

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

FACULTÉ DE PHARMACIE

SCD UNIV.LIMOGES



D 035 081815 5

Année 1998

Thèse n°

30614

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement

le 9 mars 1998

par

Aline FEIGEL

, née le 17 mars 1971 à Metz (Moselle)

ETUDES EXPÉRIMENTALES SUR LA SENSIBILITÉ
D'UN MOLLUSQUE, *Lymnaea fuscus* Pfeiffer,
À L'INFESTATION EXPÉRIMENTALE PAR
UN TRÉMATODE, *Fasciola hepatica* Linné.



EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Madame BOSGIRAUD, Professeur Président
Madame VAREILLE-MOREL, Maître de Conférences Juge
Monsieur DREYFUSS, Maître de Conférences Juge
Monsieur RONDELAUD, Maître de Conférences Juge
Monsieur VIGNOLES, Maître de Conférences Juge

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1998

Thèse n° 6

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement

le 9 mars 1998

par

Aline FEIGEL

, née le 17 mars 1971 à Metz (Moselle)

**ETUDES EXPÉRIMENTALES SUR LA SENSIBILITÉ
D'UN MOLLUSQUE, *Lymnaea fuscus* Pfeiffer,
À L'INFESTATION EXPÉRIMENTALE PAR
UN TRÉMATODE, *Fasciola hepatica* Linné.**



EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Madame BOSGIRAUD, Professeur Président
Madame VAREILLE-MOREL, Maître de Conférences Juge
Monsieur DREYFUSS, Maître de Conférences Juge
Monsieur RONDELAUD, Maître de Conférences Juge
Monsieur VIGNOLES, Maître de Conférences Juge

A notre Président de Thèse

Madame le Professeur C. BOSGIRAUD,
Service de Bactériologie-Virologie-
Parasitologie,

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

*Nous avons beaucoup appris à votre
contact par l'intermédiaire de vos cours.*

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

A notre Directeur de Thèse

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

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

*Nous vous remercions pour vos conseils
et vos critiques lors de la lecture
du prédocument.*

*Veillez agréer l'expression de
notre gratitude respectueuse.*

A nos Juges

Mme le Dr. C. VAREILLE-MOREL,
Maître de Conférences,

Service de Biologie Animale,
Faculté des Sciences de Limoges.

Monsieur le Docteur D. RONDELAUD,
Maître de Conférences.

Service d'Histologie,
Faculté de Médecine de Limoges.

Monsieur le Dr. Ph. VIGNOLES,
Maître de Conférences,

Service de Biophysique-Informatique,
Faculté de Pharmacie de Limoges,

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

*Nous vous remercions pour votre
participation à ce Jury.*

Nous adressons nos remerciements les plus vifs:

- à Mademoiselle Mouna ABROUS, Faculté de Médecine et Faculté de Pharmacie de
Limoges

*pour son aide efficace dans l'infestation des limnées par F.
hepatica et le suivi des émissions cercariennes.*

A ma famille,

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

A mes amis.

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE PREMIER: État actuel de la question	3
I. - <i>Lymnaea fuscus</i>	3
A. Position systématique de l'espèce	5
B. <i>L. fuscus</i> et les espèces voisines	7
1. La coquille	7
2. L'appareil génital	9
3. La répartition géographique	9
II. - La biologie de <i>L. fuscus</i>	10
A. Données générales	10
B. Les habitats de l'espèce	12
C. La reproduction de l'espèce	13
III. - <i>Lymnaea fuscus</i> et <i>Fasciola hepatica</i>	15
A. Rappels sur le cycle évolutif du parasite	15
B. Les stades larvaires chez le mollusque hôte	17
1. Le sporocyste	17
2. Les rédies	17

	Pages
3. Les cercaires	19
C. Le rôle de cette espèce comme mollusque hôte	21
1. Classification de BORAY (1978)	21
2. Revue de BUSSON (1981)	23
3. Revue des travaux postérieurs à 1981	25
D. La productivité parasitaire chez cette limnée	26
III. - Quelques données sur les habitats naturels du mollusque	26
A. Cas de Salon-de-Provence (Bouches-du-Rhône)	27
B. Cas de Feytiat (Haute-Vienne)	30
C. Cas de Saint-Ours (Puy-de-Dôme)	32
IV. - Commentaires	32
CHAPITRE DEUXIÈME: Matériel et méthodes	35
I. - Mollusques et parasites	35
A. Les limnées	35
B. Les oeufs de Trématodes	37
II. - Protocole d'étude	39
A. La sensibilité des quatre populations de limnées à l'infestation parasitaire	39
B. Les caractéristiques des émissions cercariennes chez les <i>L. fuscus</i> de Saint-Ours	39
C. Les infestations répétitives de <i>L. fuscus</i> avec <i>F. hepatica</i>	41
D. Les infestations croisées de <i>L. fuscus</i>	41
III. - Techniques utilisées	43
A. L'élevage des limnées	43
B. L'exposition aux miracidiums	43
C. Le sacrifice des limnées	45
D. Suivi des émissions cercariennes	45
IV. - Paramètres étudiés	45
V. - Tests statistiques	47

	Pages
CHAPITRE TROISIÈME: Résultats	48
I. - La sensibilité de <i>L. fuscus</i> et de <i>L. palustris</i> à l'infestation fasciolienne	48
A. Taux de survie au 35 ^e jour	48
B. Prévalence de l'infestation fasciolienne au 35 ^e jour	51
C. Croissance des mollusques infestés au cours de l'expérience	51
II. - Les caractéristiques de l'infestation parasitaire chez les <i>L. fuscus</i> de Saint-Ours	53
III. - Les infestations répétitives de <i>L. fuscus</i> avec <i>F. hepatica</i>	55
A. Taux de survie au 35 ^e jour	55
B. Prévalence de l'infestation	57
IV. - Les infestations croisées avec <i>F. hepatica</i> et <i>Paramphistomum daubneyi</i>	57
CHAPITRE QUATRIÈME: Commentaires	59
I. - Synthèse	59
II. - Discussion	60
A. Considérations générales sur les infestations expérimentales de mollusques par <i>F. hepatica</i>	60
1. La variabilité de la taille des mollusques au départ de l'expérience	60
2. La variabilité dans le nombre de miracidiums utilisés pour chaque mollusque lors de l'exposition	61
3. La variabilité de la température d'élevage	62
B. Les infestations expérimentales de <i>L. fuscus</i>	64
1. La prévalence de l'infestation fasciolienne	64
2. Le nombre de métacercaires	66
C. Réflexions sur le statut de <i>L. fuscus</i> comme hôte intermédiaire de <i>F. hepatica</i>	66
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES	70
BIBLIOGRAPHIE	73

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les douves du genre *Fasciola* sont des parasites que l'on rencontre dans les voies hépato-biliaires de nombreux Mammifères. Leurs effets sur la santé de l'homme et des animaux sont multiples. La contamination de l'homme est peu fréquente et se produit souvent sous forme d'épidémies familiales limitées à la suite de l'ingestion de crudités sauvages (GOLVAN, 1990). Chez le bétail, la parasitose est plus fréquente et évolue souvent sous la forme chronique. Elle entraîne alors des préjudices économiques parfois importants pour les éleveurs (revue de MAGE, 1988).

Pour accomplir leur cycle, ces Trématodes ont besoin de deux hôtes, l'un définitif, l'autre intermédiaire. Ce dernier est un escargot d'eau douce et assure le développement des formes larvaires. Plusieurs espèces de mollusques sont connues pour être des hôtes intermédiaires de *F. hepatica*. La plus citée est *Lymnaea truncatula* Müller, 1774 (revue d'EUZEBY, 1971). D'autres limnées peuvent également accomplir ce rôle à condition qu'elles soient exposées au parasite dans leurs premiers jours de vie.

Le problème posé dans ce mémoire est double:

- Le premier point concerne la systématique de l'espèce. Le sous-genre *Stagnicola* ne contient qu'une seule espèce: *Lymnaea (Stagnicola) palustris* Müller, 1774 jusqu'en 1978. A l'heure actuelle, il est fort de cinq espèces, tout au moins en Europe (GLÖER et MEIER-

BROOK, 1994; FALKNER, 1995). En France, la répartition de ces espèces n'est pas connue avec précision. D'après FALKNER (1995), *L. fuscus* Pfeiffer, 1821 et *L. palustris* seraient présentes dans le pays avec une prédominance de la première limnée sur la seconde.

- Le second point est d'ordre parasitologique. Si *L. palustris* ne s'infeste que dans les premiers jours de sa vie (KENDALL, 1950; BERGHEN, 1964; BUSSON *et al.*, 1982), en revanche d'autres espèces du sous-genre *Stagnicola* telles que *Lymnaea turricula* Held, 1836 ou *L. occultus* Jackiewicz, 1959 peuvent assurer le développement naturel ou expérimental du parasite avec émission de cercaires (CZAPSKI, 1962, 1965, 1977, 1978).

La problématique à l'origine de ce travail est basée sur les deux points précités. Nous nous sommes proposé de répondre aux trois questions suivantes:

- 1) *L. fuscus* intervient-elle comme hôte intermédiaire dans le cycle naturel ou expérimental de *F. hepatica* ?

- 2) Le mollusque peut-il s'infester à tout âge ?

- 3) Quelle est la production cercarienne chez cette limnée lorsqu'elle est parasitée par ce Trématode ?

Pour répondre à cette problématique, nous avons réalisé des infestations expérimentales de mollusques dans les conditions du laboratoire en nous adressant à trois populations de *L. fuscus*.

Le présent mémoire regroupe les résultats de cette expérimentation. Il est présenté selon le plan suivant:

- Le chapitre premier dresse un bilan sur nos connaissances actuelles sur la systématique de *L. fuscus*, sa biologie et ses relations avec *F. hepatica*.

- Le chapitre deuxième présente le matériel biologique, le protocole des expériences, les techniques et les paramètres étudiés.

- Le chapitre troisième regroupe les résultats que nous avons obtenus au cours de nos expérimentations.

- Le dernier compare nos données à celles parues dans la littérature sur *L. palustris*.

ETAT ACTUEL DE LA QUESTION

La fonction de ce chapitre est de faire le point sur les données que l'on possède sur cette espèce.

Le premier temps de notre exposé porte sur la position systématique de cette limnée et sa description. Le deuxième paragraphe rappelle quelques notions sur la distomatose à *F. hepatica* ainsi que les relations entre le mollusque et le parasite. La troisième subdivision concerne les données épidémiologiques provenant de quelques stations où vit cette limnée. Le dernier point est consacré à des commentaires personnels.

I. - *Lymnaea fuscus*.

Cette limnée a été décrite pour la première fois par PFEIFFER (1821) et trouvée dans la plupart des pays européens comme en France (GERMAIN, 1930/1931). HUBENDICK (1951), dans sa revue, regroupe cette limnée avec *L. palustris*.

A l'heure actuelle, *L. fuscus* est reconnue comme une espèce à part entière par les malacologues allemands (GLÖER et MEIER-BROOK, 1994; FALKNER, 1995). Elle est également présente en Pologne sous un autre nom: *Lymnaea vulnerata* Küster, 1892 (JACKIEWICZ, 1990; JACKIEWICZ et von PROSCHWITZ, 1991). Son existence en France a été signalée par FALKNER (1995) mais elle nécessite encore une confirmation.

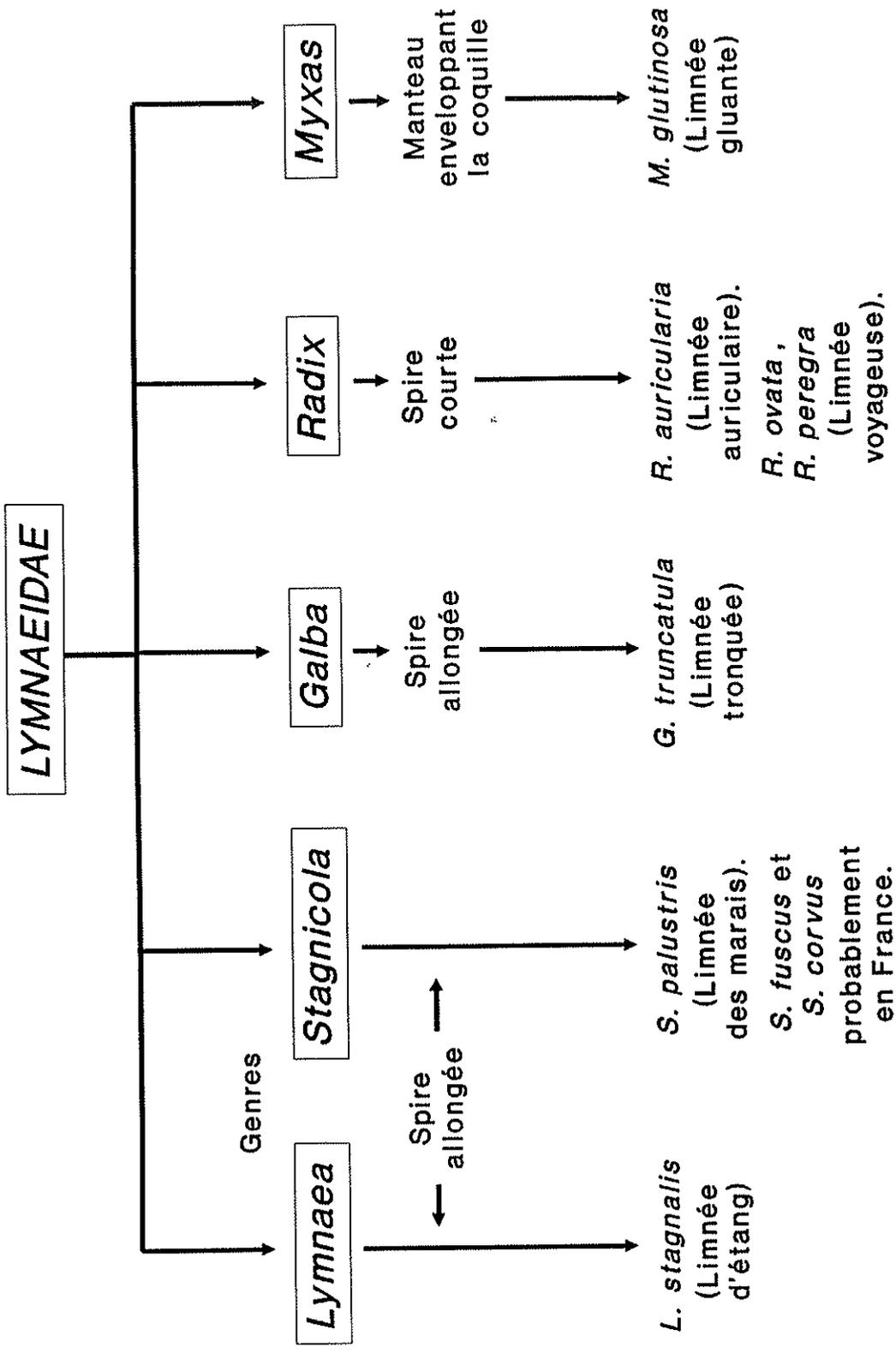


Figure 1.
Les genres et les espèces reconnus par GLÖER et MEIER-BROOK (1994)
dans la famille des Lymnaeidae (Mollusques d'eau douce).

A. POSITION SYSTÉMATIQUE DE L'ESPÈCE.

Cette limnée appartient à l'embranchement des Mollusques, à la classe des Gastéropodes, à l'ordre des Pulmonés et à la famille des Lymnaeidae. Ces derniers vivent en eau douce.

La figure 1 montre la systématique que GLÖER et MEIER-BROOK (1994) utilisent pour la famille des Lymnaeidae. La lecture de cet organigramme montre les points suivants:

- Cinq genres sont reconnus à l'heure actuelle.

- Le genre *Lymnaea* Lamarck, 1799 ne contient plus qu'une seule espèce: *L. stagnalis* Linné, 1758. Ce mollusque est la plus grosse des limnées françaises (jusqu'à 65 mm de hauteur).

- Le genre *Stagnicola* Jeffreys, 1830 est fort de six espèces en Europe. *S. glaber* Müller 1774, *S. palustris* Müller, 1774 et *S. fuscus* Pfeiffer, 1821 sont signalées sur le territoire français. *S. corvus* Gmelin, 1791 vit probablement en France. Les deux autres espèces (*S. occultus* Jackiewicz, 1959, *S. turricula* Held, 1836) ont été citées dans l'Europe de l'Est.

- Le genre *Galba* Schrank, 1803 est celui de la Limnée tronquée (*G. truncatula* Müller, 1774).

- Le genre *Radix* est caractérisé par une spire courte. Les auteurs précités signalent trois espèces, à savoir *R. auricularia* Linné, 1758, *R. ovata* Draparnaud, 1805 et *R. peregra* Müller, 1774.

- Enfin, le genre *Myxas* Sowerby, 1882 referme une seule espèce en France: *M. glutinosa* Müller, 1774.

Ces différents genres se différencient entre eux par des caractéristiques de la coquille et de l'appareil génital. Certains traits sont cités sur la figure 1.

Cette classification moderne n'est cependant pas acceptée par tous les auteurs. C'est ainsi que PFLEGER (1989) utilise encore une clé plus ancienne avec deux genres seulement (*Lymnaea*, *Myxas*). C'est la raison pour laquelle nous avons préféré conserver le terme de *Lymnaea fuscus* pour dénommer le mollusque à l'origine de notre étude.

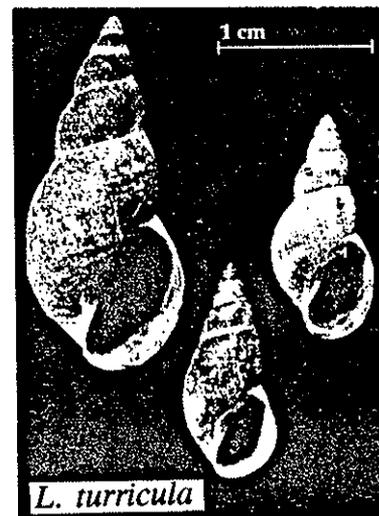
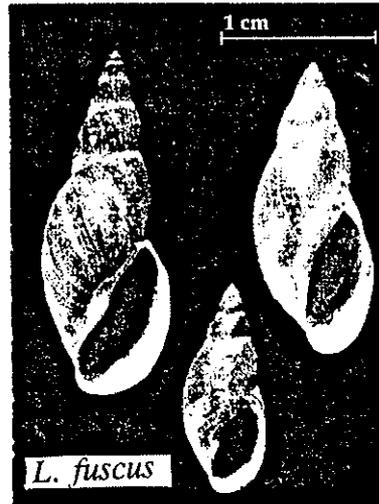
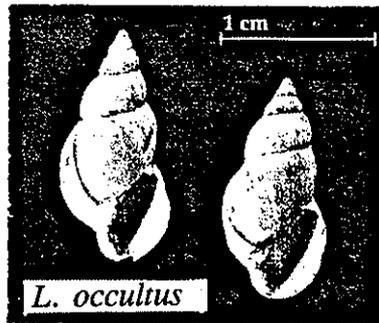


Figure 2.
La coquille de *Lymnaea fuscus* et des espèces voisines (appartenant au genre *Stagnicola* : GLÖER et MEIER-BROOK, 1994).

B. *L. fuscus* ET LES ESPÈCES VOISINES.

Nous nous sommes servi des documents suivants: GERMAIN (1930/1931), HUBENDICK (1951), GLÖER et MEIER-BROOK (1994), pour écrire ce paragraphe.

1. La coquille.

La figure 2 montre des micrographies sur les six espèces appartenant au genre *Stagnicola*.

La coquille de *S. glaber* (ou *Lymnaea glabra*) est présentée sur la figure 2a. Le test est très allongé et formé de 7 à 9 tours (aspect turriculé). L'ouverture est petite, ovale et ne dépasse pas, en hauteur, le tiers de la longueur totale. La limite maximale de taille est de 20 mm en général.

Le tableau suivant répertorie les caractéristiques qui différencient les cinq autres espèces de *Stagnicola* (Fig. 2b à 2e):

Espèce	Hauteur maximale de l'adulte	Principales caractéristiques du test
<i>S. corvus</i>	34 mm	Présence de côtes longitudinales.
<i>S. fuscus</i>	25 mm	Test finement strié. Absence de côtes.
<i>S. occultus</i>	17 mm	Test strié. Absence de côtes.
<i>S. palustris</i>	17,5 mm	Présence de côtes longitudinales.
<i>S. turricula</i>	16,5 mm	Présence de côtes longitudinales. Bourrelets rouge brun le long de l'ouverture.

D'après GLÖER et MEIER-BROOK (1994).

Malgré les caractéristiques citées ci-dessus, la coquille est insuffisante pour faire un diagnostic d'espèce. En effet, les micrographies fournies par GLÖER et MEIER-BROOK (1994) dans son travail montrent l'existence d'une certaine variabilité au niveau de la forme des coquilles chez *L. corvus*, *L. fuscus* et *L. palustris*.

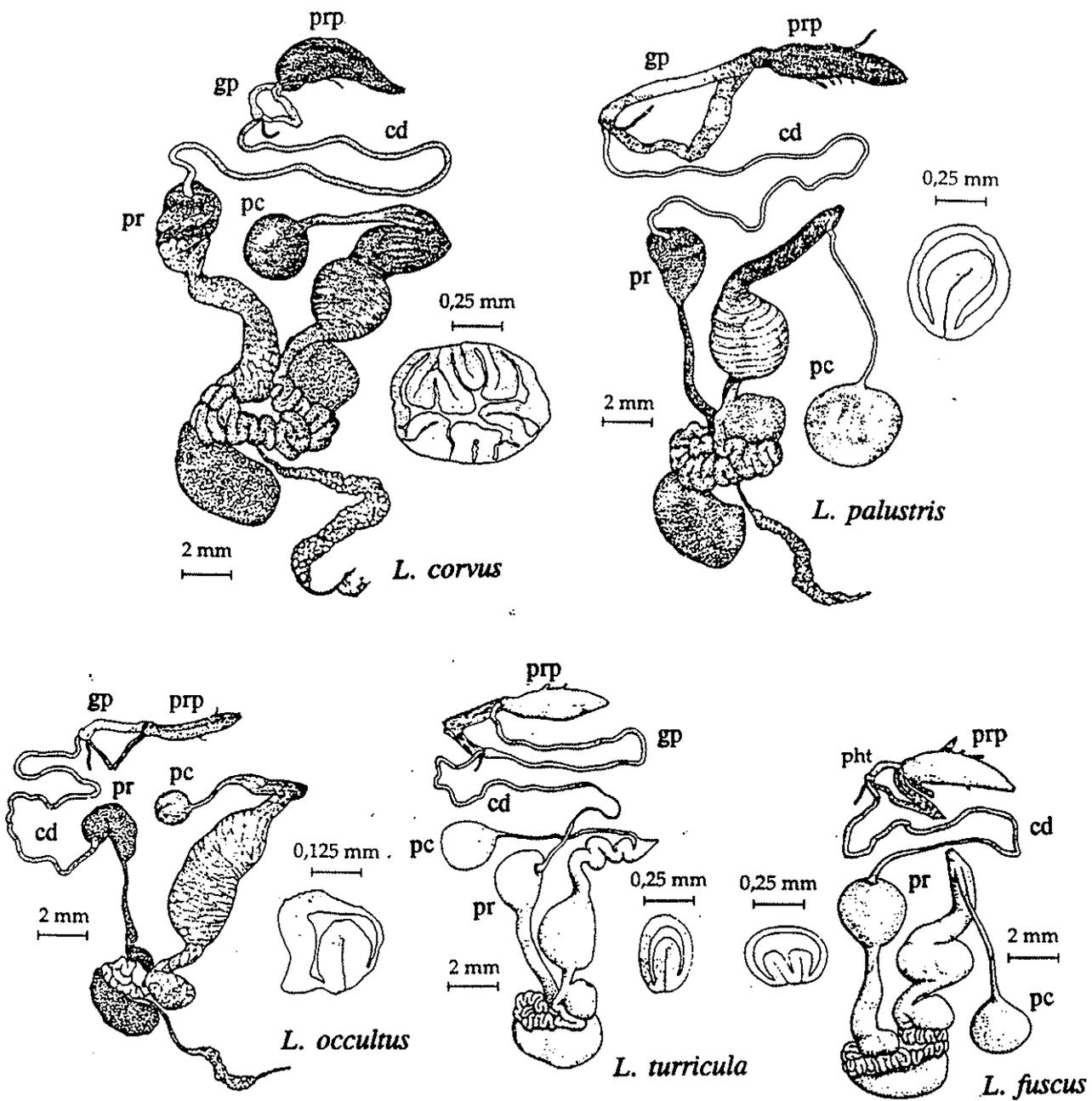


Figure 3.
 L'appareil génital de *L. fuscus* et des espèces voisines
 (JACKIEWICZ, 1959, 1962, 1988; GLÖER et MEIER-BROOK, 1994).

Abréviations: cd (canal déférent). gp (gaine du pénis).
 pc (poche copulatrice). pr (prostate). prp (prépuce).

2. L'appareil génital.

La morphologie de ces organes est prise en compte depuis longtemps pour différencier les espèces dans la famille des Lymnaeidae. Ces caractéristiques ont été utilisées par les auteurs ultérieurs aussi bien d'un point de vue systématique (HUBENDICK, 1951; JACKIEWICZ, 1992a, b) que dans les faunes (GERMAIN, 1930/1931; ADAM, 1960).

Dans le cas du genre *Stagnicola*, ces critères portent sur la prostate (nombre de plis internes), les *genitalia* (longueur du pénis par rapport à celle de la gaine correspondante) et la poche copulatrice (forme et longueur du conduit).

La figure 3 montre la morphologie de cet appareil pour cinq espèces du genre *Stagnicola*. Le tableau ci-dessous regroupe les principaux traits:

Espèces	Nombre de plis (prostate)	Longueur du pénis/ longueur de la gaine	Forme du conduit (poche copulatrice)
<i>S. corvus</i>	Nombreux	3/1	épais
<i>S. fuscus</i>	2	3/1	grêle
<i>S. occultus</i>	1	1/1	épais
<i>S. palustris</i>	1	1/1	grêle
<i>S. turricula</i>	1	1/2,5 à 3	grêle

D'après GLÖER et MEIER-BROOK (1994).

Ces caractères permettent de différencier les cinq espèces. L'inconvénient réside dans le fait qu'il est nécessaire de sacrifier des animaux pour identifier une population donnée.

3. Leur répartition géographique.

Malgré les données fournies par GERMAIN (1930/1931) pour la France, les espèces présentes dans le pays et leur distribution sont à réviser.

En revanche, la répartition de ces limnées est assez bien connue en Allemagne. D'après GLÖER et MEIER-BROOK (1994), *S. corvus* et *S. palustris* sont assez bien répandues sur le territoire. *S. fuscus* colonise surtout le sud du pays. La distribution des deux autres limnées est limitée (*S. turricula*) ou incertaine (*S. occultus*).

II. - LA BIOLOGIE DE *L. fuscus*.

La revue de la littérature montre un manque certain de données sur cette espèce. C'est la raison pour laquelle notre propos a été construit avec les données publiées sur une limnée voisine, *L. palustris*.

A. DONNÉES GÉNÉRALES.

Ce sont des Mollusques d'eau douce qui vivent généralement dans les eaux peu profondes: lacs, étangs, marais, rivières ou fossés. On les rencontre dans les eaux courantes comme dans les nappes stagnantes.

Les limnées ont un "poumon", constitué par la cavité palléale. Cet organe leur permet de respirer l'oxygène atmosphérique. De ce fait, elles sont obligées de migrer du fond vers la surface de l'eau pour respirer.

Ces animaux sont herbivores et se nourrissent essentiellement d'algues bleues ou vertes, de bactéries, voire de macrophytes. Ils se déplacent lentement, en faisant des mouvements de tête, de gauche à droite ou de droite à gauche jusqu'à ce qu'elles détectent la présence de nourriture. Elles broutent cette couverture végétale grâce à leur radula (LAMBERT, 1990).

Le rythme de vie dépend essentiellement de la température. En automne et au début de l'hiver, elles migrent en profondeur. Elles y passent la mauvaise saison, avec un métabolisme ralenti. Lorsque les conditions redeviennent favorables, elles reprennent une vie active à la surface. Par contre, lors de l'assèchement estival, elles peuvent entrer en estivation, avec le corps rétracté dans la coquille et résister au dessèchement du milieu jusqu'au retour des pluies en septembre.

Cette espèce est hermaphrodite. La reproduction s'effectue de la mi-mai à la mi-septembre selon la population et les conditions climatiques. Les limnées pondent des masses d'oeufs entourées de sécrétions, ce qui leur donne un aspect gélatineux. Elles sont selme pares car elles meurent après la période de pontes.

La croissance des juvéniles est d'environ 1 mm par semaine jusqu'à la 6^e-7^e semaine et s'effectue selon une courbe sigmoïde. Les animaux peuvent pondre au stade adulte, c'est-à-dire à partir de 5-6 mm de hauteur.

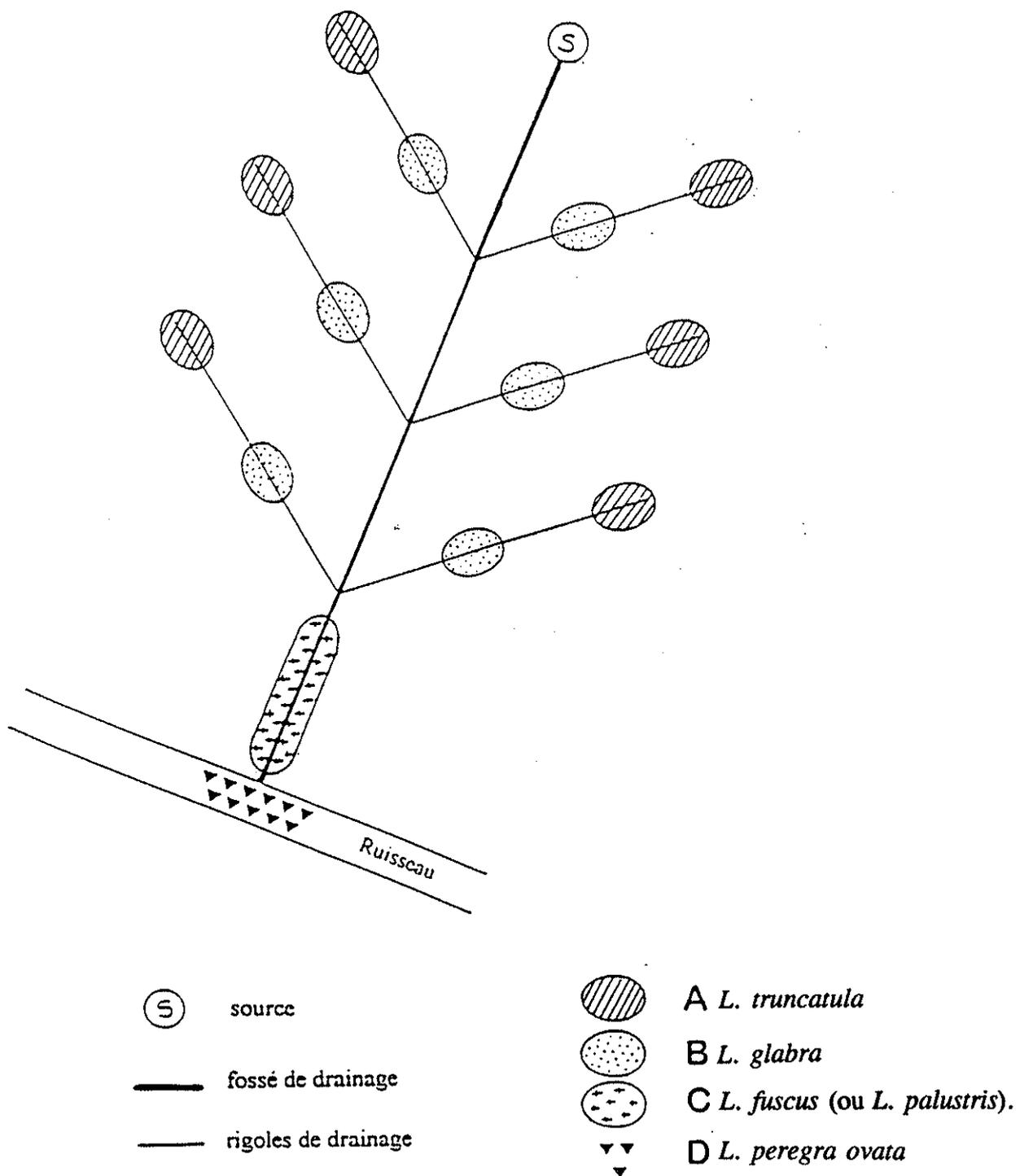


Figure 4.
 La distribution de quatre espèces de limnées
 dans les prairies marécageuses de la Haute-Vienne
 (d'après VAREILLE, 1996).

B. LES HABITATS DE L'ESPÈCE.

Les informations sur ce point sont très rares car la présence de *L. fuscus* a été citée en France pour la première fois par FALKNER en 1995. Cette espèce a, depuis, été retrouvée dans des prairies sur sol acide et en moyenne montagne. Nous avons donc construit ce paragraphe à l'aide des données de VAREILLE (1996) et de nos propres observations.

D'après cet auteur, les habitats des limnées occupent des niveaux distincts sur un réseau de drainage superficiel:

- *L. truncatula* se situe à l'extrémité aveugle des rigoles tandis que *L. glabra* vit sur le cours moyen de ces dernières.

- *L. fuscus* -ou *L. palustris* lorsque cette espèce est présente- forment des colonies dans la partie la plus basse du fossé.

- Enfin, le ruisseau où s'ouvre le fossé est colonisé souvent par *L. peregra ovata*.

La fréquence des limnées dans les pâtures est cependant variable. D'après RONDELAUD (1981), *L. glabra* se rencontre dans 20 % des prairies de la Haute-Vienne alors que *L. fuscus* -ou *L. palustris*- sont présentes seulement dans 3 % des pâtures.

Lors de nos prospections dans le Puy-de-Dôme, nous avons retrouvé cette systématisation des habitats en fonction de l'espèce de la limnée. Les différences sont a) l'absence de *L. glabra* et b) la contiguïté des aires occupées par *L. fuscus* et *L. truncatula*.

Les premières observations réalisées par VAREILLE (1996) montrent que *L. fuscus* est capable de résister au dessèchement estival lorsque l'espèce vit dans les prairies de la Haute-Vienne. Nous n'avons pas observé d'enfouissement. L'espèce est capable de se fixer sur le substrat ou sur les plantes, en rétractant son corps dans la coquille, laquelle est parfois obturée par un épiphragme partiel.

La notion d'habitat réservoir et d'habitat temporaire, admise chez *L. truncatula* (revue d'EUZEBY en 1971), est nettement moins nette dans le cas de *L. fuscus*. VAREILLE (1996), VAREILLE *et al.* (1996) ont constaté une extension de cette espèce dans une prairie modifiée par les allées et venues de ragondins mais nous n'avons pas retrouvé cette notion dans les prairies prospectées dans le Puy-de-Dôme.

C. LA REPRODUCTION DE L'ESPÈCE.

La revue de la littérature ne fournit pas de référence sur l'activité génésique de *L. fuscus* dans les pays de l'Europe de l'Ouest. C'est la raison pour laquelle nous avons construit ce paragraphe avec les données connues pour *L. palustris*.

D'après HUNTER (1975), *L. palustris* possède un seul ou deux cycles biologiques annuels sur le continent américain:

- 1) Une seule génération.

Les pontes fournies par les adultes transhivernants sont déposées en été, essentiellement en juillet-août. D'après MOUTHON (1981), la croissance des adultes à l'origine de ces pontes s'effectue principalement au printemps et au début de l'été, avant la période de reproduction.

- 2) Deux générations annuelles.

Les individus éclos au début de l'été atteignent rapidement leur maturité sexuelle et pondent avant l'automne. Mais d'après HUNTER (1975), ce processus ne concerne qu'une faible partie de la population. Il n'y a donc pas remplacement d'une génération par la suivante (MOUTHON, 1980, 1981).

HUNTER (1975) pense que ces variations dans le nombre de cycles sont dues à des conditions trophiques différentes.

La croissance de *L. palustris* n'est pas uniforme et s'effectue -comme chez tous les Gastéropodes- selon une courbe sigmoïde (Mc CRAW, 1970). La rapidité de la croissance dépend étroitement de l'environnement, principalement de la température et des conditions trophiques et peut varier sensiblement d'une espèce à l'autre, notamment en fonction de la longévité (MOUTHON, 1980).

Différentes valeurs ont été fournies pour la longévité maximale de *L. palustris*: 8 à 10 mois pour FORBES et CRAMPTON (1942), 12 mois pour de COSTER et PERSOONE (1970) ou Mc CRAW (1970), 13 mois pour HILBERT (1911), 29 mois dans des conditions expérimentales pour FRÖMMING (1956). D'après ces données, il ressort que la plupart des valeurs sont d'une année environ mais qu'au laboratoire, la survie de *L. palustris* est peut-être prolongée (MOUTHON, 1980).

La Grande Douve Adulte pond des œufs qui sont transportés par la bile jusque dans l'intestin et sont rejetés sur les pâtures dans les bouses.

Dans l'intestin, elles deviennent de jeunes douves qui atteignent le foie puis le traversent en creusant des galeries.

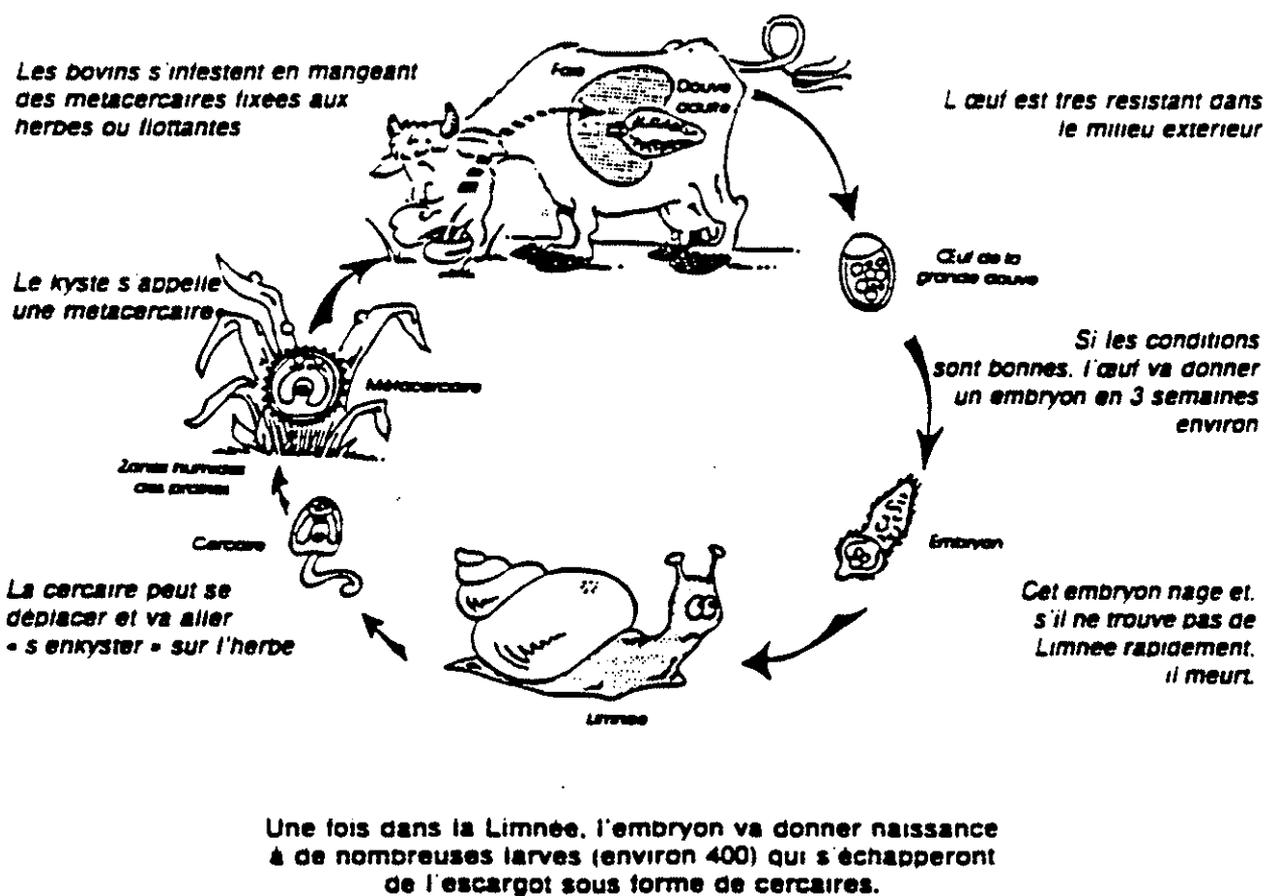


Figure 5.
Le cycle évolutif de *F. hepatica*
(d'après une note de vulgarisation, établie par le
GROUPEMENT DE DÉFENSE SANITAIRE DE L'ORNE, 1991).

II. - *Lymnaea fuscus* ET *Fasciola hepatica*.

A. RAPPELS SUR LE CYCLE ÉVOLUTIF DU PARASITE.

Le cycle de *F. hepatica* est de type dixène et nécessite, pour sa réalisation, un hôte définitif (généralement un Mammifère) et un hôte intermédiaire qui assure le développement des formes larvaires (un mollusque d'eau douce).

La figure 5 présente un exemple de ce cycle. On distingue quatre phases successives:

- L'ingestion des métacercaires par l'hôte définitif (bovins, ovins, homme, ...) est suivie du désenkystement des larves dans le duodénum et de leur migration vers le foie. Là, elles effectuent une migration intra-parenchymateuse pendant 6 semaines environ avant de gagner les canaux biliaires où elles deviennent adultes (à partir du troisième mois). Elles pondent alors des oeufs qui sont évacués à l'extérieur.

- Si ces derniers trouvent des conditions favorables, à savoir une température convenable et une humidité importante, ils subissent une incubation dont la durée dépend de la température. D'après OLLERENSHAW (1971), la durée de cette phase est de 20 jours à la température constante de 20° C. Cette incubation permet la différenciation du contenu en une forme larvaire mobile, le miracidium. Ce dernier sort lors de l'éclosion et nage à la recherche de l'hôte intermédiaire.

- Le mollusque est généralement une limnée amphibie, *Lymnaea truncatula*. Après sa pénétration, le miracidium se transforme en un sporocyste et cette larve forme des rédies de première génération. Ces dernières produisent à leur tour des rédies filles, puis des cercaires qui sortent du mollusque lors de la période d'émission.

- Les cercaires nagent quelques minutes et s'enkystent rapidement sur un substrat quelconque pour former des métacercaires. Si ce support est un végétal, celui-ci pourra être ingéré par l'hôte définitif et, ainsi, le cycle sera bouclé. Il se forme également des métacercaires flottantes qui restent à la surface de l'eau en raison de l'existence d'une collerette pourvue de lacunes aérifères.

La liste des plantes pouvant transmettre les parasites est assez longue mais c'est le cresson qui est à l'origine de la quasi-totalité des cas chez l'homme tandis que le pissenlit ou la mâche sont très rarement cités (DENIS *et al.*, 1996).

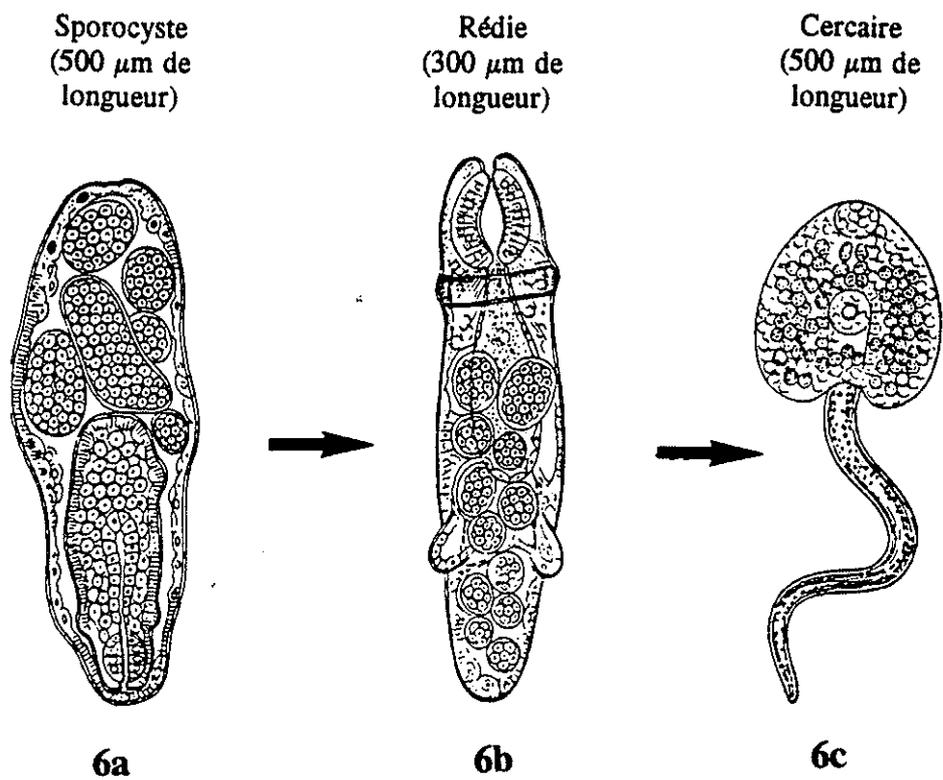


Figure 6.
Les trois stades larvaires de *F. hepatica* chez le mollusque hôte
(d'après THOMAS, 1883, redessiné par SOULSBY, 1982).

B. LES STADES LARVAIRES CHEZ LE MOLLUSQUE HÔTE.

Ce dernier héberge trois stades, à savoir le sporocyste, les rédies et les cercaires.

1. Le sporocyste.

La pénétration du miracidium dans le mollusque hôte aboutit à la formation du sporocyste. Ce dernier est représenté sur la figure 6a. Le corps est entouré par une cuticule externe, une couche musculaire sous-jacente et un épithélium interne. De nombreuses cellules germinales et des cellules à flamme vibratile peuvent s'observer dans la larve. Par contre, les taches oculaires, le pharynx et le ganglion nerveux ne se reconnaissent plus quelques jours après la pénétration du miracidium (BUZZELL, 1983).

Le sporocyste migre à l'intérieur de la limnée en laissant des galeries de forme variable, essentiellement dans les espaces hémolympatiques (BOUIX-BUSSON *et al.*, 1984). Ces déplacements durent une quinzaine de jours avant que la larve ne se fixe dans un endroit déterminé. Au 15^e jour, le sporocyste mesure 0,5 à 0,7 mm de longueur. La zone réno-péricardique du mollusque est le secteur le plus colonisé par les larves. D'après PREVE-RAUD-SINDOU *et al.* (1994), le site où le sporocyste s'établit est en relation étroite avec le point de pénétration dans la limnée.

2. Les rédies.

Ce stade larvaire est représenté sur la figure 6b. On le reconnaît à sa forme cylindrique, à son collier antérieur et à la paire d'appendices postérieurs. Un pharynx se prolonge par un oesophage court et un intestin aveugle. Un collier nerveux entoure l'oesophage. Des cellules à flamme vibratile assurent l'excrétion tandis que des cellules germinales internes vont donner naissance à des morulas à l'origine des rédies filles ou des cercaires.

Trois générations rédiennes se succèdent à partir du sporocyste initial. La figure 7 (page suivante) fournit une illustration sur ce schéma de développement.

La première rédie, qui sort du sporocyste, fait partie de la première génération (groupe R1a) et croît rapidement dans le corps du mollusque. Elle produit une vingtaine de rédies filles qui appartiennent à la deuxième génération (groupe R2a) et deviennent indépendantes à partir du 18^e jour (à 20° C).

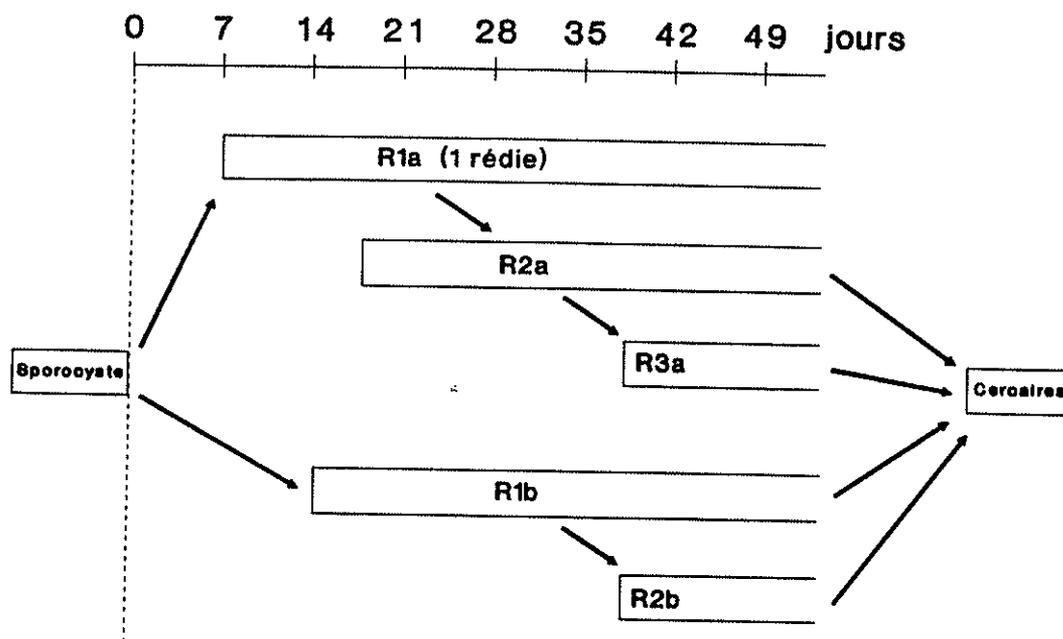


Figure 7.

La succession des trois générations rédiennes dans le cas de *F. hepatica* chez le mollusque hôte (d'après RONDELAUD et BARTHE, 1982, modifié par MICHELET, 1997).

Abréviations: R1a (première rédie de première génération).
 R1b (autres rédiées de première génération). R2a (première cohorte de seconde génération). R2b (deuxième cohorte de seconde génération).
 R3a (première cohorte de troisième génération).

Les autres rédies, qui sortent du sporocyste, font également partie de la première génération (groupe R1b) et deviennent indépendantes à partir du 14^e jour. Elles se développent parallèlement avec celles du groupe R2a.

Les deux groupes précités: R1b et R2a, forment, eux-mêmes, des rédies filles en faible nombre, lesquelles deviennent indépendantes à partir du 35^e jour. Selon le groupe, ces rédies filles appartiennent respectivement aux groupes R2b et R3a.

A l'exception de la rédie R1a, les larves appartenant aux autres groupes forment toutes des cercaires. Ces dernières ne se différencient qu'après la sortie des rédies filles.

3. Les cercaires.

Ce stade larvaire figure sur le schéma 6c. Un corps semi-circulaire se prolonge par une queue mobile. On la reconnaît aux deux ventouses antérieure et postérieure, ainsi qu'aux nombreuses cellules cystogènes internes. Les dimensions moyennes sont de 0,28 mm pour la longueur et de 0,23 mm pour la largeur, tandis que la queue est deux fois plus longue que le corps.

Ces cercaires sortent des rédies parentales en un point quelconque, généralement dans la partie postérieure du corps (AUGOT, 1995). Elles restent quelques temps dans le corps du mollusque où elles s'accumulent d'après BORAY (1969). Elles sont libérées dans le milieu extérieur au cours de la période d'émission et sortent de l'hôte par des galeries au niveau de la région péri-anale de la limnée (KENDALL et McCULLOUGH, 1951). Si elles ne sortent pas, elles dégènèrent au bout d'un temps variable (DREYFUSS, 1994).

Les émissions s'effectuent selon un rythme circadien, avec une sortie maximale des cercaires au milieu de la nuit. Un rythme infradien, avec une périodicité de 7 jours, a été également décrit dans des conditions semi-naturelles (AUDOUSSET *et al.*, 1989) mais il n'a pas été retrouvé si les limnées sont maintenues dans des conditions constantes (DREYFUSS et RONDELAUD, 1994). La sortie des larves s'effectue sous forme de vagues de un à plusieurs jours, séparées par des repos sans émission.

Les cercaires nagent quelques minutes avant de s'enkyster sur un support quelconque ou à la surface de l'eau (stade métacercaire). Elles ne constituent pas des éléments infestants (PECHEUR, 1974); par contre, les métacercaires le sont.

MOLLUSQUES HOTES

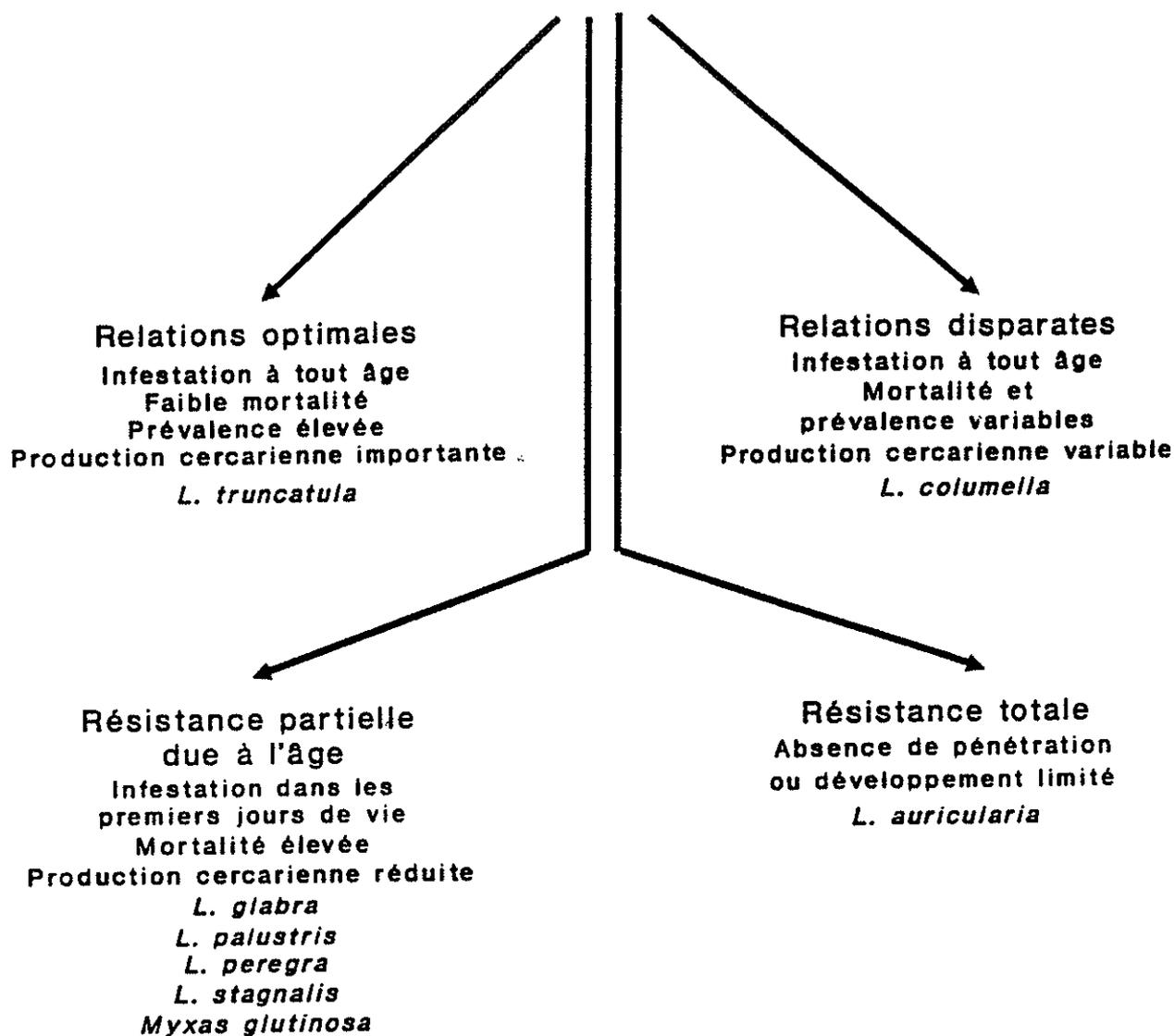


Figure 8.

Répartition des limnées européennes en fonction de leur aptitude à l'infestation fasciolienne (d'après BORAY, 1978, complété par TAPIE, 1996, à partir des références récentes).

C. LE RÔLE DE CETTE ESPÈCE COMME MOLLUSQUE HÔTE.

La revue de la littérature sur *L. fuscus* ne montre pas, avant 1996, de travail relatif à l'infestation fasciolienne de cette limnée. C'est la raison pour laquelle nous avons construit notre texte en nous basant sur les travaux publiés sur une espèce proche, *L. palustris*.

1. Classification de BORAY (1978).

Cet auteur a étudié l'aptitude de nombreuses espèces de limnées comme hôtes intermédiaires de *F. hepatica* dans des conditions expérimentales. Nous fournissons, sur la figure 8, les principaux résultats de BORAY.

D'après ce dernier, quatre groupes de limnées peuvent être identifiés. Nous nous sommes servi des commentaires de TAPIE (1996) pour écrire ce paragraphe:

- 1) relations optimales. L'infestation de la limnée peut se faire à tout âge. La mortalité des mollusques soumis aux miracidiums reste faible tandis que le taux d'infestation est élevé. Enfin, notons la présence d'une production cercarienne notable. Parmi les limnées françaises, seule *L. truncatula* appartient à ce groupe.

- 2) relations disparates. Le mollusque peut s'infester à tout âge. Les modifications portent sur a) la mortalité des mollusques qui est souvent importante, b) le taux d'infestation qui peut être élevé ou faible et c) sur une production cercarienne souvent limitée en nombre. Le développement larvaire est souvent lent et peut même s'arrêter au stade procercaire. A ce contingent, appartient *L. columella* (espèce nord-américaine) que l'on peut retrouver dans plusieurs régions de l'Europe et du Moyen-Orient.

- 3) résistance partielle liée à l'âge du mollusque. Seuls, les juvéniles de moins de 2 mm de hauteur peuvent assurer le développement larvaire. La mortalité de ceux-ci est souvent élevée pour un taux d'infestation faible. La production cercarienne est habituellement faible mais elle augmente si les contacts naturels ou expérimentaux deviennent fréquents entre le mollusque et le parasite. Dans ce groupe, se rencontrent la plupart des espèces européennes comme *L. glabra*, *L. palustris*, *L. peregra ovata*, *L. peregra peregra* ou *L. stagnalis*. Il faut y ajouter aussi une espèce proche des limnées, *Myxas glutinosa* (VAREILLE-MOREL *et al.*, 1994).

Référence	Pays	Infestation		<i>Lymnaea</i>
		naturelle	expérimentale	
REICHMUTH, 1936.	Allemagne	NR	+	?
VOLKOVA, 1948.	Ex-U.R.S.S.	NR	+	?
KENDALL, 1950.	Grande-Bretagne	NR	+	?
GODERDZISVILI, 1955.	Ex-U.R.S.S.	+	NR	?
COUDERT et TRIOZON, 1957; TRIOZON, 1958.	France	+	NR	?
SAZANOV, 1957, 1971, 1977.	Ex-U.R.S.S.	NR	+	?
CZAPSKI, 1962, 1968, 1977, 1978.	Pologne	NR	+	<i>L. occultus</i> et <i>L. turricula</i>
BERGHEN, 1964.	Belgique	NR	+	?
BORAY, 1966, 1969.	Suisse	NR	+	?
MURA et ARRU, 1967; ARRU et MURA, 1969.	Italie	NR	+	?
SAMPAIO <i>et al.</i> , 1967.	Espagne et Portugal	NR	+	?
MELIKOV-YU, 1968.	Ex-U.R.S.S.	NR	+	?
Groupe Alfort-Angers : ANONYME, 1970.	France	0	+	?
KOBULEJ et JANISCH, 1970	Hongrie	+	+	?
FROMUNDA et SIRBU, 1971	Roumanie	0	+	?
ARRU et PAPAPOULOS, 1972	Italie	+	NR	?
RONDELAUD et BARTHE, 1978; RONDELAUD, 1980.	France	NR	+	?

Tableau I.

Tableau synoptique répertoriant les travaux parus sur l'infestation naturelle ou expérimentale de *L. palustris* et des espèces voisines par *F. hepatica* (d'après BUSSON, 1981).

Abréviations: 0 (résultats négatifs). + (présence de formes larvaires chez des limnées).

NR (étude non réalisée). ? (s'agit-il de *L. palustris* ou d'une espèce voisine ?).

- 4) résistance totale. Le miracidium ne pénètre pas ou si cela se produit, le développement larvaire s'arrête au stade sporocyste. *L. auricularia* entre dans ce cadre.

2. Revue de BUSSON (1981).

Nous nous sommes servi de la thèse de BUSSON (1981) pour formuler notre propos. Cet auteur a recensé 48 références sur le rôle de *L. palustris* ou des espèces voisines comme hôtes intermédiaires de *F. hepatica*.

Le tableau I ne répertorie que les travaux mentionnant des résultats positifs sur le terrain ou lors d'infestations expérimentales au laboratoire. Son examen appelle les commentaires suivants:

- Sur les 48 références, des résultats positifs ont été rapportés dans 28 publications. Cinq d'entre elles concernent des limnées infestées naturellement tandis que les 23 autres font état de données obtenues lors d'infestations expérimentales.

- La plupart de ces travaux ont porté sur des *L. palustris* au sens large, les autres espèces y étant incluses. CZAPSKI a seul étudié l'infestation expérimentale de *L. occultus* et *L. turricula*.

- L'infestation naturelle de *L. palustris* au sens large a été constatée dans plusieurs pays, à savoir en France, en Hongrie, en Italie et en Russie. Ce fait est donc un processus général.

- Les infestations expérimentales ont été réalisées dans de nombreux pays. Mais les résultats n'ont été obtenus qu'avec des juvéniles hauts de 2 mm ou moins lors de l'exposition miracidienne.

De cette revue effectuée en 1981, il ressort que *Lymnaea palustris* au sens large intervient comme hôte intermédiaire naturel ou expérimental dans le cycle de *F. hepatica* mais ces résultats sont à revoir car l'identification précise du mollusque était basée le plus souvent sur les clés de détermination utilisées avant 1970.

Comme il existe cinq espèces actuelles en Europe à la place de *L. palustris* (voir pages 4-5), il est donc nécessaire de reprendre des études sur le rôle de ces limnées en analysant chacune d'entre elles séparément.

Références	Espèce du mollusque	Stade de vie lors de l'exposition aux miracidiums	Taux d'infestation
BUSSON, 1981; BUSSON <i>et al.</i> , 1982.	<i>L. palustris</i>	Nouveau-nés	11,6 % (1 ^e population) ^a , 6,8 % (2 ^e population) ^a .
SINDOU, 1989; SINDOU <i>et al.</i> , 1990, 1991.	<i>L. palustris</i>	Nouveau-nés, 1 mm, 2 mm, 3/4 mm.	7,3 % au 30 ^e et 61,3 % au 45 ^e jour. 0 % au 45 ^e jour. 0 % au 45 ^e jour. 0 % au 45 ^e jour.
ALASSONNIERE, 1989; RONDELAUD <i>et al.</i> , 1989.	<i>L. palustris</i>	Nouveau-nés.	9,5 % au 42 ^e jour.
DREYFUSS <i>et al.</i> , 1994.	<i>L. palustris</i>	Non déterminé ^b	0,4 % (1 ^e année), 18,4 % (4 ^e année) ^c .
VAREILLE, 1996.	<i>L. fuscus</i>	Nouveau-nés 1 mm 4 mm	13,6 % au 30 ^e jour. 2,1 % au 30 ^e jour. 0 % au 30 ^e jour.

^a. Pourcentages déterminés lorsque les mollusques meurent après une émission cercarienne.

^b. Les miracidiums de *F. hepatica* ont été introduits expérimentalement dans les habitats naturels du mollusque. Ils ont donc pénétré chez des nouveau-nés, des juvéniles ou des adultes de *L. palustris*.

^c. L'expérience sur déroulée sur 4 années.

Tableau II.

La prévalence de l'infestation fasciolienne chez *L. palustris* et *L. fuscus* d'après les travaux réalisées par les chercheurs limousins.

3. Revue des travaux postérieurs à 1981.

Les données concernant cette limnée et les espèces voisines proviennent des infestations expérimentales que les chercheurs limousins ont réalisées depuis une quinzaine d'années. Ces informations concernent essentiellement des mollusques exposés aux miracidiums lorsqu'ils sont au stade nouveau-né ou encore au stade juvénile. Aussi sont-elles assez incomplètes car nous ne disposons que de quelques résultats relatifs à l'infestation de limnées préadultes (4 mm de hauteur) ou adultes.

Nous avons regroupé, sur le tableau II, les taux d'infestation rapportés par ces auteurs. Nous pouvons constater que:

- la prévalence de l'infestation fasciolienne ne dépasse pas 15 % lorsque les mollusques ont été exposés au stade nouveau-né. Ce pourcentage diminue très rapidement lorsque l'on s'adresse à des limnées de taille supérieure. Ce fait se retrouve aussi bien chez *L. palustris* que chez *L. fuscus*.

- l'introduction expérimentale de miracidiums dans les habitats naturels de *L. palustris* se traduit par une augmentation sensible du taux d'infestation au fur et à mesure des années: de 0,4 % la première année à plus de 18 % lors de la quatrième année. Ce résultat peut s'interpréter par une adaptation du mollusque au parasite ou vice versa selon la démonstration que BORAY (1069) a faite pour une autre limnée, *L. peregra peregra*.

D'après cet exposé, il est logique de penser que *L. fuscus* et *L. palustris* ont le même comportement vis-à-vis de *F. hepatica*. Seuls les nouveau-nés et les juvéniles hauts de 1 mm lors de l'exposition miracidienne sont capables d'assurer le développement larvaire complet du parasite.

Mais cette donnée ne cadre pas entièrement avec la revue de BUSSON (1982) que nous avons colligée dans le tableau I (page 22). Des cas d'infestation naturelle ont été rapportés par plusieurs auteurs chez *L. palustris* et il est logique de penser que ce mollusque est capable d'assurer le développement complet des stades larvaires lorsqu'il est parasité au stade préadulte ou adulte. Cette hypothèse s'appuie sur les résultats positifs que CZAPSKI (1977) obtient lors de l'infestation expérimentale de *L. occultus* et *L. turricula*. Il paraît donc utile de soumettre à nouveau *L. palustris* ou des espèces voisines aux miracidiums de *F. hepatica* dans les conditions du laboratoire afin de vérifier cette hypothèse.

D. LA PRODUCTIVITÉ PARASITAIRE CHEZ CETTE LIMNÉE.

Comme nous l'avons déjà dit dans les pages précédentes, il n'y a pas eu d'étude sur l'infestation expérimentale de *L. fuscus* si l'on excepte le travail de VAREILLE (1996) mais cet auteur n'a déterminé que la prévalence du parasitisme. Nous nous sommes servi des résultats provenant d'une autre limnée, *L. palustris* et ces derniers sont rapportés dans le tableau ci-dessous:

Référence	Modalités	Hauteur moyenne de la coquille	Nombre moyen de cercaires émises (limites).
BUSSON, 1981; BUSSON <i>et al.</i> , 1982.	Nouveau-nés, 3 miracidiums par mollusque, 23° C.	2,9 (colonie A). 4,2 (colonie B).	17,9 (1-164). 35,9 (1-241).
ALASSONNIERE, 1989; RONDELAUD <i>et al.</i> , 1989.	Nouveau-nés, 1 miracidium par limnée, 24° C.	3,6 mm.	31,3 (4-62).

La production cercarienne est faible puisqu'elle ne dépasse pas 40 cercaires en moyenne par limnée infestée. Le nombre de miracidiums ne semble pas avoir d'influence.

D'après BUSSON *et al.*, (1982), RONDELAUD *et al.* (1989), les caractéristiques de l'infestation fasciolienne chez le mollusque hôte sont les mêmes, quelle que soit l'espèce de la limnée, lorsque les individus sont exposés au stade nouveau-né.

III. - QUELQUES DONNÉES SUR LES HABITATS NATURELS DU MOLLUSQUE.

L'identification de *L. fuscus* sur le territoire français est en cours de réalisation et les auteurs ultérieurs trouveront probablement beaucoup de colonies appartenant à cette espèce aux côtés de populations de *L. palustris*.

Nos données sur la première espèce sont assez limitées. C'est la raison pour laquelle nous présentons dans ce paragraphe les informations que l'on dispose actuellement sur trois colonies de *L. fuscus*.

A. CAS DE SALON-DE-PROVENCE.

L'habitat est constitué par un système d'irrigation que VILLEGGER a étudié dans sa thèse (1995). Aussi les informations présentées ci-après proviennent-elles de ce mémoire.

La localisation exacte du site est le Domaine du Merle, à côté de Salon-de-Provence (Bouches-du-Rhône). Comme toutes les fermes de cette zone, l'exploitation agricole possède un réseau d'irrigation qui reçoit l'eau en provenance de la Durance. A l'entrée dans la ferme, le canal d'arrivée se divise en deux branches secondaires et chacune d'entre elles dessert un certain nombre de parcelles séparées par des fossés.

Si les champs ont besoin d'être inondés, un courant d'eau, provenant du canal secondaire, circule dans les fossés pendant plusieurs jours et inonde les terrains. Lorsque le courant est stoppé, on assiste à une décrue progressive de la nappe d'eau sur plus d'une semaine, suivie d'un assèchement progressif des fossés. La durée de ce dernier est d'une ou de deux semaines.

C'est dans ce contexte particulier que vivent les *L. fuscus*¹. Les mollusques vivent surtout dans la partie initiale de chaque fossé, sur une longueur d'une vingtaine de mètres. C'est cette zone qui reste la plus humide au cours de l'assèchement du fossé, car les séparations qui ferment le canal ne sont jamais tout à fait étanches si bien qu'un filet d'eau circule toujours dans cette zone (Planche A).

La population comprend donc un certain nombre de microcolonies à raison d'une par fossé. Chacune d'entre elles a un effectif qui va de quelques individus adultes à plus d'une centaine (d'après les comptages effectués par VILLEGGER en 1994). Les limnées sont plus concentrées sur les premiers mètres du fossé que sur le reste de la longueur.

Cette population est remarquable par sa capacité de résistance à l'assèchement car la station se situe dans le Midi et subit un dessèchement intense pendant les mois d'été. Les limnées ne s'enfouissent pas dans le sédiment et ont leur ouverture plaquée contre le sol, sans épiphragme tandis que le corps est fortement rétracté dans la coquille.

¹ - Cette espèce a été dénommée *L. palustris* par VILLEGGER (1995) dans sa thèse. Le nom de *L. fuscus* a été donné ultérieurement après la dissection de l'appareil génital.



Planche A.

Le station de *L. fuscus* à Salon-de-Provence:

- Vue générale d'un fossé en eau: n° 1.
- Le même fossé en assèchement: n° 2.

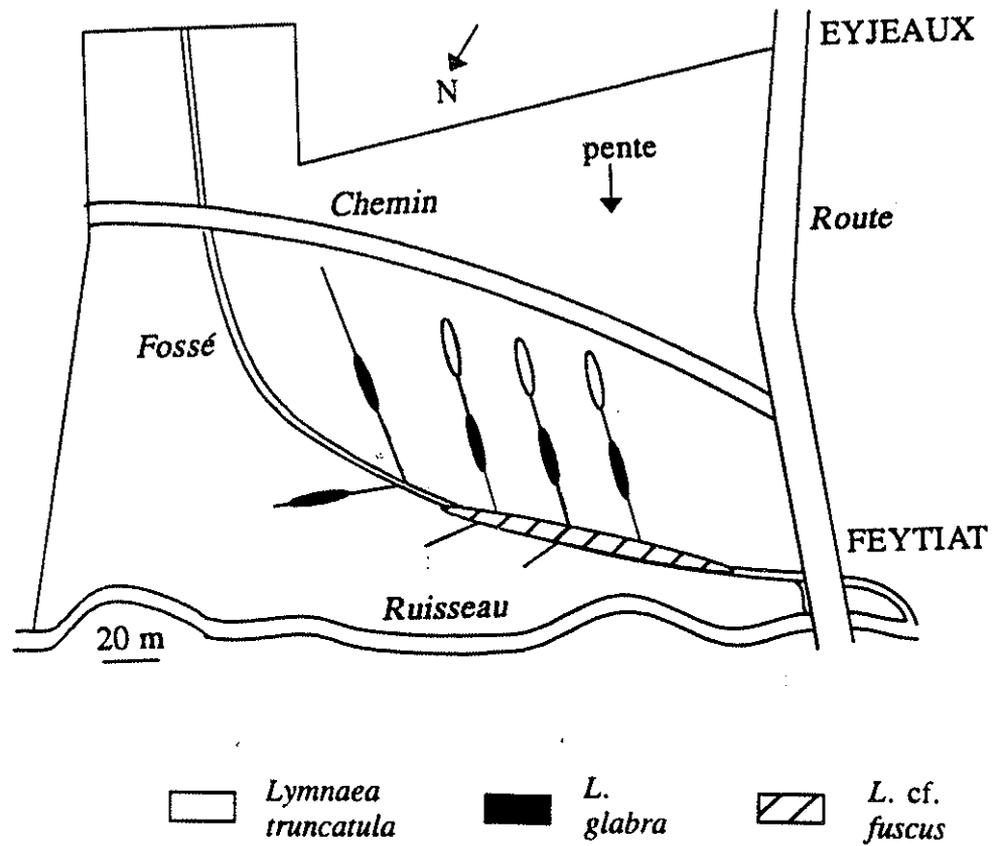


Figure 9.
 La localisation de l'habitat à *L. fuscus*
 en 1974 dans la prairie du Châtenet, commune de Feytiat
 Haute-Vienne (d'après VAREILLE, 1996).

B. CAS DE FEYTIAT (HAUTE-VIENNE).

A l'inverse du site précédent, le second habitat concerne un fossé de drainage superficiel situé dans une prairie marécageuse sur sol siliceux (VAREILLE, 1996). Nous nous sommes inspiré des commentaires de cet auteur pour formuler notre propos.

La station est localisée au Châtenet, commune de Feytiat (Haute-Vienne). Elle longe un ruisseau sur son côté nord. La figure 9 montre une représentation de ce champ. La planche B (page suivante) montre la situation de cette station en 1994.

Les limnées vivaient en 1974 dans la partie la plus basse du fossé², sur 20 m². Ce dernier est large de 50 cm et profond de 50 à 60 cm par endroits. Des rigoles s'ouvrent dans celui-ci si bien que les mollusques se rencontraient parfois dans leur partie initiale.

Le fossé était alimenté pendant 8 mois par de l'eau provenant d'un étang plus haut situé. A partir de juillet, il y avait un assèchement progressif si bien que le sédiment était à nu au 20 juillet et montrait des fentes de rétraction au 15 août. Les premières pluies de septembre maintenaient une certaine humidité et le fossé se remplissait d'eau en octobre ou en novembre selon les années. La durée de cet assèchement variait donc de 2 à 3,5 mois.

En 1994, l'effectif de la colonie s'est accru brutalement car des ragondins avaient envahi la prairie pour s'y nourrir et avaient créé ainsi des couloirs de circulation qui sont restés longtemps en eau. VAREILLE (1996) dénombre 116 limnées dans l'une des rigoles longue de 36 m et retrouve des valeurs voisines dans plusieurs couloirs de circulation. Les limnées avaient même déserté le fossé central pour se répandre dans les rigoles ou les couloirs afin de s'alimenter aux dépens des crottes laissés par les Mammifères.

Des observations répétées au cours des mois d'hiver ont montré l'absence de limnées dans le fossé et les rigoles, ce qui suggère que cette population serait capable de s'enfouir dans le sédiment pendant la mauvaise saison. En été, par contre, les mollusques se fixaient sur le collet des plantes ou sur le sédiment asséché et restaient ainsi pendant l'absence de l'eau mais ils étaient protégés des rayons directs du soleil par la présence d'une cariçaie qui recouvrait le site et permettait ainsi le maintien d'une certaine humidité.

² - A la suite d'un changement d'exploitant, cette prairie a été transformée en étang provisoire si bien que les limnées ont disparu de la station.



Planche B.
La station de *L. fuscus* à Feytiat (Haute-Vienne)
avant sa transformation en étang en 1996.

C. CAS DE SAINT-OURS (PUY-DE-DÔME).

Ce site a été découvert récemment au cours d'une prospection que nous avons faite dans le Massif Central. Il se situe dans la commune de Saint-Ours, département du Puy-de-Dôme et son altitude est de 750 m.

L'habitat de *L. fuscus* correspond à une mouillère localisée dans une prairie marécageuse à la sortie est du bourg, le long de la route D 941. Ce gîte est situé au pied d'un mur et reçoit l'eau de ruissellement en provenance des pentes voisines. S'étendant sur 25 mètres carrés, cette mouillère se prolonge par un fossé d'écoulement, long de 20 mètres environ, lequel rejoint une rigole passant sous la route. Deux photographies de cette station sont présentées sur la planche C (page suivante).

Le fond de la mouillère est nu tandis que ses bords sont envahis par des joncs denses (*Juncus* sp.). Le site est surplombé par des arbres, ce qui limite l'évaporation en période estivale. De l'eau est présente depuis la mi-septembre jusqu'à la mi-juillet; pendant les mois d'été, le sédiment conserve une certaine humidité, d'où le nombre réduit de fentes de rétraction.

L'effectif des *L. fuscus* dans la mouillère est d'une centaine d'individus. Ces derniers sont absents du fossé mais on en retrouve une quinzaine au début de la rigole, juste avant la buse passant sous la route. Dans la partie distale du fossé et dans la rigole, on note aussi la présence d'une population de *L. truncatula*, forte d'une trentaine d'individus.

IV. - COMMENTAIRES.

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

- *L. fuscus* est une espèce proche de *L. palustris* mais à l'inverse de celle-ci, sa distribution en France, ses habitats et les grands traits de sa biologie ne sont pas encore précisés.

- Si cette espèce est capable d'assurer le développement larvaire de *F. hepatica* lorsqu'elle est soumise aux miracidiums dans ses premiers jours de vie, en revanche on ignore si des animaux plus âgés peuvent avoir le même rôle. Ce point est d'un certain intérêt car cette limnée peut vivre dans les mêmes habitats que *L. truncatula*.



Planche C.

Le gîte de *L. fuscus* à Saint-Ours, Puy-de-Dôme.

- Vue générale du site depuis la route D 941.

- Détail de la mouillère en période estivale.

Les animaux sont alors localisés parmi les joncs.

La revue de la littérature montre l'existence de nombreuses lacunes dans nos connaissances sur cette limnée. Il n'est pas question dans ce mémoire de faire une monographie complète sur les *L. fuscus* françaises. Aussi nous sommes-nous limité aux deux points qui nous ont semblé les plus intéressants:

- Le premier d'entre eux concerne la distribution de cette espèce dans notre région. Si FALKNER (1995) affirme que les populations de *L. fuscus* sont aussi répandues que celles de *L. palustris*, voire plus sur le territoire français, par contre aucun autre auteur, à l'exception de VAREILLE (1996), n'a recensé cette espèce localement. Il nous paraît donc indispensable de procéder à une cartographie situant les gîtes de cette espèce sur le territoire français.

- Le deuxième point se rapporte à l'infestation fasciolienne des animaux. Il est utile de préciser les capacités vectorielles de cette limnée en soumettant des individus juvéniles ou préadultes à des infestations monospécifiques (avec *F. hepatica*) ou doubles (avec un autre Trématode, *Paramphistomum daubneyi*).

Nous nous proposons de répondre partiellement à ces deux points en soumettant des *L. fuscus* à des infestations expérimentales dans les conditions du laboratoire. Les résultats correspondants sont détaillés dans le chapitre troisième de ce mémoire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le but de ce chapitre est de définir les conditions dans lesquelles nos expérimentations ont été réalisées. Comme ces modalités sont communes aux étudiants qui font des infestations expérimentales de mollusques par *F. hepatica*, la rédaction de ces paragraphes est basée en grande partie sur le protocole d'étude et la méthodologie utilisés dans le laboratoire d'accueil.

Le premier temps de cet exposé traite du matériel animal, à savoir les mollusques et les Trématodes. Les deux subdivisions suivantes sont consacrées au protocole d'étude et aux techniques utilisées. Enfin, les paramètres et les tests statistiques sont précisés dans les deux derniers paragraphes.

I. - MATÉRIEL ANIMAL.

A. LES LIMNÉES.

Le tableau III indique les coordonnées géographiques et la nature des habitats pour les quatre populations que nous avons utilisées. Les trois premières colonies ne comportent que des *L. fuscus* et la dernière contient des *L. palustris* (à titre de comparaison).

L'identification de ces espèces a été réalisée en 1996 pour chaque population en disséquant des limnées adultes et en identifiant l'espèce (*L. fuscus* ou *L. palustris*) sur les caractéristiques de l'appareil génital (GLÖER et MEIER-BROOK, 1994).

<i>Lymnaea</i>	Coordonnées géographiques	Localisation précise	Observations
<i>fuscus</i>	Le Châtenet, commune de Feytiat (Haute-Vienne).	Partie inférieure d'un fossé de drainage dans une prairie marécageuse le long de la route D 98.	Située sur silice. Site transformé en étang depuis octobre 1996.
<i>fuscus</i>	Domaine du Merle, commune de Salon-de-Provence (Bouches-du-Rhône).	Réseau d'irrigation, au niveau des branches de subdivision à partir du canal central.	Station située sur terrain calcaire.
<i>fuscus</i>	Bourg de Saint-Ours (Puy-de-Dôme).	Mouillère permanente située dans une prairie à la sortie du bourg (vers Clermont-Ferrand), le long de la route D 941.	Station située sur silice.
<i>palustris</i>	"Fosse aux Poissons Rouges", commune de Thenay (Indre).	A côté de la ferme des Marots, sur une route rejoignant la D 106.	Mare avec végétation, située sur terrain sédimentaire.

Tableau III.
Les coordonnées géographiques des quatre stations à l'origine de notre étude.

La nature des habitats est très variable. Les *L. fuscus* sont originaires de deux prairies marécageuses situées sur silice (Feytiat, Saint-Ours) ou de rigoles d'irrigation sur sol calcaire (Salon-de-Provence). Quant aux *L. palustris*, elles proviennent d'une mare sur terrain sédimentaire. L'altitude est, de même, variable: de 100 à 752 m.

Des limnées adultes ont été prélevées en juin 1994 dans la station de Salon-de-Provence, en juin 1996 dans celle de Feytiat et en septembre 1996 dans les deux autres sites. Des élevages dans des aquariums standard ont été constitués depuis ces dates dans les conditions du laboratoire. Les pontes fournies par ces limnées sont à l'origine des juvéniles hauts de 1, 2, 3 et 4 mm utilisés pour ces expériences.

Des individus de 4 mm de hauteur ont, d'autre part, été récoltés dans la station de Saint-Ours en septembre 1996, en avril et en mai 1997. Ils ont été soumis à une période d'acclimatation de 4 jours à la température du laboratoire (20° C) avant d'être soumis aux miracidiums.

B. LES OEUFs DE TRÉMATODES.

Ceux de *F. hepatica* ont été récoltés dans la vésicule biliaire de bovins présentant une infestation parasitaire importante. Les animaux sont originaires des cantons de Nexon et Pierre-Buffière, dans le département de la Haute-Vienne. Les foies sont saisis pour distomatose et les vésicules biliaires sont alors incisées afin de recueillir la bile.

Les oeufs de *Paramphistomum daubneyi* sont pondus *in vitro* par des parasites adultes prélevés dans la panse de ces mêmes bovins. Les animaux sont placés dans une solution physiologique (chlorure de sodium, 0,8 %; glucose, 0,45 %) et placés à 40° C pendant 4 heures. Le liquide est ensuite recueilli afin de récupérer les oeufs.

La bile ou le liquide physiologique sont dilués par moitié avec de l'eau du robinet. Comme les oeufs sont plus denses que le reste, l'opération est répétée toutes les 10 minutes jusqu'à l'obtention d'un sédiment propre. Les oeufs sont ensuite filtrés sur deux tamis métalliques (grandeur de mailles, 75 et 38 μ m) et placés dans de petits récipients dans de l'eau (épaisseur, 1 cm) avant d'être clos par du Parafilm et entourés de papier aluminium.

Les oeufs de *F. hepatica* ou de *P. daubneyi* sont placés à l'obscurité totale, pendant 20 jours à 20° C selon les données d'OLLERENSHAW (1971) et de SEY (1979).

Population étudiée	Hauteur du mollusque au départ.	Nombre de miracidiums par limnée (1 seule exposition)	Nombre de limnées au départ
Feytiat (<i>L. fuscus</i>).	1 mm,	2 miracidiums (<i>F. hepatica</i>).	100
	2 mm,		100
	3 mm,		100
	4 mm.		
Salon-de-Provence (<i>L. fuscus</i>).	1 mm.	1 miracidium (<i>F. hepatica</i>).	100
	2 mm,		100
	3 mm,		100
	4 mm.		100
Saint-Ours (<i>L. fuscus</i>).	1 mm,	2 miracidiums (<i>F. hepatica</i>).	100
	2 mm,		100
	3 mm,		100
	4 mm.		100
Thenay (<i>L. palustris</i>).	1 mm,	2 miracidiums (<i>F. hepatica</i>).	100
	2 mm,		100
	3 mm,		100
	4 mm.		100

Tableau IV.
 Les caractéristiques des séries expérimentales
 réalisées avec les mollusques des quatre populations.
 Ces juvéniles sont tous nés au laboratoire.
 Température de l'élevage: 20° C.

II. - PROTOCOLE D'ÉTUDE.

A. LA SENSIBILITÉ DES QUATRE POPULATIONS DE LIMNÉES À L'INFESTATION PARASITAIRE.

Des juvéniles issus des quatre colonies ont été soumis aux miracidiums de *F. hepatica* afin de déterminer la période de vie où le mollusque peut assurer le développement larvaire du Trématode. Le tableau IV indique les tailles de *L. fuscus* (ou de *L. palustris*), le nombre de miracidiums pour chaque limnée et l'effectif des mollusques au départ de l'expérience.

Comme il est difficile de préciser l'âge des limnées, nous avons utilisé la hauteur de la coquille. Les relations entre ces deux variables ont été déterminées au préalable pour la population de Feytiat comme l'indique le tableau ci-dessous:

Hauteur de la coquille	Age du mollusque selon la population
1 mm,	1 à 3 jours.
2 mm,	3 à 6 jours.
3 mm,	6 à 12 jours.
4 mm.	13 à 20 jours.

Les juvéniles sont tous nés au laboratoire à partir des adultes récoltés sur le terrain et sont donc vierges d'infestation parasitaire.

Les survivants des différents groupes sont disséqués au 35^e jour, sous loupe binoculaire afin de rechercher des formes larvaires vivantes et déterminer, par suite, la prévalence de l'infestation parasitaire.

B. LES CARACTÉRISTIQUES DES ÉMISSIONS CERCARIENNES CHEZ LES *L. fuscus* DE SAINT-OURS.

Cette étude n'a été réalisée que pour une seule population de *L. fuscus*, à savoir celle de Saint-Ours. Le but de cette expérience est d'analyser les caractéristiques de l'infestation et de suivre les émissions cercariennes du Trématode.

Le tableau V (page suivante) précise le nombre de mollusques par série et le nombre de miracidiums utilisés pour chaque limnée.

Hauteur du mollusque lors de l'exposition	Nombre de miracidiums par limnée	Nombre de mollusques au départ
1 mm	0 (Témoins)	100
	2	100
2 mm	0 (Témoins)	100
	2	100

Tableau V.

Les séries témoins et expérimentales réalisées pour étudier les caractéristiques de l'infestation fasciolienne chez les limnées de Saint-Ours.

Ces juvéniles sont tous nés au laboratoire. Température de l'élevage: 20° C.

Hauteur du mollusque au départ.	Nombre d'expositions par mollusque*	Nombre de miracidiums par exposition	Nombre de limnées au départ
1 mm	0 (Témoins)	0	100
	1	1	100
	2	1	100
	3	1	100
4 mm	0 (Témoins)	0	50
	1	1	100
		2	2
	2	1	100
		2	100
	3	1	100
2		100	

* Il y a un intervalle de 4 h entre deux expositions.

Tableau VI.

Les caractéristiques des séries expérimentales réalisées avec les limnées de Saint-Ours. Les juvéniles sont tous nés au laboratoire.

Température de l'élevage: 20° C.

Chaque série témoin ou expérimentale comprend 100 individus au départ de l'expérience. Les mollusques sont élevés à 20° C pendant 35 jours selon les conditions générales du laboratoire (définies plus loin).

Au 35^e jour, les survivants sont isolés dans des boîtes de Pétri (diamètre, 35 mm) avec de l'eau et un fragment de salade. Ces récipients sont placés dans la même salle climatisée que les aquariums. La surveillance s'effectue chaque jour jusqu'à la mort du mollusque pour décompter les métacercaires de *F. hepatica*.

C. LES INFESTATIONS RÉPÉTITIVES DE *L. fuscus* AVEC *F. hepatica*.

Il était intéressant de déterminer si des expositions répétitives aux miracidiums pouvaient se traduire par une augmentation de l'infestation fasciolienne chez *L. fuscus*. Cette expérience n'a été réalisée qu'avec les limnées de Saint-Ours.

Le tableau VI précise les caractéristiques des séries expérimentales. Nous y avons indiqué la hauteur des mollusques au départ de l'expérience, le nombre d'expositions pour chaque limnée (de 1 à 3), le nombre de miracidiums par exposition (1 ou 2) et l'effectif de *L. fuscus* dans chaque série. Des témoins ont été constitués pour les juvéniles de 1 mm de hauteur comme pour ceux de 4 mm.

Les survivants sont disséqués au 35^e jour d'expérience afin de déterminer la prévalence de l'infestation.

D. LES INFESTATIONS CROISÉES DE *L. fuscus*.

Deux séries ont été constituées avec des mollusques prélevés à Saint-Ours (hauteur, 4 mm). Les 100 limnées du premier groupe ont été soumises chacune à un miracidium de *P. daubneyi*, puis à un miracidium de *F. hepatica* 4 heures plus tard. Le choix de cette séquence repose sur les données d'AUGOT *et al.* (1996): selon ces auteurs, les limnées exposées aux deux miracidiums (un de chaque Trématode) selon cet ordre s'infestent plus que des animaux soumis à deux larves de la même espèce.

Les 100 mollusques de l'autre série servent de témoins. Ils ont été exposés chacun à deux miracidiums de *F. hepatica* selon le même protocole.

Etapes.	Description.	Observations.
Préparation de l'aquarium.	Le récipient est rempli d'eau (provenant de la station d'origine) sur les 4/5 ^e de sa hauteur. Le fond comporte une pierre calcaire. L'eau est oxygénée en permanence. Une vitre recouvre l'ensemble afin d'empêcher les fuites éventuelles.	L'aquarium est préparé 24 h avant l'introduction des mollusques (à raison de 5 par litre d'eau).
Salle climatisée.	Air conditionné aux conditions suivantes: 20° C, 12 h diurnes d'éclairage, 3.000 lux.	Les aquariums sont disposés en batterie sur des modules spécialisés.
Nourriture.	Feuilles de laitue.	Renouvellement chaque semaine.
Conditions de maintenance.	Maintien du niveau par un apport bihebdomadaire. Changement total de l'eau au 21 ^e jour, puis toutes les semaines.	Les restes de salade sont systématiquement éliminés lors de chaque changement.
Nettoyage terminal.	Les aquariums et les vitres sont autoclavés. Les pierres subissent une dessiccation à 110° C pendant 4 heures.	

Tableau VII.
La technique d'élevage des *L. fuscus*
dans les conditions du laboratoire.

Les survivants de chaque série sont disséqués au 35^e jour d'expérience, sous une loupe binoculaire afin d'y rechercher les formes larvaires de *F. hepatica* ou celles de *P. daubneyi* (infestations doubles seulement). Les rédies du premier Trématode se reconnaissent à leur pharynx, leur collier et leurs appendices tandis que les cercaires sont blanches. Dans le cas du second parasite, les rédies sont plus courtes et ont un petit pharynx globuleux; les cercaires ont un pigment noirâtre dans la région antérieure de leur corps.

III. - TECHNIQUES UTILISÉES.

A. L'ÉLEVAGE DES LIMNÉES.

Le tableau VII récapitule les conditions dans lesquelles les limnées ont été élevées.

Les animaux sont placés dans des aquariums en circuit fermé à raison de 5 par litre d'eau. Une vitre recouvre l'ensemble afin d'éviter les fuites intempestives de mollusques lorsqu'ils s'émergent. L'eau est oxygénée en permanence. Les animaux sont nourris avec de la laitue en suffisance.

Les aquariums sont placés dans une salle climatisée répondant aux conditions suivantes: température constante de 20° C, éclairage de 12 heures diurnes.

L'eau dans les récipients est changée au 21^e jour, puis toutes les semaines.

B. L'EXPOSITION AUX MIRACIDIUMS.

Elle se déroule dans une boîte de Pétri de 35 mm de diamètre. Celle-ci contient la limnée avec 2 ou 3 mL d'eau provenant de la station d'origine.

On prélève le (ou les) miracidium(s) avec une pipette Pasteur reliée à une poire. Ce dispositif permet de prendre sélectivement le nombre de larves que l'on souhaite. Les miracidiums sont rejetés dans la boîte de Pétri. Le mollusque et ses parasites sont laissés en présence pendant 4 heures. Au cours de ce laps de temps, une surveillance est assurée toutes les 10 minutes pour remettre dans l'eau les mollusques qui s'émergent. En effet, les tentatives de pénétration des miracidiums agressent la limnée qui sort de l'eau pour échapper à ses parasites.

Au terme des 4 heures, les mollusques sont replacés dans leur aquarium.

Étude.	Paramètres.	Observations.
Mollusques disséqués au 35 ^e jour.	<ul style="list-style-type: none"> - Taux de survie au 35^e jour. - Prévalence globale des mollusques avec des formes larvaires. - Accroissement de la hauteur au cours des 35 jours. 	<p style="text-align: center;">-</p> <p style="text-align: center;">La prévalence globale est calculée par rapport aux survivants du 35^e jour.</p> <p style="text-align: center;">-</p>
Emissions cercariennes.	<ul style="list-style-type: none"> - Taux de survie au 35^e jour. - Prévalence de l'infestation fasciolienne (limnées avec émission). - Accroissement de la hauteur pendant les 60 premiers jours. 	<p style="text-align: center;">La prévalence de l'infestation est calculée par rapport au nombre de survivants au 35^e jour.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> - Début de la période des émissions. - Durée totale des émissions. - Nombre de métacercaires par limnée. 	<p style="text-align: center;">-</p>

Tableau VIII.
Les paramètres étudiés dans le cadre de nos expériences.

C. SACRIFICE DES LIMNÉES.

Chaque mollusque est disséqué sous la loupe binoculaire dans de l'eau du robinet (teneur en ions calcium dissous, 30 mg par litre d'eau). Il est écrasé à l'aide de deux pinces et la glande digestive est dilacérée. Les larves présentes sortent alors facilement et on peut donc les dénombrer sans difficulté en tenant compte de chaque espèce (*F. hepatica*, *P. daubneyi*).

D. SUIVI DES ÉMISSIONS CERCARIENNES.

Les mollusques sont isolés dans des boîtes de Pétri (diamètre, 35 mm) avec de l'eau et de la salade. Les récipients sont disposés dans une salle climatisée avec les conditions suivantes: température de 20° C, éclairage de 3.000 lux pendant 12 heures diurnes.

Une surveillance est exercée tous les jours entre 14 et 16 heures pour dénombrer et enlever les métacercaires présentes, changer le milieu par de l'eau fraîche (18° C) et le fragment de laitue éventuellement. Cette maintenance se poursuit jusqu'à la mort de l'animal.

IV. - PARAMÈTRES ÉTUDIÉS.

Ils sont indiqués sur le tableau VIII.

Le taux de survie au 35^e jour est calculé en rapportant le nombre des survivants à l'effectif des mollusques présents lors de l'exposition miracidienne.

La prévalence de l'infestation a été déterminée sur les mollusques contenant des formes larvaires d'un Trématode donné. Elle a été évaluée par rapport au nombre de survivants au 35^e jour.

La croissance per-expérimentale du mollusque correspond à la différence entre la hauteur au départ de l'expérience et la taille mesurée au 35^e jour (première expérience) ou au 60^e jour (deuxième essai). La hauteur de la coquille est mesurée sous la loupe binoculaire, en utilisant un papier millimétré.

Les autres paramètres sont au nombre de trois. Il s'agit du temps entre l'infestation et la première émission cercarienne, de la durée des émissions et du nombre total de métacercaires (de *F. hepatica*).

Expérience	Facteur étudié	Test statistique utilisé.
La sensibilité des populations à l'infestation fasciolienne.	Taux de survie au 35 ^e jour. Prévalence de l'infestation.	Intervalles de confiance avec une probabilité de 95 %.
	Accroissement de taille au cours de l'expérience.	Analyse de variance à un seul facteur.
Les émissions cercariennes de <i>F. hepatica</i> .	Taux de survie au 35 ^e jour. Prévalence de l'infestation.	Intervalles de confiance avec une probabilité de 95 %. Test de corrélation.
	Autres paramètres.	Test de corrélation. Analyse de variance à un seul facteur.
Infestations répétitives avec <i>F. hepatica</i> .	Taux de survie au 35 ^e jour. Prévalence de l'infestation.	Intervalles de confiance avec une probabilité de 95 %. Régressions linéaires multiple et simple (taux de survie).
Infestations doubles.	Taux de survie au 35 ^e jour. Prévalence de l'infestation.	Les tests n'ont pas été appliqués en raison des résultats négatifs.

Tableau IX.
Les tests statistiques utilisés en fonction des expériences et des facteurs étudiés.

V. - TESTS STATISTIQUES.

Les taux de survie au 35^e jour et les prévalences sont présentés avec un intervalle de confiance calculé avec une probabilité de 95 %.

Les valeurs individuelles recueillies pour les autres paramètres ont été ramenées à une moyenne, encadrée d'un écart type en tenant compte du groupe de mollusques, de l'espèce du Trématode présente et de la nature de la variable.

Le tableau IX indique les tests en fonction du facteur étudié dans le cadre de ce travail. Ces méthodes sont classiques (STAT-ITCF, 1988; DAGNELIE, 1994) et permettent de préciser la signification statistique des différences entre les fréquences ou les moyennes. Selon les résultats, le risque d'erreur est présenté avec un seuil de 5 %, de 1 % ou de 0,1 %.

RESULTATS

Quatre expériences ont été effectuées en soumettant les juvéniles des quatre populations aux miracidiums de *F. hepatica*. Le présent chapitre expose les résultats obtenus.

Le plan suivi tient compte de ces essais et consacre un paragraphe à chaque expérience. Le premier d'entre eux étudie la sensibilité de ces colonies à l'infestation fasciolienne. La deuxième subdivision traite des émissions cercariennes chez les jeunes *L. fuscus* tandis que les deux derniers temps de cet exposé rapportent les résultats fournis par les infestations répétitives et doubles de la limnée.

I. - LA SENSIBILITÉ DE *L. fuscus* ET DE *L. palustris* À L'INFESTATION FASCIOLIENNE.

A. TAUX DE SURVIE AU 35^e JOUR.

Les valeurs sont fournies sur le tableau X (page suivante).

Le taux se situe entre 52 et 67 % chez les jeunes *L. fuscus* hautes de 1 mm au départ de l'expérience. Cette fréquence s'accroît lorsque la taille du mollusque à l'exposition augmente. A Saint-Ours, elle passe ainsi de 64 % dans la série 1 mm à 87 % dans le lot 4 mm.

Les mêmes remarques peuvent être formulées pour la colonie de *L. palustris* où l'on note un taux de 71 % dans la série 1 mm et de 87 % chez les juvéniles hauts de 4 mm.

Population étudiée et taille du mollusque à l'exposition	Nombre de mollusques			Taux de survie au 35 ^e jour (± IC 95)	Prévalence de l'infestation (± IC 95)
	au départ	au 35 ^e jour	avec des formes larvaires		
Feytiat (<i>L. fuscus</i>):					
1 mm,	100	67	31	67 ± 9,2 %	46,2 ± 11,9 %
2 mm,	100	78	11	78 ± 8,1 %	14,1 ± 7,7 %
3 mm,	100	89	0	89 ± 6,1 %	0 %
4 mm.	100	94	0	94 ± 4,6 %	0 %
Salon-de-Provence (<i>L. fuscus</i>):					
1 mm,	100	52	17	52 ± 9,7 %	32,6 ± 12,7 %
2 mm,	100	61	6	61 ± 9,5 %	9,8 ± 7,4 %
3 mm,	100	73	0	73 ± 8,7 %	0 %
4 mm.	100	80	0	80 ± 7,8 %	0 %
Saint-Ours (<i>L. fuscus</i>):					
1 mm,	100	64	13	64 ± 9,4 %	20,3 ± 9,8 %
2 mm,	100	69	5	69 ± 9,0 %	7,2 ± 6,6 %
3 mm,	100	78	0	78 ± 8,1 %	0 %
4 mm.	100	87	0	87 ± 6,5 %	0 %
Thenay (<i>L. palustris</i>):					
1 mm,	100	71	19	71 ± 8,8 %	26,7 ± 10,2 %
2 mm,	100	74	4	74 ± 8,6 %	5,4 ± 5,1 %
3 mm,	100	79	0	79 ± 7,9 %	0 %
4 mm.	100	87	0	87 ± 6,5 %	0 %

Tableau X.
Les taux de survie et d'infestation enregistrés
au 35^e jour dans le cadre de la première expérience.
IC 95 (intervalle de confiance avec une probabilité de 95 %).

Des différences significatives existent entre les taux des séries 1 et 4 mm pour chaque colonie prise isolément.

B. PRÉVALENCE DE L'INFESTATION FASCIOLIENNE AU 35^e JOUR.

Elle présente des variations en fonction de la population étudiée (tableau X). Si l'on considère les séries 1 mm de *L. fuscus*, on note une prévalence minimale de 20,3 % dans la colonie de Saint-Ours alors qu'elle est maximale (avec 46,2 %) dans celle de Feytiat. Dans la série 1 mm de *L. palustris*, la prévalence au 35^e jour est de 26,7 %.

Ce taux diminue chez les juvéniles hauts de 2 mm (de 5,4 à 14,1 % selon la colonie) et devient nulle pour les tailles supérieures. Dans chaque population, on note une différence significative entre le pourcentage trouvé dans la série 1 mm et celui de la série 2 mm.

B. CROISSANCE DES MOLLUSQUES INFESTÉS AU COURS DE L'EXPÉRIENCE.

Elle correspond à la différence entre la hauteur de la limnée lors de l'exposition et celle mesurée au 35^e jour avant la dissection du mollusque. Les données concernent les limnées contenant des formes larvaires. Elles sont illustrées sur la figure 10.

Chez *L. fuscus*, la croissance de la coquille se situe entre 3,1 et 3,7 mm dans la série 1 mm, entre 3,9 et 4,5 mm dans la série 2 mm. Chez *L. palustris*, les valeurs sont de 3,4 mm dans la série 1 mm, de 4 mm dans celle des 2 mm.

Les données ont été comparées par l'analyse de variance à un seul facteur:

Facteur étudié	Modalités de la comparaison	Nombre de degrés de liberté	Valeur du rapport <i>F</i>	Signification
Population.	<i>L. fuscus</i> de 1 mm.	2/58	0,61	NS
	<i>L. fuscus</i> de 2 mm.	2/20	0,46	NS
	<i>L. fuscus-L. palustris</i> 1 mm.	3/76	0,65	NS
	<i>L. fuscus-L. palustris</i> 2 mm.	3/22	0,53	NS
Taille de la limnée à l'exposition.	Feytiat (<i>L. fuscus</i>).	1/40	3,71	NS
	Salon-de-Provence (<i>L. fuscus</i>).	1/21	1,66	NS
	Saint-Ours (<i>L. fuscus</i>).	1/16	2,46	NS
	Thenay (<i>L. palustris</i>).	1/21	1,56	NS

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

Paramètre	Hauteur des juvéniles au départ de l'expérience	
	1 mm	2 mm
Nombre d'individus: - au départ. - au 35 ^e jour. - avec émission.	100 66 18	100 71 7
Taux de survie au 35 ^e jour \pm IC 95.	66 \pm 9,2 %	71 \pm 8,8 %
Prévalence de l'infestation \pm IC 95.	27,2 \pm 10,7 %	9,8 \pm 6,9 %
Croissance de la coquille jusqu'au 60 ^e jour (m \pm σ): - Témoins. - Limnées avec émission.	4,0 \pm 1,0 mm. 2,9 \pm 0,7 mm.	5,2 \pm 0,8 mm. 3,7 \pm 0,9 mm.
Temps entre l'infestation et la première émission cercarienne: m \pm σ .	49 \pm 10,5 jours.	45,3 \pm 8,3 jours.
Durée de la période d'émission: m \pm σ .	7,3 \pm 3,7 jours.	10,3 \pm 4,1 jours.
Nombre total de méta- cercaires par limnée: m \pm σ	21,4 \pm 11,7.	46,3 \pm 28,3.
Nombre de limnées avec: - 1 vague d'émission. - 2 vagues. - plus de deux vagues.	11 4 3	5 1 1

Tableau XI.

Les principales caractéristiques de l'infestation fasciolienne chez les deux séries de *L. fuscus* provenant de Saint-Ours. Abréviations: IC 95 (intervalle de confiance avec une probabilité de 95 %). m (valeur moyenne). σ (écart type).

L'examen de ces résultats montre que le facteur population n'a pas d'effet significatif sur la croissance des mollusques infestés au cours des 35 jours de l'expérience. Il en est de même pour le facteur taille du mollusque au départ de l'expérience.

II. - LES CARACTÉRISTIQUES DE L'INFESTATION PARASITAIRE CHEZ LES *L. fuscus* DE SAINT-OURS.

Les résultats sont fournis sur le tableau XI.

Le taux de survie au 35^e jour de l'expérience est respectivement de 66 % et de 71 % dans les deux séries 1 et 2 mm. La comparaison des intervalles de confiance ne montre pas de différence significative entre les pourcentages.

Par contre, la prévalence de l'infestation parasitaire est maximale dans la série 1 mm (à 27,2 %) et nettement plus faible dans l'autre groupe (9,8 %). Une différence significative existe entre ces deux pourcentages.

La croissance de la coquille au cours de l'expérience est plus élevée chez les témoins que chez les limnées avec émission (4 et 5,2 mm au lieu de 2,9 à 3,7 mm). Les moyennes ont été comparées par l'analyse de variance à un seul facteur. Des différences significatives s'observent dans deux cas comme le montre le tableau ci-dessous:

Modalités de la comparaison	Nombre de degrés de liberté	Valeur du rapport <i>F</i>	Signification
Entre les témoins et les limnées avec émission:			
- 1 mm.	1/116	3,23	NS
- 2 mm.	1/105	7,51	$P < 1 \%$
Entre les séries 1 et 2 mm:			
- Témoins.	1/198	4,37	$P < 5 \%$
- Limnées avec émission.	1/23	1,92	NS

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

La période entre l'exposition et la première émission dure 45 ou 49 jours à 20° C et il n'y a pas de différence significative entre les moyennes ($F = 0,39$). Celle des émissions

Série.	Nombre de mollusques			Taux de survie au 35 ^e jour (± IC 95)	Prévalence de l'infestation (± IC 95)
	au départ	au 35 ^e jour	avec des formes larvaires		
Séries 1 mm:					
- Témoins.	100	99	0	99 ± 1,9 %	0 %
- Une exposition.	100	66	17	66 ± 9,2 %	25,7 ± 10,5 %
- Deux expositions.	100	51	8	51 ± 9,8 %	15,6 ± 9,9 %
- Trois expositions.	100	38	1	38 ± 9,5 %	2,6 ± 5,0 %
Séries 4 mm:					
- Témoins.	100	100	0	100 %	0 %
Une exposition:					
- 1 miracidium.	100	87	0	87 ± 6,5 %	0 %
- 2 miracidiums.	100	76	0	76 ± 8,3 %	0 %
Deux expositions:					
- 1 miracidium.	100	64	0	64 ± 9,4 %	0 %
- 2 miracidiums.	100	51	0	51 ± 9,8 %	0 %
Trois expositions:					
- 1 miracidium.	100	47	0	47 ± 9,7 %	0 %
- 2 miracidiums.	100	31	0	31 ± 9,0 %	0 %

Tableau XII.

Les taux de survie et d'infestation enregistrés
dans le cas des infestations répétitives
de *L. fuscus* (population de Saint-Ours) par *F. hepatica*.
Les mollusques ont été disséqués au 35^e jour.
Abréviations: IC 95 (intervalle de confiance avec
une probabilité de 95 %). mir. (miracidiums).

est nettement plus réduite en durée: 7 ou 10 jours et aucune différence significative n'a été relevée ($F = 1,20$).

Le nombre total des métacercaires est de 21,4 en moyenne dans la série 1 mm, de 46,3 dans celle des 2 mm mais la différence entre les moyennes n'est pas significative ($F = 3,63$). La plupart des mollusques ont fourni leurs parasites en une seule vague d'émission (16 sur 25 individus).

III. - LES INFESTATIONS RÉPÉTITIVES DE *L. fuscus* AVEC *F. hepatica*.

Ces essais ont été réalisés avec des juvéniles de 1 et 4 mm de hauteur. Ces animaux ont été soumis à 1, 2 ou 3 expositions mono- ou bimiracidiennes individuelles.

Le tableau XII regroupe les résultats fournis par ces infestations répétitives de *L. fuscus*.

A. TAUX DE SURVIE AU 35^e JOUR.

Il diminue lorsque le nombre d'expositions et/ou le nombre de miracidiums par contact augmentent. Il est ainsi de 66 % chez les juvéniles de 1 mm de hauteur, exposés une fois aux miracidiums (1 par limnée) et diminue jusqu'à 38 % chez les mêmes mollusques exposés 3 fois au parasite.

Les chiffres obtenus dans les séries 4 mm ont été soumis à une régression linéaire multiple afin de vérifier si les deux paramètres précités (nombre d'expositions, nombre de miracidiums) ont une influence directe sur le taux de survie au 35^e jour. Les résultats de ce test montrent qu'on peut modéliser l'évolution de la croissance en fonction du nombre d'expositions et de l'effectif des miracidiums utilisés selon l'équation suivante:

$$\text{Survie} = a \cdot (\text{nombre d'expositions}) + b \cdot (\text{nombre de miracidiums}) + c.$$

avec: $a = -7,38 \pm 3,80$. NS.
 $b = -18,27 \pm 2,58$. $P < 1\%$.
 $c = 105,95 \pm 5,16$. $P < 0,1\%$.

Coefficient de corrélation $r = 0,97$ ($P < 0,1\%$). Ecart type résiduel $s = 6,05$.
Rapport F de Fisher = 35,71.

Paramètres	1 mir. (<i>P. daubneyi</i>) + 1 mir. (<i>F. hepatica</i>).	1 mir. (<i>F. hepatica</i>) + 1 mir. (<i>F. hepatica</i>).
Nombre de limnées: - au départ. - au 35 ^e jour. - infestées.	100 55 1	100 78 0
Taux de survie au 35 ^e jour \pm IC 95.	55 \pm 9,7 %	78 \pm 8,1 %
Nombre de limnées avec: - <i>F. hepatica</i> . - <i>P. daubneyi</i> . - les deux.	0 1 0	0 0 0

Tableau XIII.
Les résultats des infestations croisées avec *F. hepatica*
et *P. daubneyi*. Abréviation: mir. (miracidium).

Comme la variation du paramètre a n'est pas significative, nous avons réalisé une régression linéaire simple selon l'équation suivante:

$$\text{Survie} = b \cdot (\text{nombre de miracidiums}) + c.$$

avec: $b = -20,83 \pm 2,77$. $P < 0,1 \%$.

$c = 100,85 \pm 5,54$. $P < 0,1 \%$.

Coefficient de corrélation $r = 0,96$ ($P < 0,1 \%$). Ecart type résiduel $s = 7,55$.

Rapport F de Fisher = 56,60.

La survie du mollusque est significativement corrélée au nombre de miracidiums utilisés pour chaque contact.

B. PRÉVALENCE DE L'INFESTATION.

Les résultats figurent sur le tableau XII.

Chez les juvéniles de 1 mm, la prévalence de l'infestation est maximale pour la première exposition (à 25,7 %) et diminue ensuite lorsque le nombre de contacts augmente.

Les résultats sont nuls chez les mollusques hauts de 4 mm.

IV. - LES INFESTATIONS CROISÉES AVEC *F. hepatica* ET *Paramphistomum daubneyi*.

Le tableau XIII regroupe les résultats des deux groupes.

La survie au 35^e jour d'expérience est de 55 % dans la série soumise à une exposition bispécifique, de 78 % dans celle exposée à *F. hepatica*.

Aucune larve vivante de *F. hepatica* n'a été retrouvée chez les *L. fuscus* exposées aux miracidiums de *F. hepatica* et de *P. daubneyi*. Dans la série témoin, nous n'avons pas retrouvé de limnée avec des formes larvaires de *F. hepatica*.

Dans la série avec une infestation bispécifique, un mollusque a présenté des rédies et des procercaires indépendantes de *P. daubneyi*. Ce résultat est nouveau pour cette limnée car cette espèce n'est pas connue pour assurer le développement larvaire de *P. daubneyi*.

Trois autres essais (données non représentées) ont été réalisés avec les infestations monospécifiques et bispécifiques. Ils ont fourni les mêmes résultats que ceux rapportés sur le tableau XIII.

COMMENTAIRES

Le premier paragraphe est consacré à une synthèse des données présentées dans le chapitre précédent. Ces dernières sont ensuite discutées par rapport aux éléments de la littérature parue sur le sujet.

I. - SYNTHÈSE.

Des jeunes *L. fuscus* (hauteur, 1 à 4 mm) provenant de trois populations et des jeunes *L. palustris* issus d'une colonie (à titre de comparaison) ont été soumis aux miracidiums de *F. hepatica* afin de déterminer leur sensibilité à l'infestation expérimentale. La prévalence présente des variations en fonction de la population étudiée. Si l'on considère les séries 1 mm de *L. fuscus*, on note un minimum de 20,3 % dans la colonie de Saint-Ours et un maximum de 46,2 % dans celle de Feytiat. Dans la série 1 mm de *L. palustris*, la prévalence au 35^e jour est de 26,7 %. Dans tous les cas, la prévalence diminue chez les juvéniles hauts de 2 mm (de 5,4 à 14,1 %) et devient nulle pour les tailles supérieures.

Les caractéristiques de l'infestation parasitaire ont été étudiées chez les *L. fuscus* de Saint-Ours en soumettant des juvéniles hauts de 1 et 2 mm à des infestations bimiracidienne individuelles. La prévalence a été calculée sur le nombre de limnées émettant des cercaires. Elle est maximale dans la série 1 mm (à 27,2 %) et nettement plus faible dans l'autre groupe (9,8 %). Le nombre total des métacercaires est de 21,4 en moyenne dans la série 1 mm, de

46,3 dans celle des 2 mm mais la différence entre les moyennes n'est pas significative. La plupart des mollusques ont fourni leurs parasites en une seule vague d'émission.

Des infestations répétitives de *L. fuscus* (colonie de Saint-Ours) ont été réalisées avec des individus de 1 et 4 mm de hauteur. Chez les juvéniles de 1 mm, la prévalence est maximale pour la première exposition (à 25,7 %) et diminue ensuite lorsque le nombre de contacts augmente. Les résultats sont nuls chez les mollusques hauts de 4 mm.

D'autres essais ont été effectués en soumettant des *L. fuscus* hautes de 4 mm à des expositions croisées et simultanées (1 miracidium de *Paramphistomum daubneyi* et 1 de *F. hepatica* par mollusque). Les résultats sont négatifs.

II. - DISCUSSION.

A. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LES INFESTATIONS EXPÉRIMENTALES DE MOLLUSQUES PAR *F. hepatica*.

Pour comparer nos résultats avec les données de la littérature, il faut que les infestations expérimentales de limnées par *F. hepatica* soient réalisées a) dans les mêmes conditions de taille au départ de l'expérience (nouveau-nés, juvéniles de 1 à 4 mm), b) avec un nombre identique de miracidiums pour chaque mollusque, et c) avec une température d'élevage qui soit la même. La revue des travaux réalisés sur ce sujet montre que c'est rarement le cas pour l'une des trois raisons suivantes:

1. La variabilité de la taille des mollusques au départ de l'expérience.

Ce paramètre diffère selon les auteurs. C'est ainsi que des nouveau-nés sont utilisés par KENDALL (1950) lorsqu'il effectue ses infestations expérimentales de limnées. BERGHEN (1964) emploie des mollusques âgés de deux jours de vie.

Une amélioration sensible a été apportée par BOUIX-BUSSON *et al.* (1983) en utilisant la hauteur de la coquille et non plus l'âge de la limnée. Comme il existe une relation directe entre les deux paramètres dans les premières semaines de vie du mollusque (jusqu'au 49^e jour chez *L. truncatula*: MOREL-VAREILLE, 1973; GOLD, 1980), l'emploi de cette dimension paraît être un avantage appréciable car cette variable a été utilisée par les auteurs ultérieurs (comme SINDOU, 1989; SINDOU *et al.*, 1990, 1991, par exemple).

Mais il persiste encore deux difficultés. La première d'entre elles repose sur la taille des oeufs déposés par les différentes limnées. Comme cette dernière varie selon l'espèce du mollusque (de 0,5 mm environ à plus d'un millimètre, d'après BONDESEN, 1950), la taille des nouveau-nés en résultant sera donc, elle aussi, différente. C'est pourquoi il semble judicieux d'abandonner cette notion de stade nouveau-né pour employer la dimension de la coquille³. La seconde difficulté provient de la densité des mollusques dans leur élevage car une forte concentration de limnées dans un volume constant d'eau stagnante, non renouvelée retentit sur leur croissance (revue de TAYLOR, 1965).

Cette revue rapide montre qu'il est difficile de cerner tous les paramètres biologiques relatifs au développement des jeunes limnées. Seule, l'expérimentation dans des conditions constantes, réalisée par la même équipe peut, à notre avis, apporter une solution pour résoudre ce premier problème.

2. La variabilité dans le nombre de miracidiums utilisés pour chaque mollusque lors de l'exposition.

Il existe, aussi, des différences dans la charge larvaire selon les auteurs. Si KENDALL (1950) expose ses nouveau-nés à plusieurs centaines de miracidiums ("mass infections"), les chiffres diminuent par la suite au cours des années ultérieures, avec un nombre de 6 ou 7 miracidiums par limnée pour BERGHEN (1964) ou de 20-25 pour BORAY (1966, 1969). Les auteurs les plus récents emploient 4 ou 5 larves par limnée (OSBORN *et al.*, 1982) ou encore 1 à 5 miracidiums (LEE *et al.*, 1995).

Même si BERGHEN affirme qu'une exposition à une masse de miracidiums ne retentit pas sur la survie ultérieure des nouveau-nés, la mortalité des mollusques, cependant, s'accroît lorsque le nombre de miracidiums et/ou le nombre d'expositions augmentent comme nos résultats sur *L. fuscus* le montrent. Plusieurs travaux d'ailleurs soulignent ce fait chez *Lymnaea glabra* (BOUIX-BUSSON *et al.*, 1983), chez *L. peregra ovata* (DRUTEL, 1997), chez *L. peregra peregra* (TAPIE, 1996; DREYFUSS *et al.*, 1997) ou encore chez *Myxas glutinosa* (VAREILLE-MOREL *et al.*, 1994; MONNY, 1995).

³ - Nous avons appliqué ce concept dans le cadre de notre travail car les nouveau-nés de *L. fuscus* (ou de *L. palustris*) ont déjà une hauteur de coquille proche du millimètre.

L'emploi d'un seul miracidium par mollusque -comme RONDELAUD (1980) l'a fait pour ses infestations expérimentales de limnées par *F. hepatica*- n'est pas satisfaisant car la vitalité des larves après leur éclosion des oeufs est très variable (TAYLOR, 1965). Même si les auteurs utilisent des miracidiums "nageant en banc de poissons" (SINDOU, 1989; HOURDIN, 1990; DREYFUSS, 1994, entre autres), le taux d'infestation des mollusques soumis à des infestations monomiracidienne individuelles reste peu élevé (moins de 40 % des mollusques exposés aux larves). Une charge de deux miracidiums par limnée est largement utilisée dans le cadre des infestations expérimentales de limnées à Limoges car le taux d'infestation est supérieur (AUGOT *et al.*, 1998) et un seul sporocyste -au lieu des deux- se développe dans 85 % des mollusques infestés (PRÉVERAUD-SINDOU et RONDELAUD, 1995). C'est ce concept que nous avons pris en compte pour réaliser nos infestations expérimentales de *L. fuscus*.

3. La variabilité de la température d'élevage.

Ce dernier paramètre diffère également selon les rapports. Les commentaires sur ce point doivent tenir compte de l'origine géographique des limnées étudiées. Aussi nous limiterons-nous aux espèces qui vivent normalement dans l'Europe de l'Ouest. Si les élevages de KENDALL (1950) sont maintenus à la température du laboratoire, ceux de BERGHEN subissent des fluctuations de température allant de 18° à 25° C. Cette variabilité de la température se retrouve dans les travaux ultérieurs. Si BOUIX-BUSSON *et al.* (1983) placent leurs *L. glabra* à une température constante de 20° C, d'autres auteurs maintiennent leurs animaux à 23° C (BUSSON, 1981; BOUIX-BUSSON, 1983, par exemple). OSBORN *et al.* (1982) préconisent une température optimale d'élevage située entre 18° et 20° C pour l'élevage de *L. truncatula*.

Le choix de la température peut poser un problème car un accroissement de celle-ci au-delà de 20° C s'accompagne d'une diminution dans la prévalence de l'infestation, tout au moins chez *L. truncatula* (GOLD et GOLDBERG, 1979) et les animaux infestés sont nettement moins résistants (RONDELAUD, 1974). Une température constante de 20° C paraît être l'idéal pour standardiser la technique relative aux infestations expérimentales de limnées par *F. hepatica* mais elle a, cependant, des inconvénients. L'un d'entre eux repose sur la disparition du rythme infradien dans les émissions cercariennes du Trématode à partir

Références	Mollusque	Fréquence ^a des limnées avec émission	Observations
BUSSON, 1981; BUSSON <i>et al.</i> , 1982.	<i>L. glabra</i> <i>L. palustris</i> ^b <i>L. peregra ovata</i> <i>L. stagnalis</i> <i>L. truncatula</i>	6,2 et 17,8 % 6,8 et 11,6 % 0,4 et 20,4 % 0 et 10,4 % 31 et 40 %	2 colonies par espèce. 3 miracidiums par nouveau-né. Elevage à 23° C.
BOUIX-BUSSON, 1983; BOUIX-BUSSON <i>et al.</i> , 1985.	<i>L. glabra</i> : - nouveau-nés. - 1 mm.	6,2 à 6,4 % 1,02 %	1 miracidium par mollusque. 23° C.
	<i>L. truncatula</i> : - nouveau-nés.	40 %	
BOUIX-BUSSON <i>et al.</i> , 1983.	<i>L. glabra</i> : - nouveau-nés. - juvéniles, 1 mm. - juvéniles, 2 mm.	6,4 à 12,3 %. 0 %. 0 %.	Séries avec 1, 2 et 5 miracidiums par mollusque. 20° C.
VAREILLE-MOREL <i>et al.</i> , 1994; MONNY, 1995.	<i>Myxas glutinosa</i> : - nouveau-nés. - juvéniles, 1 mm. - juvéniles, 2 mm.	23,2 %. 12,0 %. 2,0 %.	Deux miracidiums par mollusque. 20° C.
TAPIE, 1996; DREYFUSS <i>et al.</i> , 1997.	<i>L. peregra peregra</i> : - nouveau-nés. - juvéniles, 1 mm.	14,7 %. 4,7 %.	
DRUTEL, 1997.	<i>L. peregra ovata</i> : - juvéniles, 1 mm. - juvéniles, 2 mm.	11 %. 8 %.	
Nos résultats.	<i>L. fuscus</i> : - juvéniles, 1 mm. - juvéniles, 2 mm.	18 %. 7 %.	

^a. Les résultats ont été obtenus par le rapport suivant: (nombre de limnées avec émission) / (effectif des mollusques au départ de l'expérience).

^b. Ces deux colonies ont été ré-identifiées *a posteriori* comme *L. palustris* lors de la dissection de l'appareil génital en 1996.

Tableau XIV.

La prévalence de l'infestation chez quelques espèces de *Lymnaea* lorsque des nouveau-nés ou des juvéniles sont exposés aux miracidiums de *F. hepatica* (d'après MONNY, 1995 et complété par des travaux postérieurs).

de *L. truncatula* sous des conditions constantes (DREYFUSS et RONDELAUD, 1994) alors que ce dernier existe si les animaux sont maintenus dans des conditions semi-naturelles (AUDOUSSET *et al.*, 1989).

B. LES INFESTATIONS EXPÉRIMENTALES DE *L. fuscus*.

Malgré les limites posées par la méthodologie et définies dans le paragraphe précédent, il est utile de comparer nos résultats à ceux de la littérature. Deux raisons ont guidé notre analyse:

- La première d'entre elles repose sur les considérations formulées ci-dessus. Les éléments retenus pour cette comparaison proviennent essentiellement des travaux publiés par l'école de Limoges sur les infestations expérimentales de mollusques.

- La seconde concerne le statut même de *L. fuscus*. Considérée actuellement comme une espèce à part entière (voir le chapitre premier, pages 3 et 4), elle a été confondue pendant longtemps avec une autre limnée, *L. palustris*. Il est donc nécessaire de tenir compte de cette confusion dans notre comparaison.

Nous nous sommes limité aux deux paramètres les plus importants dans cette étude.

1. La prévalence de l'infestation fasciolienne.

Le tableau XIV répertorie les pourcentages que plusieurs auteurs ont obtenus pour ce paramètre lors d'infestations expérimentales de juvéniles par *F. hepatica*. Dans un but d'harmonisation, ces prévalences ont été calculées en rapportant, dans chaque série, le nombre de limnées avec émission à l'effectif initial des mollusques.

La lecture de ce tableau permet les remarques suivantes:

- La fréquence obtenue chez les *L. fuscus* de 1 mm (18 %) s'inscrit dans la gamme des pourcentages que les auteurs ont rapportés dans leurs travaux. Elles sont plus faibles que celles des *L. truncatula* (31 et 40 %) mais elles sont comparables à celles que BUSSON (1981) trouve chez une espèce proche, *L. palustris*.

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

Références	Mollusque	Nombre moyen de cercaires par mollusque	Observations
BUSSON, 1981; BUSSON <i>et al.</i> , 1982.	<i>L. glabra</i> <i>L. palustris</i> <i>L. peregra ovata</i> <i>L. stagnalis</i> <i>L. truncatula</i>	10,7 et 14,5 17,9 et 35,9 18,4 ^a 17,7 ^a 12,6 et 16,6	Deux colonies par espèce. Trois miracidiums par nouveau-né. Elevage à 23° C.
BOUIX-BUSSON, 1983; BOUIX-BUSSON <i>et al.</i> , 1985.	<i>L. glabra</i>	de 5,9 à 163,5 selon la taille du mollusque (1,9 à 5,3 mm)	1 miracidium par mollusque. Elevage à 23° C.
VAREILLE-MOREL <i>et al.</i> , 1994; MONNY, 1995.	<i>Myxas glutinosa</i> : - nouveau-nés. - juvéniles, 1 mm. - juvéniles, 2 mm.	26,6 54,3 82,5	2 miracidiums par limnée. Elevage à 20° C.
TAPIE, 1996; DREYFUSS <i>et al.</i> , 1997.	<i>L. peregra peregra</i> : - nouveau-nés, - juvéniles, 1 mm.	22,2 36,5	
DRUTEL, 1997.	<i>L. peregra ovata</i> : - juvéniles, 1 mm. - juvéniles, 2 mm.	18,3 30,7	
Nos résultats.	<i>L. fuscus</i> : - juvéniles, 1 mm. - juvéniles, 2 mm.	21,4 46,3	

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

Tableau XV.

Le nombre de métacercaires obtenues chez plusieurs espèces de limnées lorsque des nouveau-nés sont exposés aux miracidiums de *F. hepatica* (d'après MONNY, 1995 et complété par des travaux postérieurs).

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

2. Le nombre de métacercaires.

Le tableau XV rapporte les nombres de métacercaires que des auteurs ont fournis chez plusieurs espèces de limnées lorsqu'elles sont exposées aux miracidiums de *F. hepatica* au stade nouveau-né ou juvénile.

Nous nous sommes basé sur les propos de MONNY (1995) pour formuler le commentaire de ce tableau. On peut ainsi remarquer:

- que le faible nombre de métacercaires obtenues dans la série 1 mm des *L. fuscus* (21,4 par limnée) s'inscrit dans les valeurs rapportées chez d'autres espèces de limnées lorsqu'elles sont exposées aux miracidiums dans leurs premiers jours de vie (10 à 35 cercaires par mollusque).

- que les chiffres plus élevés dans les séries de taille supérieure doivent être simplement rapportés à la hauteur du mollusque lors de sa présentation aux miracidiums et probablement, à sa croissance per-expérimentale.

Des nombres de métacercaires identiques ont été notés par d'autres auteurs (comme KENDALL, 1950 ou BERGHEN, 1964, parmi d'autres) lorsqu'ils ont réalisé des infestations expérimentales de jeunes mollusques par *F. hepatica*.

Il ressort de ces constatations que la production cercarienne est limitée dans le cas des limnées infestées dans leurs premiers jours de vie et que ce processus semble indépendant de l'espèce du mollusque.

C. RÉFLEXIONS SUR LE STATUT DE *L. fuscus* COMME HÔTE INTERMÉDIAIRE DE *F. hepatica*.

BORAY (1978) a proposé un organigramme classant les espèces de limnées en quatre groupes par rapport à leur aptitude pour assurer le développement larvaire du Trématode. Cette classification a déjà été commentée dans le premier chapitre (page 21).

**Limnées infestées au stade juvénile
(de la naissance jusqu'à 2 m)**

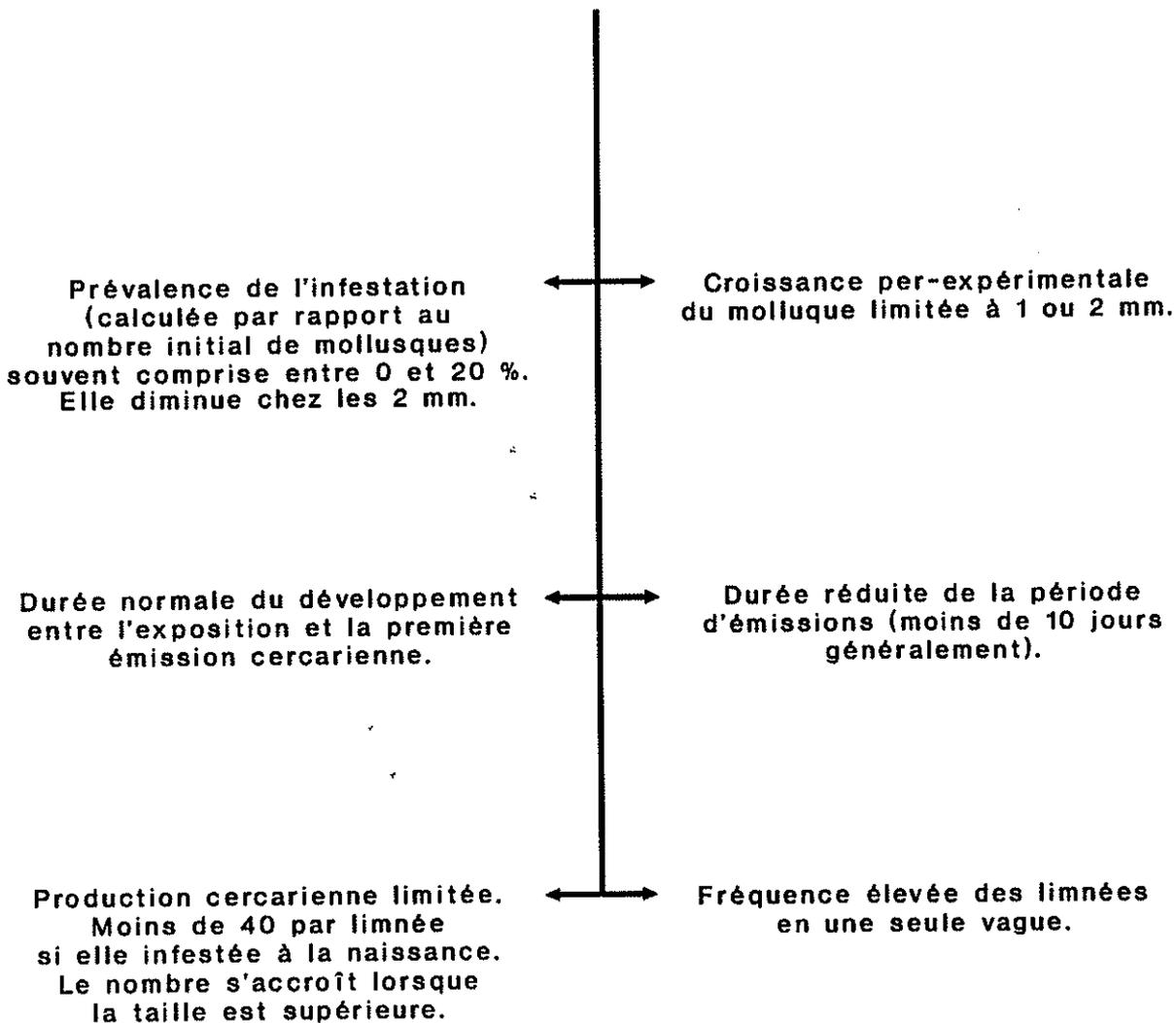


Figure 11.

Organigramme montrant les principales caractéristiques de l'infestation chez des limnées lorsqu'elles sont exposées aux miracidiums de *F. hepatica* dans leurs premiers jours de vie.
Espèces concernées: *Lymnaea fuscus*, *L. glabra*, *L. palustris*,
L. peregra ovata, *L. peregra peregra*, *L. stagnalis*,
L. truncatula, *Myxas glutinosa*.

La figure 11 récapitule les principales caractéristiques des limnées françaises -à l'exception de *L. auricularia*- lorsqu'elles sont exposées aux miracidiums du Trématode dès leur naissance ou dans les jours qui suivent. L'examen de cet organigramme montre que la plupart des caractéristiques de l'infestation parasitaire sont communes à ces limnées, quelle que soit l'espèce. La principale différence réside dans la prévalence: moins de 20 % en général pour la plupart de ces espèces alors qu'elle atteint 40 % et plus dans le cas de *L. truncatula*.

La mortalité n'est pas indiquée sur la figure 11. D'une manière générale, et en accord avec BORAY (1978), les chiffres sont élevés (plus de 40 %) dans toutes les séries de nouveau-nés que les auteurs ont exposés au parasite et diminuent pour les séries de taille supérieure. Il est difficile de faire la part du parasitisme et celle qui revient au comportement de l'expérimentateur car la plupart des nouveau-nés sont fragiles en raison d'une coquille encore souple qui ne se durcit que dans les jours qui suivent et le prélèvement de ces individus, même avec d'infinies précautions, en vue d'infestations peut les blesser (RONDELAUD, *communication personnelle*).

Ces chiffres sont expliqués par BORAY (1978) comme une résistance partielle de l'espèce due à l'âge. Seuls les juvéniles de taille inférieure à 2 mm peuvent assurer le développement larvaire du parasite. Une explication de cet état est fournie à partir des travaux de DIKKEBOOM *et al.* (1984) chez *Lymnaea stagnalis*: d'après ces auteurs, les juvéniles auraient un système de défense encore immature et ce dernier ne serait complètement différencié qu'à la fin de la première semaine après l'éclosion. Si l'on retient les observations de ces chercheurs, on peut donc émettre l'hypothèse que l'infestation des nouveau-nés et des juvéniles de moins de 2 mm dépendrait de l'immaturité du système de défense dans le cas des limnées françaises autres que *L. truncatula*. Cette hypothèse s'appuie sur la croissance de la coquille en fonction du temps telle que nous l'avons rapportée pour *L. fuscus* dans le chapitre deuxième (page 39).

On peut s'interroger sur ce problème de résistance chez *L. fuscus* et *L. palustris* lorsque l'on sait que l'introduction expérimentale de miracidiums dans les habitats naturels de la deuxième limnée (dans la région Limousin) entraîne une augmentation sensible du taux d'infestation au fur et à mesure des années (de 0,4 % la première année à plus de 18 % lors de la quatrième année). D'après DREYFUSS *et al.* (1994), ce résultat peut s'interpréter par

une adaptation du mollusque au parasite ou vice versa, permettant ainsi de vaincre la résistance due à l'âge. Dans ces conditions, est-ce que la fréquence de l'infestation naturelle chez l'une ou l'autre des deux espèces ne serait pas simplement liée à celle des rencontres naturelles entre le mollusque et son parasite comme RONDELAUD (1993), RONDELAUD et DREYFUSS (1996) l'ont mis en évidence chez les populations de *L. truncatula* en fonction de leur origine géographique ?

Deux arguments peuvent étayer notre supposition. Le premier d'entre eux s'appuie sur des observations non publiées de RONDELAUD (*communication personnelle*) faisant état d'une population de *L. palustris* à Tersannes (département de la Haute-Vienne) où des limnées ont été trouvées naturellement infestées par *F. hepatica* en 1970 alors que la Limnée tronquée est absente de cette pâture. Le second concerne notre population de *L. fuscus* située dans une prairie à Feytiat (département de la Haute-Vienne). Connue pour être un foyer à douve depuis de nombreuses années, cette prairie comportait des gîtes limités pour *L. truncatula* et une vaste étendue colonisée par *L. fuscus* (VAREILLE, 1996).

Si notre hypothèse est valide, on peut alors se demander si cette aptitude de *L. fuscus* (ou de *L. palustris*) acquise en fonction des contacts répétés avec le parasite ne disparaîtrait pas au cours des années lorsqu'il n'a plus de moyen de contamination. Cette seconde supposition pourrait alors expliquer les résultats variables et souvent négatifs que les auteurs ont enregistrés lors de l'infestation expérimentale de *L. palustris* appartenant à diverses populations (chapitre premier, page 22).

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Trois populations d'une limnée, *Lymnaea fuscus*, ont été soumises aux miracidiums d'un Trématode, *Fasciola hepatica*, afin de déterminer la sensibilité de cette espèce à l'infestation expérimentale. Les résultats obtenus nous ont conduit à déterminer les caractéristiques de ce parasitisme chez des juvéniles d'une seule colonie, celle de Saint-Ours (Puy-de-Dôme).

Les résultats peuvent être regroupés sous trois rubriques;

1. La sensibilité de *L. fuscus* à l'infestation fasciolienne.

Des jeunes *L. fuscus* (hauteur, 1 à 4 mm) provenant de trois populations ont été soumis aux miracidiums de *F. hepatica* (2 par mollusque). Des jeunes *L. palustris* issus d'une seule colonie ont été exposées au parasite selon le même protocole.

La prévalence présente des variations en fonction de la population étudiée. Si l'on considère les séries 1 mm de *L. fuscus*, on note un minimum de 20,3 % dans la colonie de Saint-Ours et un maximum de 46,2 % dans celle de Feytiat. Dans la série 1 mm de *L. palustris*, la prévalence au 35^e jour est de 26,7 %. La prévalence, dans tous les cas, diminue chez les juvéniles hauts de 2 mm et devient nulle pour les tailles supérieures.

2. Les caractéristiques de l'infestation parasitaire chez *L. fuscus*.

Des juvéniles hauts de 1 et 2 mm (Saint-Ours) ont été soumis à des infestations bimiracidiennes individuelles. La prévalence a été calculée sur le nombre de limnées émettant des cercaires. Elle est maximale dans la série 1 mm (à 27,2 %) et nettement plus faible dans l'autre groupe (9,8 %).

Le nombre total des métacercaires est de 21,4 en moyenne dans la série 1 mm, de 46,3 dans celle des 2 mm mais la différence entre les moyennes n'est pas significative. La plupart des mollusques ont fourni leurs parasites en une seule vague d'émission.

3. Les infestations répétitives et croisées de *L. fuscus*.

Des infestations répétitives de *L. fuscus* (colonie de Saint-Ours) ont été réalisées avec des individus de 1 et 4 mm de hauteur. Chez les juvéniles de 1 mm, la prévalence est maximale pour la première exposition (à 25,7 %) et diminue ensuite lorsque le nombre de contacts augmente. Les résultats sont nuls chez les mollusques hauts de 4 mm.

D'autres essais ont été effectués en soumettant des *L. fuscus* hautes de 4 mm à des expositions croisées et simultanées (1 miracidium de *Paramphistomum daubneyi* et 1 de *F. hepatica* par mollusque). Les résultats sont également négatifs.

Les résultats fournis par les infestations expérimentales démontrent que *L. fuscus* réagit comme *L. palustris* lorsqu'elle est soumise aux miracidiums de *F. hepatica*. Elle doit donc être considérée comme un vecteur accidentel de ce parasite comme la plupart des autres limnées françaises.

Toutefois, il nous paraît opportun de continuer ces recherches afin de vérifier les deux points suivants:

- l'existence d'une infestation naturelle chez *L. fuscus* comme la population de Saint-Ours qui est au contact direct du bétail parasité.

- la conduite d'études expérimentales afin de déterminer si les autres espèces françaises proches de *L. palustris*, comme *L. corvus*, peuvent intervenir comme hôtes intermédiaires dans le cycle de *F. hepatica* et quel est leur degré d'adaptation au parasite.

La réalisation de ces deux points permettrait de se faire une idée réaliste sur l'intervention de *L. fuscus* dans le cycle de *F. hepatica* car c'est celle -parmi les espèces du genre *Stagnicola*- qui vit le plus dans les prairies marécageuses comme *L. truncatula*.

-oOo-

BIBLIOGRAPHIE

- ABROUS, M., 1996.- Étude des formes larvaires de *Paramphistomum daubneyi* Dinnik chez *Lymnaea truncatula* Müller au cours d'infestations monospécifiques ou entrecroisées avec *Fasciola hepatica* Linné. Mémoire D.E.S.U., Limoges, n° 2, 88 p.
- ABROUS, M., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., 1996.- *Paramphistomum daubneyi* and *Fasciola hepatica*: the effect of dual infection on prevalence and cercarial shedding in preadult *Lymnaea glabra*. *J. Parasitol.*, **82**, 1026-1029.
- ADAM, W., 1960.- Mollusques, Faune de Belgique. Tome I: Mollusques terrestres et dulcicoles. Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Bruxelles, 402 p.
- ALASSONNIÈRE, V., 1989.- Contribution à l'étude des rédies de *Fasciola hepatica* L. chez neuf espèces de limnées soumises dès leur naissance à des infestations monomiracidienues individuelles. Thèse Doct. Médecine, Limoges, n° 145, 79 p.
- ANONYME, 1970.- Rapport d'activité du groupe de recherches sur la fasciolose à *Fasciola hepatica* (Groupe Alfort-Angers). Travail effectué entre avril et septembre 1970. Non édité, 10 p.
- ARRU, E., MURA, D., 1969.- Sulla distomatosi da *Fasciola hepatica* in Sardegna. (Distribuzione, ciclo biologica e sensibilita degli ospiti intermedi all'azione di sostanze malacocide). *Vet. Ital.*, **20**, 521-539.
- ARRU, E., PAPADOPOULOS, I., 1972.- Intermediate hosts of some common Trematoda in Sardinia with particular respect to *Fasciola hepatica*. Control systems. *Vet. Ital.*, **23**, 151-190.

- 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.
- AUGOT, D., 1995.- Les générations rédiennes de *Fasciola hepatica* Linné. Leur croissance et leur différenciation *in vitro*. Mémoire D.E.A. Interactions Hôte-Parasites, Créteil, 33 p.
- AUGOT, D., ABROUS, M., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., 1996.- *Paramphistomum daubneyi* and *Fasciola hepatica*: the redial burden and cercarial shedding in *Lymnaea truncatula* submitted to successive unimiracidial cross-exposures. *Parasitol. Res.*, **82**, 623-627.
- AUGOT, D., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., CABARET, J., BAYSSADE-DUFOUR, C., ALBARET, J.L., 1998.- Characterization of *Fasciola hepatica* redial generations (Trematoda: Fasciolidae) by morphometry and chaetotaxy under experimental conditions. *J. Helminthol.* (sous presse).
- BERGHEN, P., 1964.- Some *Lymnaeidae* as intermediate hosts of *Fasciola hepatica* in Belgium. *Exp. Parasitol.*, **15**, 118-124.
- BONDESEN, R., 1950.- A comparative morphological and biological analysis of the egg-capsules of fresh-water pulmonates gastropods. *Natura Jutl.*, **3**, 1-208.
- BORAY, J.C., 1966.- Studies on the relative susceptibility of some lymnaeids to infection with *Fasciola hepatica* and *F. gigantica* and on the adaptation of *Fasciola* spp. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **60**, 114-124.
- 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., 1983.- Etude de relations entre un parasite, *Fasciola hepatica* L. et un Mollusque hôte, *Lymnaea glabra* Müller. Thèse Doct. 3^e cycle Ecol., Limoges, n° 17, 160 p.
- BOUIX-BUSSON, D., RONDELAUD, D., 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.
- 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.
- 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, Limoges, n° 110, 102 p.
- BUSSON, P., BUSSON, D., RONDELAUD, M., PESTRE-ALEXANDRE, M., 1982.- Données expérimentales sur l'infestation des jeunes de cinq espèces de limnées par *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **57**, 555-563.
- BUZZELL, G.R., 1983.- Composition, secretion, and fate of the glands in the miracidium and sporocyst of *Fasciola hepatica*. *J. Helminthol.*, **57**, 79-84.
- COSTER, W. de, PERSOONE, G., 1970.- Ecological study of gastropods in a swamp in the neighbourhood of Ghent (Belgium). *Malacologia*, **36**, 65-80.
- COUDERT, J., TRIOZON, F., 1957.- Aperçus nouveaux sur l'épidémiologie de la distomatose hépatique dans la région lyonnaise. *Presse Méd.*, **65**, 1586-1588.
- CZAPSKI, Z., 1962.- The snail *Galba occulta* Jackiewicz, 1959, another intermediate host of *Fasciola hepatica* L. *Z. Tropenmed. Parasitol.*, **13**, 332-337.
- CZAPSKI, Z., 1968.- Uwagi o potencjale inwazyjnym *Galba truncatula* Müll. i *Galba occulta* Jack. w odniesieniu do larv *Fasciola hepatica* L. *Wiad. Parazytol.*, **14**, 521-522.
- CZAPSKI, Z., 1977.- Biologiczne aspekty epidemiologii fasciolozy. *Monografie, Podreczniki, Skrypty A.W.F. w Poznaniu*, **95**, 1-143.
- CZAPSKI, Z., 1978.- *Galba turricula* Held, as a new host of *Fasciola hepatica*. *Short Communications, I.C.O.P.A. IV, Warszawa, A*, 10.
- DAGNELIE, P., 1994.- Théorie et méthodes statistiques. 1. Applications agronomiques. 2^e édit. Les Presses Agronomiques, Gembloux, Belgique, 463 p.
- DENIS, C., RONDELAUD, D., DARDÉ, M.L., 1996.- Douve du foie. Un réservoir animal de parasites très important. *La Revue du Praticien*, n° 232, 31-37.
- DIKKEBOOM, R., VAN DER KNAAP, W.P.W., MEULEMAN, E.A., SMINIA, T., 1984.- Differences between blood cells of juvenile and adult specimens of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Cell. Tiss. Res.*, **238**, 43-47.
- 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 *Fasciola gigantica* Cobbold. Thèse Doct. Univ. Limoges, 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., ABROUS, M., RONDELAUD, D., 1997.- *Fasciola hepatica* Linné: la charge rédienne et les émissions cercariennes chez les juvéniles de *Lymnaea peregra* Müller. *Rev. Méd. Vét.*, **148**, 609-612.
- DREYFUSS, G., MOUKRIM, A., RONDELAUD, D., VAREILLE-MOREL, C., 1994.- Several field observations concerning infection of *Lymnaea palustris* by *Fasciola hepatica*. *J. Helminthol.*, **68**, 115-118.
- DRUTEL, C., 1997.- Variabilité interpopulationnelle d'un Mollusque, *Lymnaea peregra ovata* Müller, à l'infestation expérimentale par un Trématode, *Fasciola hepatica* Linné. Étude des émissions cercariennes. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 331, 106 p.
- 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.
- FALKNER, G., 1995.- Present-day knowledge on the systematics of the genus *Stagnicola* in Europe. *Abst. 12th Int. Malacol. Congr., Vigo, 1995*, 378-379.
- FORBES, G.S., CRAMPTON, H.E., 1942.- The effect of population density upon growth and size in *Lymnaea palustris*. *Biol. Bull.*, **82**, 283-289.
- FRÖMMING, E., 1965.- Biologie der mitteleuropäischen Süßwasserschnecken. Berlin, 311 p.
- FROMUNDA, V., SIRBU, E., 1971.- Aspects de l'épizootologie et de la prophylaxie de la fasciolose en République Socialiste de Roumanie. *Cah. Méd. Vét.*, **40**, 269-276.
- GERMAIN, L., 1930/1931.- Mollusques terrestres et fluviatiles. Faune de France, tome 21. Libr. Fac. Sci. éd., Paris, 893 p.
- GLÖER, P., MEIER-BROOK, M., 1994.- Süßwassermollusken. Ein Bestimmungsschlüssel für die Bundesrepublik Deutschland. Deutscher Jugendbund für Naturbeobachtung, Hamburg, 136 p.
- GODERDZISVILI, G., 1955.- I. Rol nekotorych vidov presnovodnych molluskov v epizootologii fascioloza v usloviach Leningradskoj oblasti i ispytanie na nich mineralnych udobrenii. *Sb. Nauch. trud. Leningr. Inst. Uoversch. Vet. Vrach.*, **10**, 219-223.

- 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.
- GOLD, D., GOLDBERG, M., 1979.- Temperature effect on susceptibility of four species of *Lymnaea* snails to infection with *Fasciola hepatica*. *Isr. J. Zool.*, **28**, 193-198.
- GOLVAN, Y.J., 1990.- Précis de parasitologie médicale. Flammarion éd., Paris, 579 p.
- GROUPEMENT DE DÉFENSE SANITAIRE DE L'ORNE, 1991.- La Grande Douve. Note de vulgarisation. G.T.V. 61, Alençon, 6 p.
- HILBERT, R., 1911.- Über die neue Molluskenkunde in Altpreußen. *Schr. Physical Ökonom. Ges. Königsberg i. Pr.*, **52**, 267-273.
- HOURDIN, Ph., 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.
- HOURDIN, A., RONDELAUD, D., CABARET, J., 1993.- The development of *Fasciola hepatica* parthenitae in *Lymnaea truncatula* by modification of *Muellerius capillaris* infection. *Int. J. Parasitol.*, **23**, 235-243.
- HUBNER, ^{Lymnaeidae.} B., 1951.- Recent *Lymnaeidae*. Their variation, morphology, taxonomy, nomenclature, and distribution. *Küngl. Svenska Vetenskapsakad. Handl.*, **3**, 223 p.
- HUNTER, R.D., 1975.- Growth, fecundity, and bioenergetics in three populations of *Lymnaea palustris* in upstate New-York. *Ecology*, **56**, 50-63.
- JACKIEWICZ, M., 1959.- Badania nad zmiennoscia i stanowiskiem systematycznym *Galba palustris* O.F. Müll. *Pr. Kom. Biol. TPN*, **10**, 89-187.
- JACKIEWICZ, M., 1962.- Wiederbeschreibung der Schlammschnecke *Limnaeus vulneratus* Küster, 1892 = *Limnaea berlani* Bourguignat, 1870 (Mollusca, Gastropoda). *Bull. Soc. Amis Sci. Lett. Poznan, D*, **3**, 47-62.
- JACKIEWICZ, M., 1988.- The penis as a valuable diagnostic feature in lower taxonomic units of the family Lymnaeidae (Gastropoda, Pulmonata). *Malakol. Abhandl.*, **13**, 23-26.
- JACKIEWICZ, M., 1990.- Systematic position of *Lymnaea corvus* Gmelin 1788 (Gastropoda: Pulmonata). *Folia Malacol.*, **4**, 147-155.
- JACKIEWICZ, M., 1992a.- Morphologische Reihenfolge des Innenbaues der Prostata bei den Schlammschnecken (Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeidae). *Proc. Ninth Int. Malacol. Congr., Edinburgh, 1986*, 185-186.

- JACKIEWICZ, M., 1992b.- Die Verbreitung der Gattung *Lymnaea* und die Innenstruktur der Prostata (Gastropoda, Pulmonata). *Proc. Tenth Int. Malacol. Congr., Tübingen, 1989*, n° 2, 583-585.
- JACKIEWICZ, M., PROSCHWITZ, T. von, 1991.- *Lymnaea (Stagnicola) occulta* (Jack.), *Lymnaea (Lymnaea) vulnerata* Küst. und *Lymnaea (Lymnaea) corvus* (Gmel.) - drei für Schweden neue Schlammschneckenarten (Gastropoda, Basommatophora: Lymnaeidae). *Malakol. Abhandl.*, **15**, 125-132.
- KENDALL, S.B., 1950.- Snail hosts of *Fasciola hepatica* in Britain. *J. Helminthol.*, **24**, 63-74.
- KENDALL, S.B., McCULLOUGH, F.S., 1951.- The emergence of cercariae of *Fasciola hepatica* from the snail *Limnaea truncatula*. *J. Helminthol.*, **25**, 77-92.
- KOBULEJ, L., JANISCH, M., 1970.- Külonfele *Lymnaea*-fajok szerepe a *Fasciola hepatica* fejlődeseben Magyar-ország viszonyai között. *Magy. Allatorv. Lap.*, **25**, 79-85.
- LAMBERT, M.C., 1990.- Contribution à la biologie et à l'écophysiologie d'un Lymnaeidae armoricain: *Lymnaea peregra* (Müller) (Mollusque, Gastéropode, Pulmoné, Basommatophore). Thèse Doct. Univ. Rennes, n° 538, 317 p.
- LEE, C.G., KIM, S.K., LEE, C.Y., 1994.- Rapid growth of *Lymnaea viridis*, the intermediate host of *Fasciola hepatica*, under laboratory conditions. *Vet. Parasitol.*, **51**, 327-331.
- MAGE, C., 1978.- 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.
- Mc CRAW, B.M., 1970.- Aspects of the growth of the snail *Lymnaea palustris* (Müller). *Malacologia*, **10**, 399-413.
- MELIKOV-YU, F., 1968.- The intermediate hosts of *Fasciola hepatica* in Azerbaïdjan. *Biol. Nauki*, **1**, 49-53.
- MICHELET, S., 1997.- Les générations rédiennes d'un Trématode, *Fasciola hepatica* Linné chez le mollusque hôte. Revue bibliographique et études expérimentales. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 302, 97 p.
- MONNY, C., 1995.- Etude de quelques relations entre le Mollusque *Myxas glutinosa* Müller (Lymnaeidae) et le Trématode *Fasciola hepatica* Linné. Infestation expérimentale et observations histologiques. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 305, 65 p.
- 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.

- MOUTHON, J., 1980.- Contribution à l'écologie des mollusques des eaux courantes. Esquisse biotypologique et données écologiques. Thèse Doct. ès-Sci. Biol., Paris VI, n° 412, 169 p.
- MOUTHON, J., 1981.- Typologie des mollusques des eaux courantes. Organisation biotypologique et groupements socio-écologiques. *Ann. Limnol.*, **17**, 143-162.
- MURA, D., ARRU, E., 1967.- Some observations on the life-cycle of *Fasciola hepatica* in Sardinia. *Second Int. Liverfluke Coll., Wageningen*, 101-102.
- 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.
- OSBORN, G.D., GRON, N., SIMMONS, D., 1982.- Maintenance and infection of the mud snail *Lymnaea truncatula* for *Fasciola hepatica* studies. *J. Inst. Ani. Tech.*, **33**, 1-5.
- PÉCHEUR, M., 1974.- Lutte stratégique contre la distomatose. Comptes-Rendus de Recherches, Travaux du Centre de Recherches sur les Maladies Parasitaires des Animaux Domestiques. I.R.S.I.A., Bruxelles, n° 38, 85-150.
- PFEIFFER, C., 1821.- Naturgeschichte Deutscher Land- und Süßwasser-Mollusken. Weimar und Cassel, Fasc. 1.
- PFLEGER, V., 1989.- Guide des coquillages et mollusques. Hatier éd., Fribourg, 191 p.
- PRÉVERAUD-SINDOU, M., RONDELAUD, D., 1995.- Localization and outcome of *Fasciola hepatica* sporocysts in *Lymnaea truncatula* subjected to mono- or plurimicrobial exposures. *Parasitol. Res.*, **81**, 265-267.
- PRÉVERAUD-SINDOU, M., DREYFUSS, G., RONDELAUD, D., 1994.- Comparison of the migrations of *Fasciola hepatica* sporocysts in *Lymnaea truncatula* and other related snail families. *Parasitol. Res.*, **80**, 342-346.
- REICHMUTH, W., 1936.- Die Leberegelschencke *Galba truncatula* Müll zugleich ein Beitrag zur Systematik der Süßwasserschnecken (Lymnaeidae). *Z. Morphol. Okol. Tiere*, **31**, 207-244.
- RONDELAUD, D., 1974.- Le cycle journalier d'activité de *Galba truncatula* Müller et sa relation avec le parasitisme. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **49**, 427-434.
- RONDELAUD, D., 1980.- Données épidémiologiques sur la distomatose humaine à *Fasciola hepatica* L. dans la région du Limousin, France. Les plantes consommées et les limnées vectrices. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **55**, 393-405.

- RONDELAUD, D., 1981.- Le contrôle biologique de *Lymnaea truncatula* Müller. Bilan d'une expérimentation de neuf années en Haute-Vienne, France. *Haliotis*, **11**, 213-224.
- 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., 1978.- Etude histologique du développement de *Fasciola hepatica* chez *Lymnaea truncatula*, *L. glabra* et *L. palustris* infestées dès leur naissance. *C. R. Soc. Biol.*, **172**, 1194-1200.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1982.- Les générations rédiennes de *Fasciola hepatica* L. chez *Lymnaea truncatula* Müller. Pluralité des schémas de développement. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **57**, 639-642.
- RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., 1996.- Variabilité de l'infestation fasciolienne chez *Lymnaea truncatula* Müller par rapport à la localisation de ses gîtes sur les réseaux hydrographiques. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **14**, 189-184.
- RONDELAUD, D., ALASSONNIERE, V., BARTHE, D., 1989.- *Fasciola hepatica* L.: étude des rédies à cercaires chez neuf espèces de limnées soumises dès leur naissance à des infestations monomiracidiennes individuelles. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **7**, 61-66.
- SAMPAIO XAVIER, M. de L., FERNANDEZ, A.R.M., DOS SANTOS, M.A.M., 1967.- The susceptibility to *Fasciola hepatica* of some fresh-water snails in Portugal and Spain. *Sec. Int. Liverfluke Coll., Wageningen, 1967*, 179-188.
- SAZANOV, A.M., 1957.- Epizootologija fascioleza zvacynch i mery borby s. mim. *Veterinarija*, **34**, 28-30.
- SAZANOV, A.M., 1971.- On the specificity of several lymnaeid snails as intermediate hosts of *Fasciola*. *Trudy Vses. Inst. Gel'mint.*, **18**, 229-234.
- SAZANOV, A.M., 1977.- The susceptibility of molluscs to infection with *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. *Material. Nauch. Konf. Vses. Obsh. Gel'mint.*, **29**, 128-133.
- SEY, O., 1979.- Life-cycle and geographical distribution of *Paramphistomum daubneyi* Dinnik, 1962 (Trematoda: Paramphistomata). *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, **27**, 115-130.
- 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., RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1990.- *Fasciola hepatica* L.: étude comparative de la pathologie viscérale chez six espèces de limnées soumises dès leur naissance à des infestations monomiracidienne individuelles. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **115**, 331-340.
- SINDOU, P., RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1991.- 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.
- SOULSBY, E.J.L., 1982.- Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. 7th edit. Baillière Tindall, London, 809 p.
- STAT-ITCF, 1988.- Manuel d'utilisation. Institut Technique des Céréales et des Fourrages, Service des Études Statistiques, Boigneville, 210 p.
- TAPIE, C., 1996.- Contribution à l'étude d'un Mollusque, *Lymnaea peregra peregra* Müller, dans le nord de la Haute-Vienne. Son infestation expérimentale par *Fasciola hepatica* Linné. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 310, 72 p.
- 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.
- TRIOZON, F., 1958.- Aperçus nouveaux sur l'épidémiologie de la distomatose hépatique humaine. Thèse Doct. ès-Sci. Pharm., Lyon, 161 p.
- VAREILLE, L., 1996.- Les caractéristiques des gîtes à limnées dans le département de la Haute-Vienne. Infestation expérimentale de *Lymnaea cf fuscus* par *Fasciola hepatica* Linné. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 309, 123 p.
- VAREILLE, L., VAREILLE-MOREL, C., DREYFUSS, G., RONDELAUD, D., 1996.- L'impact de quelques modifications agronomiques sur les caractéristiques des gîtes à limnées dans les prairies marécageuses sur sol acide. *Ann. Limnol.*, **32**, 97-104.
- VAREILLE-MOREL, C., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., 1994.- L'infestation expérimentale de *Myxas glutinosa* Müller par le Trématode *Fasciola hepatica* Linné. A propos de quelques observations histologiques. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **12**, 35-42.
- VILLEGER, M., 1995.- Premières observations sur l'écologie et l'éthologie de *Lymnaea truncatula* Müller dans un système d'irrigation à Salon-de-Provence. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 306, 76 p.

VOLKOVA, E.M., 1948.- Opyt borby s fasciolezem ovec putem preimaginaljnych degel-
mintizaciji. *Veterinarija*, 25, 25-27.

BON A IMPRIMER N° 6

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

ETUDES EXPÉRIMENTALES SUR LA SENSIBILITÉ D'UN MOLLUSQUE, *Lymnaea fuscus* Pfeiffer, À L'INFESTATION EXPÉRIMENTALE PAR UN TRÉMATODE, *Fasciola hepatica* Linné. Par Aline FEIGEL.

Des jeunes *L. fuscus* (hauteur, 1 à 4 mm) provenant de trois populations ont été soumis aux miracidiums de *F. hepatica* (2 par mollusque). La prévalence présente des variations en fonction de la population étudiée. Si l'on considère les séries 1 mm de *L. fuscus*, on note un minimum de 20,3 % dans la colonie de Saint-Ours (Puy-de-Dôme) et un maximum de 46,2 % dans celle de Feytiat (Haute-Vienne). La prévalence, dans tous les cas, diminue chez les juvéniles hauts de 2 mm et devient nulle pour les tailles supérieures.

Les caractéristiques de l'infestation parasitaire ont été étudiées dans la colonie de Saint-Ours en soumettant des juvéniles hauts de 1 et 2 mm à des infestations bimiracidiennes individuelles. La prévalence est maximale dans la série 1 mm (27,2 %) et nettement plus faible dans l'autre groupe (9,8 %). Le nombre total des métacercaires est de 21,4 en moyenne dans la série 1 mm, de 46,3 dans celle des 2 mm mais la différence entre les moyennes n'est pas significative.

Des infestations répétitives de *L. fuscus* ont été réalisées. Chez les juvéniles de 1 mm, la prévalence est maximale pour la première exposition (25,7 %) et diminue ensuite lorsque le nombre de contacts augmente. Les résultats sont nuls chez les mollusques hauts de 4 mm. D'autres essais ont été effectués en soumettant des *L. fuscus* hauts de 4 mm à des expositions croisées et simultanées (1 miracidium de *Paramphistomum daubneyi* et 1 de *F. hepatica* par mollusque). Les résultats sont également négatifs.

L. fuscus réagit comme *L. palustris* lorsqu'elle est soumise aux miracidiums de *F. hepatica*. Elle doit donc être considérée comme un vecteur accidentel de ce parasite comme la plupart des autres limnées françaises.

Mots-clés: *Fasciola hepatica*. *Lymnaea fuscus*. Mollusca. Parasitisme. Trematoda.

ETUDES EXPÉRIMENTALES SUR LA SENSIBILITÉ D'UN MOLLUSQUE, *Lymnaea fuscus* Pfeiffer, À L'INFESTATION EXPÉRIMENTALE PAR UN TRÉMATODE, *Fasciola hepatica* Linné. Par Aline FEIGEL.

Des jeunes *L. fuscus* (hauteur, 1 à 4 mm) provenant de trois populations ont été soumis aux miracidiums de *F. hepatica* (2 par mollusque). La prévalence présente des variations en fonction de la population étudiée. Si l'on considère les séries 1 mm de *L. fuscus*, on note un minimum de 20,3 % dans la colonie de Saint-Ours (Puy-de-Dôme) et un maximum de 46,2 % dans celle de Feytiat (Haute-Vienne). La prévalence, dans tous les cas, diminue chez les juvéniles hauts de 2 mm et devient nulle pour les tailles supérieures.

Les caractéristiques de l'infestation parasitaire ont été étudiées dans la colonie de Saint-Ours en soumettant des juvéniles hauts de 1 et 2 mm à des infestations bimiracidienne individuelles. La prévalence est maximale dans la série 1 mm (27,2 %) et nettement plus faible dans l'autre groupe (9,8 %). Le nombre total des métacercaires est de 21,4 en moyenne dans la série 1 mm, de 46,3 dans celle des 2 mm mais la différence entre les moyennes n'est pas significative.

Des infestations répétitives de *L. fuscus* ont été réalisées. Chez les juvéniles de 1 mm, la prévalence est maximale pour la première exposition (25,7 %) et diminue ensuite lorsque le nombre de contacts augmente. Les résultats sont nuls chez les mollusques hauts de 4 mm. D'autres essais ont été effectués en soumettant des *L. fuscus* hautes de 4 mm à des expositions croisées et simultanées (1 miracidium de *Paramphistomum daubneyi* et 1 de *F. hepatica* par mollusque). Les résultats sont également négatifs.

L. fuscus réagit comme *L. palustris* lorsqu'elle est soumise aux miracidiums de *F. hepatica*. Elle doit donc être considérée comme un vecteur accidentel de ce parasite comme la plupart des autres limnées françaises.

Mots-clés: *Fasciola hepatica*. *Lymnaea fuscus*. Mollusca. Parasitisme. Trematoda.