Arguments et propositions
pour une nouvelle interprétation
de l'évolution de *Fasciola hepatica* L.
dans *Lymnaea (Galba) truncatula* Müller

par **D. RONDELAUD** et **D. BARTHE**,

*Laboratoire d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique (P^r D. BARTHE), Faculté de Médecine,
F 87032 Limoges Cedex*
et *Laboratoire de Biologie animale (P^r R. SOURIE), Faculté des Sciences,
F. 87060 Limoges Cedex.*

Résumé.

Les auteurs analysent l'influence de plusieurs facteurs : température, dessèchement du milieu, volume corporel de l'hôte intermédiaire sur l'évolution des générations rédiennes de *Fasciola hepatica* chez *Lymnaea truncatula*.

Trois générations de rédies s'observent chez *Lymnaea truncatula* quelles que soient les conditions du milieu. Le nombre de rédies de deuxième et de troisième générations est en relation avec le volume corporel de l'hôte intermédiaire. La température a une action sur le synchronisme de maturation des cercaires pour les rédies des deux premières générations.

Summary.

Arguments and proposals for a new developmental interpretation of *Fasciola hepatica* L. in *Lymnaea (Galba) truncatula* Müller.

The authors study the influence of several factors : temperature, drying up of ground, bodily volume of intermediary host on development of the redial generations of *Fasciola hepatica* in *Lymnaea truncatula*.

Three redial generations are seen in *Lymnaea truncatula*, whatever environmental factors. The number of rediae of generations 2 and 3 is correlated with bodily volume of the snail host. The temperature affects synchronism of cercarial maturation in rediae of generations 1 and 2.

Reçu le 24 mars 1977.

Dans un travail antérieur, l'un d'entre nous (1974 a) a proposé un schéma résumant l'évolution des générations rédiennes de *Fasciola* chez la Limnée tronquée. Ces données provenaient de l'examen histologique de Mollusques récoltés régulièrement dans plusieurs localités très infestées de Haute-Vienne (années 1971).

Nous nous proposons maintenant d'analyser l'action de divers facteurs sur l'évolution de ce parasite chez *Lymnaea truncatula*. Les résultats recueillis permettront ainsi de vérifier expérimentalement l'existence d'une succession des générations rédiennes pour *Fasciola hepatica*.

Les facteurs étudiés sont les suivants :

- la température maintenue constante ou présentant des fluctuations quotidiennes régulières ;
- le dessèchement du milieu ;
- le volume corporel de l'hôte intermédiaire.

Les résultats présentés ci-dessous sont comparés avec les données fournies par l'examen de Limnées infestées récoltées en 1971 dans le nord de la Haute-Vienne.

Résumé du travail antérieur (1974)

La première rédie issue du sporocyste (1^{re} rédie de première génération) présente un développement plus rapide et fournit des rédies-filles (rédies de deuxième génération). Ces dernières, ainsi que les autres rédies issues du sporocyste (1^{re} génération), ont un développement plus lent et synchrone. A partir du 30^e jour d'infestation, des rédies de troisième génération sont formées par les rédies de première et de deuxième générations.

Certaines rédies de première génération finissent par dégénérer lorsqu'elles restent autour du complexe buccal de la Limnée ou lorsqu'elles se situent dans la paroi ou le pied de l'hôte intermédiaire.

Les rédies de première et de deuxième générations se distinguent entre elles par la forme de leur pharynx (ou ventouse buccale, Chandler et Read, 1955 : *in* Euzeby, 1971) :

- sphérique avec lumière interne large, généralement ronde (rédies de première génération) (*Planche I*) ;
- ovoïde, parfois sphérique avec lumière étroite au début, devenant ovoïde vers la base du pharynx chez les rédies plus âgées (rédies de deuxième et de troisième générations).

Les rédies de deuxième et de troisième générations ont été distinguées d'après l'évolution de leur contenu. L'examen de ce dernier nous a conduit à définir un certain nombre de stades et de phases parasitaires qui seront précisées ci-dessous.

PLANCHE I

Coupes de pharynx :

- de rédies de 1^{re} génération : 1^{re} rédie (n° 1), rédie issue plus tardivement du sporocyste (n° 2), rédie en dégénérescence (n° 3) ;
- d'une rédie de 2^e génération (n° 4) ;
- de rédies prélevées chez des Limnées tronquées en estivation : 1^{re} génération (n° 5), 2^e génération (n° 6) ;
- de 1^{res} rédies de 1^{re} génération observées chez de très jeunes Limnées tronquées : coupe transversale (n° 7), coupe parasagittale (n° 8) ;
- d'une rédie ayant dégénéré complètement (n° 9).

Grossissement : $\times 700$)

Matériel et techniques

Les Limnées tronquées utilisées dans le cadre de cette étude ont été récoltées à La Chabasse, commune de Saint-Priest-Taurion (Haute-Vienne). La hauteur des individus adultes dépasse rarement 7 mm.

1° Protocole expérimental.

Il varie suivant le facteur étudié :

— l'influence de la température : les Mollusques de 4 mm de hauteur au départ de l'expérience sont élevés par groupes de 50 dans des bacs d'élevage standard (1974 b) placés dans des salles thermostatées à 16 °C, 20 °C ou 25 °C.

D'autres Mollusques sont soumis à des fluctuations quotidiennes de température : 4 °-18 °C dans une enceinte reliée à un thermostat à réfrigération (SECASI). La durée d'exposition à 4 °C est réglée à 5 heures ;

— l'influence du dessèchement du milieu : deux groupes de Limnées à la même phase parasitaire sont placés sur sédiment humide en voie d'assèchement à 20 °C. Des prélèvements ont lieu ensuite pendant 35 jours ;

— l'influence du volume corporel de l'hôte intermédiaire. Nous avons utilisé des Limnées de 3 types : 0,5 à 1 mm, 4 et 7 mm de hauteur.

Tous les Mollusques sont exposés à un seul miracidium et élevés avec un éclairage de 3 000 lux pendant 12 heures par jour.

Les prélèvements ont lieu tous les 7 jours et portent chacun sur 5 individus infestés jusqu'à la phase E1 (présence de quelques cercaires libres dans le Mollusque). Lors de cette dernière phase, tous les individus restants sont sacrifiés. Les Limnées sont fixées au Bouin après destruction des coquilles, débitées en coupes sériées de 5-6 microns d'épaisseur et colorées à l'hématoxyline de Harris-trichrome en un temps.

2° Expression des résultats.

Leur expression graphique concerne :

a) l'évolution des générations de rédies en fonction du temps compté en jours depuis l'infestation initiale ;

b) les stades parasitaires des diverses rédies observées dans 10 Limnées en phase E1 ou prélevées au bout de 35 jours d'assèchement du milieu.

Le stade parasitaire désigne l'état d'évolution du contenu d'une rédie qui va former des cercaires. Nous avons choisi 5 stades basés sur l'état des embryons :

Stade 1 : présence de morulas ;

Stade 2 a : présence de gastrulas ;

Stade 2 b : présence de cercaires à cellules cystigènes non colorées ;

Stade 3 : les cellules cystigènes sont alors colorées en jaune par le jaune naphtol ;

Stade 4 : présence d'une enveloppe externe jaune vif.

Pour tous les stades, il suffit qu'un embryon présente les caractères d'un stade pour que la rédie soit comptée dans ce stade.

Les valeurs obtenues pour les divers Mollusques sont ramenées à une valeur moyenne pour un individu, ceci pour les divers types de graphiques.

3° Remarques.

La distinction des diverses générations rédiennes est basée sur les caractéristiques anatomo-microscopiques du pharynx et sur les stades parasitaires, mais il faut noter :

— qu'il existe une croissance différentielle des pharynx des rédies selon le numéro de sortie de ces dernières, du sporocyste ou de la 1^{re} rédie de première génération. Les premières ont un pharynx dont les dimensions sont en relation avec la longueur des parasites ; par contre les dimensions des pharynx des rédies émises par la suite et qui forment des cercaires sont toutes identiques ;

— que la forme des pharynx est modifiée parfois chez les Limnées en estivation (lumière triangulaire) ou chez de jeunes individus infestés.

Les quelques rédies de deuxième ou de troisième génération, où l'étude du stade parasitaire ne permet pas l'identification, sont rattachées à l'une ou l'autre génération selon la présence ou non de rédies de première génération présentant un stade identique.

Certaines rédies sont comptées dans une catégorie spéciale, NC, (non classées) sans tenir compte de leur génération. Ce sont :

— des rédies en voie de dégénérescence. Il s'agit des parasites situés dans la paroi de la Limnée ou autour du complexe buccal. Les morulas y sont réduites ou absentes ;

— des rédies situées à l'intérieur de la glande hermaphrodite. L'évolution du contenu reste toujours au stade 1 ;

— quelques rédies situées dans la glande digestive et ne présentant pas de masses germinatives à l'intérieur.

Les rédies intra-rédiennes n'ont pas été comptées.

Résultats

I. — Influence de la température.

Nous avons rassemblé sur les figures 1 et 2 les effectifs de rédies comptés chez les Limnées :

— récoltées en juin-juillet 1971 sur le terrain : Gros-Pommier, commune de Mézières-Issoire, Haute-Vienne ;

— élevées expérimentalement à des températures maintenues constantes de manière permanente : 25 °C et 16°C ;

— soumises chaque jour à des variations de température allant de 4 °C à 18 °C.

FIG. 1. — La dynamique des générations de rédies de *Fasciola hepatica* en fonction de la durée d'infestation (graphiques A) et des stades parasitaires: phase E1 (graphiques B). Limnées prélevées dans la nature en 1971 (Gros-Pommier, commune de Mézières/Issoire, Haute-Vienne) ou élevées expérimentalement avec une température constante de 25 °C.

Les graphiques révèlent la dynamique des générations rédiennes en fonction de la durée d'infestation ou des dates de prélèvements. Les stades parasitaires des rédies comptées dans 10 Limnées en phase E1 sont inscrits sur les graphiques B (sauf la catégorie NC). Nous observons dans ces figures :

- que les 4 séries de Limnées infestées présentent 3 générations de rédies ;
- que les effectifs des rédies des première et deuxième générations sont sensiblement identiques respectivement pour les 4 groupes de Mollusques. Le nombre de rédies de 2^e génération comptées par Mollusque est généralement plus élevé que celui de la première génération ;

FIG. 2. — La dynamique des générations de rédies de *Fasciola hepatica* en fonction de la durée d'infestation (graphiques A) et des stades parasitaires : phase E1 (graphiques B). Limnées élevées expérimentalement à une température constante de 16 °C ou soumises à des fluctuations quotidiennes de température : 4 °C-18 °C.

— que les rédies de troisième génération se rencontrent libres à partir de la phase parasite C : la plupart des rédies de 1^{re} et de 2^e générations sont alors au stade 2 b. Lors de la phase E1, les rédies de troisième génération sont plus nombreuses chez les Limnées soumises à des variations quotidiennes de température (naturelle ou expérimentale) que chez celles élevées à température constante (en moyenne 5,2 et 4,9 unités par Limnée dans le premier cas contre 3,4 et 2,4 unités par Limnée élevée respectivement à 25 °C ou à 16 °C) ;

— que l'examen des stades parasitaires des rédies de première et de deuxième générations (graphiques B) montre l'existence d'un synchronisme dans la formation des cercaires chez les Limnées soumises à des températures élevées (*fig. 1*). Par contre la distribution de ces rédies est nettement plus étalée chez les Mollusques à des températures plus froides (*fig. 2*) : on y retrouve même des rédies en stade 1.

Les rédies non classées comprennent 20 % de rédies situées dans la glande hermaphrodite du Mollusque. Contrairement aux résultats de plusieurs auteurs (Roberts, 1950 ; Hodasi, 1972), 30 % des glandes hermaphrodites contiennent 1 à 2 rédies, généralement de 2^e génération qui restent au stade 1.

II. — Influence du dessèchement du milieu.

La *figure 3* résume les résultats obtenus avec 2 groupes de Limnées soumises à 35 jours de dessiccation à 20 °C. Le début de l'expérience a été choisi en fonction de la phase parasitaire des Mollusques infestés :

- à partir de 14 jours d'infestation : phase B (1^{er} groupe) ;
- à partir de 49 jours d'infestation : phase E1 (2^e groupe).

Nous pouvons remarquer :

- que pour les Limnées du 1^{er} groupe,
 - les deux premières générations de rédies présentent des effectifs plus faibles que ceux comptés dans les Mollusques présentant une infestation de 49 jours (phase E1) à 20 °C. La 3^e génération est présente et révélée par la présence de formes intrarédiennes. Les parasites sont généralement absents des parois et des environs du complexe buccal de la Limnée de sorte que les formes non classées sont représentées par des rédies situées dans la glande hermaphrodite ;
 - l'étude des stades parasitaires montre l'existence d'une distribution homogène des résultats. Seules quelques rédies des 2 premières générations sont matures ;
- que pour les Mollusques du 2^e groupe,
 - les effectifs rédiens au 35^e jour d'expérience sont identiques à ceux comptés chez les Limnées sacrifiées au premier jour (49^e jour). Seules les rédies de troisième génération montrent une légère augmentation ;
 - par contre les rédies des 2 premières générations sont presque toutes matures. Nous notons aussi une évolution du contenu des rédies de troisième génération : certaines d'entre elles sont au stade 2 a.

Certaines rédies présentent un pharynx à lumière déformée.

FIG. 3. — La dynamique des générations de rades de *Fasciola hepatica* en fonction de la durée d'infestation (graphiques A) et des stades parasitaires: au 35^e jour d'assèchement du milieu (graphiques B). Limnées infestées mises en dessication (à 20 °C): — au 14^e jour d'infestation: phase B (1^{er} groupe); — au 49^e jour d'infestation: phase E1 (2^e groupe) (1) rades intra-rédiennes.

III. — Influence du volume corporel de l'hôte intermédiaire.

Les infestations expérimentales ont porté:

- sur de jeunes Limnées: 0,5-1 mm de hauteur. La mortalité est élevée (60 %) dans les jours qui suivent l'infestation;
- sur des individus adultes de 7 mm de hauteur.

FIG. 4. — La dynamique des générations de rédies de *Fasciola hepatica* en fonction de la durée d'infestation (graphiques A) et des stades parasitaires : phase E1 (graphiques B). Limnées élevées à 20 °C et infestées au départ avec une hauteur de 0,5-1 mm ou de 7 mm ; en pointillés : Limnées de 4 mm.

La figure 4 montre :

— que pour les individus jeunes,

• les effectifs des 3 générations de rédies sont très inférieurs à ceux comptés chez les Mollusques de 4 mm de hauteur (différence de 50 %).

Cette baisse porte sur les 3 générations ;

- les rédies non classées sont par contre en nombre plus élevé et comprennent de nombreuses formes en dégénérescence complète. Certaines Limnées ne montrent que la présence d'une rédie-mère de 1^{re} génération vivante ainsi que des restes de rédies ayant dégénéré ;

- en phase E1 (graphiques B), la plupart des rédies de première génération sont matures. La distribution des formes de 2^e génération est au contraire très étalée ;

— que pour les Limnées de grande taille :

- la dynamique des générations rédiennes en fonction de la durée d'infestation et des stades parasitaires sont identiques à celle de Limnées de 4 mm de hauteur. Seules certaines rédies de 1^{re} génération produisent des rédies-filles en nombre plus élevé (jusqu'à 17) ;

- les rédies de troisième génération en phase E1 ont une évolution accélérée (stade 2 a) par rapport à celle des rédies provenant de Limnées de 4 mm de hauteur et en même phase parasitaire.

Discussion

La littérature postule que la rédie-fille est une forme larvaire accessoire dont l'apparition serait conditionnée par la saison (Thomas, 1883 ; Leuckart, 1886), par les fluctuations quotidiennes de la température (Kendall, 1964) ou par le dessèchement du milieu de vie de la Limnée (Styczynska-Jurewicz, 1965). Le seul critère utilisé par ces auteurs pour différencier ces rédies-filles des rédies-mères est la différence de taille et d'évolution du contenu : les rédies-filles de la littérature sont donc assimilables à la 3^e génération de rédies dans le cas de notre étude. Enfin, notons que la plupart des auteurs (sauf Saint-Guillain, 1968) n'ont pratiqué que des dissections de Limnées infestées sans aucune vérification histologique.

Nous avons repris partiellement le protocole expérimental de ces divers auteurs au cours de notre étude. Les résultats obtenus nous permettent de proposer un schéma de l'évolution fasciolienne chez une Limnée tronquée (fig. 5). De plus, nous affirmons :

— que l'infestation de *Lymnaea truncatula* se traduit par le développement de 3 générations de rédies, quelles que soient les conditions du milieu ;

— que le nombre de rédies des 2^e et 3^e générations est en relation avec le volume corporel de l'hôte intermédiaire ;

— que la température a une action sur le synchronisme de la maturation des cercaires pour les rédies des deux premières générations.

FIG. 5. — L'évolution des générations rédiennes : schéma récapitulatif.

Par contre, le problème de la formation des rédies de troisième génération à l'intérieur des rédies-mères reste encore obscur.

Nous avons remarqué que chez les Limnées en phase C, les rédies-filles observées dans le corps des rédies de 1^{re} et 2^e générations sont alors les formes les plus évoluées parmi le contenu rédien. De plus, le nombre des rédies de troisième génération intra-rédiennes est maximal au cours de cette phase parasitaire.

Nous émettons l'hypothèse que toute rédie serait capable de former initialement une rédie-fille avant que les autres embryons ne se développent en cercaires. Ceci serait modulé par deux facteurs :

— le volume corporel vierge de l'hôte intermédiaire qui aurait un effet positif sur la formation des rédies-filles ;

— l'élévation de la température du milieu extérieur qui aurait par contre un effet négatif.

La vérification de cette hypothèse fera l'objet d'un travail ultérieur.

Bibliographie

- EUZEBY (J.), 1971. — Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tome II : maladies dues aux Plathelminthes Trématodes. Livre 1. *Vigot frères*, édit., Paris, 798 p.
- HODASI (J. K. M.), 1972. — The effects of *Fasciola hepatica* on *Lymnaea truncatula*. *Parasitology*, 65, 359-369.
- KENDALL (S. B.), 1964. — Some factors influencing the development and behaviour of Trematodes in their Molluscan hosts. In: *Host-parasite relationships in Invertebrate hosts*. A.E.R. Taylor, Blackwell, édit., Oxford, p. 51-73.
- LEUCKART (R.), 1886. — *Die Parasiten des Menschen und die von ihnen herrührenden krankheiten*, Leipzig, 377 p.
- ROBERTS (E. W.), 1950. — Studies on the life cycle of *Fasciola hepatica* (Linnaeus) and of its snail host, *Linnaea (Galba) truncatula* (Müller) in the field and under controlled conditions in the laboratory. *Ann. Trop. Méd. Parasit.*, 44, 187-206.
- RONDELAUD (D.), 1974 a. — L'évolution des rédies de *Fasciola hepatica* L. chez *Galba truncatula* Müller en Limousin. *Rev. Méd. vét.*, 125, 237-250.
- RONDELAUD (D.), 1974 b. — Recherches sur l'influence de quelques facteurs physiques sur les migrations quotidiennes de *Galba truncatula* Müller. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 49, 417-425.
- SAINT-GUILLAIN (M.), 1968. — Etude histologique des premiers stades évolutifs de *Fasciola hepatica* L., *Acta Zool. Path. Antverp.*, 46, 77-132.
- STYCZYNSKA-JUREWICZ (E.), 1965. — Adaptation of eggs and larvae of *Fasciola hepatica* to the conditions of astatic habitats of *Galba truncatula*. *Acta paras. Polon.*, 13, 151-170.
- THOMAS (A. P.), 1883. — The life-history of the liver-fluke (*Fasciola hepatica*). *Quart. J. Micr. Sci., N.S.*, 23, 99-133.