

Développement expérimental, Formes larvaires et Cycle vital de *Dollfusinus frontalis*

BIOCCA et FERRETTI, 1958

(*Trematoda*, *Digenea*, *Leucochloridiidae*),
parasite des sinus frontaux du Hérisson

par Jean TIMON-DAVID

Dollfusinus frontalis a été découvert en 1958 par Ettore Biocca et Gianfranco Ferretti dans les sinus frontaux et les fosses nasales du Hérisson (*Erinaceus europaeus* L.), en Italie. Les auteurs ont seulement donné une description de ce nouveau genre, sans apporter aucune donnée sur sa biologie et son développement. A la suite des recherches que j'ai entreprises, j'ai pu retrouver *Dollfusinus frontalis* dans le Sud-Est de la France et découvrir les grandes lignes de son cycle vital.

Il semble que *D. frontalis* soit plus commun en Italie que dans notre pays. Le matériel d'origine étudié par Biocca et Ferretti provenait des environs de Santa Marinella (Province de Rome) : dans cette localité, 25 Hérissons sur 30 (soit 83 %) étaient parasités, avec un taux d'infestation atteignant souvent 30 à 40 vers par hôte et pouvant même dépasser 50. Les Hérissons que j'ai examinés en France ne m'ont jamais montré des infestations aussi massives ; en outre, le pourcentage des sujets parasités a été seulement de 45 %.

MATERIEL ET TECHNIQUES

Les parasites recueillis après trépanation des sinus des Hérissons ont été conservés vivants dans du liquide de Ringer (1). Quelques sujets fixés et colorés au carmin boracique ont été montés en préparations totales ; la plupart ont été utilisés pour les contaminations expérimentales décrites ci-après.

(1) Il m'est particulièrement agréable de remercier ici tous ceux qui ont facilité ces recherches en me procurant aimablement des Hérissons : M. Emile Latil, le D^r J. Bourgoïn, M. Gabriel Timon-David, le D^r Bernard Timond-David, Mme Ph. de Laleu, M. A. Delcourt.

Mes remerciements vont aussi à M. G. Cherbonnier, du Laboratoire de Malacologie du Muséum qui a bien voulu me faire profiter de son expérience de spécialiste en examinant certains Mollusques utilisés.

Les Mollusques qui ont servi pour ces expériences proviennent des environs d'Aix-en-Provence, à l'exception de *Cyclostoma sulcatum* Drap, recueilli sur le littoral au Sud de Marseille. La méthode de contamination est celle que j'ai déjà décrite par ailleurs : les parasites placés dans un peu de liquide de Ringer sont soigneusement dilacérés au moyen de deux aiguilles, de manière à libérer les œufs aussi complètement que possible, sous le contrôle de la loupe binoculaire ; ces œufs sont ensuite prélevés au moyen d'une pipette et étalés sur une feuille de papier filtre de dimensions proportionnées à l'embouchure du récipient utilisé. Les Mollusques sont maintenus en atmosphère saturée d'humidité pendant 24 heures. Une nuit suffit généralement pour que tout le papier et les œufs qu'il supportait aient été dévorés en totalité. Par la suite, les élevages sont nourris uniquement de papier humide ou de feuilles de laitues stérilisées. Des lots témoins sont toujours conservés et examinés.

Ces expériences ont porté sur les Mollusques suivants : *Helicella (Helicopsis) arenosa* (Ziegler) Rossmässler, *Leucochroa candidissima* Drap., *Chondrina (Solatopupa) similis* Brug., *Helix (Cryptomphalus) aspersa* Müller, *Zonites algirus* L., *Cyclostoma sulcatum* Drap. Seules les Hélicelles ont permis des contaminations massives : tous les autres Mollusques sont restés indemnes.

Une grande partie des observations des formes larvaires a été faite sur du matériel vivant, souvent à l'aide des colorants vitaux. Les Mollusques utilisés pour les coupes ont été fixés au Bouin, au Carnoy, au Helly ; les préparations ont été colorées à l'azan, à la fuchsine paraldéhyde, au trichromique de Masson et selon la technique de Mac Manus pour la mise en évidence des glucides. Les dessins ont été exécutés par microprojection ; les photographies au moyen de l'Ortholux-Orthomat de Leitz.

FREQUENCE ET DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

Les Hérissons que j'ai utilisés pour ces recherches provenaient des départements de l'Isère et des Bouches-du-Rhône ; ce sont ces derniers seulement qui ont fourni des *Dollfusinus*. Le tableau ci-dessous indique les localités, les dates et les taux d'infestation :

A) SUJETS POSITIFS :

- | | | |
|------------------------------|-------------------|------------------------|
| 1) Le Tholonet (B. du Rh.) : | 14 juillet 1963 = | 1 <i>Dollfusinus</i> . |
| 2) » » : | 12 avril 1964 = | 3 <i>Dollfusinus</i> . |
| 3) » » : | 12 avril 1964 = | 1 <i>Dollfusinus</i> . |
| 4) » » : | 23 avril 1964 = | 5 <i>Dollfusinus</i> . |
| 5) Luynes (B.-du-Rh.) : | 26 juillet 1964 = | 1 <i>Dollfusinus</i> . |

B) SUJETS NÉGATIFS :

- 1) Prébois (Isère), 31 juillet 1960.
- 2) Luynes (B.-du-Rh.), 24 juillet 1963.
- 3) » » , 24 juillet 1963.

- 4) Saint-Maurice en Trièves (Isère), 31 juillet 1963.
 5) » » » , 14 septembre 1963.
 6) Les Milles (B.-du-Rh.), 30 septembre 1964.

LA FORME ADULTE

J'ai peu de chose à ajouter à la description originale de Biocca et Ferretti : les sujets que j'ai observés sont, dans l'ensemble, conformes à la diagnose ; cependant, quelques divergences sont à mentionner en ce qui concerne l'extension des vitellogènes. Les auteurs italiens écrivent à ce sujet (p. 173) : « Il margine anteriore di essi non supera di regola il livello corrispondente al margine anteriore della ventosa ventrale mentre il margine posteriore termina a un livello piuttosto variabile in corrispondenza del testicolo anteriore o dell'ovaio, potendo raggiungere eccezionalmente e sorpassare il testicole posteriore. In genere i vitellogeni di destra terminano alquanto posteriormente rispetto a quelli di sinistra. »

Chez les *Dollfusinus* du Tholonet, j'ai constaté que la limite antérieure des vitellogènes peut dépasser notablement le bord antérieur de l'acétabulum (fig. 1), surtout du côté gauche. L'extension des follicules peut aller jusqu'au milieu de l'espace pharynx-acétabulum. Voici quelques mesures relevées sur un sujet de grande taille :

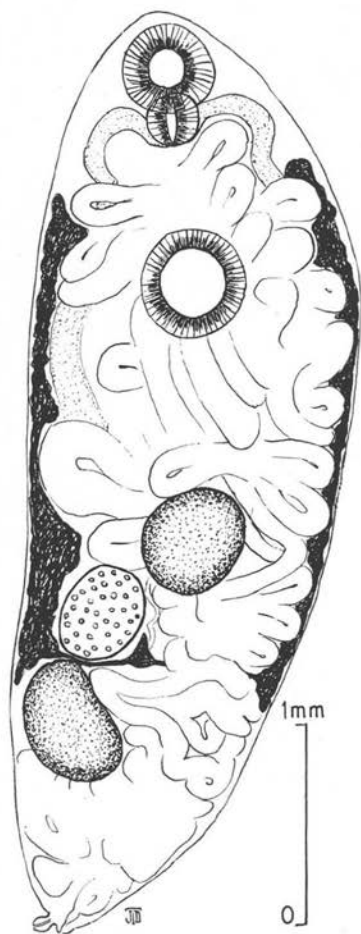


FIG. 1. — *Dollfusinus frontalis* Biocca et Ferretti. Vue ventrale. Sujet adulte extrait des sinus frontaux d'un Hérisson. Le Tholonet, 12 avril 1964. Noter l'extension précacétabulaire des vitellogènes, surtout du côté gauche

Longueur	4,6 mm
Largeur maxima	1,6 mm
Ventouse orale	450 μ
Acetabulum	520 μ

Pharynx	250 μ
Testicule I	520 μ
Testicule II	610 μ
Ovaire	500 \times 400 μ
Œufs	28,5 \times 18,5 μ

POSITION SYSTEMATIQUE DU GENRE *DOLLFUSINUS*
PROPOSITION D'UNE SOUS-FAMILLE DES *DOLLFUSINUSINAE*

Dans leur description originale de *D. frontalis*, Biocca et Ferretti n'ont pas précisé leur opinion sur la place définitive qu'il convient d'assigner à ce parasite ; ils le rapprochent des *Brachylaemidae*, mais en remarquant que la systématique de cette famille est encore incertaine et discutée.

C'est en 1934 que R. Ph. Dollfus a proposé de séparer des *Brachylaemidae* une famille autonome des *Leucochloridiidae*, considérée jusqu'alors comme sous-famille (*Leucochloridiinae* Poche 1825). Dollfus admet dans les *Leucochloridiidae* les genres *Leucochloridium* Carus 1835, *Urotocus* Looss 1899 et *Urorygma* Braun 1902 (peut-être aussi dubitativement *Panopistus* Sinitsin 1931).

Cette manière de voir n'a pas été toujours suivie : c'est ainsi que K. I. Skrjabin (1948, T. II, p. 169) considère les *Leucochloridiinae* comme une sous-famille des *Brachylaemidae*, de même que I. G. Kagan (1952) et H. R. Mehra (1962). Au contraire, S. Yamaguti (1958, p. 561), Ch. Joyeux et J. G. Baer (1961) se rangent à l'opinion de Dollfus et admettent une famille autonome des *Leucochloridiidae*. Chez cette dernière, le pore génital s'ouvre à l'extrémité postérieure du corps, tandis que chez les *Brachylaemidae*, il est pré-, inter- ou post-testiculaire, mais jamais terminal. Ce caractère anatomique est très net. J'adopterai ici la classification proposée par R. Ph. Dollfus.

Yamaguti subdivise les *Leucochloridiidae* en trois sous-familles d'après les caractères suivants :

- 1 Corps allongé, linguiforme. Ventouses très faibles *Urotocinae*
Corps ovale ou elliptique. Ventouses très fortes 2
- 2 Testicules situés dans la partie antérieure du corps. Ovaire dorsal par rapport à l'acétabulum. Vitellogènes localisés dans la partie antérieure du corps
..... *Urorygminae*
Testicules et ovaire dans la partie postérieure du corps. Vitellogènes s'étendant à la fois en avant et en arrière *Leucochloridiinae*

Si l'on suit cette clef, on est amené sans difficulté à placer le genre *Dollfusinus* dans la sous-famille des *Leucochloridiinae*, à côté de *Leucochloridium*. Cependant, cette solution n'est pas satisfaisante : on sait que tous les vrais *Leucochloridium* sont des parasites d'Oiseaux (dans le cloaque ou la bourse de Fabricius) ; leur développement bien connu chez l'hôte intermédiaire unique (*Succinea*) est caractérisé par

le fait que les métacercaires restent enkystées dans des sporocystes terminés par des diverticules en massue ordinairement pigmentés (leur couleur a parfois été considérée comme un caractère spécifique : voir Ginetsinskaja 1954). Il semble donc impossible d'inclure *Dollfusinus* dans la même sous-famille et je propose de considérer le genre comme type d'une sous-famille nouvelle parmi les *Leucochloridiidae* avec le nom de *Dollfusinusinae*. Les *Dollfusinusinae* ainsi compris sont caractérisés : 1° par l'habitat très spécial de l'adulte (fosses nasales et sinus frontaux de Mammifères Insectivores) ; 2° par le mode de développement très différent de celui de *Leucochloridium* : nécessité de deux hôtes intermédiaires ; présence de métacercaires libres dans la cavité péricardique du second Mollusque (il n'y a jamais ici de métacercaires enkystées). L'extension antérieure des vitellogènes, donnée par Biocca et Ferretti comme un caractère séparant *Dollfusinus* de *Leucochloridium* me paraît avoir une importance beaucoup moins grande que les deux critères mentionnés ci-dessus.

Deux espèces parasites de Mammifères Insectivores ont été aussi décrites sous le nom de *Leucochloridium* : ce sont *L. soricis* Soltys 1932 chez *Sorex araneus* et *Neomys fodiens* en Pologne et *L. Skrjabini* Shaldibin 1953 chez les mêmes hôtes en U.R.S.S. Il est possible que les deux formes soient synonymes. Teresa Pojmanska (1959) a créé pour *L. soricis* le genre *Pseudoleucochloridium* qui diffère essentiellement de *Leucochloridium* par la situation du pore génital qui s'ouvre ventralement bien avant l'extrémité du corps, par la très faible extension des vitellogènes qui ne dépassent pas en avant le niveau de l'acetabulum et par le mode de développement avec métacercaires libres dans le rein des Mollusques [*Succinea putris* (L.) et *Perforatella bidens* (Chemn.)].

LE CYCLE DE *DOLLFUSINUS FRONTALIS*

La présence de ces Distomes dans les sinus frontaux et les fosses nasales du Hérisson provoque chez cet Insectivore une sinusite et un coryza chroniques. Les muqueuses sont le siège d'une congestion et d'une irritation qui se traduisent par un écoulement de mucosités. C'est par ce mécanisme que les œufs du parasite sont entraînés à l'extérieur ; beaucoup d'entre eux sont aussi régurgités et disséminés avec les fèces après avoir traversé tout le tube digestif du Hérisson ; leur dispersion progressive dans la nature est donc assurée par ces deux voies de sortie ; elle se prolonge pendant toute la période de vie active de l'hôte (de la fin du mois de mars au début de novembre, en Provence). Nous ignorons si l'infestation peut persister plusieurs années chez le même Hérisson ; toutefois, cette hypothèse est rendue très vraisemblable par les observations qui montrent la présence de *Dollfusinus* de grande taille, avec utérus bourré d'œufs mûrs chez des sujets sortis depuis peu de temps de leur sommeil hivernal.

Les expériences, dont le protocole est rapporté ci-après, établissent que le cycle nécessite l'intervention de deux hôtes intermédiaires qui sont tous deux des Mollusques Pulmonés terrestres (Limaçons), mais d'espèces différentes. Le premier hôte (*Helicella arenosa* dans mes expériences) se contamine par voie buccale en ava-

lant les œufs disséminés sur les plantes basses ; le développement se poursuit par formation de deux générations de sporocystes ; dans les derniers se différencient des cercaires. Celles-ci, lorsque leur croissance est achevée, sortent de l'Hélicelle en empruntant soit la voie du tube digestif, soit celle du pneumostome. Cette émission ne se réalise que si les conditions écologiques sont favorables (grande humidité, absence de vent). Après une phase très courte de vie libre (qui peut être brutalement interrompue en cas de dessiccation subite), ces cercaires pénètrent chez un second Mollusque [*Euparyphia pisana* (Müller) dans mes expériences] ; elles s'introduisent par le canal excréteur et, par le conduit réno-péricardique, arrivent dans la cavité péricardique où elles se localisent pour achever leur développement ; leur nombre peut être considérable : dans les conditions expérimentales, j'ai pu en dénombrer une centaine chez un seul *Euparyphia* ; il est vraisemblable que des concentrations aussi élevées sont rarement atteintes dans la nature. Parvenues dans la cavité péricardique, ces formes larvaires deviennent des métacercaires, sans jamais s'enkyster ; elles y achèvent leur développement et deviennent infectieuses après une période de maturation.

Un problème reste encore à résoudre : il concerne les modalités de la migration qui doit avoir lieu chez le Hérisson pour amener le jeune Distome dans les sinus frontaux. A partir du moment où les métacercaires sont introduites dans le tube digestif, elles doivent suivre un trajet assez compliqué pour aboutir à leur point d'élection. Cette voie de migration et les tropismes qui la commandent nous sont encore inconnus.

RESULTATS DES CONTAMINATIONS EXPERIMENTALES DU PREMIER HOTE

Cinq expériences de contaminations expérimentales ont été réalisées, toutes avec des résultats fortement positifs chez *Helicella arenosa*.

1^{re} contamination, le 14 juillet 1963 : 21 Hélicelles utilisées. Résultat : 18 sujets contaminés, soit 85,7 %.

2^e contamination, le 13 avril 1964 : 38 Hélicelles utilisées. Résultat : 19 sujets contaminés, soit 50 %.

3^e contamination, le même jour, avec un *Dollfusinus* provenant d'un Hérisson différent : 30 Hélicelles utilisées. Résultat : 24 sujets contaminés, soit 80 %.

4^e contamination, le 24 avril 1964 : 30 Hélicelles utilisées. Résultat : 25 sujets contaminés, soit 83 %.

5^e contamination, le 26 juillet 1964 : 18 Hélicelles utilisées. Résultat : 16 sujets contaminés, soit 88,8 %.

DEMONSTRATION DE L'EMISSION SPONTANEE DES CERCAIRES

Trois Hélicelles provenant du lot contaminé le 14 juillet 1963 sont prélevées le 25 novembre (soit 134 jours après le repas infestant). Ces Mollusques, que je

désignerai respectivement par les lettres A, B et C sont placés isolément, chacun dans une boîte de Pétri couverte, renfermant du papier filtre imbibé d'eau, de manière à réaliser un milieu saturé d'humidité. L'expérience débute à 11 heures. Le même jour, à 15 heures, l'examen d'un cylindre fécal qui vient d'être rejeté par le sujet A montre la présence de trois cercaires. Le lendemain, à 9 h, un nouveau cylindre fécal (sujet B) fournit 22 cercaires bien vivantes ; l'examen du papier à la loupe binoculaire permet encore de trouver 15 cercaires. L'expérience est arrêtée à 15 h. A ce moment, les récipients sont lessivés, avec une petite quantité de liquide de Ringer. Un examen soigneux permet de retrouver dans le premier cas (sujet A) 84 cercaires et dans l'autre (sujet B), 66. La troisième Hélicelle (sujet C) n'a pas émis de cercaires; sa dissection ultérieure permet de constater que sa contamination était négative.

Les Hélicelles A et B sont de nouveau placées en boîte de Pétri humide le 26 novembre à 19 h. Le lendemain, à 10 h, le sujet A a rejeté un cylindre fécal renfermant 45 cercaires ; le lessivage du récipient qui le renfermait fournit encore 53 cercaires. Pour le sujet B, le lessivage fournit 68 cercaires.

Si l'on additionne toutes les cercaires émises par chacun de ces Mollusques du 25 au 27 novembre, on arrive au total de 185 pour le sujet A et 171 pour le sujet B. Les cercaires émises ont pu être conservées vivantes en milieu humide pendant 48 heures ; il est possible que, dans la nature, cette durée soit supérieure, à condition que les circonstances météorologiques restent favorables. Un brusque changement se traduisant par une forte insolation ou un coup de vent provoque la mort immédiate des cercaires.

La voie de sortie emprunte donc le tube digestif de l'Hélicelle, comme le montre la présence des cercaires dans les cylindres fécaux rejetés ; mais ce n'est pas l'unique itinéraire suivi. Des Hélicelles en période d'émission ont été fixées en vue de leur examen histologique : les coupes montrent la présence de cercaires dans la cavité palléale et certaines d'entre elles sont engagées dans le pneumostome, ce qui établit nettement l'existence de cette seconde voie de sortie.

DEMONSTRATION DE LA NECESSITE D'UN SECOND MOLLUSQUE DANS LE CYCLE

Les expériences démontrant l'émission spontanée des cercaires rejetées dans le milieu extérieur lorsque les conditions écologiques sont favorables, suggèrent la nécessité d'un second hôte intervenant dans le cycle. J'en ai obtenu la preuve expérimentale en utilisant le Pulmoné terrestre *Euparyphia pisana* (Müller). Une série de ces Mollusques a été recueillie au Tholonet et répartie en deux lots : le premier a servi pour les expériences rapportées ci-après ; le second (témoin) a été examiné pour vérifier l'absence de toute infestation naturelle.

Première expérience. — Le 11 octobre 1964, 10 *Euparyphia pisana* sont placés dans une boîte de Pétri en même temps que 15 *Helicella arenosa* provenant d'un lot

contaminé par *Dollfusinus* le 26 juillet 1964 (= 77 jours). Le récipient est tapissé de papier filtre imbibé d'eau, de manière à obtenir une atmosphère saturée d'humidité. Les 25 Mollusques sont maintenus en étroite contiguïté pendant 48 heures et ensuite isolés. La présence de cercaires libres dans les eaux de lessivage du récipient est vérifiée.

Le 18 octobre, un des *E. pisana* disséqué fournit 11 cercaires de *Dollfusinus* rassemblées dans la cavité péricardique. Les parasites sont très actifs et se contractent sans arrêt ; aucun sujet n'est trouvé dans le rein. Le 29 octobre, deux autres *E. pisana* sont fixés au Bouin, inclus et débités en coupes. Tous deux montrent un grand nombre de *Dollfusinus* dans la cavité péricardique ; leur position peut être précisée (fig. 14 et 15) : beaucoup d'entre eux sont fixés directement sur le myocarde (auriculaire ou ventriculaire ; leurs ventouses contractées pincent étroitement la paroi dont les éléments sont plus ou moins nécrosés en cet endroit ; d'autres sujets sont implantés sur le revêtement péricardique pariétal qui présente aussi des lésions importantes aux points de fixation.

Le 30 octobre, un *E. pisana* du même lot examiné *in vivo* fournit un très grand nombre de *Dollfusinus* (une centaine environ) qui grouillent dans la cavité péricardique. Ces individus présentent déjà certains caractères plus évolués que chez les cercaires émises par le premier hôte : en particulier, leurs caecums se sont beaucoup allongés.

Le 11 novembre, un autre *E. pisana* de la même série montre cinq *Dollfusinus* dans la cavité péricardique. Trois autres *E. pisana* examinés les jours suivants ont encore fourni des *Dollfusinus*. Au total, les *Euparyphia* utilisés dans cette expérience de passage de Mollusque à Mollusque ont été contaminés dans la proportion de 80 %. Ce taux est probablement plus élevé que celui qui est atteint spontanément dans la nature où les *Euparyphia* ne se trouvent pas étroitement confinés avec les Hélicelles déchargeant des cercaires.

Deuxième expérience. — Le 19 octobre 1964, une expérience analogue a été réalisée et a pleinement confirmé les résultats précédents : un lot de 20 *E. pisana* a été placé en boîte de Pétri humide avec 25 *H. arenosa* (sujets contaminés initialement le 26 juillet 1964). Le contact a été maintenu 48 heures et la présence de cercaires libres émises dans le récipient a été vérifiée. Un premier examen effectué le 4 novembre a permis de dénombrer 56 *Dollfusinus* dans la cavité péricardique. Le taux des *E. pisana* contaminés a été très élevé, atteignant 17 sur 20, soit 85 %.

L'observation de certains *E. pisana* parasités de façon intense (jusqu'à une centaine de métacercaires dans la cavité péricardique) suggère la possibilité de perturbations dans la physiologie cardiaque du Limaçon. J'ai constaté, en effet, que chez ces sujets à infestation massive, le nombre des systoles est en moyenne de 34 par minute, tandis qu'il est seulement de 21 chez les *E. pisana* normaux, conservés comme témoins. Il semble donc que le parasitisme a une influence sur le rythme cardiaque, la présence de nombreuses métacercaires provoquant des phénomènes de tachycardie. L'origine de ces anomalies doit être attribuée aux lésions du myocarde occasionnées par les parasites.

LES SPOROCYSTES

Je pense qu'il faut admettre l'existence de deux générations de sporocystes, bien que la première n'ait pas été effectivement observée. Cette opinion repose sur le fait que les premiers sporocystes reconnus avec certitude ont été vus six semaines après la contamination initiale ; ce délai suggère l'existence très vraisemblable d'une première génération (Mother Sporocyst).

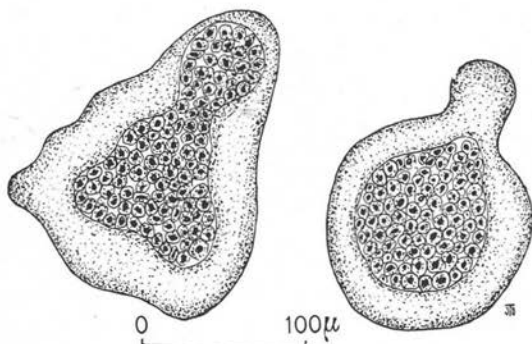
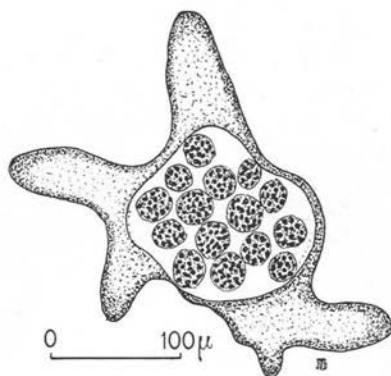


FIG. 2. — Jeunes sporocystes disséqués chez *Helicella arenosa*, 38 jours après la contamination expérimentale

FIG. 3. — Sporocyste âgé de 41 jours, montrant la différenciation des balles germinales dans le sac central et le développement des diverticules périphériques



Chez les Hélicelles contaminées depuis 38 jours, j'ai observé des amas cellulaires de forme variable (ovoïdes, piriformes ou très faiblement lobés, mesurant 132 à 201 μ et complètement immobiles (fig. 2). La coloration au rouge neutre permet de mettre en évidence deux catégories d'éléments bien distincts par leurs affinités chromatiques : les cellules périphériques chromophobes restent très claires ; elles correspondent à la paroi du sporocyste ; la masse profonde se colore intensément ; elle correspond à l'ébauche des balles germinales qui vont s'individualiser par la suite (fig. 3).

A un stade plus avancé (entre 46 et 55 jours, selon la température de la saison), les sporocystes ont acquis une morphologie très caractéristique (fig. 4) ; il est alors

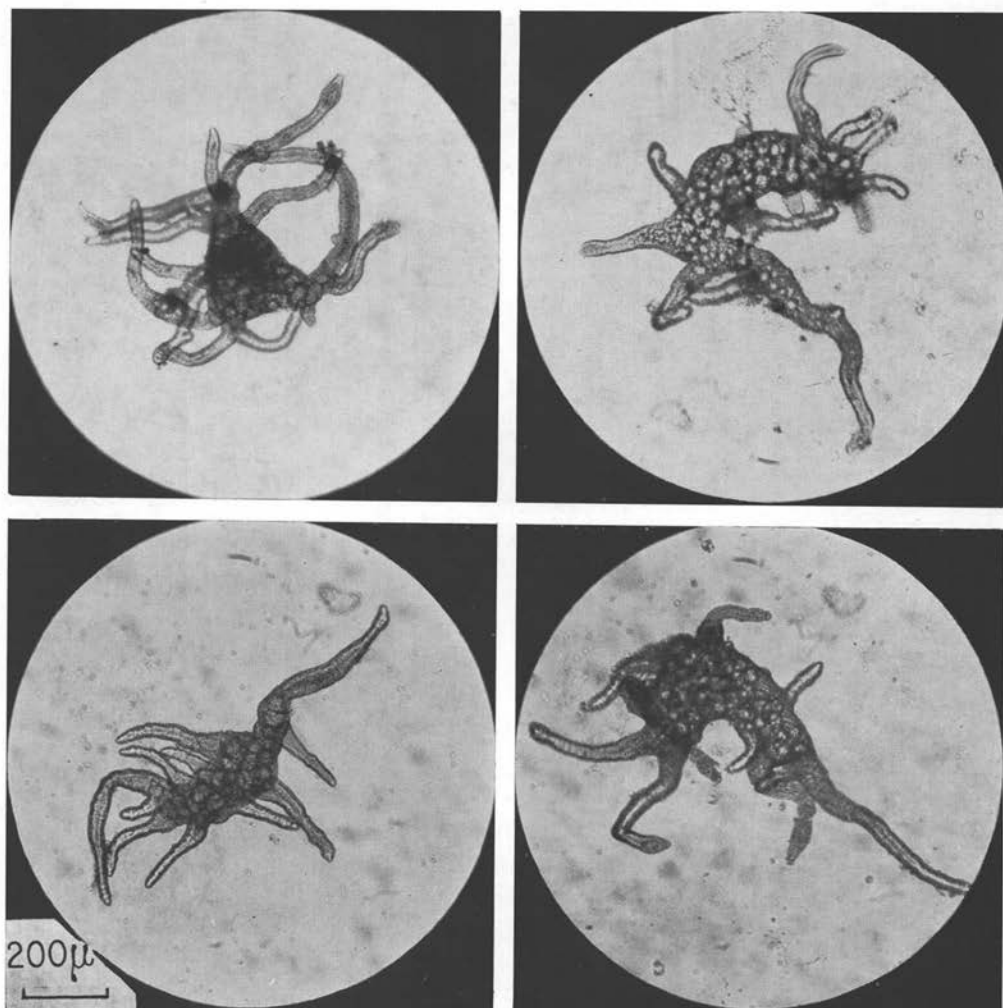


FIG. 4. — Sporocystes de *Dollfusinus* âgés de 50 jours, photographiés *in vivo* dans une goutte de liquide de Ringer, sans coloration

facile de les isoler par dissection dans l'hépto-pancréas, ce qui deviendra très difficile ou impossible plus tard ; leur taille atteint 0,8 à 1 mm ; ils sont constitués par un sac central, de forme très variable, renfermant des balles germinales bien individualisées (diamètre 15 à 40 μ). De cette poche centrale se détachent des diverticules cylindriques plus ou moins longs (100 à 350 μ) et non ramifiés. Ces prolongements sont remarquables par leur très grande mobilité : observés en suspension dans une goutte de liquide

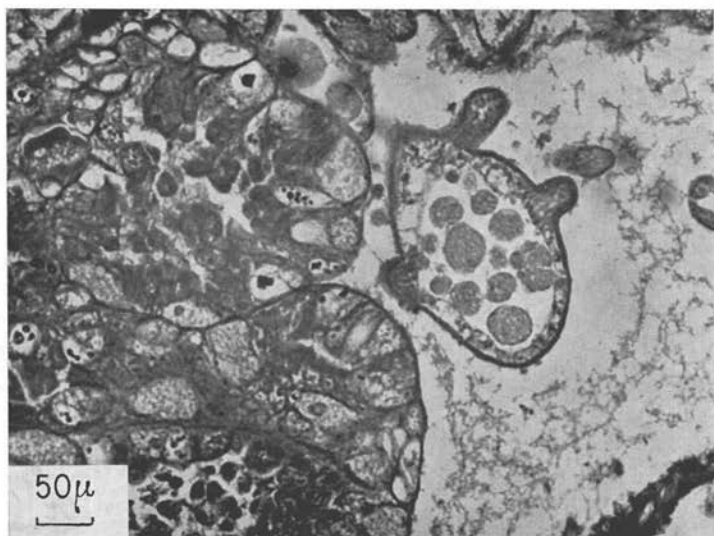


FIG. 5. — Coupe d'un sporocyste âgé de 46 jours, montrant le sac central avec balles germinales et les diverticules pleins. Coloration : Mac Manus

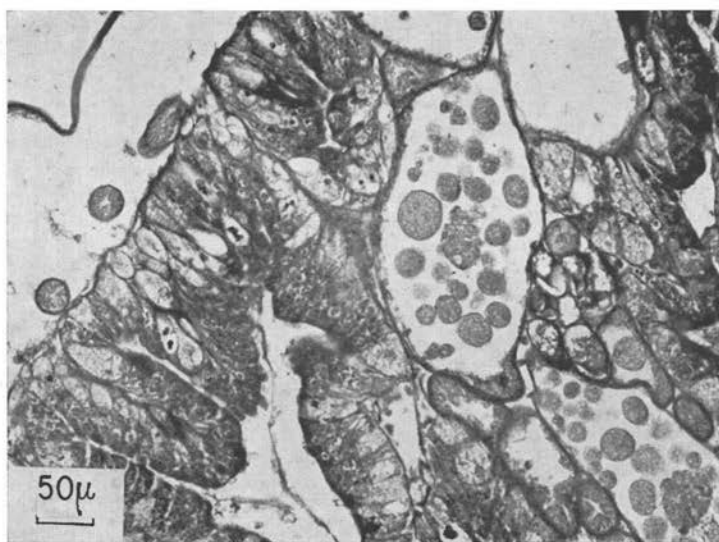


FIG. 6. — Sporocysts âgés de 46 jours dans la glande digestive d'*Helicella arenosa*. Coloration : Mac Manus

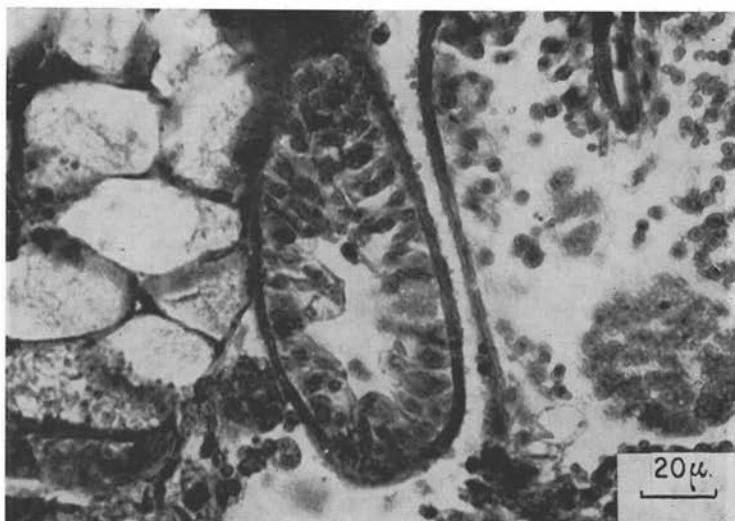


FIG. 7. — Coupe transversale d'un diverticule de sporocyste âgé de 46 jours, montrant les cellules germinales chromophiles pluristratifiées. Coloration : Azan



FIG. 8. — Sporocystes localisés dans le rein de l'Hélicelle (46 jours). Coloration : Azan

de Ringer, ils présentent des mouvements de flexion, s'inclinent et se redressent en ondulant autour du sac central. A ce stade, ces diverticules sont pleins et ne renferment pas encore de balles germinales ; celles-ci se développeront plus tard.

Les coupes des diverticules permettent de suivre les étapes de l'évolution du sporocyste. Au début, ils ne montrent aucune lumière ; la cuticule est recouverte de cellules pluristratifiées avec gros noyaux très chromophiles. A un stade plus avancé, une cavité centrale s'ébauche (fig. 7) et s'agrandit progressivement, tandis que les éléments germinaux se rassemblent en amas sphériques qui se détachent de la paroi et s'individualisent.

Chez les sporocystes plus âgés (71 jours), les diverticules se sont considérablement allongés et dilatés ; ils émettent des ramifications et il devient impossible de les distinguer de la loge centrale qui était si nette au début. Toutes les branches du sporocyste finissent par être bourrées de cercaires qui ont pris naissance à partir des balles germinales ; la paroi du sporocyste est alors devenue extrêmement mince et se déchire avec la plus grande facilité.

Les sporocystes sont, en grande majorité, logés dans la glande digestive de l'Hélicelle ; ils peuvent être extrêmement nombreux ; leurs branches s'insinuent entre les acini qu'ils compriment et déforment. Quelquefois, mais beaucoup plus rarement, ils peuvent aussi se développer dans le rein (fig. 8) ; ils sont alors logés dans le stroma conjonctif qui correspond à l'axe de lamelles rénales dont le revêtement épithélial est décollé et boursoufflé.

Les coupes colorées selon Mac Manus montrent que, dans les sporocystes jeunes (46 jours), le matériel PAS positif est localisé dans la paroi, tandis que les balles germinales restent presque incolores ; les acini hépato-pancréatiques de l'Hélicelle hôte sont bourrés de granulations positives. Cette disposition s'inverse par la suite, au fur et à mesure que le développement des cercaires s'accuse : celles-ci se chargent de glycogène, tandis que les cellules glandulaires de l'hépatopancréas s'éclaircissent de plus en plus, et finissent par ne contenir que de rares granulations PAS positives (Hélicelles contaminées depuis 136 jours).

LES CERCAIRES

La transformation des balles germinales en cercaires peut être facilement suivie : ce sont d'abord les ventouses qui sont reconnaissables, puis le pharynx et les caecums digestifs. La rapidité du développement est nettement influencée par la température : elle est plus grande chez les Hélicelles contaminées en juillet que chez celles qui l'ont été en avril. Chez les cercaires jeunes (à partir de deux mois environ), la longueur atteint 188 μ ; la ventouse orale mesure 54 μ , l'acétabulum 43 μ , le pharynx 22 μ . Les deux caecums ne dépassent pas le niveau du bord antérieur de l'acétabulum. Les cercaires complètement développées peuvent être observées à partir de 80 jours en été ; leur production dans les sporocystes secondaires se poursuit pendant plusieurs mois. Le corps (fig. 10), de forme lancéolée, mesure en moyenne 300 μ chez des sujets examinés sous lamelle et en extension ; la largeur maxima est de 100 μ . Le corps se termine

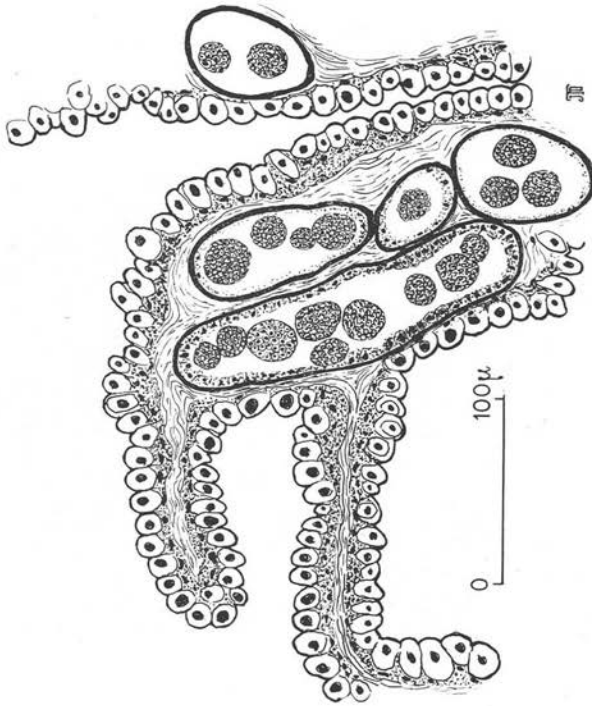
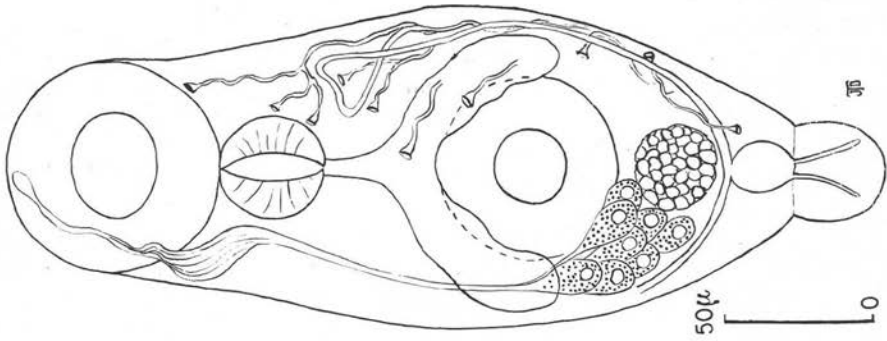


FIG. 9. — Sporocystes dans le rein de l'Helicelle. Dessin d'après micropro-
jection

FIG. 10. — Cercaire de *Dollfusinus frontalis*

en arrière par une queue très courte, à peine séparée à sa base par un léger étranglement. Ce moignon caudal est long d'environ 30μ et large de 30μ à sa base. La ventouse orale est forte (65 à 70μ) ; l'acétabulum, un peu plus petit (60μ) est situé un peu en arrière du milieu du corps. Le pharynx est sphérique, robuste (33μ) et fait suite immédiatement à la ventouse orale. Il y a un court œsophage (15μ). Les deux caecums



FIG. 11. — Cercaire âgée de 136 jours, en place dans un sporocyste. Sujet vu en coupe sagittale. Coloration : Mac Manus

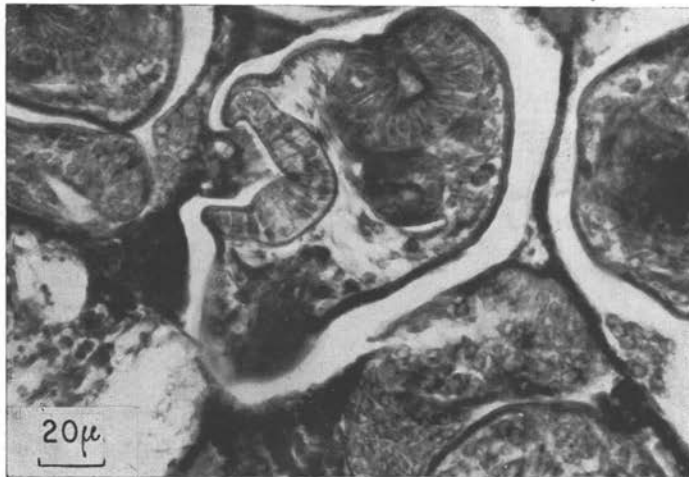


FIG. 12. — Cercaires âgées de 136 jours, en place dans un sporocyste. Sujet contracté, fixé par l'acétabulum. Coloration : Hématoxyline ferrique, Ponceau de xylidine, bleu d'aniline

entourent étroitement l'acétabulum et se terminent au niveau de son équateur ou très près de ce niveau.

Il existe deux groupes de cellules glandulaires disposés symétriquement de chaque côté, en arrière de l'acétabulum. *In vivo*, ces éléments sont bien mis en évidence par

le rouge neutre ; sur les préparations fixées et colorées à l'azan, ils se colorent électivement en bleu ; leurs canaux donnent la même réaction. Le cytoplasme de ces cellules glandulaires est bourré de fines granulations. J'ai compté huit cellules glandulaires rétroacétabulaires de chaque côté. Les canaux qui en proviennent se dirigent en avant en contournant l'acétabulum pour venir déboucher à l'extrémité antérieure du corps.

Entre la vessie et les glandes rétroacétabulaires se trouve un massif cellulaire très basophile qui représente l'ébauche des gonades. La vessie est toujours bien apparente : elle est sphérique ou piriforme selon son état de contraction ; elle émet quatre canaux. Deux troncs très courts se détachent en arrière et se portent en divergeant dans le moignon caudal ; leur trajet est facile à suivre. Deux troncs beaucoup plus importants se détachent en avant, se dirigeant suivant les côtés du corps jusqu'au niveau d'un

point situé un peu en arrière du pharynx où ils dessinent une boucle (type sténostome). Une branche récurrente se détache à la hauteur du milieu de l'acétabulum. L'observation des flammes vibratiles est difficile, par suite de l'opacité du parenchyme ; j'ai pu en localiser dix paires, mais il est possible que leur nombre réel soit un peu plus élevé.

La lecture des coupes colorées selon Mac Manus permet de constater que le matériel PAS positif est localisé en certains points d'élection chez les cercaires : dans les ébauches des gonades, dans les glandes rétroacétabulaires et leurs canaux excréteurs. Le trajet suivi par ces canaux est particulièrement net : il se traduit sur les coupes frontales par une traînée colorée électivement en rouge très visible sur les côtés de la ventouse orale. Sur les coupes transversales, il se manifeste par deux taches rouges visibles à tous les niveaux, de part et d'autre de la ventouse ventrale et du pharynx.

LES METACERCAIRES

Je désignerai sous le nom de métacercaires les sujets qui ont réalisé leur pénétration dans la cavité péricardique du second hôte. Cette qualification est un peu arbitraire puisqu'il n'existe pas ici de forme enkystée. Les changements morphologiques qui se produisent sont tout à fait progressifs : à l'origine, pendant

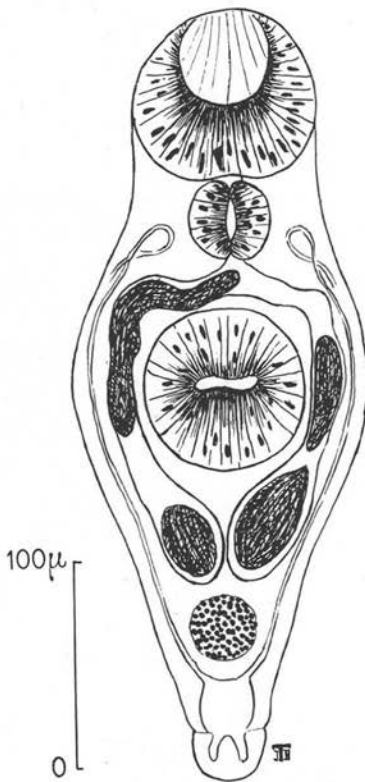


FIG. 13. — Jeune métacercaire (30 jours après la pénétration), extraite de la cavité péricardique d'*Euparyphia pisana*. Le tube digestif est fonctionnel ; le moignon caudal n'est pas encore détaché



FIG. 14. — Métacercaire dans la cavité péricardique d'*E. pisana*, fixée sur la paroi ventriculaire. Coloration : Azan



FIG. 15. — Métacercaire fixée sur le péricarde. Nécrose du tissu pincé par l'acétabulum. Coloration : Azan

les premiers jours qui suivent la pénétration chez *E. pisana*, les parasites sont identiques aux cercaires qui viennent d'être évacuées par le premier hôte ; leur évolution va comporter essentiellement les modifications suivantes (fig. 13) : accroissement de la taille (380 μ au bout d'un mois) ; allongement important des caecums qui s'étendent loin au-delà de l'acétabulum et deviennent fonctionnels ; leur paroi présente des renflements séparés par des constriction ; dans ces dilatations se trouvent des amas d'éléments filamenteux, faiblement pigmentés en jaune, qui paraissent correspondre à des fibres myocardiques en voie de digestion. Enfin, l'appendice caudal se détache et disparaît.

Je n'ai pu suivre jusqu'au bout le développement de ces métacercaires dans la cavité péricardique, par suite de l'épuisement du matériel ; il est probable que, dans la nature, leur maturation se réalise lentement et nécessite une durée de l'ordre de plusieurs mois. Cette opinion est basée sur les faits analogues décrits par M. J. Ulmer (1951) dans le développement de *Postharmostomum helicis* (Leidy 1847) Robinson 1949.

COMPARAISONS AVEC QUELQUES CYCLES VOISINS

Chez *Postharmostomum helicis*, l'adulte est parasite de petits Mammifères aux Etats-Unis (*Peromyscus maniculatus* et *Tamias striatus*). Le cycle comporte deux hôtes intermédiaires : le premier est le Mollusque *Anguispira alternata* (Say), chez lequel se succèdent deux générations de sporocystes. Les cercaires, qui possèdent une queue en moignon très courte, ont des glandes rétroacétabulaires, identiques à celles de *Dollfusinus* ; elles sortent du premier hôte et pénètrent activement chez un second Mollusque qui peut appartenir soit à la même espèce, soit à une espèce différente ; elles se localisent dans la cavité péricardique et se transforment en métacercaires non enkystées. Six mois sont nécessaires pour qu'elles parviennent à maturité.

Le cycle de *Postharmostomum commutatum* (Diesing 1858) a été étudié récemment par S. Deiana et E. Arru (1963) en Sardaigne. L'adulte est parasite de Poulets ; le premier hôte intermédiaire est *Euparyphia pisana* ; le second est un individu différent de la même espèce. Les métacercaires se développent dans la cavité péricardique de ce second Mollusque.

Chez *Urotocus tholonetensis* Timon-David 1955, le cycle ne comporte qu'un seul hôte intermédiaire (*Helicella arenosa*). Les cercaires complètement dépourvues de queue se développent dans des sporocystes branchus ; elles se transforment sur place en métacercaires enkystées infectieuses.

Résumé

1) *Dollfusinus frontalis* Biocca et Ferretti, décrit en Italie, a été retrouvé pour la première fois dans le Sud-Est de la France.

2) Une sous-famille nouvelle des *Dollfusinusinae* est proposée pour ce genre. Les *Dollfusinusinae* font partie des *Leucochloridiidae* ; ils sont caractérisés par la position du pore génital qui est terminal, par l'habitat très spécial de l'adulte et par le mode de développement.

3) Le développement expérimental a été obtenu à plusieurs reprises ; il nécessite deux hôtes intermédiaires qui sont deux Mollusques pulmonés terrestres.

4) Le premier hôte est *Helicella (Helicopsis) arenosa*. Les contaminations ont été positives à plusieurs reprises, avec des taux variant de 50 à 80 %, les essais faits avec d'autres Mollusques ont tous été négatifs.

5) Il y a probablement deux générations de sporocystes. Les sporocystes secondaires sont reconnaissables à partir de 38 jours ; ils se développent surtout dans la glande digestive, mais exceptionnellement dans le rein, et en divers points de la masse viscérale.

6) Les sporocystes très jeunes sont constitués par un amas cellulaire plein, arrondi ou piriforme ; il se forme ensuite un renflement central qui émet des diverticules cylindriques mobiles. Dans le sac central se développent des balles germinales qui se détachent de la paroi, tandis que les diverticules sont pleins.

7) A un stade plus avancé, des balles germinales se forment aussi dans les diverticules qui s'allongent et se compliquent beaucoup. Finalement, toutes les parties du sporocyste renferment des cercaires.

8) Les cercaires sont complètement développées à partir de 80 jours (plus ou moins vite selon la température). Leur description est donnée.

9) Si les Hélicelles sont placées en milieu saturé d'humidité, on constate qu'il se produit une émission importante de cercaires ; celles-ci peuvent rester vivantes plusieurs jours si l'atmosphère reste très humide.

10) En plaçant côte à côte les Hélicelles déchargeant des cercaires et d'autres Mollusques (*Euparyphia pisana*), on obtient la pénétration des cercaires chez le second hôte ; elles vont se localiser dans la cavité péricardique d'*E. pisana* (jusqu'à une centaine chez un seul Mollusque). Deux lots d'*E. pisana* ont été ainsi contaminés avec des taux très élevés (80 et 85 %).

11) Les cercaires qui ont pénétré chez le second hôte se transforment progressivement en métacercaires. Il n'y a pas de forme enkystée. La maturation des métacercaires demande un temps prolongé qui n'a pu être exactement déterminé, mais qui est de l'ordre de plusieurs mois.

12) Le cycle de *D. frontalis* est comparé à ceux de *Postharmostomum helicis* (Leidy 1847) et de *Postharmostomum commutaum* (Diesing 1858) qui présentent de grandes analogies.

Bibliographie

- ADAM (W.) et LELOUP (E.), 1934. — Recherches sur les parasites des Mollusques terrestres de Belgique. Trématodes larvaires. *Mém. Musée Hist. Nat. de Belgique*, N° 62, 1-42.
- BIOCCA (E.) et FERRETTI (G.), 1958. — Un nuovo trematode, *Dollfusinus frontalis* gen. nov. et sp. nov. parassita dei seni naso frontali di *Erinaceus europaeus*. *Rendic. Accad. Naz. Lincei*, Ser. VIII, T. XXIV, 171-175.

- DEIANA (S.) et ARRU (E.), 1963. — Il ciclo biologico di *Postharmostomum commutatum* (Diesing 1858) ricostruito sperimentalmente in Sardegna. *Riv. di Parassitol.*, XXIV, N° 3, 163-177.
- DOLLFUS (R. Ph.), 1934. — Sur quelques *Brachylaemus* de la faune française récoltés principalement à Richelieu (Indre-et-Loire). *Ann. Parasitol. Hum. et Comp.*, XII, 551-575.
- GINETSINSKAJA (T. A.), 1954. — Voprosy ekologii i sistematiki partenogeneticheskogo pokolenija sosal stchikov roda *Leucochloridium*. *Trudy Leningrad obsch. estesstvoisp.*, 72 (4), 38-55.
- JOYEUX (Ch.), BAER (J. G.) et TIMON-DAVID (J.), 1934. — Recherches sur les Trématodes du genre *Brachylaemus* Dujardin (Syn. *Harmostomum* Braun). *Bull. Biol. Fr. Belg.*, LXVIII (4), 385-418, Pl. XIV.
- KAGAN (I. K.), 1952. — Revision of the subfamily *Leucochloridiinae*, Poche 1907 (*Trematoda: Brachylaemidae*). *The Americ. Midl. Natural.* 48 (2), 257-301.
- MEHRA (H. R.), 1962. — Revision of *Brachylaemidae* Joyeux et Foley 1930, with new subfamilies *Thapariellinae* and *Urotrematinae* and new family *Harmotrematidae* with its subfamilies *Harmotrematinae* Yamaguti 1933 and *Helicotrematinae* n. subf. *Proceed. Nation. Acad. Sciences India*. XXXII, Sect. B, Part. IV, 319-334.
- POJMANSKA (T.), 1959. — Metacercariae of some *Brachylaemidae* (*Trematoda*) in land snails of the Bialowieza National Park. *Acta Parasitol. Polonica*, VII (16), 343-369.
- , 1961. — Investigations on the occurrence and biology of trematodes of *Sorex araneus araneus* L. in Bialowieza National Park. *Acta Parasitol. Polonica*, IX (23), 305-330.
- ROBINSON (E. I.), 1949. — The life history of *Postharmostomum heliciis* n. comb. (*Trematoda, Brachylaemidae*). *J. Parasitol.*, 35 (5), 513-533.
- SHALADIBIN (L. S.), 1953. — Nouveaux Trématodes d'Insectivores. Travaux d'Helminthologie. *Volume jubilaire de l'Académicien K. I. Skrjabin* (en Russe). Moscou, p. 747-755.
- SINITSIN (D.), 1931. — Studien über die Phylogenie der Trematoden. V. Revision of *Harmotominae* in the light of new facts from their morphology and life history. *Zeit. Parasitenk.* 3, 786-835.
- SKRJABIN (K. I.), 1948. — Trématodes des animaux et de l'Homme (en Russe), II, 257-292.
- SOLTYS (A.), 1953. — Helmintofauna ryjowkowatych (*Soricidae*) Bialowieskiego Parku Narodowego. *Acta Parasitol. Polonica* 1 (16), 352-402.
- TIMON-DAVID (J.), 1964. — Développement expérimental et formes larvaires de *Dollfusinus frontalis* Biocca et Ferretti, 1958 (*Trematoda, Digenea*), parasite des sinus frontaux du Hérisson. *C.R. Ac. Sc.*, 258, 3755-3757.
- ULMER (M. J.), 1951. — *Postharmostomum heliciis* (Leidy 1847) Robinson 1949 (*Trematoda*), its life history and revision of the subfamily *Brachylaeminae*. Part. I. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, LXX (3), 190-238. Part. II, 319-347.
- WESENBERG-LUND (C.), 1931. — Contributions to the development of the Trematoda Digenea. Part I. The biology of *Leucochloridium paradoxum*. *Mém. Acad. Roy. Sc. Let. Danemark* Copenhagen, Sect. Sc., 9, 90-142.
- YAMAGUTI (S.), 1958. — Systema Helminthum. The Digenetic Trematodes of Vertebrates. T. I, p. 680-684. *Interscience Publishers, Inc.* New-York.

(Laboratoire de Zoologie Générale de la Faculté des Sciences de Marseille)