

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 2001

Thèse n° 305

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement

le 5 février 2001

par

Blandine JULLARD-CONDAT

Née le 12 novembre 1977 à Clermont-Ferrand (Puy-de-Dôme)

INFLUENCE A POSTERIORI DE L'HÔTE DÉFINITIF
SUR LES ÉMISSIONS CERCARIENNES DE
Fasciola hepatica Linné À PARTIR
DU MOLLUSQUE *Lymnaea truncatula* Müller



EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Monsieur DREYFUSS, Professeur	Président
Monsieur MAGE, Ingénieur	Juge
Monsieur RONDELAUD, Maître de Conférences	Juge
Monsieur VIGNOLES, Maître de Conférences	Juge
Monsieur VINCENT, Maître de Conférences	Juge

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 2001

Thèse n° 305

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement

le 5 février 2001

par

Blandine JUILLARD-CONDAT

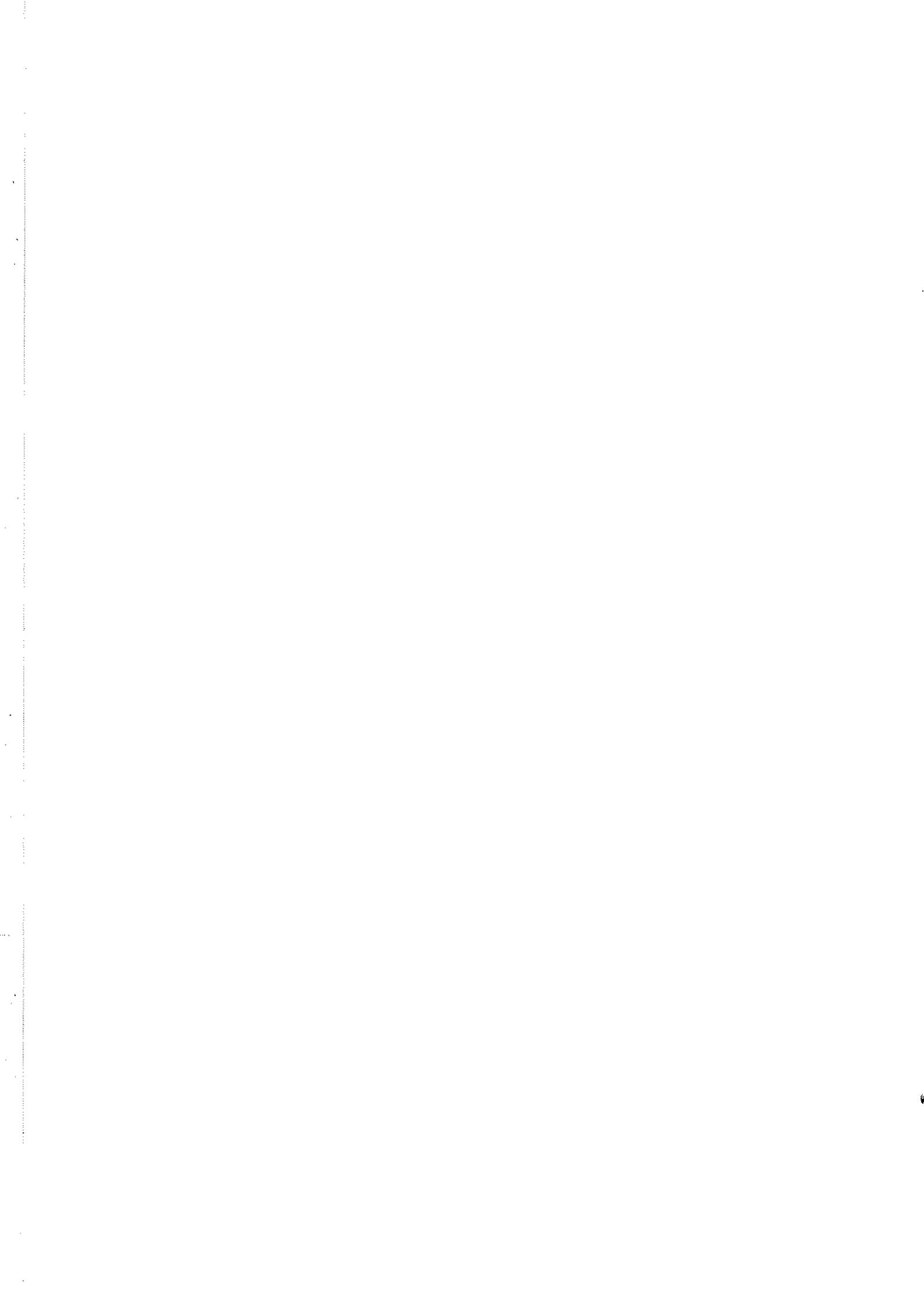
Née le 12 novembre 1977 à Clermont-Ferrand (Puy-de-Dôme)

INFLUENCE A POSTERIORI DE L'HÔTE DÉFINITIF
SUR LES ÉMISSIONS CERCARIENNES DE
Fasciola hepatica Linné À PARTIR
DU MOLLUSQUE *Lymnaea truncatula* Müller



EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Monsieur DREYFUSS, Professeur	Président
Monsieur MAGE, Ingénieur	Juge
Monsieur RONDELAUD, Maître de Conférences	Juge
Monsieur VIGNOLES, Maître de Conférences	Juge
Monsieur VINCENT, Maître de Conférences	Juge



UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE: Monsieur le Professeur GHESTEM Axel

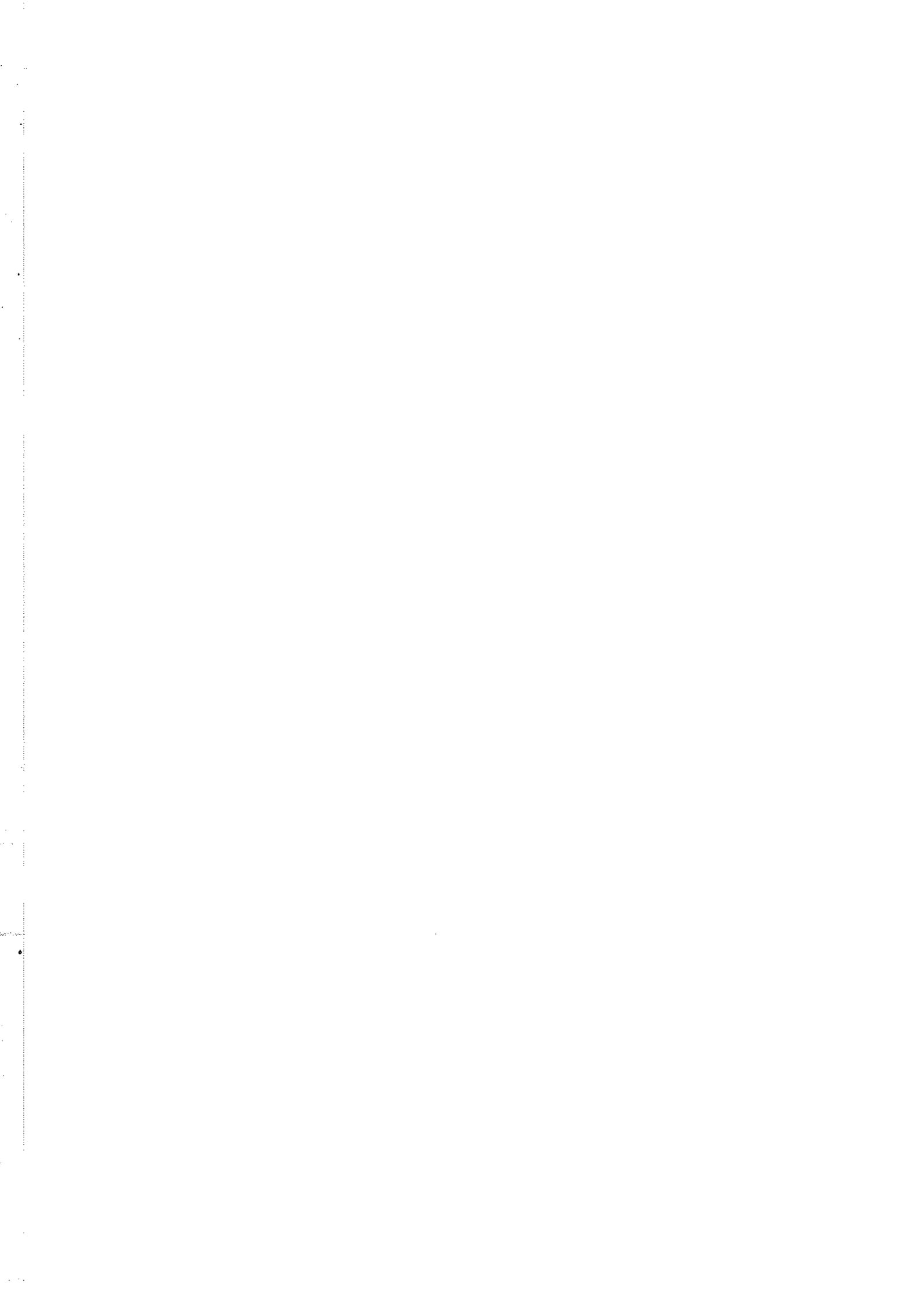
ASSESEURS: Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard
Monsieur COMBY Francis Maître de Conférences

PROFESSEURS:

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
BERNARD Michel	PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE
BOSGIRAUD Claudine	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE PARASITOLOGIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
DREYFUSS Gilles	PARASITOLOGIE
GHESTEM Axel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE-HYDROLOGIE-ENVIRONNEMENT
LOUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse



A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur G. DREYFUSS,
Service de Parasitologie,
Faculté de Pharmacie de Limoges,

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

*Nous vous remercions pour les notions
de Parasitologie que nous avons acquises
au travers de votre enseignement,*

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



A nos Juges

Monsieur le Dr. C. MAGE,
Ingénieur, Docteur d'Université,

Institut de l'Elevage,
Antenne de Limoges,

Monsieur le Dr. D. RONDELAUD,
Maître de Conférences-Praticien Hospitalier,

Laboratoire d'Histopathologie Parasitaire,
Faculté de Médecine de Limoges.

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

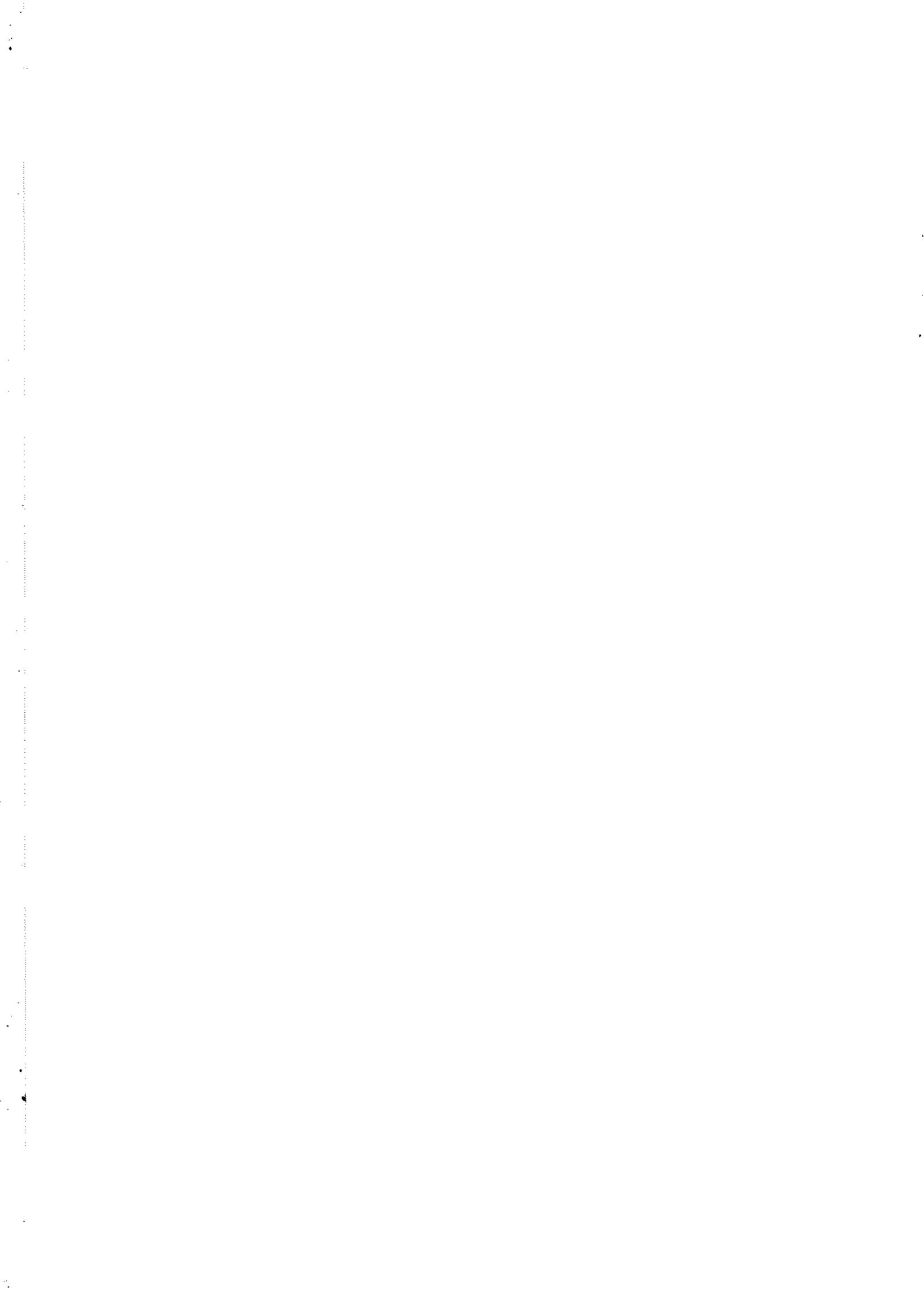
Service de Biophysique-Informatique,
Faculté de Pharmacie de Limoges.

Monsieur le Dr. M. VINCENT,
Maître de Conférences,

Laboratoire de Malacologie Appliquée,
Faculté des Sciences de Limoges.

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

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



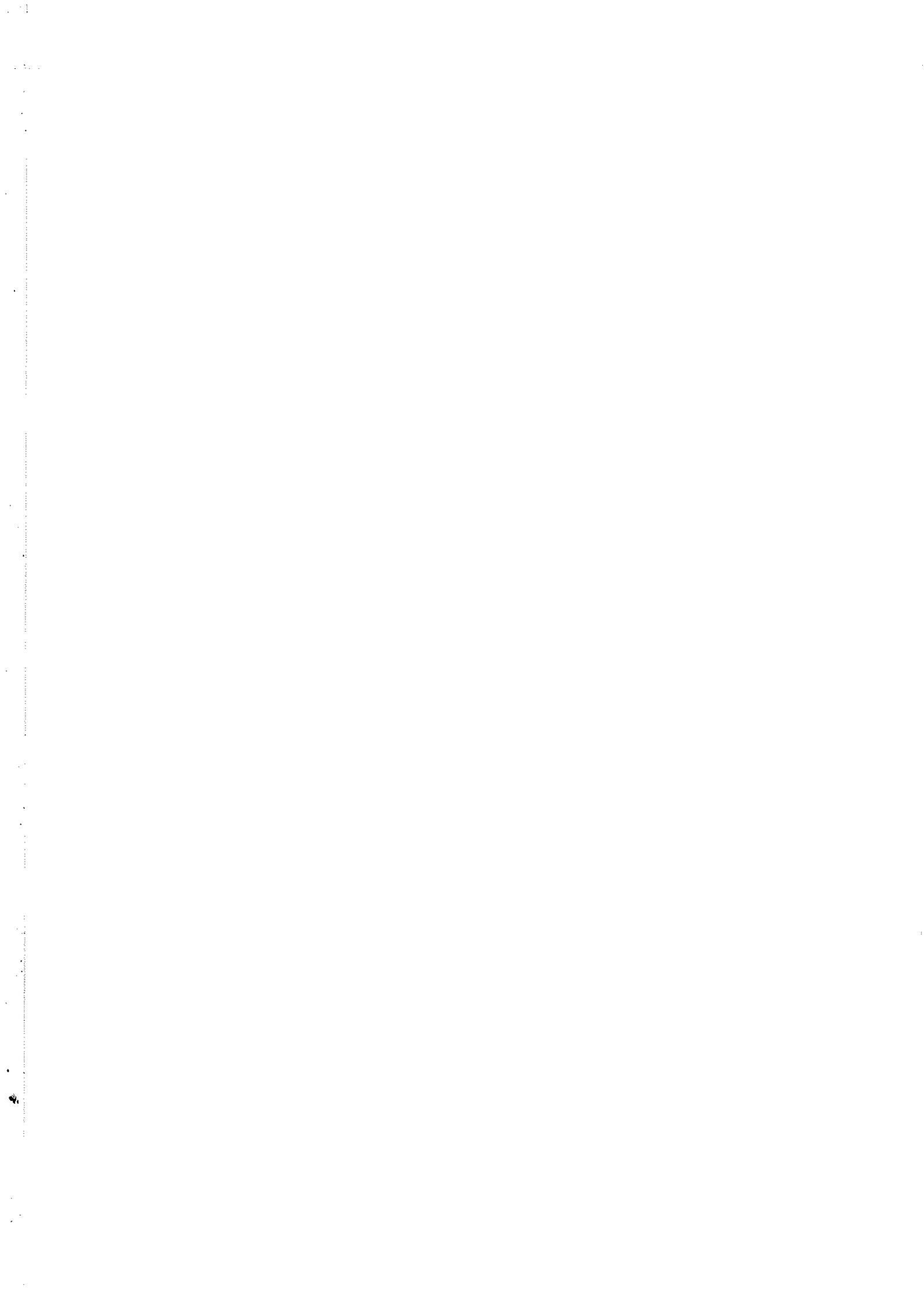
A mon père et ma mère,

pour votre soutien affectueux,

A ma soeur,

A mes amis,

en témoignage de ma reconnaissance.



SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE PREMIER : <i>Fasciola hepatica</i> et ses hôtes	4
I. - <i>Fasciola hepatica</i>	4
A. Présentation du parasite	4
B. Répartition géographique	8
C. Cycle évolutif	10
D. Les hôtes définitifs	13
1. Les différents taxons concernés	13
2. Le développement du parasite chez son hôte	13
3. Les conséquences du parasitisme	14
E. Les hôtes intermédiaires	17
1. Les taxons concernés	17
2. Les formes larvaires chez le mollusque hôte	20
3. Quelques données sur <i>Lymnaea truncatula</i>	22
II. - Les cercaires de <i>Fasciola hepatica</i>	24
A. Le stade cercarien	24

B. La différenciation des cercaires	26
C. Leurs variations numériques chez le mollusque	28
1. Par rapport au mode de développement rédien	28
a). Mode typique	28
b). Développement atypique	30
2. Par rapport à la présence ou à l'absence d'émissions cercariennes	30
D. La sortie des cercaires	32
1. Le mécanisme de l'émission	34
2. Les rythmes d'émission	36
3. Vagues et intervagues	36
E. Le devenir des cercaires	37
III. - Les facteurs capables d'influencer les émissions cercariennes de	
<i>Fasciola hepatica</i>	40
A. La population de <i>Lymnaea truncatula</i>	42
1. Le rôle du terroir d'origine	42
2. La sensibilité de la population au parasite	42
3. Le nombre de miracidiums utilisés pour l'infestation	44
4. L'alimentation du mollusque hôte	44
B. Les miracidiums de <i>Fasciola hepatica</i>	45
C. Facteurs moins connus	45
IV. - Commentaires	46
CHAPITRE DEUXIÈME : Matériel et méthodes	48
I. - Les mollusques	48
II. - Les oeufs de <i>Fasciola hepatica</i>	50
III. - Protocole expérimental	50
IV. - Méthodologie	52
A. Les oeufs de <i>Fasciola hepatica</i>	52
B. L'exposition de la limnée aux miracidiums	54
C. L'élevage des mollusques	54
D. Suivi des émissions cercariennes	54

E. Mesure de la coquille	55
F. Dissection des cadavres	57
V. - Paramètres étudiés	57
VI. - Tests statistiques	57
 CHAPITRE TROISIÈME : Les caractéristiques de l'infestation fasciolienne chez	
<i>Lymnaea truncatula</i>	59
I. - La survie de <i>Lymnaea truncatula</i> au cours de l'expérience	59
II. - Prévalence de l'infestation fasciolienne	62
III. - Fréquence des limnées avec émission	63
IV. - Croissance des limnées avec émission	65
V. - Durée des périodes prépatente et patente	68
VI. - Les métacercaires de <i>Fasciola hepatica</i>	68
VII. - Cas des métacercaires flottantes	70
 CHAPITRE QUATRIÈME : Émissions cercariennes de <i>Fasciola hepatica</i> et	
périodicité	74
I. - Dynamique de la production cercarienne	74
A. Distribution numérique au cours de la période patente	74
B. Les autocorrélogrammes	77
II. - Les vagues d'émission	80
 CHAPITRE CINQUIÈME : Les rédies et leur contenu à la mort des mollusques	
parasités par <i>Fasciola hepatica</i>	84
I. - Nombre de mollusques étudiés	84
II. - La charge rédienne	86
A. Nombre total des rédies indépendantes	86
B. Nombre de rédies par génération	88
III. - Le contenu intra-rédien	90
A. Nombre de rédies étudiées	90
B. Les masses germinatives résiduelles	90

	Pages
IV. - Les cercaires indépendantes	94
CHAPITRE CINQUIÈME : Commentaires	95
I. - Synthèse	95
A. Caractéristiques de l'infestation fasciolienne	95
B. Les émissions cercariennes de <i>Fasciola hepatica</i>	96
C. La charge parasitaire dans les cadavres de mollusques	96
II. - Discussion	97
A. Les faibles performances des miracidiums dans les groupes lapins	97
B. La production élevée de cercaires dans les séries ragondins	98
C. Le meilleur développement de la charge rédienne dans les séries bovins	99
D. L'absence de rythme infradien dans les émissions cercariennes de <i>Fasciola hepatica</i>	100
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES	101
BIBLIOGRAPHIE	104

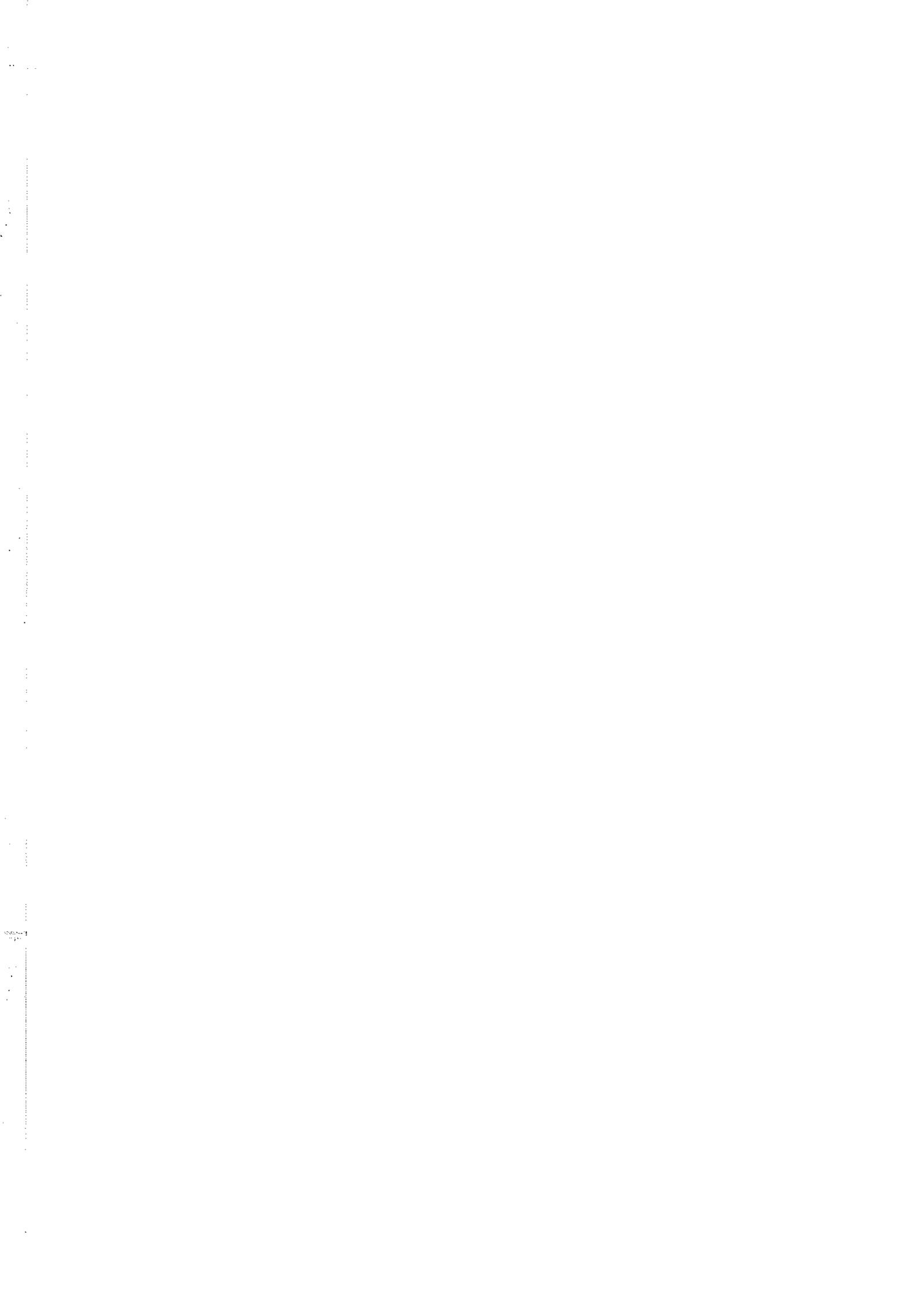
-oOo-

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Dans le monde du vivant, il est fréquent que l'homme se serve de l'animal à des fins personnelles, qu'elles soient d'ordre économique ou alimentaire. Mais il y a des exceptions. C'est le cas du parasitisme car un certain nombre de Protozoaires ou d'Helminthes se développent aux dépens de l'être humain qu'ils ont infesté. La mortalité que le paludisme a provoqué chez les populations africaines au cours du siècle dernier (revue de RIPERT, 1996) nous montre que les conséquences d'un tel comportement ne sont pas négligeables pour la santé humaine.

Parmi les maladies parasitaires qui sont connues chez l'homme, citons la distomatose à *Fasciola hepatica*. Pour accomplir son cycle évolutif, la douve a besoin de deux hôtes, l'un définitif qui héberge le Digène sous sa forme adulte, et l'autre intermédiaire (un mollusque) qui assure le développement des formes larvaires (sporocyste, rédies, cercaires). Ce sont ces dernières qui sortent du mollusque pour aller s'enkyster sur la végétation (stade métacercaire) permettant ainsi la contamination de l'homme lorsque ces plantes sont consommées crues.

Les émissions cercariennes de *F. hepatica* à partir de l'hôte intermédiaire ont été étudiées d'un point de vue expérimental en utilisant des miracidiums issus d'oeufs prélevés chez des bovins ou des ovins (KENDALL et McCULLOUGH, 1951 ; AUDOUSSET *et al.*, 1989 ; DREYFUSS et RONDELAUD, 1994a). Un travail récent de RONDELAUD et



DREYFUSS (1995) démontre que les caractéristiques de l'infestation parasitaire chez le mollusque ne sont pas les mêmes lorsque les miracidiums utilisés proviennent d'oeufs de *F. hepatica* récoltés chez différents Mammifères. Le nombre de cercaires émises est ainsi plus faible chez les mollusques infestés avec des larves écloses à partir d'oeufs prélevés chez des lapins que chez des limnées parasitées avec des miracidiums provenant de bovins ou d'ovins.

Le problème qui pose question à l'heure actuelle se rapporte à ce dernier travail. RONDELAUD et DREYFUSS (1995) ont limité leur étude au nombre de cercaires fournies par les mollusques des différentes séries et n'ont pas analysé la distribution numérique de ces larves dans le temps afin de noter l'existence d'un rythme éventuel. Il nous est apparu nécessaire de reprendre ces travaux en soumettant la même population de limnées à des infestations expérimentales avec plusieurs isolats de miracidiums, différant par la nature de l'hôte définitif.

C'est la raison pour laquelle nous nous sommes posé les trois questions suivantes :

- 1) Est-ce que l'hôte définitif, d'où sont issus les oeufs de *F. hepatica*, a une influence sur le nombre de cercaires qui sortent du mollusque hôte ?
- 2) Est-ce-que le déroulement des émissions dans le temps est modifié lorsque l'on utilise des oeufs prélevés chez des Mammifères différents ?
- 3) Quelles sont les caractéristiques de la charge parasitaire lorsque le mollusque meurt après une émission cercarienne ?

Pour répondre à ces trois questions, une expérimentation a été réalisée en soumettant deux populations de mollusques (*Lymnaea truncatula* dans ce cas) à quatre isolats de miracidiums provenant de bovins, de moutons, de lapins et de ragondins.

Les résultats de cet essai nous ont été confiés pour réaliser notre mémoire de thèse. Pour les exposer, nous avons adopté le plan suivant :

- Le chapitre premier présente des rappels sur le parasite, son cycle évolutif et ses hôtes. Les cercaires de *F. hepatica* et les facteurs capables d'influencer les émissions sont plus particulièrement traitées dans les deux dernières subdivisions.

- Le chapitre deuxième détaille le matériel biologique, le protocole de l'expérience, les techniques utilisées et les paramètres étudiés.

- Le chapitre troisième expose les résultats que nous avons obtenus sur les caractéristiques de l'infestation dans les huit séries expérimentales.

- Le chapitre quatrième regroupe les informations sur la périodicité dans la distribution journalière des cercaires et les vagues d'émission.

- Le chapitre cinquième traite de la charge parasitaire restant dans les mollusques à leur mort.

- Enfin, le dernier chapitre correspond à une synthèse de ces données et à leur interprétation par rapport aux éléments parus dans la littérature sur ce point.

***Fasciola hepatica* ET SES HÔTES**

Le but de ce chapitre est de présenter le parasite, son cycle évolutif et son développement chez l'hôte définitif ou le mollusque.

Le plan s'articule en quatre paragraphes. Le premier fournit des indications générales sur le cycle évolutif de *F. hepatica* et ses hôtes. Le second traite des émissions cercariennes tandis que les deux dernières subdivisions se rapportent à l'influence de facteurs sur les émissions cercariennes et à des commentaires spécifiques.

La plupart des informations exposées dans ce chapitre proviennent de revues générales sur *F. hepatica* : TAYLOR, 1965 ; BORAY, 1969 ; EUZEBY, 1971 ; ANDREWS, 1999. D'autres données nous ont été fournies par des thèses : DREYFUSS, 1994 ; BARRET, 1996.

I. - *Fasciola hepatica*.

A. PRÉSENTATION DU PARASITE.

La position systématique de l'espèce est la suivante :

- Embranchement des Plathelminthes,
- Classe des Digènes,

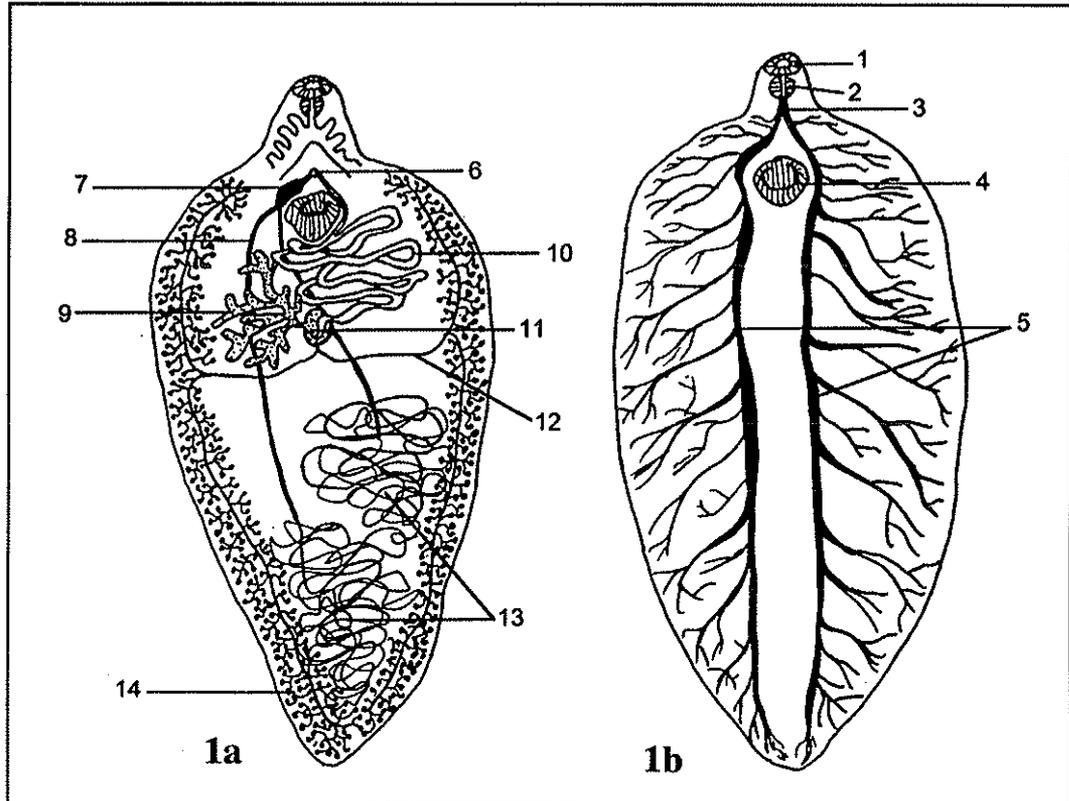


Figure 1.
 Les appareils génital (1a) et digestif (1b) de
Fasciola hepatica adulte (d'après ANDREWS, 1999).

- | | |
|----------------------|------------------------------------|
| 1. Ventouse orale | 8. Canal déférent |
| 2. Pharynx | 9. Ovaire |
| 3. Oesophage | 10. Utérus |
| 4. Ventouse ventrale | 11. Ootype |
| 5. Caecums digestifs | 12. Canal des glandes vitellogènes |
| 6. Pore génital | 13. Testicules |
| 7. Sac du cirre | 14. Glande vitellogène |

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

Comme tout Digène, ce parasite nécessite deux hôtes pour accomplir son cycle évolutif. La forme adulte ne se rencontre que chez des Vertébrés. C'est la raison pour laquelle la figure 1 présente la morphologie et la structure interne de ce stade.

F. hepatica possède un corps aplati, de forme triangulaire et de couleur jaune-brunâtre à l'état frais. Sa longueur est comprise entre 20 et 30 mm alors que sa largeur maximale est de 8 à 13 mm. L'épaisseur est relativement faible : moins d'un millimètre. A la partie antérieure du corps, deux épaules forment une zone élargie sur laquelle s'insère un cône céphalique. A l'oeil nu, on peut distinguer deux ventouses : l'une percée, au sommet du cône céphalique (ventouse buccale), l'autre au milieu de la région scapulaire (ventouse ventrale). La première a un rôle dans l'alimentation tandis que la seconde sert à la fixation de l'animal dans les canaux biliaires de son hôte.

L'anatomie interne de *F. hepatica* est complexe. Deux appareils sont particulièrement développés chez cette espèce. Le premier est constitué d'un pharynx musculeux, suivi d'un court oesophage se prolongeant par deux caecums ramifiés se terminant en cul-de-sac.

L'appareil génital comprend :

- deux testicules localisés dans la partie moyenne de l'animal. Les canaux déférents issus de ces glandes se réunissent en un conduit commun, lequel se dilate pour former une vésicule séminale.

- un ovaire situé sur l'un des côtés du corps. De l'ovaire, part un oviducte qui se termine dans l'ootype (cavité où se forment les oeufs). Cet organe se poursuit par l'utérus qui s'ouvre au niveau du pore génital.

- des glandes vitellogènes qui s'étendent de la région scapulaire à la région postérieure sous forme de deux bandes latérales très ramifiées. Les deux canaux s'unissent rapidement en un conduit commun, lequel débouche dans l'ootype.

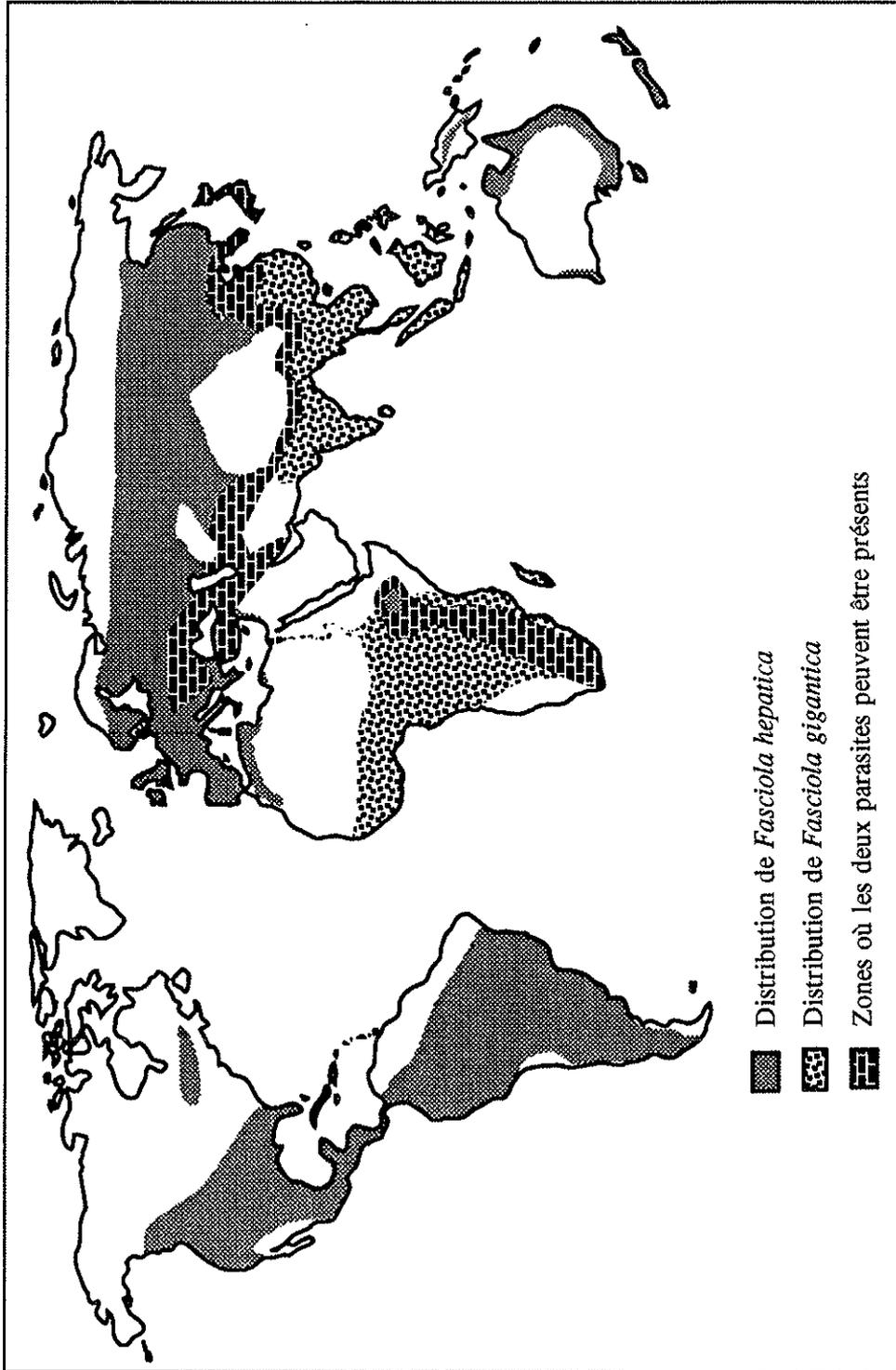


Figure 2.
 La répartition géographique des distomatoses à *Fasciola hepatica* et à *F. gigantica* dans le monde (d'après TORGERSON et CLAXTON, 1999).

Les oeufs sont ovoïdes et mesurent en moyenne 130 μm de long sur 70 μm de large. Ils présentent un opercule unipolaire. Ils sont constitués d'un zygote (cellule résultant de la fusion d'un ovule et d'un spermatozoïde) et de cellules vitellines.

B. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE.

D'après EUZEBY (1971), ce parasite "se rencontre dans tous les pays où le climat (humidité, température) favorise le développement exogène" des larves. Sa distribution est donc optimale dans les régions sous climat tempéré.

Nous nous sommes servi de la carte que TORGERSON et CLAXTON (1999) proposent pour la distribution mondiale des deux distomatoses à *F. hepatica* et à *F. gigantica*. Cette illustration est présentée sur la figure 2. Si l'on ne considère que la première parasitose, on peut formuler les commentaires suivants :

- 1) La maladie est présente dans la plupart des pays situés en Europe et sur le continent asiatique lorsqu'ils sont sous climat tempéré. Malgré cette condition, la parasitose cohabite avec celle à *F. gigantica* lorsqu'on descend vers le sud.

- 2) Sur le continent américain, la distomatose à *F. hepatica* se rencontre dans la plupart des pays situés dans le Centre et le Sud. Par contre, elle est absente du nord-est des États-Unis et de la plus grande partie du Canada.

- 3) Sa répartition est plus limitée en Afrique et en Océanie. Sur le premier continent, la parasitose est présente dans le Maghreb et dans une zone située à l'est de l'Afrique, depuis le Kenya jusqu'à l'Afrique du Sud (où sa localisation se superpose à celle de *F. gigantica*). Dans le cas de l'Océanie, elle existe sur le pourtour est de l'Australie et en Nouvelle-Guinée.

La fasciolose est inconnue dans les régions de haute latitude nord (Islande, nord des Pays Scandinaves) ainsi qu'au pôle Sud. Les températures basses, qui règnent dans ces régions, ne permettent pas le développement des oeufs.

Cette revue montre que la parasitose est quasi-cosmopolite et que sa répartition est limitée par l'existence de conditions climatiques extrêmes.

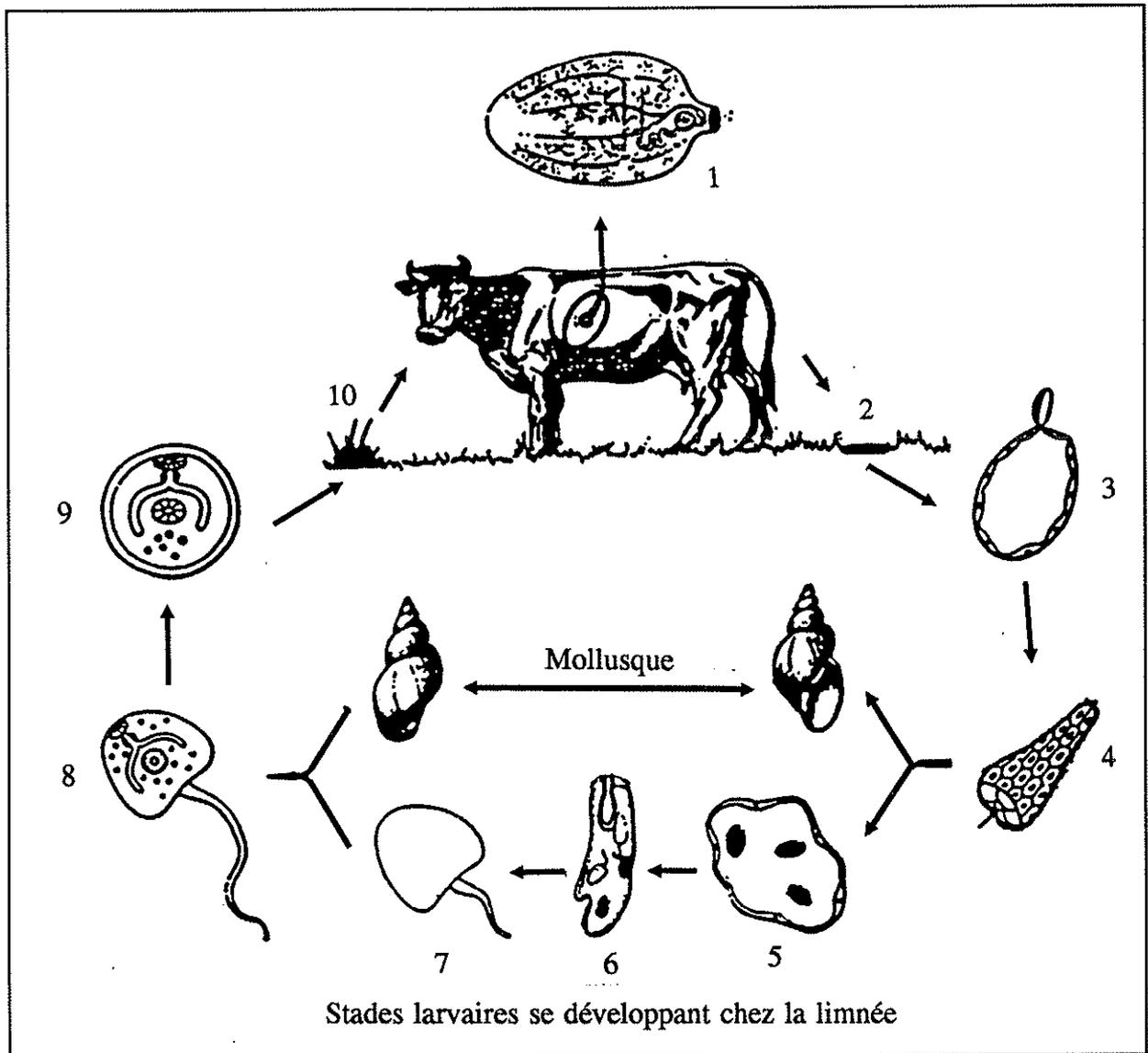


Figure 3.
Un exemple de cycle évolutif pour *Fasciola hepatica* :
celui de VAN DEN BRUEL, 1968, modifié.

- | | | | |
|---|--|----|---|
| 1 | Adulte. | 6 | Rédie. |
| 2 | Matières fécales avec les oeufs du Digène. | 7 | Procercaire. |
| 3 | Oeuf éclos. | 8 | Cercaire émise. |
| 4 | Miracidium. | 9 | Métacercaire. |
| 5 | Sporocyste. | 10 | Herbe contaminée par les métacercaires. |

C. CYCLE ÉVOLUTIF.

Il fait intervenir deux hôtes successifs : l'un est le siège de la reproduction sexuée (hôte définitif) tandis que dans l'autre (hôte intermédiaire), se produit une multiplication asexuée. Comme dans la plupart des cycles de Digènes à deux hôtes, on peut distinguer quatre étapes (Figure 3).

- 1) La contamination de l'hôte définitif (un Mammifère ou un Oiseau). L'infestation de celui-ci s'effectue par l'ingestion d'herbe sur laquelle sont fixés des parasites. Ces larves se désenkystent dans l'estomac, traversent la paroi duodénale et gagnent le foie où elles effectuent une migration intra-parenchymateuse et gagnent les canaux biliaires. C'est dans ce dernier site que les douves deviennent adultes. Les oeufs sont évacués par la bile avant d'être rejetés à l'extérieur avec les fèces de l'animal.

- 2) L'incubation de l'oeuf dans le milieu extérieur. Si l'oeuf trouve des conditions satisfaisantes de température et d'humidité, il poursuit son développement lors d'une incubation dont la durée dépend des paramètres climatiques. Au terme de ce processus, se produit l'éclosion qui libère un miracidium. Ce dernier se présente sous la forme d'un organisme cilié qui se déplace en nageant dans l'eau pour y rechercher un hôte intermédiaire.

- 3) Le développement larvaire chez cet hôte (un mollusque d'eau douce). Après sa pénétration dans ce dernier, la larve se transforme en un sporocyste qui va grossir et former une première génération de rédies. Celles-ci vont produire à leur tour des rédies filles (qui assurent la continuité du cycle) et des cercaires (dont l'évolution conduira à la formation des futurs adultes). Ces larves sortent du mollusque à partir de la 6^e ou de la 7^e semaine de développement larvaire pour se déplacer dans le milieu extérieur.

- 4) La transformation des cercaires en métacercaires. Après une nage de quelques minutes, les parasites se fixent sur une plante aquatique ou à la surface de l'eau pour se transformer en métacercaires. Ces dernières sont des formes de résistance car elles s'entourent d'un kyste à deux couches. Grâce à ce dernier, elles peuvent supporter les conditions hivernales et rester en vie pendant 6 mois jusqu'au printemps suivant. Si un hôte définitif les absorbe avec sa nourriture, le cycle continue.



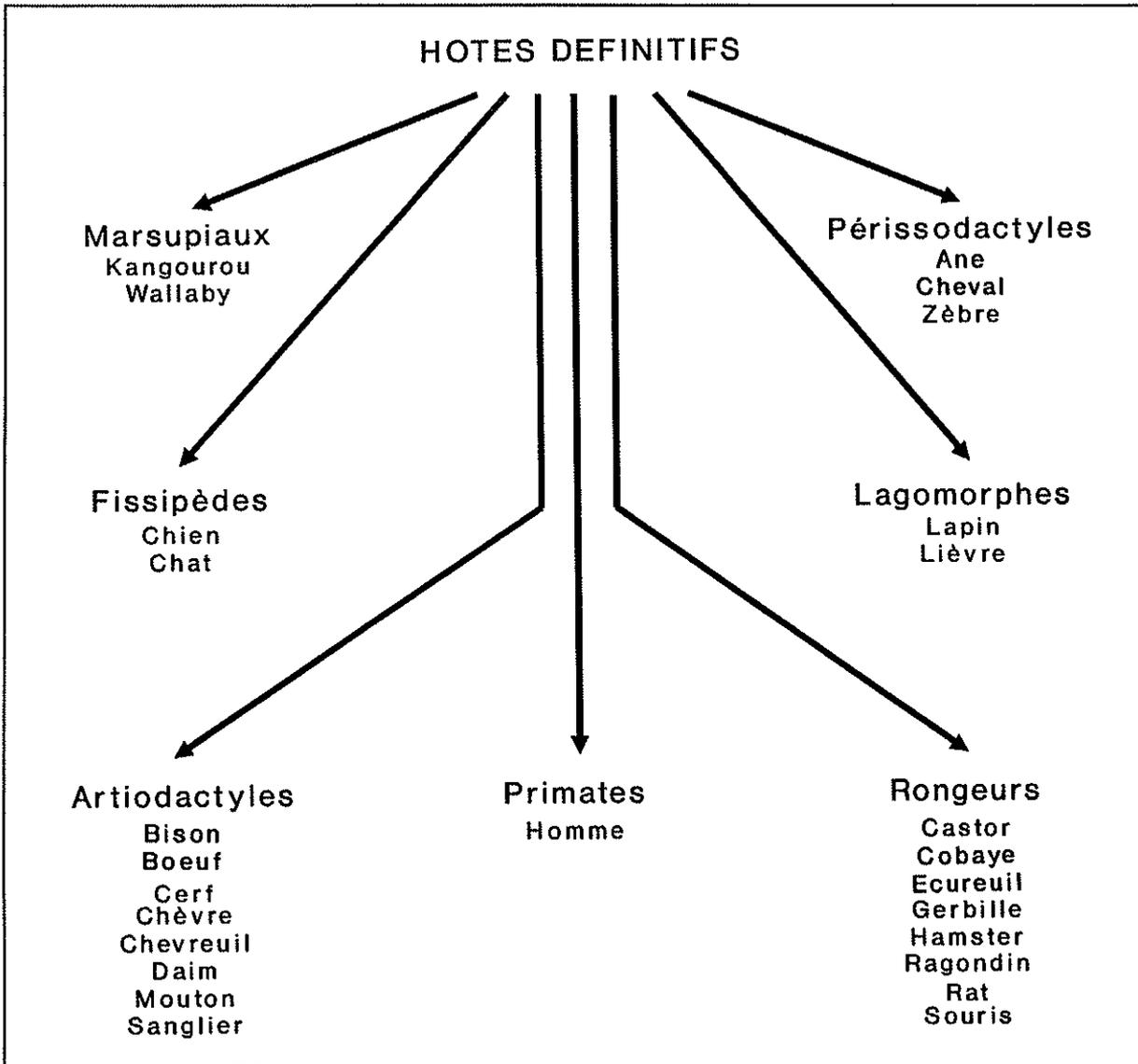


Figure 4.
 Les principales espèces de Mammifères reconnues par BORAY (1969) et par ANDREWS (1999) comme des hôtes définitifs de *Fasciola hepatica*. L'organigramme présenté ici est celui fourni par TAPIE (1996).

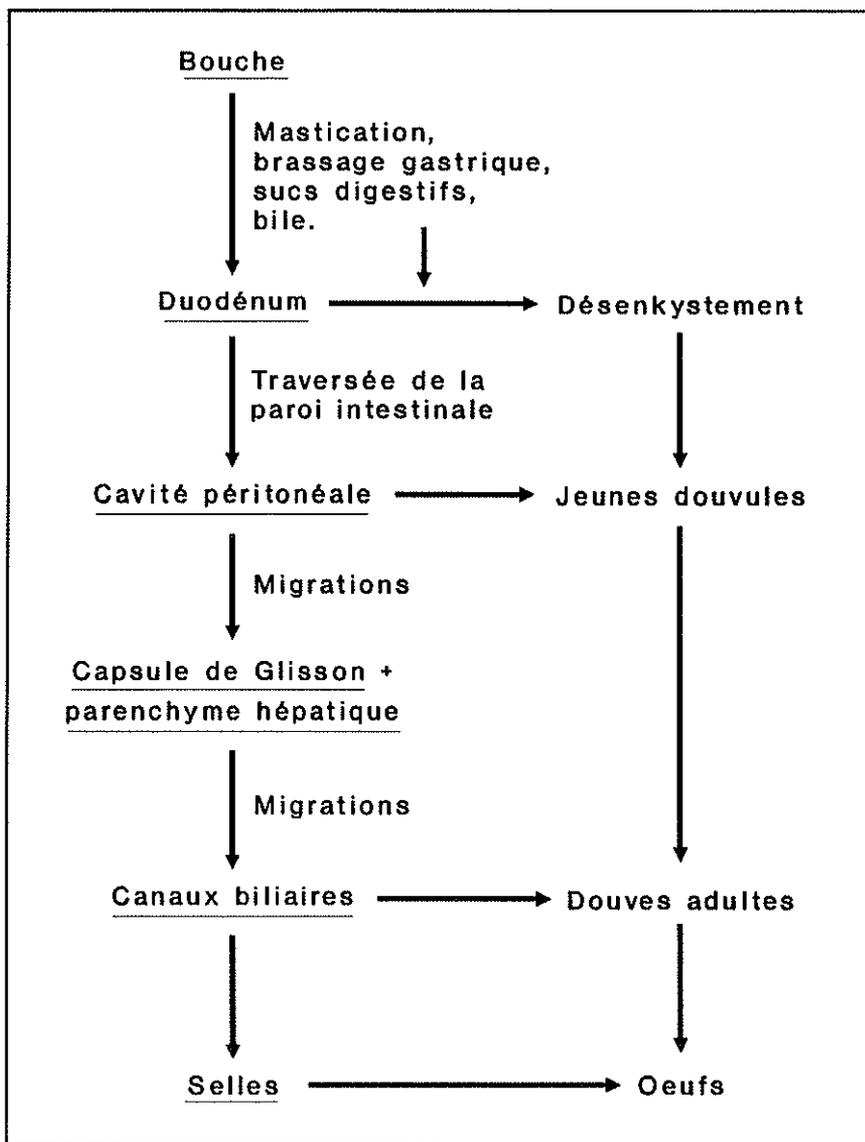


Figure 5.
Organigramme montrant l'évolution du parasite chez son hôte définitif.

D. LES HÔTES DÉFINITIFS.

1. Les différents taxons concernés.

F. hepatica peut se développer chez de nombreux hôtes définitifs appartenant aux Mammifères et, plus rarement, aux Oiseaux. L'organigramme de la figure 4 présente les principaux Mammifères qui peuvent être infestés par ce parasite :

- les bovins, les ovins et les caprins sont les plus fréquemment contaminés et constituent de ce fait le réservoir de la distomatose à *F. hepatica*. La longévité du parasite est maximale chez les ovins (plusieurs années contre 18 mois à 2 ans chez les bovins) ; c'est la raison pour laquelle les moutons représentent une source de contamination majeure.

- d'autres animaux domestiques comme le chien, le chat et le cheval sont des hôtes définitifs plus rares du parasite.

- des espèces sauvages peuvent également être atteintes de la distomatose à *F. hepatica*. Il s'agit de Ruminants sauvages comme les cerfs, de certains Marsupiaux, de Lagomorphes et de Rongeurs.

2. Le développement du parasite chez son hôte.

La figure 5 montre les différentes étapes dans le développement du parasite, depuis la métacercarie jusqu'à la forme adulte de l'espèce.

Une heure après l'ingestion de la larve, celle-ci commence à se désenkyster. Cette opération est progressive et s'effectue en deux étapes :

- La première, de nature mécanique, se déroule dans la bouche et l'estomac. Y interviennent la mastication et le brassage gastrique. L'humidification par la salive joue un rôle non négligeable.

- La deuxième est de nature enzymatique. Elle s'effectue dans l'estomac et dans le duodénum. Les sucs digestifs de l'hôte et les sécrétions lytiques de la métacercarie elle-même agissent dans cette opération.

Les larves ainsi désenkystées traversent la paroi intestinale et atteignent la cavité péritonéale. Dans l'abdomen, les jeunes douves absorbent le tissu dans lequel elles progressent.

Un chimiotactisme positif les attire vers le foie. Elles perforent rapidement la capsule de Glisson avant de gagner le parenchyme hépatique dans lequel elles effectuent une migration pendant 6 semaines environ. Au terme de ce délai, les douves adultes s'installent dans les canaux biliaires de l'hôte et pondent alors des oeufs.

3. Les conséquences du parasitisme.

L'infestation d'un Mammifère par *F. hepatica* s'accompagne de conséquences physiopathologiques :

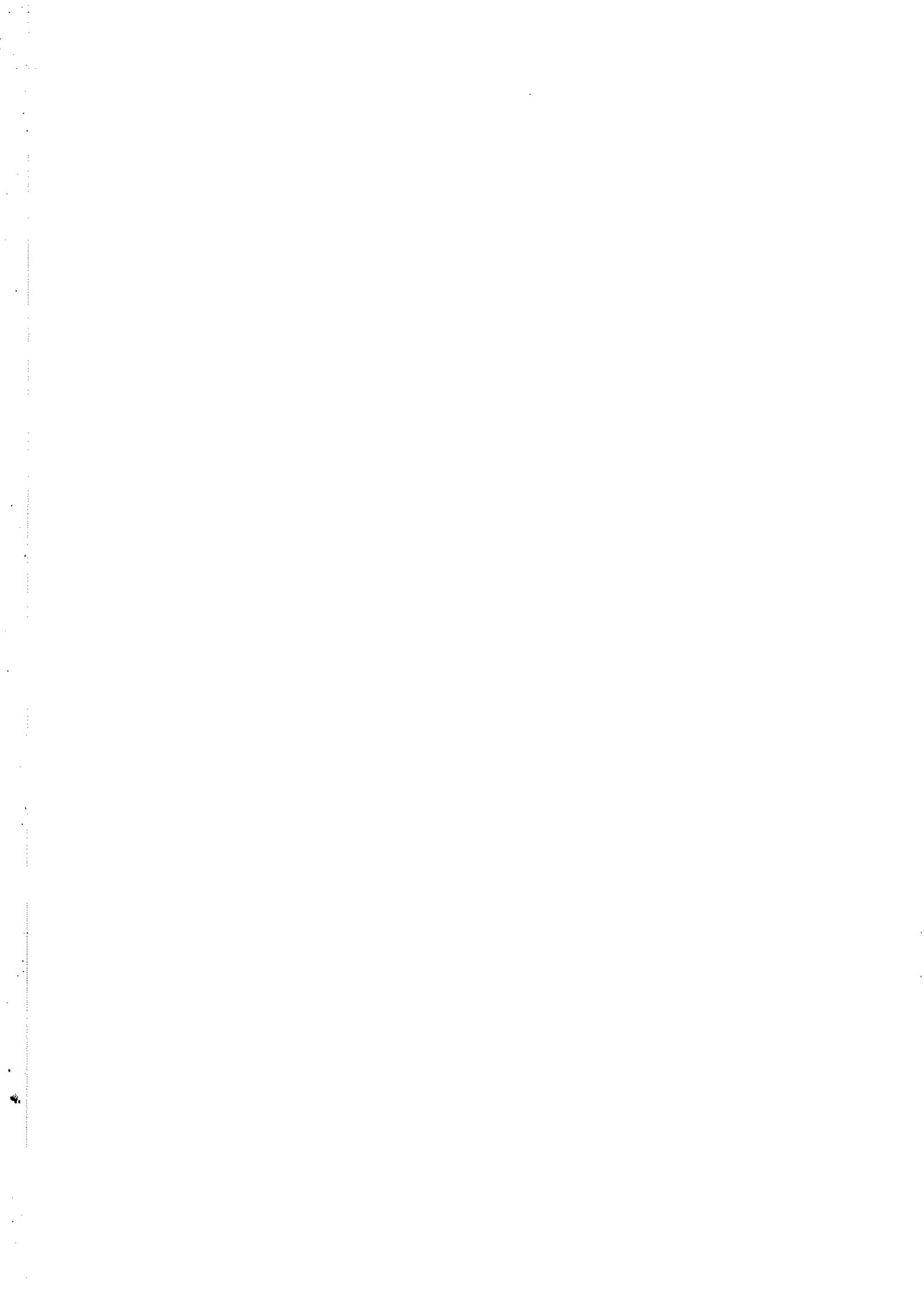
- 1) des lésions du parenchyme hépatique liées aux déplacements des jeunes douves dans celui-ci et des perturbations métaboliques dues au parasite lui-même.

- 2) une fibrose et une calcification des canaux biliaires lorsque les douves adultes se fixent dans ces derniers.

La gravité de l'atteinte hépatique dépend de la charge parasitaire de l'hôte. Si les métacercaires sont nombreuses, les formes de cette distomatose sont aiguës et peuvent être mortelles ; les formes chroniques, survenant lorsque le nombre de parasites est plus faible, entraînent surtout des pertes économiques dans le cas des Mammifères d'élevage. D'après MAGE (1988), le parasite est responsable :

- d'un ralentissement de la croissance et d'une diminution de la production de viande,
- d'une baisse de la fertilité,
- d'une réduction de la production de lait et d'une altération de sa qualité,
- d'une diminution de la quantité de laine récupérée,
- de la saisie de foies contaminés dans les abattoirs.

A toutes ces pertes, s'ajoute le coût des traitements préventifs et curatifs, administrés aux animaux.



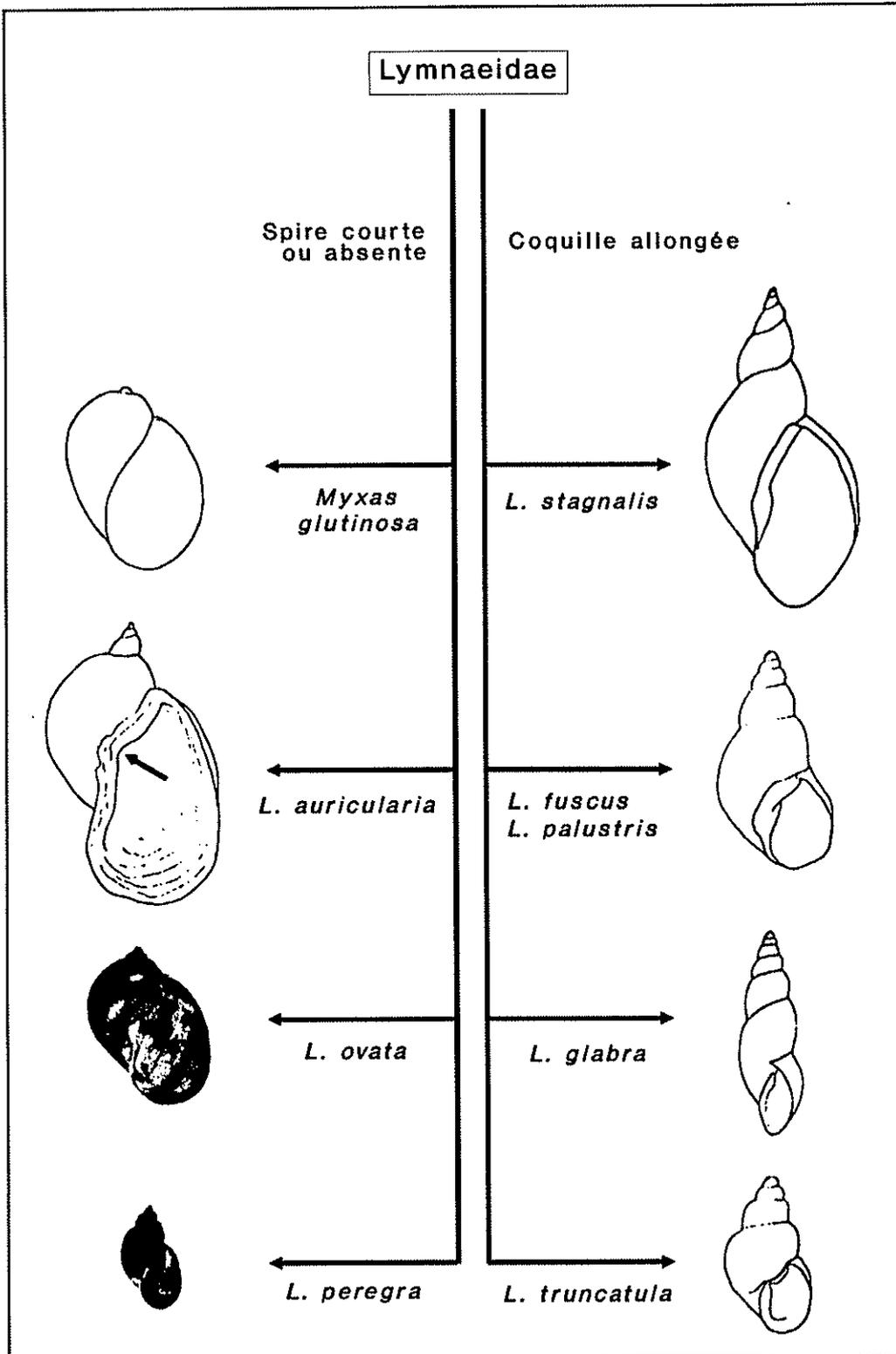


Figure 6.
Organigramme présentant les critères qui permettent d'identifier les limnées françaises (d'après RONDELAUD, 1998). Les illustrations sont celles de POSTAL (1984) et d'ØKLAND (1990).

Espèces de limnées françaises	Rôle comme hôte intermédiaire dans le développement larvaire de <i>Fasciola hepatica</i>	
	BORAY (1978) et travaux postérieurs	ABROUS (1999)
<i>Lymnaea truncatula</i>	Pas de résistance. Relations "normales" entre la limnée et son parasite	-
<i>L. fuscus</i> <i>L. glabra</i> , <i>L. ovata</i> , <i>L. palustris</i> , <i>L. peregra</i> , <i>L. stagnalis</i> , <i>Myxas glutinosa</i>	Résistance partielle due à l'âge. Seuls les jeunes sont capables d'assurer le développement complet de <i>F. hepatica</i> avec émission de cercaires.	Les préadultes de <i>L. fuscus</i> , de <i>L. glabra</i> et de <i>L. palustris</i> sont capables d'assurer le développement de <i>F. hepatica</i> s'ils sont co-infestés par un autre Digène, <i>Paramphistomum daubneyi</i> .
<i>L. auricularia</i>	Résistance totale.	-

Tableau I.
La sensibilité des différentes espèces de limnées vivant en France par rapport au développement larvaire de *Fasciola hepatica*.

E. LES HOTES INTERMEDIAIRES.

1. Les taxons concernés.

Différentes espèces de Mollusques Lymnaeidae ont été signalées par les auteurs pour leur aptitude à assurer le développement larvaire de *F. hepatica*. Dans leur revue, TORGERSON et CLAXTON (1999) fournissent une liste de 19 espèces que l'on peut ramener à 13 si l'on revoit les dénominations par rapport au travail d'HUBENDICK (1951). Parmi ces noms, GRACZYK et FRIED (1999) citent *L. truncatula* comme hôte intermédiaire préférentiel lorsqu'elle est présente. *L. cubensis*, *L. viatrix* en Amérique Centrale et du Sud, ainsi que *L. tomentosa* en Australie et en Nouvelle-Zélande ont aussi un rôle important comme mollusques hôtes dans la transmission de la maladie.

Cependant toutes ces espèces n'ont pas les mêmes capacités pour assurer ce développement larvaire. Dans une synthèse, BORAY (1978) indique que toutes les populations de *L. truncatula* ont des relations "normales" avec les formes larvaires du parasite tandis que d'autres espèces ne peuvent assurer ce développement que s'il y a adaptation entre les deux partenaires (cas de *L. tomentosa* par exemple). Un certain nombre de limnées ne peuvent exercer cette fonction que si elles sont infestées dans leurs premiers jours de vie (cas de *L. glabra*, de *L. ovata*, de *L. peregra* ou de *L. palustris* par exemple). Enfin, certaines espèces sont complètement réfractaires.

La figure 6 fournit les critères qui permettent d'identifier la plupart des espèces françaises. La morphologie de ces mollusques est variable, allant d'une coquille à "ouverture en forme d'oreille" (*L. auricularia*) jusqu'à une forme turriculée de grande taille (*L. stagnalis*) en passant par des limnées d'aspect et de taille intermédiaires entre les précédentes. Le rôle de chaque limnée comme hôte intermédiaire de *F. hepatica* est précisé sur le tableau I. Si l'on fait exception de *L. truncatula* (hôte préférentiel), sept limnées françaises entrent dans le groupe des espèces assurant un développement larvaire lorsqu'elles sont infestées jeunes tandis que *L. auricularia* fait partie des réfractaires.

Cependant les Lymnaeidae ne sont pas les seuls mollusques hôtes de ce Digène. C'est ainsi que deux Planorbidae ont été cités pour leur aptitude : *Bulinus truncatus* (BARTHE et RONDELAUD, 1986) et *Planorbis leucostoma* (ABROUS *et al.*, 1998).

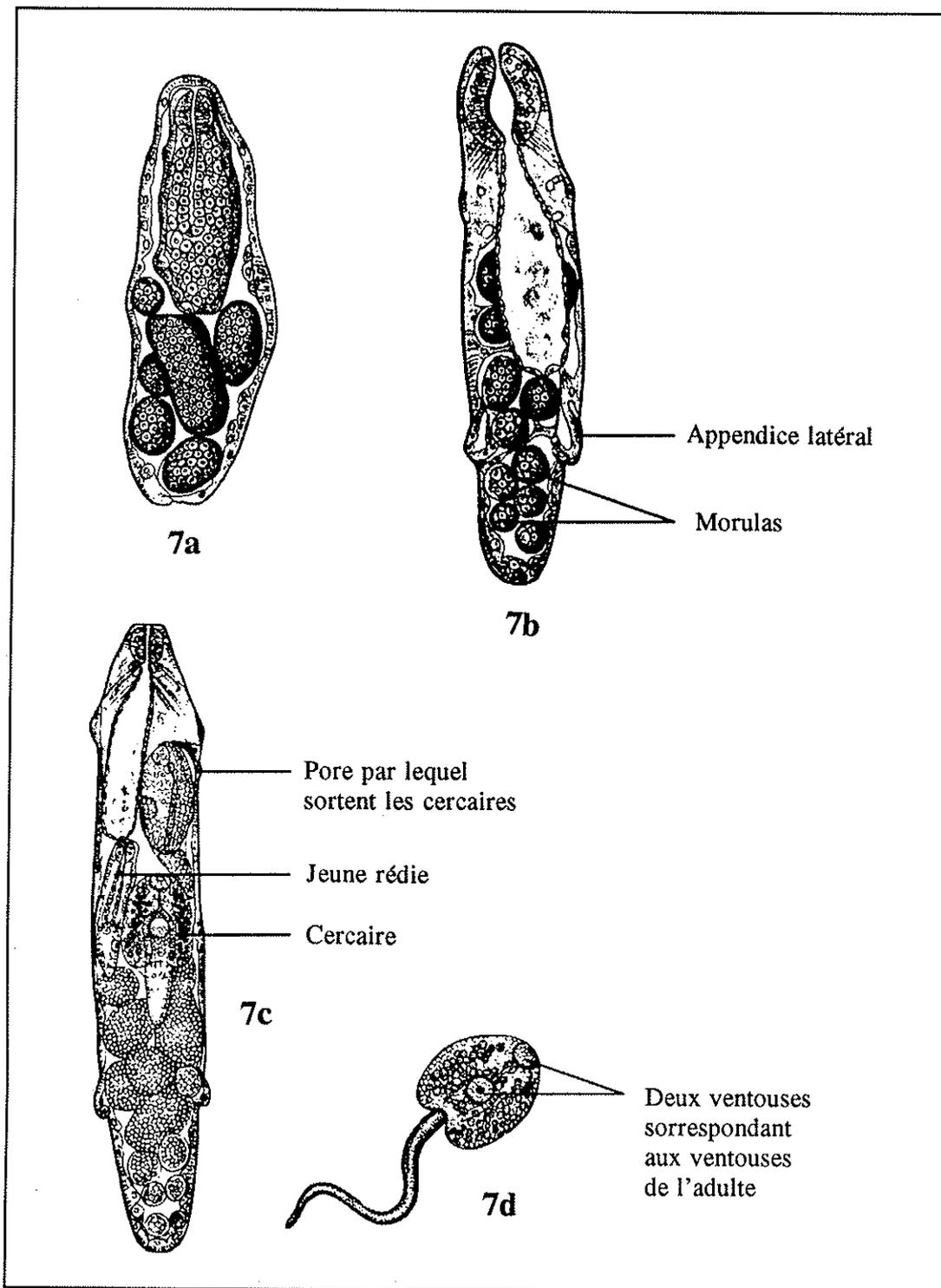


Figure 7.

Les différentes formes larvaires de *Fasciola hepatica* : sporocyste (7a), rédie de première génération (7b), rédie de troisième génération (7c) et cercaire libre (7d) d'après THOMAS, 1883, modifié par ANDREWS, 1999).

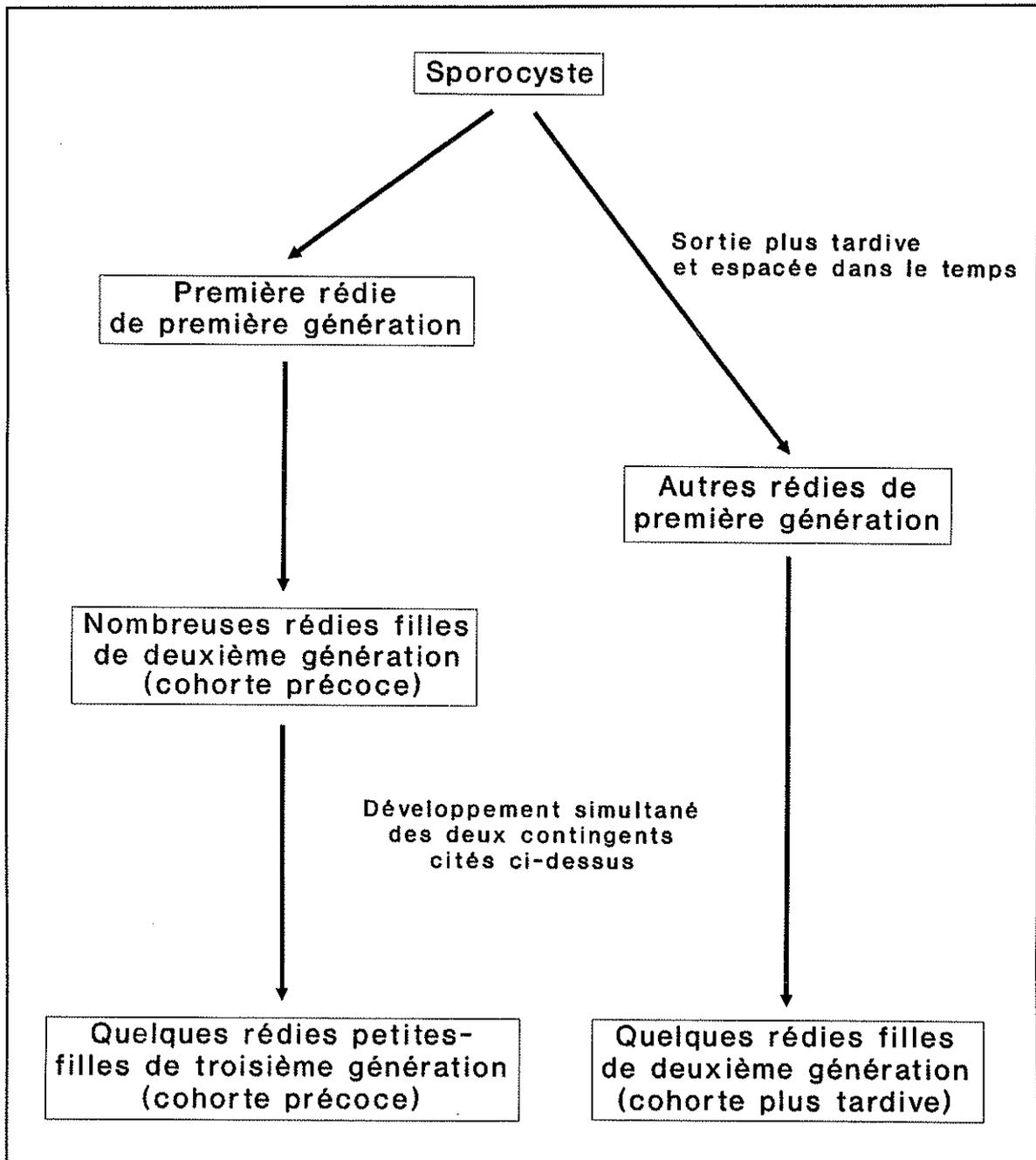


Figure 8.
 Organigramme montrant la succession des générations rédiennes dans le cas de *Fasciola hepatica* (d'après MICHELET, 1997 ; AUGOT *et al.*, 1998).

2. Les formes larvaires chez le mollusque hôte.

Les informations à l'origine de notre propos proviennent des documents suivants : BORAY (1969), DREYFUSS (1994), ANDREWS (1999). La figure 7 provient d'une synthèse de ce dernier auteur et présente les trois stades larvaires que l'on peut rencontrer chez tout mollusque hôte de *F. hepatica*, quelle que soit son espèce.

L'éclosion de l'oeuf libère un miracidium cilié qui se dirige vers une limnée par chimiotropisme. La larve adhère à son hôte et secrète des enzymes cytolytiques qui permettent sa pénétration dans l'un des sinus du mollusque.

Là, le miracidium se transforme en sporocyste (Fig. 7a). Ce dernier est le premier stade larvaire chez l'hôte intermédiaire. Il migre par voie hémolympatique jusqu'à la zone réno-péricardique du mollusque. Il grossit et prend la forme d'un sac contenant des groupes de cellules germinales qui sont à l'origine des futures rédies (de première génération). Le sporocyste, distendu, finit par se rompre en libérant ces dernières larves.

Ces rédies constituent le deuxième stade larvaire. Elles ont une forme cylindrique (Fig. 7b, c) et se déplacent activement en causant un dommage important à la glande digestive du mollusque. Les cellules germinales intra-rédiennes se multiplient pour former des rédies filles si bien que l'on a une succession de trois générations (Fig. 8) :

- La première rédie, qui sort du sporocyste, fournira à elle seule la plupart des rédies filles de deuxième génération.

- Les autres rédies mères de première génération ne produisent qu'un nombre limité de rédies filles.

- Les deux groupes de rédies filles produisent à leur tour des rédies petites-filles.

Ces larves contiennent également des cellules germinales qui se multiplient pour former des morulas qui se différencient progressivement pour former finalement des cercaires. Lorsqu'elles ont terminé leur développement, elles sortent du corps rédien et s'accumulent dans la cavité viscérale du mollusque. C'est le troisième stade larvaire présent chez le mollusque hôte (Fig. 7d).



1

2

Planche A.

La coquille de *Lymnaea truncatula* vue par
la face inférieure (n° 1) et la face supérieure (n° 2).

Crédit photo : Professeur G. DREYFUSS,
Faculté de Pharmacie, Université de Limoges.

3. Quelques données sur *Lymnaea truncatula*.

C'est un Mollusque Gastéropode Pulmoné, de la famille des Lymnaeidae.

Sa morphologie est présentée sur la planche A. La coquille ovoïde mesure 8 à 12 mm de haut sur 3 à 5 mm de large. Elle est constituée de 5 à 6 tours de spire, étagés, convexes et séparés par des sutures profondes. Le dernier tour présente une ouverture ovale et dextre, occupant la moitié de la hauteur du mollusque. La surface de la coquille, de couleur fauve le plus souvent, présente de fines stries longitudinales.

La limnée est amphibie. Constamment immergée pendant l'hiver, elle ne commence à sortir de l'eau qu'au début du printemps. La durée des périodes d'émersion croît jusqu'à l'été, saison au cours de laquelle l'animal est complètement émergé. Ce n'est qu'aux premières pluies de l'automne qu'il reprend progressivement sa vie immergée.

Le développement de *L. truncatula* ne peut se faire que dans un milieu présentant certaines caractéristiques : sol saturé en humidité, luminosité suffisante, température comprise entre 10 et 20° C, présence d'algues pour assurer son alimentation. Quatre types d'habitat répondent à ces critères et constituent donc des zones de développement privilégié pour les limnées sur sol acide (RONDELAUD, 1978) :

- les prairies marécageuses, situées en bordure des cours d'eau,
- les jonchaies de pente ou de plateau,
- les terrains avec des empreintes de sabots,
- les berges de rivière.

L. truncatula est hermaphrodite et capable de s'autoféconder. Il existe deux générations annuelles de limnées :

- la première naît en septembre-octobre, pond de la mi-avril à la mi-juin et disparaît à partir du mois de juillet. Elle subit l'hivernage (période de quiescence du mollusque lorsque la température est inférieure à 10° C).

- la deuxième naît en avril-mai, pond en septembre-octobre et disparaît à partir du mois de novembre. Cette deuxième génération subit l'estivation.

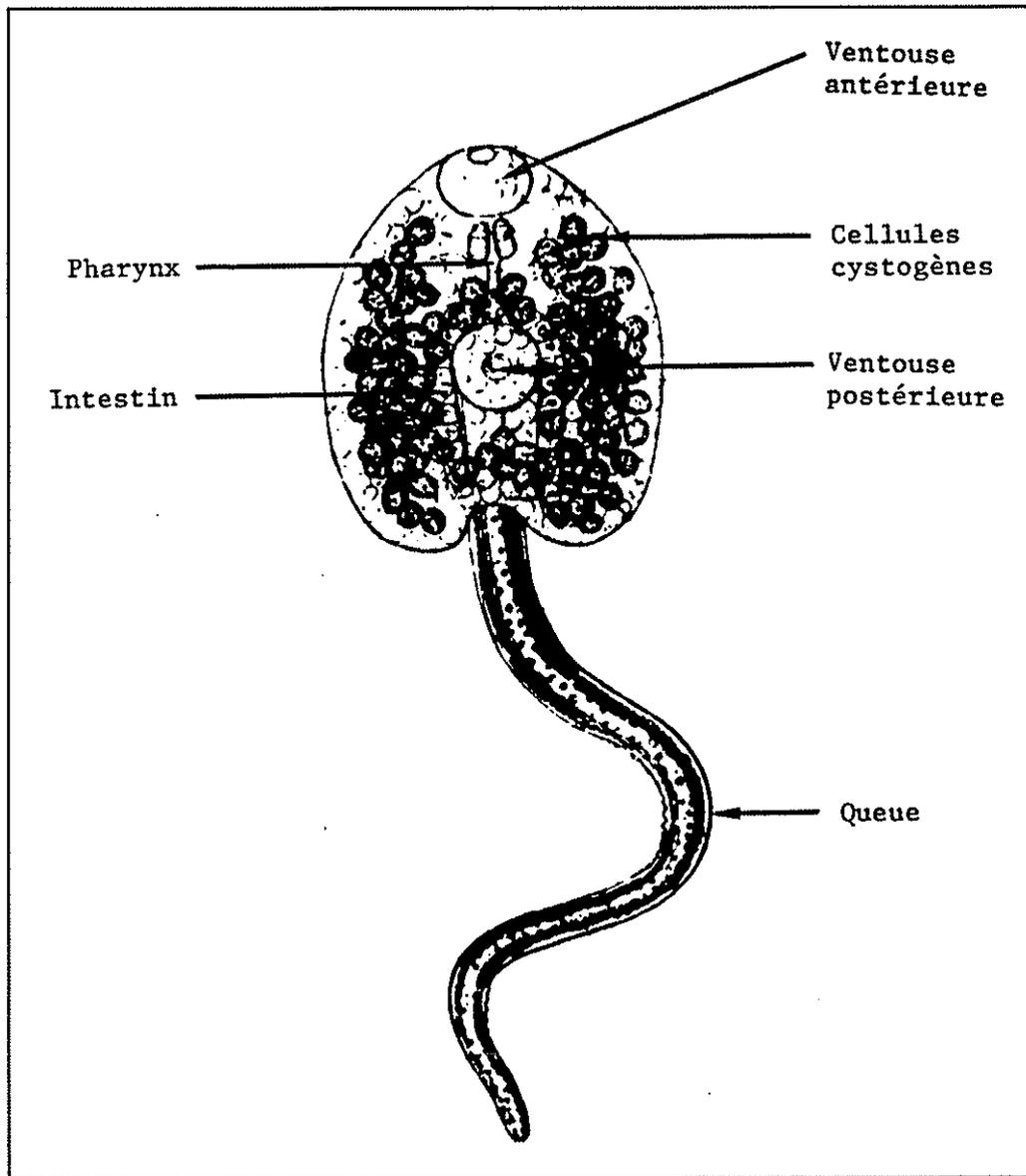


Figure 9.
Schéma montrant la cercaire de *Fasciola hepatica*
(d'après THOMAS, 1883, modifié).

La durée d'incubation des oeufs varie entre 10 et 40 jours selon la température. Les jeunes limnées sont aptes à pondre à partir de la cinquième semaine de vie. Leur longévité n'excède pas un an.

II. - LES CERCAIRES DE *Fasciola hepatica*.

A. LE STADE CERCARIEN.

La cercaire constitue le lien entre l'hôte intermédiaire et l'hôte définitif dans le cycle évolutif de *F. hepatica*. Résultat du développement des rédies chez le mollusque hôte, ce stade larvaire est à l'origine de la formation des métacercaires à partir desquelles s'effectue la contamination de l'hôte définitif.

La morphologie d'une cercaire est présentée sur la figure 9. L'une des extrémités, mince et allongée, constitue la queue. Elle permet la mobilité de la larve dans l'eau. L'extrémité opposée, de forme discoïde, représente le corps. Ce dernier mesure 300 à 350 μm à maturité et contient des organes internes. Deux ventouses, l'une buccale et l'autre ventrale, sont visibles sur le disque somatique. Des papilles se distribuent sur toute la surface tégumentaire de la larve : leur nombre et leur localisation anatomique sont des critères précis qui permettent d'identifier l'espèce du Digène au stade cercarien.

Sur le plan anatomique, on peut distinguer :

- le tube digestif s'ouvre au fond de la ventouse buccale, se poursuit par un pharynx, puis un oesophage avant de se diviser en deux branches intestinales, appelées caecums se terminant en cul-de-sac.

- l'appareil excréteur comprend des cellules à flamme vibratile disposées latéralement. Il s'ouvre au niveau d'un pore excréteur situé dans la partie antérieure de la queue.

- le collier nerveux péri-oesophagien,

- les cellules cystogènes sont à l'origine de la formation du kyste. Elles sont divisées en quatre groupes selon leur localisation anatomique. Chaque groupe élabore une partie distincte du kyste métacercarien.

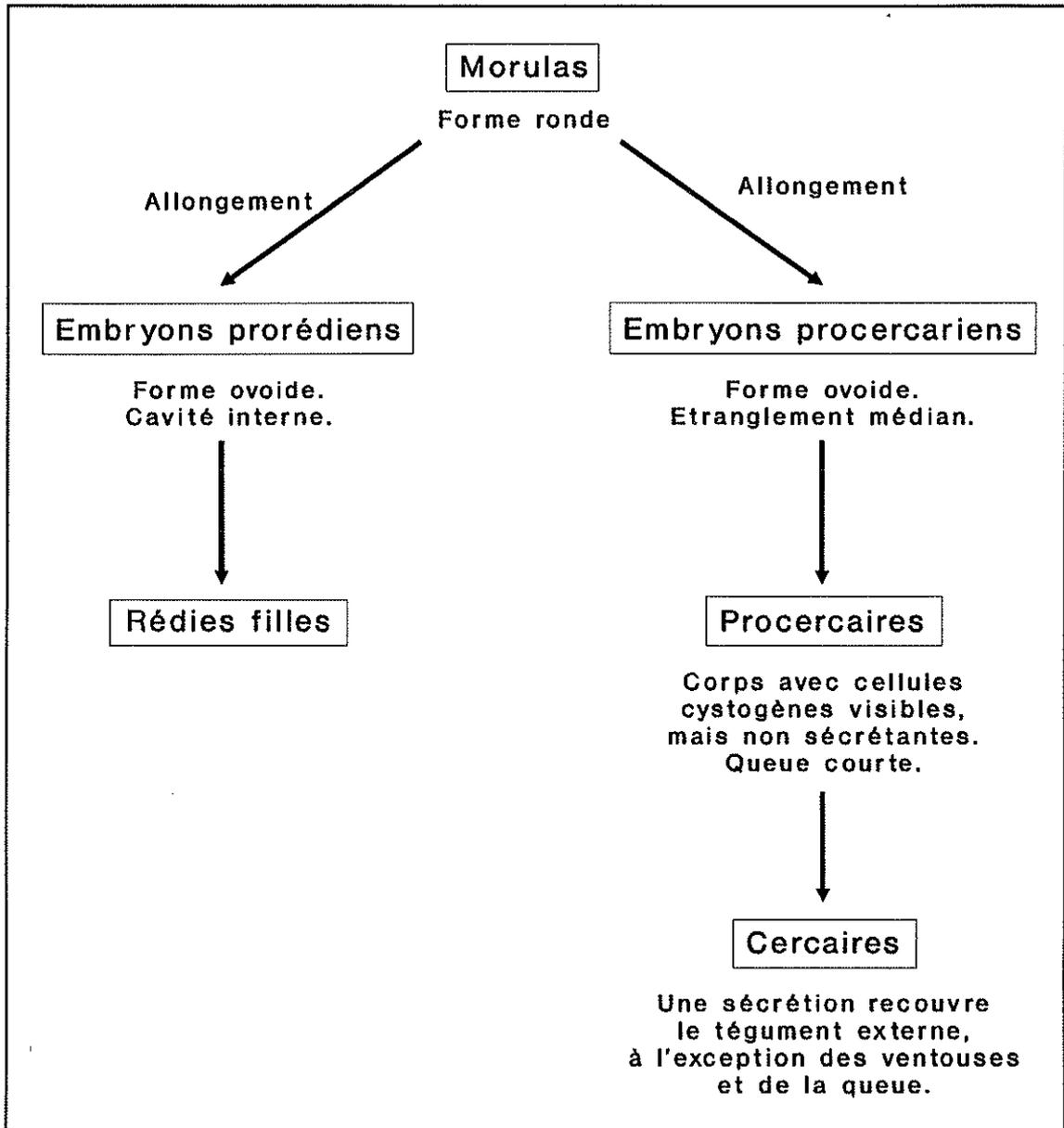


Figure 10.
Organigramme montrant les principales étapes dans
la différenciation des cercaires. Original.

Le stade cercarien a une durée de vie brève, de quelques minutes à quelques heures. Il nage grâce aux ondulations de sa queue vers un support végétal sur lequel il se fixe par sa ventouse ventrale.

B. LA DIFFÉRENCIATION DES CERCAIRES.

Ce processus se déroule à l'intérieur du mollusque hôte. Quatre étapes sont nécessaires à la transformation des morulas intra-rédiennes en cercaires indépendantes :

- le premier stade est constitué par des morulas de forme ronde et de petite taille. Elles se forment par multiplication des cellules germinales. Leur nombre varie selon le mode de développement (typique ou atypique) et la génération rédienne : de 14 à 32.

- le deuxième stade, de forme ovoïde, est celui des embryons procercariens. L'intestin est visible à l'inverse du stade précédent. Le prolongement caudal est absent chez les embryons juste formés mais se voit chez leurs homologues plus différenciés.

- le troisième stade, appelé procercaire, est caractérisé sur le plan morphologique par l'existence d'un corps discoïde et d'une queue courte en cours d'allongement. Les cellules cystogènes sont présentes mais elles n'ont pas encore de sécrétion. Si on les imprègne avec du trichrome de Gabe, elles prennent une coloration jaunâtre ou verte.

- Lorsque la différenciation de ces procercaires est terminée, celles-ci s'échappent activement des rédies pour devenir des cercaires indépendantes, constituant ainsi le quatrième et ultime stade. Le corps de ces dernières est recouvert d'une couche protectrice sécrétée par les cellules cystogènes mais cette dernière ne recouvre pas les ventouses. La queue est alors fonctionnelle.

Les premières cercaires deviennent indépendantes dans le corps de la limnée au 35^e jour environ (à 20° C constant) après l'exposition de celle-ci aux miracidiums. Elles sortent du mollusque à partir du 45^e jour.

Les étapes de la différenciation des morulas en cercaires sont visibles sur la figure 10. A côté de cette voie cercariogène, il existe un autre mode d'évolution moins fréquent : c'est celui de la différenciation en rédies filles en passant par des embryons prorédiens.

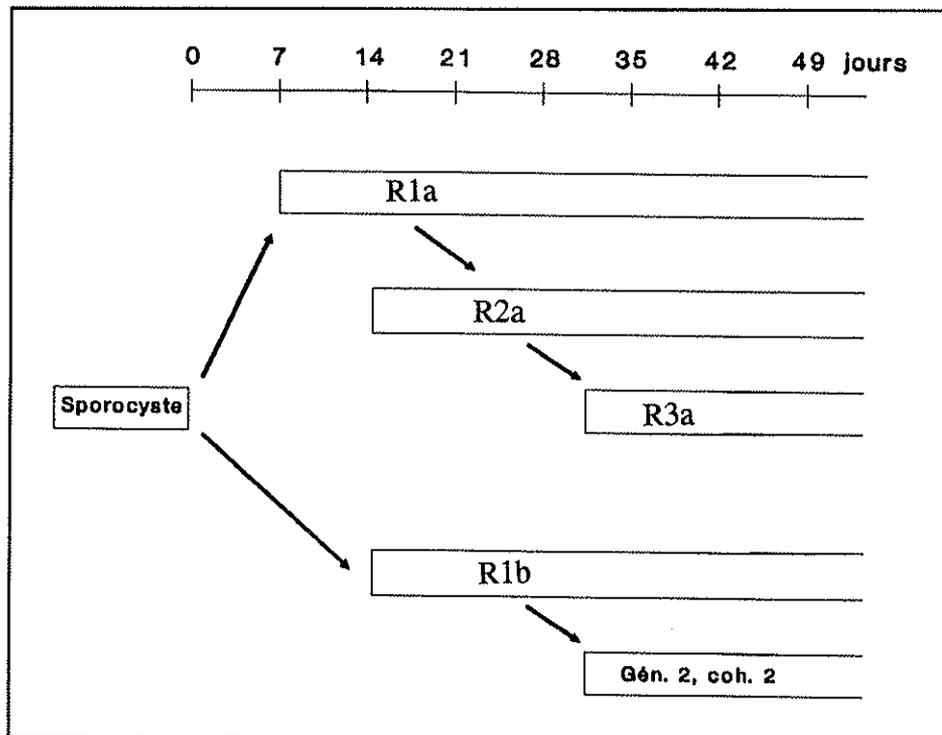


Figure 11.

Organigramme montrant la succession des générations rédiennes de *Fasciola hepatica* et leur chronologie lorsque la première rédie de première génération (rédié R1a) reste en vie au cours du développement larvaire (mode typique). D'après MICHELET, 1997 ; AUGOT, 1998 ; AUGOT *et al.*, 1998.

Groupe rédien*	Nombre de rédiés indépendantes au 63 ^e jour	Nombre de morulas par rédie (évoluant en cercaires)	Nombre total de cercaires produites par mollusque (et pourcentage)
R1b	6,0	16,2	97,2 (28,2 %)
R2a	13,5	16	216 (62,8 %)
R2b/R3a	12,3	2,5	30,7 (8,9 %)

* La rédie R1a ne produit que des rédiés filles (appartenant au groupe R2a).

Tableau II.

La productivité cercarienne de *Fasciola hepatica* chez *Lymnaea truncatula* lorsque le mode de développement rédien est typique (d'après AUGOT, 1998).

C. LEURS VARIATIONS NUMÉRIQUES CHEZ LE MOLLUSQUE.

1. Par rapport au mode de développement rédien.

L'évolution des rédies de *F. hepatica* n'est pas toujours la même chez le mollusque hôte. Deux cas ont été notés en fonction du comportement de la première rédie qui sort du sporocyste. Cette larve de première génération (rédie R1a) peut, en effet, rester en vie tout au long de l'infestation parasitaire chez la limnée et, dans ce cas, le développement des générations rédiennes sera classique (mode typique). Ou bien elle meurt dans les premières semaines qui suivent l'exposition aux miracidiums et la succession des générations en sera perturbée (mode inhabituel).

Les deux possibilités de développement rédien sont envisagées successivement.

a). *Mode typique.*

Dans ce cas, la rédie R1a reste en vie tout au long du développement larvaire. La chronologie des générations rédiennes est montrée sur la figure 11. La première génération de rédies formées à partir du sporocyste comprend deux cohortes : la première qui ne contient qu'une seule rédie (R1a), et la seconde (R1b) qui apparaît sept jours après la première. Chacun de ces groupes rédiens est à l'origine de rédies filles appartenant à la deuxième génération : ces dernières deviennent indépendantes dans le corps du mollusque au 14^e jour pour la première cohorte (R2a) et au 35^e jour pour la deuxième (R2b). Une troisième génération (cohorte R3a) peut aussi s'observer.

Toutes les rédies produisent quelques rédies filles et des cercaires, à l'exception de la larve R1a qui ne fournit que des rédies filles.

Le tableau II présente le nombre de rédies indépendantes au 63^e jour post-exposition, le nombre de morulas intra-rédiennes évoluant en cercaires ainsi que le nombre total de ces larves dans chaque mollusque. La majorité des cercaires est issue des rédies appartenant aux groupes R1b et R2a, alors que 8,9 % d'entre elles proviennent du groupe R2b/R3a. On peut également constater que le groupe R2a est à l'origine de deux fois plus de cercaires que le groupe R1b (62,8 et 28,2 % par ordre respectif).

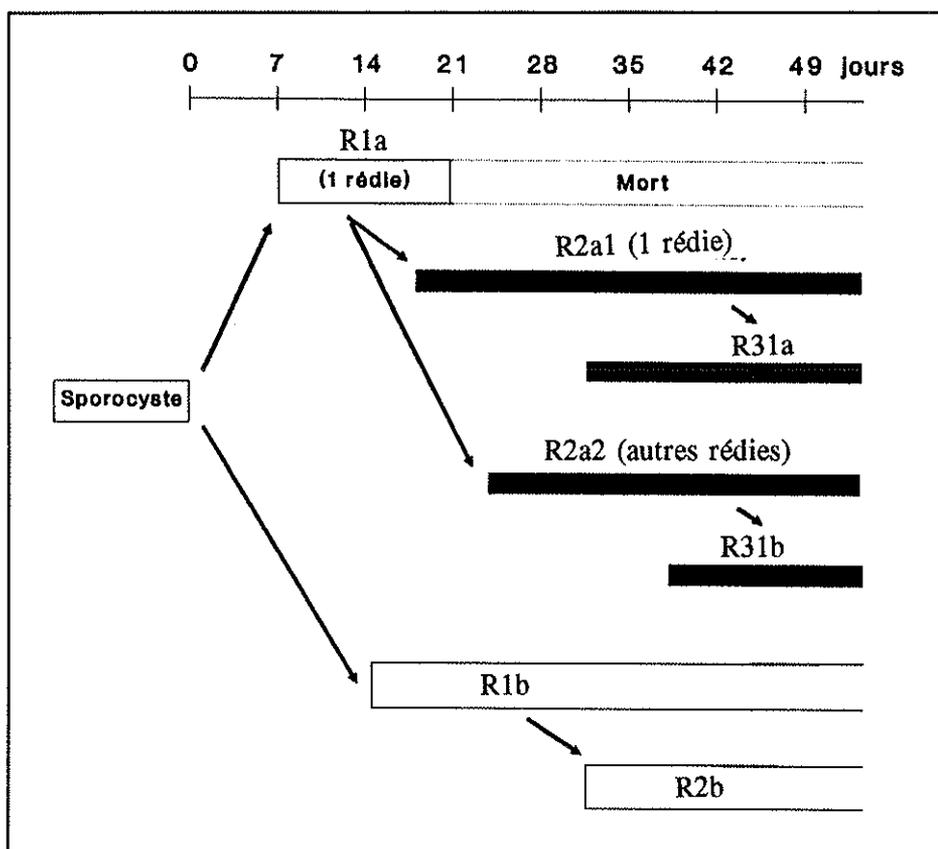


Figure 12.

Organigramme montrant la succession des générations rédiennes de *Fasciola hepatica* et leur chronologie lorsque la première rédie de première génération (rédie R1a) meurt au début du développement larvaire (mode atypique). D'après MICHELET, 1997 ; AUGOT, 1998 ; AUGOT *et al.*, 1999.

Groupe rédien*	Nombre de rédies indépendantes au 63 ^e jour	Nombre de morulas par rédie (évoluant en cercaires)	Nombre total de cercaires produites par mollusque (et pourcentage)
R1b	6,2	26,1	161,8 (69,3 %)
R2a	9,7	4,9	47,5 (20,3 %)
R2b/R3a	9,2	2,6	23,9 (10,2 %)

* La rédie R1a ne produit que des rédies filles (appartenant au groupe R2a).

Tableau III.

La productivité cercarienne de *Fasciola hepatica* chez *Lymnaea truncatula* lorsque le mode de développement rédien est atypique (d'après AUGOT, 1998).

b). *Développement atypique.*

La mort de la première rédie de première génération (R1a) provoque, dans ce cas, des modifications dans l'évolution ultérieure des rédies.

La succession des générations lors d'un mode atypique est présentée sur la figure 12. Nous pouvons remarquer que :

- la larve R1a a le temps de produire des rédies filles avant sa mort. Cette descendance s'organise en deux sous-cohortes : la première apparaît après le 14^e jour et ne comporte qu'une seule rédie (R2a1) ; la seconde (R2a2) regroupe les autres rédies de deuxième génération issues de la larve R1a. Les deux sous-cohortes produisent elles-mêmes quelques rédies filles de troisième génération.

- le groupe R1b n'est pas affecté et évolue normalement comme dans le mode typique.

Le tableau III détaille la productivité cercarienne en fonction du groupe rédien. Le groupe R1b fournit 69 % des cercaires émises par le mollusque. Les autres cercaires sont issues des rédies appartenant au groupe R2a (20 %) et à l'ensemble R2b/R3a (10 %).

Si l'on considère la productivité cercarienne globale, on constate que le chiffre obtenu lors d'un développement typique est largement supérieur à celui noté dans le mode atypique (343,9 cercaires estimées par mollusque au lieu de 233,2).

2. Par rapport à la présence ou à l'absence d'émissions cercariennes.

Certaines limnées infestées par des miracidiums meurent sans émettre de cercaires. Ces dernières sont cependant visibles à l'intérieur du mollusque grâce à la transparence de la coquille. D'après DREYFUSS (1994), cette absence d'émission retentit sur la productivité cercarienne globale chez le mollusque. Nous avons donc réuni dans ce paragraphe les effets induits par la présence ou l'absence d'émission sur la quantité de cercaires formées par une limnée.

Le tableau IV (page suivante) compare la productivité chez des limnées mortes après une sortie de cercaires ou décédées sans expulsion de larves. Pour apprécier cette capacité,

Limnées parasitées	Classes d'âge (en jours)	Nombre de			Productivité cercarienne globale
		masses germinatives intra-rédiennes	cercaires indépendantes (dans le mollusque)	métacercaires	
Mortes après une émission	75/89	279	20,6	197,6	497,2
	120/134	226,3	43,1	247,8	517,2
	150/164	151,1	67,8	368,4	587,3
Mortes sans émission	75/89	264,5	19,2	-	283,7
	120/134	233,9	72,5	-	306,4
	150/164	200,9	131	-	331,9

Tableau IV.

Étude comparative de la productivité rédienne chez *Lymnaea truncatula* morte après une sortie de cercaires de *Fasciola hepatica* ou décédée sans émission (d'après DREYFUSS, 1994 ; DREYFUSS *et al.*, 1994b).

nous avons considéré la totalité des valeurs pour les trois éléments suivants : les masses germinatives intra-rédiennes (normales ou dégénérées) sans tenir compte de leur nature, les cercaires indépendantes dans le corps du mollusque et les métacercaires (uniquement s'il y a eu émission).

Plusieurs constatations peuvent être faites à partir de ces données :

- la productivité parasitaire totale est supérieure chez les limnées mortes après une sortie de cercaires (587 larves estimées chez les limnées âgées de 150 à 164 jours au lieu de 331 chez leurs homologues décédées sans émission). Ceci est valable, quelle que soit la classe d'âge du mollusque.

- les masses germinatives intra-rédiennes sont légèrement moins nombreuses chez les mollusques en l'absence d'émission, sauf pour les limnées les plus âgées (150/164 jours) où les chiffres sont nettement supérieurs.

- la survenue d'une émission provoque une diminution du nombre de cercaires indépendantes chez les mollusques de plus de 90 jours de vie. Plus l'âge du mollusque augmente, plus la différence entre les nombres de cercaires indépendantes chez les limnées avec et sans émission est importante.

Les cercaires indépendantes et dégénérées sont plus nombreuses chez les limnées sans émission dans les classes 75/89 et 120/134 jours (données non représentées).

En conclusion, les émissions ont une influence positive directe sur la production des formes larvaires dans le mollusque. Cet effet porte surtout sur les masses germinatives intra-rédiennes dont la quantité est supérieure chez les limnées mortes après une sortie de cercaires.

D. LA SORTIE DES CERCAIRES.

Les éléments à l'origine de notre texte proviennent des sources suivantes : KENDALL et McCULLOUGH, 1951 ; TAYLOR, 1965 ; BORAY, 1969 ; EUZEBY, 1971 ; GRACZYK et FRIED, 1999. Nous avons complété ces informations en consultant également la thèse de BARRET (1996) et le rapport de ROUMIEUX (1997).

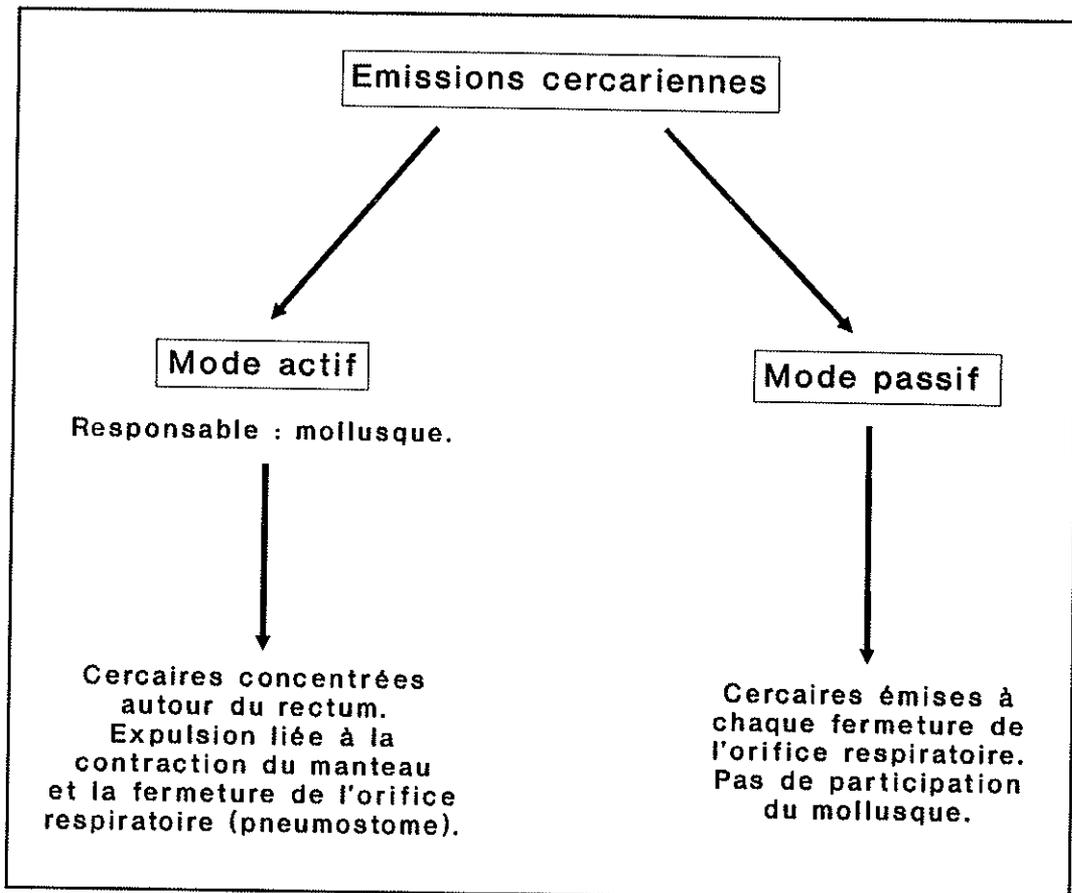


Figure 13.
Organigramme schématisant le mécanisme des émissions cercariennes de *Fasciola hepatica* à partir de son mollusque hôte (d'après EUZEBY, 1971 ; GRACZYK et FRIED, 1999).

1. Le mécanisme de l'émission.

L'émergence des cercaires ne peut avoir lieu qu'après la fin du développement larvaire dont la durée varie selon la température extérieure et les possibilités d'alimentation du parasite. Ces deux facteurs expliquent la variabilité du délai entre l'infestation du mollusque et la sortie des cercaires (de 5 à 12 semaines).

L'émission des larves s'effectue au niveau de la région péri-anale du mollusque. Toute tentative de sortie des larves dans une zone différente du mollusque entraîne des lésions graves pouvant aboutir à la mort de l'hôte intermédiaire. L'émergence ne peut avoir lieu que si la limnée est plongée dans l'eau et si la température dépasse 10° C. Pendant l'hiver, les cercaires peuvent survivre dans le mollusque : elles sont émises au printemps suivant. Certains facteurs ont un effet favorable sur l'émission cercarienne : fraîcheur de l'eau, passage d'une période de sécheresse à une période d'humidité, ainsi que tout élément perturbant la vie du mollusque.

Deux mécanismes, l'un actif et l'autre passif, sont proposés pour expliquer la sortie des cercaires hors de la limnée :

- dans le cas du premier, c'est le mollusque qui est responsable de l'expulsion des cercaires. Ces dernières se rassemblent autour de l'extrémité distale du tube digestif (rectum). Elles sont "chassées" par une action double, à savoir une contraction du manteau et la fermeture simultanée de l'orifice respiratoire (pneumostome). Les larves s'échappent au niveau d'une déchirure du tégument.

- dans le cas passif, les larves sont émises à chaque fermeture du pneumostome. Il n'y a alors aucune participation de l'hôte.

Ces deux mécanismes sont présentés sur la figure 13.

La vie de la cercaire dans le milieu extérieur est très brève (quelques minutes à quelques heures). Elle nage grâce aux ondulations de sa queue et se déplace jusqu'à un support végétal sur lequel elle se fixe par sa ventouse ventrale. Elle peut également former son kyste à la surface de l'eau.

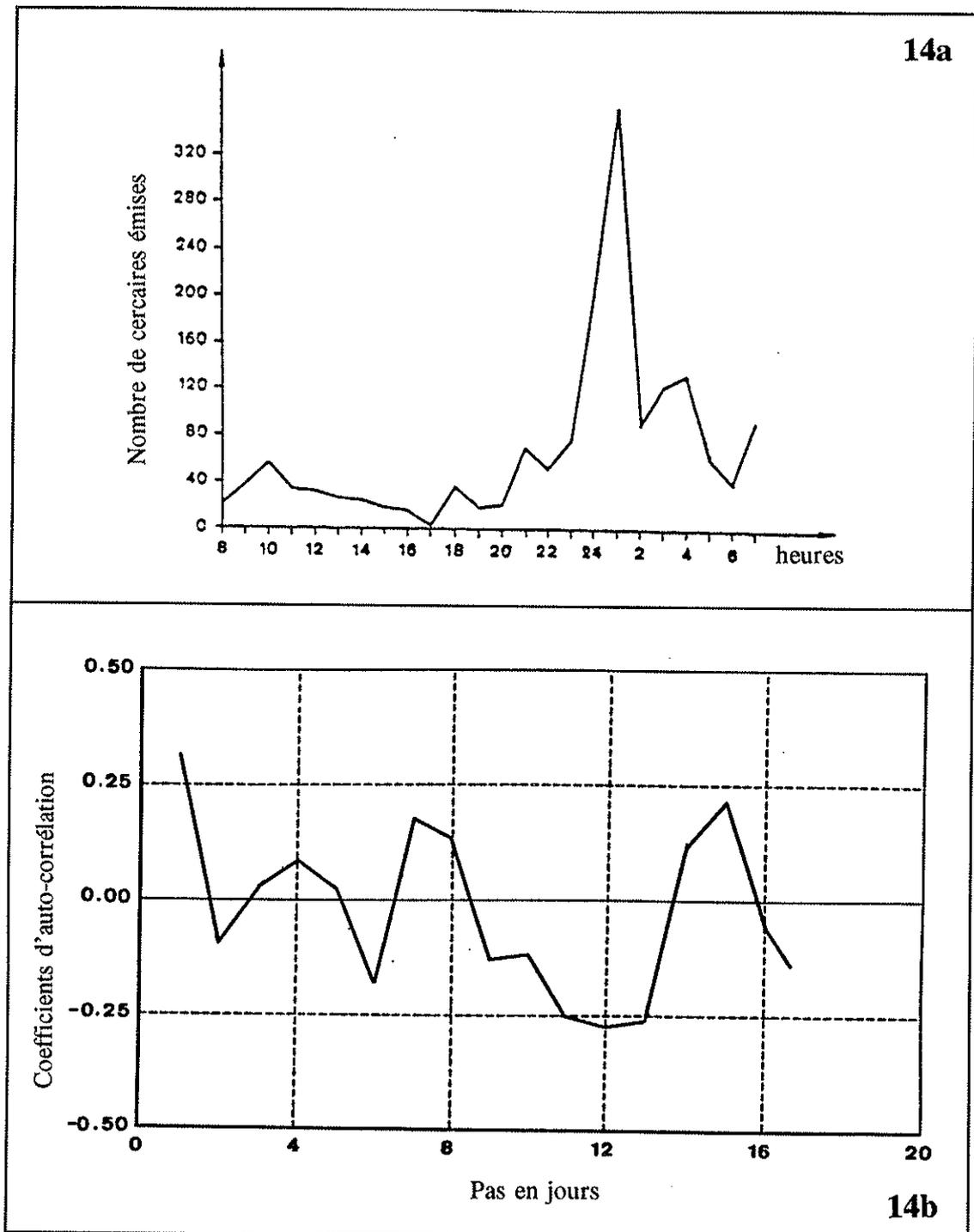


Figure 14.
 La périodicité dans les émissions cercariennes de *Fasciola hepatica* (d'après AUDOUSSET, 1989 ; DREYFUSS, 1994) : rythmes circadien (14a) et infradien (14b).

2. Les rythmes d'émission.

La figure 14 présente les deux types de rythme qu'AUDOUSSET (1989) et DREYFUSS (1994) ont identifiés dans les émissions cercariennes du Digène à partir de *L. truncatula*.

Le graphe 14a montre l'existence d'un rythme circadien caractérisé par une production cercarienne maximale entre minuit et 1 heure du matin alors qu'elle est faible entre 12 heures et 14 heures. Cette périodicité se retrouve, quelles que soient les modalités d'élevage du mollusque (en milieu semi-naturel ou sous des conditions constantes).

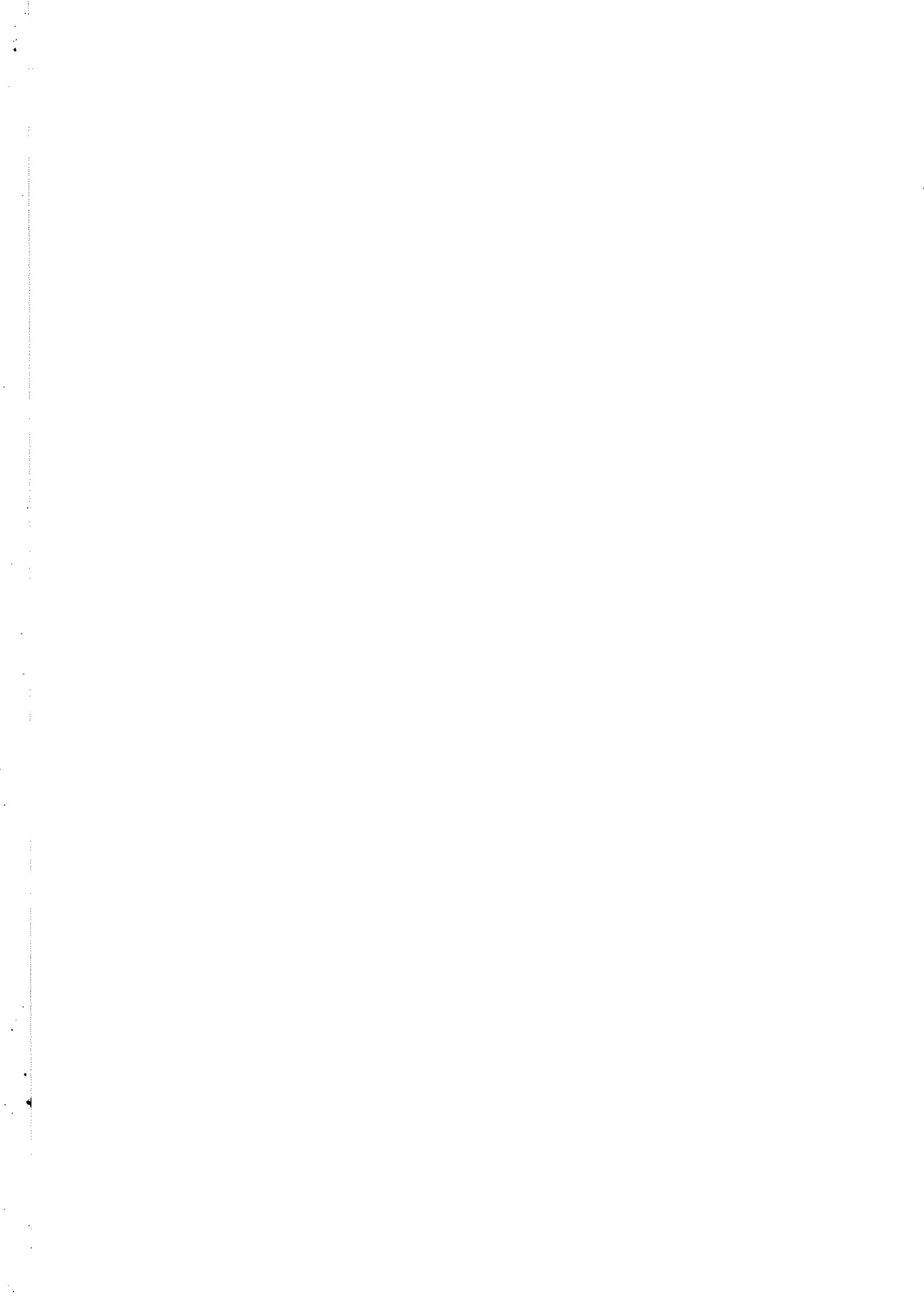
Sur le graphe 14b, on note la présence d'un rythme infradien avec une périodicité faible (7 jours environ). Si ce résultat a été noté en milieu semi-naturel, les auteurs ne l'ont pas retrouvé lorsque le mollusque est élevé sous des conditions constantes, ce qui suggère donc que cette périodicité est la résultante des facteurs environnementaux.

Les études rapportées ci-dessus sont donc encore incomplètes et il nous semble utile de déterminer quel est le principal facteur physique qui agit sur la sortie des cercaires de *F. hepatica*.

3. Vagues et intervagues.

Les cercaires ne sont pas émises de façon continue par les mollusques mais au contraire, de manière intermittente lors de périodes (de durée variable) séparées par des repos (KENDALL et McCULLOUGH, 1951). Ce fait est à l'origine des notions de vague et d'intervague qu'AUDOUSSET (1989) et DREYFUSS (1994) ont utilisées pour dénommer ces phénomènes. D'après ces auteurs, une vague correspond à une période d'un ou de plusieurs jours successifs au cours de laquelle 10 cercaires au moins sont produites par un mollusque parasité. A l'inverse, une intervague est une période de repos entre deux phases d'émission.

Le tableau ci-dessous (page suivante) présente les caractéristiques des vagues d'émission pour *F. hepatica* lorsque les *L. truncatula* sont maintenues en milieu semi-naturel ou dans les conditions constantes du laboratoire :



Nombre de vagues d'émission (<i>Fasciola hepatica</i>)	Fréquence des limnées parasitées émettant leurs cercaires sur 1 ou plusieurs vagues et élevées	
	en milieu semi-naturel (8° à 22° C)	sous des conditions constantes (20° C)
1	38,1 %	7,8 %
2	28,3 %	6,9 %
3	19,6 %	8,8 %
4	9,2 %	20,6 %
5	2,3 %	15,7 %
6	1,1 %	7,8 %
7	1,1 %	5,9 %
8	0 %	5,9 %
9	0 %	5,9 %
10	0 %	5,9 %
11	0 %	2,9 %
12	0 %	2,9 %
13	0 %	2,0 %
14	0 %	1,0 %

Comme on peut le constater à la lecture de ces données, le nombre de vagues d'émission est supérieur lorsque le mollusque est élevé dans des conditions constantes. Le nombre de limnées émettant des cercaires lors d'une seule vague est plus important lorsque la température extérieure varie chaque jour (38 % au lieu de 8 % si la salle d'élevage est maintenue à 20° C constant).

La première intervague est généralement plus longue que les suivantes lorsque les limnées sont maintenues sous des conditions constantes.

E. LE DEVENIR DES CERCAIRES.

Toutes les cercaires formées dans le corps du mollusque n'aboutissent pas à la formation de métacercaires. L'organigramme de la figure 15 montre les différentes possibilités d'évolution de ces larves :

- Certaines larves meurent juste après leur sortie de l'hôte intermédiaire. Elles n'ont pas le temps de constituer leur kyste. La queue est toujours attachée au corps. La fréquence de ces cercaires est très faible : moins de 0,1 % d'après DREYFUSS (1994).

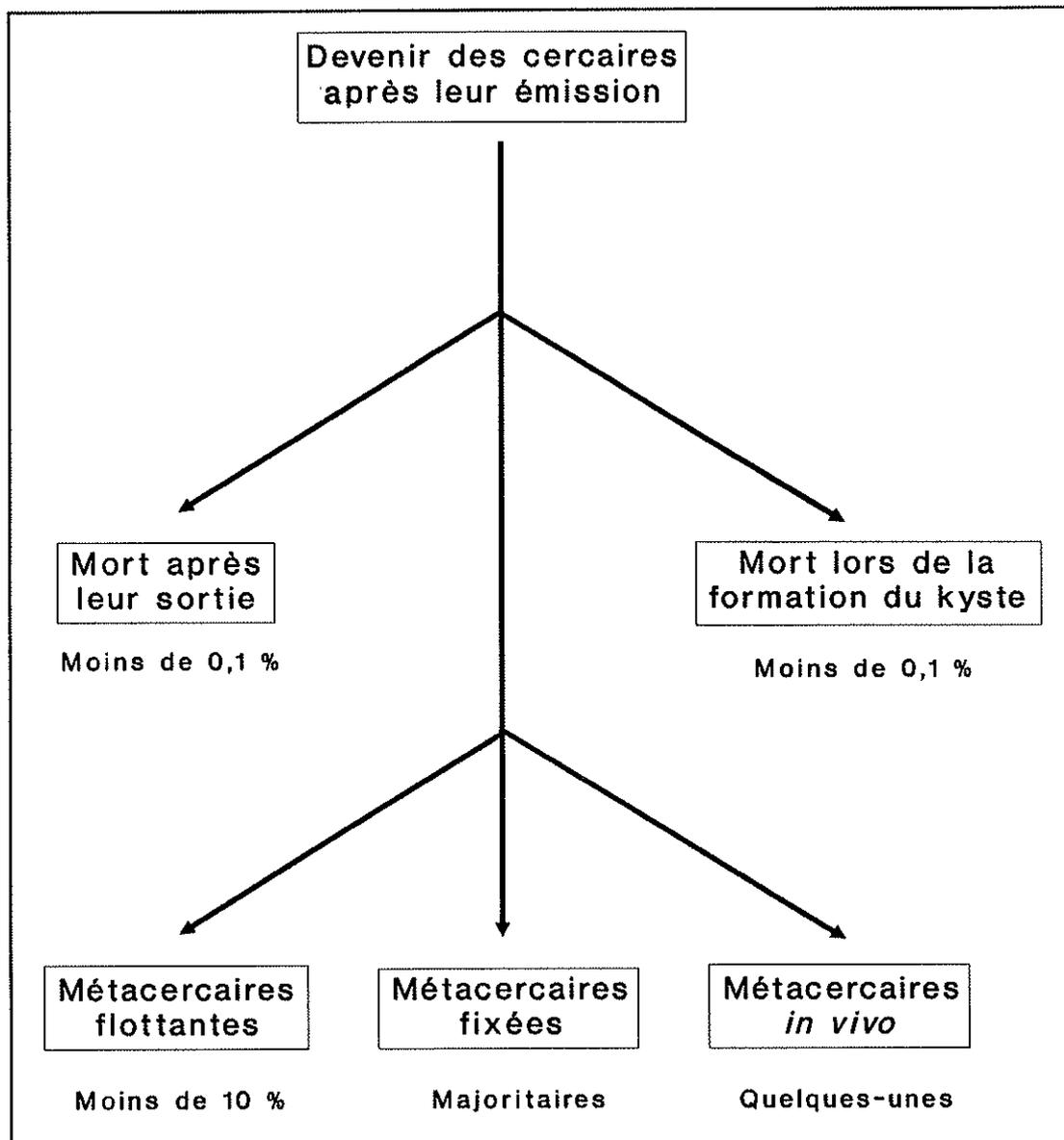


Figure 15.
Organigramme montrant le devenir des cercaires de *Fasciola hepatica* après leur différenciation dans le corps de *Lymnaea truncatula*. Original.

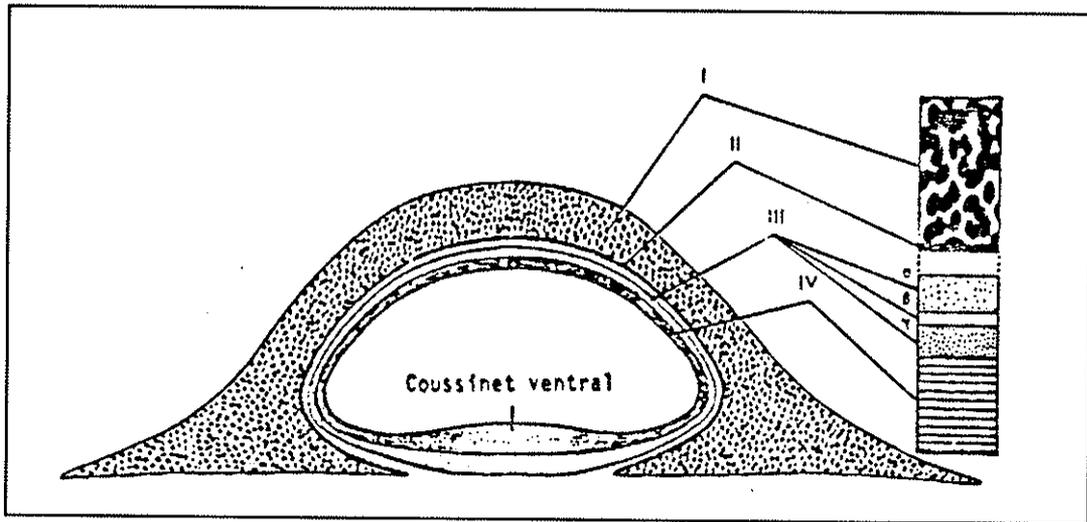


Figure 16.
 La structure de la métacercaire (d'après MERCER et DIXON, 1967).
 Les quatre assises (I-IV) et les trois sous-assises (α , β , γ)
 de l'assise III sont également indiquées sur ce schéma.

Couches	Assises	Éléments constitutifs	Observations
Externe	I	Protéine tannée recouvrant le dôme et les parties latérales du kyste	Une sous-assise A1a se délite lorsque la métacercaire est plongée dans du vinaigre
	II	Mucoprotéines et mucopolysaccharides acides	-
Interne	III	Mucopolysaccharides	Trois sous-assises (α , β , γ)
	IV	Protéine kératinisée et matrice lipido-protéique	-

Tableau V.
 Les éléments constitutifs des couches et des assises constituant la paroi du kyste métacercarien de *Fasciola hepatica* (d'après DIXON, 1966).

- Quelques cercaires meurent également lors de la formation de leur kyste. On note alors une sphère (fixée ou flottante) se prolongeant par la queue de la cercaire. Le pourcentage de ces larves est également très faible : moins de 0,1 %.

- Des cercaires plus nombreuses (moins de 10 %) peuvent se transformer en métacercaires flottantes après leur sortie du mollusque. Ces dernières possèdent une collerette formée par l'assise la plus externe de la paroi kystique et contenant des lacunes aérifères. Les trois autres couches de la paroi sont identiques à celles des métacercaires fixées comme nous allons le décrire ci-dessous.

- Les métacercaires fixées sur des végétaux aquatiques sont majoritaires en nombre. Les glandes cystogènes de chaque cercaire se répartissent en quatre groupes et secrètent des substances qui vont constituer les quatre assises de la paroi. Les deux plus externes forment une couche qui s'attache au support et permet la solidification du kyste. Les deux plus internes forment une autre couche, d'aspect bleuté qui permet à la larve de se déplacer à l'intérieur de la première couche. Lors de la formation de la métacercaire, la larve se rétracte en perdant sa queue. Un exemple de métacercaire est fourni sur la figure 16. La constitution de chaque couche est indiquée sur le tableau V.

- Si la sortie des cercaires présente un retard, certaines d'entre elles peuvent s'enkyster à l'intérieur même du mollusque (VAREILLE-MOREL *et al.*, 1993). Leur devenir est certes limité car elles meurent lorsque la limnée décède. D'après les auteurs précités, le nombre de ces métacercaires peut être important chez certains mollusques.

III. - LES FACTEURS CAPABLES D'INFLUENCER LES ÉMISSIONS CERCARIENNES DE *Fasciola hepatica*.

La liste de ces paramètres est loin d'être établie avec précision. Certains d'entre eux sont bien connus car ils agissent également sur la vie du mollusque. Par contre, l'impact d'autres facteurs est encore incertain.

L'espèce du mollusque hôte a un rôle majeur dans le développement de l'infestation fasciolienne. Le tableau I (page 16) indique la capacité de plusieurs espèces pour assurer cette tâche. Mais il existe aussi d'autres paramètres.

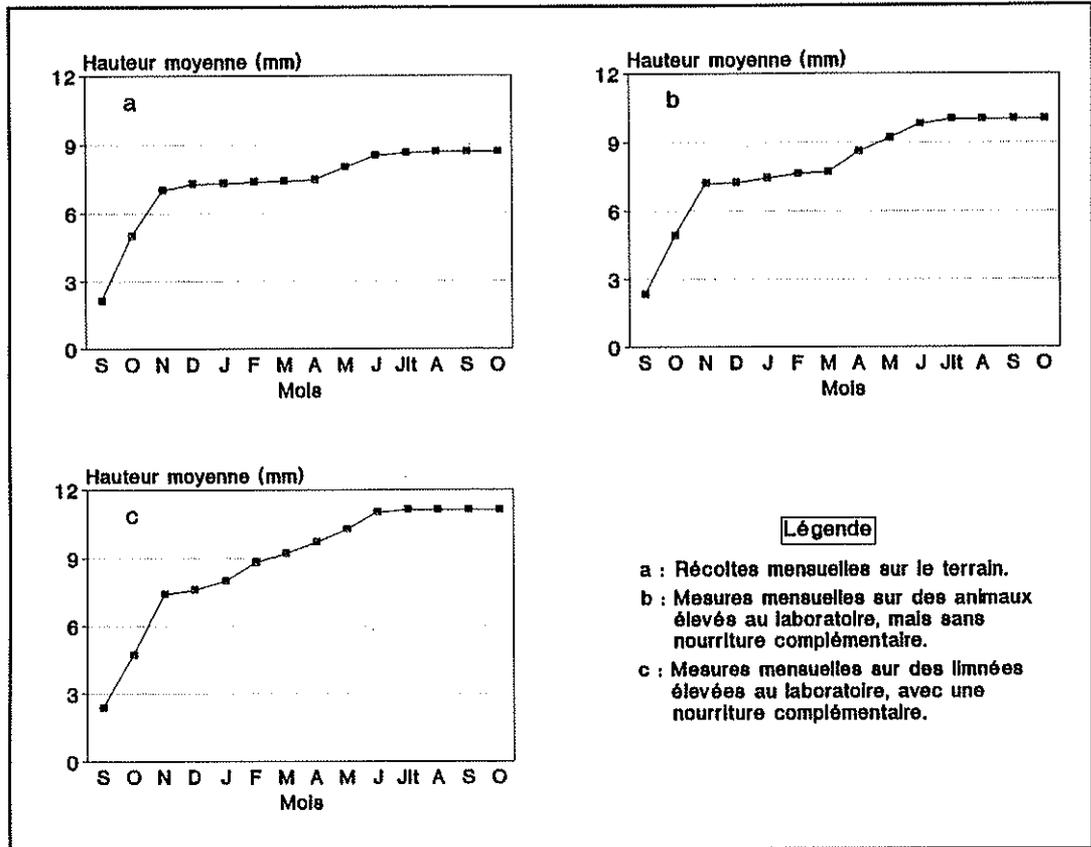


Figure 17.
La croissance de *Lymnaea truncatula* sous différentes conditions expérimentales (d'après MOREL-VAREILLE, 1973).

Fréquence de rencontre entre <i>Lymnaea truncatula</i> et <i>Fasciola hepatica</i>	Nombre de populations	Prévalence de l'infestation	Nombre total de rédies	Nombre total de cercaires émises
fréquent	6	57 %	32	140
assez fréquent	3	47 %	30	126
rare	4	35 %	22	90
exceptionnel ou nul	4	32 %	14	81

Tableau VI.
La sensibilité de 17 populations de *Lymnaea truncatula* (vivant dans le nord de la Haute-Vienne) par rapport à l'infestation avec *Fasciola hepatica* (d'après RONDELAUD, 1993).

A. LA POPULATION DE *Lymnaea truncatula*.

1. Le rôle du terroir d'origine.

Le sous-sol, sur lequel vivent les mollusques, a une importance considérable dans la croissance de leur coquille. Si les limnées se trouvent sur des terrains sédimentaires, notamment calcaires, l'espèce atteint la limite de taille lorsqu'elle devient adulte (soit 12 mm de hauteur d'après GERMAIN, 1930/1931). Par contre, si les populations vivent sur des sols acides (cas de la Haute-Vienne), la hauteur de la coquille est nettement plus faible au stade adulte (généralement 8 mm dans la plupart des colonies d'après RONDELAUD, 1981).

Ces données soulignent l'importance de la nature du sous-sol dans la construction de la coquille par le mollusque. Afin de comprendre la dynamique de ce processus, nous avons fourni, sur la figure 17, les vitesses de croissance que MOREL-VAREILLE (1973) rapporte pour des limnées élevées sous différentes conditions expérimentales. D'après cet auteur, le développement de la coquille est de 1 mm par semaine jusqu'à la 7^e semaine de vie. Puis elle diminue progressivement pour tendre vers un plateau au-delà de 8 mm de hauteur et ceci jusqu'à la mort de la limnée.

Cette capacité retentit sur la croissance des mollusques parasités par *F. hepatica*. En théorie, la hauteur de la coquille des limnées vivant sur calcaire sera toujours plus grande que celle des individus sur silice. Mais cette règle générale souffre de certaines exceptions comme nous allons le voir ci-après.

2. La sensibilité de la population au parasite.

Toutes les colonies de *L. truncatula* n'ont pas la même sensibilité à l'infestation par *F. hepatica*. La seule étude générale est celle que RONDELAUD (1993) a réalisée dans le nord de la Haute-Vienne en soumettant 17 populations de mollusques à l'infestation expérimentale. Les résultats de cet auteur sont regroupés sur le tableau VI. Ils appellent les commentaires suivants :

- La prévalence de l'infestation parasitaire est d'autant plus élevée que la fréquence de rencontre entre la limnée et le parasite est importante.

Nombre de miracidiums par limnée	Survie du mollusque au 30 ^e jour	Prévalence de l'infestation	Nombre total de cercaires
0 (témoins)	92 %	0 %	0
1	71 %	46,4 %	123,2
2	64 %	42,1 %	98,0
5	59 %	20,3 %	87,6
10	45 %	17,7 %	112,6
20	33 %	15,1 %	82,3

Tableau VII.

Les valeurs de quelques paramètres chez des *Lymnaea truncatula* (Migné) soumises à des infestations mono- ou plurimiracidiennes individuelles avec *Fasciola hepatica* (d'après BARRET, 1996 ; DREYFUSS *et al.*, 1999).

Type de nourriture	Nombre de limnées infestées par <i>Fasciola hepatica</i>	Nombre de métacercaires par limnée
Algues seulement	360	150
Algues + aliment de complément*	1348	250
Aliment de complément seulement	895 2003	460 510
Nourriture en abondance, oxygénation permanente	495	622

* Laitue déshydratée, en poudre (25 %), feuilles de luzerne, déshydratées et en poudre (25 %), germes de blé en poudre (50 %), sulfate de calcium (3 %).

Tableau VIII.

La production de métacercaires dans le couple *Lymnaea tomentosa-Fasciola hepatica* par rapport à la qualité de la nourriture pour les mollusques (d'après BORAY, 1969).

- La plus forte charge rédienne a été décelée chez les limnées qui rencontrent fréquemment le parasite dans leur milieu naturel.

- Les métacercaires sont plus nombreuses chez les mollusques du groupe précité.

3. Le nombre de miracidiums utilisés pour l'infestation.

Nous nous sommes servi des études de BARRET (1996) et de DREYFUSS *et al.* (1999) pour formuler le texte à l'origine de ce paragraphe. Le tableau VII regroupe les résultats que les auteurs ont obtenus pour l'une des populations de *L. truncatula* par rapport à la charge miracidienne individuelle. Nous pouvons constater que :

- plus le nombre de larves au départ de l'expérience est élevé, plus la survie au 30^e jour d'expérience diminue.

- la prévalence de l'infestation expérimentale est supérieure à 40 % pour 1 ou 2 miracidiums par mollusque. Au-delà, elle chute à 20 % ou moins.

- le nombre de cercaires par mollusque ne présente pas de variation significative par rapport au nombre de miracidiums utilisés lors de l'exposition.

4. L'alimentation du mollusque hôte.

Plusieurs auteurs comme KENDALL (1949), KENDALL et OLLERENSHAW (1963), PÊCHEUR (1974) ou OSBORN *et al.* (1982) se sont déjà penchés sur ce problème. En effet, si le mollusque parasité est bien nourri, sa production cercarienne sera optimale.

Le tableau VIII présente des données que BORAY (1969) rapporte sur ce point avec le système *Lymnaea tomentosa*-*F. hepatica*. La lecture de ces chiffres permet de constater qu'une alimentation à base d'algues unicellulaires se traduit par une production moyenne de 160 cercaires. Les chiffres s'améliorent si on complète l'alimentation de la limnée avec un produit de substitution (250 cercaires/mollusque) ou si on utilise ce dernier seul (460 à 510 cercaires/limnée). Enfin, il est possible d'obtenir 610 cercaires par mollusque lorsque les conditions du milieu sont bonnes (densité des limnées raisonnable, nourriture suffisante, oxygénation permanente).

B. LES MIRACIDIUMS DE *Fasciola hepatica*.

On sait depuis longtemps que l'infestation d'une population de *L. truncatula* par des miracidiums provenant d'un autre pays peut aboutir à des résultats très variables. Le plus souvent, la sensibilité de cette colonie à l'infestation diffère, aboutissant à un faible taux d'infestation comme le rapporte BORAY (1969) pour *L. tomentosa*. Mais il peut y avoir une stimulation du développement larvaire si bien que la quantité de cercaires émises sera supérieure à celle obtenue avec des limnées locales infestées par des miracidiums de la même région (GASNIER *et al.*, 2000).

Plus surprenants sont les résultats que RONDELAUD et DREYFUSS (1995) fournissent pour une infestation expérimentale de *L. truncatula* lorsque l'origine des miracidiums de *F. hepatica* par rapport à la nature de l'hôte définitif n'est pas la même. Le tableau ci-dessous présente les résultats de ces auteurs :

Paramètre	Nombre de formes larvaires par mollusque appartenant au		
	groupe bovin	groupe ovin	groupe lapin
Nombre total de rédies	43,7	38,4	21,3
Nombre de rédies indépendantes et en vie.	29,8	22,7	3,7
Nombre de cercaires émises	216,4	157,8	54,5

D'après ce tableau, il existe une variabilité dans les résultats. Les rédies diminuent en nombre lorsque l'on passe des limnées infestées par des miracidiums provenant d'oeufs prélevés chez des bovins à des mollusques parasités par des larves issues de lapins. Le même résultat s'observe pour les cercaires émises par ces *L. truncatula*.

C. FACTEURS MOINS CONNUS.

La liste est loin d'être close. Sans entrer dans un domaine qui fait encore partie des investigations expérimentales, on peut citer les deux points suivants :



- l'âge du mollusque lors de l'exposition aux miracidiums. GOLD et GOLDBERG (1979) déterminent que la meilleure taille de *L. truncatula* pour obtenir une prévalence maximale de l'infestation avec *F. hepatica* est 4 mm (soit 4 semaines de vie à 20° C).

- l'état physiologique de *L. truncatula* lors de l'exposition aux miracidiums. Ce paramètre n'a pas été encore complètement exploré. La prévalence de l'infestation et le développement de la charge parasitaire sont fortement perturbés si l'exposition de la limnée aux miracidiums a lieu deux jours après la fin d'un processus agressif comme le dessèchement du milieu de vie (RONDELAUD, 1994) ou l'intoxication des mollusques par une concentration sub létale de chlorure cuivrique (RONDELAUD, 1995). Par contre, si le mollusque est soumis à un stress (un choc thermique par exemple) juste avant l'exposition aux miracidiums, les résultats de l'infestation expérimentale sont supérieurs à ceux que l'on obtient avec des mollusques non stressés lorsqu'ils sont soumis au parasite (ABROUS *et al.*, 2000).

IV. - COMMENTAIRES.

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

- *L. truncatula* intervient comme hôte intermédiaire dans le cycle évolutif de *F. hepatica*. Ce mollusque assure le développement larvaire du Digène et permet la production des cercaires.

- L'évolution des formes larvaires chez la limnée est influencée par le comportement de la première rédie de première génération (rédié R1a). Si celle-ci reste en vie au cours de l'infestation, le développement rédien aboutit à la formation de 20-30 rédies indépendantes et de nombreuses cercaires. Par contre, si elle meurt, la quantité de larves est plus réduite.

- De nombreux autres facteurs interviennent sur le développement larvaire de *F. hepatica*. Parmi ceux-ci, citons l'origine de la population pour *L. truncatula* et celle de l'isolat pour les miracidiums du Digène.

Il reste encore des inconnues sur le développement larvaire de *F. hepatica* chez son mollusque hôte. Deux d'entre elles nous paraissent intéressantes à étudier :

- Le premier point porte sur la quantité de cercaires émises et la dynamique des émissions lorsque le parasite provient d'hôtes définitifs différents. Le rapport de RONDELAUD et DREYFUSS (1995) ne répond que partiellement à cette question et il nous paraît intéressant de vérifier si les résultats de ces auteurs se vérifient lorsque l'on utilise des isolats de miracidiums provenant de différents Mammifères sur deux populations différentes de *L. truncatula*.

- Le second point concerne la charge parasitaire qui reste dans le mollusque à sa mort. Un apport significatif a certes été réalisé par DREYFUSS (1994), DREYFUSS *et al.* (1994) mais il reste à vérifier si le contenu résiduel des rédies indépendantes est le même lorsque l'hôte définitif diffère par son origine.

Une expérimentation a été développée dans les conditions du laboratoire en soumettant deux populations de *L. truncatula* à quatre isolats de miracidiums (issus de bovins, de lapins, de moutons ou de ragondins).

Les résultats correspondant à cette étude sont rapportés dans les chapitres troisième, quatrième et cinquième.



MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ce chapitre présente les données qui nous ont permis de réaliser cette expérience. Elles portent sur l'origine des mollusques et des isolats de miracidiums, le protocole de l'étude, la méthodologie et les paramètres étudiés¹.

Nous nous sommes servi de plusieurs thèses (SZMIDT-ADJIDÉ, 1996 ; AUGOT, 1998 ; ABROUS, 1999) pour écrire notre propos.

I. - LES MOLLUSQUES.

Le tableau IX (page suivante) indique les coordonnées géographiques des deux populations de *L. truncatula*. Le choix de ces dernières repose sur deux points :

- Les deux colonies de limnées proviennent de terrains de nature différente. La première vit sur sol acide (granite) si bien que la hauteur de coquille ne dépasse pas 8 mm de hauteur. Par contre, l'habitat de la seconde se situe sur des terrains calcaires, ce qui se traduit par une taille de 12 mm chez les limnées adultes.

¹ - *Le matériel biologique et le protocole de l'expérimentation sont en grande partie identiques à ceux qu'APOSTOLOFF (2001) a utilisés pour son étude. C'est la raison pour laquelle le texte de ce chapitre est construit avec les mêmes données que celles de cet auteur.*

Coordonnées géographiques	Caractéristiques principales	Nombre de mollusques utilisés
Berneuil, Haute-Vienne	Fossés le long de la route D 72. A 750 m environ du bourg.	600
Chézeau-Chrétien, commune de Migné, Indre.	Fossés le long de la route D 27, à 200 m du carrefour formé par la D 27 et la D 46.	500

Tableau IX.
Les coordonnées géographiques des deux populations de *Lymnaea truncatula* utilisées dans le cadre de ce travail.

Mammifères d'où proviennent les oeufs de <i>Fasciola hepatica</i>	Origine des hôtes définitifs	Observations
Bovins	Ferme, canton de Pierre-Buffière	Vaches de réforme et taurillons de race limousine
Lapins	Deux fermes voisines, canton de Nieul	<i>Oryctolagus cuniculus</i> (4 spécimens abattus par les chasseurs)
Ovins	Ferme, canton de Saint-Yrieix-la-Perche	Moutons de race limousine
Ragondins	Ferme, marais côtiers de Loire-Atlantique	Oeufs fournis par l'E.N.V. de Nantes, Service de Parasitologie (Prof. Chauvin)

Tableau X.
L'origine des oeufs de *Fasciola hepatica* par rapport à la nature de l'hôte définitif et sa localisation géographique.

- Ces deux populations sont déjà connues pour la prévalence de l'infestation fasciolienne lorsqu'on soumet les mollusques à des miracidiums issus d'oeufs prélevés chez des bovins. Les pourcentages sont de 44-56 % (Berneuil) et de 64-72 % (Migné).

Des mollusques hauts de 4 mm ont été récoltés dans chaque population en novembre-décembre 1999. Ils ont été transportés au laboratoire dans des conditions isothermes et soumis à une période d'acclimatation de 48 heures au moins à la température de 20° C avant d'être exposés aux miracidiums.

II. - LES OEUFS DE *Fasciola hepatica*.

Le tableau X indique la nature de l'hôte définitif chez lequel les oeufs de *F. hepatica* ont été récoltés. Quatre isolats de miracidiums ont été utilisés :

- Trois d'entre eux (isolats bovins, moutons et lapins) proviennent d'animaux vivant dans le département de la Haute-Vienne et présentant une infestation naturelle avec *F. hepatica*.

- Les oeufs prélevés chez des ragondins diffèrent de par leur origine. Ils ont été fournis par l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes et proviennent des marais côtiers de Loire-Atlantique.

III. - PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL.

Le tableau XI (page suivante) indique le nombre et la constitution des dix séries que nous avons réalisées avec les deux populations de limnées (Berneuil, Migné) et les quatre isolats de miracidiums.

Les 100 ou 120 mollusques de chaque série sont exposés individuellement à deux miracidiums de *F. hepatica* pendant 4 heures. Le choix de deux larves par mollusque (au lieu d'une seule) repose sur les données de PRÉVERAUD-SINDOU et RONDELAUD (1995) : d'après ces auteurs, le taux d'infestation du mollusque est plus élevé dans le cas de deux miracidiums (60 à 80 % en général) et dans 85 % des cas, une seule larve se développe en sporocyste.

Isolat de miracidiums (<i>Fasciola hepatica</i>)	Nombre de limnées soumises aux miracidiums de <i>Fasciola hepatica</i>	
	Mollusques de Berneuil	Limnées de Migné
Témoins (pas de miracidiums)	120	100
Bovins	120	100
Lapins	120	100
Ovins	120	100
Ragondins	120	100

Tableau XI.
Les séries expérimentales réalisées avec *Fasciola hepatica* et
Lymnaea truncatula pour étudier les émissions cercariennes du
Digène et l'état de la charge rédienne à la mort des limnées.

Les mollusques sont ensuite élevés dans des bacs d'élevage standard (aquaterrariums) dans une salle soumise à des conditions constantes (20° C, éclairage de 12 heures diurnes). Le nombre de mollusques par bac est de 50. L'élevage se poursuit jusqu'au 30^e jour post-exposition.

A cette date, les survivants sont décomptés avant d'être placés individuellement dans des boîtes de Pétri de 35 mm de diamètre, avec un peu d'eau de source et un fragment de salade. Un suivi quotidien des émissions est réalisé entre 14 et 16 heures pour décompter les métacercaires de *F. hepatica*, changer l'eau et le fragment de salade si nécessaire. Cette surveillance se poursuit jusqu'à la mort des mollusques infestés. La hauteur des coquilles est alors mesurée et les cadavres sont disséqués pour décompter les rédies présentes et déterminer à quelle génération elles appartiennent.

IV. - MÉTHODOLOGIE.

A. LES OEUFS DE *Fasciola hepatica*.

Leur préparation diffère en fonction de l'hôte définitif. Dans le cas des bovins, des lapins et des rongeurs, les oeufs ont été récoltés à partir de la vésicule biliaire d'animaux fortement parasités. Dans le cas des ovins, des douves adultes ont été prélevées dans les canaux biliaires avant d'être placées dans une solution physiologique saline comprenant 0,9 % de chlorure de sodium et 0,45 % de glucose) à l'étuve à 37°-40° C pendant plusieurs heures.

Quel que soit le mode de prélèvement, la bile ou le liquide physiologique sont filtrés afin d'enlever les parasites adultes. On opère ensuite une série de dilutions avec de l'eau de source afin d'éliminer les liquides précités et de laver les oeufs. Ces derniers sont ensuite placés, à raison de 100 à 150 par récipient, dans des pots en verre de 8 cm de hauteur, sous une épaisseur de 1 cm d'eau.

Les oeufs sont incubés à l'obscurité totale pendant 20 jours à 20° C selon un protocole mis au point par OLLERENSHAW (1971) pour *F. hepatica*. A l'issue de ce délai, une exposition d'une heure au soleil ou à une lumière électrique suffit pour provoquer l'éclosion massive des miracidiums.

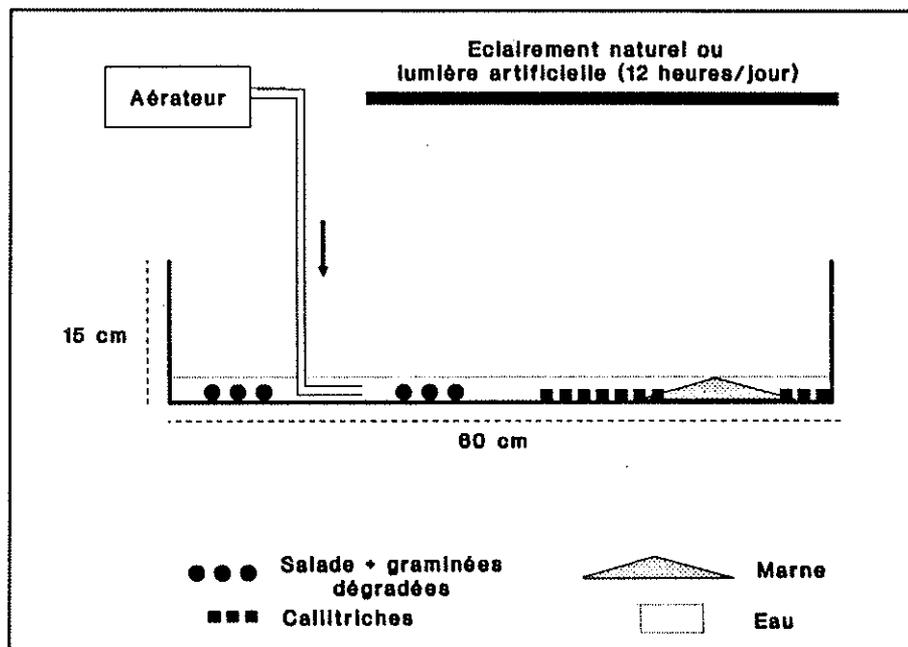


Figure 18.
Schéma montrant la structure d'un bac d'élevage utilisé pour élever
Lymnaea truncatula dans les conditions du laboratoire.

B. L'EXPOSITION DE LA LIMNÉE AUX MIRACIDIUMS.

Chaque limnée est placée dans un tube à hémolyse, rempli aux trois-quarts d'eau de source. Deux miracidiums venant d'éclore sont prélevés sous une loupe binoculaire à l'aide d'une pipette Pasteur effilée reliée à une poire. Les deux larves sont ensuite expulsées à l'aide d'une faible pression dans le tube à hémolyse.

La durée de contact entre le mollusque et les miracidiums est de 4 heures. Une surveillance est assurée au cours de ce temps pour éviter que les mollusques ne sortent de l'eau et échappent ainsi à l'infestation. Au terme de ce délai, les limnées sont replacées dans leurs récipients pour y rester pendant 30 jours.

C. L'ÉLEVAGE DES MOLLUSQUES.

La figure 18 montre les aquaterrariums que nous avons utilisés pour élever les mollusques dans les conditions du laboratoire.

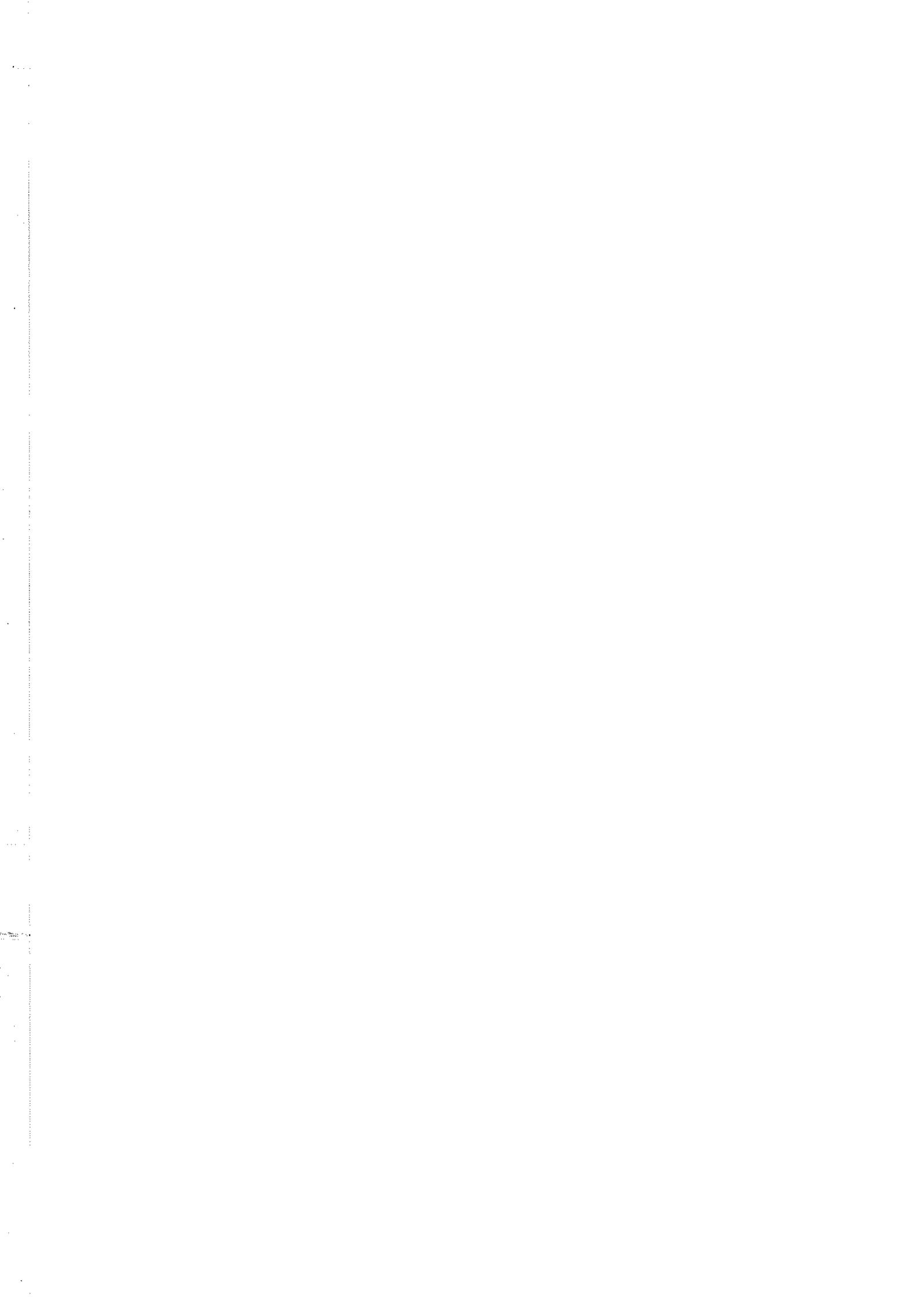
Une motte d'argile (récoltée sur du granite) est disposée sur le fond de chaque bac à l'une des extrémités. Elle permettra le développement de callitriches (plante aquatique) qui servent de refuge aux limnées. De la salade est également introduite. Le bac est rempli d'eau de source pour obtenir une couche de 1 cm d'épaisseur. Cette dernière, comme le sédiment, proviennent du site dans lequel les mollusques ont été prélevés.

Des tiges de graminées (*Glyceria* sp.) sont introduites pour éviter l'émersion des mollusques car ces derniers sont amphibies et toute sortie de l'eau leur serait fatale. Le milieu est oxygéné en permanence par un aérateur. Ce dispositif permet l'élevage de 50 limnées par bac.

Les aquaterrariums sont placés dans une salle climatisée, avec une température constante de 20 °C. Mais ils subissent la photopériode naturelle tout en étant à l'écart des rayons directs du soleil.

D. SUIVI DES ÉMISSIONS CERCARIENNES.

On effectue cette technique jusqu'à la mort des mollusques parasités.



Les survivants de chaque série sont isolés au 30^e jour individuellement dans des boîtes de Pétri (diamètre, 35 mm) avec 2 ou 3 mL d'eau du site d'origine et un fragment de salade. Les récipients sont placés dans la même salle climatisée comme les aquariums et sont de ce fait soumis aux fluctuations journalières de l'éclairage naturel.

Chaque jour, les boîtes sont inspectées entre 14 et 16 heures car la plupart des émissions s'effectuent au cours de la nuit alors qu'elles sont minimales entre les heures précitées (AUDOUSSET *et al.*, 1989). Les métacercaires éventuelles sont décomptées en fonction de leur type (fixées ou flottantes) avant d'être enlevées de chaque récipient par grattage. L'eau est changée pour être remplacée par une solution à la même température. Le fragment de laitue est renouvelé si nécessaire.

La mort du mollusque se reconnaît à plusieurs critères. Le premier est l'attitude de l'animal, en position semi-rétractée avec une partie du pied apparaissant dans l'ouverture de la coquille. Le second est la couleur de cet élément anatomique : gris noirâtre sur le vivant, gris foncé cerclé de blanc lorsque l'animal meurt. Les deux autres signes sont nettement plus aléatoires :

- a) l'absence de réaction lorsque l'on pince un tentacule,
- b) le développement rapide de filaments mycéliens sur l'animal (dans les 48 heures).

E. MESURE DE LA COQUILLE.

Elle s'effectue sous loupe binoculaire à l'aide d'une feuille de papier millimétrée. La mesure porte sur la hauteur globale de la coquille, depuis le sommet (apex) jusqu'à la base de l'ouverture.

La précision dans les mesures ne peut pas dépasser le demi-millimètre. Aussi existe-t-il une certaine erreur que l'on peut éliminer en partie en regroupant toutes les valeurs individuelles sous forme de classes de taille de 1 millimètre chacune.

Même s'il existe un manque de précision dans les mesures, cette méthode a l'avantage d'être rapide et évite de détériorer les coquilles, ce qui se produit souvent lorsque l'on effectue les mesures avec un pied à coulisse ou un palmer.

Paramètre	Définition ou mode de calcul
Taux de survie au 30 ^e jour post-exposition	Nombre de survivants / effectif des limnées lors de l'exposition aux miracidiums.
Prévalence de l'infestation fasciolienne	Nombre de mollusque avec émission / effectif des survivants au 30 ^e jour.
Croissance de la coquille au cours de l'expérience	Hauteur de la coquille <i>ad mortem</i> - taille de celle-ci lors de l'exposition, soit 4 mm.
Durée de la période prépatente	Intervalle de temps entre l'exposition aux miracidiums et la première émission cercarienne.
Durée de la période patente	Durée de la période au cours de laquelle les émissions ont lieu.
Nombre total de cercaires émises	Ce chiffre tient compte des cercaires mortes après leur sortie, et des métacercaires flottantes ou fixées.
Nombre de cercaires émises par jour	Ce calcul est effectué pour chaque jour de la période patente. La date de la première émission correspond, dans ce cas, au premier jour, quelle que soit la durée de la période prépatente.
Pourcentage des métacercaires flottantes.	On le détermine par rapport à l'ensemble des métacercaires, quel que soit leur type.
Charge rédienne globale	Elle correspond au nombre total de rédies encore en vie à la mort du mollusque.
Charge par génération	Quatre groupes ont été considérés : première rédie de première génération (R1a), autres rédies de première génération (R1b), première cohorte de seconde génération (R2a), générations suivantes (R2b/R3a).
Nombre de masses germinatives intra-rédiennes	Quatre types de masses ont été considérés : morulas, embryons procercariens, procercaires et cercaires.

Tableau XII.
Les paramètres étudiés chez les mollusques des dix séries expérimentales.

F. DISSECTION DES CADAVRES.

Le cadavre d'un mollusque juste mort sort facilement de la coquille, en saisissant le pied avec une pince pour l'extraire. Il suffit alors de déchirer la paroi externe entourant la glande digestive pour que les rédies et les cercaires restantes se comptent facilement. Une dissection simple des acini digestifs peut, dans quelques cas, libérer une ou deux rédies de petite taille.

Les rédies sont décomptées en fonction a) de la génération à laquelle elles appartiennent, et b) des masses germinatives (morulas, embryons prorédiens, rédies filles, embryons procercariens, procercaires, et cercaires) restant dans le corps de ces larves.

V. - PARAMÈTRES ÉTUDIÉS.

Ils sont fournis sur le tableau XII.

Les groupes rédiens de *F. hepatica* se reconnaissent à la morphologie du pharynx. D'après RONDELAUD et BARTHE (1987), AUGOT *et al.* (1998), la première génération rédienne (groupes R1a et R1b) présente des pharynx sphériques avec une lumière interne parfaitement ronde. Dans le cas de la première cohorte de seconde génération (groupe R2a), les pharynx ont une forme ovoïde, avec une lumière piriforme : le secteur préoral de celle-ci est rétréci tandis que le secteur préoesophagien est élargi. Enfin, les rédies des générations suivantes (R2b/R3a) ont un petit pharynx ovoïde avec une lumière étroite et linéaire.

La description des masses germinatives est fournie dans le premier chapitre, page 26.

VI. - TESTS STATISTIQUES.

Le test de comparaison des fréquences expérimentales (STAT-ITCF, 1988) a été utilisé pour établir les niveaux de signification statistique lorsqu'il s'agit de pourcentages (taux de survie, prévalence de l'infestation fasciolienne, pourcentage de kystes flottants).

Des moyennes, accompagnées de leurs écarts types, ont été calculées pour chacun des huit autres paramètres, en tenant compte du groupe rédien. Les moyennes ont été comparées entre elles par l'analyse de variance à un seul facteur (STAT-ITCF, 1988).

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

**LES CARACTÉRISTIQUES DE
L'INFESTATION FASCIOLIENNE
CHEZ *Lymnaea truncatula***

Nous avons regroupé à part les informations sur les paramètres généraux de l'expérience. Les résultats font l'objet de ce chapitre.

Le plan tient compte des différentes variables étudiées. Les deux premiers paragraphes sont consacrés à la survie des mollusques au 30^e jour de l'expérience et à la prévalence de l'infestation fasciolienne. Les deux suivants traitent de la croissance des limnées parasitées ou non par *F. hepatica* et de la durée des périodes prépatente ou patente. Enfin, la dernière subdivision expose les chiffres que nous avons obtenus pour le nombre de cercaires émises et celui des métacercaires.

I. - LA SURVIE DE *Lymnaea truncatula* AU COURS DE L'EXPÉRIENCE.

Ce paramètre a été établi au 30^e jour : les survivants ont été comptés avant d'être isolés dans les boîtes de Pétri pour le suivi des émissions cercariennes.

Le tableau XIII (page suivante) présente les résultats dans les huit séries. La lecture de ce dernier permet de faire les remarques suivantes :

Série témoin ou expérimentale*	Survie au 30 ^e jour post-exposition		Infestation fasciolienne		
	Nombre de survivants*	Fréquence	Nombre de limnées avec		Prévalence
			des formes larvaires	avec émission	
Berneuil x témoins	118	98,3 %	0	0	0 %
Migné x témoins	99	99,0 %	0	0	0 %
Berneuil x bovins	79	65,0 %	66	62	83,5 %
Migné x bovins	91	91,0 %	81	79	89,0 %
Berneuil x lapins	31	25,8 %	20	17	64,5 %
Migné x lapins	46	46,0 %	26	19	57,8 %
Berneuil x ovins	83	69,1 %	77	36	92,7 %
Migné x ovins	97	97,0 %	83	69	85,5 %
Berneuil x ragondins	80	66,6 %	67	61	83,7 %
Migné x ragondins	82	82,0 %	74	70	90,2 %

* Berneuil : 120 mollusques par série, et Migné : 100 limnées dans chaque groupe au départ de l'expérience.

Tableau XIII.
La survie des mollusques au 30^e jour d'expérience et la prévalence de l'infestation fasciolienne dans les huit séries de limnées parasitées par *Fasciola hepatica*.

- 1) La survie des témoins au 30^e jour d'expérience est de 98 ou de 99 % selon la population considérée.

- 2) Si l'on fait exception des deux séries lapins pour lesquelles la survie ne dépasse pas 50 %, les pourcentages relevés pour chaque population de limnées parasitées s'inscrivent dans le même ordre de grandeur. Chez les limnées de Berneuil, ils se situent entre 65 et 69 % alors que pour les mollusques de Migné, ils s'étendent de 82 à 91 %.

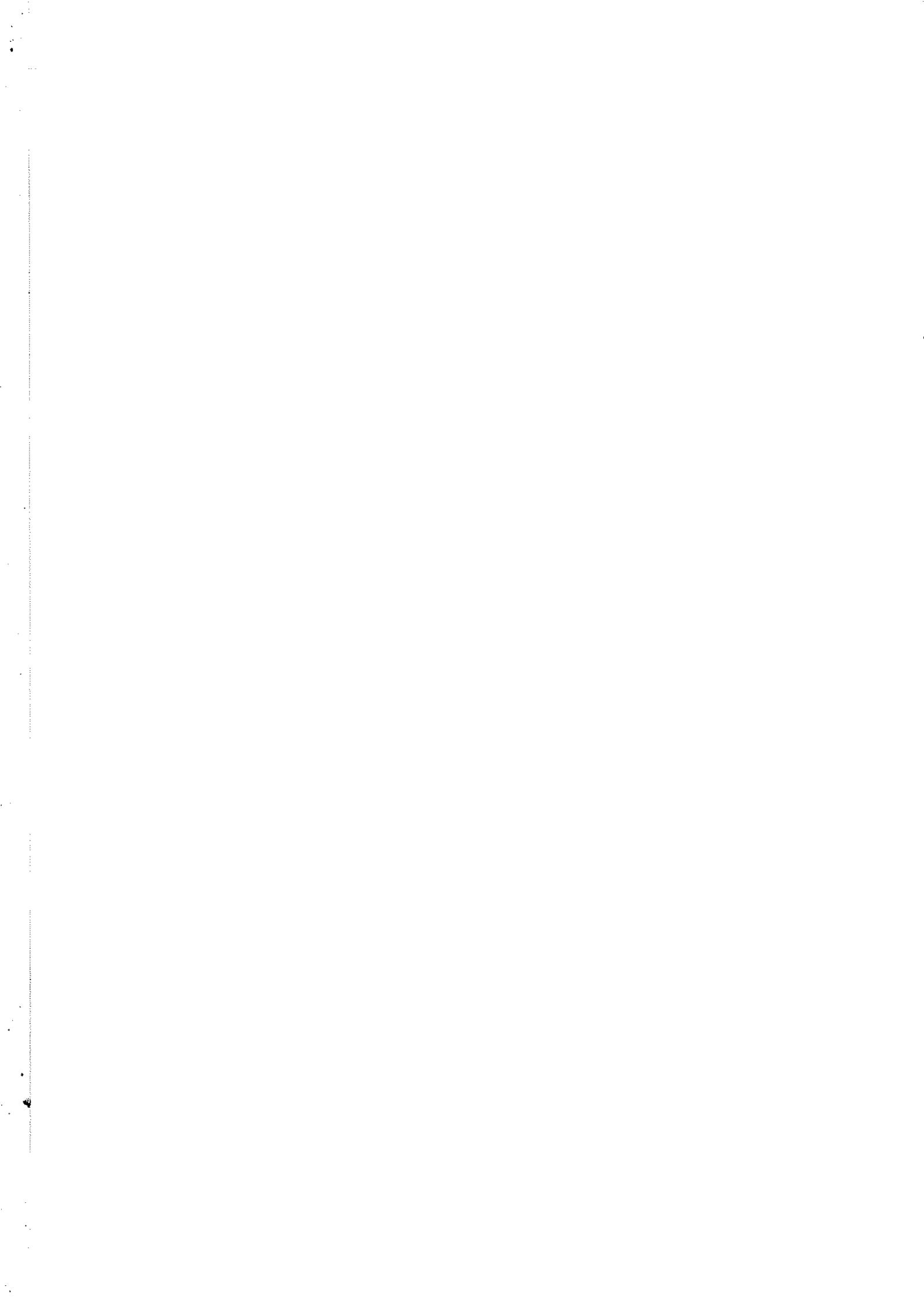
- 3) Dans les deux séries lapins, le nombre de survivants au 30^e jour est de 25 % chez les limnées de Berneuil et de 45 % pour les autres mollusques.

Ces pourcentages ont été comparés par voie statistique. Nous avons regroupé les résultats dans le tableau ci-dessous :

Population	Séries concernées	Signification	Séries concernées	Signification
Berneuil	Témoins/bovins	$P < 5 \%$	Bovins/lapins	$P < 5 \%$
	Témoins/lapins	$P < 5 \%$	Bovins/ovins	NS
	Témoins/ovins	$P < 5 \%$	Bovins/ragondins	NS
	Témoins/ragondins	$P < 5 \%$	Lapins/ovins	$P < 5 \%$
			Lapins/ragondins	$P < 5 \%$
			Ovins/ragondins	NS
Migné	Témoins/bovins	$P < 5 \%$	Bovins/lapins	$P < 5 \%$
	Témoins/lapins	$P < 5 \%$	Bovins/ovins	NS
	Témoins/ovins	NS	Bovins/ragondins	NS
	Témoins/ragondins	$P < 5 \%$	Lapins/ovins	$P < 5 \%$
			Lapins/ragondins	$P < 5 \%$
		Ovins/ragondins	$P < 5 \%$	
Entre Berneuil et Migné	Séries témoins	NS	Séries ovins	$P < 5 \%$
	Séries bovins	$P < 5 \%$	Séries ragondins	$P < 5 \%$
	Séries lapins	$P < 5 \%$		

Abréviations : NS (non significatif). P (probabilité au seuil de).

Pour chaque population considérée isolément, la survie des témoins est plus importante que celle des mollusques soumis aux miracidiums. Chez ces derniers, il existe des différences nettes entre le pourcentage du groupe lapin et ceux recueillis dans les trois autres séries.



Enfin, la survie des mollusques de Migné est significativement plus élevée que celle des limnées de Berneuil, sauf pour les témoins.

II. - PRÉVALENCE DE L'INFESTATION FASCIOLIENNE.

Pour calculer ce paramètre, nous avons considéré le nombre de limnées contenant des formes larvaires de *F. hepatica* (rédies, cercaires) lors de la dissection des cadavres et nous avons rapporté la valeur obtenue à l'effectif de mollusques utilisés lors de l'exposition aux miracidiums.

Les résultats sont fournis sur le tableau XIII (page 60). La prévalence de l'infestation est sensiblement voisine dans les séries bovins, ovins et ragondins (de 83,5 % à 92,7 %), quelle que soit la population de limnées. Par contre, elle est plus faible dans les deux séries lapins et, là encore, les deux pourcentages s'inscrivent dans le même ordre de grandeur (57,8 et 64,5 %).

Le tableau ci-dessous regroupe les résultats fournis par le test de comparaison des fréquences expérimentales :

Modalités de la comparaison		Signification
Berneuil	Bovins/lapins	$P < 5 \%$
	Bovins/ovins	NS
	Bovins/ragondins	NS
	Lapins/ovins	$P < 5 \%$
	Lapins/ragondins	$P < 5 \%$
	Ovins/ragondins	NS
Migné	Bovins/lapins	$P < 5 \%$
	Bovins/ovins	NS
	Bovins/ragondins	NS
	Lapins/ovins	$P < 5 \%$
	Lapins/ragondins	$P < 5 \%$
	Ovins/ragondins	NS
Entre les 2 populations de limnées	Séries bovins	NS
	Séries lapins	NS
	Séries ovins	NS
	Séries ragondins	NS

Abréviations : NS (non significatif). P (probabilité au seuil de).

L'analyse de ces données confirme les commentaires que nous avons formulés pour le tableau XIII. Les seules différences significatives que l'on relève sont celles qui existent entre les prévalences des séries lapins et celles des autres groupes.

III. - FRÉQUENCE DES LIMNÉES AVEC ÉMISSION.

Comme on peut le voir à la lecture du tableau XIII, toutes les limnées parasitées n'émettent pas de cercaires. Pour illustrer ce fait, nous avons répertorié sur le tableau ci-dessous les pourcentages de mollusques avec ou sans émissions dans les différentes séries expérimentales :

Série expérimentale		Nombre de survivants au 30 ^e jour	Pourcentages de limnées mortes	
			sans émission	avec émission
Bovins	Berneuil	79	5,0 %	78,4 %
	Migné	91	2,1 %	86,8 %
Lapins	Berneuil	31	9,6 %	54,8 %
	Migné	46	15,2 %	41,3 %
Ovins	Berneuil	83	37,3 %	43,3 %
	Migné	97	14,4 %	71,1 %
Ragondins	Berneuil	80	7,5 %	76,2 %
	Migné	82	4,8 %	85,3 %

Si l'on limite notre analyse statistique aux limnées avec émission, on constate que les fréquences relevées dans les séries bovins et ragondins sont voisines et qu'il n'y a pas de différence significative entre ces pourcentages.

Dans les séries ovins, il existe une nette discordance entre les deux fréquences : celle de Migné est proche des valeurs fournies dans les lots ovins et ragondins, alors que celle de Berneuil s'inscrit dans la gamme des valeurs recueillies pour les séries lapins. Il existe une différence significative entre les deux pourcentages des séries ovins ($P < 5 \%$). A l'inverse, aucune différence nette n'a été trouvée entre les fréquences des séries lapins et du groupe ovins de Berneuil, quel que soit le mode de comparaison.

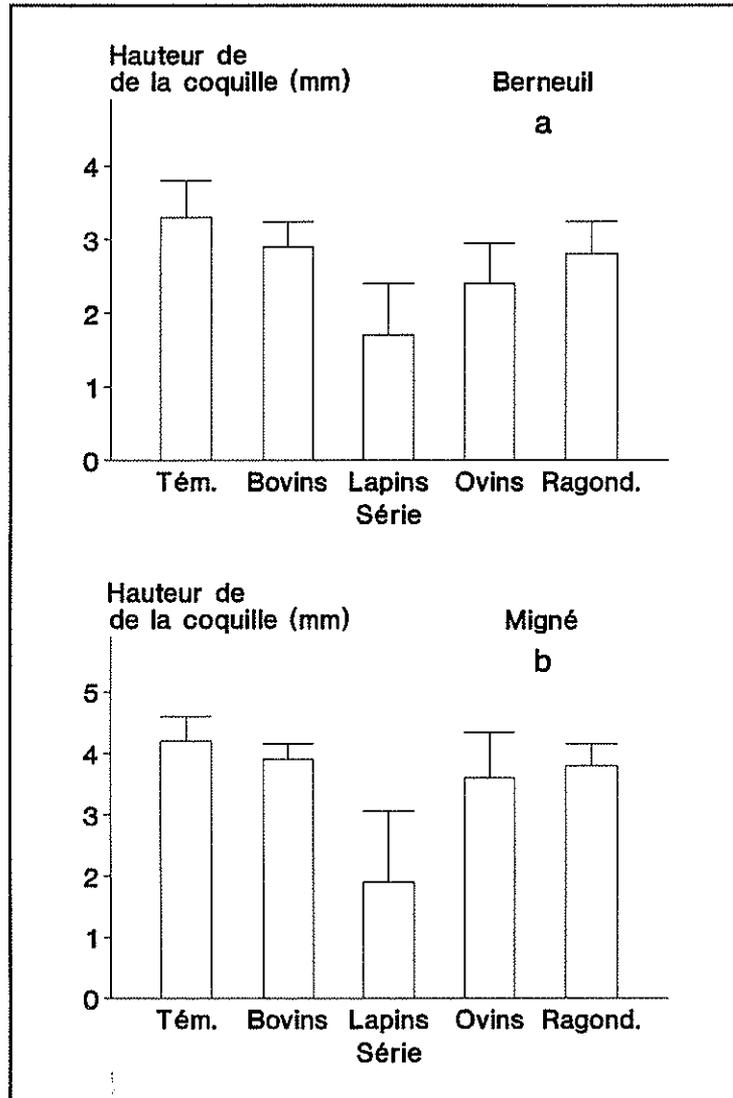


Figure 19.
 La croissance des limnées infestées par *Fasciola hepatica*
 par rapport à l'origine de l'isolat des miracidiums :
 populations de **Berneuil** (20a) et de **Migné** (20b).

IV. - CROISSANCE DES LIMNÉES AVEC ÉMISSION.

Les résultats concernant les témoins et les mollusques avec émission des huit autres séries expérimentales sont fournis sur la figure 19 pour les deux populations de limnées.

Dans chaque colonie prise isolément, la valeur des témoins est légèrement plus élevée que celles recueillies pour les quatre séries expérimentales. Si l'on considère les mollusques de Migné, la croissance en hauteur au cours de l'expérience est de 4,2 mm chez les témoins au lieu de 1,9 mm pour la série lapins et de 3,6 à 3,9 mm pour les trois autres groupes.

La croissance en hauteur dans la série lapins est nettement plus faible que celles des trois autres séries expérimentales, quelle que soit la colonie des mollusques.

Le tableau ci-dessous présente les résultats de l'analyse de variance :

Modalités de la comparaison		Degrés de liberté	Rapport <i>F</i> de Fisher	Signification
Berneuil	Entre les 5 séries.	4/289	4,78	$P < 1 \%$
	Entre les 4 séries soumises à l'infestation.	3/172	3,74	$P < 5 \%$
	Entre les séries bovins, ovins et ragondins.	2/156	1,07	NS
Migné	Entre les 5 séries.	4/331	7,37	$P < 1 \%$
	Entre les 4 séries soumises à l'infestation.	3/234	6,97	$P < 1 \%$
	Entre les séries bovins, ovins et ragondins.	2/215	0,32	NS
Entre Berneuil et Migné	Séries témoins.	1/216	6,42	$P < 5 \%$
	Séries bovins.	1/139	19,56	$P < 0,1 \%$
	Séries lapins.	1/34	0,09	NS
	Séries ovins.	1/103	6,18	$P < 5 \%$
	Séries ragondins.	1/129	9,55	$P < 1 \%$

Abréviations : NS (non significatif). *P* (probabilité au seuil de).

Les résultats fournis par le test statistique confirment notre description. Les valeurs obtenus dans les séries lapins sont significativement plus faibles que celles recueillies dans les autres groupes expérimentaux. Il n'y a pas de différence significative entre les deux séries

Série expérimentale	Nombre de limnées avec émission	Moyennes et écarts types (en jours) pour les durées des	
		Période prépatente	Période patente
Berneuil x bovins	62	49,3 ± 5,4	16,3 ± 17,4
Migné x bovins	79	55,2 ± 6,4	29,3 ± 22,4
Berneuil x lapins	17	53,8 ± 7,7	9,2 ± 9,4
Migné x lapins	19	51,5 ± 6,0	5,0 ± 4,6
Berneuil x ovins	36	49,5 ± 6,9	7,2 ± 6,4
Migné x ovins	69	59,6 ± 8,1	34,2 ± 23,3
Berneuil x ragondins	61	48,9 ± 7,0	28,8 ± 20,1
Migné x ragondins	70	56,5 ± 7,8	41,0 ± 21,7

Tableau XIV.
La durée des périodes prépatente et patente dans les six séries de limnées parasitées par *Fasciola hepatica*.

Modalités de la comparaison		Degrés de liberté	Rapport <i>F</i> de Fisher	Signification
Berneuil	Entre les 4 séries soumises à l'infestation.	3/172	0,28	NS
Migné	Entre les 4 séries soumises à l'infestation.	3/234	2,54	NS
Entre Berneuil et Migné	Séries bovins.	1/139	1,93	NS
	Séries lapins.	1/34	0,21	NS
	Séries ovins.	1/103	3,63	NS
	Séries ragondins.	1/129	2,03	NS

Abréviation : NS (non significatif).

Tableau XV.

Les résultats de l'analyse de variance sur la **période prépatente** dans les huit séries expérimentales de *Lymnaea truncatula* infestée par *Fasciola hepatica*.

Modalités de la comparaison		Degrés de liberté	Rapport <i>F</i> de Fisher	Signification
Berneuil	Entre les 4 séries soumises à l'infestation.	3/172	20,80	$P < 0,1 \%$
	Entre bovins et ragondins.	1/121	1,45	NS
	Entre lapins et ovins.	1/51	0,18	NS
Migné	Entre les 4 séries soumises à l'infestation.	3/234	6,70	$P < 1 \%$
	Entre bovins, ovins et ragondins.	2/215	1,12	NS
Entre Berneuil et Migné	Séries bovins.	1/139	0,94	NS
	Séries lapins.	1/34	0,76	NS
	Séries ovins.	1/103	5,73	$P < 5 \%$
	Séries ragondins.	1/129	0,88	NS

Abréviations : NS (non significatif). *P* (probabilité au seuil de).

Tableau XVI.

Les résultats de l'analyse de variance sur la **période patente** dans les huit séries expérimentales de *Lymnaea truncatula* infestée par *Fasciola hepatica*.

lapins ; par contre, dans les autres groupes expérimentaux, la croissance des limnées de Migné est significativement plus élevée que celle des mollusques de Berneuil.

V. - DURÉE DES PÉRIODES PRÉPATELLE ET PATELLE.

Le tableau XIV indique les valeurs moyennes et les écarts types pour ces deux paramètres dans les huit séries expérimentales. Les résultats fournis par la confrontation des moyennes à l'aide de l'analyse de variance sont présentés sur le tableau XV pour la période prépatente, et sur le tableau XVI pour l'autre variable.

La lecture de ces trois tableaux permet les constatations suivantes :

- 1) Les valeurs de la période prépatente s'inscrivent dans une gamme allant de 48,9 à 53,8 jours pour la population de Berneuil, et de 51,5 à 59,6 pour les mollusques de Migné. Mais il n'y a pas de différence significative entre les moyennes, quel que soit le mode de comparaison (Tableau XV).

- 2) A l'inverse du paramètre précédent, les valeurs de la période patente présentent une certaine variabilité selon les séries. Elles ne dépassent pas 10 jours dans les deux séries lapins et chez le groupe ovins de Berneuil. Elles sont plus élevées chez les autres mollusques, avec une gamme allant de 16,3 à 41 jours.

L'examen du tableau XVI confirme ces différences. Les moyennes enregistrées dans les deux séries lapins et le groupe ovin de Berneuil sont significativement plus faibles que les valeurs provenant des autres mollusques.

VI. - LES MÉTACERCAIRES DE *Fasciola hepatica*.

Le tableau XVII (page suivante) présente les valeurs que nous avons obtenues pour ce paramètre dans les huit séries expérimentales.

Dans chaque population, c'est la série ragondins où l'on trouve le nombre le plus élevé de métacercaires (143 par limnée pour Berneuil et 201 pour Migné). Viennent ensuite par ordre décroissant le groupe bovins, puis la série ovins et, enfin, le groupe lapins (avec moins de 40 parasites par mollusque).

Série expérimentale	Nombre de limnées avec émission	Nombre de métacercaires	
		Total	Moyenne ± écart type
Berneuil x bovins	62	3.268	52,7 ± 39,3
Migné x bovins	79	9.054	114,6 ± 71,3
Berneuil x lapins	17	616	36,2 ± 40,5
Migné x lapins	19	369	19,4 ± 19,3
Berneuil x ovins	36	1.437	39,9 ± 29,6
Migné x ovins	69	7.287	105,6 ± 72,8
Berneuil x ragondins	71	10.175	143,3 ± 94,1
Migné x ragondins	70	14.126	201,8 ± 119,5

Tableau XVII.
Le nombre total de métacercaires dans les huit séries de limnées parasitées par *Fasciola hepatica*.

Les différents résultats fournis par l'analyse de variance sont résumés sur le tableau ci-dessous :

Modalités de la comparaison		Degrés de liberté	Rapport <i>F</i> de Fisher	Signification
Berneuil	Entre les 4 séries soumises à l'infestation.	3/172	26,04	$P < 0,1 \%$
	Entre bovins et ragondins.	1/121	34,75	$P < 0,1 \%$
	Entre bovins et ovins.	1/96	9,32	$P < 1 \%$
	Entre lapins et ovins.	1/51	1,12	NS
Migné	Entre les 4 séries soumises à l'infestation.	3/234	20,99	$P < 0,1 \%$
	Entre bovins et ragondins.	1/147	32,08	$P < 0,1 \%$
	Entre bovins et ovins.	1/137	0,76	NS
	Entre lapins et ovins.	1/86	18,61	$P < 0,1 \%$
Entre Berneuil et Migné	Séries bovins.	1/139	26,71	$P < 0,1 \%$
	Séries lapins.	1/34	0,52	NS
	Séries ovins.	1/103	35,16	$P < 0,1 \%$
	Séries ragondins.	1/129	8,88	$P < 1 \%$

Abréviations : NS (non significatif). *P* (probabilité au seuil de).

L'examen de ce tableau montre que le nombre total de métacercaires est significativement plus élevé dans la série ragondins, quelle que soit la population de la limnée. Dans les groupes bovins et ovins, il n'y a pas de différence significative pour Migné alors que l'on en trouve une pour celle de Berneuil. Enfin, les valeurs les plus faibles s'observent dans les séries lapins.

VII. - CAS DES MÉTACERCAIRES FLOTTANTES.

Les résultats sont fournis sur le tableau XVIII (page suivante) pour les huit séries.

Les commentaires se superposent en partie à ceux que nous avons formulés lors de la lecture du tableau XVII. Les valeurs les plus élevées se trouvent également dans les séries ragondins. Les chiffres des groupes bovins et ovins sont plus élevés à Migné que celui du lot lapins tandis qu'à Berneuil, les valeurs sont assez faibles et s'inscrivent dans le même ordre de grandeur.

Série expérimentale	Nombre de limnées avec émission	Nombre de métacercaires flottantes	
		Total	Moyenne ± écart type
Berneuil x bovins	62	317	5,1 ± 6,3
Migné x bovins	79	917	11,6 ± 12,7
Berneuil x lapins	17	111	6,5 ± 8,6
Migné x lapins	19	54	2,8 ± 4,2
Berneuil x ovins	36	79	2,2 ± 2,5
Migné x ovins	69	904	13,1 ± 15,8
Berneuil x ragondins	71	1.391	19,6 ± 20,5
Migné x ragondins	70	2.023	28,9 ± 28,3

Tableau XVIII.
Le nombre de métacercaires flottantes dans les huit séries de limnées parasitées par *Fasciola hepatica*.

Les moyennes ont été confrontées entre elles par l'analyse de variance. Les résultats sont fournis sur le tableau ci-après :

Modalités de la comparaison		Degrés de liberté	Rapport <i>F</i> de Fisher	Signification
Berneuil	Entre les 4 séries soumises à l'infestation.	3/172	13,51	$P < 0,1 \%$
	Entre bovins et ragondins.	1/121	23,91	$P < 0,1 \%$
	Entre bovins et lapins.	1/77	1,27	NS
	Entre lapins et ovins.	1/49	4,12	$P < 5 \%$
Migné	Entre les 4 séries soumises à l'infestation.	3/234	9,83	$P < 0,1 \%$
	Entre ovins et ragondins.	1/137	16,14	$P < 0,1 \%$
	Entre bovins et ovins.	1/146	0,44	NS
	Entre lapins et bovins.	1/96	24,61	$P < 0,1 \%$
Entre Berneuil et Migné	Séries bovins.	1/139	18,56	$P < 0,1 \%$
	Séries lapins.	1/34	0,54	NS
	Séries ovins.	1/103	16,83	$P < 0,1 \%$
	Séries ragondins.	1/129	4,17	$P < 5 \%$

Abréviations : NS (non significatif). *P* (probabilité au seuil de).

La lecture de ce tableau montre l'existence de différences significatives entre les moyennes. Celles obtenues dans les séries ragondins sont nettement supérieures aux chiffres enregistrés dans les autres groupes.

Il nous a paru intéressant d'exprimer les métacercaires flottantes sous forme de pourcentages par rapport à l'ensemble des métacercaires que nous avons obtenues dans les différentes séries expérimentales (voir le tableau XVII). Les valeurs obtenues sont fournies sur le tableau ci-dessous :

Séries	Population de Berneuil	Population de Migné
bovins	9,6 %	10,1 %
lapins	17,9 %	14,4 %
ovins	5,5 %	12,4 %
ragondins	4,5 %	14,3 %



Les résultats rapportés sur ce tableau démontrent nettement que la population de la limnée influe sur le pourcentage des métacercaires flottantes formées. Les valeurs sont supérieures à plus de 10 % chez les limnées de Migné alors qu'ils sont inférieurs à ce pourcentage pour celles de Berneuil, à l'exception toutefois de la série lapins.



EMISSIONS CERCARIENNES DE *Fasciola hepatica* ET PÉRIODICITÉ

Le but de ce chapitre est de déterminer s'il existe un rythme de type infradien (supérieur à 24 heures) dans les émissions cercariennes de *F. hepatica* par rapport à la nature de l'hôte définitif d'où proviennent les oeufs du parasite.

Les résultats sont présentés dans deux paragraphes. Le premier traite de la distribution des cercaires au cours de la période patente. Le second porte sur les vagues d'émission.

I. - DYNAMIQUE DE LA PRODUCTION CERCARIENNE.

A. DISTRIBUTION NUMÉRIQUE AU COURS DE LA PÉRIODE PATENTE.

Pour effectuer cette analyse, nous avons numéroté les jours de chaque période patente en commençant par le premier jour d'émission (jour n° 1) et ainsi de suite jusqu'au dernier jour lorsque le mollusque meurt. Les effectifs de larves émises chaque jour sont ensuite ramenés à une moyenne pour une limnée en tenant compte de la série expérimentale.

Les résultats sont transcrits respectivement sur la figure 20 pour les groupes bovins et lapins, et sur la figure 21 pour les deux autres lots.



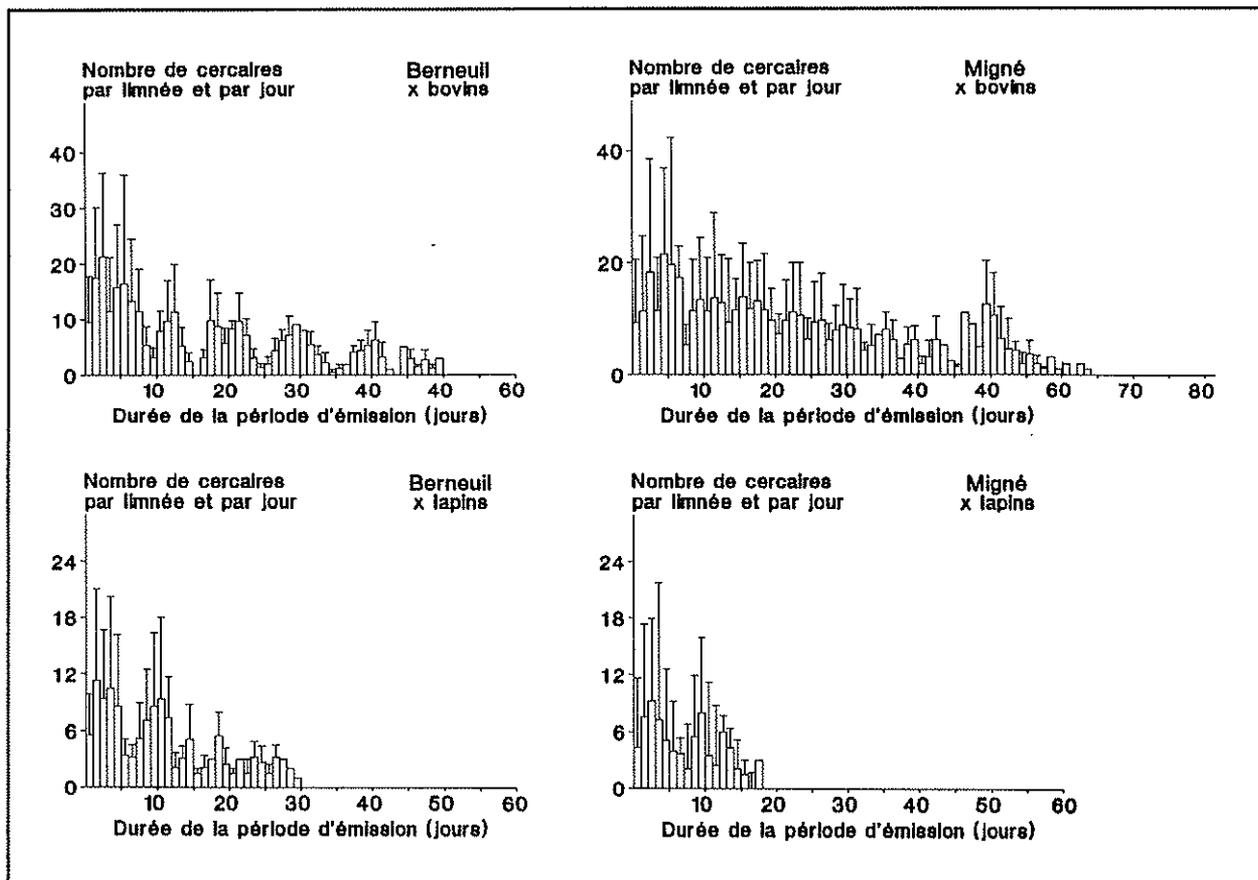


Figure 20.
 La distribution numérique des cercaires au cours de la période patente dans les séries **bovins** et **lapins**.

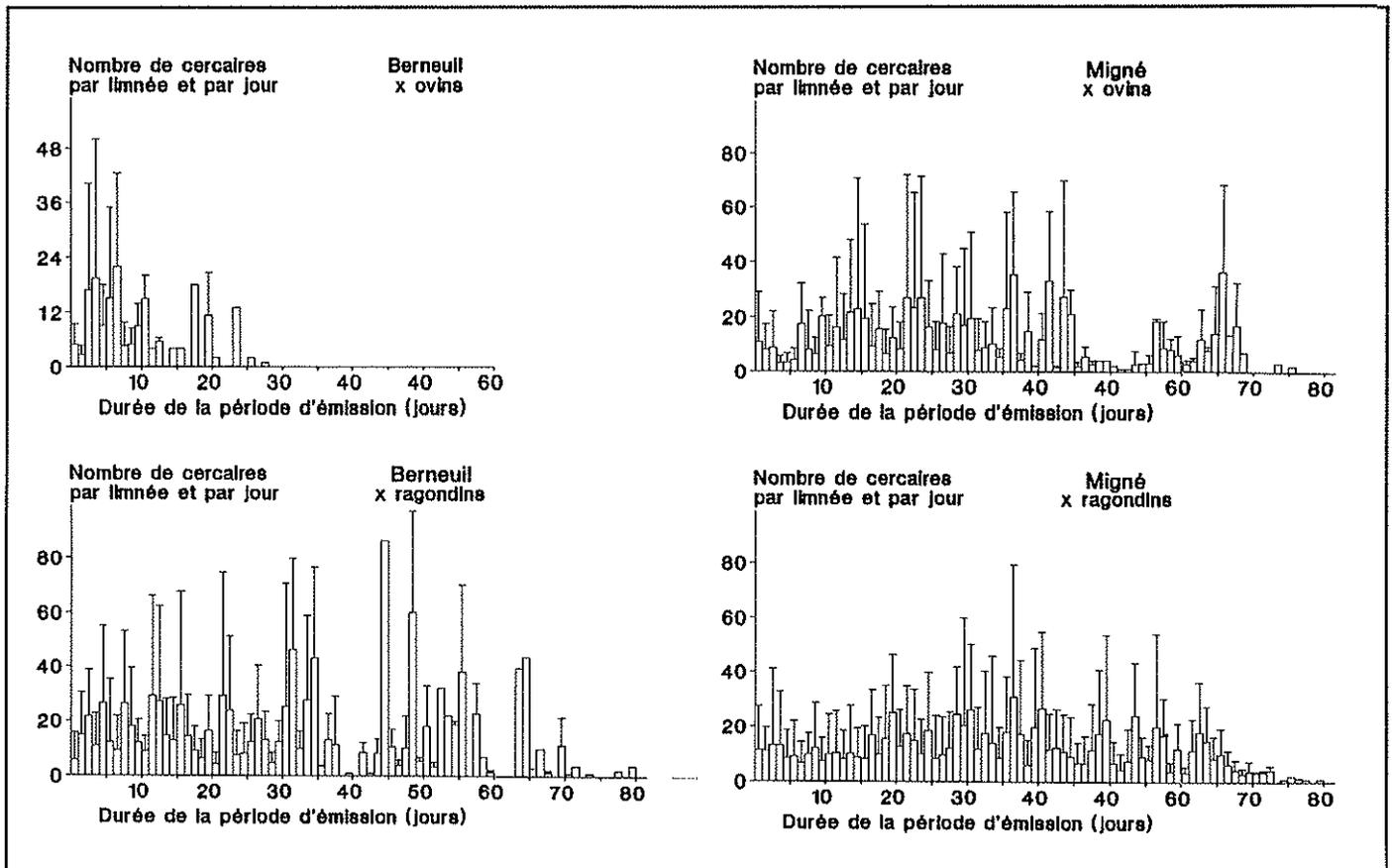


Figure 21.
 La distribution numérique des cercaires au cours de
 la période patente dans les séries ovins et ragondins.

La lecture de ces deux figures permet de formuler les commentaires suivants :

- 1) Les quatre graphes de la figure 20 présentent la même évolution numérique. Les moyennes passent par un maximum au deuxième ou au troisième jour de la période patente mais les chiffres diffèrent selon les séries. Les valeurs maximales enregistrées se situent autour de 20 cercaires/limnée/jour dans les deux séries bovins alors qu'elles n'atteignent pas 12 cercaires dans les groupes lapins.

Par la suite, les moyennes diminuent de manière progressive jusqu'à la fin de la période, malgré l'existence de rebonds réguliers dans la série Berneuil x bovins et dans les deux groupes lapins. La fin des émissions est plus tardive dans les séries bovins (au 40^e jour pour Berneuil, au 64^e jour pour Migné) que dans les deux autres lots (au 29^e et au 18^e jour par ordre respectif).

- 2) Dans les quatre autres séries (Fig. 21), on note une discordance dans l'évolution numérique des moyennes tout au long de la période patente. Si la courbe de Berneuil x ovins est similaire à celles que nous avons notées pour les groupes bovins et lapins, il n'en est pas de même pour les trois autres graphes. Les moyennes s'accroissent progressivement pour atteindre un maximum entre le 20^e et le 30^e jour dans la série Migné x ovins, ou entre le 30^e et le 40^e jour dans les groupes ragondins.

La diminution terminale des moyennes est plus longue car les émissions se terminent au 76^e jour de la période patente dans le groupe Migné x ovins, et au 80^e jour dans les deux séries ragondins. L'amplitude de nombreux écarts types est encore assez importante au cours de cette phase.

B. LES AUTOCORRÉLOGRAMMES.

Les moyennes obtenues dans ces huit séries ont été soumises au test d'auto-corrélation afin de déterminer s'il existe une périodicité de type infradien dans la distribution de ces moyennes au cours de la période d'émission. Les résultats sont fournis sur les graphes des figures 22 et 23 (pages suivantes). On peut noter les points suivants :

- Une certaine variabilité existe dans les courbes d'auto-corrélation.

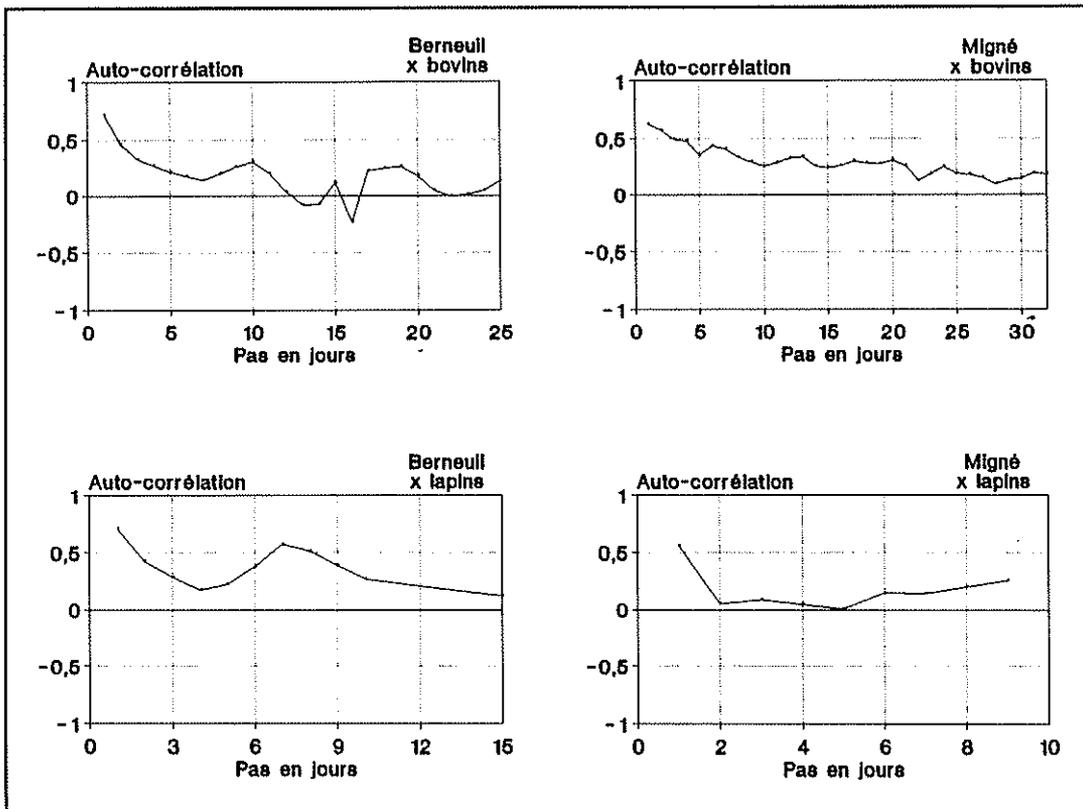


Figure 22.

Les résultats du test d'auto-corrélation pour la distribution numérique des cercaires au cours de la période patente dans les séries **bovins** et **lapins**.

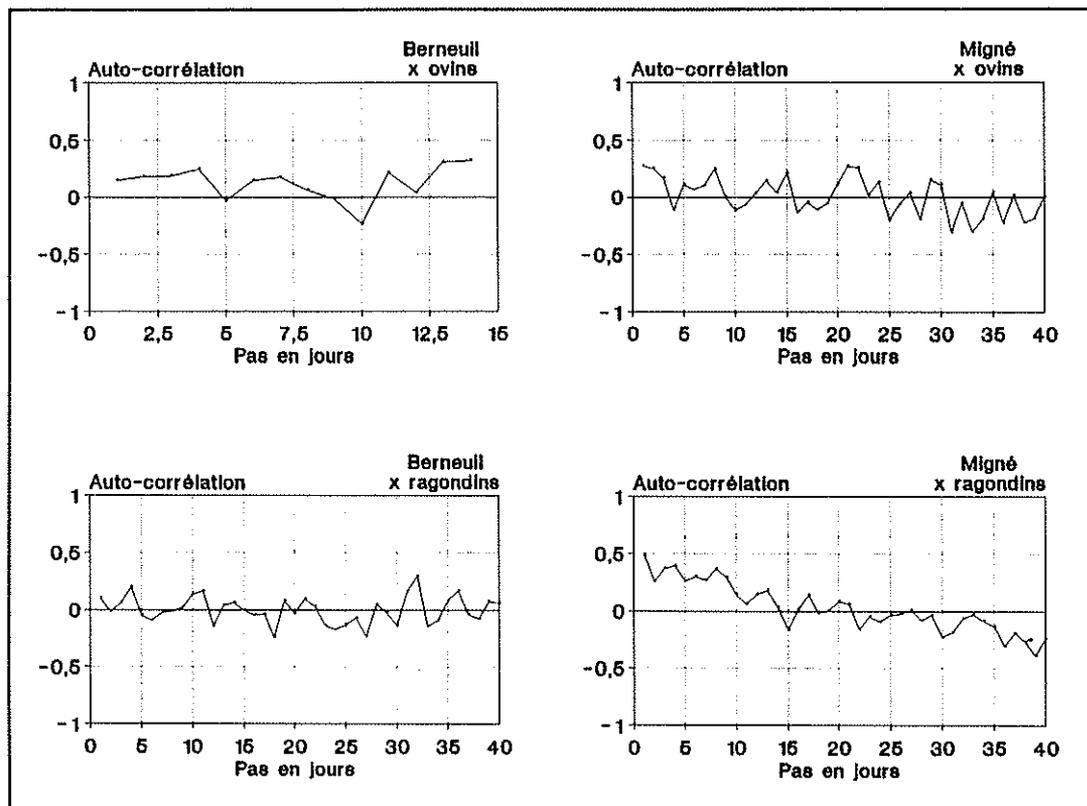


Figure 23.
 Les résultats du test d'auto-corrélation pour la distribution numérique des cercaires au cours de la période patente dans les séries **ovins** et **ragondins**.

- Cette variabilité est assez nette pour la population de Berneuil car l'on note des pics au 10^e jour et au 17^e ou au 19^e jour dans la série bovins, au 7^e jour dans le groupe lapins, au 7^e et au 13^e ou au 14^e jour dans la série ovins. Par contre, le graphe du groupe ragondins ne montre pas de périodicité.

- Dans la population de Migné, les quatre courbes ne permettent pas de déterminer un rythme dans la distribution numérique des moyennes.

Malgré les observations faites pour la population de Berneuil, la variabilité des courbes sur les huit graphes n'apporte pas d'argument net pour conclure à l'existence d'une périodicité de type infradien dans les émissions cercariennes de *F. hepatica*.

II. - LES VAGUES D'ÉMISSION.

Les cercaires sont émises de manière discontinue. Leurs sorties caractérisent ainsi des vagues d'émission séparées par des repos au cours desquels il y a un arrêt du processus.

Le tableau suivant répertorie le nombre maximal de ces vagues dans les huit séries expérimentales de *L. truncatula* :

Série expérimentale	Nombre maximum de vagues d'émission
Berneuil x bovins	9
Migné x bovins	13
Berneuil x lapins	8
Migné x lapins	5
Berneuil x ovins	9
Migné x ovins	16
Berneuil x ragondins	17
Migné x ragondins	19

La lecture du tableau montre nettement que le nombre de ces vagues augmente comme la durée de la période patente. Les valeurs les plus élevées se situent dans les séries ragondins où la période patente dure 80 jours.

Nombre de vagues d'émission par limnée	Nombre de limnées de Berneuil émettant leurs cercaires sur			
	Série bovins	Série lapins	Série ovins	Série ragondins
1	17	9	13	1
2	11	3	6	0
3	9	2	3	2
4	3	0	5	4
5	7	1	3	5
6	9	1	3	2
7	3	0	2	4
8	1	1	1	1
9	2	0	0	7
10	0	0	0	9
11	0	0	0	12
12	0	0	0	6
13	0	0	0	11
14	0	0	0	4
15	0	0	0	2
16	0	0	0	0
17	0	0	0	1

Tableau XIX.
La distribution des limnées parasitées par *Fasciola hepatica*
par rapport au nombre de vagues d'émission. Cas de **Berneuil**.

Nombre de vagues d'émission par limnée	Nombre de limnées de Migné émettant leurs cercaires sur			
	Série bovins	Série lapins	Série ovins	Série ragondins
1	21	14	9	3
2	9	3	3	1
3	4	1	2	0
4	5	0	0	0
5	3	1	1	4
6	7	0	3	5
7	8	0	1	3
8	6	0	5	2
9	4	0	12	7
10	5	0	7	9
11	2	0	2	11
12	3	0	6	9
13	2	0	8	4
14	0	0	5	3
15	0	0	4	5
16	0	0	1	2
17	0	0	0	1
18	0	0	0	0
19	0	0	0	1

Tableau XX.
La distribution des limnées parasitées par *Fasciola hepatica*
par rapport au nombre de vagues d'émission. Cas de **Migné**.

Les deux tableaux XIX et XX fournissent le détail de ces vagues d'émission pour chaque série expérimentale. Il est intéressant de remarquer :

- que pour les séries bovins, lapins et ovins (Berneuil), on assiste à une diminution numérique des limnées émettant leurs parasites lorsque le nombre de vagues augmente.

- que dans les trois autres groupes, à savoir les ragondins et la série ovins de Migné, de nombreuses limnées émettent leurs cercaires en 9-11 vagues et plus. Le nombre de mollusques avec 1 ou 2 vagues d'émission est assez faible.

L'analyse de ces résultats montre clairement que les deux séries ragondins et le groupe ovins de Migné ont une dynamique des émissions cercariennes qui diffère de celle des autres lots de *L. truncatula*.

**LES RÉDIES ET LEUR CONTENU À
LA MORT DES MOLLUSQUES PARASITÉS
PAR *Fasciola hepatica***

Lorsque la limnée meurt après une émission, il reste encore des cercaires indépendantes dans son corps, en plus des rédies qui leur ont donné naissance. Comme peu de données sont parues sur cette charge parasitaire, il nous a semblé utile de préciser ce point en décomptant les rédies indépendantes en fonction de leur groupe d'appartenance, et en dénombrant les différents types de masses germinatives intra-rédiennes et les cercaires libres qui restent dans la limnée.

Le premier paragraphe est consacré au nombre de cadavres étudiés dans les huit séries expérimentales. Les deux subdivisions suivantes traitent des rédies indépendantes et de leur contenu. Le dernier temps de ce chapitre porte sur les cercaires indépendantes.

I. - NOMBRE DE MOLLUSQUES ÉTUDIÉS.

Le tableau situé en haut de la page 86 récapitule l'effectif de limnées avec émission dans chaque série expérimentale et le nombre de cadavres que nous avons disséqués pour chacune d'entre elles.

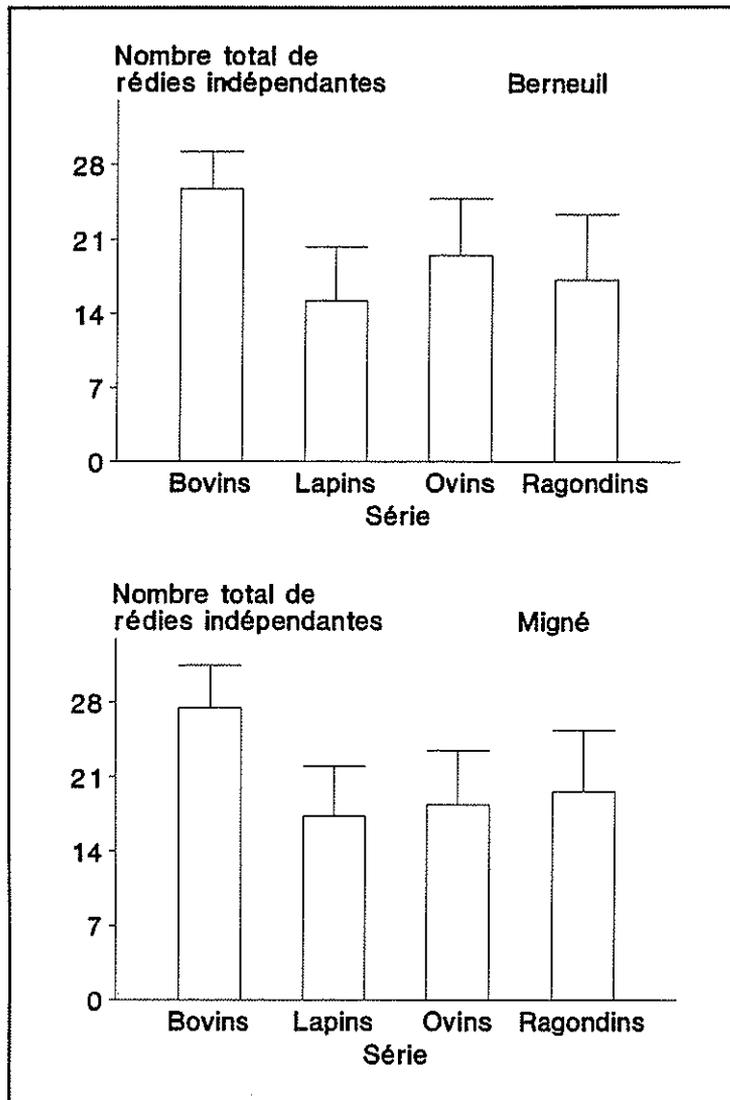


Figure 24.
 La charge rédienne de *Fasciola hepatica* restant dans le corps des mollusques morts des huit séries expérimentales.

Série expérimentale	Nombre de limnées avec émission	Nombre de cadavres disséqués
Berneuil x bovins	62	27
Migné x bovins	79	21
Berneuil x lapins	17	11
Migné x lapins	19	7
Berneuil x ovins	36	16
Migné x ovins	69	32
Berneuil x ragondins	61	26
Migné x ragondins	70	24
Totaux pour Berneuil	176	80
Totaux pour Migné	237	84

Nos observations ont donc porté sur 80 limnées de Berneuil et 84 de Migné, ce qui correspond respectivement à 45,4 et 35,4 % des mollusques parasités de chaque population, toutes les séries étant confondues.

Les mollusques avaient une infestation de deux mois ou plus au moment de leur mort.

II. - LA CHARGE RÉDIENNE.

A. NOMBRE TOTAL DES RÉDIES INDÉPENDANTES.

Dans les deux populations de limnées, le nombre de rédies est plus élevé dans les séries bovins que dans les autres groupes. A titre d'exemple, il est de 23,7 en moyenne dans la série bovins de Berneuil au lieu de 13,2 à 17,5 rédies par mollusques dans les autres groupes de cette colonie (Fig. 24).

Le tableau ci-dessous fournit les résultats de l'analyse de variance :

Modalités de la comparaison	Degrés de liberté	Rapport <i>F</i> de Fisher	Signification
Entre les huit séries	7/156	2,93	$P < 1 \%$
Entre les séries bovins	1/46	0,44	NS
Entre les six autres groupes	5/110	0,88	NS

Abréviations : NS (non significatif). *P* (probabilité au seuil de).

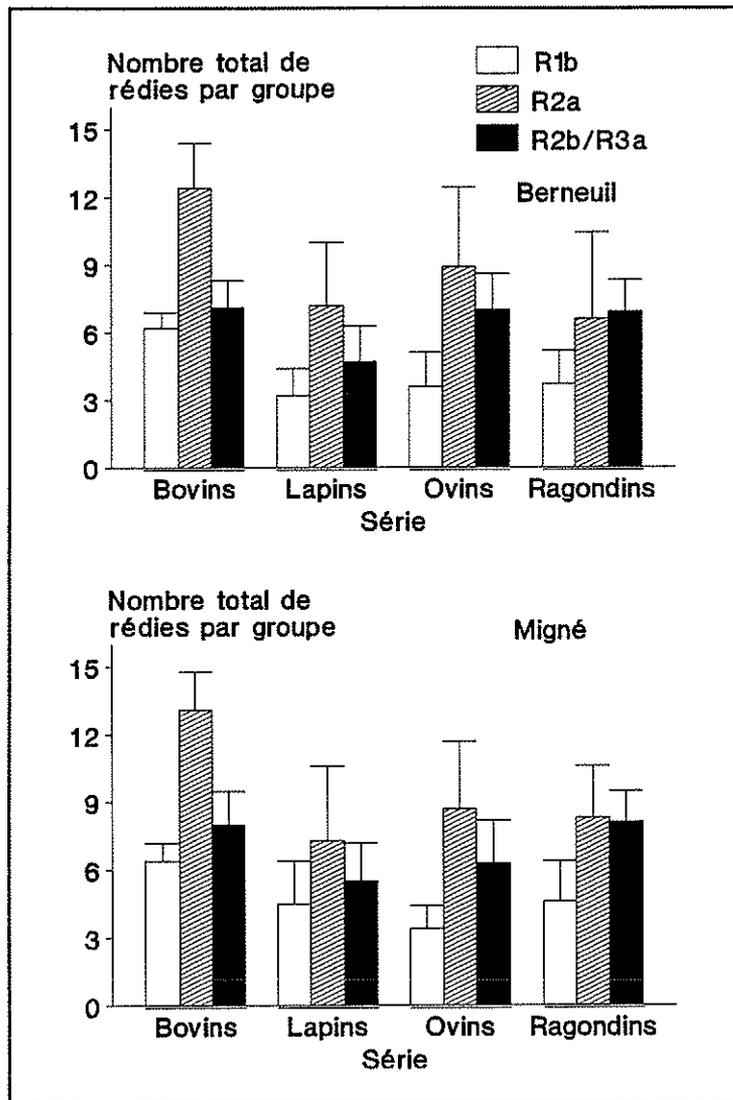


Figure 25.
 La distribution des rédies indépendantes de *Fasciola hepatica* par rapport à leur groupe d'appartenance chez les mollusques des huit séries expérimentales.

La lecture du tableau situé au bas de la page 86 montre que la charge rédienne dans les deux séries bovins est significativement plus élevée que dans les six autres groupes.

B. NOMBRE DE RÉDIES PAR GÉNÉRATION.

Les résultats sont fournis sur la figure 25.

Si l'on considère les groupes R1b et R2a, les moyennes relevées dans les séries bovins sont plus élevées que celles enregistrées chez les autres mollusques. A titre d'exemple, le nombre moyen de rédies R1b est ainsi de 6,2 chez les limnées de Berneuil x bovins alors que les valeurs ne dépassent 3,7 par limnée dans les autres séries.

A l'inverse, les moyennes ne présentent pas de variation nette dans le groupe R2b/R3a, à l'exception des séries lapins pour lesquelles les chiffres sont légèrement plus faibles.

Les résultats fournis par la comparaison des différentes moyennes sont présentés sur le tableau ci-dessous :

Modalités de la comparaison		Degrés de liberté	Rapport <i>F</i> de Fisher	Signification
R1b	Entre les 8 séries	7/156	3,20	$P < 1 \%$
	Entre les séries bovins	1/46	0,11	NS
	Entre les autres groupes	5/110	0,57	NS
R2a	Entre les 8 séries	7/156	2,71	$P < 5 \%$
	Entre les séries bovins	1/46	0,27	NS
	Entre les autres groupes	5/110	0,33	NS
R2b/R3a	Entre les 8 séries	7/156	2,29	$P < 5 \%$
	Entre les séries lapins	1/16	0,88	NS
	Entre les autres groupes	5/140	0,49	NS

Abréviations : NS (non significatif). *P* (probabilité au seuil de).

L'examen de ce tableau montre clairement que le nombre de rédies dans les groupes R1b et R2a est significativement plus important dans les séries bovins. Par contre, on ne retrouve pas cet effet bovins dans le groupe R2b/R3a.

Série	Groupe	Nombre total de rédies	Nombre (et pourcentage) de rédies indépendantes		
			vides de contenu	avec quelques masses (morulas, embryons, procercaires)	avec des morulas et quelques embryons
Berneuil x bovins	R1b	167	107	60	0
	R2a	335	94	228	13
	R2b/R3a	192	23	82	87
Berneuil x lapins	R1b	35	27	8	0
	R2a	79	24	32	23
	R2b/R3a	52	3	18	31
Berneuil x ovins	R1b	58	48	10	0
	R2a	143	34	92	17
	R2b/R3a	112	21	23	68
Berneuil x ragondins	R1b	96	57	37	2
	R2a	171	43	99	29
	R2b/R3a	179	3	72	104
Totaux pour Berneuil	R1b	356	239 (67,1 %)	115 (32,3 %)	2 (0,5 %)
	R2a	728	195 (26,7 %)	451 (61,9 %)	82 (11,2 %)
	R2b/R3a	535	50 (9,3 %)	195 (36,4 %)	290 (54,2 %)
Migné x bovins	R1b	135	75	58	2
	R2a	275	60	172	43
	R2b/R3a	168	11	78	79
Migné x lapins	R1b	32	15	13	4
	R2a	51	14	30	7
	R2b/R3a	39	2	14	23
Migné x ovins	R1b	109	41	62	7
	R2a	278	64	162	52
	R2b/R3a	201	7	60	134
Migné x ragondins	R1b	110	34	76	0
	R2a	199	45	126	28
	R2b/R3a	194	11	90	93
Totaux pour Migné	R1b	386	165 (42,7 %)	209 (54,1 %)	13 (3,3 %)
	R2a	803	183 (22,7 %)	490 (61,0 %)	130 (16,1 %)
	R2b/R3a	602	31 (5,1 %)	242 (40,1 %)	329 (54,6 %)

Tableau XXI.
Distribution numérique des rédies indépendantes de *Fasciola hepatica*
par rapport aux masses germinatives présentes dans leur corps à la
mort de *Lymnaea truncatula*.

III. - LE CONTENU INTRA-RÉDIEN.

A. NOMBRE DE RÉDIÉS ÉTUDIÉES.

Nous avons répertorié, sur le tableau XXI, les rédiés indépendantes de *F. hepatica* par rapport à leur contenu à la mort des mollusques. L'état de celui-ci a été caractérisé par l'un des trois aspects suivants :

- 1) les rédiés sont vides de toute masse germinative. Leurs dimensions sont généralement plus faibles et certaines d'entre elles ne se reconnaissent plus qu'aux restes de leur pharynx.

- 2) ces larves présentent encore des masses germinatives (morulas, embryons procercariens, procercaires) séparées par de larges espaces vides.

- 3) les rédiés sont de petite taille. Elles sont remplies de masses germinatives, avec de nombreuses morulas et quelques embryons.

Si l'on considère les pourcentages établis pour Berneuil et Migné, on constate que les rédiés vides représentent 42 ou 67 % du groupe R1b alors que le reste n'est constitué que par des larves avec quelques masses germinatives. Un résultat inverse s'observe pour le groupe R2a, avec 52 % de rédiés contenant quelques masses et 21-26 % de larves vides. Enfin, 54 % des rédiés R2b/R3a sont remplies de masses germinatives à la mort du mollusque et seules 5 à 9 % d'entre elles sont vides.

B. LES MASSES GERMINATIVES RÉSIDUELLES.

Nous avons focalisé notre étude sur les rédiés qui contenaient encore quelques masses germinatives à la mort de la limnée. Le décompte des masses a porté sur les morulas, les embryons procercariens et les procercaires.

Les moyennes et les écarts types établis pour chaque catégorie de masses sont transcrits sur les figures 26 et 27 (pages suivantes). Les graphes de la première figure se rapportent à la population de Berneuil tandis que ceux de la seconde concernent les mollusques de Migné.

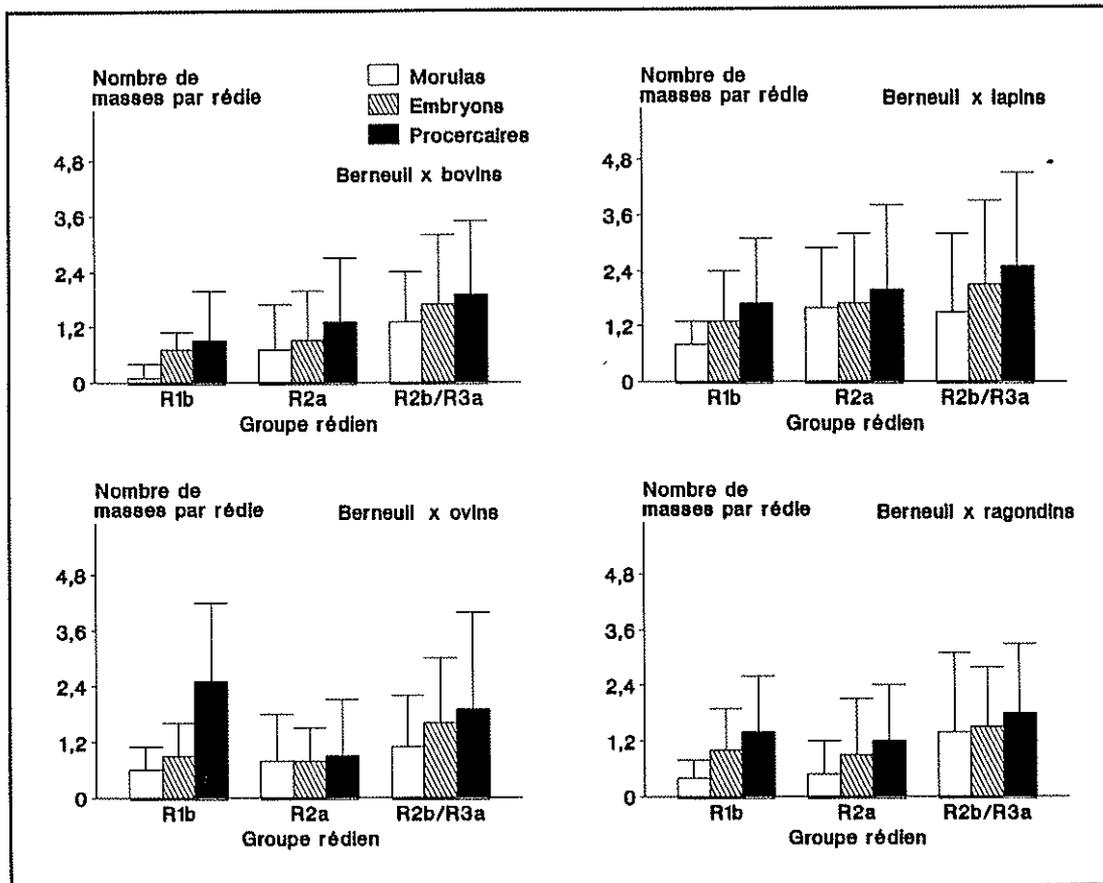


Figure 26.
 Les masses germinatives restant dans le corps des rades que nous avons étudiées dans les cadavres de *Lymnaea truncatula*. Population de Berneuil.

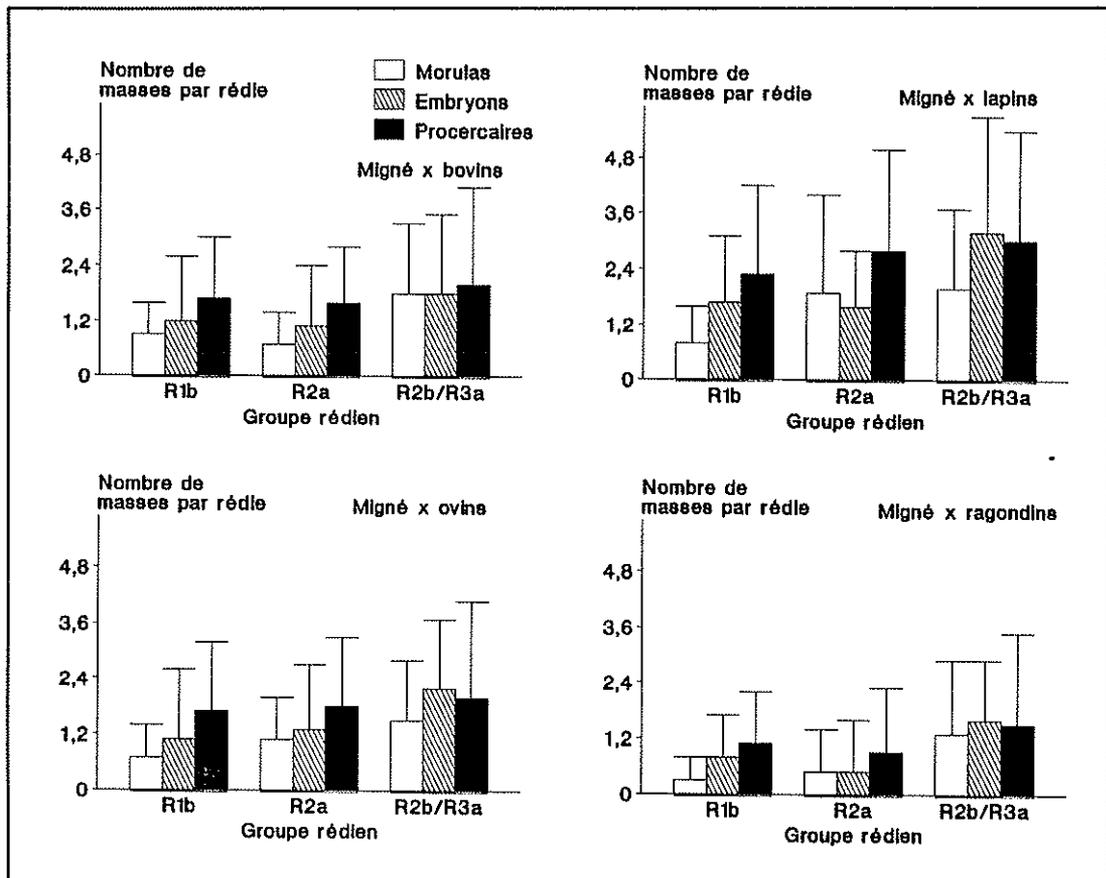


Figure 27.
 Les masses germinatives restant dans le corps des rédies
 que nous avons étudiées dans les cadavres de *Lymnaea
 truncatula*. Population de Migné.

La lecture de ces graphes permet les remarques suivantes :

- Quelle que soit la série expérimentale, les rédies R1b contiennent peu de masses germinatives. Les moyennes se distribuent entre 0,1 et 0,9 masse par rédie pour les morulas, entre 0,7 et 1,7 masse pour les embryons, et entre 0,9 et 2,5 masses pour les procercaires.

- Le nombre de ces masses germinatives est légèrement plus élevé dans les rédies R2a. On constate une dispersion des moyennes entre 0,5 et 1,9 masse par rédie pour les morulas, entre 0,5 et 2 masses pour les embryons, et entre 0,8 et 2,8 masses pour les procercaires.

- Les chiffres les plus importants se retrouvent dans les rédies R2b/R3a. Chacune d'entre elles contient de 1,2 à 2,5 morulas, de 1,5 à 3,2 embryons et de 1,5 à 3 procercaires.

Les différentes moyennes obtenues pour chaque groupe rédien ont été confrontées entre elles par l'analyse de variance. Le tableau ci-dessous présente les résultats de cette comparaison :

Entre les huit séries expérimentales		Degrés de liberté	Rapport <i>F</i> de Fisher	Signification
R1b	Morulas	7/316	0,18	NS
	Embryons	7/933	0,37	NS
	Procercaires	7/429	1,15	NS
R2a	Morulas	7/316	0,89	NS
	Embryons	7/933	1,22	NS
	Procercaires	7/429	1,55	NS
R2b/R3a	Morulas	7/316	1,12	NS
	Embryons	7/933	1,88	NS
	Procercaires	7/429	2,04	NS

Abréviation : NS (non significatif).

L'examen de ces données ne montre pas de différence significative entre les moyennes de ces masses résiduelles, quel que soit le mode de comparaison.



IV. - LES CERCAIRES INDÉPENDANTES.

Nous avons regroupé les données sur le tableau ci-dessous :

Séries expérimentales	Nombre de cercaires indépendantes (moyenne \pm écart type)	
	Berneuil	Migné
Bovins	5,3 \pm 7,6	7,7 \pm 8,9
Lapins	13,5 \pm 11,2	11,4 \pm 13,6
Ovins	7,2 \pm 5,4	7,4 \pm 7,9
Ragondins	4,3 \pm 4,8	6,2 \pm 5,8

L'examen de ces chiffres montre que le nombre de ces larves est légèrement plus élevé dans les deux séries lapins que dans les six autres groupes. Mais il n'y a pas de différence significative entre les moyennes, quel que soit le mode de comparaison.

Quelques métacercaires enkystées ont été trouvées dans les cadavres des séries lapins et du groupe ovins de Berneuil.

DISCUSSION

Les résultats de notre expérimentation ont été rapportés respectivement dans les chapitres troisième, quatrième et cinquième. Il nous a paru intéressant de rappeler ici les données obtenues dans une synthèse avant de comparer celles-ci avec les éléments de la littérature parus sur ce sujet.

I. - SYNTHÈSE.

A. CARACTÉRISTIQUES DE L'INFESTATION FASCIOLIENNE.

La survie des témoins au 30^e jour d'expérience est de 98-99 % selon la population. Sauf pour les séries lapins où les pourcentages ne dépassent pas 50 %, les chiffres recueillis pour les autres groupes s'étendent de 65 à 69 % pour Berneuil et de 82 à 91 % pour Migné. La prévalence de l'infestation est voisine dans les séries bovins, ovins et ragondins (de 83,5 à 92,7 %), quelle que soit la population de limnées. Elle est significativement plus faible dans les séries lapins (57,8 et 64,5 %).

Pour chaque population prise isolément, la croissance des témoins est significativement plus élevée que celle des séries expérimentales. Chez ces dernières, la hauteur de la coquille est plus faible dans le groupe lapins que dans les autres lots.

La période prépatente dure 48,9 à 53,8 jours pour Berneuil et 51,5 à 59,6 pour Migné mais il n'y a pas de différence significative entre les moyennes. La période patente ne dépasse pas 10 jours dans les séries lapins et le groupe ovins de Berneuil. Elle est significativement plus élevée chez les autres mollusques : de 16,3 à 41 jours.

Dans chaque population, c'est la série ragondins où l'on trouve le nombre le plus élevé de métacercaires (143 par limnée pour Berneuil et 201 pour Migné). Viennent ensuite par ordre décroissant le groupe bovins, puis la série ovins et, enfin, le groupe lapins (avec moins de 40 cercaires par mollusque).

B. LES ÉMISSIONS CERCARIENNES DE *Fasciola hepatica*.

Dans les séries bovins, lapins et ovins (Berneuil seulement), le nombre moyen de cercaires émises passe par un maximum au 2^e ou au 3^e jour de la période patente et diminue ensuite jusqu'à la fin de la période patente. Dans les trois autres séries, les moyennes s'accroissent progressivement pour atteindre un maximum entre le 20^e et le 30^e jour dans la série Migné x ovins, et entre le 30^e et le 40^e jour dans les groupes ragondins. L'étude des autocorrélogrammes n'apporte pas d'argument net pour conclure à l'existence d'une périodicité de type infradien dans les émissions cercariennes de *F. hepatica*.

Dans les séries bovins, lapins et ovins (Berneuil), on assiste à une diminution numérique des limnées avec émission lorsque le nombre de vagues augmente. Par contre, dans les trois autres groupes, de nombreuses limnées expulsent leurs cercaires en 9-11 vagues et plus alors que le nombre de mollusques avec 1 ou 2 vagues est assez faible.

C. LA CHARGE PARASITAIRE DANS LES CADAVRES DE MOLLUSQUES.

Dans les deux populations de limnées, le nombre total des rédies indépendantes est significativement plus élevé dans les séries bovins que dans les autres groupes (23,7 en moyenne au lieu de 13,2 à 17,5 rédies pour Berneuil par exemple). Cet état de fait se retrouve également dans les groupes R1b et R2a alors que les rédies R2b/R3a ne présentent pas de variation nette de leur nombre par rapport à la nature de l'hôte définitif d'où provient le parasite.

Des rédies vides de contenu sont présentes dans toutes les séries mais leur pourcentage diffère selon le groupe : 42-67 % pour les rédies R1b, 21-26 % pour les R2a et seulement 5-9 % pour les R2b/R3a. A l'inverse, les rédies de petite taille, remplies de morulas et de quelques embryons sont plus nombreuses dans le groupe R2b/R3a. L'étude des rédies contenant seulement quelques masses germinatives ne montre pas de différence significative entre les moyennes pour chaque catégorie de masses considérée isolément.

II. - DISCUSSION.

A. LES FAIBLES PERFORMANCES DES MIRACIDIUMS DANS LES GROUPES LAPINS.

L'examen des chiffres rapportés dans le chapitre troisième montre que les paramètres de l'infestation dans ces deux séries ont les valeurs les plus faibles, qu'il s'agisse de la survie des mollusques, de la prévalence de l'infestation ou encore du nombre de cercaires émises. Des résultats allant dans le même sens ont déjà été rapportés par RONDELAUD et DREYFUSS (1995) chez une seule population de *L. truncatula*. Comme notre expérience a été réalisée avec deux populations de limnées différant par leur origine géographique et, par suite, par leur croissance, il nous paraît difficile de relier ces faibles performances à la population du mollusque elle-même ou encore à la génération utilisée (printemps ou automne). Une autre explication doit être recherchée pour commenter ces piètres résultats dans les séries lapins :

- L'absence de contact naturel entre le mollusque et le parasite -ou sa rareté- est une hypothèse que RONDELAUD (1993) a formulée pour expliquer la diminution des performances lors de l'infestation expérimentale de *L. truncatula* provenant de berges de rivières. Cette supposition est difficile à retenir ici dans le cadre de ce mémoire car les Lagomorphes (lapins ou lièvres) sont assez fréquents dans les sites (Berneuil, Migné) d'où proviennent les deux populations de *L. truncatula*.

- Une autre hypothèse plus vraisemblable serait de relier ces faibles performances aux difficultés qu'ont les oeufs de *F. hepatica* issus de lapins à poursuivre leur développement dans le milieu extérieur. En effet, d'après EUZEBY (1971), le taux d'éclosion de ces oeufs



ne dépasse pas 30 % dans les conditions du laboratoire alors qu'il se situe entre 60 et 85 % si les oeufs de *F. hepatica* proviennent de bovins. Au vu du chiffre rapporté par l'auteur pour les lapins, il est logique de penser que cette incubation difficile des oeufs retentit sur la qualité physiologique des miracidiums qui en résultent. Les moindres performances de ces larves lors de leur pénétration chez le mollusque hôte pourraient être à l'origine des faibles valeurs observées pour le taux d'infestation des limnées et le nombre de cercaires émises.

B. LA PRODUCTION ÉLEVÉE DE CERCAIRES DANS LES SÉRIES RAGONDINS.

La quantité de cercaires recueillie dans ces deux groupes tranche nettement sur celle des autres séries car les valeurs sont largement supérieures à celles des séries bovins alors que les autres paramètres de l'infestation, y compris le développement de la charge rédienne, sont sensiblement identiques. Dans ces conditions, on peut se demander quel est le facteur à l'origine de cette production cercarienne accrue lorsque les oeufs de *F. hepatica* proviennent de ragondins.

L'étude détaillée des différents paramètres, qui caractérisent l'infestation expérimentale de *L. truncatula*, révèle que la vie de ces mollusques infestés (c'est-à-dire la durée de la période prépatente + celle de la période patente) est assez longue dans les deux séries ragondins (78,7 jours en moyenne chez les limnées de Berneuil et 97,5 jours chez celles de Migné). Le nombre de vagues d'émission est, de même, plus élevé dans ces deux groupes (17 et 19 vagues respectivement).

Les valeurs rapportées pour les deux paramètres précités permettent d'émettre l'hypothèse que le développement larvaire du parasite chez *L. truncatula* serait nettement moins "agressif" dans le cas des séries ragondins qu'il ne l'est pour les autres groupes. Le nombre élevé de vagues d'émission et, par suite, l'effectif plus faible de cercaires qui sortent au cours de chaque vague permettraient une survie assez longue du mollusque sans léser les organes vitaux de ce dernier.

La formulation de cette hypothèse soulève un autre problème plus important et plus controversé, à savoir l'adaptation du parasite à son hôte. Classiquement, on admettait que l'adaptation entre les deux partenaires s'effectuait par paliers progressifs en passant d'une

mortalité élevée, par exemple, à des taux nettement plus faibles ou encore d'une faible prévalence de l'infestation naturelle à des valeurs plus élevées. Même si le mécanisme de cette adaptation était hypothétique, c'est la théorie que proposait BORAY (1969, 1978) et que différentes études expérimentales ont vérifiée (chez *L. peregra* par exemple : BORAY, 1966, ou encore chez *L. palustris* : DREYFUSS *et al.*, 1994).

Nos résultats montrent que cette adaptation ne s'effectue pas que d'une seule manière et qu'elle peut également se réaliser de manière spontanée sans mettre la vie du mollusque en danger. On peut s'interroger sur les mécanismes qu'utilisent les parasites dans les séries ragondins pour ne pas léser le mollusque hôte et seules des études complémentaires par voie histologique ou encore par voie immunologique pourraient apporter une solution partielle à cette dernière question.

C. LE MEILLEUR DÉVELOPPEMENT DE LA CHARGE RÉDIENNE DANS LES SÉRIES BOVINS.

D'après notre étude, le nombre de rédies indépendantes est significativement plus élevé dans les séries bovins que dans les autres groupes alors qu'il n'y a pas de traduction numérique au niveau des cercaires émises. Comme cet effet bovins ne touche que les rédies R1b et R2a, on peut se demander quel est le mécanisme à l'origine de cet accroissement numérique dans les deux premières générations rédiennes.

De nombreuses hypothèses peuvent être proposées pour expliquer ce résultat. A notre avis, la plus logique serait de rapporter ce fait au site anatomique dans lequel se fixe le sporocyste à la fin de sa migration dans les espaces hémolymphatiques du mollusque. Si cette forme larvaire trouve de bonnes conditions, par exemple dans le voisinage de la zone réno-péricardique, il a un développement optimal et fournit de nombreuses rédies indépendantes. A l'inverse, s'il se fixe dans "un site peu propice au développement" (SAINT-GUILLAIN, 1968), ce dernier sera limité, retentissant par suite sur la charge rédienne. Si l'on admet cette dernière explication, il faut alors supposer que la fixation des sporocystes et leur développement ultérieur seraient de meilleure qualité dans les séries bovins que dans les autres groupes.



D. *L'ABSENCE DE RYTHME INFRADIEN DANS LES ÉMISSIONS CERCARIENNES DE Fasciola hepatica.*

Aucune périodicité de ce type n'a été mise en évidence dans les huit séries expérimentales alors que les mollusques ont été élevés à température constante (20° C) mais avec une photopériode naturelle.

Les résultats d'AUDOUSSET (1989), d'AUDOUSSET *et al.* (1989) démontraient l'existence d'un rythme de type infradien dans les émissions cercariennes de *F. hepatica* lorsque les limnées parasitées sont maintenues dans des conditions semi-naturelles (dans une salle ouverte sur le milieu extérieur et soumise aux fluctuations climatiques locales de la température et de l'éclairement). Dans sa thèse, DREYFUSS (1994) ne retrouve pas ce rythme lorsque les conditions d'élevage sont constantes, ce qui permet à l'auteur de suggérer que ce rythme dépendait des facteurs du milieu.

Comme ce rythme n'a pas été retrouvé lors de nos conditions de maintenance pour *L. truncatula* (température constante, photopériode naturelle), il est logique de penser que le facteur éclairement n'a pas d'influence sur ce type de périodicité. Si ce rythme existe vraiment, il serait alors dû au seul facteur température et serait alors limité dans l'année aux périodes où les conditions sont optimales pour l'émission des cercaires.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Des études expérimentales ont été réalisées sur deux populations de *L. truncatula* et quatre isolats de miracidiums (issus d'oeufs récoltés chez des bovins, des lapins, des ovins ou des ragondins) afin de déterminer l'influence de ces deux paramètres sur les émissions cercariennes de *F. hepatica* et la charge parasitaire restant dans le corps des mollusques à leur mort.

Les résultats peuvent être regroupés dans les deux rubriques suivantes :

1. Les émissions cercariennes de *Fasciola hepatica*.

La prévalence de l'infestation est voisine dans les séries bovins, ovins et ragondins (de 83,5 à 92,7 %), quelle que soit la population de limnées. Elle est significativement plus faible dans les séries lapins (57,8 et 64,5 %). Pour chaque population prise isolément, la croissance des témoins est significativement plus élevée que celle des séries expérimentales. Chez ces dernières, la hauteur de la coquille est plus faible dans le groupe lapins que dans les autres lots.

La période patente ne dépasse pas 10 jours dans les séries lapins et le groupe ovins de Berneuil. Elle est significativement plus élevée chez les autres mollusques : de 16,3 à 41



jours. Dans chaque population, c'est la série ragondins qui fournit le nombre le plus élevé de métacercaires (143 en moyenne pour Berneuil et 201 pour Migné). Viennent ensuite par ordre décroissant le groupe bovins, puis la série ovins et, enfin, le groupe lapins (avec moins de 40 cercaires par mollusque).

Dans les séries bovins, lapins et ovins (Berneuil seulement), le nombre moyen de cercaires émises passe par un maximum au 2^e ou au 3^e jour de la période patente alors que dans les trois autres séries, le maximum se situe entre le 20^e et le 30^e jour dans la série Migné x ovins ou entre le 30^e et le 40^e jour dans les groupes ragondins. L'étude des autocorrélogrammes n'apporte pas d'argument net pour conclure à l'existence d'une périodicité de type infradien dans les émissions cercariennes de *F. hepatica*.

2. La charge parasitaire dans les cadavres de mollusques.

Dans les deux populations de limnées, le nombre total des rédies indépendantes est significativement plus élevé dans les séries bovins que dans les autres groupes. Cet état de fait se retrouve également dans les groupes R1b et R2a.

Des rédies vides de contenu sont présentes en nombre variable dans les séries : 42 à 67 % pour le groupe R1b, 21-26 % pour le R2a et seulement 5-9 % pour le R2b/R3a. A l'inverse, les rédies de petite taille, remplies de morulas et de quelques embryons sont plus nombreuses dans le groupe R2b/R3a. L'étude des rédies contenant seulement quelques masses germinatives ne montre pas de différence significative entre les moyennes pour chaque catégorie de masses considérée isolément.

Cette recherche ne constitue qu'une première étape dans un programme nettement plus large qui intéresse *F. hepatica* et les relations par rapport à l'hôte définitif d'où proviennent les oeufs. Nos résultats démontrent nettement que la nature de cet hôte (bovins, ...) exerce une influence *a posteriori* sur le développement larvaire du parasite chez le mollusque et, notamment, sur la quantité de cercaires que ce dernier peut fournir dans le milieu extérieur.

Il nous paraît intéressant de poursuivre les investigations sur cet axe de recherche qui nous semble porteur car l'impact de l'hôte définitif sur le développement larvaire ultérieur

du parasite n'était pas bien connu au début de notre travail. Une étude systématique de plusieurs hôtes définitifs différant entre eux par l'espèce du Mammifère et sa localisation géographique nous paraît utile pour vérifier ou infirmer les premiers résultats que nous avons rapportés dans ce mémoire de thèse.



BIBLIOGRAPHIE

- ABROUS, M., 1999.- Les mollusques hôtes et les formes larvaires de *Paramphistomum daubneyi* Dinnik, 1962 (Trematoda) dans le centre de la France. Influence d'une co-infestation avec *Fasciola hepatica* Linné, 1758. Thèse Doct. Univ. Limoges, Sci. Pharm., n° 302B, 278 p.
- ABROUS, M., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., CABARET, J., 1998.- Unusual transmission of the liver fluke, *Fasciola hepatica*, by *Lymnaea glabra* or *Planorbis leucostoma*. *J. Parasitol.*, **84**, 1257-1259.
- ABROUS, M., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., 2000.- The stress of *Lymnaea truncatula* just before miracidial exposure with *Fasciola hepatica* increased the prevalence of infection. *Exp. Parasitol.*, sous presse.
- ANDREWS, S.J., 1999.- The life cycle of *Fasciola hepatica*. In : Fascioliasis, by DALTON J.P., ed. CABI Publishing, Oxon, U.K., 1-29.
- APOSTOLOFF, C., 2001.- Influence *a posteriori* de l'hôte définitif sur le développement rédien de *Fasciola hepatica* Linné et la productivité cercarienne chez le mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. Thèse Doct. Pharmacie, n° ?, ??? p.
- AUDOUSSET, J.C., 1989.- Contribution à l'étude des émissions cercariennes d'un parasite, *Fasciola hepatica* L., chez le Mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 304, 79 p.
- AUDOUSSET, J.C., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., VAREILLE-MOREL, C., 1989.- Les émissions cercariennes de *Fasciola hepatica* L. chez le mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. A propos de quelques observations chronobiologiques. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **7**, 217-224.



- AUGOT, D., 1998.- Études sur la morphométrie, la chétotaxie et la productivité parasitaire chez les rédies de *Fasciola hepatica* Linné, 1758 (Trematoda : Fasciolidae) en fonction de leur génération. Comparaison avec *F. gigantica* Cobbold, 1858. Thèse Doct. Univ. Limoges, Sci. Nat., n° 18, 183 p.
- AUGOT, D., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., CABARET, J., BAYSSADE-DU-FOUR, C., ALBARET, J.L., 1998.- Characterization of *Fasciola hepatica* redial generations (Trematoda : Fasciolidae) by morphometry and chaetotaxy under experimental conditions. *J. Helminthol.*, **72**, 193-198.
- AUGOT, D., ABROUS, M., RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., CABARET, J., 1999.- *Fasciola hepatica* : an unusual development of redial generations in an isolate of *Lymnaea truncatula*. *J. Helminthol.*, **73**, 27-30.
- BARRET, F., 1996.- Les émissions cercariennes de *Fasciola hepatica* Linné chez le mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. A propos de l'influence de deux facteurs. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, n° 311, 94 p.
- BARTHE, D., RONDELAUD, D., 1986.- Premières études sur la susceptibilité de trois espèces de Physidae et de *Bulinus truncatus* Audouin à l'infestation fasciolienne. A propos de quelques observations histopathologiques. *Bull. Soc. fr. Parasitol.*, **4**, 33-35.
- 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.
- BROOM, D.M., 1979.- Methods of detecting and analysing activity rhythms. *Biol. Behav.*, **1**, 3-18.
- DIXON, K.E., 1966.- A morphological and histochemical study of the cystogenic cells of the cercaria of *Fasciola hepatica* L. *Parasitology*, **56**, 287-297.
- DREYFUSS, G., 1994.- Contribution à l'étude des émissions cercariennes et de la charge parasitaire *post-mortem* chez trois espèces de limnées infestées par *Fasciola hepatica* Linné ou par *F. gigantica* Cobbold. Thèse Doct. Univ. Limoges, Sci. Pharm., n° 305E, 246 p.
- DREYFUSS, G., RONDELAUD, D., 1994.- *Fasciola hepatica* : a study on the shedding of cercariae from *Lymnaea truncatula* raised under constant conditions of temperature and photoperiod. *Parasite*, **1**, 401-404.

- DREYFUSS, G., MOUKRIM, A., RONDELAUD, D., VAREILLE-MOREL, C., 1994a.- Several field observations concerning infection of *Lymnaea palustris* by *Fasciola hepatica*. *J. Helminthol.*, **68**, 115-118.
- DREYFUSS, G., VAREILLE-MOREL, C., RONDELAUD, D., 1994b.- *Fasciola hepatica* Linné : les caractéristiques de la charge parasitaire chez des Limnées tronquées mortes après une émission cercarienne. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, **12**, 61-68.
- DREYFUSS, G., VIGNOLES, P., RONDELAUD, D., VAREILLE-MOREL, C., 1999.- *Fasciola hepatica* : characteristics of infection in *Lymnaea truncatula* in relation to the number of miracidia at exposure. *Exp. Parasitol.*, **92**, 19-23.
- EUZEBY, J., 1971.- Les maladies vermineuses des animaux domestiques 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.
- GASNIER, N., RONDELAUD, D., ABROUS, M., CARRERA, F., BOULARD, C., DIEZ-BANOS, P., CABARET, J., 2000.- Allopatric combination of *Fasciola hepatica* and *Lymnaea truncatula* is more efficient than sympatric ones. *Int. J. Parasitol.*, **30**, 373-378.
- GERMAIN, L., 1930/1931.- Mollusques terrestres et fluviatiles. Faune de France, tomes 21 et 22. Libr. Fac. Sci. éd., Paris, 893 p.
- GOLD, D., GOLDBERG, M., 1979.- Temperature effect on susceptibility of four species of *Lymnaea* snails to infection with *Fasciola hepatica* (Trematoda). *Isr. J. Zool.*, **26**, 193-198.
- GRACZYK, T.K., FRIED, B., 1999.- Development of *Fasciola hepatica* in the intermediate host. In : Fasciolosis, by DALTON, J.P. ed. CABI Publishing, Oxon, U.K., 31-46.
- HUBENDICK, B., 1951.- Recent Lymnaeidae. Their variation, morphology, taxonomy, nomenclature, and distribution. *Küngl. Svenska Vetenskaps. Handl.*, **3**, 1-223.
- KENDALL, S.B., 1949.- Nutritional factors affecting the rate of development of *Fasciola hepatica* in *Limnaea truncatula*. *J. Helminthol.*, **23**, 179-190.
- KENDALL, S.B., McCULLOUGH, F.S., 1951.- The emergence of cercariae of *Fasciola hepatica* from the snail *Lymnaea truncatula*. *J. Helminthol.*, **25**, 77-92.
- KENDALL, S.B., OLLERENSHAW, C.B., 1963.- The effect of nutrition on the growth of *Fasciola hepatica* in its snail host. *Proc. Nutr. Soc.*, **22**, 41-46.
- MAGE, C., 1988.- Contribution à l'étude de la fasciolose à *Fasciola hepatica* L. chez les bovins allaitants dans le Limousin et la Cerdagne (France). Conséquences zootechniques et essais thérapeutiques. Thèse Doct. Univ. Limoges, Sci. Nat., n° 3, 142 p.



- MERCER, E.H., DIXON, K.E., 1967.- The fine structure of the cystogenic cells of the cercaria of *Fasciola hepatica* L. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, **77**, 331-344.
- 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.
- 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.
- ØKLAND, J., 1990.- Lakes and snails. Environment and Gastropoda in 1,500 Norwegian lakes, ponds and rivers. Universal Book Services/Dr. W. Backhuys, Oegstgeest, The Netherlands, 516 p.
- 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.
- PÊCHEUR, M., 1974.- Lutte stratégique contre la distomatose. Comptes-Rendus de Recherches. Travaux du Centre de Recherche sur les Maladies Parasitaires des Animaux Domestiques. I.R.S.I.A., Bruxelles, n° 38, 85-150.
- POSTAL, J.M., 1984.- Les paramphistomoses gastro-duodénales des Ruminants. Thèse Doct. Méd. Vétérinaire, Fac. Méd. Créteil, E.N.V. Alfort, n° 164, 125 p.
- PRÉVERAUD-SINDOU, M., RONDELAUD, D., 1995.- Localization and outcome of *Fasciola hepatica* sporocysts in *Lymnaea truncatula* subjected to mono- or plurimiracidial exposures. *Parasitol. Res.*, **81**, 265-267.
- RIPERT, C., 1996.- Épidémiologie des maladies parasitaires : protozooses et helminthoses, réservoirs, vecteurs et transmission. Tome 1. Protozooses. Éditions Médicales Internationales, Cachan, 393 p.
- RONDELAUD, D., 1978.- Contribution à l'étude écologique et éthologique de *Lymnaea (Galba) truncatula* Müller, vecteur de *Fasciola hepatica* L. Recherche de moyens de lutte biologique en Limousin. Thèse Doct. ès-Sci. Nat., Limoges, n° 4, 302 p.
- RONDELAUD, D., 1993.- Variabilité interpopulationnelle de l'infestation fasciolienne chez le mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. Influence du contact préalable de la population avec le parasite. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **118**, 185-193.
- RONDELAUD, D., 1994.- *Fasciola hepatica* : the infection rate and the development of redial generations in *Lymnaea truncatula* exposed to miracidia after experimental desiccation and activation in water. *J. Helminthol.*, **68**, 63-66.

- RONDELAUD, D., 1995.- The characteristics of redial generations in *Lymnaea truncatula* exposed to *Fasciola hepatica* miracidia after poisoning by sublethal doses of cupric chloride. *Vet. Res.*, **26**, 21-26.
- RONDELAUD, D., 1998.- Etat provisoire des connaissances sur les Mollusques Lymnaeidae et leur détermination en France. Document dactylographié. Faculté de Médecine, Université de Limoges, 10 p.
- RONDELAUD, D., BARTHE, D., 1987.- *Fasciola hepatica* L. : étude de la productivité d'un sporocyste en fonction de la taille de *Lymnaea truncatula*. *Parasitol. Res.*, **74**, 155-160.
- RONDELAUD, D., DREYFUSS, G., 1995.- *Fasciola hepatica* : the influence of the definitive host on the characteristics of infection in the snail *Lymnaea truncatula*. *Parasite*, **2**, 275-280.
- SAINT-GUILLAIN, M., 1968.- Étude histologique des premiers stades évolutifs de *Fasciola hepatica* L. *Acta Zool. Pathol. Antverp.*, **46**, 77-132.
- STAT-ITCF, 1988.- Manuel d'utilisation. Institut Technique des Céréales et des Fourrages, Service des Études Statistiques, Boigneville, 210 p.
- SZMIDT-ADJIDÉ, V., 1996.- Les paramphistomoses à *Paramphistomum daubneyi* Dinnik, 1962 et à *Fasciola hepatica* Linné, 1758 dans la région du Limousin (France). Infestation des bovins et des mollusques hôtes intermédiaires. Thèse Doct. Univ. Limoges, Sci. Pharm., n° 302 B, 141 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. England*, **19**, 276-305.
- TORGERSON, P., CLAXTON, J., 1999.- Epidemiology and control. In : Fascioliasis, by DALTON J.P., ed. CABI Publishing, Oxon, U.K., 113-149.
- VAREILLE-MOREL, C., ESCLAIRE, F., HOURDIN, P., RONDELAUD, D., 1993.- Internal metacercarial cysts of *Fasciola hepatica* in the pulmonate snail *Lymnaea truncatula*. *Parasitol. Res.*, **79**, 259-260.



BON A IMPRIMER N° 305

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

**Influence a posteriori de l'hôte définitif
sur les émissions cercariennes de *Fasciola hepatica* Linné
à partir du mollusque *Lymnaea truncatula* Müller.**

Par B. Juillard-Condât.

Des études expérimentales ont été réalisées sur deux populations de *Lymnaea truncatula* et quatre isolats de miracidiums (issus d'oeufs récoltés chez des bovins, des lapins, des ovins ou des ragondins) afin de déterminer l'influence de ces deux paramètres sur les émissions cercariennes de *Fasciola hepatica* et la charge parasitaire restant dans le corps des mollusques à leur mort.

La prévalence de l'infestation est voisine dans les séries bovins, ovins et ragondins (83,5 à 92,7 %), quelle que soit la population de limnées. Elle est significativement plus faible dans les séries lapins (57,8 et 64,5 %). Pour chaque population, la croissance des témoins est significativement plus élevée que celle des séries expérimentales. Chez ces dernières, la hauteur de la coquille est plus faible dans le groupe lapins que dans les autres lots.

La période patente ne dépasse pas 10 jours dans les séries lapins et le groupe ovins de Berneuil. Elle est significativement plus élevée chez les autres mollusques : de 16,3 à 41 jours. Dans chaque population, c'est la série ragondins qui fournit le nombre le plus élevé de métacercaires (143 en moyenne pour Berneuil et 201 pour Migné). Viennent ensuite par ordre décroissant le groupe bovins, puis la série ovins et, enfin, le groupe lapins (avec moins de 40 cercaires par mollusque).

Dans les séries bovins, lapins et ovins (Berneuil seulement), le nombre moyen de cercaires émises passe par un maximum au 2^e ou au 3^e jour de la période patente alors que dans les trois autres séries, le maximum se situe entre le 20^e et le 30^e jour dans la série Migné x ovins ou entre le 30^e et le 40^e jour dans les groupes ragondins. L'étude des autocorrélogrammes n'apporte pas d'argument net pour conclure à l'existence d'une périodicité de type infradien dans les émissions cercariennes de *F. hepatica*.

Dans les deux populations de limnées, le nombre total des rédies indépendantes est significativement plus élevé dans les séries bovins que dans les autres groupes. Cet état de fait se retrouve également dans les groupes R1b et R2a. Des rédies vides de contenu sont présentes en nombre variable dans les séries : 42-67 % pour le groupe R1b, 21-26 % pour le groupe R2a et seulement 5-9 % pour le lot R2b/R3a. A l'inverse, les rédies de petite taille, remplies de morulas et de quelques embryons sont plus nombreuses dans le groupe R2b/R3a. L'étude des rédies contenant seulement quelques masses germinatives ne montre pas de différence significative entre les moyennes pour chaque catégorie de masses considérée isolément.

Mots clés : Cercaire. Émission cercarienne. *Fasciola hepatica*. Hôte définitif. Infestation expérimentale. *Lymnaea truncatula*. Rédie.