

UNIVERSITÉ DE LIMOGES



FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1996

Thèse n° 311 / 1

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE



présentée et soutenue publiquement
le 22 mars 1996

par

Françoise BARRET

née le 16 mars 1971 à Saint-Yrieix-la-Perche (Haute-Vienne)

LES ÉMISSIONS CERCARIENNES DE *Fasciola hepatica* Linné
CHEZ LE MOLLUSQUE *Lymnaea truncatula* Müller.
A PROPOS DE L'INFLUENCE DE DEUX FACTEURS.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Madame BOSGIRAUD, Professeur Président
Melle DARDÉ, Professeur Juge
Monsieur BOUTEILLE, Maître de Conférences Juge
Monsieur DREYFUSS, Maître de Conférences Juge
Monsieur MAGE, Docteur d'Université Juge
Monsieur RONDELAUD, 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
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
GHESTEM Axel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE
LOUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE
RABY Claude	PHARMACIE CHIMIQUE ET CHIMIE ORGANIQUE

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

A notre Président de Thèse

Madame le Professeur C. BOSGIRAUD,
Service de Microbiologie-Parasitologie,

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

*Nous vous prions de croire à l'expression
de notre gratitude respectueuse.*

A notre Directeur de Thèse

Monsieur le Dr. G. DREYFUSS,
Maître de Conférences,

Service de Parasitologie,
Faculté de Pharmacie de Limoges.

*Nous sommes sensible à l'honneur
que nous vous avez fait en acceptant
de diriger ce travail.*

*Nous vous adressons nos remerciements
respectueux pour les conseils et les
critiques que vous nous avez faits
tout au long de notre expérimentation.*

A nos Juges

Mademoiselle le Professeur M.L. DARDÉ,

Service de Parasitologie,
Faculté de Médecine de Limoges.

Monsieur le Dr. B. BOUTEILLE,
Maître de Conférences,

Service de Parasitologie,
Faculté de Médecine de Limoges.

Monsieur le Dr. C. MAGE,
Ingénieur de Recherches et Développement,

Institut de l'Élevage,
Ester, Limoges.

Monsieur le Dr D. RONDELAUD,
Maître de Conférences,

Service d'Histologie,
Faculté de Médecine de Limoges.

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

*Nous sommes honorée de votre participation
à ce Jury de soutenance.*

Nous n'oublierons pas ceux qui nous ont aidé au cours de ce travail:

- Melle M. ABROUS pour son aide dans les infestations expérimentales.
- M. le Dr. Ph. VIGNOLES pour son aide dans les calculs statistiques.

*Nous leur sommes très reconnaissante
et leur adressons nos remerciements.*

A mes parents,

A mon frère,

A mes amis.

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE PREMIER: <i>Fasciola hepatica</i> et ses émissions cercariennes	4
I. - Le Trématode et son cycle évolutif	4
A. Présentation du parasite	4
B. Cycle évolutif	8
C. Le parasite chez l'hôte définitif	10
1. Les espèces animales concernées	10
2. Le développement du parasite	10
3. Les conséquences chez l'hôte définitif	12
D. Le parasite chez l'hôte intermédiaire	13
1. Les diverses espèces de mollusques	13
2. Les formes larvaires	15
3. Les conséquences sur l'hôte intermédiaire	17
II. - Les émissions cercariennes	19
A. La cercaire et sa transformation en métacercaire	19
B. Les rythmes d'émission	21
C. Caractéristiques des vagues d'émission	23
D. Les kystes flottants	25

	Pages
III. - Les facteurs qui peuvent influencer les émissions	27
A. Les facteurs du milieu	27
B. Les facteurs propres du mollusque	29
IV. - Commentaires	30
CHAPITRE DEUXIÈME: Matériel et méthodes	32
I. - Matériel biologique	32
A. Mollusques	32
B. Oeufs de <i>F. hepatica</i>	34
II. - Protocole expérimental	36
III. - Méthodologie	37
A. L'élevage des limnées	37
B. L'exposition aux miracidiums	37
C. Suivi des émissions cercariennes	38
D. Mesure de la coquille	38
IV. - Paramètres utilisés	40
A. Caractéristiques générales de l'infestation fasciolienne	40
B. Production journalière des cercaires	40
V. - Tests statistiques utilisés	41
CHAPITRE TROISIÈME: Caractéristiques générales	
de l'infestation fasciolienne	42
I. - Survie des mollusques au 30 ^e jour	42
II. - Fréquence des mollusques avec émission	46
III. - Durée de vie	49
IV. - Hauteur <i>post-mortem</i> de la coquille	52
V. - Durée de la période prépatente	52
VI. - Durée de la période patente	54
CHAPITRE QUATRIÈME: Les émissions cercariennes	57
I. - Nombre de métacercaires obtenues	57
II. - Existe-t-il une périodicité dans la distribution journalière	
des cercaires au cours de la période patente ?	62

	Pages
A. En fonction du nombre de miracidiums	62
1. Nombre de limnées avec émission	62
2. Nombre de métacercaires par mollusque et par période de deux jours	62
B. En fonction de la hauteur du mollusque lors de l'exposition	65
1. Nombre de limnées avec émission	65
2. Nombre de métacercaires par mollusque et par période de deux jours	65
III. - Les kystes flottants	67
CHAPITRE CINQUIÈME: Commentaires	68
I. - Synthèse	68
A. Caractéristiques générales de l'infestation	68
B. Les émissions cercariennes	69
II. - Discussion	70
A. Taux de survie au 30 ^e jour	70
B. Fréquence des mollusques avec émission	72
C. Hauteur de la coquille	75
D. Durée de la période prépatente	75
E. Nombre de métacercaires par limnée	76
F. Périodicité dans les émissions	77
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES	79
BIBLIOGRAPHIE	82
ANNEXE	90

-oOo-

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La distomatose à *Fasciola hepatica* est une parasitose endémique que l'on rencontre dans la plupart des départements français (GAILLET, 1983). Elle est plus fréquente "dans les régions marécageuses, à sol ou sous-sol ... imperméable: Dombes, Vendée, Saône-et-Loire, Normandie, Sologne, Gâtinais, Limousin, Pays de l'Ouest" (revue d'EUZEBY, 1971). Elle touche surtout les Mammifères domestiques et sauvages mais elle peut aussi contaminer l'homme comme le prouvent les travaux parus récemment sur ce sujet (FERNANDEZ, 1992; BOUREE et THIEBAULT, 1993; CAILLAULT, 1993).

L'épidémiologie de cette maladie comporte entre autres le suivi des mollusques naturellement infestés sur le terrain pour déterminer le nombre de périodes où les émissions cercariennes ont lieu et la durée de ces dernières (revue de TAYLOR, 1965). Des observations cercariologiques ont donc été effectuées par plusieurs auteurs sur ce parasite à partir de son principal hôte intermédiaire dans les pays européens, *Lymnaea truncatula* Müller. Les cercaires de *F. hepatica* sont émises par le mollusque hôte au cours de la période patente selon un rythme circadien. Ces émissions sont discontinues dans le temps et s'effectuent sous forme de vagues de un ou plusieurs jours, séparées par des repos de durée variable (ROBERTS, 1950; KENDALL et McCULLOUGH, 1951; HODASI, 1972; AUDOUSSET *et al.*, 1989; DREYFUSS et RONDELAUD, 1994).

Le problème réside dans le fait que toutes les études ont été réalisées avec des mollusques hauts de 4 mm lors de l'exposition miracidienne, avec 2 à 3 larves par limnée.

Comme les résultats sont différents avec des mollusques infestés à leur naissance (BUSSON *et al.*, 1982; BOUIX-BUSSON *et al.*, 1985), il était logique de penser que plusieurs facteurs pouvaient avoir une influence sur les caractéristiques de ces émissions cercariennes.

Le facteur le plus connu est le volume corporel de l'hôte intermédiaire car il influe sur la productivité du parasite avec un nombre de cercaires qui augmente avec la taille de la limnée (KENDALL, 1949; KENDALL et OLLERENSHAW, 1963; RONDELAUD et BARTHE, 1978; SMITH, 1984). Ces émissions sont également sous l'influence de facteurs du milieu comme la nécessité d'une température clémente, l'action favorable d'une eau fraîche ou le passage d'un habitat plus ou moins asséché à un milieu inondé (KENDALL et McCULLOUGH, 1951; PÊCHEUR, 1974).

Devant cet état de fait, nous nous sommes demandé si des facteurs propres au mollusque ne pouvaient pas retentir sur les caractéristiques de ces émissions. C'est la raison pour laquelle nous avons procédé à deux expériences pour répondre à la problématique suivante:

- La taille du mollusque lors de l'exposition aux miracidiums a-t-elle une influence sur les caractéristiques de ces émissions dans le cas de *F. hepatica* ?
- Le nombre de miracidiums lors de l'exposition (de 2 à 20 par limnée) peut-il retentir sur le nombre de cercaires émises et leur chronologie dans le temps ?

Les résultats de ces études sont présentés dans ce mémoire de thèse. Nous avons adopté le plan suivant:

- Le chapitre premier rappelle des notions classiques sur *F. hepatica*, son cycle évolutif, les émissions cercariennes et les facteurs qui peuvent avoir une influence sur ces dernières.
- Le chapitre deuxième décrit le matériel biologique, le protocole des deux expériences, la méthodologie et les paramètres utilisés.
- Le chapitre troisième expose les résultats que nous avons obtenus sur les émissions cercariennes.
- Le chapitre quatrième regroupe l'ensemble des commentaires que nous avons formulés sur nos données par rapport à celles de la bibliographie.

Une annexe à la fin du mémoire fournit les résultats individuels des émissions cercariennes pour chaque limnée infestée.

***Fasciola hepatica* ET SES ÉMISSIONS CERCARIENNES**

Le but de ce chapitre est de dresser un état de nos connaissances actuelles sur les émissions cercariennes de ce Trématode à partir du mollusque qui a été le plus étudié, *L. truncatula*.

Dans un premier temps, nous rappellerons le cycle évolutif du Trématode, les hôtes concernés et les conséquences de ce parasitisme sur ces derniers. En second lieu, nous exposerons les données de la littérature sur les caractéristiques des émissions cercariennes. Un troisième temps nous servira pour établir une revue synoptique des facteurs qui sont connus pour avoir une influence sur ces émissions. Des commentaires seront fournis sur ces différents points à la fin de ce chapitre.

I. - LE TRÉMATODE ET SON CYCLE ÉVOLUTIF.

A. PRÉSENTATION DU PARASITE.

Cet Helminthe est classé dans la systématique (GRASSÉ, 1961) comme suit:

- Embranchement des Plathelmintha,
- Classe des Trematoda,
- Sous-classe des Digenea,
- Ordre des Echinostomida,



— 1 cm

Planche A.
Morphologie de *F. hepatica* adulte
(d'après Laboratoires JANSSEN,
document à diffusion commerciale).

- Famille des *Fasciolidae*,
- Genre *Fasciola*,
- Espèce *hepatica* Linné 1758.

Le ver adulte est plat, d'aspect foliacé et de coloration brunâtre. Il mesure 15 à 35 mm de long sur 8 à 13 mm de large. Son corps se caractérise par deux élargissements scapulaires à la sortie du cône céphalique (Planche A). Il possède deux ventouses, l'une située à la partie antérieure (ventouse buccale) et l'autre en position ventrale, jouant un rôle dans la fixation (ventouse ventrale).

L'anatomie interne est complexe (revue d'EUZEBY, 1971). L'appareil digestif comprend un pharynx qui se divise en deux caecums. On trouve, en plus:

- deux testicules dans la région moyenne du corps,
- un ovaire qui se dispose sur un côté tandis que l'utérus, également unique, se situe sur l'autre côté,
- des glandes vitellogènes qui forment deux bandes latérales sur toute la hauteur du corps.

De cet appareil génital, sortent des oeufs ovoïdes et operculés à un pôle, qui mesurent 130 à 140 μm de long sur 70 à 80 μm de large. Ces oeufs ne sont pas embryonnés au moment de la ponte.

Le parasite se développe dans le foie de son hôte définitif où il effectue sa maturation pour se transformer en adulte. Cependant, on peut rencontrer des formes immatures (résultant de l'évolution de métacercaires) dans d'autres régions du corps comme l'oeil ou le derme (CAILLAULT, 1993).

La distomatose à *F. hepatica* "a une distribution cosmopolite et on la rencontre dans presque tous les pays où le climat (humidité, température) facilite le développement exogène du parasite" (EUZEBY, 1971). L'examen de la littérature montre, cependant, son absence dans certaines régions: des pays de l'Asie tels que la Malaisie ou le Japon, la plupart des pays situés sur le continent africain sont touchés par une autre distomatose, celle à *F. gigantica* qui est plus spécifique des zones tropicales. *F. hepatica* est également inconnu dans les régions de haute latitude Nord (Islande, Nord des pays scandinaves).

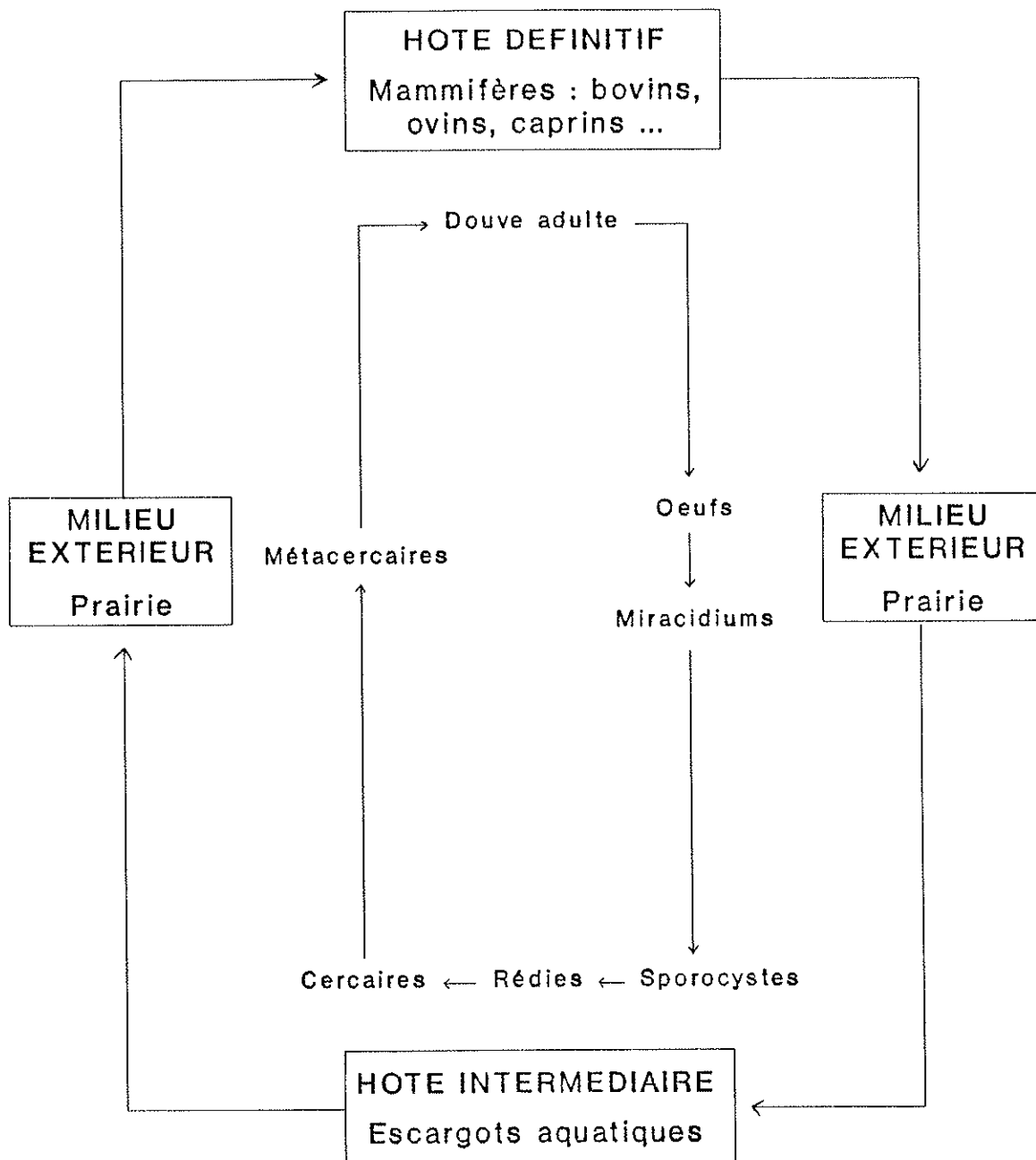


Figure 1.
 Les quatre étapes du cycle évolutif pour *F. hepatica*.
 (d'après EUZEBY, 1971).

B. CYCLE ÉVOLUTIF.

Deux hôtes sont nécessaires pour sa réalisation. L'un héberge le parasite adulte (hôte définitif) et le second assure le développement des formes larvaires (hôte intermédiaire).

Le cycle (figure 1) se déroule en quatre étapes successives:

- Première phase: l'infestation de l'hôte définitif.

Les Mammifères, y compris l'homme, se contaminent en ingérant des métacercaires fixées sur des végétaux ou encore des kystes flottants. Ces parasites quittent leur enveloppe dans l'estomac de l'hôte, migrent jusqu'au foie et effectuent une migration intra-parenchymateuse avant de gagner les canaux biliaires où ils deviennent adultes.

A ce stade, les douves pondent des oeufs qui sont éliminés avec la bile et transitent par le tractus intestinal avant d'être éliminés à l'extérieur avec les matières fécales.

- Deuxième phase: l'évolution des oeufs dans le milieu extérieur.

Au sol, les oeufs subissent une période d'incubation et éclosent si la température et l'humidité sont suffisantes. Des miracidiums en sortent et nagent à la recherche d'un hôte intermédiaire. La rencontre entre les deux doit s'effectuer dans les 24 heures sinon les miracidiums meurent.

- Troisième phase: l'infestation du mollusque hôte.

Le miracidium pénètre dans l'hôte intermédiaire et se transforme en sporocyste qui, lui, donne naissance à la première génération de rédies. Trois autres générations se succèdent par la suite dans le corps du mollusque et elles forment toutes des cercaires. Ces dernières sortent du mollusque au cours d'une émission lors de la période patente.

- Quatrième phase: le stade métacercaire.

Après l'émission, les cercaires nagent rapidement et peuvent se fixer sur des plantes ou sur le sol. Elles perdent alors leur queue et s'enkystent: on parle alors de métacercaires. Un kyste à deux couches est alors sécrété par le parasite lui permettant de résister aux contraintes du milieu extérieur.

Certains parasites peuvent s'enkyster à la surface de l'eau et flotter pendant une durée variable. Ces kystes flottants sont entourés, pour cela, d'une collerette garnie de lacunes aérifères.

Catégories	Espèces concernées	Systématique (ordres)
Homme	<i>Homo sapiens</i>	Primates
Bétail	<i>Bos taurus</i> (Boeuf) <i>Capra hircus</i> (Chèvre) <i>Ovis aries</i> (Mouton)	Artiodactyles
	<i>Sus scrofa</i> (Porc) <i>Equus caballus</i> (Cheval)	Artiodactyles Périsso-dactyles
Mammifères sauvages (parfois élevés en captivité)	<i>Capreolus capreolus</i> (Chevreuil) <i>Cervus elaphus</i> (Cerf) <i>Dama dama</i> (Daim) <i>Lepus europaeus</i> (Lièvre) <i>Oryctolagus cuniculus</i> (Lapin) <i>Sus scrofa</i> (Sanglier)	Artiodactyles Rongeurs Rongeurs Artiodactyles
Autres espèces	<i>Mus musculus</i> (Souris) <i>Rattus rattus</i> (Rat noir) <i>Sciurus vulgaris</i> (Ecoreuil)	Rongeurs

Tableau I.

Les principales espèces françaises de Mammifères recensées dans la littérature comme hôtes définitifs de *F. hepatica* (d'après BORAY, 1969 et EUZEBY, 1971, modifié par MOUKRIM, 1991).

C. LE PARASITE CHEZ L'HÔTE DÉFINITIF.

1. Les espèces animales concernées.

Nous avons regroupé sur le tableau I quelques espèces de Mammifères qui sont signalées dans la littérature pour leur rôle comme hôtes définitifs de *F. hepatica*. Dans le cadre de ce mémoire, nous avons limité la liste aux animaux qui se rencontrent sur le territoire français mais il va de soi que ce tableau n'est pas exhaustif et que d'autres espèces vivant dans nos régions sont également concernées (comme *Castor fiber* dans le Rhône).

La gamme des espèces touchées par ce parasite est assez étendue puisqu'elle va des Rongeurs à l'homme. Ceci suggère que *F. hepatica* n'a pas de spécificité pour l'hôte définitif.

En dehors du bétail classique, le Trématode touche également un certain nombre d'espèces sauvages comme le cerf ou le daim. Les Léporidés sont également connus pour leur infestation et plusieurs auteurs (BAILENGER *et al.*, 1965) ont souligné le rôle de ces espèces dans l'entretien du cycle sur des territoires dépourvus de bétail.

Les cas humains de distomatose ne sont pas rares comme le montrent les enquêtes épidémiologiques qui sont réalisées sur cette parasitose. GAILLET (1983), GAILLET *et al.* (1983) recensent ainsi 8.898 cas sur le territoire français depuis les années 1950. PAREAU *et al.* (1995) montre, en plus, qu'il existe une relation positive entre les dates du repas infestant au cours de l'année et l'altitude des stations où la plante contaminée a été récoltée.

2. Le développement du parasite.

L'arrivée de la métacercare dans l'estomac est suivie d'un brassage mécanique par les contractions périodiques de la musculature et d'une action des sucs digestifs, ce qui permet la sortie du parasite de son enveloppe kystique. Ce dernier franchit la paroi de l'intestin grêle et migre vers le foie, soit directement, soit indirectement en effectuant des déplacements de durée variable dans le corps de l'hôte avant d'atteindre les lobes hépatiques.

La douvule effectue alors une migration dans le parenchyme pendant six semaines environ au cours desquelles elle augmente progressivement de taille. Elle gagne finalement les canaux biliaires où elle se fixe au troisième mois post-infestation. Elle est alors au stade adulte et commence sa ponte.

Paramètres	Modifications dues au parasitisme	Références
Croissance pondérale des animaux.	<ul style="list-style-type: none"> * Nécessité de 70 jours supplémentaires pour que les bovins infestés atteignent le poids standard de 330 kg. * Perte de poids de 16 kg par animal parasité entre juin et début novembre par rapport à des bovins sains. * Nécessité de 21 à 39 jours supplémentaires pour que des taurillons atteignent le poids de 400 kg par rapport à celui d'animaux non infestés. 	<p>OAKLEY <i>et al.</i>, 1977.</p> <p>LE STANG, 1981.</p> <p>MAGE, 1988, 1990.</p>
Fertilité	<ul style="list-style-type: none"> * Réduction de la fertilité chez les vaches parasitées nécessitant un nombre plus important d'inséminations. 	<p>LOISEL <i>et al.</i>, 1986.</p>
Production laitière.	<ul style="list-style-type: none"> * Production de lait inférieure de 8 % chez les vaches parasitées par rapport à celle des animaux sains. * Augmentation de la production laitière chez les vaches infestées naturellement sans autres signes cliniques. 	<p>ROSS, 1970.</p> <p>BLACK et FROYD, 1976.</p>
Saisie des foies.	<ul style="list-style-type: none"> * Pourcentage de foies saisis pour distomatose compris entre 25 et 40 %. 	<p>FERRE, 1985.</p>

Tableau II.
Les conséquences économiques de *F. hepatica*
au niveau du bétail domestique
(d'après MAGE, 1988, complété
par ALZIEU et MAGE, 1991).

Cette évolution est à l'origine des deux phases cliniques que l'on reconnaît dans la maladie chez l'homme:

- la phase d'invasion. La douvule migre dans le parenchyme hépatique et y exerce une action traumatisante. De plus, elle produit des métabolites allergisants. Cela provoque un syndrome de toxi-infection entraînant une hépatomégalie, des douleurs de l'hypochondre droit, accompagnées d'une fièvre modérée.

- la phase d'état. Elle a lieu au troisième mois post-infestation et se caractérise par un ictère plus ou moins marqué. Les oeufs de *F. hepatica* se retrouvent, à ce stade, dans les selles de l'hôte définitif.

3. Les conséquences sur l'hôte définitif.

Elles varient selon la charge parasitaire chez l'animal. Si le nombre de parasites est important, on a souvent le développement d'une forme aiguë qui peut entraîner la mort de l'animal atteint alors que dans la forme chronique, l'atteinte est moins marquée par suite du faible nombre de parasites dans le foie.

Chez l'homme, on retrouve également ces deux aspects cliniques mais les formes frustes sont fréquentes. De plus, la maladie se présente souvent en réalisant de petites épidémies familiales.

Les pertes économiques ont surtout été étudiées dans le cas des formes chroniques. MAGE (1988) signale les faits suivants (tableau II):

- un ralentissement dans la croissance pondérale. L'animal parasité met plus de temps pour atteindre un poids déterminé que le témoin sain.

- une fertilité et une fécondité nettement moins élevées chez les vaches lorsqu'elles sont parasitées par *F. hepatica*.

- une diminution qualitative et quantitative de la production laitière. Les vaches parasitées fournissent moins de lait que les témoins.

- une saisie des foies douvés et des carcasses "cachectiques".

A ces dommages, s'ajoute une chute dans la production de laine (pour les moutons) et le coût des traitements antiparasitaires (revue d'EUZEBY, 1971).

D. LE PARASITE CHEZ L'HÔTE INTERMÉDIAIRE.

1. Les diverses espèces de mollusques.

Il s'agit de Mollusques Gastéropodes Pulmonés Basommatophores appartenant à la famille des *Lymnaeidae*.

BORAY (1978) distingue quatre catégories de limnées par rapport à l'infestation fasciolienne:

Groupes	Caractéristiques	Souches de <i>F. hepatica</i> adaptées	Souches de <i>F. hepatica</i> non adaptées
Relations normales.	Faible mortalité. Prévalence élevée. Production cercarienne importante.	<i>L. cubensis</i> , <i>L. tomentosa</i> , <i>L. viator</i> .	<i>L. truncatula</i> .
Disparité relative.	Mortalité élevée. Développement complet chez la limnée adulte. Prévalence variable. Production cercarienne variable.	<i>L. columella</i> .	<i>L. columella</i> , <i>L. cubensis</i> , <i>L. tomentosa</i> , <i>L. viator</i> .
Résistance due à l'âge.	Développement seulement chez de jeunes mollusques. Production de quelques cercaires.	<i>L. glabra</i> , <i>L. natalensis</i> , <i>L. palustris</i> , <i>L. peregra</i> , <i>L. stagnalis</i> .	
Résistance totale.	Absence de pénétration miracidienne.	<i>L. auricularia</i> .	

Dans la plupart des pays européens, *L. truncatula* est pratiquement le seul hôte intermédiaire du parasite. Cette limnée est considérée comme l'hôte préférentiel.

D'autres limnées comme *L. glabra*, *L. palustris*, *L. peregra* ou *L. stagnalis* ne peuvent assurer le développement complet du parasite que si elles sont exposées aux miracidiums dès leur naissance. Ces espèces ont été qualifiées d'hôtes anormaux (KENDALL, 1950) ou accidentels (BUSSON, 1981).

Dans certains pays, la Limnée tronquée ne semble avoir qu'un rôle accessoire car une espèce considérée comme hôte accidentel peut devenir préférentielle: *L. peregra* en Roumanie, *L. palustris* en Pologne ou *L. cubensis* en Amérique Centrale (EUZEBY, 1971).

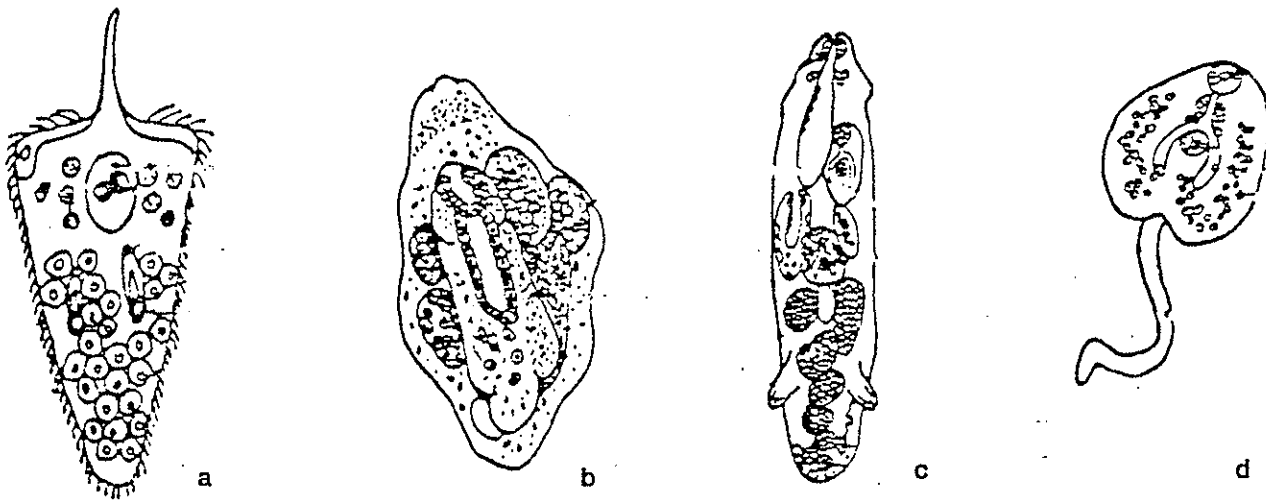


Figure 2.
 Les formes larvaires de *F. hepatica* chez la Limnée tronquée:
 miracidium (2a), sporocyste (2b), rédie (2c) et cercaire (2d)
 (d'après THOMAS, 1883, modifié par RONDELAUD, 1978).

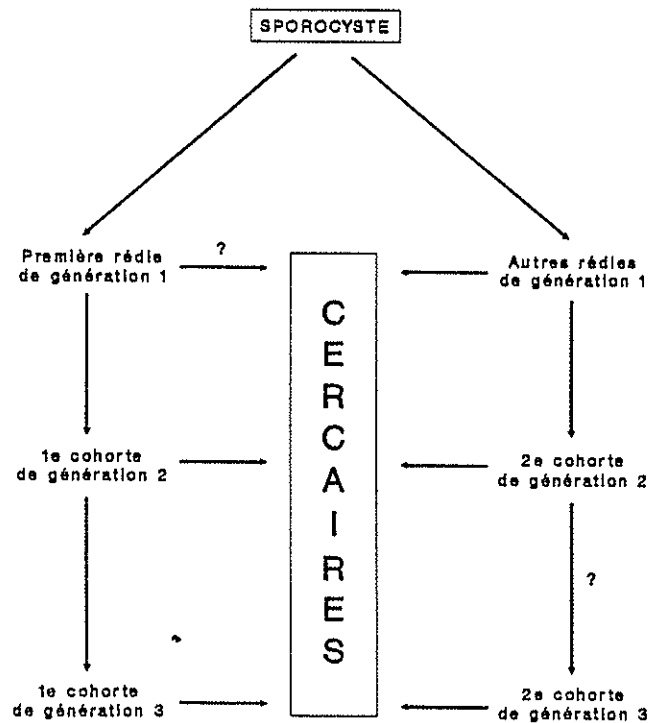


Figure 3.
 Les générations rédiennes de *F. hepatica*
 (d'après RONDELAUD et BARTHE, 1978, modifié par DOM, 1994).

2. Les formes larvaires.

La figure 2 présente les divers types de formes larvaires qui entrent dans le mollusque hôte, s'y développent ou en sortent.

Les données à l'origine de cette synthèse proviennent de la revue d'EUZEBY (1971) et des thèses suivantes: RONDELAUD, 1978; DOM, 1994.

Le miracidium nage à la rencontre du mollusque hôte. La pénétration peut se faire en n'importe quel point du corps et s'accomplit par un processus mécanique, couplé à une sécrétion d'enzymes de la part du parasite. Au point d'entrée, le tégument externe du mollusque se lyse et le parasite pénètre en abandonnant sa ciliature. Il se transforme alors en un sporocyste. Ce dernier prend une forme ovoïde et migre dans les tissus de son hôte pour trouver un site favorable à son développement. Les migrations laissent des lésions sous forme de tunnels qui persistent chez le mollusque (BOUIX-BUSSON *et al.*, 1984).

Dès que le sporocyste s'est fixé, les cellules embryonnaires présentes dans la larve se multiplient et forment des morulas rondes qui se développeront en formant des rédies. Ces dernières sortent progressivement du sporocyste et constituent la première génération. D'autres générations rédiennes se développent par la suite à partir de cette première génération et le schéma de leur développement est précisé sur la figure 3.

Toutes les générations rédiennes forment des cercaires à l'exception de la première rédie de première génération qui ne forme que des rédies filles (donc de deuxième génération). Les morulas se transforment successivement en embryons procercariens, puis en procercaires et en cercaires, lesquelles deviennent indépendantes dans le corps du mollusque.

Les cercaires sont émises au cours de la période patente. La larve nage alors rapidement et se fixe sur un corps immergé pour se transformer en une métacercaire fixée. Il existe également des kystes flottants mais ils ne représentent que 10 % de l'ensemble des métacercaires formées. Des cercaires restent à l'intérieur du mollusque mais elles dégènèrent au bout d'un certain temps ou bien forment des kystes internes.

La survie des métacercaires est variable: dans les conditions climatiques de nos régions, elle peut atteindre 6 mois pour les kystes formés avant l'hiver. Les métacercaires sont rapidement détruites lorsque la température du milieu dépasse 25° C.

Organe	Aspect structural	Observations
Glande digestive	Nécrose épithéliale plurifocale touchant les cellules à calcium, puis généralisée à tous les types cellulaires.	Reconstitution de l'épithélium avec hyperplasie cellulaire. Une autre vague de nécrose peut se développer sur cet épithélium reconstitué et ainsi de suite aboutissant finalement à une atrophie avec mise à nu de la lame basale.
Gonade.	Atrophie variable de la glande avec nécrose importante des cellules germinales.	
Glande de l'albumine	Nécrose épithéliale dans un secteur de la glande qui s'étend ultérieurement à tout l'organe. Atrophie fréquente chez les jeunes.	
Rein	* Dépôts intralamellaires épaississant l'axe central. * Nécrose épithéliale survenant plus rapidement que dans les trois autres organes.	

Tableau III.
 Les conséquences de l'infestation fasciolienne
 sur les organes internes de *L. truncatula*
 (d'après SINDOU, 1989; MOUKRIM, 1991;
 SINDOU *et al.*, 1991; MOUKRIM *et al.*, 1992).

3. Les conséquences sur l'hôte intermédiaire.

Le tableau III présente quelques lésions et leur évolution au niveau de quatre viscères chez l'hôte intermédiaire préférentiel dans notre pays, la Limnée tronquée. Son examen permet les remarques suivantes:

- La glande de l'albumine, la glande digestive, la gonade et le rein présentent une nécrose de leur épithélium qui peut être totale ou progressive. Cette première lésion est suivie d'une reconstitution avec hyperplasie cellulaire et restauration de l'activité. Ce cycle nécrose-reconstitution peut recommencer plusieurs fois de suite dans le cas du rein.

- Une atrophie de l'organe peut s'observer dans le cas de la glande de l'albumine et de la gonade. Elle est assez fréquente chez les jeunes limnées infestées et plus variable chez les adultes.

- Des dépôts denses peuvent se situer dans l'axe central des lamelles rénales. Leur signification pose encore un problème car on les retrouve parfois chez des témoins sains.

Une prolifération des amibocytes circulants a, également, été notée par RONDELAUD et BARTHE (1980) chez les mollusques infestés. Elle peut envahir pratiquement la totalité des espaces hémolymphatiques allant parfois jusqu'à la formation de nodules (RONDELAUD et BARTHE, 1981). Le lien avec le parasitisme est cependant remis en question car on retrouve ce type de prolifération lorsque les limnées sont parasitées par un virus (BARTHE *et al.*, 1984).

Les conséquences sur les paramètres physiologiques sont, de même, bien connus. Sans entrer dans le domaine biochimique, on sait:

- que certaines limnées infestées peuvent présenter un gigantisme par rapport à des mollusques sains (RONDELAUD et VINCENT, 1973).

- qu'il existe un retard dans la croissance des mollusques si les mollusques sont exposés aux miracidiums dans leurs premiers jours de vie. Ce fait se retrouve chez toutes les limnées, quelle que soit l'espèce (BUSSON, 1981; BUSSON *et al.*, 1982).

Dans tous les cas, il existe un équilibre entre le mollusque et son parasite (SCHWANBECK *et al.*, 1986) comme en témoigne le nombre de cercaires que le mollusque peut former en fonction de sa taille (KENDALL et OLLERENSHAW, 1963; SMITH, 1984).

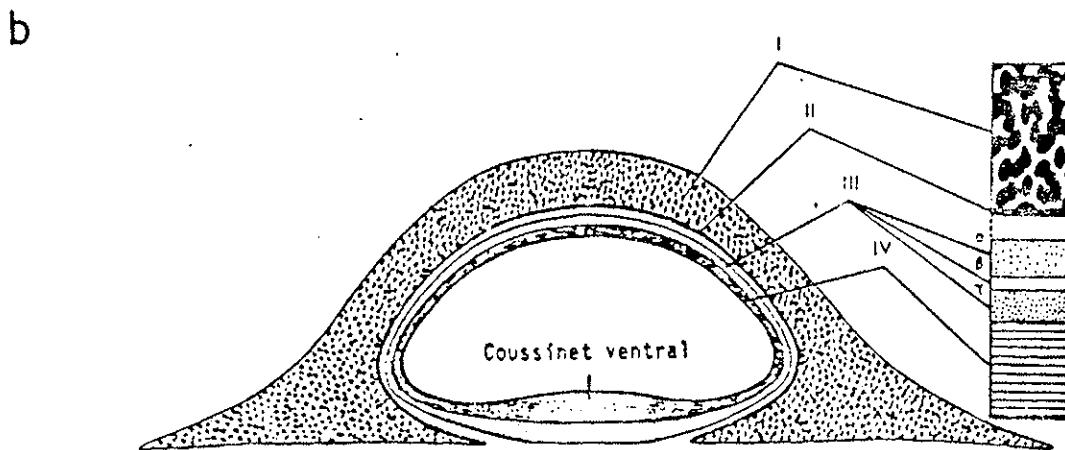
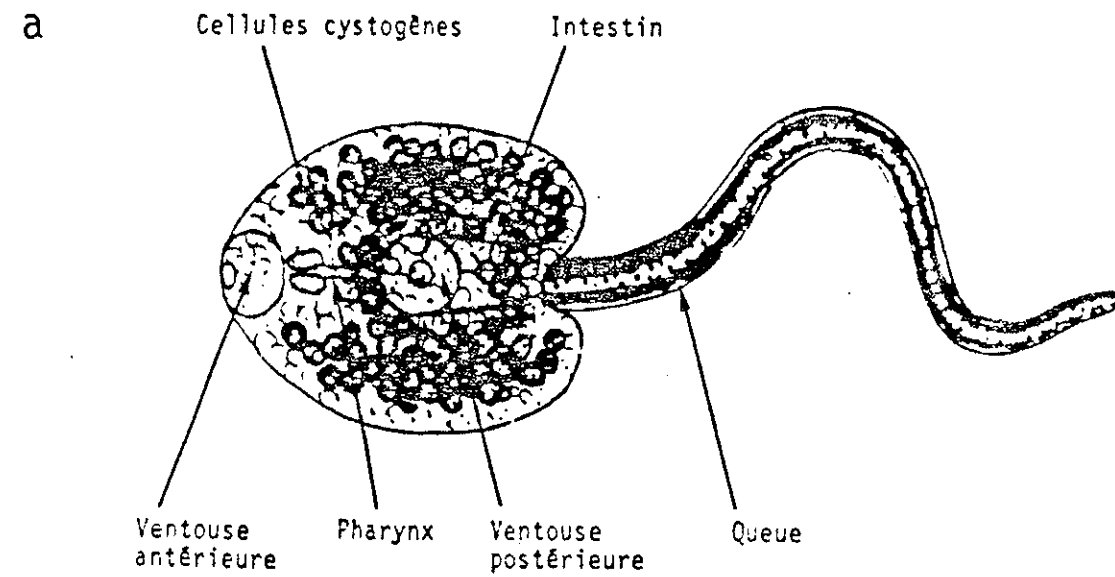


Figure 4.
 Les formes larvaires de *F. hepatica*:
 - Morphologie générale de la cercaire: 4a
 (d'après THOMAS, 1883, modifié par ESCLAIRE, 1989).
 - Structure du kyste métacercarien: 4b
 (d'après MERCER et DIXON, 1967).
 Ce dernier a quatre assises et trois sous-assises
 pour l'assise III.

II. - LES ÉMISSIONS CERCARIENNES.

Les éléments, qui nous ont servi à la confection de ce paragraphe, proviennent de plusieurs documents: AUDOUSSET, 1989; ESCLAIRE, 1989; DUPERRON, 1994; DREYFUSS, 1994.

A. LA CERCAIRE ET SA TRANSFORMATION EN MÉTACERCAIRE.

La cercaire quitte la limnée entre la cinquième et la douzième semaine après l'exposition aux miracidiums. Elle s'éloigne du mollusque et nage dans l'eau pendant quelques minutes grâce aux ondulations de sa queue.

La figure 4a montre la morphologie de cette larve. La queue est bien développée et le corps est discoïde, hémisphérique avec deux ventouses (orale, ventrale). Quatre groupes de glandes cystogènes sont présentes dans le corps de la cercaire et sont à l'origine des quatre assises qui formeront le futur kyste (DIXON, 1966). Le corps renferme, également, des cellules à flamme vibratile qui jouent un rôle dans l'excrétion.

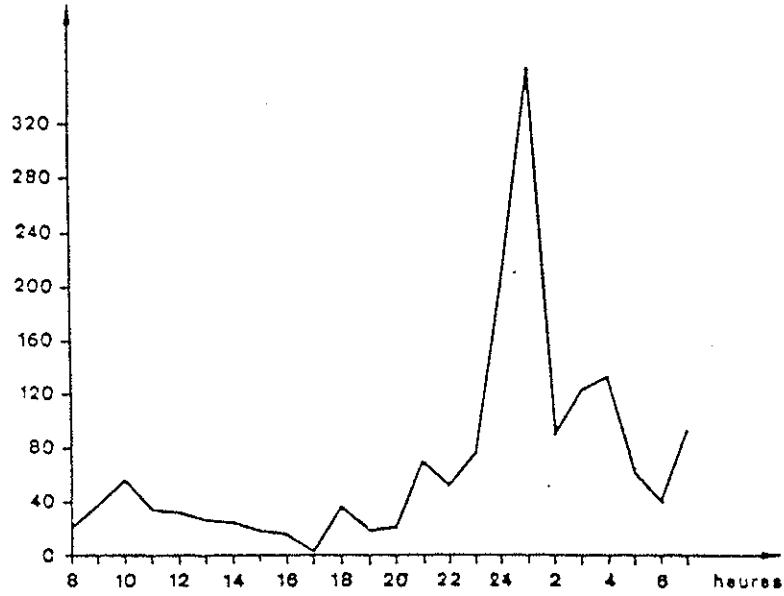
On y trouve également un collier nerveux. Enfin, des papilles sensorielles se distribuent sur toute la surface tégumentaire de la larve. Elles sont utiles en systématique car elles permettent d'identifier l'espèce à laquelle appartient la cercaire (GRABDA-KAZUBSKA *et al.*, 1991).

La structure du kyste métacercarien est indiquée sur la figure 4b. On y distingue quatre assises:

Couches	assises	Éléments constitutifs	Observations
Externe	I	Protéine tannée recouvrant le dôme et les parties latérales du kyste	Une sous-assise A1a se délitte lorsque la métacercaire est plongée dans du vinaigre.
	II	Mucoprotéines et mucopolysaccharides acides.	-
Interne	III	Mucopolysaccharides.	On peut y distinguer trois sous-assises.
	IV	Protéine kératinoïde et matrice lipido-protéique.	-

Le diamètre de la métacercaire est de 220 μm environ pour une hauteur de 156 μm .

a



b

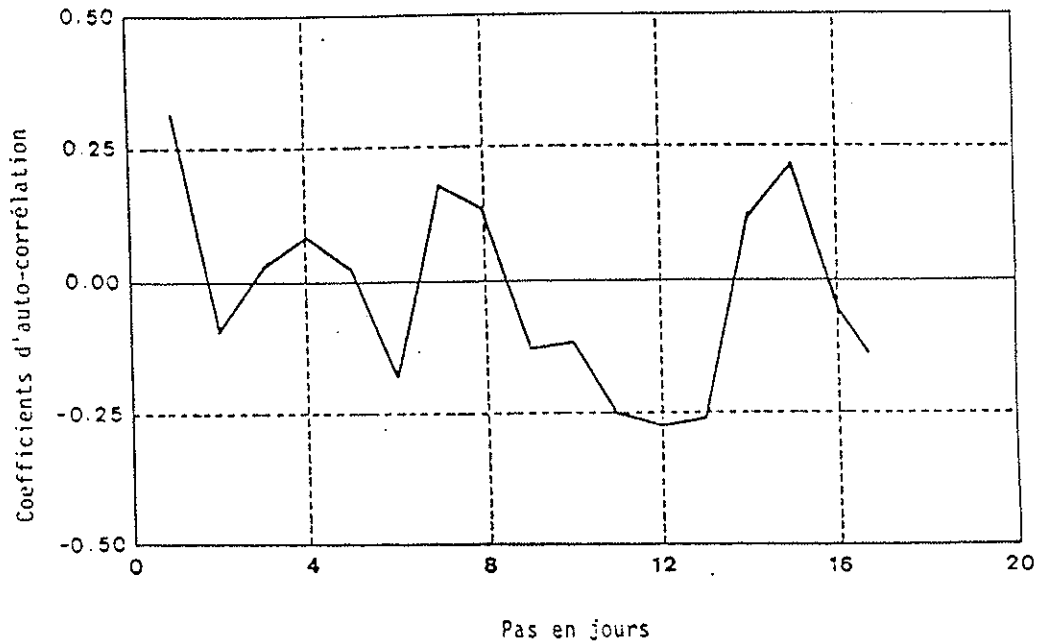


Figure 5.

Les émissions cercariennes de *F. hepatica*
à partir du mollusque *Lymnaea truncatula*:

- Le rythme circadien: 5a.

- Le rythme infradien: 5b.

(d'après AUDOUSSET *et al.*, 1989).

B. LES RYTHMES D'ÉMISSION.

Les cercaires sortent de la limnée en effectuant une effraction au niveau de la région péri-anale du mollusque. Cette sortie a lieu à chaque fermeture du pneumostome (ouverture du poumon) ce qui entraînerait une augmentation de la pression interne dans cette région. D'après KENDALL et McCULLOUGH (1951), le mollusque n'aurait qu'un rôle passif dans l'expulsion de ses parasites tandis qu'EUZEBY (1971) rapporte que "le pneumostome se ferme comme pour favoriser un effort expulsif" ce qui suggère un rôle actif de la limnée.

Ces émissions s'effectuent selon deux rythmes différents que nous avons transcrits sur la figure 5:

- Le premier est circadien. On constate nettement sur le graphe 5a que la plupart des cercaires sont émises au cours de la nuit, avec un optimum vers minuit-1 heure du matin et un minimum entre 12 et 14 heures. Ce rythme ne se retrouve pas chez des jeunes limnées infestées à leur naissance (BOUIX-BUSSON *et al.*, 1985). Chez les mollusques adultes, la période optimale de l'émission peut varier au cours de la nuit selon la nature de l'hôte définitif d'où proviennent les oeufs du Trématode utilisés pour l'exposition miracidienne (RONDELAUD et DREYFUSS, 1994).

- Le second est de type infradien (fig. 5b). Des périodes de production cercarienne importante se succèdent avec une périodicité de 7 jours environ lorsque les limnées sont élevées dans des conditions semi-naturelles (AUDOUSSET *et al.*, 1989) mais ce rythme n'a pas été retrouvé au laboratoire si les mollusques sont maintenus sous des conditions constantes (DREYFUSS, 1994; DREYFUSS et RONDELAUD, 1994). La comparaison de ces deux résultats sous-entend que ce rythme, s'il existe, serait sous l'influence des conditions environnementales et, en premier, des facteurs du milieu où vit le mollusque.

Toutes les cercaires indépendantes, présentes dans le mollusque ne sont pas émises par la Limnée tronquée. Si l'on étudie la charge parasitaire qui reste dans le mollusque lorsqu'il meurt après une émission, on constate que ces parasites entrent en dégénérescence au bout d'un certain temps et que des cercaires voisines peuvent même se fusionner par leur couche protectrice externe (DREYFUSS, 1994; DUPERRON, 1994; DREYFUSS *et al.*, 1995). Parmi les mollusques infestés, on retrouve même des limnées qui meurent sans émission et le mécanisme responsable n'est toujours pas connu.

Conditions	Nombre de vagues	Pourcentage de limnées concernées	Durée de ces vagues en jours (moyennes)	Références
Milieu semi-naturel	1	38,1	1,9 à 3,2	AUDOUSSET, 1989; AUDOUSSET <i>et al.</i> , 1989; DREYFUSS, 1994.
	2	28,3		
	3	19,6		
	4	9,2	1 à 5	
	5	2,3		
	6	1,1		
	7	1,1		
Conditions constantes	1	7,8	1 à 6,1	DREYFUSS, 1994; DUPERRON, 1994; DREYFUSS et RONDELAUD, 1994.
	2	6,9		
	3	8,8		
	4	20,6		
	5	15,7		
	6	7,8		
	7	5,9		

Tableau IV.
Les caractéristiques des vagues d'émission
chez *L. truncatula* parasitée par *F. hepatica*.

C. CARACTÉRISTIQUES DES VAGUES D'ÉMISSION.

Nous les avons regroupées sur le tableau IV. Elles se rapportent à des Limnées tronquées maintenues dans des conditions semi-naturelles ou sous les paramètres constants du laboratoire.

L'examen de ce tableau montre les éléments suivants:

- Le nombre de vagues d'émission est nettement plus important chez les *L. truncatula* du second groupe que chez celles qui ont été élevées dans un milieu semi-naturel: 14 vagues au lieu de 7.

- On constate une différence dans le pourcentage maximum des limnées concernées. La plupart des limnées (38 %) maintenues sous des conditions semi-naturelles émettent leurs cercaires en une seule vague. A l'inverse, les fréquences les plus élevées chez les mollusques élevés au laboratoire concernent 4 et 5 vagues (20 % et 15 % respectivement).

- La durée de ces vagues oscille de 1 à 5 jours chez les *L. truncatula* du premier groupe et la gamme des durées est nettement plus étendue chez les mollusques avec 5 à 7 vagues que chez ceux qui ont un nombre inférieur. Dans le second groupe, la durée des vagues s'étend de 1 à 6,1 jours. La comparaison des durées par voie statistique montre l'existence d'une différence significative entre les moyennes obtenues chez les mollusques élevés dans un milieu semi-naturel et ceux maintenus sous des conditions constantes.

Si l'on considère la durée de la période patente, les moyennes se distribuent entre 27,3 et 32,1 jours chez les limnées maintenues dans des conditions semi-naturelles (8° à 22° C). Dans le cadre du laboratoire, la moyenne est de 46 jours à 20° C.

Ces *L. truncatula* fournissent des cercaires en nombre variable:

- Pour AUDOUSSET (1989), le nombre moyen de larves émises est compris entre 25,4 et 103,8 par mollusque, avec un effectif maximal de 648 parasites pour une limnée.

- Si l'on considère les travaux de DUPERRON (1994), on note un effectif moyen de 265,3 cercaires par *L. truncatula*, avec un maximum de 762 parasites chez l'un des mollusques.

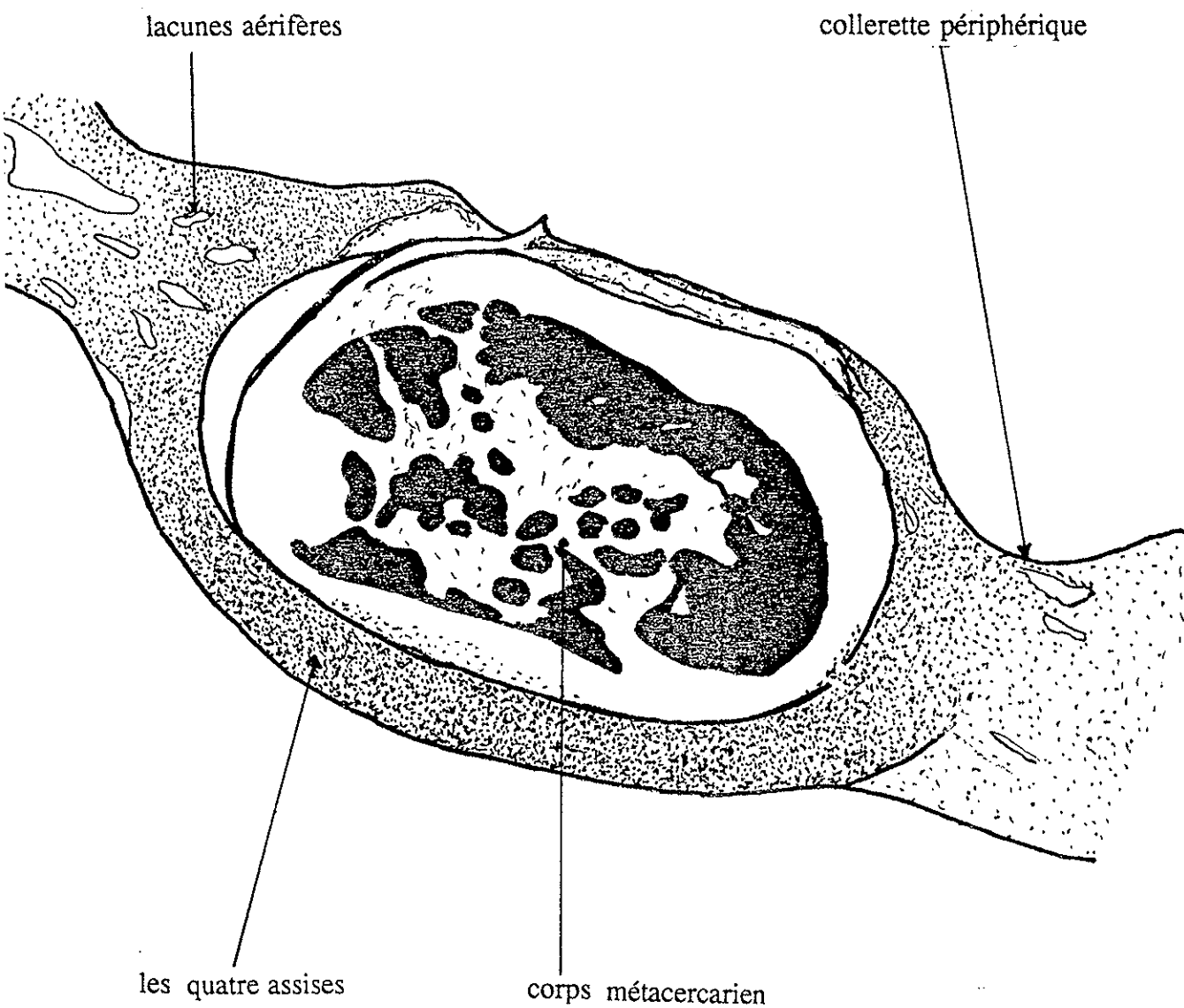


Figure 6.
Le kyste flottant de *F. hepatica*
Représentation schématique
(d'après ESCLAIRE, 1989; ESCLAIRE *et al.*, 1989;
DREYFUSS, 1994).

D. LES KYSTES FLOTTANTS.

Les éléments à l'origine de ce chapitre proviennent des articles suivants: ESCLAIRE *et al.*, 1989; VAREILLE-MOREL et RONDELAUD, 1991; VAREILLE-MOREL *et al.*, 1993, 1994a, b.

Ces kystes ont été mis en évidence au cours des émissions cercariennes de *F. hepatica*. La figure 6 montre leur morphologie. De ce schéma, on peut constater l'existence d'une collerette périphérique qui dépend de l'assise la plus externe du kyste et qui présente des lacunes aérifères. Il en résulte un accroissement du diamètre externe (325 μm au lieu de 220 μm pour les kystes fixés) et une hauteur légèrement plus faible. Les quatre assises sont, de même, plus minces au niveau du coussinet ventral.

Leur signification physiologique est encore inconnue. Ils peuvent flotter plus de trois mois à la surface d'une eau stagnante mais tombent rapidement sur le fond s'ils sont transportés dans une eau courante. Malgré ce fait, ils peuvent infester avec succès l'hôte définitif (lapin) en donnant des parasites adultes.

La fréquence de ces kystes varie selon les auteurs. Elle est inférieure à 10 % si le mollusque est la Limnée tronquée. Leur formation ne dépend pas des facteurs du milieu à l'exception des fluctuations quotidiennes de la température pour lesquelles le pourcentage de kystes flottants double par rapport à celui qui provient de limnées élevées sous des conditions constantes. Les deux facteurs qui influent sur leur nombre sont la nature du mollusque hôte et sa taille lors de l'exposition aux miracidiums: si l'on prend comme exemple *L. truncatula* parasitée par *F. hepatica*, le pourcentage des kystes flottants est de 1,6 % chez les juvéniles hautes de 2 mm, de 5,1 % pour les adultes de 4 mm et de 17,7 % chez ceux de 6 mm.

Des observations récentes montrent que les cercaires à l'origine de ces kystes flottants sont émises en grand nombre sur les deux premiers jours de chaque vague et que leur pourcentage diminue au fur et à mesure des jours constituant cette période d'émission. L'une des hypothèses formulées par les auteurs pour expliquer la formation de ces kystes est basée sur des lésions internes qui se développeraient chez les cercaires lorsque ces dernières creusent un chemin dans la région péri-anale de leur hôte pour sortir dans le milieu extérieur. Les cercaires à l'origine des kystes fixés emprunteraient ensuite cette voie de sortie.

Facteurs du milieu	Résultats
Température ambiante.	Absence d'émission si température < 10° C ou > 28° C. Développement ralenti lors de l'hivernation.
pH de l'eau.	Pas d'effet sur l'émergence des cercaires.
Concentration de l'eau en CO ₂ .	La sortie des parasites serait ralentie.
Appauvrissement de l'eau en oxygène.	Pas d'effet apparent.
Lumière et obscurité.	Sans influence sur l'émergence des cercaires pour KENDALL et McCULLOUGH. Cependant, la majorité des cercaires sortent au cours de la nuit entre minuit et 1 heure du matin.
Jeûne du mollusque (lors de l'estivation ou autre).	Absence d'émission mais accumulation des cercaires matures dans le corps de la limnée si l'infestation est déjà évoluée lors de l'assèchement du milieu. Les cercaires sortent en masse lorsque le mollusque en jeûne est plongé dans un milieu aqueux.

Tableau V.
L'influence de quelques facteurs du milieu
sur les émissions cercariennes de *F. hepatica*
(d'après KENDALL et McCULLOUGH, 1951; STYCZYNSKA-
JUREWICZ, 1965; BORAY, 1969; RONDELAUD, 1974).

III. - LES FACTEURS QUI PEUVENT INFLUENCER LES ÉMISSIONS.

A. LES FACTEURS DU MILIEU.

Nous avons répertorié dans le tableau V quelques facteurs du milieu et leur impact sur les émissions cercariennes de *F. hepatica*. La plupart de ces données viennent des observations de KENDALL et McCULLOUGH, 1951.

Les deux facteurs principaux sont les suivants:

- la température ambiante. La sortie des cercaires s'effectue pour une gamme étendue de températures allant de 10° à 28° C mais l'optimum est de 20° C pour que les émissions se produisent.

- l'assèchement du milieu de vie. Pour qu'il y ait libération des parasites dans le milieu extérieur, la limnée doit se trouver dans une nappe d'eau ou un milieu humide. Si ce dernier s'assèche, l'animal se rétracte dans sa coquille et commence un jeûne expérimental ce qui retentit sur les formes larvaires contenues dans le mollusque.

Si l'infestation est récente lors du jeûne, on constate un retard dans l'évolution des formes larvaires mais si le parasitisme est déjà évolué chez la limnée, on note une limitation dans le nombre des cercaires matures et leur accumulation dans le corps du mollusque. Lorsque celui-ci est remis dans un milieu aqueux, les cercaires sortent en masse, entraînant souvent la mort du mollusque.

Il résulte de ces observations "une action favorable du passage d'un état de sécheresse à un état d'humidité, réalisé, par exemple, par une inondation ou après de fortes pluies" (revue d'EUZEBY, 1971).

D'autres facteurs ont été également étudiés. Le manque d'oxygène dans l'eau et le pH n'ont pas d'influence tandis que la concentration de l'eau en CO₂ ralentirait l'émergence des cercaires. KENDALL et McCULLOUGH (1951) rapportent que la lumière ou l'obscurité n'ont pas d'influence sur la sortie des parasites. Mais il faut noter que la plupart des parasites sont émis au cours de la nuit, entre minuit et 1 heure du matin (AUDOUSSET *et al.*, 1989), ce qui sous-entend que l'obscurité serait la plus propice pour ce processus.

L'influence d'une eau fraîche stimule la sortie des parasites à partir de la limnée mais dans le cadre de nos connaissances actuelles, l'influence de ce facteur n'a pas été expliquée.

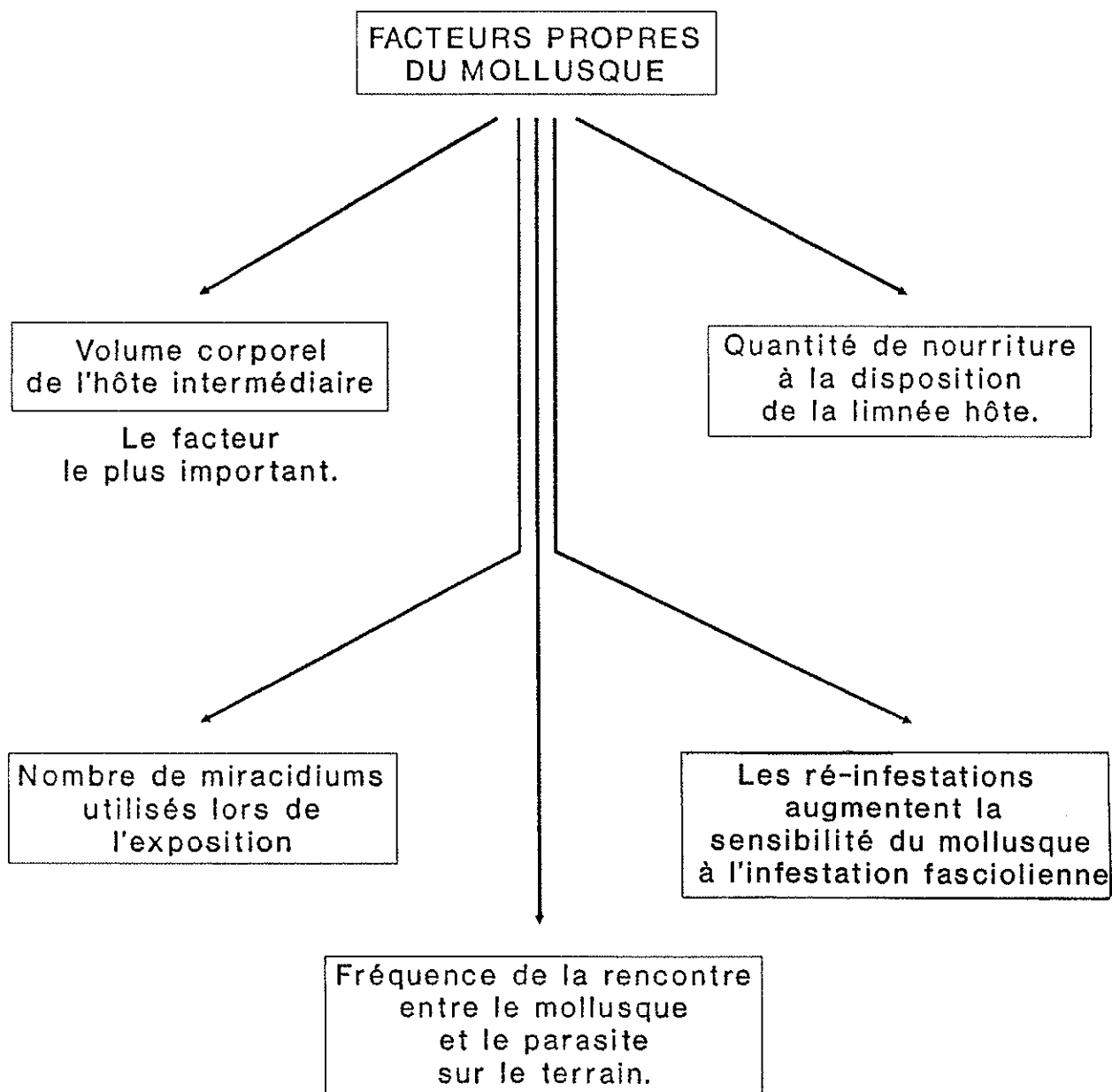


Figure 7.

Organigramme concernant les facteurs propres du mollusque sur les émissions cercariennes de *F. hepatica* à partir de *L. truncatula* (d'après KENDALL, 1949; KENDALL et OLLERENSHAW, 1963; SMITH, 1984).

B. LES FACTEURS PROPRES DU MOLLUSQUE.

Les émissions cercariennes de *F. hepatica* peuvent être sous l'influence de facteurs internes que nous avons répertoriés sur la figure 7.

- Le volume corporel du mollusque hôte. Ce facteur est sous la dépendance d'autres paramètres comme l'âge du mollusque lors de l'exposition aux miracidiums et, par suite, la taille de la limnée ou encore la vitesse de la croissance pour la coquille de la limnée parasitée. KENDALL (1949, 1965) note que les limnées de grande taille hébergent plus de rédies que les mollusques de hauteur plus faible. Certaines *L. truncatula* peuvent même présenter une augmentation rapide de leur hauteur aboutissant à un gigantisme tandis que d'autres ont un retard de croissance par rapport à des témoins non infestés (RONDELAUD et VINCENT, 1973).

- La quantité de nourriture mise à la disposition des mollusques. D'après KENDALL (1949), les limnées bien nourries produisent un nombre de cercaires supérieur à celui des mollusques soumis au jeûne. Ces modifications sont en rapport avec les nutriments disponibles, en particulier avec la quantité de glucides présents dans la nourriture.

- Le nombre de miracidiums lors de l'exposition. Plus le nombre de larves est élevé, plus on assiste à un retard dans l'évolution de la charge parasitaire chez le mollusque (RONDELAUD et BARTHE, 1982 par exemple).

- La rencontre du mollusque avec son parasite dans le milieu naturel. RONDELAUD (1993) rapporte que les caractéristiques de l'infestation fasciolienne sont profondément modifiées lorsque le contact entre les deux partenaires est rare ou exceptionnel. En particulier, on assiste à une mortalité élevée, une fréquence faible pour les mollusques infestés ...

- Le problème des ré-infestations. D'après KENDALL (1949), les mollusques ré-infestés hébergent un nombre de rédies supérieur à ceux qui ont subi une première infestation. Il ressort de ce fait que la limnée soumise à une ré-infestation est plus apte pour assurer le développement des rédies qu'un mollusque primo-infesté. Mais aucune donnée n'a été fournie sur les émissions cercariennes.

La liste de ces facteurs internes est loin d'être close et actuellement, seul le volume interne du mollusque hôte est le plus connu.

IV. - COMMENTAIRES.

Les rappels, que nous avons présentés dans les paragraphes précédents, peuvent se résumer de la manière suivante:

- *F. hepatica* est un Trématode avec un cycle à deux hôtes. Le premier assure le développement du parasite sous sa forme adulte tandis que le second héberge les formes larvaires. Ils sont dénommés respectivement hôtes définitif et intermédiaire.

- La fonction de l'hôte intermédiaire est assurée par un Mollusque Gastéropode Pulmoné dulçaquicole. Dans le cadre de l'Europe de l'Ouest, c'est la Limnée tronquée (*L. truncatula*) qui est la plus souvent citée.

- Ce mollusque émet ses parasites au cours de la période patente, sous forme de vagues de un à plusieurs jours, séparées par des repos. Ces cercaires évoluent, pour la plupart, en métacercaires fixées à l'exception de 10 % d'entre elles ou moins qui se transforment en kystes flottants.

- Plusieurs facteurs influent sur les caractéristiques des émissions cercariennes. Le plus connu est le volume interne de l'hôte mais les facteurs du milieu peuvent aussi intervenir.

L'examen de la littérature parue sur les émissions cercariennes de *F. hepatica* montre l'existence de plusieurs manques dans la connaissance des relations qui existent entre le parasite et son hôte intermédiaire. A cet effet, nous pouvons relever les points suivants:

- 1) L'infestation de Limnées tronquées hautes de 8 mm et plus est un fait rare dans la littérature. A l'heure actuelle, personne n'est capable de dire quelles sont les caractéristiques des émissions cercariennes car le volume interne du mollusque est déjà important lors de l'exposition aux miracidiums.

- 2) L'impact du nombre de miracidiums sur la fréquence des mollusques infestés et la charge rédienne a déjà été étudié par BOUIX-BUSSON *et al.* (1983), RONDELAUD et BARTHE (1982). On assiste, généralement, à un retard dans l'évolution des formes larvaires. Cependant, l'examen de la littérature ne fournit pas de renseignement sur les caractéristiques des émissions lorsque les mollusques sont infestés par un nombre de miracidiums égal à cinq ou plus par mollusque.

Nous nous sommes proposé de répondre partiellement à ces deux manques en procédant à une expérimentation chez des Linnées tronquées adultes infestées par un ou plusieurs miracidiums.

Les résultats de ces essais sont rapportés dans le chapitre troisième de ce mémoire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ce chapitre contient les informations qui sont nécessaires pour que l'expérience puisse être renouvelée.

Le premier paragraphe est consacré au matériel biologique, à savoir les mollusques et les oeufs de *F. hepatica*. Les deux subdivisions suivantes traitent du protocole expérimental et des diverses techniques que nous avons utilisées au cours de ces essais. Les paramètres de l'étude et l'expression des résultats sont détaillés dans les deux derniers temps.

I. - MATÉRIEL BIOLOGIQUE.

A. MOLLUSQUES.

Les trois populations de Limnées tronquées (A à C) vivent dans des fossés situés le long de routes. Les stations se distribuent sur deux départements (Haute-Vienne, Indre). Le tableau VI (page suivante) indique leurs coordonnées géographiques et le nombre de mollusques récoltés.

Des individus hauts de 4, 5, 6 ou 8 mm ($\pm 0,1$ mm) ont été prélevés dans ces stations entre le mois d'avril 1995 et le mois de juin suivant. Leur nombre varie selon l'importance de la population: il est de 675 pour la colonie la moins peuplée et de 900 dans la population la plus abondante.

Numéro d'ordre de la population	Localisation géographique	Description de l'habitat	Nombre de mollusques récoltés
A	Commune de Migné (Indre).	Fossés le long de la route D 20, depuis l'étang de Terrasson jusqu'à l'étang des Planches.	900 ^a
B	Commune de Veyrac (Haute-Vienne).	Fossé le long de la route D 9, au niveau du Grand Moulin.	675 ^b
C	Commune de Berneuil (Haute-Vienne).	Fossé longeant le cimetière de Berneuil.	725 ^b

^a. dont 100 témoins (25 par classe de taille).

^b. dont 75 témoins.

Tableau VI.
Les trois populations de Limnées tronquées utilisées dans ce travail avec les coordonnées géographiques des habitats et le nombre total de mollusques récoltés.

Après leur collecte, les mollusques sont transportés au laboratoire sous des conditions isothermes. Ils sont placés dans des aquariums standard où ils subissent une période d'acclimatation de durée variable à la température de 20° C. La durée de ce processus dépend de la température du milieu extérieur: 4 jours au moins si la température oscille entre 2° et 16° C, 24 heures au maximum si elle s'élève à 22° C au cours de la journée.

Ces populations de limnées sont connues pour être vierges d'infestation parasitaire en raison des prélèvements réguliers de mollusques qui sont réalisés tous les mois dans ces fossés pour des infestations expérimentales et de l'absence de mollusques infestés lorsque l'on dissèque les témoins sous loupe binoculaire.

B. OEUFS DE *F. hepatica*.

Les oeufs du Trématode ont été récoltés par les préposés sanitaires à l'abattoir de Limoges. Ils ont été prélevés par incision de la vésicule biliaire, chez des bovins avec une infestation naturelle importante et classés dans la catégorie des foies saisis pour distomatose. Ces hôtes définitifs proviennent de plusieurs fermes situées dans le sud-ouest de la Haute-Vienne.

Les oeufs tombent rapidement sur le fond lorsque la bile est recueillie dans des bocaux de deux litres. C'est la raison pour laquelle on procède à un "épuisement" progressif de ce liquide en vidant régulièrement la moitié du flacon et en le remplissant avec de l'eau du robinet toutes les 15 minutes environ. Le dépôt est ensuite filtré sur deux tamis emboîtés avec une grandeur de mailles:

- de 75 μm pour le tamis supérieur. Celui-ci retient les douves mortes et les précipités qui restent dans la bile.

- de 38 μm pour le second. La taille des mailles permet la rétention des oeufs de *F. hepatica*. Par contre, le lavage élimine ceux de *Dicrocoelium lanceolatum* lorsqu'ils sont présents.

Les oeufs sont ensuite placés par groupes de 100 à 200 dans de petits flacons en verre sous une épaisseur d'eau de 1 cm. Ils subissent une incubation de 20 jours à 20° C, à l'obscurité totale selon les données d'OLLERENSHAW (1971). Au bout de ce délai, les miracidiums sortent des oeufs lors d'une simple exposition à la lumière.

N° d'ordre de la série	Lors de l'exposition aux miracidiums		Nombre de mollusques au départ de l'expérience pour la population de:		
	Hauteur de la coquille (mm)	Nombre de miracidiums par limnée	Migné	Veyrac	Berneuil
S 1 mir.	4	1	100	100	100
S 2 mir.		2	100	100	100
S 5 mir.		5	100	100	100
S 10 mir.		10	100	100	100
S 20 mir.		20	100	100	100
S 5 mm	5		100	50	100
S 6 mm	6	2	100	50	50
S 8 mm	8		100	-	-

Tableau VII.
 Les caractéristiques des séries expérimentales pour l'étude du facteur nombre de miracidiums et du facteur hauteur du mollusque.
 Les témoins ne figurent pas sur ce tableau.

II. - PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL.

Deux facteurs ont été étudiés au cours de ces essais:

- le premier est le nombre de miracidiums par limnée. Des mollusques de 4 mm de hauteur ont été mis au contact de 1, 2, 5, 10 ou 20 miracidiums par individu lors de l'exposition. Les effectifs des *L. truncatula* dans chaque série (S 1 mir. à S 20 mir.) et chaque population sont fournis sur le tableau VII.

- le second est la hauteur de la coquille au départ de l'expérience. Des mollusques de 4, 5, 6 et 8 mm de hauteur ont été exposés dans ce but à deux miracidiums de *F. hepatica* par limnée. Le tableau VII récapitule le nombre de mollusques concernés pour chaque série (S 5 mm, S 6 mm, S 8 mm) et chaque colonie.

Des témoins ont été constitués dans ces séries. Leur nombre est de 25 pour chaque taille utilisée (4, 5, 6 et 8 mm) et pour chaque population. Les témoins ne sont pas exposés aux miracidiums de *F. hepatica*.

Les témoins et les mollusques expérimentés sont par la suite élevés dans des aquariums en circuit fermé à raison de 5 par litre d'eau. Les récipients sont placés dans une salle climatisée, à la température constante de 20° C.

Au 30^e jour suivant, les survivants sont isolés dans des boîtes de Pétri de 35 mm de diamètre, avec 2 ou 3 ml d'eau provenant des aquariums d'élevage et un fragment de salade. Les boîtes sont placées dans la même salle climatisée que les aquariums. Les mollusques sont surveillés chaque jour (entre 14 et 16 heures) pour décompter et enlever les métacercaires présentes sur les parois des récipients ou celles qui flottent. On procède également à un changement de l'eau et, éventuellement, du fragment de salade. La surveillance se poursuit jusqu'à la mort des mollusques.

Le décès des limnées est déterminé par l'absence de réaction lorsque l'un des tentacules est pincé à plusieurs reprises. Le mollusque est alors à moitié rétracté dans sa coquille. On procède dans ce cas:

- à la mesure de la hauteur de coquille en plaçant l'animal sur une feuille de papier millimétré et en déterminant ses dimensions sous loupe binoculaire.

- au décompte des kystes qui sont fixés sur la coquille ou à l'intérieur.

III. - MÉTHODOLOGIE.

Les documents à l'origine de ce paragraphe proviennent de plusieurs thèses qui ont été réalisées sur les émissions cercariennes de *F. hepatica*: AUDOUSSET, 1989; HOURDIN, 1990; DREYFUSS, 1994; DUPERRON, 1994.

A. L'ÉLEVAGE DES LIMNÉES.

La technique s'inspire de celle utilisée par les aquariophiles pour l'élevage des animaux aquatiques. Le problème réside dans le fait que la Limnée tronquée est amphibie et s'émerge facilement. Il était donc nécessaire de pallier cet inconvénient en modifiant la méthode d'élevage.

Les mollusques sont élevés dans des aquariums de taille variable, recouverts par une vitre et disposés en circuit fermé. La couche d'eau présente dans les récipients provient de la station où vivent les limnées. Un espace de deux centimètres de hauteur, situé entre la surface de l'eau et le couvercle permet aux mollusques de se déplacer en zone émergée humide tout en évitant leur fixation sur une paroi.

Chaque aquarium reçoit un filtre disposé sous une couche de graviers sur une épaisseur de 1 cm. Un aérateur assure l'oxygénation de l'eau et permet la filtration de celle-ci. De la salade en lyse est disposée *ad libitum*.

Les animaux sont maintenus dans ces récipients pendant 30 jours à raison de 5 par litre d'eau. Cette dernière est changée tous les huit jours tout au long de l'expérience.

Les aquariums sont placés dans une salle climatisée répondant aux conditions suivantes: température constante de 20° C, éclairage artificiel de 12 heures diurnes (de 7 à 19 h) avec une intensité de 3.000 lux à la surface des récipients.

B. L'EXPOSITION AUX MIRACIDIUMS.

L'éclosion des miracidiums s'effectue en plaçant les oeufs pendant 1 heure à la lumière solaire au terme de la période d'incubation. Toutes les larves utilisées dans le cadre de nos expériences ont été prélevées parmi celles qui nagent "en banc de poissons" afin d'avoir les plus performantes.

Chaque limnée est mise en présence de 2, 5, 10 ou 20 miracidiums selon les modalités de l'expérience. Le contact s'effectue en plaçant le mollusque et les larves (prélevées par pipetage) dans une boîte de Pétri de 35 mm de diamètre, avec de l'eau. La durée de ce contact est de 4 heures à 20° C.

Une surveillance est assurée toutes les 5 minutes pour remettre dans l'eau les limnées qui ont tendance à s'émerger pour "fuir" les parasites. Les mollusques sont ensuite placés dans leurs aquariums selon les modalités précitées.

C. SUIVI DES ÉMISSIONS CERCARIENNES.

Les limnées survivantes sont isolées au 30^e jour d'expérience dans des boîtes de Pétri (diamètre, 35 mm) avec de l'eau et de la salade. Les récipients sont disposés dans la salle climatisée où sont les aquariums.

La surveillance des mollusques est journalière et s'effectue depuis le 30^e jour jusqu'à la mort des animaux. Elle a été réalisée entre 14 et 16 heures car la plupart des cercaires sont émises au cours de la nuit, vers minuit-1 heure du matin (AUDOUSSET *et al.*, 1989).

Lors de la maintenance, le milieu est changé pour être remplacé par de l'eau plus fraîche (à 18° C). Les métacercaires formées et les éventuelles cercaires sont décomptées et éliminées de la boîte par grattage. Le fragment de salade est renouvelé si nécessaire.

Le dénombrement journalier tient compte de la nature des kystes métacercariens (fixés sur un substrat, flottants à la surface) et de l'état physiologique des cercaires éventuelles (mortes, en activité).

D. MESURE DE LA COQUILLE.

Elle ne s'effectue qu'à la mort du mollusque. C'est donc une mesure terminale qui porte sur la hauteur de la coquille, située entre l'apex et la base du péristome. Nous n'avons pas tenu compte de la largeur du dernier tour de spire dans le cadre de ce travail.

La technique utilisée repose sur l'emploi de papier millimétré sous loupe binoculaire. Ceci permet d'effectuer rapidement la mesure (à 0,5 mm près) et ne détériore pas la coquille. L'inconvénient réside dans les données qui ne peuvent être exprimées que sous forme de classes de taille de 1 mm chacune.

Paramètres étudiés	Définition
Taux de survie au 30 ^e jour (en %)	Déterminé par le rapport entre le nombre de survivants et l'effectif initial des mollusques au départ de l'expérience.
Fréquences des mollusques: - parasités. - infestés avec émission. - infestés sans émission.	Elles sont calculées par le rapport entre le nombre de mollusques concernés et l'effectif des survivants au 30 ^e jour.
Durées: - de survie du mollusque. - de la période prépatente. - de la période patente.	Elles correspondent respectivement à l'intervalle de temps: - entre le début de l'expérience et la mort des limnées. - entre l'exposition aux miracidiums et la première émission cercarienne. - de la première émission à la mort du mollusque.
Nombre de cercaires	Le nombre total correspond à l'ensemble des métacercaires et des cercaires émises par les limnées d'une série. Le nombre moyen se rapporte à une limnée avec émission.
Pourcentage de kystes flottants	Il est établi dans chaque série en rapportant le nombre de kystes flottants à l'ensemble des métacercaires formées, quel que soit leur type.

Tableau VIII.
Les paramètres utilisés lors de l'étude des caractéristiques générales de l'infestation fasciolienne, leur définition et/ou leur mode de calcul (d'après DREYFUSS, 1994).

IV. - PARAMÈTRES UTILISÉS.

Nous avons présenté, sur le tableau VIII, un certain nombre de paramètres et de termes techniques en indiquant leur définition et éventuellement leur mode de calcul. Les paramètres sont de deux types:

A. *CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DE L'INFESTATION FASCIOLIENNE.*

Elles sont au nombre de huit:

- le taux de survie pour les témoins ou les mollusques exposés aux miracidiums au 30^e jour de l'expérience. Ce paramètre a été calculé en effectuant le rapport entre l'effectif des survivants et le nombre initial des mollusques au début de l'expérience.

- la fréquence des mollusques infestés en distinguant celle des limnées émettant des cercaires et celle des animaux qui meurent sans émission. Cette fréquence a été déterminée en rapportant le nombre de ces individus à l'effectif des survivants au 30^e jour. Nous n'avons pas considéré la fréquence des animaux non parasités dans le cadre de ce mémoire.

- la durée globale de vie chez les témoins et les limnées parasitées, depuis le début de l'expérience jusqu'à la mort des mollusques.

- la hauteur *post-mortem* du mollusque.

- la durée de la période prépatente, indiquant par suite la date où débute la période patente.

- la durée de cette dernière phase.

- l'effectif total des cercaires produites par les limnées et le nombre moyen pour un mollusque.

- le pourcentage des kystes flottants.

B. *PRODUCTION JOURNALIÈRE DES CERCAIRES.*

La détermination du nombre de cercaires par limnée (avec émission) et par jour permet de déterminer s'il existe une périodicité dans la distribution de ces valeurs dans le temps. Cette recherche se fait en utilisant le test d'auto-corrélation (BROOM, 1979).

V. - TESTS STATISTIQUES UTILISÉS.

Les valeurs individuelles obtenues pour chaque paramètre sont ramenées à une moyenne, encadrée d'un écart type, en tenant compte de la série expérimentale et de la population de *L. truncatula*.

Les moyennes et les écarts types pour chaque paramètre ont également été calculés pour chaque série expérimentale sans tenir compte de la nature de la population.

La plupart de ces données ont été traitées par l'analyse de variance ou le test de comparaison des fréquences expérimentales (STAT-ITCF, 1988).

CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DE L'INFESTATION FASCIOLIENNE

Les résultats présentés dans ce chapitre se rapportent aux principales caractéristiques de l'infestation chez les mollusques. Ceux concernant les émissions cercariennes proprement dites sont exposés dans le chapitre quatrième.

Les deux premières subdivisions portent sur le taux de survie des mollusques et la fréquence des mollusques parasités. Les deux paragraphes suivants fournissent les renseignements sur la durée de vie des mollusques et la hauteur de la coquille. Enfin, les durées des périodes prépatente et patente sont présentées dans le dernier temps de cet exposé.

I. - SURVIE DES MOLLUSQUES AU 30^e JOUR.

Nous avons regroupé sur le tableau X (page suivante) les nombres de survivants et les taux correspondants que nous avons recueillis dans cette expérience. Ces pourcentages sont indiqués pour chaque groupe et chaque population.

Chez les témoins, la survie au 30^e jour diminue avec l'âge des mollusques. Les pourcentages sont compris entre 92 et 100 % chez les mollusques hauts de 4 mm, entre 84 et 88 % dans la série des 5 mm, entre 68 et 80 % dans la série des 6 mm. Le taux n'est que de 56 % dans la série des 8 mm.

Hauteur de la coquille	Nombre de miracidiums	Nombres et %	Origine de la population		
			Migné	Veyrac	Berneuil
4 mm	0 (Témoins)	A/B %	23/25 92 %	24/25 96 %	25/25 100 %
	1	A/B %	71/100 71 %	64/100 64 %	61/100 61 %
	2	A/B %	64/100 64 %	79/100 79 %	39/100 39 %
	5	A/B %	59/100 59 %	67/100 67 %	68/100 68 %
	10	A/B %	45/100 45 %	50/100 50 %	56/100 56 %
	20	A/B %	33/100 33 %	23/100 23 %	43/100 43 %
5 mm	0 (Témoins)	A/B %	22/25 88 %	22/25 88 %	21/25 84 %
	2	A/B %	55/100 55 %	41/50 82 %	67/100 67 %
6 mm	0 (Témoins)	A/B %	18/25 72 %	20/25 80 %	17/25 68 %
	2	A/B %	51/100 51 %	37/50 74 %	28/50 56 %
8 mm	0 (Témoins)	A/B %	14/25 56 %	-	-
	2	A/B %	27/100 27 %	-	-

Tableau X.

Le taux de survie au 30^e jour dans les différentes séries et les populations.

Abréviations: A/B (nombre de survivants/effectif initial des mollusques).

% (taux de survie).

Chez les mollusques exposés aux miracidiums, on constate des variations dans le taux de survie au 30^e jour. Le tableau ci-dessous précise les résultats que nous avons obtenus avec le test de comparaison des fréquences expérimentales:

Séries comparées.	Migné.	Veyrac.	Berneuil.
1/2 miracidiums, 4 mm.	NS	NS	p < 1 %
1/5 miracidiums, 4 mm.	NS	NS	NS
1/10 miracidiums, 4 mm.	p < 1 %	p < 5 %	NS
1/20 miracidiums, 4 mm.	p < 1 %	p < 1 %	p < 5 %
Témoins/2 miracidiums, 4 mm.	p < 5 %	p < 5 %	p < 1 %
Témoins/2 miracidiums, 5 mm.	p < 1 %	NS	NS
Témoins/2 miracidiums, 6 mm.	NS	NS	NS
Témoins/2 miracidiums, 8 mm.	p < 1 %	-	-
4/5 mm, 2 miracidiums.	NS	NS	p < 1 %
4/6 mm, 2 miracidiums.	NS	NS	p < 5 %
4/8 mm, 2 miracidiums.	p < 1 %	-	-

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

Si l'on considère le nombre de miracidiums, on constate que la chute dans le taux de survie n'est significative que pour les séries de Migné et Veyrac, exposées à 10 et 20 miracidiums. La même remarque peut être faite pour la population de Berneuil, avec une chute significative pour le lot à 20 miracidiums et, également, une augmentation significative pour le lot à 2 miracidiums.

Quant à la taille du mollusque lors de l'exposition au parasite, on remarque:

- que les différences entre les taux des témoins et ceux des lots à 2 miracidiums sont toutes significatives dans la série des 4 mm, quelle que soit la population. En revanche, on ne relève des différences significatives qu'entre les témoins de Migné et les individus infestés correspondants dans les séries de 5 et 8 mm.

- qu'il n'y a pas de différence significative entre les taux des individus infestés pour les colonies de Migné et Veyrac, à l'exception de la série à 8 mm où le pourcentage est significativement plus faible. Par contre, la chute dans les taux est significative pour Berneuil lorsque la taille du mollusque augmente.

Hauteur de la coquille	Nombre de miracidiums	Nombres et %	Origine de la population		
			Migné	Veyrac	Berneuil
4 mm	1	A/B %	33/71 46,4 %	24/64 37,5 %	18/61 29,5 %
	2	A/B %	27/64 42,1 %	22/79 27,8 %	7/39 17,9 %
	5	A/B %	12/59 20,3 %	4/67 5,9 %	33/68 48,5 %
	10	A/B %	8/45 17,7 %	6/50 12 %	31/56 55,3 %
	20	A/B %	5/33 15,1 %	3/23 13 %	21/43 48,8 %
5 mm	2	A/B %	15/55 27,2 %	10/41 24,3 %	8/67 11,9 %
6 mm	2	A/B %	8/51 15,6 %	1/37 2,7 %	17/28 60,7 %
8 mm	2	A/B %	0/27 -	-	-

Tableau XI.

La fréquence des mollusques avec émission dans les différentes séries et les populations.
 Abréviations: A/B (nombre de limnées avec émission/effectif des survivants au 30^e jour).
 % (fréquence des limnées avec émission).

II. - FRÉQUENCE DES MOLLUSQUES AVEC ÉMISSION¹.

Les pourcentages sont indiqués sur le tableau XI pour chaque population et chaque série expérimentale.

Nous avons, de plus, fourni, sur le tableau ci-après, les résultats obtenus avec le test de comparaison des fréquences expérimentales²:

Séries comparées.	Migné.	Veyrac.	Berneuil.
1/2 miracidiums, 4 mm.	NS	NS	NS
1/5 miracidiums, 4 mm.	p < 1 %	NS	p < 5 %
1/10 miracidiums, 4 mm.	p < 1 %	NS	p < 1 %
1/20 miracidiums, 4 mm.	p < 1 %	p < 5 %	p < 5 %
4/5 mm, 2 miracidiums.	NS	NS	NS
4/6 mm, 2 miracidiums.	p < 1 %	p < 1 %	p < 1 %

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

Si l'on considère le nombre de miracidiums, on remarque l'existence de variations significatives dans la fréquence, avec une diminution à partir de 5 miracidiums dans la colonie de Migné et une augmentation dans celle de Berneuil à partir également de 5 parasites. Par contre, dans la population de Veyrac, il n'y a une différence significative qu'entre les séries à 1 et 20 miracidiums.

Lorsque la hauteur de la coquille s'accroît, on ne constate pas de différence significative dans le taux de survie entre les séries à 4 et 5 mm, quelle que soit la population étudiée. Par contre, de telles différences existent dans les trois colonies entre les séries à 4 et 6 mm.

Il faut aussi signaler l'absence de limnée infestée dans la série des 8 mm (Migné). Tous les survivants de cette série étaient non parasités.

¹ - Les résultats ne concernent que les témoins et les limnées avec émission. Nous avons indiqué dans l'annexe (page 91) les chiffres sur les mollusques non infestés et les individus parasités qui meurent sans émettre de cercaires. Ceux-ci sont présentés sur trois tableaux à raison d'un par population étudiée.

² - Nous remercions M. VIGNOLES qui a bien voulu nous aider dans l'application du test statistique, l'interprétation des résultats et leur présentation.

Hauteur du mollusque	Nombre de miracidiums.	Origine de la population		
		Migné	Veyrac	Berneuil
4 mm.	Témoins	98,2 ± 11,3	105,3 ± 17,6	97,4 ± 13,2
	1	77,3 ± 13,8	87,8 ± 15,3	62,5 ± 17,4
	2	81,1 ± 14,9	84 ± 17,3	61,2 ± 15,7
	5	82,6 ± 15,3	76,7 ± 7,9	57,8 ± 9,3
	10	76,1 ± 9,8	72 ± 14,2	60,9 ± 9,6
	20	74,3 ± 11,5	77,6 ± 10,2	55,2 ± 10,9
5 mm.	Témoins	104,1 ± 13,7	112,1 ± 15,6	91,4 ± 21,1
	2	80,6 ± 10,3	89,4 ± 12,4	62,1 ± 12,1
6 mm.	Témoins	114,3 ± 21,3	108,3 ± 14,7	106,5 ± 13,2
	2	73,5 ± 11,3	88	83,5 ± 13,6

Tableau XII.
 La durée globale de vie (en jours) chez
 les témoins et les mollusques avec émission.
 Les moyennes sont indiquées avec les écarts types.

III. - DURÉE DE VIE.

Elle correspond à l'intervalle de temps qui se situe entre le début de l'expérience et le décès des mollusques.

Les valeurs moyennes et les écarts types correspondants figurent sur le tableau XII.

Les durées moyennes des témoins se distribuent entre 98,2 et 114,3 jours pour la population de Migné, entre 105,3 et 112,1 jours chez les limnées de Veyrac et, enfin, entre 91,4 et 106,5 jours dans la colonie de Berneuil.

Chez les limnées avec émission, les durées sont nettement plus faibles. Elles se situent entre 73,5 et 82,6 jours chez celles de Migné, entre 72 et 89,4 jours chez celles de Veyrac, et entre 55,2 et 83,5 jours chez celles de Berneuil.

Les résultats de l'analyse de variance sont fournis sur le tableau XIII. De ces données, on peut dégager les points suivants:

- Le nombre de miracidiums utilisés lors de l'exposition n'a pas d'influence significative sur la durée de vie des limnées avec émission, quelle que soit la population étudiée.

- De même, la taille du mollusque n'a pas d'influence significative sur la durée de vie pour ces limnées à l'exception de la population de Berneuil où la moyenne est significativement plus élevée chez les limnées de 6 mm que chez les autres mollusques de taille plus faible.

- Dans tous les cas, la durée de vie est significativement plus longue chez les témoins que chez les limnées avec émission, quelles que soient la population étudiée et la classe de taille.

- Enfin, la durée de vie est significativement moins longue chez les limnées avec émission de Berneuil et les témoins de 5 mm correspondants que chez leurs homologues des deux autres populations. Par contre, il n'y a pas de différence significative entre les moyennes des témoins de 4 et 6 mm, quelle que soit la population.

Il ressort de cette étude que les limnées parasitées ont une vie plus courte que celle des témoins correspondants mais la taille du mollusque lors de l'exposition aux miracidiums et le nombre de larves utilisées n'influent pas sur ce paramètre. Cependant, on observe des différences dans les durées en fonction de l'origine géographique de la population.

Hauteur du mollusque	Nombre de miracidiums.	Origine de la population		
		Migné	Veyrac	Berneuil
4 mm.	Témoins	7,8 ± 1,0	6,7 ± 1,1	6,5 ± 1,1
	1	6,3 ± 0,7	5,4 ± 0,7	5,2 ± 0,7
	2	6,0 ± 0,8	5,2 ± 0,8	5,4 ± 0,9
	5	6,4 ± 1,0	NR	NR
	10	6,1 ± 0,7	NR	NR
	20	5,8 ± 0,9	NR	NR
5 mm.	Témoins	8,5 ± 1,3	7,6 ± 1,0	7,9 ± 1,0
	2	6,9 ± 1,0	6,4 ± 0,6	6,3 ± 0,6
6 mm.	Témoins	9,3 ± 1,2	8,3 ± 0,9	8,6 ± 0,8
	2	7,2 ± 0,9	7,1	6,9 ± 1,1

Tableau XIV.

La hauteur *post-mortem* de la coquille (en mm) chez les témoins et les mollusques avec émission.

Les moyennes sont indiquées avec les écarts types.

Abréviation: NR (mesures non réalisées).

IV. - HAUTEUR *POST-MORTEM* DE LA COQUILLE.

Les mesures n'ont pas été réalisées dans six groupes de mollusques. Les moyennes des 24 autres lots sont présentées sur le tableau XIV.

Les résultats dépendent de la population étudiée et de la classe de taille au départ de l'expérience. C'est ainsi que la hauteur des témoins est plus élevée que celle des limnées avec émission. Si l'on considère les mollusques de 4 mm provenant de Migné, on obtient une hauteur de 7,8 mm dans le premier cas au lieu de 5,8 à 6,4 mm chez les limnées parasitées par *F. hepatica*. On observe la même différence chez les individus de 5 mm (8,5 mm au lieu de 6,9 mm) et ceux de 6 mm (9,3 mm au lieu de 7,2 mm).

Le tableau XV présente les données fournies par l'analyse de variance. On peut constater les faits suivants:

- Le nombre de miracidiums utilisés n'a pas d'influence sur la hauteur de la coquille chez les limnées avec émission. Par contre, la taille au départ de l'expérience retentit de manière nette sur les résultats chez les mêmes mollusques.

- Les témoins sont toujours plus hauts que les autres limnées, quelles que soient la population et la classe de taille concernée.

- Enfin, la croissance de la coquille dépend de la population étudiée mais ce fait ne se vérifie pas dans tous les groupes de mollusques.

V. - DURÉE DE LA PÉRIODE PRÉPATENTE.

Les résultats sont présentés sur le tableau XVI (page suivante).

Les moyennes se distribuent entre 47,2 et 58,3 jours chez les limnées de Migné, entre 49,6 et 82 jours chez celles de Veyrac, entre 44,3 et 56,4 jours chez celles de Berneuil.

Si l'on considère chaque population isolément, on note que les durées sont plus élevées chez les limnées de 6 mm que chez les individus de 4 ou de 5 mm. A titre d'exemple, dans la population de Migné, les moyennes sont respectivement de 49,4, 54 et 58,4 jours chez les individus de 4, 5 et 6 mm avec deux miracidiums par mollusque.

Les moyennes ont été soumises à l'analyse de variance. Les résultats obtenus sont fournis sur le tableau ci-après:

Hauteur du mollusque	Nombre de miracidiums.	Origine de la population		
		Migné	Veyrac	Berneuil
4 mm.	1	49,7 ± 5,2	51,1 ± 8,9	49,4 ± 9,2
	2	49,1 ± 4,7	56,1 ± 12,1	49,7 ± 5,8
	5	47,2 ± 6,3	55 ± 7	45 ± 3,5
	10	48,3 ± 4,6	49,6 ± 4,3	44,3 ± 3
	20	50,2 ± 5,9	56 ± 5,6	45,4 ± 3,8
5 mm.	2	54 ± 5,2	60,8 ± 4,6	52,8 ± 3,3
6 mm.	2	58,4 ± 3,8	82	56,4 ± 5,6

Tableau XVI.
La durée de la période prépatente (en jours) chez les témoins et les mollusques avec émission.
Les moyennes sont indiquées avec les écarts types.

Hauteur du mollusque	Nombre de miracidiums.	Origine de la population		
		Migné	Veyrac	Berneuil
4 mm.	1	25 ± 14,8	30,2 ± 13	13,4 ± 12,7
	2	17,9 ± 15,3	22,6 ± 16,3	12,4 ± 12,2
	5	19,3 ± 14,7	19 ± 11	13,7 ± 11,7
	10	22,7 ± 13,9	15,6 ± 14,2	16,3 ± 9,7
	20	18,8 ± 11,7	19,6 ± 14,8	9,5 ± 12
5 mm.	2	23 ± 14,2	28 ± 7,3	9,5 ± 9,7
6 mm.	2	25,4 ± 16,9	15	30,4 ± 18,7

Tableau XVII.
La durée de la période patente (en jours) chez les témoins et les mollusques avec émission.
Les moyennes sont indiquées avec les écarts types.

Séries	Colonie.	Ddl	F	Signification
Nombre de miracidiums (limnées de 4 mm).	Migné.	4/79	1,16	NS
	Veyrac.	4/53	0,97	NS
	Berneuil.	4/105	3,74	p < 1 %
Taille du mollusque (infestation par 2 mir.)	Migné.	2/48	6,16	p < 1 %
	Veyrac.	2/31	8,21	p < 1 %
	Berneuil.	2/29	3,94	p < 5 %

Abréviations: ddl (nombre de degrés de liberté). F (rapport F de Fischer). NS (non significatif). p (probabilité au seuil de).

La durée de cette période est significativement plus longue lorsque la taille du mollusque s'accroît. Par contre, elle ne varie pas avec le nombre de miracidiums dans deux populations tandis qu'elle est plus élevée chez les mollusques à 1 et 2 miracidiums dans la population de Berneuil.

Le tableau suivant fournit les autres résultats entre les trois populations:

Séries	Ddl	F	Signification
1 mir.	2/72	0,23	NS
2 mir.	2/52	1,83	NS
4 mm 5 mir.	2/55	3,07	NS
10 mir.	2/41	1,55	NS
20 mir.	2/25	5,50	p < 5 %
5 mm 2 mir.	2/29	3,71	p < 5 %
6 mm 2 mir.	2/22	32,9	p < 0,1 %

Abréviations: ddl (nombre de degrés de liberté). F (rapport F de Fischer). mir. (miracidiums). NS (non significatif). p (probabilité au seuil de).

La durée ne présente pas de variation significative dans les séries à 1, 2, 5 ou 10 miracidiums quelle que soit la population. Dans les autres séries, on note des différences significatives, avec des moyennes plus élevées dans la colonie de Veyrac.

VI. - DURÉE DE LA PÉRIODE PATENTE.

Le tableau XVII regroupe les moyennes et les écarts types correspondants dans les diverses séries expérimentales.

Séries	Colonie.	Ddl	F	Signification
Nombre de miracidiums (limnées de 4 mm).	Migné.	4/79	0,54	NS
	Veyrac.	4/53	0,90	NS
	Berneuil.	4/105	1,05	NS
Taille du mollusque (infestation par 2 mir.)	Migné.	2/48	1,89	NS
	Veyrac.	2/31	2,16	NS
	Berneuil.	2/29	5,70	p < 1 %
Séries		Ddl	F	Signification
4 mm	1 mir.	2/72	1,24	NS
	2 mir.	2/52	0,41	NS
	5 mir.	2/55	0,17	NS
	10 mir.	2/41	2,05	NS
	20 mir.	2/25	0,41	NS
5 mm	2 mir.	2/29	2,32	NS
6 mm.	2 mir.	2/22	0,91	NS

Tableau XVIII.

Les résultats de l'analyse de variance sur la durée de la période patente.
 Abréviations: ddl (nombre de degrés de liberté). F (rapport F de Fischer).
 mir. (miracidiums). NS (non significatif). p (probabilité au seuil de).

Les résultats de l'analyse de variance sont fournis sur le tableau XVIII.

L'examen du tableau montre que la durée de la période patente, dans chaque population, ne dépend pas de la taille du mollusque au départ de l'expérience, ni du nombre de miracidiums utilisés. La seule différence significative relevée (Berneuil) ne doit pas être retenue.

La comparaison des moyennes entre les trois populations ne montre pas de différence significative, quelle que soit la série étudiée.

LES MÉTACERCAIRES DE *F. hepatica*

Les émissions cercariennes à partir du mollusque hôte aboutissent à la formation de métacercaires. La plupart d'entre elles se fixent sur les parois des récipients d'expérience tandis que les autres flottent à la surface de l'eau. L'étude des métacercaires permet donc d'analyser les caractéristiques des émissions.

Le premier paragraphe de ce chapitre est consacré au nombre total de kystes obtenu dans les différentes séries. Les deux subdivisions suivantes portent sur la distribution de ces métacercaires dans le temps. Enfin, le dernier temps de cet exposé traite plus particulièrement des kystes flottants.

I. - NOMBRE DE MÉTACERCAIRES OBTENUES.

Le tableau XIX (page suivante) présente les chiffres a) pour chaque population de *L. truncatula* et b) pour chaque série expérimentale. Ces valeurs se rapportent, d'une part au nombres totaux des kystes, qu'ils soient flottants ou fixés et, d'autre part, aux moyennes correspondantes.

Un total de 11.108 métacercaires a été obtenu pour la population de Migné à partir de 111 limnées infestées (soit 100,1 kystes par mollusque). Les nombres sont proches dans les autres colonies: 8.346 métacercaires pour celle de Veyrac (70 limnées) et 13.214 pour

Hauteur de la coquille	Nombre de miracidiums	P	Origine de la population			Totaux
			Migné	Veyrac	Berneuil	
4 mm	1	A/B m ± σ	3.733/33 123,2 ± 91,7	3.953/24 164,7 ± 94,9	1.057/18 58,7 ± 48,8	8.743/75 116,5 ± 62,4
	2	A/B m ± σ	2.646/27 98,0 ± 85,2	2.151/22 97,7 ± 70,7	606/7 86,5 ± 82,1	5.403/56 96,4 ± 76,1
	5	A/B m ± σ	1.051/12 87,6 ± 75,4	515/4 128,7 ± 97,9	2.811/33 85,1 ± 51,8	4.377/49 89,3 ± 82,7
	10	A/B m ± σ	901/8 112,6 ± 97,6	352/6 58,6 ± 45,1	4.420/31 142,5 ± 120	5.673/45 126 ± 70,5
	20	A/B m ± σ	659/8 82,3 ± 71,2	483/3 161 ± 176,4	1.074/21 51,1 ± 48,3	2.216/32 69,2 ± 83,2
5 mm	2	A/B m ± σ	1.137/15 75,8 ± 66,5	886/10 88,6 ± 72,1	572/8 71,5 ± 57,1	2.595/33 78,6 ± 64,3
6 mm	2	A/B m ± σ	981/8 122,6 ± 113,2	6/1 -	2.674/17 157,2 ± 101,9	3.661/26 140,8 ± 105,4
Totaux		A/B m ± σ	11.108/111 100,1 ± 94,3	8.346/70 119,2 ± 95,1	13.214/135 97,8 ± 89,7	32.668/316 103,3 ± 92,1

Tableau XIX.

Le nombre de métacercaires dans les différentes séries.
 Abréviations: A/B (nombre total de kystes/effectif des limnées).
 m (moyenne). σ (écart type). P (paramètres).

celle de Berneuil (135 mollusques) ce qui correspond respectivement à une moyenne de 119,2 et 97,8 kystes par individu.

Si l'on considère les totaux obtenus en fonction du nombre de miracidiums, on constate que les moyennes diminuent depuis la série à 1 miracidium jusqu'à celle à 20 miracidiums (de 116,5 à 69,2 kystes par mollusque) à l'exception du lot à 10 miracidiums où la moyenne est de 126 métacercaires par limnée. Quant à la taille des mollusques lors de l'exposition au parasite, on note une moyenne plus élevée dans la série à 6 mm que dans les lots de 4 et 5 mm de hauteur (140,8 métacercaires par mollusque au lieu de 96,4 et 78,6 kystes respectivement).

L'examen des chiffres par population isolée montre de grandes différences en fonction de l'origine de la colonie. C'est ainsi que dans la population de Berneuil, le nombre de kystes par limnée s'accroît de 1 à 10 miracidiums (de 58,7 à 142,5) et chute dans le lot à 20 miracidiums (51,1). Dans la colonie de Migné, on note une légère chute dans les moyennes entre 1 et 20 miracidiums (123,2 à 82,3 kystes/mollusque).

La comparaison des moyennes par l'analyse de variance fournit les résultats suivants:

Facteur étudié	Séries comparées.	Degrés de liberté.	F.	Signification.
Nombre de miracidiums lors de l'exposition.	Lots à 1, 2, 5, 10 et 20 miracidiums ^a .	4/252	0,11	NS
Taille du mollusque lors de l'exposition.	Lots à 4, 5 et 6 mm ^a .	2/109	0,12	NS
Origine de la colonie.	Résultats de Migné, Veyrac et Berneuil ^b .	2/313	0,07	NS

^a. La comparaison ne tient pas compte de l'origine de la colonie (chiffres groupés).

^b. La comparaison ne tient pas compte de la série expérimentale (chiffres groupés).

Abréviations: F (valeur du rapport F de Fisher). NS (non significatif).

L'examen de ces données ne montre pas de différence significative entre les moyennes, quel que soit le facteur étudié. Le nombre de miracidiums utilisés lors de l'exposition ou la taille du mollusque n'ont pas d'influence sur la production cercarienne dans le cadre de cette expérience. De même, ce processus ne dépend pas de la colonie étudiée.

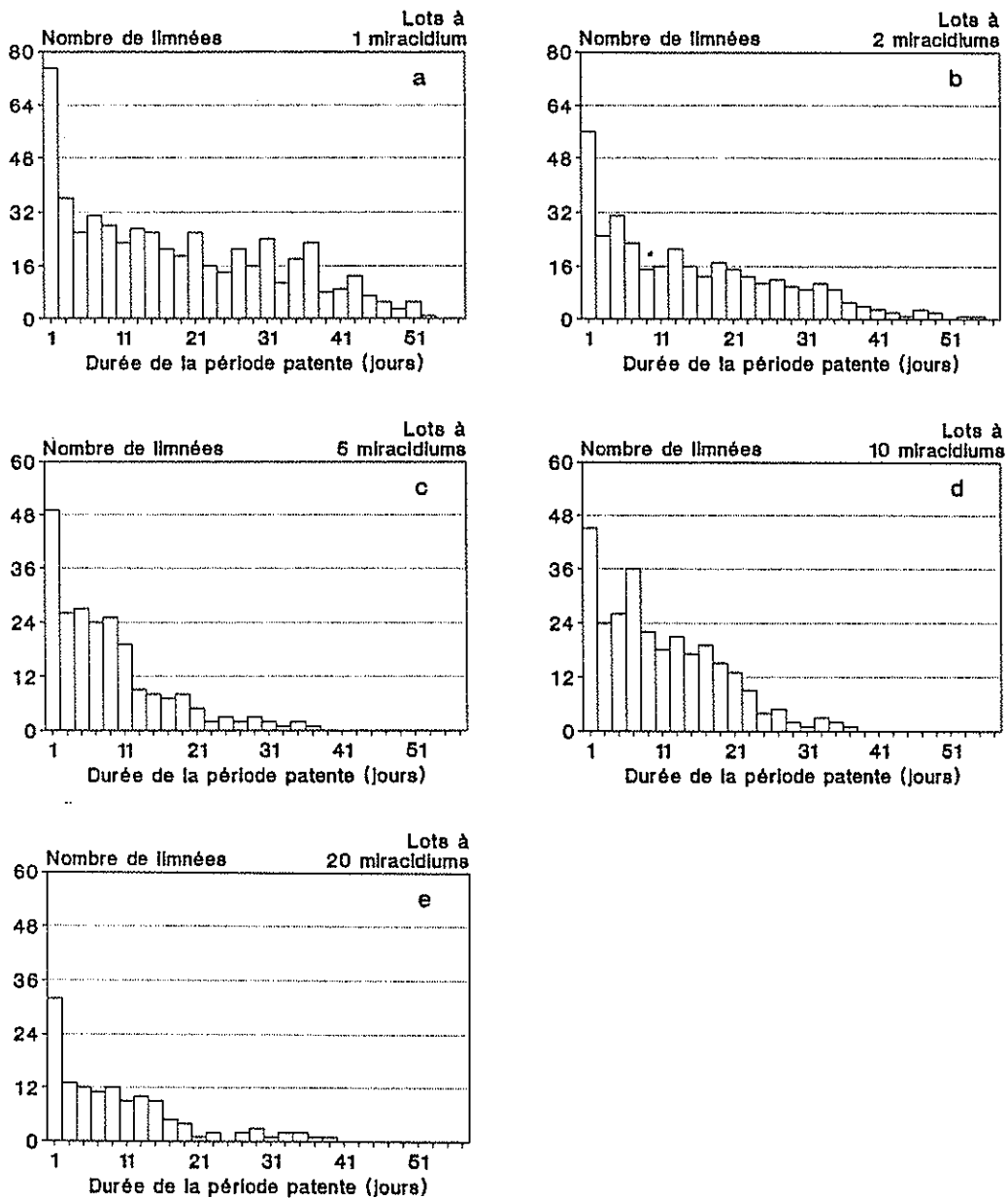


Figure 8.
 Le nombre des limnées avec émission en fonction de la durée de la période patente. Les graphes a, b, c, d et e correspondent respectivement aux résultats des lots à 1, 2, 5, 10 et 20 miracidiums. Les résultats des trois colonies ont été groupés pour cette étude.

II. - EXISTE-T-IL UNE PÉRIODICITÉ DANS LA DISTRIBUTION JOURNALIÈRE DES CERCAIRES³ AU COURS DE LA PÉRIODE PATENTE ?

Comme les résultats de l'analyse statistique ne montrent pas de différence significative entre les trois populations, nous avons donc regroupé les données pour effectuer cette étude.

A. EN FONCTION DU NOMBRE DE MIRACIDIUMS.

1. Nombre de limnées avec émission.

La figure 8 montre l'évolution de leur nombre au cours des jours qui constituent la période patente.

L'effectif des mollusques est maximal au premier jour. Les chiffres chutent nettement au troisième jour et diminuent par la suite. Si l'on prend comme exemple le lot à 1 miracidium, on constate que 75 limnées ont produit des cercaires au 1^{er} jour et 36 au 3^e jour. Les chiffres ne sont plus que de 8 limnées au 39^e jour et d'un seul mollusque au 53^e jour.

2. Nombre de métacercaires par mollusque et par période de deux jours.

La figure 9 montre la distribution journalière de ces parasites en fonction de la durée de la période patente. La figure 10 (page suivante) regroupe les corrélogrammes correspondants.

Le nombre de kystes par limnée est le plus souvent inférieur à 20 jusqu'au 23^e jour de la période patente dans le lot à 1 miracidium (fig. 9a). Au-delà de cette date, les moyennes sont légèrement plus élevées, avec des pics de 36 et 38 métacercaires sur deux jours aux 24-25^e et 33^e jours. Le corrélogramme montre l'existence d'une périodicité de 10 à 12 jours environ dans la distribution des métacercaires sur cette période (fig. 10a).

Cependant, si l'on considère les résultats de chaque population isolément dans la série à 1 miracidium, on ne constate pas de périodicité nette dans la distribution journalière des kystes au cours de la période patente (résultats non représentés).

³ – Le paragraphe traite des cercaires alors que nos données concernent des métacercaires. Comme les cercaires nagent seulement quelques minutes avant de se transformer en métacercaires (RONDELAUD et MAGE, 1990), notre exposé sur les émissions est donc réalisé avec les chiffres obtenus pour les kystes fixés et flottants.

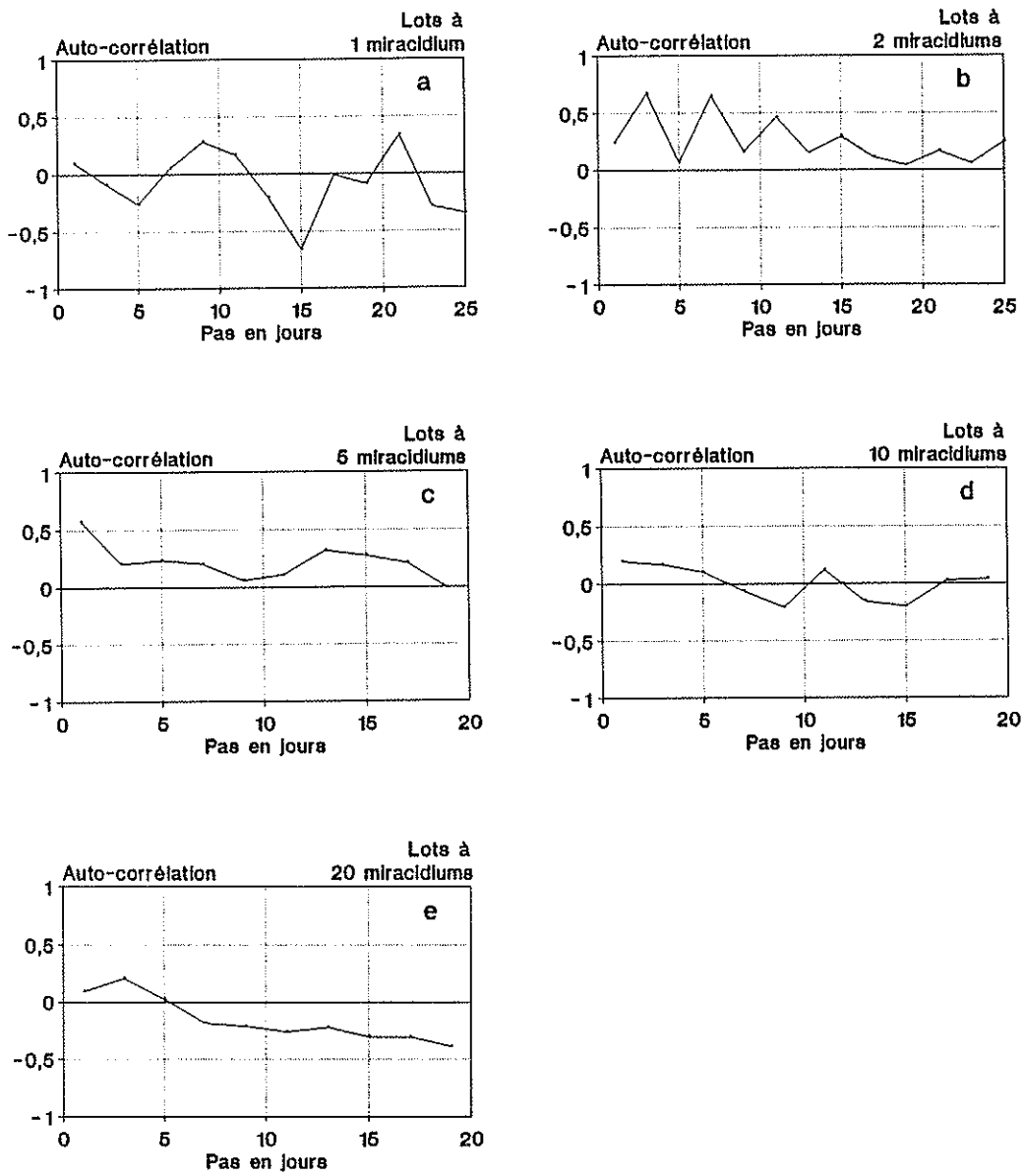


Figure 10.

Corrélogrammes correspondants dans les séries à 1, 2, 5, 10 et 20 miracidiums. Les graphes a, b, c, d et e correspondent respectivement aux lots à 1, 2, 5, 10 et 20 miracidiums. Les résultats des trois colonies ont été groupés pour cette étude.

Dans les autres groupes, le nombre moyen des kystes passe par un maximum entre le 5^e et le 15^e jour de la période patente. Il diminue régulièrement par la suite, malgré l'existence de pics (fig. 9b, c, d et e). L'étude des corrélogrammes ne montre pas de périodicité dans la distribution journalière de ces kystes (fig. 10).

B. EN FONCTION DE LA HAUTEUR DU MOLLUSQUE LORS DE L'EXPOSITION.

La figure 11 regroupe les résultats que nous avons recueillis dans les séries de 5 et 6 mm de hauteur. Les données concernant la série de 4 mm ont déjà été fournies sur les figures 8b, 9b et 10b.

1. Nombre de limnées avec émission.

Les commentaires que nous pouvons formuler sur l'évolution de cet effectif sont identiques à ceux que nous avons déjà indiqués pour les cinq autres séries (voir page 62).

Le nombre de mollusques est maximal au premier jour de la période patente. Il chute brusquement aux 2^e-3^e jours et diminue ensuite jusqu'à la fin de la période malgré de légères fluctuations dans les chiffres. Si l'on considère les limnées hautes de 6 mm au départ de l'expérience (fig. 11b), on constate que l'effectif est de 26 limnées au premier jour, de 12 seulement aux 2^e-3^e jours et qu'il s'accroît ensuite à 15-17 limnées avant de diminuer par la suite jusqu'au 37^e jour de la période patente.

2. Nombre de kystes par mollusque et par période de deux jours.

Les moyennes sont assez élevées jusqu'au 15^e jour de la période patente et diminuent régulièrement par la suite jusqu'au 47^e jour.

Si l'on considère la série haute de 6 mm (fig. 11d), on remarque que cinq moyennes sont supérieures à 20 kystes/2 jours jusqu'au 15^e jour et que deux pics s'observent entre le 12^e et le 15^e jour (à 42 et 31 métacercaires respectivement). Par la suite, la plupart des moyennes ne dépassent pas 20 kystes sur deux jours.

L'étude des corrélogrammes correspondants (fig. 11e, f) ne montre pas de périodicité nette dans la distribution journalière des métacercaires.

Hauteur de la coquille	Nombre de miracidiums	Paramètres	Origine de la population			Totaux
			Migné	Veyrac	Berneuil	
4 mm	1	Nombre %	213 5,4 %	598 15,1 %	99 9,3 %	910 10,4 %
	2	Nombre %	126 4,9 %	231 10,7 %	16 2,6 %	373 6,9 %
	5	Nombre %	189 5,7 %	59 11,4 %	152 5,4 %	400 9,1 %
	10	Nombre %	56 5,4 %	42 11,9 %	252 5,7 %	350 6,1 %
	20	Nombre %	33 6,3 %	18 3,7 %	46 4,2 %	97 4,3 %
5 mm	2	Nombre %	62 5,1 %	75 8,4 %	71 12,4 %	208 8 %
6 mm	2	Nombre %	53 4,4 %	4 6,6 %	206 7,7 %	263 7,1 %
Totaux		Nombre %	732 5,3 %	1.027 12,3 %	842 6,3 %	2.601 7,9 %

Tableau XX.

Le nombre de kystes flottants dans les différentes séries.
 Abréviations: nombre (nombre total de kystes dans la série).
 % (pourcentage calculé par rapport à l'ensemble des kystes).

III. - LES KYSTES FLOTTANTS.

Le tableau XX répertorie le nombre total de kystes flottants et le pourcentage correspondant pour chaque série expérimentale et chaque population. Les totaux sont également indiqués pour chaque série d'une part, pour chaque colonie d'autre part.

Dans la population de Migné, le pourcentage de kystes flottants se distribue entre 4,4 et 6,3 % selon la série (moyenne: 5,3 %). Dans les deux autres populations, les pourcentages sont compris entre 3,7 et 15,1 % pour la colonie de Veyrac (moyenne: 12,3 %), entre 2,6 et 12,4 % pour celle de Berneuil (moyenne: 6,3 %).

COMMENTAIRES

Les résultats de notre expérience ont été présentés respectivement dans les chapitres troisième et quatrième. Ils seront comparés dans ce chapitre à l'aide des données parues sur ce sujet dans la littérature.

Une courte synthèse rappelant les principales données est fournie dans le premier paragraphe. Elle sera suivie de la discussion proprement dite.

I. - SYNTHÈSE.

A. *CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DE L'INFESTATION.*

Le taux de survie au 30^e jour diminue progressivement chez les témoins lorsque la taille des limnées au départ de l'expérience est de plus en plus élevée. Chez les mollusques infestés, on retrouve le même fait à partir de 6 mm de hauteur. De plus, chez ces derniers, les pourcentages sont nettement plus faibles dans les séries à 10 et 20 miracidiums que dans les groupes avec un nombre de larves plus faible.

Parmi les survivants des séries expérimentales, nous avons dénombré des limnées non parasitées, des mollusques infestés qui meurent sans émettre de cercaires et des individus avec émission. Si l'on ne considère que ce dernier groupe, on constate des variations dans la fréquence de ces limnées avec émission selon la population. Dans deux colonies (Migné,

Veyrac), les pourcentages sont de plus en plus faibles lorsque la hauteur de la coquille ou le nombre de miracidiums sont de plus en plus importants. Par contre, dans la population de Berneuil, on observe le processus inverse, avec une fréquence assez élevée dans le groupe des 6 mm et dans les lots à 5, 10 ou 20 miracidiums.

La durée de vie, chez ces mollusques, correspond à l'intervalle de temps entre le début de l'expérience et le décès des individus. Celle des témoins est toujours plus grande que la durée des mollusques expérimentés. Chez ces derniers, la taille du mollusque lors de l'exposition au parasite et le nombre de miracidiums utilisés n'ont pas d'influence significative sur la durée de vie. Par contre, on observe des différences en fonction de la population étudiée, avec des moyennes souvent plus faibles dans la colonie de Berneuil.

La hauteur de la coquille, mesurée à la mort de la limnée, est plus élevée chez les témoins que chez les mollusques expérimentés. Les valeurs sont en relation étroite avec la population de *L. truncatula* et la taille des individus au départ de l'expérience. Par contre, le nombre de miracidiums utilisés n'a pas d'influence significative sur ce paramètre.

La durée de la période prépatente s'accroît avec la taille du mollusque au départ de l'expérience. Elle ne présente pas de variation significative dans deux colonies par rapport au nombre de miracidiums tandis qu'elle est plus élevée chez les mollusques à 1 et 2 miracidiums dans la population de Berneuil.

Enfin, la durée de la période patente ne dépend pas de la taille du mollusque au départ de l'expérience, du nombre de miracidiums utilisés ou de l'origine de la population.

B. LES ÉMISSIONS CERCARIENNES.

Le nombre moyen des métacercaires obtenues se distribue entre 69 et 140, quelle que soit la série expérimentale. Le nombre de miracidiums et la taille du mollusque lors de l'exposition au parasite n'ont pas d'influence significative sur cet effectif dans le cadre de cette expérience.

L'étude du corrélogramme dans la série à 1 miracidium par mollusque montre l'existence d'une périodicité de 10 jours environ dans la distribution journalière des métacercaires mais ce fait ne se retrouve pas lors de l'étude des résultats pour chaque population de *L. truncatula* prise isolément. Dans les autres séries, il n'y a pas de périodicité

de type infradien (de rythme supérieur à 24 heures) dans la distribution journalière des kystes au cours de la période patente.

Le pourcentage des kystes flottants par rapport à l'ensemble des métacercaires se distribue entre 2,6 et 15,1 %, quelle que soit la série expérimentale.

II. - DISCUSSION.

Notre commentaire ne porte que sur les paramètres pour lesquels nous avons relevé une influence significative de l'un ou l'autre des facteurs étudiés (nombre de miracidiums, hauteur de la limnée lors de l'exposition au parasite).

A. TAUX DE SURVIE AU 30^e JOUR.

Nos résultats montrent que la survie diminue progressivement chez les témoins lorsque la taille des limnées au départ de l'expérience est de plus en plus élevée. Pour interpréter ce résultat, il est nécessaire de rappeler que la coquille de *L. truncatula* présente environ une croissance de 1 mm en hauteur par semaine lorsque le mollusque est élevé dans les conditions constantes du laboratoire et que cette vitesse de développement se poursuit jusqu'à la taille de 6 ou 7 mm de hauteur (MOREL-VAREILLE, 1973; GOLD, 1980). Comme nos études portent sur des limnées avec différentes hauteurs de coquille au départ de l'expérience:

Hauteur de la coquille au départ de l'expérience	Age correspondant (en semaines) à 20° C
4 mm	4
5 mm	5
6 mm	6-7
8 mm	10 et plus

il est logique de suggérer que l'espérance de vie d'une limnée âgée de 10 semaines et plus (8 mm de hauteur) au départ de l'expérience est nettement plus limitée que celle d'un mollusque de 4 semaines (4 mm) car la survie de ces derniers est en moyenne de 112 jours dans les conditions du laboratoire à 20° C (DREYFUSS, 1994). Les limnées avec une taille de 6 ou de 8 mm vivraient donc moins que celles mesurant 4 ou 5 mm.

Références	Hauteur de <i>L. truncatula</i> au départ de l'expérimentation. (nombre de colonies)	Nombre de miracidiums.	Température d'élevage.	Survie au 30 ^e jour.
BUSSON, 1981; BUSSON <i>et al.</i> , 1982.	Nouveau-nés (2 colonies).	3	23° C	62 %, 86 %.
RONDELAUD et BARTHE, 1982.	4 mm (1 colonie).	1 2 5 10 20	20° C	73 % 66 % 32 % 30 % 18 %
SINDOU, 1989; SINDOU <i>et al.</i> , 1991b.	Nouveau-nés, 1 mm, 2 mm, 4 mm, (1 colonie).	1	20° C	7,7 % 18,3 % 85 % 69 %
RONDELAUD, 1993.	4 mm (17 colonies) ^a .	1	20° C	25 à 60 %
DREYFUSS, 1994; DREYFUSS et RONDELAUD, 1994.	4 mm (1 colonie).	2	20° C	56,5 %

^a. La survie des mollusques au 30^e jour ne dépasse pas 25 à 37 % lorsque le contact naturel de la colonie avec *F. hepatica* est rare ou exceptionnel.

Tableau XXI.
Les taux de survie rapportés par différents auteurs
chez des *L. truncatula* infestées par *F. hepatica*.

Afin de commenter nos résultats sur les limnées parasitées, nous rapportons sur le tableau XXI les données de quelques auteurs sur le taux de survie chez les *L. truncatula* infestées par *F. hepatica* au 30^e jour d'expérience.

Il ressort de ce tableau:

- que le taux de survie s'accroît, dans la plupart des cas, depuis le stade nouveau-né jusqu'à la hauteur de 4 mm. Par contre, à notre connaissance, nous n'avons pas trouvé de chiffre sur ce taux lorsque la taille des limnées lors de l'exposition est supérieure à 4 mm.

- que les pourcentages au 30^e jour diminuent dans la même population de *L. truncatula* lorsque le nombre de miracidiums utilisé devient de plus en plus élevé.

- qu'il existe une variabilité dans le taux de survie en fonction de la population des limnées parasitées. L'un des facteurs à retenir serait la fréquence de rencontre entre le mollusque et le parasite dans le milieu naturel.

Dans ces conditions, il existe une concordance entre nos résultats dans les séries exposées à un nombre croissant de miracidiums et ceux rapportés par RONDELAUD et BARTHE (1982). Les variations constatées dans les taux de survie peuvent s'expliquer en partie par une variabilité des populations de limnées étudiées à l'infestation fasciolienne.

En revanche, la diminution de la survie au 30^e jour chez les limnées infestées à partir de 6 mm de hauteur se révèle difficile à interpréter en raison de l'absence de données dans la littérature sur ce point. L'hypothèse formulée pour les témoins sur l'espérance de vie limitée à partir de 6 mm peut s'appliquer également dans le cas des mollusques infestés. Mais on ne peut exclure également l'impact du développement parasitaire sur la survie des limnées et il nous paraît difficile de proposer une explication pour commenter ce dernier fait.

B. FRÉQUENCE DES MOLLUSQUES AVEC ÉMISSION.

Les résultats diffèrent selon l'origine de la population de *L. truncatula*.

Si l'on considère la colonie de Berneuil, on note que le taux d'infestation de la limnée s'accroît lorsque la hauteur de la coquille ou le nombre de miracidiums deviennent de plus en plus importants. Ces données concordent avec les résultats de plusieurs auteurs que nous rapportons ci-dessous:

Références	Facteur étudié	Autres conditions	Taux d'infestation
	Nombre de miracidiums par <i>L. truncatula</i> :		
RONDELAUD et BARTHE (1982).	1,	4 mm, 20° C.	56,1 %
	2,		56,3 %
	5,		50 %
	10,		86,6 %
	20.		83,3 %
	Taille du mollusque lors de l'exposition: nouveau-nés,		
SINDOU, 1989; SINDOU <i>et al.</i> , 1991b.	1 mm,	1 miracidium /mollusque, 20° C.	23,1 %
	2 mm,		10,2 %
	4 mm.		4 %
			59 %

En revanche, pour les deux autres populations (Migné, Veyrac), on observe une diminution dans les pourcentages lorsque les valeurs des deux variables précitées augmentent. Plusieurs suppositions peuvent être émises pour expliquer ce dernier résultat:

- 1) Dans le cas du facteur miracidiums, l'hypothèse la plus valable est d'admettre que les mollusques de ces deux colonies ne seraient pas capables de supporter la pénétration d'un nombre important de larves et que la plupart d'entre eux décèderaient lors du développement des formes larvaires, permettant ainsi d'expliquer l'accroissement de la mortalité dans les séries soumises à 10 et 20 miracidiums. Il est difficile de rattacher ce fait au nombre de miracidiums car la plupart d'entre eux dégénèrent après leur pénétration dans le mollusque hôte, probablement en raison d'une compétition entre les sporocystes ce qui aboutit au développement, par exemple, de 1,6 sporocyste dans la série à 20 miracidiums à 20° C (PRÉVÉRAUD-SINDOU et RONDELAUD, 1995). Le mécanisme responsable semble, à notre avis, être la survenue de lésions au niveau des organes internes comme plusieurs auteurs les ont déjà décrites chez la Limnée tronquée (BARBER, 1962; RONDELAUD et BARTHE, 1978, 1980, 1983; ITAGAKI et ITAGAKI, 1986; SINDOU *et al.*, 1991a, b).

- 2) Quant au facteur taille de la limnée lors de l'exposition miracidienne, on peut penser que les deux miracidiums de *F. hepatica* auraient des difficultés pour pénétrer dans le corps de *L. truncatula* de grande taille et y survivre. Cette dernière hypothèse s'appuie sur la revue d'EUZEBY (1971); d'après cet auteur, les limnées de 4 mm de hauteur seraient les plus aptes pour assurer le développement des formes larvaires pour ce Trématode.

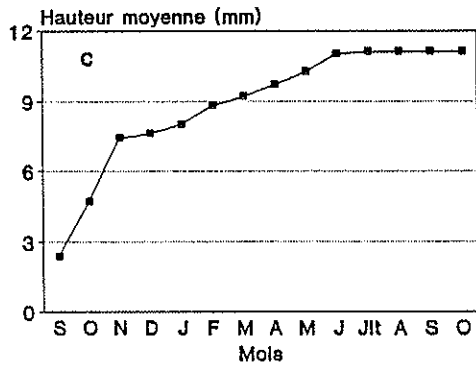
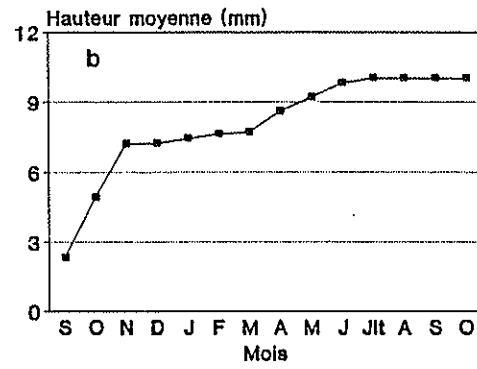
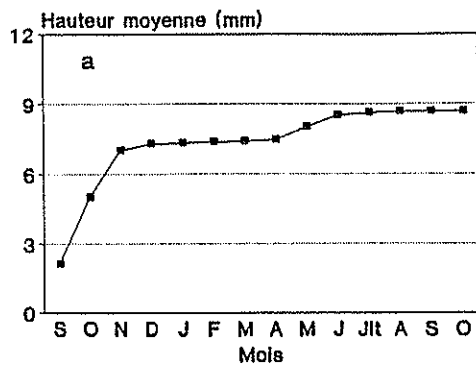


Figure 12.

Croissance de la coquille chez des *L. truncatula* non parasitées et élevées dans les conditions du laboratoire (d'après MOREL-VAREILLE, 1973).
 Elevage selon des conditions naturelles (12a). Elevage au laboratoire (12b).
 Elevage au laboratoire avec une nourriture complémentaire (12c).

C. HAUTEUR DE LA COQUILLE.

Les valeurs mesurées chez les mollusques infestés sont en relation étroite avec la population de *L. truncatula* et la taille des individus au départ de l'expérience. Il est normal que ces deux facteurs aient une influence sur la croissance de la coquille car:

- les individus provenant de stations eucalciques (comme la station de Migné) ont une croissance de coquille plus rapide que celle de mollusques oligocalciques (Berneuil, Veyrac) lorsque les conditions expérimentales sont les mêmes. A titre d'exemple, rappelons que les mollusques infestés de Migné ont atteint une hauteur de 5,8 à 7,8 mm (selon la série expérimentale) au lieu de 5,2 à 7,1 mm pour la colonie de Veyrac et de 5,2 à 6,9 pour la population de Berneuil. Cette différence de croissance selon la population a déjà été signalée par RONDELAUD et BARTHE (1987) chez des *L. truncatula* infestées par *F. hepatica*.

- les individus de 6 ou 8 mm de hauteur ont une croissance qui diffère de celle des mollusques mesurant 4 mm en taille comme on peut le noter dans les travaux de MOREL-VAREILLE (1973) ou de GOLD (1980). La figure 12 montre la croissance de *L. truncatula* élevées dans les conditions du laboratoire et il est facile de constater la différence qui existe dans le développement de la coquille avant et après 7 mm de hauteur.

D. DURÉE DE LA PÉRIODE PRÉPATENTE.

La durée de la période prépatente s'accroît de manière significative avec la taille de *L. truncatula* au départ de l'expérience. Ce résultat concorde avec les observations faites par HODASI (1972) sur la longueur de la période prépatente chez des limnées infestées après une exposition aux miracidiums à l'âge de 6 semaines. Comme ce fait se retrouve avec les trois populations de limnées que nous avons utilisées dans le cadre de cette expérience, il est utile de proposer une explication. L'hypothèse la plus valide serait de rapporter cette différence à la difficulté que le sporocyste d'une part, les rédies de première génération d'autre part auraient pour se développer dans le corps du mollusque hôte, probablement en raison de l'importance des mécanismes de défense. La vérification de cette hypothèse nécessite de procéder à une étude complémentaire pour suivre le développement de la charge rédienne chez des limnées hautes de 6 mm et plus lorsqu'elles sont exposées chacune à 1 ou 2 miracidiums de *F. hepatica*.

L'influence du nombre de miracidiums n'a été mise en évidence que dans la population de Berneuil car la durée moyenne est significativement plus élevée dans les lots à 1 ou 2 miracidiums que dans les autres lots. Pour expliquer ce dernier résultat, nous nous sommes basé sur la revue de RONDELAUD (1993): d'après cet auteur, la durée de la période prépatente est significativement allongée lorsque le contact naturel de la population avec le parasite est rare ou exceptionnel. Comme la colonie de Berneuil vit dans un fossé, à proximité immédiate du bourg et qu'il n'y a pas de passage de bétail dans cette zone, il est logique de penser que la fréquence de rencontre entre la limnée et *F. hepatica* pourrait être exceptionnelle et que le développement larvaire serait retardé lorsqu'il y a 1 ou 2 miracidiums, probablement en raison d'une certaine inadaptation entre le mollusque et le parasite.

Si l'on retient cette explication comme valide, on peut alors s'interroger sur les durées plus faibles que nous avons enregistrées dans les autres séries de la même colonie, exposées à 5, 10 et 20 miracidiums. Ce dernier point suggère alors que les miracidiums en nombre seraient capables de vaincre la résistance de la limnée, probablement par une saturation de ses mécanismes de défense et que le développement larvaire aurait lieu dans des conditions "normales".

E. NOMBRE DE MÉTACERCAIRES PAR LIMNÉE.

Plusieurs auteurs comme KENDALL (1949), OLLERENSHAW (1959), BORAY (1963), KENDALL et OLLERENSHAW (1963) ou HODASI (1972) ont depuis longtemps démontré l'existence d'une corrélation entre le nombre de métacercaires d'une part, la taille de *L. truncatula* d'autre part. Plus la hauteur de ce dernier est élevée lors des émissions cercariennes, plus le nombre de parasites est important. Par contre, dans le cadre de ce travail, nous n'avons pas mis en évidence de relation entre le nombre de kystes et la taille du mollusque lors de l'exposition aux miracidiums. Il n'y a pas de différence significative entre les nombres de métacercaires retrouvées dans les diverses séries, quelle que soit la taille. Ce résultat indique donc que l'accroissement de taille constaté dans les hauteurs *post-mortem* entre les diverses séries est insuffisant pour qu'il y ait une traduction sur le nombre de cercaires émises par le mollusque hôte.

Plus facile est l'interprétation des chiffres obtenus dans les divers groupes par rapport au nombre de miracidiums. L'absence de différence significative entre les moyennes peut s'expliquer à partir des notes de PRÉVERAUD-SINDOU et RONDELAUD (1995): lorsque le mollusque est exposé à 5 miracidiums de *F. hepatica* et plus, il se produirait une compétition entre les sporocystes qui en résultent, ce qui se traduirait par une limitation dans le nombre des larves qui se développent par la suite chez la limnée hôte. On peut donc penser que les nombres de métacercaires obtenues dans les séries à 5 miracidiums et plus ne seraient, en fait, que la conséquence de 1 ou 2 sporocystes au maximum.

Les chiffres obtenus dans le cadre de notre travail sont voisins de ceux rapportés par DREYFUSS (1994) dans sa thèse comme on peut le constater sur le tableau suivant:

Références	Conditions expérimentales	Moyennes
DREYFUSS, 1994.	Trois colonies élevées sous des conditions semi-naturelles.	76,9
	2-3 miracidiums/limnée, 4 mm de hauteur au départ de l'expérience.	103,8 25,5
	Une colonie élevée sous des conditions constantes (20° C). 2 miracidiums par limnée, 4 mm de hauteur.	238,5
Nos résultats.	Trois colonies élevées à 20° C. 2 miracidiums par limnée, 4 mm de hauteur.	75,8 à 123,2, 58,6 à 164,7, 51,1 à 157,2.

F. PÉRIODICITÉ DANS LES ÉMISSIONS.

AUDOUSSET (1989), AUDOUSSET *et al.* (1989) ont décrit l'existence d'une périodicité de 7 jours dans la distribution journalière des métacercaires au cours de la période patente lorsque les *L. truncatula* infestées par *F. hepatica* sont élevées sous des conditions semi-naturelles.

Ce rythme de type infradien n'a pas été retrouvé par DREYFUSS (1994), DREYFUSS et RONDELAUD (1994) chez des Limnées tronquées parasitées, maintenues sous des conditions constantes (à 20° C), ce qui a conduit ces auteurs à rapporter le rythme

constaté par AUDOUSSET (1989) aux conditions expérimentales, probablement aux facteurs du milieu.

Dans le cadre de ce travail, nous n'avons pas observé de périodicité, ce qui confirme les observations de DREYFUSS (1994) et de DREYFUSS et RONDELAUD (1994). Cependant, nos observations montrent l'existence d'une périodicité de 10 jours dans la série à 1 miracidium par limnée lorsqu'on regroupe les résultats des trois colonies alors que cette périodicité manque pour chaque population prise isolément. Dans ces conditions, on peut s'interroger sur l'existence réelle de ce rythme dans le milieu naturel et se demander si la périodicité d'AUDOUSSET (1989) ne serait pas le fait d'un groupement fortuit de valeurs puisque cet auteur a regroupé également les chiffres fournis par trois populations de mollusques et n'a pas effectué l'étude pour chaque colonie. Des expériences complémentaires sont donc nécessaires pour vérifier l'existence ou non de cette périodicité en analysant l'influence de certains facteurs du milieu sur les émissions cercariennes de *F. hepatica* à partir de *L. truncatula*.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Des observations cercariologiques ont été réalisées de mars à août 1995 sur des *L. truncatula* infestées par *F. hepatica* afin d'étudier l'influence de deux facteurs sur les émissions cercariennes du Trématode. Ces paramètres sont la hauteur du mollusque lors de l'exposition (4, 5, 6 ou 8 mm) et le nombre de miracidiums par limnée (1, 2, 5, 10 ou 20).

Les résultats peuvent être regroupés sous deux rubriques.

1. Les caractéristiques générales de l'infestation fasciolienne.

Le taux de survie au 30^e jour diminue progressivement chez les témoins lorsque la taille des limnées au départ de l'expérience est de plus en plus élevée. Chez les mollusques infestés, on retrouve le même fait à partir de 6 mm de hauteur. De plus, chez ces derniers, les pourcentages sont nettement plus faibles dans les séries à 10 et 20 miracidiums que dans les groupes avec un nombre de larves plus faible.

La fréquence des limnées avec émission varie selon la population. Dans deux colonies (Migné, Veyrac), les pourcentages sont de plus en plus faibles lorsque la hauteur de la coquille ou le nombre de miracidiums sont de plus en plus importants. Par contre, dans la population de Berneuil, on observe le processus inverse, avec une fréquence assez élevée dans le groupe des 6 mm et dans les lots à 5, 10 ou 20 miracidiums.

Les témoins vivent plus longtemps que les mollusques expérimentés. Chez ces derniers, la durée de leur vie ne dépend pas de leur taille lors de l'exposition au parasite ou du nombre de miracidiums utilisés. Par contre, on observe des différences en fonction de la population étudiée, avec des moyennes souvent plus faibles dans la colonie de Berneuil.

La hauteur *post-mortem* de la coquille est plus élevée chez les témoins que chez les mollusques expérimentés. Les valeurs sont en relation étroite avec la population de *L. truncatula* et la taille des individus au départ de l'expérience. Par contre, le nombre de miracidiums utilisés n'a pas d'influence significative sur ce paramètre.

La durée de la période prépatente s'accroît avec la taille du mollusque au départ de l'expérience. Elle ne présente pas de variation significative dans deux colonies par rapport au nombre de miracidiums tandis qu'elle est plus élevée chez les mollusques à 1 et 2 miracidiums dans la population de Berneuil.

Enfin, la durée de la période patente ne dépend pas de la taille du mollusque au départ de l'expérience, du nombre de miracidiums utilisés ou de l'origine de la population.

2. Les émissions cercariennes.

Le nombre moyen des métacercaires obtenues se distribue entre 69 et 140, quelle que soit la série expérimentale. Le nombre de miracidiums et la taille du mollusque lors de l'exposition au parasite n'ont pas d'influence significative sur cet effectif.

L'étude du corrélogramme dans la série à 1 miracidium par mollusque montre l'existence d'une périodicité de 10 jours environ dans la distribution journalière des métacercaires mais ce fait ne se retrouve pas lors de l'étude des résultats pour chaque population de *L. truncatula* prise isolément. Dans les autres séries, il n'y a pas de périodicité de type infradien dans la distribution journalière des kystes au cours de la période patente.

Le pourcentage des kystes flottants par rapport à l'ensemble des métacercaires se distribue entre 2,6 et 15 %, quelle que soit la série expérimentale.

Nos résultats démontrent clairement que le nombre de miracidiums utilisés ou la hauteur de la limnée adulte lors de l'exposition au parasite ont une influence variable sur certaines caractéristiques de l'infestation fasciolienne chez le mollusque. En revanche, les deux

facteurs n'ont pas d'effet significatif sur le nombre de métacercaires formées. On ne peut donc retenir ces variables comme des facteurs cercariologiques. A notre avis, d'autres études sont encore nécessaires pour déterminer les paramètres qui ont une incidence certaine sur la quantité de métacercaires.

Ces derniers pourraient être recherchés dans la liste des facteurs qu'ESCH et FERNANDEZ (1994) dressent sur les interactions entre le mollusque hôte et son parasite. D'après ces auteurs, l'immunité de la limnée, le partage des nutriments entre les formes larvaires, la dynamique du développement larvaire ou encore des facteurs temporels interfèrent entre eux pour créer un environnement qui permettra le développement des formes larvaires. L'analyse de cet ensemble est difficile à réaliser car le principe des infestations expérimentales est d'analyser l'influence d'un paramètre isolé sur le développement larvaire. Il est donc nécessaire de sélectionner des facteurs majeurs pour continuer le type d'étude comme celle que nous avons effectuée. Les effets de mollusques non hôtes ou d'autres Trématodes peuvent représenter une voie de recherche afin de déterminer un effet éventuel de facilitation sur la production cercarienne de *F. hepatica*.

BIBLIOGRAPHIE

- ALZIEU, J.P., MAGE, C., 1991.- La fasciolose bovine. Pathogénie, épidémiologie, thérapeutique. *Bull. Tech. G.T.V.*, n° 91-6-B-395, 59-74.
- 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° 304, 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.
- BAILLENGER, J., TRIBOULEY, J., AMYOT, B., DURET, J., 1965.- Importance des Léporidés comme réservoirs sauvages dans l'épidémiologie des distomatoses à *Fasciola hepatica* et *Dicrocoelium dendriticum*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 40, 51-54.
- BARBER, I.W., 1962.- The pathology produced in the snail *Lymnaea columella* Say, 1817, by the larval stages of *Fasciola hepatica* L., 1758. Ph. D. Thesis, Berkeley, Univ. California, U.S.A., 159 p.
- BARTHE, D., RONDELAUD, D., FAUCHER, Y., VAGO, C., 1984.- Infection virale chez le Mollusque Pulmoné *Lymnaea truncatula* Müller. *C.R. Acad. Sci.*, D, 298, 513-515.

- BLACK, N.D., FROYD, G., 1976.- The treatment of chronic fascioliasis and its influence on the quantity and compositional quality of the milk. *Rapports et Résumés, 9e Congrès International sur les Maladies du Bétail*. Soc. Mond. Buiatrie éd., Paris, 1976, 2, 1119-1124.
- BORAY, J.C., 1963.- The ecology of *Fasciola hepatica* with particular reference to its intermediate host in Australia. *Proc. 17th World Vet. Congr.*, 6, 709-715.
- 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.
- BOUIX-BUSSON, D., RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1984.- Les déplacements du sporocyste de *Fasciola hepatica* L. chez *Lymnaea glabra* Müller. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 2, 103-107.
- 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.
- BOUREE, P., THIEBAULT, M., 1993.- Fasciolose à *Fasciola hepatica* en Basse Normandie de 1980 à 1990.- *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 11, 79-84.
- 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.
- 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 Doct. Pharmacie, Clermont-Ferrand, 160 p.
- DIXON, K.E., 1966.- A morphological and histochemical study of the cystogenic cells of the cercaria of *Fasciola hepatica* L. *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° 311, 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., n° 305E, 246 p.
- DREYFUSS, G., RONDELAUD, D., 1994.- *Fasciola hepatica*: a study on the shedding of cercariae from *Lymnaea truncatula* raised under constant conditions of temperature and photoperiod. *Parasite*, 1, 401-404.
- DREYFUSS, G., DA COSTA, C., RAKOTONDRAVAO, RONDELAUD, D., 1995.- *Fasciola gigantica*: the parasite burden in *Lymnaea natalensis* that died after a cercarial shedding. *Parasite*, 2, 177-181.
- 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° 313, 96 p.
- ESCH, G.W., FERNANDEZ, J.C., 1994.- Snail-trematode interactions and parasite community dynamics in aquatic systems: a review. *Am. Midl. Nat.*, 131, 209-237.
- ESCLAIRE, F., 1989.- Contribution à l'étude des effets de trois vinaigres dans la destruction des métacercaires de *Fasciola hepatica* L. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 313, 67 p.
- ESCLAIRE, F., AUDOUSSET, J.C., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., 1989.- Les métacercaires "flottantes" de *Fasciola hepatica* L. A propos de quelques observations sur leur structure et leurs variations numériques au cours d'une infestation expérimentale chez *Lymnaea truncatula* Müller. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 7, 225-228.
- EUZEBY, J., 1971.- Les maladies vermineuses et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tome II: Maladies dues aux Plathelminthes. Fasc. 2: Trématodes. Livre 1: Généralités. Distomatoses hépato-biliaires. Vigot frères éd., Paris, 798 p.
- FERNANDEZ, J., 1992.- Distomatose à *Fasciola hepatica*: traitement par le Praziquantel. Étude sur une série de 25 cas. Thèse Doct. Médecine, Bordeaux, n° 92, 122 p.
- FERRE, J.Y., 1985.- L'épidémiologie de la fasciolose bovine en Loire-Atlantique. Son incidence sur la pathologie humaine. Thèse Doct. Vétérinaire, E.N.V. Toulouse, n° 34, 110 p.

- GAILLET, P., 1983.- Contribution à l'étude épidémiologique de la distomatose humaine à *Fasciola hepatica* en France métropolitaine depuis 1956. A propos de quelques 10.000 cas. Thèse Doct. Médecine, Paris-Créteil, n° 32, 151 p.
- GAILLET, P., LIANCE, M., RIVOLLET, D., HOUIN, R., 1983.- Situation de la fasciolose humaine en France. Enquête rétrospective portant sur les 30 dernières années. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **1**, 79-82.
- GOLD, D., 1980.- Growth and survival of the snail *Lymnaea truncatula*: effects of soil type, culture medium and *Fasciola hepatica* infection. *Is. J. Zool.*, **29**, 163-170.
- GRABDA-KAZUBSKA, B., NIEWIADOMSKA, K., KANEV, I., BAYSSADE-DUFOUR, Ch., 1991.- Système nerveux des Trématodes. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **66**, Suppl. I, 24-31.
- 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 output of cercariae of *Fasciola hepatica* by *Lymnaea truncatula* and the distribution of metacercariae on grass. *Parasitology*, **65**, 431-436.
- HOURLIN, 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.
- ITAGAKI, T., ITAGAKI, M., 1986.- Development of the japanese liver fluke and pathological changes in the snail host *Lymnaea truncatula*. *Kisiichugaku Zasshi*, **35**, 505-511.
- KENDALL, S.B., 1949.- Nutritional factors affecting the rate of development of *Fasciola hepatica* in *Lymnaea truncatula*. *J. Helminthol.*, **23**, 179-190.
- KENDALL, S.B., 1950.- Snail hosts of *Fasciola hepatica* in Britain. *J. Helminthol.*, **24**, 63-74.
- KENDALL, S.B., 1965.- Relationships between the species of *Fasciola* and their molluscan hosts. *Adv. Parasitol.*, **3**, 59-98.
- KENDALL, S.B., McCULLOUGH, F.S., 1951.- The emergence of cercariae of *Fasciola hepatica* from the snail *Limnaea truncatula*. *J. Helminthol.*, **25**, 77-92.
- KENDALL, S.B., OLLERENSHAW, C.B., 1963.- The effect of nutrition on the growth of *Fasciola hepatica* in its snail host. *Proc. Nutr. Soc.*, **22**, 41-46.

- LE STANG, J.P., 1981.- Le parasitisme digestif et respiratoire en troupeaux laitiers. Incidence chez les jeunes bovins. In: "Parasitisme digestif et respiratoire des bovins". Société Française de Buiatrie éd., Deauville, 1981, 25-37.
- LOISEL, J., BONNAUD, P., MAGE, C., 1986.- Douve et fécondité en élevage laitier. C.E.I.A.M., E.D.E., I.T.E.B. éd., Paris, 10 p.
- 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.
- MAGE, C., 1990.- Conséquences zootechniques de l'infestation naturelle par *Fasciola hepatica* chez des taurillons limousins. *Rev. Méd. Vét.*, **141**, 205-208.
- 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.
- MOREL-VAREILLE, C., 1973.- Contribution à l'étude du cycle biologique de *Lymnaea truncatula* dans le Nord-ouest du Limousin. *Rev. Méd. Vét.*, **124**, 1447-1457.
- MOUKRIM, A., 1991.- Étude écologique et éthologique de *Lymnaea truncatula* Müller et de son parasite, *Fasciola hepatica* L. dans le système d'irrigation de Tassila, province d'Agadir. Charge parasitaire et conséquences histopathologiques. Thèse Doct. ès-Sci. (Maroc), Parasitol., Agadir, n° 2, 203 p.
- MOUKRIM, D., RONDELAUD, D., 1992.- Chronology of visceral lesions and correlation with the course of the parasite development in *Lymnaea truncatula* in single and dual infections by three trematode species. *Res. Rev. Parasitol.*, **52**, 39-45.
- OAKLEY, G.A., OWEN, B., KNAPP, N.H., 1977.- Production effects of subclinical liver fluke infection in growing dairy heifers. *Vet. Rec.*, **104**, 501-507.
- OLLERENSHAW, C.B., 1959.- The ecology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). *Vet. Rec.*, **71**, 957-963.
- 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.
- PAREAU, M., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., BOUTEILLE, B., DARDÉ, M.L., 1995.- *Fasciola hepatica*: observations épidémiologiques sur les cas de distomatose humaine dans le Limousin (France) par rapport à l'altitude des cressonnières naturelles. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **12**, 167-174.
- PECHEUR, M., 1974.- Lutte stratégique contre la distomatose. *C.R. Rech., I.R.S.I.A.*, **38**, 85-150.

- ROBERTS, E.W., 1950.- Studies on the life-cycle of *Fasciola hepatica* (Linnaeus) and of its snail host, *Limnaea (Galba) truncatula* Müller in the field and under controlled conditions. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **44**, 187-206.
- RONDELAUD, D., 1974.- L'évolution des rédies de *Fasciola hepatica* L. chez *Galba truncatula* Müller en Limousin. *Rev. Méd. Vét.*, **125**, 237-250.
- RONDELAUD, D., 1978.- Contribution à l'étude écologique et éthologique de *Lymnaea (Galba) truncatula* Müller, vecteur de *Fasciola hepatica* L. Recherche de moyens de lutte biologique en Limousin. Thèse Doct. ès-Sci. Nat., Limoges, n° 4, 302 p.
- 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., 1980a.- Etude descriptive d'une réaction amibocytaire chez *Lymnaea truncatula* Müller infestée par *Fasciola hepatica* L. *Z. Parasitenkd.*, **61**, 187-196.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1980b.- 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., 1981.- Données expérimentales sur la réaction amibocytaire généralisée présentée par *Lymnaea truncatula* Müller lors de son infestation par *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **56**, 593-606.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1982.- 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., 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 de la productivité d'un sporocyste en fonction de la taille de *Lymnaea truncatula*. *Parasitol. Res.*, **74**, 155-160.

- RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., 1994.- *Fasciola hepatica*: the influence of the definitive host on the characteristics of infection in the snail *Lymnaea truncatula*. *Abstracts, I.C.O.P.A. VIII, Izmir (Turkey), 10-14 October 1994*, Vol. 2, Po 1.10 (1111), 247.
- RONDELAUD, D., MAGE, C., 1990.- La fasciolose humaine et les cressonnières. *Point Vét.*, **21**, 899-903.
- RONDELAUD, D., VINCENT, M., 1973.- Les effets du parasitisme sur la croissance de *Galba truncatula* Müller en Limousin. *C. R. Soc. Biol.*, **167**, 736-738.
- ROSS, J.G., 1970.- The economic of the *Fasciola hepatica* of liver fluke infestation on milk quality. *Vet. Rec.*, **90**, 71-72.
- 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., 1991a.- Survival of snails and characteristics lesions of *Fasciola hepatica* infection in four European species of *Lymnaea*. *Vet. Parasitol.*, **40**, 47-58.
- SINDOU, P., RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1991b.- Comparative studies on the lesions of the digestive gland and of the kidney in young and adult snails from four lymnaeid species infected by *Fasciola hepatica*. *Proc. Tenth Int. Malacol. Congr., Tübingen, 1989*, 255-258.
- SMITH, G., 1984.- The relationship between the size of *Lymnaea truncatula* naturally infected with *Fasciola hepatica* and the intensity and maturity of the redial infection. *J. Helminthol.*, **58**, 123-127.
- STAT-ITCF, 1988.- Manuel d'utilisation. Institut Technique des Céréales et des Fourrages, Service des Études Statistiques, Boigneville, 210 p.
- STYCZYNSKA-JUREWICZ, E., 1965.- Adaptation of eggs and larvae of *Fasciola hepatica* to the conditions of astatic habitats of *Galba truncatula*. *Acta Parasitol. Pol.*, **13**, 151-170.
- TAYLOR, E.L., 1965.- Fascioliasis and the liver-fluke. *F.A.O. Agricultural Studies*, n° 64, 235 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., RONDELAUD, D., 1991.- Les métacercaires flottantes de *Fasciola hepatica* L. Etude expérimentale de facteurs sur leur formation. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **9**, 81-85.

- 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., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., 1994a.- *Fasciola hepatica* Linné: relations entre l'ordre de sortie des cercaires à partir de *Lymnaea truncatula* Müller et la formation des kystes flottants ou fixés. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **12**, 55-60.
- VAREILLE-MOREL, C., DREYFUSS, G., RONDELAUD, D., 1994b.- *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.*, **12**, 161-166.

ANNEXE

Répartition des limnées non parasitées et
des mollusques infestés, avec ou sans émission:

- population de Migné (Indre): tableau A I.
- population de Veyrac (Haute-Vienne): tableau A II.
- population de Berneuil (Haute-Vienne): tableau A III.

Hauteur de la coquille	Nombre de miracidiums	Nombre de limnées				
		au départ	au 30 ^e jour	non parasitées	infestées sans émission	infestées avec émission
4 mm	0	25	23	-	-	-
	1	100	71	17	21	33
	2	100	64	12	25	27
	5	100	59	13	34	12
	10	100	45	10	27	8
	20	100	33	17	11	5
5 mm	0	25	22	-	-	-
	2	100	55	18	22	15
6 mm	0	25	18	-	-	-
	2	100	51	26	17	8
8 mm	0	25	14	-	-	-
	2	100	27	27	-	-

Tableau A I.
Tableau récapitulatif des résultats pour la population de Migné (Indre).

Hauteur de la coquille	Nombre de miracidiums	Nombre de limnées				
		au départ	au 30 ^e jour	non parasitées	infestées sans émission	infestées avec émission
4 mm	0	25	24	-	-	-
	1	100	64	16	24	24
	2	100	79	24	33	22
	5	100	67	19	44	4
	10	100	50	9	35	6
	20	100	23	10	13	3
5 mm	0	25	22	-	-	-
	2	50	41	12	19	10
6 mm	0	25	20	-	-	-
	2	50	37	13	23	1

Tableau A II.

Tableau récapitulatif des résultats pour la population de Veyrac (Haute-Vienne).

Hauteur de la coquille	Nombre de miracidiums	Nombre de limnées				
		au départ	au 30 ^e jour	non parasitées	infestées sans émission	infestées avec émission
4 mm	0	25	25	-	-	-
	1	100	61	19	24	18
	2	100	39	17	15	7
	5	100	68	15	20	33
	10	100	56	11	14	31
	20	100	43	11	11	21
5 mm	0	25	21	-	-	-
	2	100	67	45	14	8
6 mm	0	25	17	-	-	-
	2	50	28	5	6	17

Tableau A III.

Tableau récapitulatif des résultats pour la population de Berneuil (Haute-Vienne).

BON A IMPRIMER N° 11

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

Titre: LES ÉMISSIONS CERCARIENNES DE *Fasciola hepatica* Linné CHEZ LE MOLLUSQUE *Lymnaea truncatula* Müller. A PROPOS DE L'INFLUENCE DE DEUX FACTEURS. Par Françoise BARRET.

Des observations cercariologiques ont été réalisées entre les mois de mars et d'août sur des limnées infestées par *Fasciola hepatica* afin d'étudier l'influence de deux facteurs sur les émissions cercariennes du Trématode. Ces paramètres sont la hauteur du mollusque lors de l'exposition (4 à 8 mm) et le nombre de miracidiums par limnée (de 1 à 20).

Le taux de survie au 30^e jour diminue progressivement chez les témoins lorsque la taille des limnées au départ de l'expérience est de plus en plus élevée. Chez les mollusques infestés, on retrouve le même fait à partir de 6 mm de hauteur. De plus, chez ces derniers, les pourcentages sont plus faibles dans les séries à 10 et 20 miracidiums que dans les groupes avec un nombre de larves plus faible.

La fréquence des limnées avec émission varie selon la population. Dans deux colonies (Migné, Veyrac), les pourcentages sont de plus en plus faibles lorsque la hauteur de la coquille ou le nombre de miracidiums sont de plus en plus importants. Par contre, dans la population de Berneuil, on observe le processus inverse, avec une fréquence assez élevée dans le groupe des 6 mm et dans les lots à 5, 10 ou 20 miracidiums.

La durée de la période prépatente s'accroît avec la taille du mollusque au départ de l'expérience. Elle ne présente pas de variation significative dans deux colonies par rapport au nombre de miracidiums tandis qu'elle est plus élevée chez les mollusques à 1 et 2 miracidiums dans la population de Berneuil.

Le nombre moyen des métacercaires obtenues se distribue entre 69 et 140, quelle que soit la série expérimentale. Le nombre de miracidiums et la taille du mollusque lors de l'exposition au parasite n'ont pas d'influence significative sur cet effectif.

Dans les différentes séries, il n'y a pas de périodicité de type infradien dans la distribution journalière des kystes au cours de la période patente.

Mots clés: Émissions cercariennes. *Fasciola hepatica*. *Lymnaea truncatula*. Métacercaires.