

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1995

THÈSE



Thèse n° 305

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement

le 15 février 1995

par

Catherine MONNY

née le 27 mars 1971 à Limoges (Haute-Vienne)

**ÉTUDE DE QUELQUES RELATIONS ENTRE LE MOLLUSQUE *Myxas glutinosa* Müller (*Lymnaeidae*) ET LE TRÉMATODE *Fasciola hepatica* Linné.
INFESTATIONS EXPÉRIMENTALES ET OBSERVATIONS HISTOLOGIQUES.**

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Monsieur NICOLAS, Professeur Président
Mademoiselle DARDÉ, Professeur Juge
Madame VAREILLE-MOREL, Maître de Conférences Juge
Monsieur DREYFUSS, Maître de Conférences Juge

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE:

Monsieur le Professeur RABY Claude

ASSESEURS:

Monsieur le Professeur GHESTEM Axel
Monsieur DREYFUSS Gilles – Maître de Conférences

PROFESSEURS:

BENEYTOUT Jean-Louis

BIOCHIMIE

BERNARD Michel

PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE

BOSGIRAUD Claudine

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
PARASITOLOGIE

BROSSARD Claude

PHARMACOTECHNIE

BUXERAUD Jacques

CHIMIE ORGANIQUE
CHIMIE THERAPEUTIQUE

CHULIA Albert

PHARMACOGNOSIE

CHULIA Dominique

PHARMACOTECHNIE

DELAGE Christiane

CHIMIE GENERALE ET MINERALE

GHESTEM Axel

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE

HABRIOUX Gérard

BIOCHIMIE FONDAMENTALE

LACHATRE Gérard

TOXICOLOGIE

LEFORT DES YLOUSES Daniel

PHARMACIE GALENIQUE

MOESCH Christian

HYGIENE

LOUDART Nicole

PHARMACODYNAMIE

PENICAUT Bernard

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

RABY Claude

PHARMACIE CHIMIQUE ET CHIMIE ORGANIQUE

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur A. NICOLAS,
Service de Bactériologie-Virologie-
Parasitologie,

*Nous sommes très sensible à l'honneur
que vous nous avez fait en acceptant
de présider ce Jury de soutenance.*

*Veillez accepter l'expression
de notre profond respect.*

A notre Directeur de Thèse

Monsieur le Docteur G. DREYFUSS,
Maître de Conférences,
Service de Bactériologie-Virologie-
Parasitologie,

*Vous nous avez fait l'honneur
de diriger ce travail.*

*Nous vous remercions pour l'intérêt
que vous y avez porté.*

*Nous vous exprimons ici
notre gratitude respectueuse.*

A nos Juges

Mademoiselle le Professeur M.L. DARDÉ,
Chef de Service,

Service de Parasitologie,
Faculté de Médecine,

Madame le Docteur C. VAREILLE-MOREL
Maître de Conférences,

Service de Biologie Animale,
Faculté des Sciences.

*Nous vous sommes très reconnaissante
d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Nous vous exprimons nos
sincères remerciements.*

A

Monsieur le Docteur D. RONDELAUD,
Maître de Conférences,

Laboratoire d'Histologie,
Faculté de Médecine,

*Vous avez bien voulu nous suivre
au cours de la réalisation de ce travail.*

*Nous vous remercions pour l'aide
et les conseils dont vous nous avez
entourée sur le terrain et lors de
la rédaction de ce manuscrit.*

*Nous vous exprimons
notre gratitude respectueuse.*

A ma famille,

*pour le soutien qu'elle a su
m'apporter tout au long de mes études.*

A mes amis.

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE PREMIER: Rappels généraux	3
I. - <i>Fasciola hepatica</i> et son cycle	3
A. Présentation du parasite	3
B. Cycle évolutif du parasite	6
II. - Le parasite chez son hôte définitif	7
A. Les diverses espèces qui servent d'hôte	7
B. Les effets du parasitisme chez cet hôte	9
1. Période d'incubation	9
2. Période d'invasion	9
3. Période d'état	11
III. - Le parasite chez son hôte intermédiaire	11
A. Les espèces concernées	11
B. L'évolution des formes larvaires	13
C. Les effets du parasite chez cet hôte	17
1. Données générales	17
2. Cas particulier des juvéniles	19

	Pages
IV. - <i>Myxas glutinosa</i> Müller 1774	19
A. Position systématique	19
B. Morphologie de la coquille	22
C. Quelques données biologiques	22
V. - Commentaires	23
CHAPITRE DEUXIÈME: Matériel et méthodes	25
I. - Les mollusques	25
A. Stations de récolte	25
B. Déroulement des prospections	27
C. Transport des mollusques et maintenance ultérieure	28
II. - Les parasites	28
III. - Protocole expérimental	30
IV. - Méthodologie	31
A. Technique d'élevage des limnées	31
B. L'exposition des mollusques aux miracidiums	32
C. Suivi des émissions cercariennes	32
D. Technique histologique	32
V. - Paramètres utilisés	33
A. Émissions cercariennes	33
B. Charge parasitaire	35
VI. - Expression des résultats	35
A. Émissions cercariennes	35
B. Charge parasitaire <i>post-mortem</i>	35
CHAPITRE TROISIÈME: Résultats	37
I. - Répartition des limnées selon leur infestation	37
II. - Caractéristiques générales de l'infestation fasciolienne	40
III. - Les caractéristiques des émissions cercariennes	41
IV. - La charge parasitaire restant dans le mollusque	43
V. - Productivité parasitaire	45

	Pages
CHAPITRE QUATRIÈME: Commentaires	48
I. - Synthèse des résultats	48
II. - Discussion	49
A. La survie des mollusques	49
B. La fréquence des limnées avec ou sans émission	52
C. Les autres caractéristiques de l'infestation fasciolienne	54
D. Les caractéristiques des émissions cercariennes	56
E. La charge parasitaire restant dans le mollusque mort	57
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES	58
BIBLIOGRAPHIE	60

-oOo-

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La distomatose à *Fasciola hepatica* est une parasitose hépato-biliaire. Le plus souvent de nature endémique, elle affecte aussi bien l'homme que l'animal. C'est une maladie des zones tempérées mais on peut la rencontrer sous d'autres latitudes.

Le cycle de *F. hepatica* nécessite deux hôtes. L'un est définitif et assure le développement du parasite adulte. L'autre est un mollusque qui joue le rôle d'hôte intermédiaire et permet la multiplication des formes larvaires.

Plusieurs espèces de mollusques peuvent intervenir dans le cycle évolutif du parasite. Elles appartiennent essentiellement à la famille des *Lymnaeidae*. La plus connue est *Lymnaea truncatula*. Cette espèce permet le développement complet du parasite quelle que soit la hauteur de la coquille lors de l'exposition aux miracidiums (revue d'EUZEBY, 1971).

Le rôle des autres limnées a fait l'objet de nombreuses controverses. Si l'on considère les espèces qui vivent sur le territoire français, plusieurs d'entre elles comme *L. glabra* ou *L. palustris* ne peuvent assurer l'évolution des *parthenitae* (formes larvaires) que si elles sont exposées aux miracidiums dès leur naissance. D'autres comme *L. auricularia* permettent un développement limité du parasite jusqu'au stade rédie. Enfin, certaines espèces comme *Myxas glutinosa* n'ont jamais été évaluées sur leur aptitude comme hôte intermédiaire dans le cycle évolutif du parasite.

Nous nous sommes proposé d'apporter une contribution en vérifiant le point précité.
La problématique était la suivante:

- *M. glutinosa* peut-elle assurer le développement complet des formes larvaires lorsqu'elle est exposée aux miracidiums de *F. hepatica* ?

- Existe-t-il un seuil pour le développement des *parthenitae* et, dans l'affirmative, quelle est la hauteur de coquille concernée ?

Nous avons réalisé une expérience pour répondre aux questions précitées. Les résultats de ces essais sont regroupés dans le présent mémoire de thèse.

Nous avons adopté le plan suivant:

- Le premier chapitre porte sur des rappels généraux en rapport avec le cycle évolutif du parasite et le mollusque hôte. Quelques données sont fournies dans le quatrième paragraphe sur *M. glutinosa*.

- Le chapitre deuxième traite du matériel animal, du protocole d'étude, de la méthodologie et des paramètres utilisés.

- Les résultats de notre expérience sont présentés dans le chapitre troisième.

- Enfin, le dernier chapitre regroupe une synthèse de nos résultats et leur discussion par rapport aux données de la littérature.

RAPPELS GÉNÉRAUX

Le premier paragraphe de ce chapitre est consacré à un rappel sur le cycle évolutif de *Fasciola hepatica*. La subdivision suivante porte sur le mollusque hôte et l'évolution des formes larvaires chez ce dernier. Le troisième temps établit une revue de nos connaissances sur *M. glutinosa*. Enfin, le dernier paragraphe porte sur quelques commentaires personnels.

I. - *Fasciola hepatica* ET SON CYCLE.

A. PRÉSENTATION DU PARASITE.

La Grande Douve du Foie, dénommée *F. hepatica* d'un point de vue scientifique, est un Trématode de grande taille (2 à 3 cm de longueur). Ce parasite se trouve habituellement dans le bétail ou les Mammifères sauvages mais il peut évoluer aussi chez l'homme en déterminant la fasciolose (ou distomatose hépatique à *F. hepatica*).

Sa position systématique¹ est la suivante:

- Embranchement des Plathelmintha,
- Classe des Trematoda,
- Ordre des Echinostomida,

¹ - d'après GRASSÉ (1961).

Cycle de la grande douve

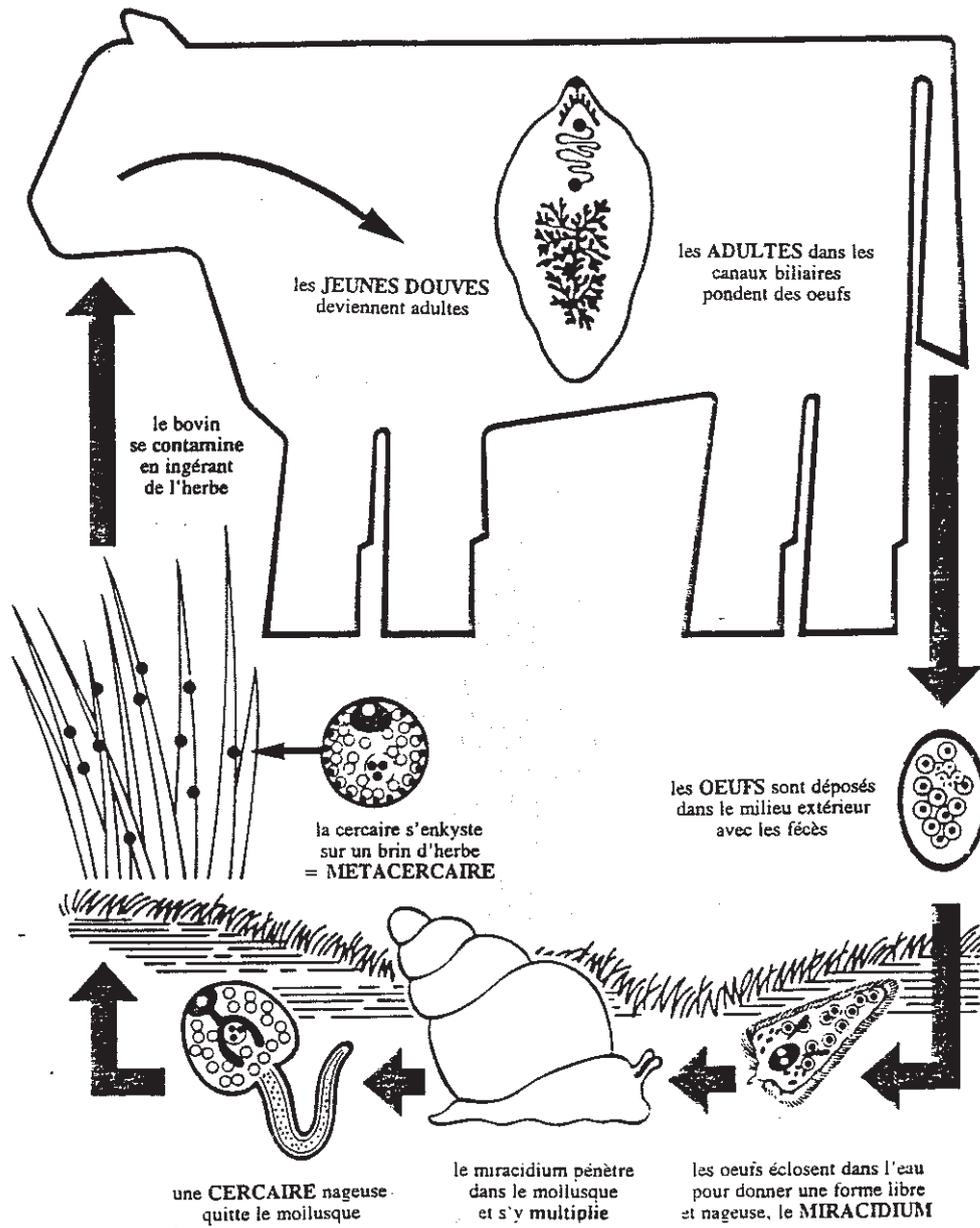


Figure 1.
Cycle évolutif de *F. hepatica*.
Document original.

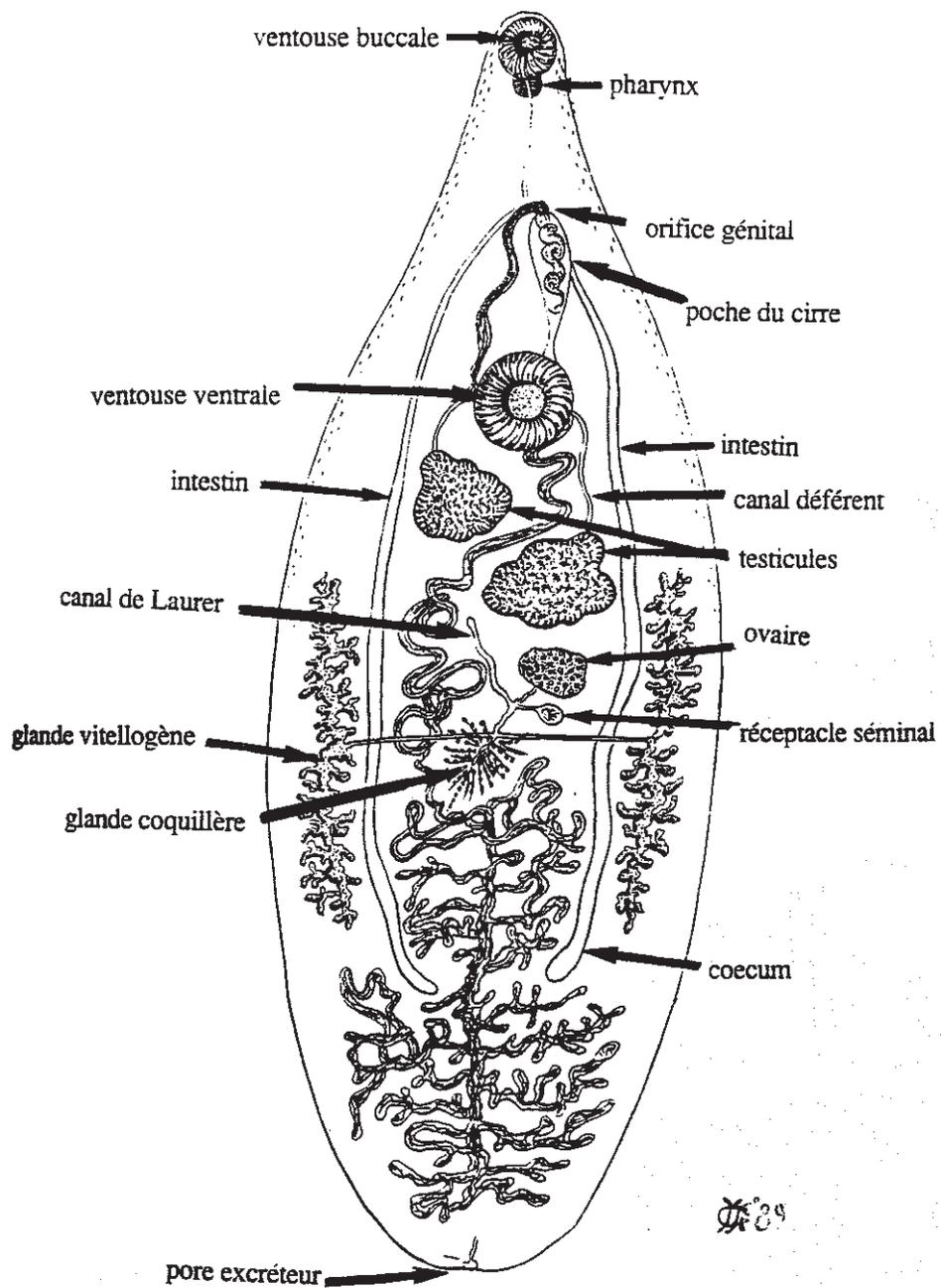


Figure 2.
 Représentation schématique de *F. hepatica* adulte
 (d'après GOLVAN, 1990).

- Famille des *Fasciolidae*,
- Genre *Fasciola*,
- Espèce *hepatica* Müller 1774.

B. CYCLE ÉVOLUTIF DU PARASITE².

Deux hôtes successifs sont nécessaires au développement de ce Trématode. Le premier est appelé "hôte définitif" et héberge les formes adultes. Le second est "l'hôte intermédiaire" et on y retrouve les différents stades larvaires.

Le cycle (figure 1) peut se diviser en quatre étapes:

- Première étape: dans l'hôte définitif.

Les adultes (figure 2) vivent dans les canaux biliaires et y pondent. Les oeufs sont véhiculés par la bile jusqu'à l'intestin et sont expulsés avec les selles de l'hôte. Les pontes sont rares dans les fèces humaines car c'est un hôte accidentel, parasité par quelques douves; par contre, les oeufs sont nombreux dans les déjections du bétail qui est fortement contaminé (EUZEBY, 1971).

- Deuxième étape: dans le milieu extérieur.

Lorsque les oeufs sont disséminés dans la nature, ils ne sont pas embryonnés; la segmentation se fait dans l'eau et aboutit à la formation d'une larve ciliée, le miracidium. Elle nage dans l'eau à la rencontre d'un hôte intermédiaire spécifique, à savoir un mollusque Gastéropode aquatique du genre *Lymnaea*³.

- Troisième étape: dans l'hôte intermédiaire.

Le miracidium pénètre dans le mollusque, essentiellement par les parties latérales du pied ou le manteau. Il se transforme en un sporocyste où se différencient des masses germinatives à l'origine des rédies de première génération. Ces dernières migrent dans la glande digestive du mollusque et donnent naissance à des rédies

² - Les données rapportées dans ce paragraphe proviennent de l'analyse des livres suivants: BORAY, 1969; EUZEBY, 1971; JACQUEMIN et JACQUEMIN, 1974; GOLVAN, 1990.

³ - Le nom de ce genre peut être écrit sous la forme anglo-saxonne (*Lymnaea*) ou sous la forme française (*Limnaea*).

filles de deuxième génération avant de former de nombreuses cercaires (RONDELAUD et BARTHE, 1978a).

La polyembryonie permet d'obtenir, à partir d'un seul miracidium, plusieurs centaines de cercaires qui sont émises dans le milieu extérieur.

- Quatrième étape: dans le milieu extérieur.

Les cercaires nagent pour se fixer sur un support immergé (plante aquatique, quelquefois pierre) sur lequel elles s'immobilisent et se transforment en métacercaires. Il existe également des kystes flottants. La métacercaire est une forme de résistance permettant la contamination de l'hôte définitif lorsque ce dernier l'ingère.

L'infestation se fait toujours par voie buccale et est donc liée aux habitudes alimentaires de la population humaine locale. La jeune douve (ou douvule) se libère de son kyste sous l'effet de la mastication et des sucs digestifs de l'hôte. Elle migre d'abord dans le parenchyme hépatique avant de gagner les canaux biliaires où elle s'installe et devient adulte.

II. - LE PARASITE CHEZ SON HÔTE DÉFINITIF.

A. LES DIVERSES ESPÈCES QUI SERVENT D'HÔTE.

Dans les conditions naturelles, les espèces affectées par *F. hepatica* sont nombreuses et varient selon les pays.

L'hôte définitif est un Mammifère mais la prévalence diffère selon la qualité de l'hôte. Le régime alimentaire semble être un facteur déterminant. Les bovins et les ovins sont les réservoirs principaux. La chèvre est peu atteinte de même que les équins ou le porc.

Les Ruminants sauvages et les Léporidés sont réceptifs au parasite. D'après EUZEBY (1971), ils sont "moins exposés".

L'homme peut également héberger le parasite. Il se substitue à l'animal accidentellement ou par des coutumes alimentaires (consommation de cresson, de pissenlit ou de mâche). L'ingestion de ces crudités sauvages s'effectue le plus souvent dans les mois d'hiver, au cours de réunions familiales. La fasciolose est donc de nature endémique, avec un caractère familial marqué.

Période	Durée	Développement du parasite	Localisation dans le corps	Rôle pathogène	Clinique
Incubation	Quelques jours à quelques semaines	La métacercaire se désenkyste et donne naissance à une jeune douve	De la bouche à l'intestin	Néant	Muette
Invasion	Deux à trois mois	Développement jusqu'à la maturation sexuelle	Déplacement jusqu'au foie et migrations dans le parenchyme hépatique	Toxi-infection	Hépatite toxi-infectieuse + altération de l'état général, allergie, ... Hyperéosinophilie.
État	Quelques mois à quelques années	Ponte des adultes	Canaux biliaires du foie	-	Angiocholite ou épisodes pseudo-lithiasiques Éosinophilie < 10 %. Légère anémie.

Tableau I.

Les trois phases de la maladie chez l'homme
(d'après JACQUEMIN et JACQUEMIN, 1974; FRUT, 1981; GOLVAN, 1990).

B. LES EFFETS DU PARASITE CHEZ CET HÔTE.

L'homme ou les espèces animales se contaminent en ingérant des métacercaires. L'enveloppe du kyste est détruite lors de la migration du parasite dans le tube digestif de ces hôtes. Les jeunes douves sont donc libres dans le duodénum et traversent la paroi à ce niveau. Elles gagnent la cavité péritonéale et pénètrent le plus souvent dans le foie en perforant la capsule de Glisson. Certaines douvules sont erratiques et peuvent s'observer dans des organes variées comme la rétine de l'oeil ou le derme de la peau (CAILLAULT, 1993).

Les jeunes douves effectuent des migrations dans le parenchyme de l'hôte, puis gagnent les canaux biliaires où elles deviennent matures. Ces déplacements permettent de caractériser trois phases (tableau I) dans l'évolution de la maladie, qu'elle soit humaine ou animale:

1. Période d'incubation.

Sa durée est variable: de quelques jours à quelques semaines après l'ingestion des métacercaires.

C'est une phase muette qui correspond au désenkystement du parasite et à l'arrivée des jeunes douves dans le parenchyme hépatique.

2. Période d'invasion.

Sa durée est de 2 à 3 mois. Elle correspond à la migration des larves dans le parenchyme hépatique.

Des signes cliniques se manifestent. On constate une asthénie importante, suivie d'une hépatite toxi-infectieuse (EUZEBY, 1971) marquée par une hépatomégalie, des douleurs spontanées au niveau de l'hypochondre droit et de l'épigastre, une fièvre modérée à 38° C.

D'autres signes peuvent se rencontrer tels qu'une altération de l'état général avec amaigrissement et des signes allergiques (urticaire, prurit, ...).

Les examens biologiques montrent la présence d'une leucocytose élevée avec hyperéosinophilie. Ces signes indiquent l'existence d'une helminthose récente.

Nature de l'hôte	Espèce	Définition	Observations
Préférentiel	<i>Lymnaea truncatula</i> Müller	S'infeste à tout âge et assure le développement complet du parasite.	On ne connaît pas de races réfractaires au parasite.
Accidentels ^a	<i>Lymnaea glabra</i> Müller, <i>L. palustris</i> Müller, <i>L. peregra</i> Müller, <i>L. ovata</i> Draparnaud, <i>L. stagnalis</i> Linné.	Ces espèces ne peuvent assurer le développement du parasite que s'ils sont infestés à la naissance.	Il existe une hauteur seuil (2 mm en général) au-delà de laquelle le mollusque ne s'infeste plus.
Accidentel au laboratoire	<i>Bulinus truncatus</i> Audouin.	Mêmes caractéristiques que ci-dessus.	Il s'agit d'une souche élevée depuis plus de 10 ans au laboratoire.
Non hôtes	<i>Lymnaea auricularia</i> Linné, <i>Aplexa hypnorum</i> Linné, <i>Physa acuta</i> Draparnaud, <i>Planorbis leucostoma</i> Millet.	Le parasite pénètre chez ces mollusques et ne s'y développe pas chez trois espèces ou bien s'arrête au stade rédie chez <i>L. auricularia</i> .	La présence de ces espèces dans le milieu naturel peut jouer un effet leurre en détournant les miracidiums de l'hôte préférentiel.

^a. L'infestation expérimentale de ces espèces a été réalisée dans les conditions du laboratoire mais elles peuvent également se parasiter dans le milieu naturel comme en témoignent les observations de BOUIX-BUSSON et RONDELAUD (1985, 1986) sur *L. glabra* ou encore de DREYFUSS *et al.* (1994) sur *L. palustris* pour le Limousin.

Tableau II.

Les principaux Pulmonés de l'Europe de l'Ouest et leur rôle dans le cycle évolutif de *F. hepatica*.

Ce tableau a été constitué à partir des travaux suivants:

KENDALL (1950), BERGHEN (1964), FURMAGA et GUNDLACH (1969), WILLOMITZER (1974a, b), BUSSON *et al.* (1982), BARTHE et RONDELAUD (1986).

3. Période d'état.

Elle survient après une accalmie brève et correspond à la présence des parasites adultes dans les canaux biliaires de l'hôte.

Les manifestations cliniques témoignent de troubles toxiques mais aussi d'obstacles qui entravent l'écoulement du flux biliaire. Les premiers signes sont dus aux excréments ou aux sécrétions des jeunes douves qui se révèlent toxiques, voire allergisantes. Les seconds sont dus à l'obstruction des voies biliaires, ce qui entraîne des coliques hépatiques ou des poussées d'ictère. Un tableau d'angiocholite est fréquent. Cependant, les formes frustes sont assez communes.

L'hémogramme montre une hyperéosinophilie comprise entre 5 et 8 %. On peut retrouver une légère anémie.

III. - LE PARASITE CHEZ SON HÔTE INTERMÉDIAIRE.

A. LES ESPÈCES CONCERNÉES.

Diverses espèces sont concernées par ce rôle mais il s'agit toujours de Gastéropodes Pulmonés Basommatophores appartenant au genre *Lymnaea* (revue d'EUZEBY, 1971). Le tableau II précise le rôle de ces espèces pour l'Europe de l'Ouest.

L'hôte intermédiaire préférentiel de *F. hepatica* appartient au sous-genre *Galba*. Il s'agit de *L. (Galba) truncatula*.

Certaines espèces comme *Lymnaea glabra*, *L. palustris*, *L. peregra ovata* et *L. stagnalis* ne peuvent se parasiter que dans leur jeune âge. KENDALL (1950) les désigne sous le terme d'hôtes anormaux tandis que BUSSON *et al.* (1982) les qualifie comme des hôtes accidentels.

Le passage du statut d'hôte accidentel à celui de vecteur préférentiel est possible dans certains pays. C'est ainsi que sont mises en cause *L. peregra* en Roumanie ou encore *L. occulta* en Pologne et Tchécoslovaquie.

D'autres Gastéropodes Pulmonés n'appartenant pas au genre *Lymnaea* peuvent être pénétrés par les miracidiums mais ils n'assurent pas le développement des formes larvaires. Ce sont des mollusques non hôtes.

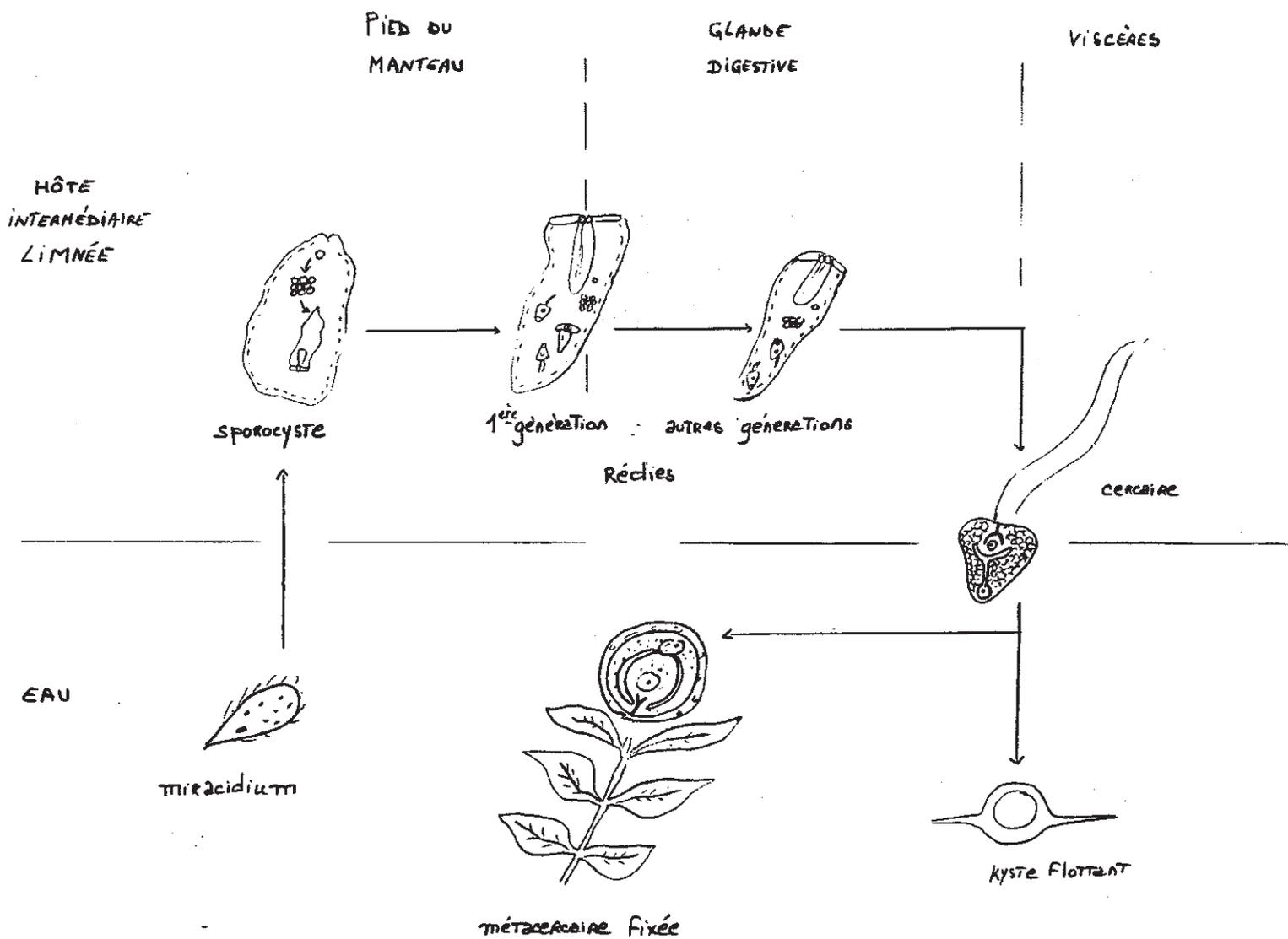


Figure 3.
L'évolution des formes larvaires de *F. hepatica*
chez l'hôte intermédiaire.

B. L'ÉVOLUTION DES FORMES LARVAIRES⁴.

Elle est schématisée sur la figure 3.

Le miracidium dispose de 24 heures pour trouver l'hôte intermédiaire. Il pénètre au niveau du manteau ou du pied à l'aide de sécrétions enzymatiques et migre dans les lacunes et les sinus hémolymphatiques avant de se fixer dans un site préférentiel. Au cours de ses déplacements, le parasite se transforme progressivement en un sporocyste sacciforme, à contours irréguliers. Sa taille maximale est de l'ordre de 500 à 700 μm .

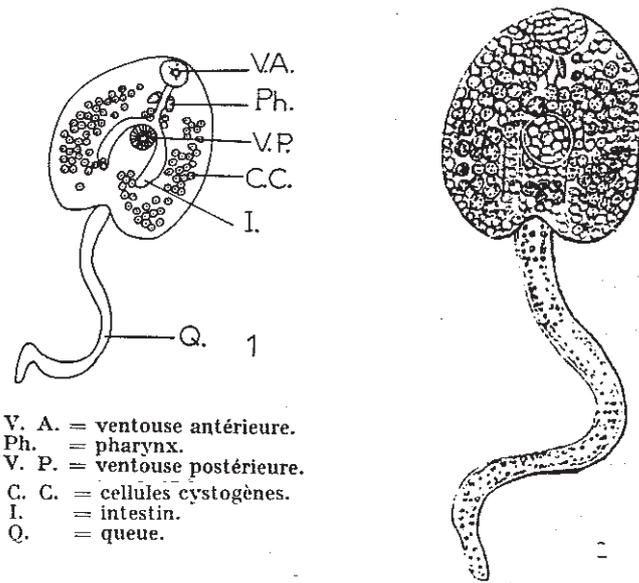
Les cellules germinales déjà présentes au stade miracidium se multiplient activement, forment des morulas et chacun de ces éléments évolue en rédie. Chaque sporocyste donne une dizaine de rédies qui constituent la première génération.

Les rédies ont une forme allongée, cylindrique. Elles sont très mobiles grâce à leurs appendages. Dans le sporocyste, leur taille ne dépasse pas 300 μm . Après leur sortie, elles migrent vers la glande digestive de la limnée où elles s'installent pour la plupart au 14^e jour après l'exposition aux miracidiums (à 20° C). Dans ce site, elles augmentent en longueur jusqu'à 2 ou 3 mm.

Les cellules germinales intra-rédiennes donnent naissance à des rédies filles qui constituent une seconde génération, puis à des cercaires. Il en est même pour la seconde génération de rédies. Le nombre maximum de générations dans le mollusque est de trois, parfois de quatre.

Les cercaires comportent une région antérieure semi-ovale (corps) comportant deux ventouses (orale, ventrale) et contenant différents organes comme les cellules cystogènes ou des cellules à flamme vibratile qui jouent un rôle excréteur. L'autre partie est une queue qui assure la mobilité de la larve. L'ensemble est enveloppé d'une cuticule couverte de petites épines et de sensilles pouvant atteindre 15 μm de long. Le diamètre du corps est de 300 à 350 μm et la longueur de la queue peut atteindre 700 μm .

⁴ - Les éléments de ce paragraphe proviennent de l'analyse des documents suivants: THOMAS, 1883; KENDALL et McCULLOUGH, 1951; DAWES, 1959, 1960; SAINT-GUILLAIN, 1968; HODASI, 1972; RONDELAUD et BARTHE, 1978a, 1982a, b, 1987b; BUSSON et al., 1982; BUZZELL, 1983; BOUIX-BUSSON et al., 1985; AUDOUSSET, 1989; AUDOUSSET et al., 1989; PREVERAUD-SINDOU et al., 1994.



V. A. = ventouse antérieure.
 Ph. = pharynx.
 V. P. = ventouse postérieure.
 C. C. = cellules cystogènes.
 I. = intestin.
 Q. = queue.

Figure 4.
 Vue générale de la cercaire (d'après THOMAS, 1883).

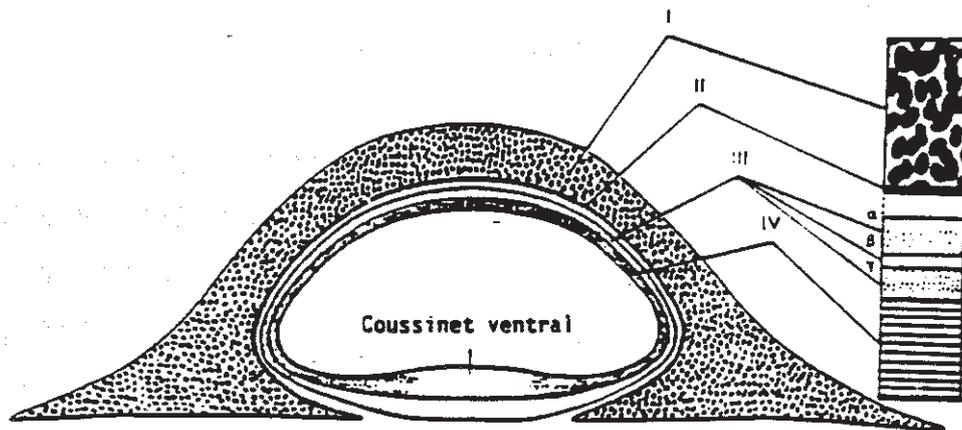


Figure 5.
 Le kyste métacercarien de *F. hepatica* (d'après MERCER et DIXON, 1967).
 Les quatre assises (I, II, III, IV) et les trois composantes de l'assise III
 sont indiquées sur ce schéma.

La figure 4 montre un schéma de cette cercaire. On peut y reconnaître les deux ventouses orale et ventrale.

La durée totale du développement chez l'hôte intermédiaire est de 42 jours à la température constante de 25° C. A 20° C, cette durée est de 20 jours (RONDELAUD et BARTHE, 1978a).

La plupart des cercaires sortent du mollusque dans le milieu extérieur au cours de la nuit avec un optimum vers minuit-1 heure du matin. L'émission des parasites s'effectue au niveau de la région qui entoure l'anus de l'animal. Ces cercaires forment deux types de métacercaires:

- Les premières sont fixées sur un substrat, le plus souvent végétal. Leur diamètre se situe entre 250 et 300 μm .

- Les secondes flottent à la surface d'une eau stagnante mais dans le cas d'une eau courante, elles tombent rapidement au fond (VAREILLE-MOREL *et al.*, 1993). Les kystes sont entourés d'une collerette présentant des lacunes aérifères, ce qui leur permet une certaine flottabilité. Le diamètre de l'ensemble avoisine 300 à 350 μm .

La structure des kystes fixés (fig. 5) a été particulièrement étudiée par DIXON (1966), MERCER et DIXON (1967). La paroi comprend deux couches, chacune d'entre elles étant composée de deux assises. La couche la plus externe permet au kyste d'adhérer au support dans le cas des métacercaires fixées; elle comprend les lacunes aérifères pour les flottantes. La couche interne est séparée de la précédente et permet une certaine mobilité pour le parasite à l'intérieur de son kyste.

La survie des métacercaires dépend des conditions climatiques. Elle atteint plus de dix semaines en hiver pour les kystes fixés (MEEK et MORRIS, 1979) et 8 mois à 20° C dans les conditions du laboratoire (ONO *et al.*, 1954). D'autres auteurs comme BORAY et ENIGK (1964) rapportent que les kystes ne sont pas tués mais qu'ils perdent leur pouvoir infectant lorsqu'ils sont exposés au-dessous de 0° C. Dans le contexte du Limousin, la survie des kystes est généralement de 6 mois (MAGE, 1988).

Lors de l'ingestion des kystes par l'hôte définitif, le parasite sort de son enveloppe en fracturant le coussinet ventral. Cette cercaire va se développer pour donner la fasciole adulte.

Paramètre	Impact des <i>parthenitae</i>	Références
Durée de vie	Elle est habituellement plus faible que celle de témoins non parasités	EUZEBY, 1971.
Hauteur de la coquille	Des cas de gigantisme ont été décrits chez certains mollusques parasités. La coquille est plus mince et plus fragile.	EUZEBY, 1971.
Fécondité	Les pontes du mollusque diminuent en nombre et en taille avant de disparaître. Elles peuvent reprendre chez certaines limnées après la phase de reconstitution mais elles sont toujours limitées.	EUZEBY, 1971; DOM, 1994; DUPERRON, 1994.
Impact sur les viscères	Une vague de nécrose touche l'épithélium de plusieurs organes cibles (glande de l'albumine, glande digestive, gonade, rein). Elle est suivie d'une phase de reconstitution et le cycle nécrose-reconstitution peut se dérouler à nouveau si le parasite est toujours présent. La gonade peut s'atrophier totalement.	RONDELAUD et BARTHE (1978b, 1980, 1983); SINDOU (1989); SINDOU <i>et al.</i> (1991).
Impact sur les ganglions nerveux	Modifications dans le volume des ganglions pédieux et dans le lobe dorsal des ganglions cérébroïdes chez les mollusques parasités. Perte neuronale chez les mêmes ganglions. Hypertrophie de certains neurones et lyse ultérieure.	SZMIDT (1993)

Tableau III.
Les effets des *parthenitae* de *F. hepatica* sur la physiologie de *L. truncatula* adulte (d'après les observations de plusieurs auteurs).

C. LES EFFETS DU PARASITE CHEZ CET HÔTE.

Ils sont de plusieurs types chez l'hôte intermédiaire. Si l'on considère les travaux parus sur *F. hepatica*, on constate qu'ils ont été surtout étudiés chez *L. truncatula* adulte. D'autres travaux ont porté sur des mollusques juvéniles et des caractéristiques particulières à ce stade s'ajoutent aux effets généraux connus chez les adultes.

1. Données générales.

Le tableau III regroupe les données que l'on connaît sur l'impact de *F. hepatica* sur la biologie de *L. truncatula* lorsque le mollusque est exposé aux miracidiums au stade de préadulte, c'est-à-dire à la hauteur de 4 mm.

La lecture de ce tableau permet de dégager deux notions importantes:

- les *parthenitae* du Trématode effectuent une "castration" du mollusque hôte en raison de leur nombre. La gonade s'atrophie progressivement avec nécrose de l'épithélium germinal et disparaît pratiquement. Dans quelques cas, les rédies pénètrent même à l'intérieur de la glande et ingèrent le contenu ce qui aboutit à une disparition complète de la fonction reproductrice.

Il en résulte une chute dans le nombre des pontes. Celles-ci manquent souvent à partir de la quatrième semaine d'infestation à 20° C. Elles ne reprennent que chez quelques individus à la 8^e ou 9^e semaine mais leur nombre est toujours limité: il s'agit des limnées avec une gonade présentant un épithélium germinal reconstitué.

- Ce retentissement sur les viscères du mollusque hôte n'est pas limité à la gonade car on le retrouve sur d'autres organes comme la glande de l'albumine, la glande digestive ou le rein. Les effets sont aussi importants car les tubules de la glande digestive arrêtent leur croissance jusqu'à l'émission des cercaires et les lamelles du rein sont souvent éliminées aboutissant à un viscère à fonction réduite. Cet impact se retrouve même au niveau de deux ganglions nerveux avec des modifications dans les dimensions et une perte neuronale.

Le gigantisme constaté chez certains mollusques hôtes n'a pas été retrouvé par tous les auteurs et il semble que ce processus affecte seulement certains individus au sein d'une même population. La fragilité de la coquille est, par contre, un processus général qui se retrouve chez toutes les limnées lorsqu'elles sont parasitées par le Trématode *F. hepatica*.

Paramètre	Impact des <i>parthenitae</i>	Références
Mortalité des mollusques	Elle est toujours importante dans les premières semaines après l'exposition: 80 % de pertes s'observent en général chez toutes les espèces lorsqu'elles sont exposées aux miracidiums dès leur naissance.	BUSSON, 1981; BOUIX-BUSSON, 1983.
Durée de vie et croissance de la coquille	La durée de vie est fortement réduite par rapport à celle de témoins. La croissance est toujours limitée.	BUSSON, 1981; BUSSEON <i>et al.</i> , 1982.
Impact sur les viscères	Atrophie totale de la gonade et de la glande de l'albumine. La nécrose épithéliale et la reconstitution dans la glande digestive et le rein sont identiques à celles des adultes.	BOUIX-BUSSON, 1983; BOUIX-BUSSON <i>et al.</i> , 1985.

Tableau IV.
Les principales modifications que l'on observe chez les limnées lorsqu'elles sont exposées aux miracidiums dès leur naissance ou à l'état juvénile.

2. Cas particulier des juvéniles.

Nous avons regroupé sur le tableau IV les principaux effets que les parthenitae de *F. hepatica* produisent chez des nouveau-nés et des juvéniles de cinq espèces lorsque les limnées sont exposées aux miracidiums:

- la mortalité des limnées sous l'impact du parasite est toujours importante. Elle se produit essentiellement dans les deux premières semaines après l'exposition aux miracidiums.

- la durée de vie et la croissance de la coquille sont réduites. Les animaux infestés sont toujours de petite taille (moins de 4 mm) ce qui pose des difficultés lorsqu'on les recherche sur le terrain. Cependant DREYFUSS *et al.* (1994) montrent que la coquille des *L. palustris* parasitées par *F. hepatica* devient de plus en plus grande au cours des années lorsque la population de limnées est soumise à un contact régulier avec le parasite sur plusieurs années successives.

- l'impact sur les viscères est particulièrement important. La glande de l'albumine et la gonade deviennent atrophiques avec nécrose totale de l'épithélium, tout au moins chez des mollusques qui ont été exposés aux miracidiums dès leur naissance. Les deux autres organes (glande digestive, rein) subissent une nécrose épithéliale, suivie d'une reconstitution comme les processus observés chez les limnées adultes.

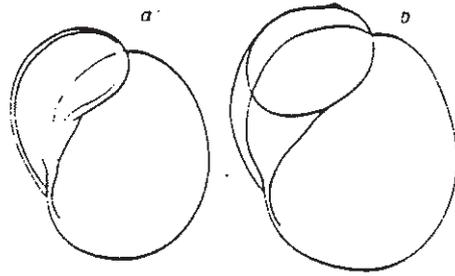
IV. - *Myxas glutinosa* Müller 1774.

Comme nous l'avons déjà signalé dans l'introduction générale, ce mollusque n'a jamais été étudié dans la littérature pour son rôle comme hôte intermédiaire dans le cycle évolutif de *F. hepatica*. C'est la raison pour laquelle nous présentons dans les paragraphes ci-dessous les données morphologiques et biologiques que l'on possède sur cette espèce.

A. POSITION SYSTÉMATIQUE.

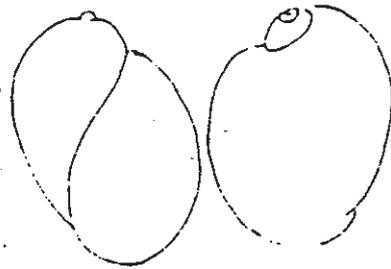
Le statut de cette espèce est encore ambigu à l'heure actuelle. Elle fait partie de la famille des *Lymnaeidae* mais les auteurs la classent dans le genre *Lymnaea* (HUBENDICK, 1951) ou dans le genre *Myxas* (ROSZKOWSKI, 1929). C'est sous cette dernière dénomination que l'on retrouve cette limnée dans les faunes actuelles (BOGON, 1990 par exemple).

6a



Lymnaea glutinosa. — a, neighbourhood of Örebro, Närke, Sweden, 14. — b, Scania, Sweden, 17.

6b



Uvula aculeata

6c

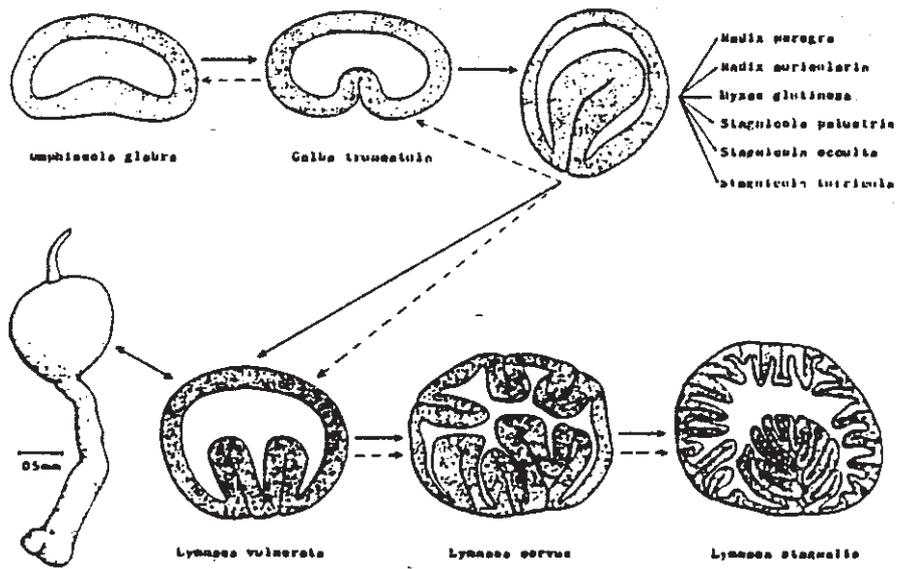


Figure 6.

Quelques caractéristiques sur *M. glutinosa*:

- Morphologie de la coquille d'après HUBENDICK, 1951 (6a) et POSTAL, 1984 (6b).
- Coupe transversale de la prostate d'après JACKIEWICZ, 1992 (6c).

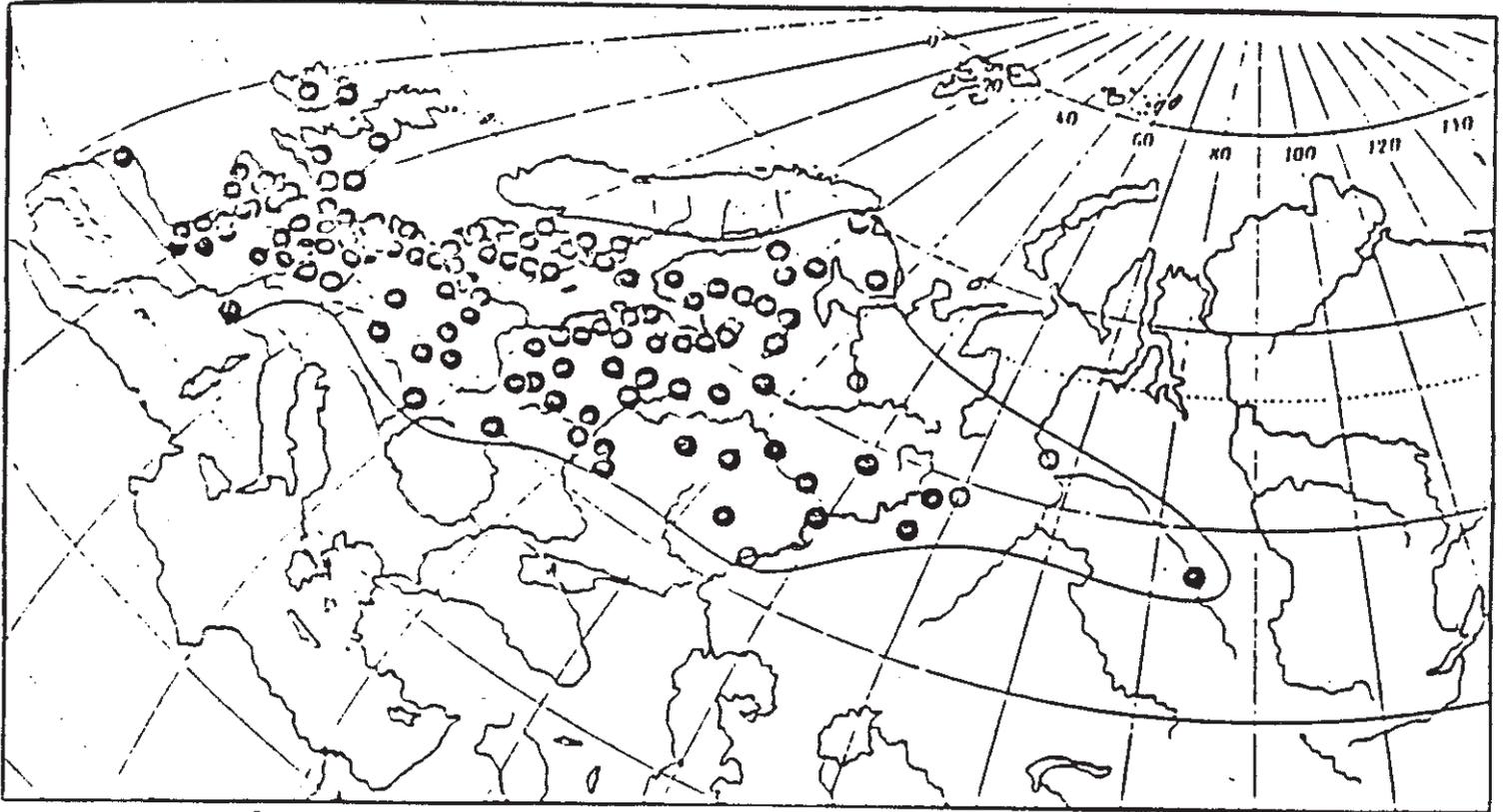


Figure 7.
Distribution de l'espèce dans le monde
d'après HUBENDICK, 1951.

Le caractère qui sépare les deux genres repose sur la morphologie du manteau. D'après GERMAIN (1931), le manteau de *M. glutinosa* est très développé et recouvre presque toute la coquille alors que dans le genre *Lymnaea*, le manteau est peu développé et ne peut pas recouvrir la coquille. Ce critère de détermination se retrouve dans la description d'HUBENDICK (1951) lors de sa revue sur les Mollusques *Lymnaeidae*.

B. MORPHOLOGIE DE LA COQUILLE.

GERMAIN (1931) décrit cette espèce comme un animal "très grand, gris pâle parsemé de points d'un jaune doré assez apparents, de consistance gélatineuse, pourvu d'un manteau très mince, très développé, se repliant sur la face externe de la coquille qu'il recouvre à peu près entièrement".

Si l'on considère la coquille de cette limnée (fig. 6a, b), on constate qu'elle est globuleuse avec une spire obtuse, très courte, formée de 3 ou 4 tours assez convexes. Le dernier est très grand et forme presque toute la coquille.

Un critère utilisé par les auteurs repose sur la structure de la prostate (fig. 6c). Cependant d'après JACKIEWICZ (1992), le pli unique constaté chez cette espèce se retrouve chez d'autres limnées comme *L. palustris* ou *L. auricularia*.

C. QUELQUES DONNÉES BIOLOGIQUES.

La carte 7 montre que l'espèce vit dans la partie Nord-ouest de l'Europe. On la retrouve dans le Nord-ouest de l'Espagne, les Iles Britanniques et le nord de la Scandinavie à l'ouest jusqu'aux systèmes de drainage qui se jettent dans la rivière Ob à l'est.

La hauteur de la coquille s'étend jusqu'à 15 mm pour une largeur maximale de 12 mm. D'après GERMAIN (1931), les pontes oblongues sont constituées par des paquets de 30 à 40 oeufs et l'ensemble s'étend sur une longueur de 15-20 mm pour une largeur de 4 à 5 mm.

L'espèce habite les étangs, les fossés, les eaux tranquilles avec une eau pure et toujours dans les plantes aquatiques. C'est une espèce de plaine. Ces critères se retrouvent dans la zone que nous avons prospectée, à savoir le marais de Challans en Loire-Atlantique. Elle est peu répandue et ses colonies ont des effectifs faibles.

V. - COMMENTAIRES.

Les résultats présentés dans les paragraphes précédents peuvent se résumer de la manière suivante:

- Le cycle de *F. hepatica* nécessite l'intervention d'un mollusque hôte. Ce dernier est une limnée qui vit dans les milieux aquatiques.

- En France, le mollusque préférentiel est la Limnée tronquée. Elle est responsable de la fasciolose animale qui se rencontre dans les régions de basse et de moyenne montagne comme dans les systèmes d'irrigation.

- D'autres espèces interviennent comme hôtes intermédiaires dans le cycle évolutif de *F. hepatica* sous réserve d'une infestation dans les jours qui suivent la naissance. Ces mollusques appartiennent essentiellement à la famille des *Lymnaeidae*.

- A l'inverse de ces limnées, *M. glutinosa* n'a jamais été évaluée sur ses aptitudes comme hôte intermédiaire dans le cycle du parasite. Bien que cette espèce soit répandue dans l'Europe de l'Ouest, sa fréquence est faible et ses effectifs sont faibles.

La revue de la littérature parue sur cette espèce montre l'existence d'un certain nombre de lacunes. Nous rapportons ci-dessous les plus importantes:

- La limnée *M. glutinosa* est-elle capable d'assurer le développement des formes larvaires de *F. hepatica*. En effet, comme nous l'avons déjà signalée, cette espèce fait partie d'un genre différent (*Myxas*) bien qu'elle appartienne à la même famille.

- Existe-t-il des périodes préférentielles dans la vie du mollusque où ce dernier peut s'infester ? La revue de BORAY (1978) montre, en effet, que les mollusques peuvent assurer le développement des formes larvaires à tout âge ou au contraire dans les jours qui suivent leur naissance.

- Quelles sont les caractéristiques de l'infestation fasciolienne si le mollusque intervient comme hôte intermédiaire ? Ces dernières portent essentiellement sur les éventuelles émissions cercariennes.

- Quelle est la composition de la charge parasitaire et le nombre des rédies et cercaires restant dans le mollusque lorsque ce dernier meurt après une émission ?

Pour répondre en partie à ces questions, nous avons procédé à une expérimentation en soumettant des *M. glutinosa* aux miracidiums de *F. hepatica* dans les conditions du laboratoire. Plusieurs paramètres ont été étudiés au cours de ces essais. Ils se rapportent aux émissions cercariennes et à la charge parasitaire *post-mortem*.

Les résultats de cette expérience sont rapportés dans le chapitre troisième.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ce chapitre regroupe les informations qui sont utiles pour comprendre le déroulement de nos expériences.

Le matériel biologique est présenté dans le premier paragraphe. Les trois subdivisions suivantes se rapportent au protocole expérimental, aux techniques et aux paramètres utilisés. Le dernier temps est consacré à l'expression des résultats.

I. - LES MOLLUSQUES.

A. STATIONS DE RÉCOLTE.

Des *M. glutinosa* adultes ont été récoltées dans le marais de Challans, situé dans le département de la Loire-Atlantique. Le choix de cette région repose sur les indications de plusieurs auteurs:

- cette espèce a été observée à plusieurs reprises lors des prospections malacologiques que POSTAL (1984) a réalisées dans ce marais pour y rechercher les hôtes intermédiaires des paramphistomes locaux.

- la présence du mollusque a été notée plus récemment par BAUDET *et al.* (1988) lors de leur inventaire sur la malacofaune aquatique dans le marais breton-vendéen.

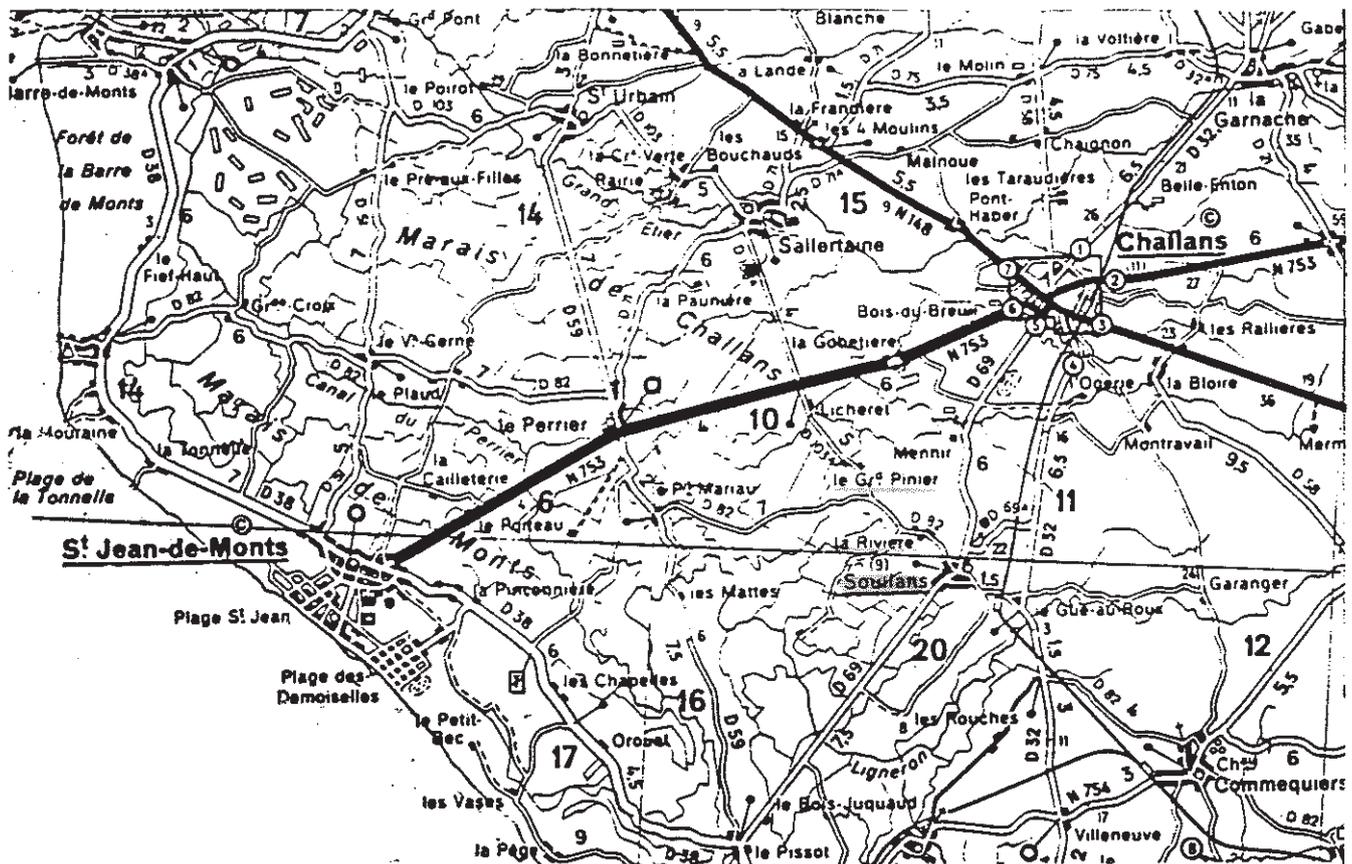


Figure 8.
 Les stations de *M. glutinosa* dans le marais de Challans (Loire-Atlantique).
 Les points noirs désignent les lieux de récolte.

Dates de prospection	Route D 69 (à proximité de Soullans)	La Rivière (route D 82)	Le Grand- Pinier (route D 82)	Route D 69A
28 juin 1992	3	11	1	0
7 juillet 1992	8	2	3	1
11 août 1992	5	7	1	7
11 mai 1993	12	2	3	16
13 juin 1993	3	5	9	0

Tableau V.
 Le nombre de *M. glutinosa* récoltées au cours des cinq sorties
 sur le terrain en 1992 et 1993.

Comme les conditions hydrologiques de ce marais sont particulières avec l'existence de trois zones (secteur côtier géré en eau salée, saumâtre et limnique), nous avons retenu la commune de Soullans pour effectuer nos prospections. Celles-ci ont été pratiquées sur les trois voies suivantes:

- la route D 69 depuis le bourg de Soullans jusqu'à la ville de Challans elle-même,
- la route D 69A jusqu'au croisement que cette voie forme avec la D 32.
- la route D 82 depuis le bourg de Soullans jusqu'au hameau du Grand-Pinier.

Ces trois voies et les quatre stations de récolte sont répertoriées sur la figure 8.

B. DÉROULEMENT DES PROSPECTIONS.

Cinq sorties ont été réalisées en 1992 et 1993 sur la commune de Soullans. Le tableau V donne les dates exactes de ces prospections.

Des prospections d'une heure chacune ont été pratiquées dans les fossés de drainage qui bordent les routes précitées. Deux cas de figure ont été retenus:

- Lorsque les fossés sont remplis d'eau, on prélève à l'aide d'un filet troubleau les lentilles d'eau qui sont présentes à la surface de l'eau ou encore les macrophytes immergés qui poussent sur le fond. Un tri des mollusques est alors effectué directement sur le terrain pour ne retenir que les *M. glutinosa*.

- Lorsque le fond des fossés est pratiquement à sec, les mollusques sont recherchés par une simple chasse à vue.

Le tableau V répertorie les nombres de *M. glutinosa* adultes que nous avons obtenues dans les quatre stations. Les chiffres sont faibles dans tous les cas (pour 20 heures de prospection) ce qui indique que les effectifs de l'espèce sont faibles dans ce milieu naturel.

Compte-tenu de l'habitat particulier où vivent ces limnées, nous avons recueilli dans chaque station:

- les macrophytes qui poussent dans les canaux,
- le sédiment d'origine (marneux) et l'eau courante qui circule dans ces habitats.

Cette dernière est stockée dans des bidons pour être transportée au laboratoire.

C. TRANSPORT DES MOLLUSQUES ET MAINTENANCE ULTÉRIEURE.

Les limnées sont transportées par groupe de 5 dans des flacons sur un fond de plantes immergées, mais sans eau libre. Ces récipients sont stockés dans un conteneur isotherme (boîte de polystyrène) pour les 4 heures de voyage jusqu'à leur arrivée au laboratoire⁵.

Après équilibrage de la température pendant quelques heures dans une animalerie climatisée à 20° C, les mollusques sont placés dans des aquariums réalisés avec le sédiment, les plantes et l'eau provenant de la station d'origine. Le nombre de limnées est de 2 par litre d'eau. Les récipients sont maintenus dans cette salle climatisée selon les conditions du laboratoire.

Dans ces conditions, les limnées ont fourni des pontes. Ces dernières sont à l'origine des nouveau-nés, des juvéniles et des préadultes que nous avons utilisés au cours de nos expériences.

II. - LES PARASITES.

Les oeufs de *F. hepatica* ont été prélevés à l'abattoir de Limoges dans la vésicule biliaire de bovins atteints par la distomatose. Lorsque le foie est saisi, le préposé sanitaire recueille les oeufs avec la bile. Cette dernière est stockée à + 4° C jusqu'à son arrivée au laboratoire.

Les bovins sont tous de race limousine et proviennent en quasi-totalité de fermes qui sont situées sur les communes de Chalus (1 prélèvement), d'Oradour-sur-Vayres (1 prélèvement) ou de Saint-Mathieu (2 prélèvements) dans le département de la Haute-Vienne.

Au laboratoire, la bile est diluée progressivement avec de l'eau du robinet. Comme les oeufs de *F. hepatica* tombent rapidement sur le fond, il suffit de vider la moitié supérieure d'un volume déterminé de bile et de la reconstituer avec de l'eau. Cet épuisement progressif de la bile s'effectue dans un délai maximal de 3 à 4 heures.

Les oeufs sont ensuite filtrés sur deux tamis (grandeur de maille, 75 et 38 μm). Ils sont ensuite placés dans de petits récipients en verre sous une épaisseur de 2 cm d'eau à

⁵ - Ces précautions ont permis de limiter les décès qui se produisent normalement lorsque l'on transporte des limnées sous les conditions chaudes de l'été. Deux mollusques seulement sont morts dans les trois jours qui ont suivi l'un des voyages.

Nombre de mollusques	Série expérimentale			
	Nouveau-nés	Juveniles, 1 mm de hauteur	Juveniles, 2 mm de hauteur	Préadultes, 4 à 5 mm de hauteur
lors de l'exposition aux miracidiums	150	100	100	100
en vie au 30 ^e jour	62	53	69	73
infestés avec émission	35	12	2	0
fixés pour l'étude histologique	11	5	1	0

Tableau VI.
Les principales caractéristiques des quatre séries expérimentales.

raison de 500 oeufs par flacon. Ils sont ensuite placés à l'obscurité totale pendant 20 jours à 20° C selon les données d'OLLERENSHAW (1971).

III. - PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL.

Quatre séries de limnées ont été constituées. Les principales caractéristiques sont présentées sur le tableau VI.

Le premier groupe comprend 150 nouveau-nés âgés de 20 heures au plus. Les trois autres sont composés respectivement par:

- 100 juvéniles hauts de 1 mm (3 à 5 jours de vie à 20° C),
- 100 juvéniles hauts de 2 mm (10 à 12 jours de vie),
- 100 adultes de 4 à 5 mm (30 à 35 jours).

Ces mollusques ont été soumis individuellement à deux miracidiums de *F. hepatica* juste éclos pendant 4 heures à 20° C. Ils sont élevés par la suite dans des aquariums en circuit fermé pendant 30 jours à la même température. Le nombre de mollusques est de 10 par litre d'eau pour les nouveau-nés et les juvéniles, de 5 pour les adultes.

Au 30^e jour suivant, les survivants sont recensés dans les différents aquariums. Ils sont alors isolés dans des boîtes de Pétri de 35 mm de diamètre avec 2 ou 3 ml d'eau provenant du récipient d'élevage et un fragment de salade. La surveillance des animaux est réalisée ensuite tous les jours (de 14 à 16 heures) pour dénombrer les métacercaires éventuelles et les enlever, changer le milieu pour le renouveler par une eau fraîche (20° C) et placer un nouveau fragment de laitue dans la boîte si le premier est consommé.

Cette surveillance se poursuit jusqu'à la mort des mollusques. Celle-ci est affirmée sur la présence simultanée de deux signes:

- le corps du mollusque est rétracté en entier dans la coquille et le pied s'observe à l'ouverture.

- l'animal ne réagit pas au pincement d'un tentacule à l'aide d'une pince.

La hauteur de la coquille est alors mesurée sous loupe binoculaire.

Quarante-neuf cadavres de limnées ont été plongés dans du liquide de Bouin (fixateur histologique) après que la mort ait été reconnue. Des coupes sériées de 5 μm d'épaisseur ont été réalisées avant d'être colorées par l'hématoxyline de Harris-trichrome de Gabe modifié. L'étude des coupes sériées ne nous a permis de retenir que 17 animaux pour l'étude histologique⁶.

IV. - MÉTHODOLOGIE.

Les méthodes utilisées pour cette expérience sont celles que les membres du Laboratoire de Parasitologie (Faculté de Pharmacie de Limoges) et d'Histopathologie Parasitaire (Faculté de Médecine) appliquent dans leur travail tout au long de l'année. C'est la raison pour laquelle nous nous sommes inspiré des documents cités dans plusieurs thèses (DA COSTA, 1993; DOM, 1994; DREYFUSS, 1994; DUPERRON, 1994; FAURE, 1994) pour écrire ce paragraphe.

A. TECHNIQUE D'ÉLEVAGE DES LIMNÉES.

Les mollusques sont placés dans des aquariums en circuit fermé, contenant 3 ou 5 litres d'eau. Le fond de ces récipients est nu, sans sédiment. L'eau est oxygénée en permanence par un bulleur. Un couvercle en verre empêche toute évaporation et la fuite éventuelle des limnées.

L'eau provient du milieu naturel où les *M. glutinosa* ont été récoltées. Elle est eucalcique (60 à 73 mg.l^{-1} d'ions calcium en solution; pH 7 à 7,2) et est renouvelée en totalité au début de chaque semaine.

Les aquariums sont disposés sur un module dans une salle climatisée à 20° C. L'éclairage est assuré par plusieurs tubes GroLux de 18 watts chacun : les récipients sont éclairés pendant 12 heures diurnes (6 h - 18 h) avec une intensité lumineuse de 3.000-4.000 lux à la surface de l'eau. L'humidité relative est supérieure à 80 %.

⁶ - Les signes de la lyse cadavérique ne sont pas importants lorsque les animaux sont fixés dans un délai maximum de 4 heures après leur mort. Par contre, si le laps de temps est supérieur, les signes deviennent importants et l'interprétation des coupes sériées est impossible.

La nourriture des limnées est constituée par de la laitue fraîche. Des lentilles d'eau sont ajoutées en petite quantité deux fois par semaine car les limnées se rencontrent fréquemment parmi ces éléments dans les fossés de drainage.

B. L'EXPOSITION DES LIMNÉES AU PARASITE.

L'éclosion des miracidiums s'effectue en exposant les oeufs de *F. hepatica* incubés pendant 1 heure à la lumière électrique.

Chaque limnée est mise en présence de deux miracidiums dans une boîte de Pétri de 35 mm de diamètre avec 2 ml d'eau provenant du récipient d'élevage. La durée de l'exposition est de 4 heures. Les mollusques sont ensuite replacés dans leur bacs d'élevage selon les conditions précédentes.

C. SUIVI DES ÉMISSIONS CERCARIENNES.

Chaque mollusque est placé dans une boîte de Pétri (diamètre, 35 mm) avec 2 ml d'eau provenant du bac d'élevage et un fragment de salade.

Les récipients sont placés dans la même salle climatisée que les aquariums. Les caractéristiques de cette pièce ont déjà été définies dans le paragraphe A.

Chaque matin, on décompte les cercaires, les kystes flottants et les métacercaires fixées sur un support. Les parasites sont enlevés. L'eau des récipients est alors renouvelée.

Les mollusques morts sont extraits facilement de leur coquille avant d'être plongés dans du liquide de Bouin.

D. TECHNIQUE HISTOLOGIQUE.

Les masses molles sont plongées dans du liquide de Bouin pendant 2 à 3 jours.

Après une déshydratation classique par l'éthanol et le butanol tertiaire (GABE, 1968), les pièces sont incluses dans la cytoparaffine à 54°-56° C. Elles sont ensuite débitées en coupes sériées de 5 μ m d'épaisseur.

La coloration est réalisée par l'hématoxyline de Harris associée au trichrome de Gabe modifié. Les changements portent sur:

- la concentration d'azorubine S qui est portée à 0,1 g pour 100 ml de trichrome,
- le remplacement du vert FCF par du vert lumière avec une concentration de 0,5 g pour 100 ml de solution.

Cette coloration permet, d'après DUPERRON (1994), une meilleure observation des parasites dans le corps du mollusque.

V. - PARAMÈTRES UTILISÉS.

A. *ÉMISSIONS CERCARIENNES.*

Ils sont au nombre de neuf dans le cas des limnées qui émettent des cercaires:

- la fréquence de ces mollusques. Elle est calculée par rapport au nombre initial des individus lors de l'exposition aux miracidiums.
- la durée de leur vie (depuis l'exposition aux miracidiums jusqu'à la mort des mollusques),
- le début et la durée de la période patente. Celle-ci correspond à la phase où les cercaires sortent du mollusque.
- la hauteur de la coquille. Celle-ci est mesurée à la mort de l'animal en utilisant une règle graduée sous loupe binoculaire.
- le nombre total de métacercaires obtenues.
- le pourcentage de kystes flottants. Il est établi par rapport à l'ensemble des métacercaires recueillies dans chaque série expérimentale.
- le nombre de vagues d'émission. Par vague, nous considérons une période de 1 à plusieurs jours avec l'émission de dix cercaires au moins.
- la durée de la première vague.

La durée de vie et la hauteur de la coquille ont également été déterminées chez:

- les limnées parasitées qui meurent sans émission,
- les mollusques non parasités.

Paramètres	Catégories	Caractères distinctifs	Observations
Situation des rédies	Rédies indépendantes	Elles sont libres dans le corps du mollusque.	-
	Rédies dépendantes	Elles sont dans le corps du sporocyste ou d'une autre rédie.	-
État physiologique des rédies	Rédies en vie	Aspect structural normal.	-
	Rédies en dégénérescence	Pycnose ou lyse des noyaux du parasite.	Les rédies sont souvent de petite taille.
Contenu des rédies	Morulas	Forme ronde, de petite taille. Intestin non visible.	Morulas et embryons sont colorés en brun, sans trace de jaune.
	Embryons procercariens	Forme ovoïde ou plus allongée, Intestin visible.	
	Procercaires	Corps semi-circulaire, avec queue. Cellules cystogènes immatures.	Le cytoplasme des cellules est coloré en jaune ou en vert.
	Cercaires	Cellules sécrétantes. Présence d'une couche protectrice sur le corps.	La couche protectrice est jaune vif sur les coupes sériées.

Tableau VII.
Les paramètres utilisés pour l'étude des rédies
(d'après HOURDIN, 1990).

B. CHARGE PARASITAIRE.

Le tableau VII répertorie les paramètres que nous avons employés pour déterminer les différentes catégories de rédies chez le mollusque. Ils se rapportent:

- à la situation des rédies dans le corps du mollusque,
- à l'état physiologique de ces larves (avec un aspect structural normal, dégénérées),
- à leur contenu.

VI. - EXPRESSION DES RÉSULTATS.

A. ÉMISSIONS CERCARIENNES

Ces données sont présentées:

- en fonction de la durée de l'expérience,
- par rapport au numéro d'ordre des jours qui constituent la période patente. Dans un but de clarification, nous avons considéré que le premier jour de cette période correspond à celui où les premières cercaires sont émises.

Les valeurs individuelles ont été centrées et leur écart type déterminé en tenant compte de la nature des paramètres. Comme les résultats sur les quatre séries expérimentales se superposent, nous les avons regroupés dans la même classe.

Les moyennes journalières obtenues pour l'ensemble des métacercaires ont été soumises au test d'auto-corrélation (BROOM, 1979) afin de déterminer s'il existe une périodicité de type infradien (supérieure à 28 heures). Les résultats sur les caractéristiques des vagues d'émission ont été traités par l'analyse de variance à un seul facteur (logiciel STAT-PHARMA, M. J. DEBORD).

B. CHARGE PARASITAIRE POST-MORTEM.

Ces données ont été disposées dans des classes de temps en divisant la durée globale de l'expérience en périodes de 15 jours chacune. Ce classement concerne les témoins et les cadavres de limnées mortes après une émission cercarienne.

Les chiffres concernant les rédies dégénérées ont été exprimés en pourcentages par rapport à l'effectif total de ces formes larvaires dans le mollusque.

Les valeurs individuelles recueillies pour chaque paramètre ont, de même, été ramenées à une moyenne, encadrée d'un écart type en tenant compte des classes de temps définies ci-dessus. Les données de chaque série ont été traitées par l'analyse de variance (à un seul facteur). Les valeurs des morts entre deux classes de temps ont été comparées par le test *t* de Student unilatéral afin de déterminer si les différences sont significatives.

RÉSULTATS

Nous avons regroupé dans ce chapitre les différents résultats de nos expériences.

Les deux premiers paragraphes sont consacrés à la répartition des limnées selon leur infestation et à leurs principales caractéristiques. Le troisième temps porte sur les émissions cercariennes que nous avons obtenues au cours de ces essais.

Enfin, la dernière subdivision présente nos résultats sur la charge parasitaire qui reste dans le corps du mollusque lorsque ce dernier meurt après une émission.

I. - RÉPARTITION DES LIMNÉES SELON LEUR INFESTATION.

Elle est précisée dans le tableau suivant:

Nombre d'individus	Nouveaux	Juveniles, 1 mm	Juveniles, 2 mm	Pré- adultes
- exposés aux miracidiums.	150	100	100	100
- isolés au 30 ^e jour.	62	53	69	73
- infestés avec émission.	35	12	2	0
- infestés sans émission.	17	10	1	0
- non infestés.	10	31	63	53

Paramètres	Série expérimentale			
	Nouveau-nés	Juveniles, 1 mm	Juveniles, 2 mm	Pré- adultes
Durée de leur vie ^a à 20° C m ± σ (en jours):				
- infestés avec émission.	74 ± 13,2	72,7 ± 21,4	77,5 ± 3,1	-
- infestés sans émission.	85,3 ± 25,1	79,4 ± 19,3	84	-
- non infestés.	95,6 ± 31,2	82,1 ± 37,4	98,5 ± 26,9	71,1 ± 19,4
Hauteur de la coquille m ± σ (en mm):				
- infestés avec émission.	3,2 ± 1,1	4 ± 1,7	5,7 ± 0,4	-
- infestés sans émission.	2,7 ± 1,3	3,6 ± 1,7	5,4	-
- non infestés.	5,2 ± 2,5	6,9 ± 1,1	7,5 ± 1,3	7,1 ± 2,1
Début de la période patente (en jours) ^b	52 ± 3,4	57,1 ± 7,7	58	-
Durée de la période patente (en jours) ^b	2,1 ± 1,5	4,1 ± 3,2	2,5 ± 0,7	-
Nombre de métacercaires:				
- au total.	931	652	165	-
- m ± σ.	26,6 ± 15,1	54,3 ± 57,3	82,5	-
- limite maximale.	49	143	101	-
Pourcentage de kystes flottants	2,1 %	2,2 %	7,3 %	-

^a. Depuis l'exposition aux miracidiums jusqu'à la mort des mollusques.

^b. Ces données ne concernent que les limnées avec émission.

Tableau VIII.
Les caractéristiques générales de l'infestation fasciolienne.
Abréviations. m: moyenne. σ: écart type.

Paramètres étudiés	Séries concernées	Degrés de liberté	Valeur du rapport F	Seuil de signification
Durée de vie	Limnées avec émission (nouveau-nés/juvéniles, 1 mm):	1/45	0,04	NS
	Limnées sans émission (nouveau-nés/juvéniles, 1 mm):	1/25	0,12	NS
	Limnées non parasitées (entre les 4 séries):	3/155	1,70	NS
	Chez les nouveau-nés (entre les 3 catégories ^a):	2/59	2,90	NS
	Chez les juvéniles, 1 mm (entre les 3 catégories ^a):	2/50	0,51	NS
Hauteur de la coquille	Limnées avec émission (nouveau-nés/juvéniles, 1 mm):	1/45	2,38	NS
	Limnées sans émission (nouveau-nés/juvéniles, 1 mm):	1/25	2,41	NS
	Limnées non parasitées (entre les 4 séries):	3/155	3,88	p < 5 %
	Chez les nouveau-nés (entre les 3 catégories ^a):	2/59	9,87	p < 0,1 %
	(avec/sans émission):	1/50	1,50	NS
	Chez les juvéniles, 1 mm (entre les 3 catégories ^a):	2/50	20,3	p < 0,1 %
(avec/sans émission):	1/20	0,24	NS	
Durée de la période prépatente	Entre les nouveau-nés et les juvéniles, 1 mm.	1/45	2,93	NS
Durée de la période patente	Entre les nouveau-nés et les juvéniles, 1 mm.	1/45	4,02	NS
Nombre de cercaires par limnée	Entre les nouveau-nés et les juvéniles, 1 mm.	1/45	3,56	NS

^a. Trois catégories: limnées avec émission, mollusques sans émission, individus non parasités.

Tableau IX.
Les résultats de l'analyse de variance sur les caractéristiques de l'infestation fasciolienne entre les différentes séries.
Abréviations: NS (non significatif). P (probabilité).

Les survivants peuvent se classer en trois catégories:

- les limnées qui produisent des cercaires,
- les mollusques qui sont parasités (avec des rédies ou des cercaires visibles sous la coquille transparente) mais qui meurent sans émission,
- les individus non parasités.

La fréquence des limnées avec émission est de 23,3 % dans la série des nouveau-nés, de 12 % chez les juvéniles hauts de 1 mm, et de 2 % seulement chez ceux de 2 mm. Aucune limnée de ce type n'a été recensée chez les préadultes. Si l'on considère les mollusques infestés mais qui meurent sans émission, les pourcentages sont respectivement de 11,6, 10 et 1 %.

II. - CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DE L'INFESTATION FASCIOLIENNE.

Le tableau VIII présente les moyennes et les écarts types pour les différents paramètres. Les résultats de l'analyse de variance sont groupés sur le tableau IX.

La durée moyenne de leur vie est de 72 à 77 jours chez les limnées infestées avec émission, de 79 à 85 jours chez les mollusques sans émission et de 71 à 98 jours chez les individus non infestés. La comparaison des moyennes par l'analyse de variance ne montre pas de différence significative entre les séries et les différentes catégories.

La hauteur *post-mortem* de la coquille est plus élevée chez les limnées non infestées que chez les mollusques parasités (avec ou sans émission). Si l'on tient compte de chaque série prise isolément, on ne constate pas de différence significative entre les dimensions des limnées qui émettent des cercaires et celles des individus parasités qui meurent sans sortie de parasites.

Les trois autres paramètres se rapportent aux limnées qui émettent des cercaires:

- la période patente débute au 52^e jour de l'expérience chez les nouveau-nés, au 57^e jour chez les juvéniles de 1 mm et au 58^e jour chez ceux de 2 mm.
- les durées moyennes de la période patente sont voisines dans les trois séries (de 2 à 4 jours). Les valeurs maximales sont de 9 jours chez les nouveau-nés, de 15 chez les juvéniles.

- le nombre de cercaires par limnée a été calculé sur les métacercaires obtenues dans les différentes séries. Il est de 26,6 par limnée dans la série des nouveau-nés. Les chiffres sont plus élevés chez les juvéniles: 54,3 kystes en moyenne chez les individus de 1 mm, 82,5 chez ceux de 2 mm.

La lecture du tableau IX ne montre pas de différence significative entre les moyennes des nouveau-nés et celles des juvéniles de 1 mm pour les trois paramètres précités.

Le pourcentage des kystes flottants est voisin de 2 % dans les deux premières séries; il est de 7,3 % dans la troisième (2 individus seulement).

III. - LES CARACTÉRISTIQUES DES ÉMISSIONS CERCARIENNES.

Le tableau suivant précise le nombre de vagues d'émission chez les limnées avec émission en fonction des trois séries expérimentales:

Paramètres	Nouveau-nés	Juvéniles, 1 mm	Juvéniles, 2 mm
Nombre de limnées	35	12	2
Nombre de vagues:			
- 1	33	9	1
- 2	1	2	-
- 3	1	1	1

La lecture de ces données montre que 43 mollusques (sur un total de 49) ont émis leurs cercaires en une seule vague. Les six autres individus les ont produites en 2 et 3 temps (2 limnées chez les nouveau-nés, 3 chez les juvéniles de 1 mm et 1 chez ceux de 2 mm).

La durée des périodes d'émission est précisée dans le tableau ci-après avec indication des moyennes et des écarts types pour les trois séries:

Durée des vagues d'émission	Nouveau-nés	Juvéniles, 1 mm	Juvéniles, 2 mm
Première vague	2,1 ± 1,4	1,9 ± 1,1	2,7
Seconde vague	3	2,5	-
Troisième vague	2	2	3



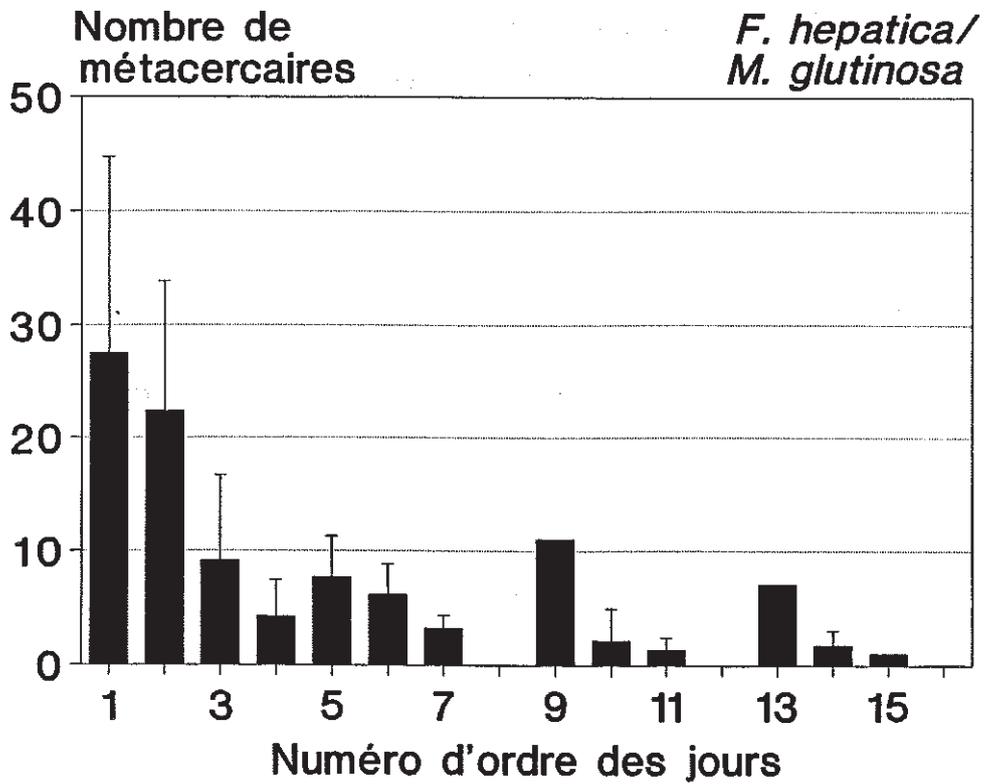


Figure 9.
 Les émissions cercariennes de *F. hepatica* chez *M. glutinosa*:
 la distribution journalière des métacercaires en fonction
 des jours de la période patente.
 Les valeurs des trois séries ont été globalisées.



La comparaison statistique n'a été réalisée que pour la durée de la première vague. On ne constate pas de différence significative entre les moyennes des trois séries ($F = 0,88$ pour 2/46 degrés de liberté).

Ce nombre réduit de vagues retentit sur la distribution journalière des métacercaires dans le temps. La figure 9 a été construite en globalisant les valeurs que nous avons obtenues dans les trois séries expérimentales. La lecture du graphe montre:

- que le nombre de kystes est de 27,5 par limnée au premier jour de la période patente,
- que les chiffres chutent au cours des deux jours suivants (à 22,3 et 9,1 kystes respectivement par mollusque),
- que la production ultérieure est assez irrégulière, malgré l'existence de pics isolés.

L'analyse de ces données par le test d'auto-corrélation ne montre pas de périodicité dans la distribution journalière de ces métacercaires (résultats non représentés).

Il faut noter également que dans le cadre de cette étude, nous n'avons pas observé de cercaire en train de nager au cours du changement quotidien de l'eau dans les récipients.

IV. - LA CHARGE PARASITAIRE RESTANT DANS LE MOLLUSQUE.

Nous nous sommes intéressé aux rédies et aux cercaires indépendantes dans le corps du mollusque chez 16 mollusques en fonction de deux aspects structuraux:

- les parasites ont encore un aspect normal. Les noyaux des masses germinatives les plus jeunes (morulas, embryons procercariens) sont ronds et les cellules sont encore jointives malgré l'existence de quelques espaces de rétraction.

- les parasites ont dégénéré pendant la vie du mollusque. On les reconnaît aux noyaux de forme triangulaire ou allongée, souvent surcolorés et séparés par des espaces de rétraction de plus grande taille. Cet aspect est très net au niveau des masses germinatives contenues dans les rédies. Par contre, chez les cercaires indépendantes, des noyaux de ce type existent chez des parasites en vie, notamment au niveau des deux ventouses. Il faut donc un examen attentif de tous les noyaux présents dans la cercaire pour déterminer si ce parasite avait dégénéré ou s'il était en vie à la mort du mollusque.

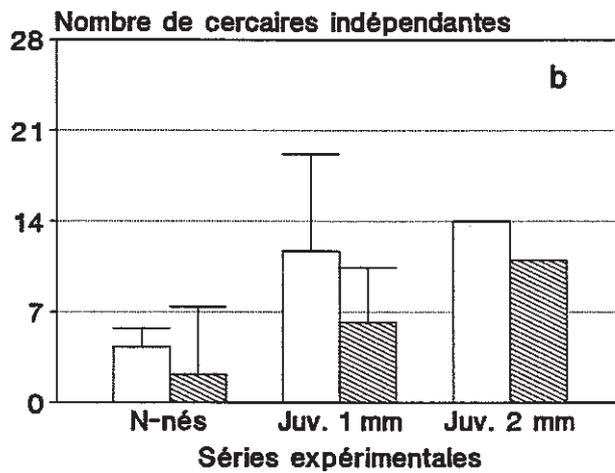
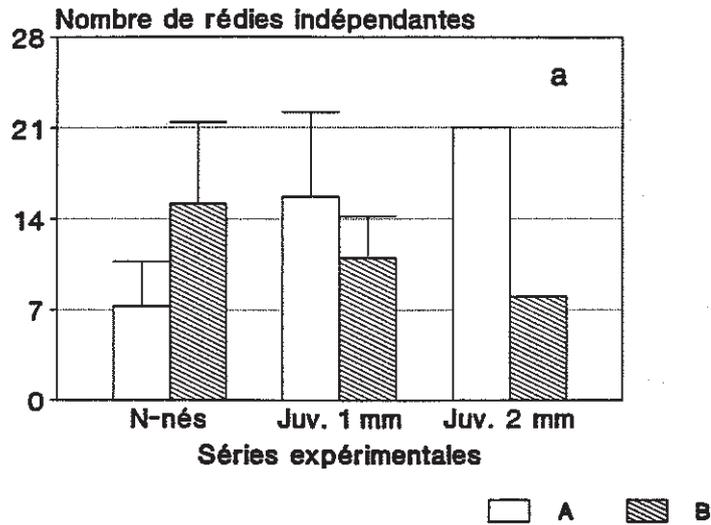


Figure 10.
 Répartition des rédies indépendantes (2a)
 et des cercaires indépendantes de *F. hepatica* (2b)
 recensées dans les 17 cadavres de *M. glutinosa*.
 Les parasites avec un aspect normal sont en blanc (A)
 tandis que les formes dégénérées sont en hachurés (B).

La figure 10 présente les moyennes et les écarts types correspondants que nous avons obtenus avec les rédies et les cercaires indépendantes dans le corps de ces mollusques.

Les rédies indépendantes, avec un aspect normal (fig. 10a) sont au nombre de 7,3 par limnée chez les nouveau-nés et leur nombre s'accroît chez les juvéniles (jusqu'à 21). Les valeurs maximales sont de 12 dans la première série et de 23 chez les juvéniles de 1 mm. Les rédies dégénérées dans le corps du mollusque (fig. 10a) ont des nombres voisins (15,2 par limnée chez les nouveau-nés, 8-11 chez les juvéniles).

Les cercaires indépendantes présentes dans les cadavres sont peu nombreuses. L'effectif moyen des parasites avec un aspect normal augmente de 4,3 à 14 lorsque l'on passe des nouveau-nés aux juvéniles de 2 mm. Les parasites dégénérés montrent des nombres sensiblement identiques (fig. 10b).

Les résultats de l'analyse de variance sont fournis dans le tableau ci-dessous:

Paramètres étudiés	Conditions de la comparaison	Degrés de liberté	Valeur de F	Seuil de signification
Rédies avec un aspect normal	Entre les nouveau-nés et les juvéniles,	1/14	12,64	p < 1 %
Rédies dégénérées	1 mm	1/14	3,48	NS
Cercaires avec un aspect normal	Entre les nouveau-nés et les juvéniles,	1/14	8,66	p < 5 %
Cercaires dégénérées	1 mm	1/14	3,06	NS

Abréviations: NS (non significatif). p (probabilité)

La lecture de ce tableau montre la présence de différences significatives entre les moyennes dans le cas des rédies et des cercaires indépendantes présentant un aspect normal. En revanche, les différences entre les moyennes des parasites dégénérés ne sont pas significatives.

Les kystes internes sont rares (deux chez un juvénile de 1 mm).

V. - PRODUCTIVITÉ PARASITAIRE.

Les résultats sont rapportés sur le tableau X (page suivante).

Série	Embryons intra-rédiens		Cercaires indépendantes		Kystes	Totaux
	nor.	dég.	nor.	dég.		
Nouveau-nés	52,8	6,4	4,3	2,2	25,3	91,0
Juveniles, 1 mm	78,3	11,8	11,7	6,2	37,2	145,2
Juvenile, 2 mm	128	18	14	11	44	215

Tableau X.

La productivité parasitaire de *F. hepatica*
chez les nouveau-nés et les juvéniles de *M. glutinosa*.

Abréviations: nor. (parasite avec un aspect normal). dég. (parasite dégénéré).

Ce tableau ne présente que les valeurs moyennes
et ne tient pas compte des écarts types (nouveau-nés, juvéniles de 1 mm).

Le calcul de cette productivité a été réalisé en regroupant le nombre de masses germinatives contenues dans les rédies dégénérées ou présentant un aspect normal, celui des cercaires indépendantes et celui des métacercaires.

L'examen des résultats montre que la productivité est plus importante chez les juvéniles de 2 mm que chez ceux de 1 mm ou les nouveau-nés (215 embryons et cercaires par limnée au lieu de 145 et 91 respectivement).

Cette différence concerne essentiellement les masses germinatives intra-rédiennes présentant un aspect normal et les métacercaires. En revanche, les autres catégories de parasites sont peu concernées.

COMMENTAIRES

Le premier paragraphe de ce chapitre est consacré à une synthèse des résultats que nous avons rapportés dans le chapitre quatrième. La subdivision suivante est réservée à la discussion de nos résultats par rapport à ceux de la littérature.

I. - SYNTHÈSE DES RÉSULTATS.

Des *M. glutinosa* ont été soumises à des expositions bimiracidiennes individuelles à 20° C en tenant compte de leur taille (nouveau-nés, juvéniles, préadultes).

La fréquence des limnées avec émission est de 23,3 % dans la série des nouveau-nés, de 12 % dans celle des juvéniles mesurant 1 mm de hauteur lors de l'exposition miracidienne et de 2 % dans celle des mollusques hauts de 2 mm. Elle se révèle nulle chez les préadultes de 4 mm.

Le nombre de métacercaires ne dépasse pas 50 kystes par mollusque dans la série des nouveau-nés et 143 dans les deux autres séries.

Quarante-trois limnées (sur 49) ont produit leurs cercaires en une seule vague sur 1 à 3 jours tandis que les 6 autres mollusques les ont émis en 2 ou 3 vagues. La durée des vagues est identique, quel que soit leur numéro d'ordre.

La production journalière des cercaires chute rapidement sur les trois premiers jours de la période patente, persiste avec de faibles nombres jusqu'au 7^e jour et devient irrégulière par la suite jusqu'au 15^e jour. Nous n'avons pas trouvé de rythme infradien dans la répartition des moyennes au cours de la période patente.

L'examen histologique des cadavres montre que le nombre des rédies indépendantes présentant un aspect normal ne dépasse pas 12 chez les nouveau-nés et 23 dans les deux autres séries. L'effectif des cercaires indépendantes et normales augmente également lorsque l'on passe des nouveau-nés aux juvéniles (de 4,3 à 14 par limnée). Par contre, les rédies et les cercaires dégénérées *in vivo* ne montrent pas de différence quantitative par rapport à la série expérimentale.

La productivité parasitaire a été établie en procédant au décompte des masses germinatives intra-rédiennes, des cercaires contenues dans le corps du mollusque et des métacercaires. Les résultats révèlent qu'elle est plus importante chez les juvéniles de 2 mm et, à l'inverse, faible chez les nouveau-nés.

II. - DISCUSSION.

La comparaison de nos résultats par rapport à ceux de la littérature ne peut se réaliser que si l'on considère des espèces de limnées qui ont été exposées aux miracidiums de *F. hepatica* dans les mêmes conditions de taille (nouveau-nés, juvéniles de 1 et 2 mm). C'est la raison pour laquelle nous avons effectué en grande partie cette confrontation avec les travaux suivants: KENDALL (1950), BERGHEN (1964), BUSSON (1981), BUSSON *et al.* (1982), BOUIX-BUSSON (1983), BOUIX-BUSSON *et al.* (1983, 1985).

A. LA SURVIE DES MOLLUSQUES.

Les pourcentages peuvent être calculés facilement si l'on considère le tableau de la page 36. Dans ces conditions, la survie au 30^e jour d'expérience est de 41,3 % chez les nouveau-nés, de 53 et 69 % respectivement chez les juvéniles de 1 et 2 mm, et de 73 % chez les préadultes.

Le tableau XI (page suivante) a été construit à partir des chiffres que les auteurs précités ont fourni dans leurs rapports.

Références	Mollusque	Survie au 30 ^e jour	Observations
BUSSON, 1981; BUSSON <i>et al.</i> , 1982.	<i>L. glabra</i>	39,2 et 40,6 %	Deux colonies par espèce. Trois miracidiums par nouveau-né. Elevage à 23° C.
	<i>L. palustris</i>	59,2 et 64,4 %	
	<i>L. peregra ovata</i>	51 et 89,6 %	
	<i>L. stagnalis</i>	61,4 et 75,8 %	
	<i>L. truncatula</i>	56 et 62 %	
BOUIX-BUSSON, 1983; BOUIX-BUSSON <i>et al.</i> , 1985.	<i>L. glabra</i> : - nouveau-nés. - 1 mm	53,6, 56,6, et 59,2 % 94,6 %	Un seul miracidium par mollusque. Elevage à 23° C.
	<i>L. truncatula</i> : - nouveau-nés	62 %	
BOUIX-BUSSON <i>et al.</i> , 1983.	<i>L. glabra</i> : - nouveau-nés, - juvéniles de 1 mm, - juvéniles de 2 mm,	35,7 à 56,6 %. ^a 86,2 à 92,2 %. ^a 94,1 à 96 %. ^a	Séries avec 1, 2 et 5 miracidiums par mollusque. Elevage à 20° C.

^a. Les résultats ont été obtenus dans ce cas, au 45^e jour d'expérience.

Tableau XI.

Le taux de survie de quelques espèces de limnées
au 30^e ou au 45^e jour de l'expérience lorsque des nouveau-nés
ou des juvéniles sont exposés aux miracidiums de *F. hepatica*.

Références	Mollusque	Fréquence des limnées avec émission	Observations
BUSSON, 1981; BUSSON <i>et al.</i> , 1982. ^a	<i>L. glabra</i>	6,2 et 17,8 %	Deux colonies par espèce. Trois miracidiums par nouveau-né. Elevage à 23° C.
	<i>L. palustris</i>	6,8 et 11,6 %	
	<i>L. peregra ovata</i>	0,4 et 20,4 %	
	<i>L. stagnalis</i>	0 et 10,4 %	
	<i>L. truncatula</i>	31 et 40 %	
BOUIX-BUSSON, 1983; BOUIX-BUSSON <i>et al.</i> , 1985. ^a	<i>L. glabra</i> : - nouveau-nés. - 1 mm	6,2 à 6,4 % 1,02 %	Un seul miracidium par mollusque. Elevage à 23° C.
	<i>L. truncatula</i> : - nouveau-nés	40 %	
BOUIX-BUSSON <i>et al.</i> , 1983. ^b	<i>L. glabra</i> : - nouveau-nés, - juvéniles de 1 mm, - juvéniles de 2 mm,	6,4 à 12,3 %. 0 %. 0 %.	Séries avec 1, 2 et 5 miracidiums par mollusque. Elevage à 20° C.

Les résultats ont été obtenus au 30^e jour (^a) ou au 45^e jour d'expérience (^b) en rapportant les effectifs de limnées avec émission aux nombres d'animaux au départ de l'expérience.

Tableau XII.

La fréquence des limnées avec émission chez quelques espèces de *Lymnaea* au 30^e ou au 45^e jour de l'expérience lorsque des nouveau-nés ou des juvéniles sont exposés aux miracidiums de *F. hepatica*.

Ces valeurs ont certes été obtenues avec diverses espèces de limnées soumises à un nombre variable de miracidiums par mollusque et maintenues à des températures différentes (20° ou 23° C). Malgré cette limite, on peut remarquer:

- que nos pourcentages s'inscrivent dans la gamme des valeurs rapportées par les auteurs.

- que le taux de survie s'accroît dans tous les cas lorsque l'on passe des nouveau-nés aux juvéniles de 2 mm.

Les résultats obtenus avec *M. glutinosa* sont donc conformes à ceux que rapporte la littérature sur d'autres espèces de limnées lorsqu'elles sont infestées dans les mêmes conditions expérimentales.

B. LA FRÉQUENCE DES LIMNÉES AVEC OU SANS ÉMISSION.

Les pourcentages du tableau XII se rapportent aux limnées avec émission. Ils ont été obtenus par rapport aux nombres d'animaux présents au départ des expériences. Dans ces conditions, on peut constater que:

- que la fréquence chez nos nouveau-nés (soit 23,3 %) s'inscrit dans la gamme des pourcentages que les auteurs ont rapportés dans leurs travaux. Elle est, certes, plus faible que celle des *L. truncatula* (31 à 40 %) mais est comparable à celle que BUSSON (1982) trouve chez une colonie de *L. peregra ovata*.

- que la diminution observée chez les juvéniles en fonction de leur hauteur se retrouve également chez d'autres limnées comme *L. glabra*.

La hauteur de 2 mm doit donc être retenue dans le cas de nos *M. glutinosa* comme la limite maximale pour que le mollusque puisse assurer le développement des formes larvaires pour *F. hepatica*.

Ceci permet de classer *M. glutinosa* dans la liste des espèces qui montrent une résistance au développement larvaire de *F. hepatica* lors de l'infestation de mollusques adultes (BORAY, 1978). Comme *L. glabra*, *L. palustris*, *L. peregra* ou *L. stagnalis*, cette limnée doit être considérée comme un hôte intermédiaire accidentel (ou anormal) de ce Trématode (KENDALL, 1950; BUSSON *et al.*, 1982).

Un certain nombre de *M. glutinosa* sont mortes sans émettre de cercaires. Leur fréquence est rapportée dans le tableau ci-dessous:

Série expérimentale	Fréquence des limnées sans émission
Nouveau-nés	12,7 %
Juveniles de 1 mm	10 %
Juveniles de 2 mm	1 %

L'existence de ces limnées a entraîné la formulation d'hypothèses. L'une d'entre elles est celle de BERGHEN (1964) qui explique cette absence d'émission en la rapportant à des différences anatomiques entre les limnées utilisées, notamment à l'épaisseur de l'épithélium. Cette supposition est cependant battue en brèche par le fait que l'on retrouve des mollusques infestés sans émission dans tous les couples hôte-parasite, tout au moins chez ceux qui sont parasités par *Fasciola gigantica* et *F. hepatica* (AUDOUSSET, 1989; SINDOU, 1989; DREYFUSS, 1994). Deux autres hypothèses peut-être complémentaires peuvent, à notre avis, être proposées pour expliquer l'absence d'émission chez certains mollusques:

- 1) Pour qu'une émission se produise, il serait nécessaire que les cercaires indépendantes soient assez nombreuses dans le corps du mollusque infesté. Si l'effectif est atteint, l'émission se produirait, probablement sous l'effet de la surpression créée dans le corps du mollusque par la présence des parasites. Si les cercaires indépendantes n'ont pas un nombre suffisant, il n'y aurait pas d'émission.

Cette première hypothèse s'appuie sur les observations de BORAY (1969), de DOM (1994) et de DREYFUSS (1994) chez *L. tomentosa* lorsqu'elle est parasitée par *F. hepatica*. Les cercaires indépendantes présentent une phase d'accumulation dans le corps du mollusque infesté avant l'émission proprement dite. Cette phase est cependant un processus à risques car les cercaires de *F. hepatica* entrent rapidement en dégénérescence en l'absence d'émission.

- 2) La survenue d'une émission serait la résultante des modifications tissulaires qui se produiraient au niveau de la région péri-anale du mollusque. Comme cette région est la voie de sortie pour les cercaires de *F. hepatica* (KENDALL et McCULLOUGH, 1951), on peut supposer que les tissus constituant cette zone, notamment le tissu conjonctif, seraient

soumis à l'action des cercaires, soit par voie mécanique aboutissant à une distension des tissus, soit par voie enzymatique avec une sécrétion de substances à partir des cellules cystogènes par exemple.

Cette deuxième hypothèse s'appuie sur les observations de KENDALL et McCULLOUGH (1951) chez *L. truncatula*. D'après ces auteurs, le tégument de la région péri-anale se ramollit chez le mollusque infesté et se modifie pour former une protubérance (revue d'EUZEBY, 1971).

C. LES AUTRES CARACTÉRISTIQUES DE L'INFESTATION FASCIOLIENNE.

Les observations que nous avons recueillies sur la durée de vie et la hauteur de coquille n'appellent pas de commentaire car on ne note pas de différence significative entre les moyennes des limnées avec émission et celles des autres mollusques parasités. Tout au plus, peut-on remarquer que les deux catégories de mollusques présentent les mêmes caractéristiques. Les valeurs plus élevées constatées chez les témoins, notamment dans la hauteur de coquille, sont conformes aux données que KENDALL (1950), BUSSON *et al.* (1982) ont rapporté chez d'autres espèces de limnées lorsqu'elles sont exposées aux miracidiums dans les jours qui suivent leur naissance.

Le début de la période patente⁷ ne présente pas de différence significative entre les différentes séries. Ces valeurs s'inscrivent dans la gamme des chiffres que les auteurs ont rapportés dans la littérature pour des limnées adultes infestées par le même trématode lorsque les mollusques sont maintenus à la température de 20° C (DREYFUSS, 1994; DUPERRON, 1994).

Toute autre est la production cercarienne chez ces mollusques. Pour illustrer notre propos, nous avons rapporté sur le tableau XIII (page suivante) les nombres de métacercaires que plusieurs auteurs ont fournis chez d'autres espèces de limnées lorsqu'elles sont exposées aux miracidiums de *F. hepatica* au stade nouveau-né ou juvénile.

La lecture de ce tableau permet les remarques suivantes:

⁷ - Les commentaires sur la durée de la période patente figurent dans le paragraphe suivant, avec ceux qui se rapportent aux vagues d'émission.

Références	Mollusque	Nombre moyen de cercaires par mollusque	Observations
BUSSON, 1981; BUSSON <i>et al.</i> , 1982.	<i>L. glabra</i>	10,7 et 14,5	Deux colonies par espèce. Trois miracidiums par nouveau-né. Elevage à 23° C.
	<i>L. palustris</i>	17,9 et 35,9	
	<i>L. peregra ovata</i>	18,4 ^a	
	<i>L. stagnalis</i>	17,7 ^a	
	<i>L. truncatula</i>	12,6 et 16,6	
BOUIX-BUSSON, 1983; BOUIX-BUSSON <i>et al.</i> , 1985.	<i>L. glabra</i>	de 5,9 à 163,5 selon la taille du mollusque (1,9 à 5,3 mm)	Un seul miracidium par mollusque. Elevage à 23° C.

^a. Les cercaires ont été émises par les mollusques d'une colonie.

Tableau XIII.

Le nombre de métacercaires obtenues chez plusieurs espèces de limnées lorsque des nouveau-nés sont exposés aux miracidiums de *F. hepatica*.

- le faible nombre de métacercaires obtenues dans la série de nos nouveau-nés (26,6 par mollusque) s'inscrit dans les valeurs rapportées chez *L. glabra*, *L. palustris*, *L. peregra*, *L. stagnalis* ou *L. truncatula* lorsque ces limnées sont exposées aux miracidiums dans leurs premiers jours de vie (de 10 à 35 cercaires par limnée).

- les valeurs plus élevées obtenues chez les juvéniles doivent être simplement rapportées à la taille du mollusque lors de leur présentation aux miracidiums et au nombre de larves utilisées pour chaque limnée.

Le pourcentage de kystes flottants obtenu dans le cadre de notre expérience est faible (2 %) chez les nouveau-nés et les juvéniles de 1 mm. Il est, par contre, plus élevé chez les individus de 2 mm en atteignant 7,3 %. Cette discordance entre les séries s'explique aisément à la lumière des travaux de VAREILLE-MOREL *et al.* (1994) sur les hôtes intermédiaires de *F. gigantica* et de *F. hepatica*: d'après ces auteurs, le pourcentage des kystes flottants s'accroît lorsque la hauteur de coquille lors de l'exposition aux miracidiums augmente.

D. LES CARACTÉRISTIQUES DES ÉMISSIONS CERCARIENNES.

La durée de la période patente est réduite dans toutes les séries (2 à 4 jours). Ceci s'explique facilement par la fréquence élevée des limnées qui émettent leurs cercaires en une seule vague et meurent ensuite (87 % dans le cadre de notre expérience).

Si l'on compare cette fréquence à celles que BUSSON *et al.* (1982) rapportent dans leur note, on obtient les résultats suivants:

Espèce de la limnée	Pourcentage de limnées émettant leurs cercaires en une seule vague
<i>L. glabra</i>	40 et 73,3 %
<i>L. palustris</i>	50 et 97,4 %
<i>E. peregra ovata</i>	75,8 %
<i>L. stagnalis</i>	73,1 %
<i>L. truncatula</i>	59,2 et 89,4 %
Moyenne globale	74,1 %

La fréquence des limnées émettant leurs cercaires en une seule vague est également voisine dans notre étude et celle de BUSSON *et al.* (1982). Ces pourcentages élevés peuvent s'expliquer à partir des notes de RONDELAUD (1993) sur *L. truncatula*. La rencontre entre *M. glutinosa* et le Trématode serait probablement rare dans le milieu naturel, ce qui se traduirait par une faible compatibilité entre les deux espèces et serait à l'origine des émissions en une seule vague (sur un ou plusieurs jours) avec mort rapide des mollusques.

L'absence de rythme infradien constatée dans les émissions cercariennes de *F. hepatica* à partir de *M. glutinosa* concorde avec les observations que plusieurs auteurs ont réalisées chez d'autres espèces de limnées parasitées par le même trématode lorsque les mollusques sont maintenus sous des conditions constantes (BOUIX-BUSSON *et al.*, 1985; DOM, 1994; DUPERRON, 1994). En revanche, une périodicité de ce type a été décrite par AUDOUSSET (1989), AUDOUSSET *et al.* (1989) lorsque les mollusques sont élevés dans un milieu semi-naturel. DREYFUSS (1994) rapporte ce dernier fait aux variations journalières de la température qui sont absentes lorsque les conditions sont constantes.

E. LA CHARGE PARASITAIRE RESTANT DANS LE MOLLUSQUE MORT.

Les valeurs enregistrées pour la charge rédienne *post-mortem* (23 à 30 rédies indépendantes) s'inscrivent dans les valeurs rapportées par RONDELAUD *et al.* (1988) chez de jeunes *L. stagnalis* infestées par *F. hepatica* (avec un seul miracidium par individu).

En revanche, la fréquence des rédies dégénérées pose un problème en étant importante chez les nouveau-nés de *M. glutinosa* (67 % de la charge rédienne) et plus faible chez les juvéniles (30-32 %). A titre de comparaison, cette fréquence ne dépasse pas 20 % de l'ensemble des rédies chez les nouveau-nés de *L. stagnalis* (RONDELAUD *et al.*, 1988).

Cette discordance ne peut s'interpréter à l'aide des seules données parasitologiques car la souche du Trématode est identique dans les deux séries d'expérience. Nous expliquons cette différence à l'aide de l'hypothèse que nous avons formulée ci-dessus, à savoir l'existence d'une faible compatibilité entre *M. glutinosa* et son parasite.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Des *Myxas glutinosa* ont été soumises à des expositions bimiracidiennes individuelles à 20° C en tenant compte de leur taille (nouveau-nés, juvéniles hauts de 1 et 2 mm, préadultes). Les études ont porté sur deux points, à savoir les émissions cercariennes et la charge parasitaire restant dans le mollusque après sa mort.

Nos résultats peuvent être regroupés sous deux rubriques:

1. Les émissions cercariennes de *M. glutinosa*.

La fréquence des limnées avec émission est de 23,3 % dans la série des nouveau-nés, de 12 % dans celle des juvéniles mesurant 1 mm de hauteur lors de l'exposition miracidienne et de 2 % dans celle des mollusques hauts de 2 mm. Elle se révèle nulle chez les préadultes de 4 mm.

Le nombre de métacercaires ne dépasse pas 50 kystes par mollusque dans la série des nouveau-nés et 143 dans les deux autres séries.

Quarante-trois limnées (sur 49) ont produit leurs cercaires en une seule vague sur 1 à 3 jours tandis que les 6 autres mollusques les ont émises en 2 ou 3 vagues. La durée des vagues est identique, quel que soit leur numéro d'ordre.

La production journalière des cercaires chute rapidement sur les trois premiers jours de la période patente, persiste avec de faibles nombres jusqu'au 7^e jour et devient irrégulière par la suite jusqu'au 15^e jour. Nous n'avons pas trouvé de rythme infradien dans la répartition des moyennes au cours de la période patente.

2. La charge parasitaire *post-mortem*.

L'examen histologique des cadavres montre que le nombre des rédies indépendantes présentant un aspect normal ne dépasse pas 12 chez les nouveau-nés et 23 dans les deux autres séries.

L'effectif des cercaires indépendantes et normales augmente également lorsque l'on passe des nouveau-nés aux juvéniles (de 4,3 à 14 par limnée). Par contre, les rédies et les cercaires dégénérées *in vivo* ne montrent pas de différence quantitative par rapport à la série expérimentale.

La productivité parasitaire a été établie en procédant au décompte des masses germinatives intra-rédiennes, des cercaires contenues dans le corps du mollusque et des métacercaires. Les résultats révèlent qu'elle est plus importante chez les juvéniles de 2 mm et, à l'inverse, faible chez les nouveau-nés.

Ces études ont permis de déterminer que *M. glutinosa* peut intervenir comme hôte intermédiaire dans le cycle évolutif de *F. hepatica* sous réserve que l'exposition aux miracidiums se produise dans les jours qui suivent l'éclosion. Une étude épidémiologique dans le milieu naturel où vit *M. glutinosa* est, à notre avis, utile pour compléter ces premières observations car la fasciolose est connue dans la région de Challans (Loire-Atlantique) et plusieurs espèces de limnées se rencontrent dans les canaux.

BIBLIOGRAPHIE

- AUDOUSSET, J.C., 1989.- Contribution à l'étude des émissions cercariennes d'un parasite, *Fasciola hepatica* L., chez le Mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 5, 79 p.
- AUDOUSSET, J.C., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., VAREILLE-MOREL, C., 1989.- Les émissions cercariennes de *Fasciola hepatica* L. chez le Mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. A propos de quelques observations chronobiologiques. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 7, 217-224.
- BARTHE, D., RONDELAUD, D., 1986.- Premières études sur la susceptibilité de trois espèces de *Physidae* et de *Bulinus truncatus* Audouin à l'infestation fasciolienne. A propos de quelques observations histopathologiques. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 4, 33-35.
- BAUDET, J., GRUET, Y., MAILLARD, Y., 1988.- Distribution de certaines espèces de la malacofaune aquatique du marais breton-vendéen (Loire-Atlantique et Vendée). *Haliotis*, 18, 21-31.
- BERGHEN, P., 1964.- Some *Lymnaeidae* as intermediate hosts of *Fasciola hepatica* in Belgium. *Exp. Parasitol.*, 15, 118-124.
- BOGON, K., 1990.- Landschnecken. Biologie-Ökologie-Biotopschutz. Natur-Verlag éd., Augsburg, 404 p.
- BORAY, J.C., 1969.- Experimental fascioliasis in Australia. *Adv. Parasitol.*, 7, 95-210.

- BORAY, J.C., 1978.- The potential impact of exotic *Lymnaea* spp. on fascioliasis in Australasia. *Vet. Parasitol.*, **4**, 127-141.
- BORAY, J.C., ENIGK, K., 1964.- Laboratory studies on the survival and infectivity of *Fasciola hepatica*- and *F. gigantica*-metacercariae. *Z. Tropenmed. Parasitol.*, **15**, 324-331.
- BOUIX-BUSSON, D., 1983.- Etude de relations entre un parasite, *Fasciola hepatica* L. et un Mollusque hôte, *Lymnaea glabra* Müller. Thèse Doct. 3^e cycle Ecol., Limoges, n° 17, 160 p.
- BOUIX-BUSSON, D., RONDELAUD, D., 1985.- Etude de l'aptitude à l'infestation fasciolienne chez *Lymnaea glabra* Müller et chez *L. truncatula* dans des peuplements mono- et bispécifiques. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **33**, 95-98.
- BOUIX-BUSSON, D., RONDELAUD, D., 1986.- L'infestation de *Lymnaea glabra* Müller par *Fasciola hepatica* L. Etude expérimentale sur le terrain. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **61**, 215-225
- BOUIX-BUSSON, D., RONDELAUD, D., COMBES, C., 1985.- L'infestation de *Lymnaea glabra* Müller par *Fasciola hepatica* L. Les caractéristiques des émissions cercariennes. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **60**, 11-21.
- BOUIX-BUSSON, D., RONDELAUD, D., PREVOST, J., 1983.- Influence du nombre de miracidiums et de l'âge du Mollusque sur la survie et le degré d'infestation de *Lymnaea glabra* Müller par *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **58**, 347-352.
- BROOM, D.M., 1979.- Methods of detecting and analysing activity rhythms. *Biol. Behav.*, **1**, 3-18.
- BUSSON, P., 1981.- Contribution à l'étude du rôle de plusieurs espèces de limnées dans la transmission de la distomatose à *Fasciola hepatica* L. Thèse Doct. Médecine, n° 110, 102 p.
- BUSSON, P., BUSSON, D., RONDELAUD, D., PESTRE-ALEXANDRE, M., 1982.- Données expérimentales sur l'infestation des jeunes de cinq espèces de limnées par *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **57**, 555-563.
- BUZZELL, G.R., 1983.- Composition, secretion, and fate of the glands in the miracidium and sporocyst of *Fasciola hepatica*. *J. Helminthol.*, **57**, 79-84.
- CAILLAULT, I., 1993.- La distomatose humaine à *Fasciola hepatica* dans le département du Cantal. Enquête rétrospective de 1981 à 1991. Étude d'un cas à localisation sous-cutanée. Thèse Pharmacie, Clermont-Ferrand, 160 p.

- DA COSTA, C., 1993.- Étude de relations entre le mollusque *Lymnaea natalensis* Krauss et le parasite *Fasciola gigantica* Cobbold. Les émissions cercariennes et la charge parasitaire *post-mortem*. Mémoire D.E.S.U. Limoges, Parasitol., 95 p.
- DAWES, B., 1959.- Penetration of liver fluke, *Fasciola hepatica*, into the snail, *Limnaea truncatula*. *Nature*, **184**, 1334-1335.
- DAWES, B., 1960.- A study of the miracidium of *Fasciola hepatica* and an account of the mode of penetration of the sporocyst in *Limnaea truncatula*. 95-111. In: Libro Homejo al Dr. Eduardo CABALLERO y CABALLERO. Escuela Nacional de Ciencias Biologicas éd., Mexico.
- DIXON, K.E., 1966.- A morphological and histochemical study of the cystogenic cells of the cercaria of *Fasciola hepatica*. *Parasitology*, **56**, 287-297.
- DOM, I., 1994.- Étude comparative des émissions cercariennes et de la charge parasitaire *post-mortem* chez *Lymnaea tomentosa* Pfeiffer infestée par *Fasciola gigantica* Cobbold ou par *Fasciola hepatica* Linné. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 11, 111 p.
- DREYFUSS, G., 1994.- Contribution à l'étude des émissions cercariennes et de la charge parasitaire *post-mortem* chez trois espèces de limnées infestées par *Fasciola hepatica* Linné ou par *F. gigantica* Cobbold. Thèse Doct. Univ. Limoges, Sci. Pharm., 246 p.
- DREYFUSS, G., MOUKRIM, A., RONDELAUD, D., VAREILLE-MOREL, C., 1994.- Several field observations concerning infection of *Lymnaea palustris* by *Fasciola hepatica*. *J. Helminthol.*, **68**, 115-118.
- DUPERRON, F., 1994.- Les émissions cercariennes de *Fasciola hepatica* Linné et la charge parasitaire *post-mortem* chez *Lymnaea truncatula* Müller élevée sous des conditions constantes. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 13, 96 p.
- EUZEBY, J., 1971.- Les maladies vermineuses et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tome II. Fasc. 2. Livre 1. Vigot frères éd., Paris, 798 p.
- FAURE, N., 1994.- Contribution à l'étude des émissions cercariennes de *Fasciola gigantica* Cobbold chez le mollusque *Lymnaea natalensis* Krauss. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 8, 90 p.
- FRUT, E., 1981.- Contribution à l'étude épidémiologique de la distomatose humaine à *Fasciola hepatica* L. dans le département de la Haute-Vienne. A propos de 121 cas. Thèse Doct. Médecine, Limoges, n° 108, 73 p.
- FURMAGA, S., GUNDLACH, J.L., 1969.- Studies on the participation of some snail species of the family *Lymnaeidae* in the life-cycle of *Fasciola hepatica*. *Acta Parasitol. Pol.*, **17**, 115-118.
- GABE, M., 1968.- Techniques histologiques. Masson et Cie éd., Paris, 1113 p.

- GERMAIN, L., 1931.- Mollusques terrestres et fluviatiles. Faune de France, tome 21. Libr. Fac. Sci. éd., Paris, 893 p.
- GOLVAN, Y.J., 1990.- Éléments de parasitologie médicale. Flammarion éd., Paris, 579 p.
- GRASSÉ, P.P., 1961.- Traité de Zoologie. Anatomie, systématique, biologie. Tome IV. Fasc. 1: Plathelminthes. Mésozoaires. Acanthocéphales. Némertiens. Masson et Cie éd., Paris, 944 p.
- HODASI, J.K.M., 1972.- The effects of *Fasciola hepatica* on *Lymnaea truncatula*. *Parasitology*, **65**, 359-369.
- HOURDIN, P., 1990.- Étude de relations entre le Mollusque *Lymnaea truncatula* Müller et plusieurs parasites (*Fasciola hepatica* L., *Muellerius capillaris* Müller, *Neostromylus linearis* Marotel) au cours d'infestations mono- et bispécifiques. Thèse Doct. Univ. Limoges, Sci. Nat., n° 21, 179 p.
- HUBENDICK, B., 1951.- Recent *Lymnaeidae*. Their variation, morphology, taxonomy, nomenclature and distribution. *Klung, Svenska Vetenskaps. Akad. Handlingar*, **3**, 1-222.
- JACKIEWICZ, M., 1992.- Morphologische Reihenfolge des Innenbaues der Prostata bei den Schlammschnecken (Gastropoda, Pulmonata, *Lymnaeidae*). Proc. Ninth Int. Malacol. Congr., Edinburgh, 1986. *Unitas Malacologica*, Leiden, 185-18.
- JACQUEMIN, P., JACQUEMIN, J.L., 1974.- Abrégé de parasitologie clinique. Masson éd., Paris, 273 p.
- KENDALL, S.B., 1950.- Snail hosts of *Fasciola hepatica* in Britain. *J. Helminthol.*, **24**, 63-74.
- KENDALL, S.B., McCULLOUGH, F.S., 1951.- The emergence of cercariae of *Fasciola hepatica* from the snail *Limnaea truncatula*. *J. Helminthol.*, **25**, 77-92.
- MAGE, C., 1988.- Contribution à l'étude de la fasciolose à *Fasciola hepatica* L. chez les bovins allaitants dans le Limousin et la Cerdagne (France). Conséquences zootechniques et essais thérapeutiques. Thèse Doct. Univ. Limoges, Sci. Nat., n° 3, 142 p.
- MEEK, A.H., MORRIS, R.S., 1979.- The longevity of *Fasciola hepatica* metacercariae encysted on herbage. *Austr. Vet. J.*, **55**, 58-60.
- MERCER, E.H., DIXON, K.E., 1967.- The fine structure of the cystogenic cells of the cercaria of *Fasciola hepatica* L. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, **77**, 331-344.
- OLLERENSHAW, C.B., 1971.- Some observations on the epidemiology of fascioliasis in relation to the timing of molluscicide applications in the control of the disease. *Vet. Rec.*, **88**, 152-164.

- ONO, Y., ISODA, M., MATSUMURA, S., 1954.- Preventive study of *Fasciola hepatica* infection. II. Effects on metacercariae of various environmental conditions and drugs. (en japonais). *J. Jap. Vet. Med. Assoc.*, **7**, 153-155.
- POSTAL, J.M., 1984.- Les paramphistomoses gastro-duodénales des Ruminants. Thèse Doct. Vétérinaire, Créteil, 125 p.
- PRÉVERAUD-SINDOU, M., DREYFUSS, G., RONDELAUD, D., 1994.- Comparison of the migrations of *Fasciola hepatica* sporocysts in *Lymnaea truncatula* and other related snail families. *Parasitol. Res.*, **80**, 342-346.
- RONDELAUD, D., 1993.- Variabilité interpopulationnelle de l'infestation fasciolienne chez le mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. Influence du contact préalable de la population avec le parasite. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **118**, 185-193.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1978a.- Arguments et propositions pour une nouvelle interprétation de l'évolution de *Fasciola hepatica* L. dans *Lymnaea (Galba) truncatula* Müller. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **53**, 201-213.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1978b.- La reconstitution de l'épithélium digestif chez *Lymnaea (Galba) truncatula* Müller infestée par les formes larvaires de *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **53**, 255-264.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1980.- Données histopathologiques sur l'épithélium génital de *Lymnaea truncatula* Müller infestée par *Fasciola hepatica* L. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **105**, 481-490.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1982a.- Les générations rédiennes de *Fasciola hepatica* L. chez *Lymnaea truncatula* Müller. A propos des effets de plusieurs facteurs. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **57**, 245-262.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1982b.- Les générations rédiennes de *Fasciola hepatica* L. chez *Lymnaea truncatula* Müller. Pluralité des schémas de développement. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **57**, 639-642.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1983.- Les modifications structurales du rein chez *Lymnaea truncatula* Müller infestée par *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **58**, 109-116.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1987.- *Fasciola hepatica* L.: étude du développement des rédies chez quatre espèces de limnées. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **5**, 99-104.
- RONDELAUD, D., ALASSONNIÈRE, V., BARTHE, D., 1988.- Les caractéristiques du développement rédien chez les juvéniles de *Lymnaea stagnalis* L. infestés par *Fasciola hepatica* L. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **6**, 105-110.

- ROSZKOWSKI, W.- On the systematic position and the geographical distribution of the genus *Myxas*. *Ann. Zool. Mus. Pol. Hist. Nat.*, 1929, 8, 64-81.
- SAINT-GUILLAIN, M., 1968.- Étude histologique des premiers stades évolutifs de *Fasciola hepatica* L. *Acta Zool. Pathol. Antwerp.*, 46, 77-132.
- SINDOU, P., 1989.- Contribution à l'étude de la pathologie viscérale chez plusieurs espèces de limnées infestées par *Fasciola hepatica* L. Thèse Doct. Univ. Limoges, Sci. Nat., n° 16, 167 p.
- SINDOU, P., CABARET, J., RONDELAUD, D., 1991.- Survival of snails and characteristics lesions of *Fasciola hepatica* infection in four European species of *Lymnaea*. *Vet. Parasitol.*, 40, 47-58.
- SZMIDT, V., 1993.- L'impact du parasitisme sur les neurones ganglionnaires de *Lymnaea truncatula* Müller infestée par *Fasciola hepatica* Linné et par *Muellerius capillaris* Müller. Relations avec la pathologie viscérale. Mémoire D.E.A. Interactions Hôte-Parasites, Créteil, 53 p.
- THOMAS, A.P., 1883.- The natural history of the liver fluke and the prevention of rot. *J. Roy. Agric. Soc. Engl.*, 19, 276-305.
- VAREILLE-MOREL, C., DREYFUSS, G., RONDELAUD, D., 1993.- Premières données sur la dispersion et le devenir des métacercaires flottantes de *Fasciola hepatica* L. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 11, 63-69.
- VAREILLE-MOREL, C., DREYFUSS, G., RONDELAUD, D., 1994.- *Fasciola gigantica* Cobbold et *F. hepatica* Linné: les variations numériques des kystes flottants en fonction de l'espèce de la limnée et de sa taille lors de l'exposition aux miracidiums. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* (sous presse).
- WILLOMITZER, J., 1974a.- Examination of some *Lymnaeidae* for the developmental stages of *Fasciola hepatica*. *Acta Vet. Brno*, 43, 381-385.
- WILLOMITZER, J., 1974b.- Experimental infection of snails with miracidia of *Fasciola hepatica*. *Acta Vet. Brno*, 43, 371-380.



Titre : ETUDE DE QUELQUES RELATIONS ENTRE LE MOLLUSQUE *Myxas glutinosa* Müller (*Lymnaeidae*) ET LE TRÉMATODE *Fasciola hepatica* Linné. INFESTATION EXPÉRIMENTALE ET OBSERVATIONS HISTOLOGIQUES. Par Catherine MONNY.

Des *Myxas glutinosa* ont été soumises à des expositions bimiracidiennes individuelles à 20° C en tenant compte de leur taille (nouveau-nés, juvéniles hauts de 1 et de 2 mm, préadultes). Les mollusques ont été suivis jusqu'aux émissions cercariennes et un contrôle histologique terminal a été pratiqué pour quantifier la charge parasitaire qui reste dans le mollusque mort.

La fréquence des limnées avec émission est de 23,3 % dans la série des nouveau-nés, de 12 % dans celle des juvéniles mesurant 1 mm de hauteur lors de l'exposition miracidiennne et de 2 % dans celle des mollusques hauts de 2 mm; elle se révèle nulle chez les préadultes de 4 mm. Le nombre de métacercaires ne dépasse pas 50 kystes par mollusque dans la série des nouveau-nés et 143 dans les deux autres séries. Quarante-trois limnées (sur 49) ont produit leurs cercaires en une seule vague sur 1 à 3 jours tandis que les 6 autres mollusques les ont émis en 2 ou 3 vagues.

L'examen histologique des cadavres montre que le nombre des rédies indépendantes présentant un aspect normal ne dépasse pas 12 chez les nouveau-nés et 23 dans les deux autres séries. La productivité parasitaire est plus élevée chez les juvéniles que chez les nouveau-nés.

MOTS CLÉS: Cercaire. *Fasciola hepatica*. Mollusca. *Myxas glutinosa*. Parasitisme. Rédie. Trématoda.