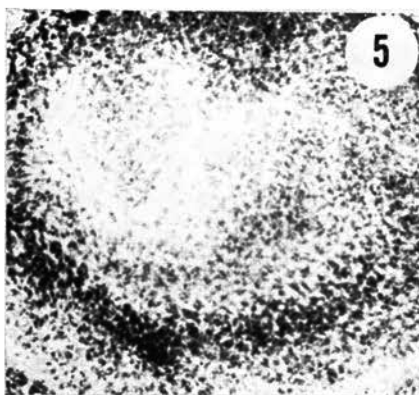
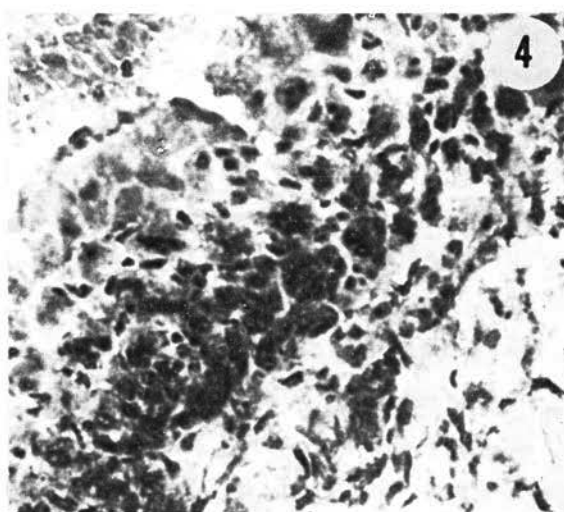
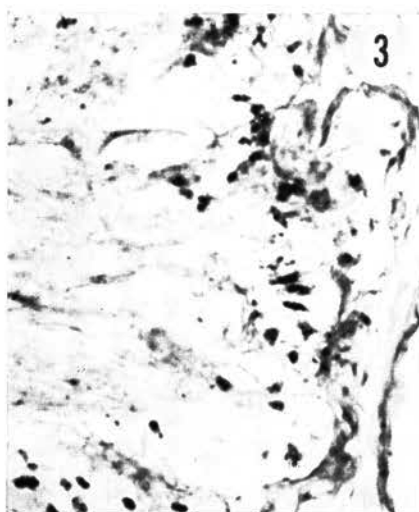
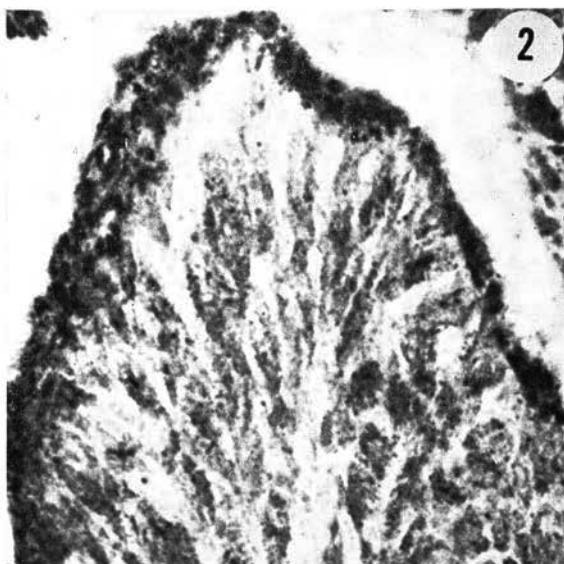
Anhydrase carbonique. Dans les cellules glandulaires, l'enzyme existe à peine chez une Pourpre inactive (Pl. II, 4) tandis qu'elle est abondante chez un animal en train de perforer une coquille (Pl. II, 5 et 6). Au niveau de la ciliature de l'organe accessoire inactif, l'anhydrase carbonique est absente (Pl. II, 4) alors qu'en phase de nutrition la teneur en enzyme est considérable à ce niveau (Pl. II, 5 et 6). Ces résultats ont été confirmés par l'observation de témoins soumis à l'action du Diamox, inhibiteur spécifique de l'enzyme.

PLANCHE I

- 1 : vue d'ensemble de l'organe accessoire après coloration au noir Soudan B ; remarquer la richesse des cellules glandulaires en lipides homophasiques.
- 2 : détail de la coupe précédente.
- 3 : cellules glandulaires de l'organe accessoire de perforation après technique de Ciaccio ; remarquer la présence de quelques grains de lipides hétérophasiques.
- 4 : méthode au bleu de Nil mettant en évidence des acides gras au niveau des cellules glandulaires de l'organe accessoire.
- 5 : méthode au tween pour la détection des lipases dans l'organe accessoire. Vue d'ensemble.
- 6 : méthode au tween. Détail du cliché précédent montrant l'abondance de la lipase au niveau des cellules glandulaires.

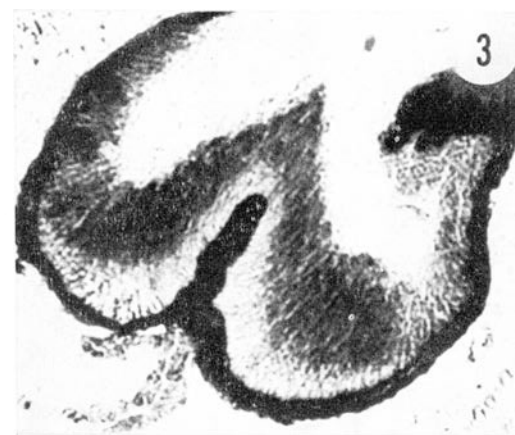
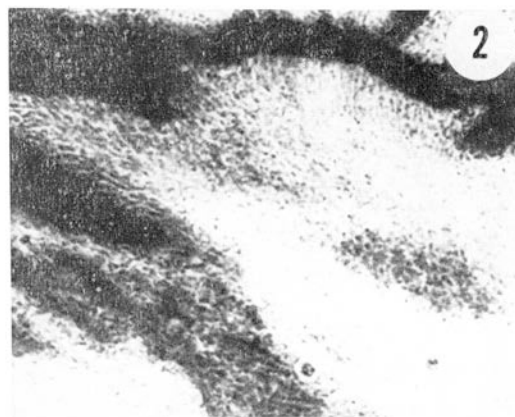
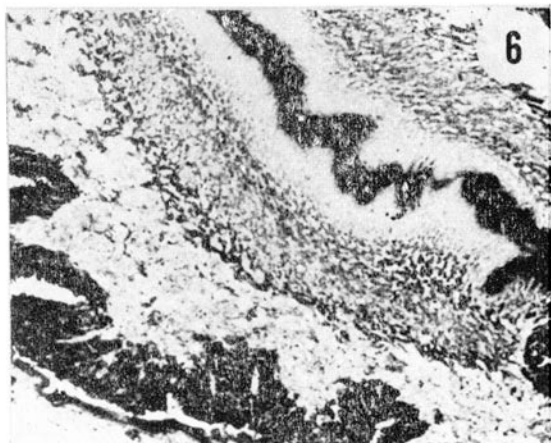
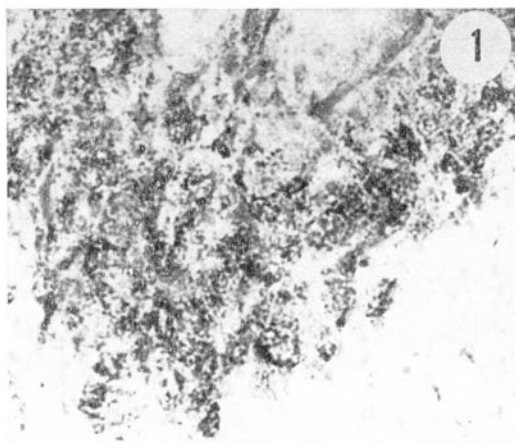
PLANCHE II

- 1 : réaction à l'acide periodique-Schiff pour la mise en évidence du glycogène dans un organe accessoire de perforation de *Purpura* au repos. La réaction est particulièrement intense.
- 2 : méthode Gomori-Takamatsu montrant la présence de phosphatase alcaline dans un organe accessoire de perforation au repos.
- 3 : méthode de Gomori-Takamatsu au niveau d'un organe accessoire de perforation en activité. La réaction présente sensiblement la même intensité que dans un organe au repos.
- 4 : méthode de Kurata-Häusler dans un organe accessoire au repos pour la mise en évidence de l'anhydrase carbonique. Noter la faiblesse de la réaction au niveau des cellules glandulaires de l'organe et surtout l'absence totale de l'enzyme au niveau de la ciliature.
- 5 : vue d'ensemble d'un organe accessoire en activité après technique de Kurata-Häusler montrant l'abondance de l'anhydrase carbonique au niveau des cellules glandulaires et surtout de la ciliature de l'organe accessoire.
- 6 : détail du cliché précédent.



M. CHÉTAIL, D. BINOT et M. BENSALEM

PLANCHE I



M. CHÉTAIL, D. BINOT et M. BENSALEM

PLANCHE II

Le tableau I résume l'ensemble des résultats.

TABLEAU I

ORGANE ACCESSOIRE DE PERFORATION	PHASE REPOS			PHASE ACTIVE		
	Tissu glandulaire	Epithélium	Cultures épithéliales et lumière	Tissu glandulaire	Epithélium	Cultures épithéliales et lumière
GLUCIDES						
A.P.S.	+++	—	++	+	—	+
Digestion salivaire + A.P.S. ... reste = M.P.S. acides S. et C. .	+	—	+	+	—	+
Carmin de Best	++	—	+	+	—	+
LIPIDES						
Noir Soudan B (homophasiques)	+	+	—	+	+	—
Noir Soudan B (Ciaccio) (hétérophasiques) .	+	—	—	+	—	—
Lipides osmophiles	—	±	—	—	±	—
ACIDES GRAS						
Sulfate de Bleu de Nil	++	+	—	++	+	—
ESTÉRASES (Lipase + Aliestérase) (Tween selon Gomori)	++	+	—	++	+	—
TÉMOINS A L'ARSÉNILATE DE SODIUM (inhibiteur des aliestérases) ..	++	+	—	++	+	—
PHOSPHATASE ALCALINE						
Gomori-Takamatsu	+	—	++	+	—	++
Coupes ébouillantées	—	—	—	—	—	—
Coupes dans substrat sans glycérophosphate de sodium ..	—	—	—	—	—	—
Menten, Junge et Green	+	—	++	+	—	—
ANHYDRASE CARBONIQUE						
Kurata (Haüsler)	+	—	—	++	—	+++
Coupes témoins ébouillantées .	—	—	—	—	—	—
Coupes témoins avec Diamox (inhibition en pourcentage)						
.6.10 ⁻³ M { 9.10 ⁻³ M {	50 p. 100 d'inhibition de l'enzyme					
12.10 ⁻³ M { 18.10 ⁻³ M {	100 p. 100 d'inhibition de l'enzyme					

IV. DISCUSSION DES RÉSULTATS.

Il existe une variation dans la teneur en glycogène : l'organe accessoire de perforation de *Purpura* en contient beaucoup plus au repos qu'en activité ; on peut penser que ce glucide est utilisé au moment de l'entrée en action, pour fournir l'énergie nécessaire. C'est

sans doute l'intervention d'une phosphorylase qui le rend utilisable.

Des lipides homophasiques et hétérophasiques, une lipase et des acides gras ont été mis en évidence dans cet organe. On peut admettre une filiation entre ces différents produits ; la lipase, par hydrolyse des lipides, donne des acides gras. En ce qui concerne la lipase, étant donné que seule la technique aux tweens a été employée, il conviendrait de mettre en œuvre d'autres techniques en recourant à plusieurs inhibiteurs.

Il est intéressant d'avoir retrouvé de la phosphatase alcaline dans l'organe accessoire de perforation. Manigault (1939) a montré son intervention dans la formation de la coquille après avoir étudié cette enzyme dans le manteau de divers Mollusques. Bevelander et Benzer (1948) ont localisé cette phosphatase au niveau de la bordure supérieure des cellules épithéliales du manteau. Roche (1942-1947), étudiant le métabolisme calcique dans l'os montre que cette enzyme intervient aussi bien dans les cas normaux que dans les cas pathologiques. Pourtois (1962) montre le rôle de la phosphatase alcaline au cours de la différenciation des bourgeons dentaires chez la Souris. Bien que le rôle de la phosphatase alcaline dans l'organe accessoire de perforation soit difficile à interpréter, on sait, d'après les auteurs précédents, que cette enzyme est impliquée dans le métabolisme du calcium, qu'il s'agisse ou non de cas normaux.

Meldrum et Roughton (1931), étudiant *in vitro* l'anhydrase carbonique, notent que cette enzyme peut aussi bien accélérer la décomposition du carbonate de calcium par un acide faible qu'en favoriser le dépôt. L'action des inhibiteurs de l'anhydrase carbonique a été étudiée *in vivo* sur le fœtus de Rate (empêchant ainsi la calcification des os), par Benesch, Chance et Glynn en 1945. Mais Benesch et coll. attribuent ce défaut de calcification, non seulement à l'inhibition de l'anhydrase carbonique, mais aussi à celle de la phosphatase alcaline. Stolkowski (1951), pour montrer l'intervention de l'anhydrase carbonique dans la formation de la coquille des Mollusques, a effectué des expériences de régénération de coquilles d'*Helix aspersa* et mis en évidence que ce phénomène peut être partiellement ou totalement inhibé par un sulfamide.

Nous avons retrouvé l'anhydrase carbonique en quantité importante dans l'organe accessoire de perforation de Pourpres pendant le percement des valves de Lamellibranches alors que l'organe d'un animal au repos n'en possède que très peu dans le tissu glandulaire et pas du tout sur la ciliature. Le mécanisme chimique peut s'expliquer par une libération d'ions H^+ entraînant une baisse de pH et un échange réversible des ions H^+ et Ca^{++} . La réaction réversible peut s'appliquer aussi bien à la genèse normale ou régénérative des coquilles qu'à la dégradation des carbonates de calcium au cours du percement. Un mécanisme chimique semblable a été interprété par Davenport (1940) et Davies et Edelman (1948-1951) en ce qui concerne la sécrétion d'acide chlorhydrique dans la muqueuse de l'estomac du Chien et de la Grenouille. L'anhydrase carbonique présente dans la muqueuse gastrique, joue un rôle dans le maintien de la balance acide-base durant la sécrétion de l'acide chlorhydrique, équilibre rompu par l'action des sulfamides inhibiteurs de l'anhydrase carbonique. Chez *Purpura*, à l'action mécanique de la radula s'ajoute donc l'action

chimique de l'anhydrase carbonique. La succession alternée de ces deux phases permet d'expliquer le percement des valves de Lamelli-branches en un temps relativement court (de 8 à 48 heures).

L'utilisation d'un sulfamide, le Diamox, a permis d'inhiber l'enzyme sur les préparations. Il faudrait maintenant voir si l'on peut empêcher des Pourpres, élevées en milieu marin contenant du Diamox, de percer des coquilles de Mollusques Lamellibranches ; cette expérience réaliserait ainsi une inhibition *in vivo* : elle est actuellement en cours au laboratoire. Des résultats positifs déjà obtenus confirment le rôle actif de l'anhydrase carbonique de l'organe accessoire de perforation de *Purpura lapillus* lors du percement des coquilles des proies, résultats qui seront publiés ultérieurement.

Il nous est agréable de remercier sincèrement M. le Professeur A.J. Rosenberg pour les conseils dont il nous a généreusement fait bénéficier, notamment au cours de l'étude histoenzymologique, pour l'interprétation des résultats et lors de la rédaction de ce manuscrit.

Summary

An histochemical and histoenzymiological study of the accessory boring organ in *Purpura lapillus* (L.) leads to the following results:

lipids, fatty acids, lipase and alkaline phosphatase are present as well in a resting organ as in a drilling one;

organ at rest is very rich in glycogen and poor in carbonic anhydrase in the glandular cells, the cilia of the gland being always free of this enzyme;

the working organ is poor in glycogen and, on the contrary, full of carbonic anhydrase, not only in the glandular cells but also and chiefly on the ciliature of the accessory boring organ, the secretion of which acts on the shell to bore. This last result inclines to believe that it is this enzyme which is responsible of the shell-boring of preys by *Purpura lapillus* (L.).

Zusammenfassung

Die vorliegende histochemische und histoenzymologische Untersuchung des Bohrorgans von *Purpura lapillus* (L.) führt zu folgenden Schlussfolgerungen :

Man findet sowohl im Ruhezustand als auch in der Aktivitätsphase des genannten Organs Lipide, fettartige Säuren, eine Lipase und laugensalzartige Phosphatasen.

Im Ruhezustand ist das Organ gekennzeichnet durch einen hohen Glykogengehalt und durch geringe Mengen kohlenstaurer Anhydrase im Bereich der drüsenartigen Zellen. Auf den Wimpern findet man keine kohlenstaurer Anhydrase.

Im Aktivitätszustand enthält das Organ kein Glykogen, da dieses in den Zellen verbraucht wird ; es enthält dagegen in grösseren Mengen kohlenstaurer Anhydrase in den drüsenartigen Zellen und vor allem auf den Wimpern des genannten Organs, der das Sekret auf die zu durchbohrende Muschel wirkt. Diese Beobachtung führt zur Annahme, dass *Purpura lapillus* (L.) die Muscheln, die ihr als Beute dienen, mit Hilfe der kohlenstaurer Anhydrase durchbohren.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BENESCH, R., BARRON, N.S. et MAWSON, C.A., 1944. — Carbonic anhydrase sulfonamids and shell formation in the domestic fowl. *Nature*, 153, pp. 138-139.
- BENESCH, R., CHANCE, M.R.A. et GLYNN, L.E., 1945. — Inhibition de la calcification osseuse par les sulfamides. *Nature*, 155, pp. 203-204.

- BENSALEM, M. — Histologie et histochimie des glandes pédieuses de deux Mollusques Prosobranches : *Patella vulgata* L. et *Ocenebra erinacea* L. *Soc. Hist. Nat. Afr. Nord* (sous presse).
- CARRIKER, M.R., 1943. — On the structure and function of the proboscis in the common Oyster drill *Urosalpinx cinerea* Say. *J. Morph.*, 73, pp. 441-506.
- CARRIKER, M.R., 1958. — Comparative functional morphology of the drilling mechanism in *Urosalpinx* and *Eupleura* (Muricid Gastropods). *Proc. XVth Int. Congr. Zool. Londres*, pp. 373-376.
- CARRIKER, M.R., 1961. — Comparative functional morphology of boring mechanism in Gastropods. *Am. Zool.*, 1 (2), pp. 263-266.
- CHÉTAIL, M. et BINOT, D., 1967. — Rôle de l'anhydrase carbonique dans l'organe accessoire de perforation de *Purpura lapillus* (L.), Gastéropode Prosobranch. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 264 (7), pp. 946-949.
- COMMON, R.H., 1941. — The carbonic anhydrase activity of the Hen's oviduct. *Journ. agric. Sc.*, 31 (4), p. 412.
- DAVENPORT, H.W., 1939. — Gastric carbonic anhydrase. *Journ. Physiol.*, 97 (1), pp. 32-43.
- DAVENPORT, H.W. et WIELMELM, A.E., 1941. — Renal carbonic anhydrase. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 48 (1), pp. 53-56.
- DAVIES, R.E. et EDELMANN, J., 1951. — The function of carbonic anhydrase in the stomach. *Bioch. Journ.*, 50, pp. 190-194.
- FRETTER, V., 1941. — The genital ducts of some British stenoglossan prosobranchs. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 25, pp. 173-211.
- FRETTER, V., 1946. — The pedal sucker and anal gland of some British Stenoglossa. *Proc. Malac. Soc. Lond.*, 27, pp. 126-130.
- LEHNINGER, A.L., 1965. — The mitochondrion. Benjamin (W.A.) ed., N.Y., 255 p.
- MANIGAULT, P., 1939. — Recherches sur le calcaire chez les Mollusques. Phosphatase et précipitation calcique. Histochimie du calcium. *Ann. Inst. Océan.*, XVIII (5), pp. 132-426.
- MELDRUM, N.V. et ROUTHTON, F.G.W., 1933. — Carbonic anhydrase. Its preparation and properties. *Journ. of Physiol.*, 80, pp. 113-142.
- PELSENEER, P., 1924. — Comment mangent divers Gastéropodes aquatiques. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, 55, pp. 31-36.
- POURTOIS, M., 1962 a. — Contribution à l'étude des bourgeons dentaires chez la Souris. II. Phases de cytodifférenciation, d'élaboration organique et de minéralisation. *Arch. Biol.*, LXXIII (2), pp. 226-305.
- POURTOIS, M., 1962 b. — La minéralisation de la dentine et de l'émail dans ses rapports avec le métabolisme des tissus générateurs. *Arch. Biol.*, LXXIII (3), pp. 491-519.
- ROCHE, J., 1942. — La phosphatase des os. Biochimie normale et pathologique. *Exp. ann. Bioch. méd.*, pp. 251-269.
- ROCHE, J., 1947. — Les phosphatases et le métabolisme du calcium. *Ann. Nutr. et Alim.*, 1 (1).
- SCHATZ, A., KARLSON, K.E., MARTIN, J.J. et SCHATZ, V., 1957. — The proteolysis-chelation, theory of dental caries. *Odont. Revy*, 8 (3), pp. 154-167.
- SCHATZ, A., MARTIN, J.J. et SCHATZ, V., 1958. — Quelques considérations sur la carie dentaire en fonction de la théorie de la protéolyse-chélation. *Rev. Belg. Sc. dent.*, 13, pp. 538-557.
- STOLKOWSKI, J., 1951. — Essai sur le déterminisme des formes minéralogiques du calcaire chez les êtres vivants (calcaires coquilliers). *Ann. Inst. Océan.*, XXVI (1), pp. 1-113.