Données complémentaires sur les organites
argyrophiles superficiels du miracidium
et de la cercaire de *Fasciola gigantica*
(Cobbold, 1855) (Trematoda : Fasciolidae)
et sur l'épidémiologie de ce parasite

par J.-L. ALBARET *, Ch. BAYSSADE-DUFOUR *, O.-T. DIAW **,
G. VASSILIADES ** et L. GRUNER ***

* Laboratoire de Zoologie (Vers), associé au C.N.R.S., Muséum national d'Histoire naturelle,
43, rue Cuvier, F 75231 Paris Cedex 05.

** Service de Parasitologie, Laboratoire National de l'Elevage et de recherches vétérinaires,
B.P. 2057, Dakar, Sénégal.

*** Laboratoire d'Ecologie des parasites. I.N.R.A., Centre de Recherches de Tours, Nouzilly,
B.P. N° 1, F 37380 Monnaie.

RESUME. Le cycle d'une souche sénégalaise de *Fasciola gigantica* a été réalisé en France à partir d'adultes recueillis dans le foie de Bovins (*Bos taurus*) naturellement parasités. Des *Lymnaea natalensis* expérimentalement infestées ont émis de nombreuses cercaires. Les métacercaires ont permis d'infester avec succès des moutons.

Chez le miracidium, des variations sont observées dans la disposition de la cellule médio-ventrale du deuxième étage. La répartition des organites argyrophiles superficiels est identique à celle du miracidium de *F. hepatica*.

La chétotaxie de la cercaire est très proche de celle de la cercaire d'une souche malgache de *F. gigantica* émise par *Lymnaea hovorum*, mais diffère nettement de celle de la cercaire de *F. hepatica*.

L'enkystement d'un grand nombre de cercaires (25 %) à la surface de l'eau conduit à penser que ce phénomène favorise dans une large mesure l'extension des foyers de contamination et accroît grandement les risques d'infestation tant pour l'animal que

Accepté le 28 février 1980.

pour l'homme. Il est possible que la distomatose humaine à *F. gigantica* constitue une parasitose dont l'importance est sous-estimée.

Additional data on superficial argentophilic structures of the miracidium and cercaria of Fasciola gigantica Cobbold, 1855 (Trematoda : Fasciolidae) and on the epidemiology of this parasite.

SUMMARY. *The life cycle of a senegalese strain of Fasciola gigantica was carried out in France from adults recovered in the liver of naturally infected cattle (Bos taurus). Laboratory-reared Lymnaea natalensis experimentally infected shed numerous cercariae. Metacercariae were used for successful infection of sheep.*

In the miracidium, variations are observed in the disposition of the medio-ventral epithelial cell of the second tier. The distribution of the superficial argentophilic structures is similar to that of the miracidium of F. hepatica.

The chaetotaxy of the cercaria is very closely related to that of the cercaria of a strain of F. gigantica from Madagascar shed by Lymnaea hovarum but it differs clearly from that of the cercaria of F. hepatica.

The encystment of a great number of cercariae (25 %) on the surface of water suggests that this is an important factor in the extension of the foci of contamination, and therefore increases greatly the risks of infection not only for animal but also for man. It is possible that human fascioliasis caused by F. gigantica is a disease, the importance of which is under-estimated.

Fasciola gigantica, Cobbold, 1855, parasite largement répandu dans le monde, est l'agent d'une helminthose ayant une grande incidence économique sur l'élevage des Bovidés. En outre, la possibilité d'une infestation humaine n'est pas négligeable puisqu'un certain nombre de cas ont été rapportés notamment au cours de ces vingt dernières années, provoquant chez certains des sujets qui en sont atteints des troubles d'une réelle gravité.

L'étude du cycle de ce Trématode a fait l'objet des travaux de plusieurs auteurs qui ont décrit la morphologie des stades larvaires. Richard (1971) a observé la chétotaxie de la cercaire émise par *Lymnaea hovarum* à Madagascar, mais aucune observation, à notre connaissance, ne concerne les organites argyrophiles superficiels du miracidium. La réalisation du cycle au laboratoire, à partir d'une souche sénégalaise passant par *Lymnaea natalensis*, nous a permis de combler cette lacune, et de comparer la chétotaxie de la cercaire à celle de la cercaire malgache.

De plus, nos observations confirment celles de quelques auteurs à propos des modalités particulières de l'enkystement des cercaires qui présentent une importance certaine au point de vue épidémiologique.

Matériel et méthodes

La souche de *Fasciola gigantica* que nous avons utilisée a pour origine des vaches de race N'Dama abattues à Kolda (Haute-Casamance, Sénégal) en décembre 1978.

Les œufs obtenus par dilacération des adultes ont été conservés dans de l'eau minérale à environ 20 °C pendant 15 jours puis à 15 °C pendant 21 jours dans l'attente de l'obtention de mollusques aptes à être infestés. Placés ensuite à 23 °C et exposés à la lumière, les œufs ont libéré de nombreux miracidiums.

Des *Lymnaea natalensis* de 7 à 10 mm de longueur, saines, nées au laboratoire de parents originaires du Sénégal, ont alors été infestées avec en moyenne trois miracidiums chacune. Elevées à une température de 23 °C elles ont émis, 77 jours après l'infestation, les premières cercaires.

Dans le foie de deux moutons ayant ingéré 60 métacercaires pour le premier et 50 pour le second, nous avons recueilli respectivement 50 et 24 douves adultes ovigères 117 jours après l'infestation.

Les miracidiums ont été imprégnés au nitrate d'argent par la technique de Lynch (1933) et montés dans la gomme au chloral de Faure. Les récepteurs sensoriels tégumentaires des cercaires ont été mis en évidence par la technique de Combes, Bayssade-Dufour et Cassone (1976).

Observations

Le miracidium.

— *Cellules ciliées*. Rappelons que les cellules ciliées au nombre de 21 sont réparties en 5 étages comprenant respectivement d'avant en arrière 6, 6, 3, 4 et 2 cellules séparées par 4 ceintures transversales (fig. 1, A). Cette disposition correspond aux descriptions de Thapar et Tandon (1952) et Dinnik et Dinnik (1956). Toutefois nous avons observé chez trois populations comprenant respectivement 35, 75 et 42 miracidiums provenant d'adultes récoltés chez des vaches de race N'Dama des variations dans la disposition de la cellule ciliée médio-ventrale (MV2) du deuxième étage. Si cette cellule s'interrompt au niveau de la ceinture 2 dans 94 %, 87 % et 95 % des cas (fig. 1, A), elle se prolonge jusqu'à la 3^e ceinture dans 6 %, 4 % et 0 % des cas (fig. 1, B) et dans 0 %, 9 % et 5 % des cas, son extrémité postérieure occupe une position intermédiaire (fig. 1, C).

— *Organites argyrophiles* (fig. 1, A, D, E). Le térébratorium apparaît le plus souvent comme une formation protubérante portant un sillon dorso-ventral médian, entourée à sa base par une dépression annulaire.

Fig. 1. Miracidium. A : Cellules ciliées et organites argyrophiles superficiels, vue ventrale ; B et C : Dispositions de la cellule ciliée médio-ventrale du deuxième étage (MV2) ; D : Région antérieure, vue dorsale. Schéma. E : Vue apicale. D. dorsal ; V. ventral.

La partie en saillie porte 16 formations argyrophiles disposées en deux groupes de 8 symétriques par rapport au plan sagittal. Chaque groupe comprend successivement, en partant du centre du térébratorium, 2, 3 et 3 formations situées sur trois alignements parallèles au plan sagittal. Les deux formations les plus centrales correspondent aux papilles ciliées observées par Kjøie et coll. (1976) chez le miracidium de *F. hepatica*.

Dans la dépression annulaire, on observe un peu au-dessous du plan frontal, de part et d'autre du térébratorium, une formation ovoïde à laquelle s'ajoute parfois d'un seul côté ou des deux côtés une formation supplémentaire.

La ceinture antérieure comporte six papilles ciliées, soit une papille dans une échancrure au milieu de la base de chacune des cellules ciliées du premier étage.

Chacun des deux pores excréteurs s'ouvre latéralement entre les cellules ciliées du 4^e étage au niveau de leur tiers postérieur.

La cercaire.

Les émissions cercariennes notables ne se produisent jamais à la lumière, même après un éclairage prolongé d'une dizaine d'heures. Un séjour de deux à trois heures à l'obscurité totale succédant à une période d'éclairement nous permet seul d'obtenir des cercaires en grand nombre, à plusieurs reprises, à une température de 23 à 25 °C.

Chétotaxie.

— *Région céphalique* : par hémicorps (fig. 2, A, B, C).

$C_I = 1 C_{IV}$, invaginée, 2 C_{ID} .

$C_{II} = 1 C_{II1}$, 6 à 9 C_{II2} , 4 à 5 C_{II3} .

$C_{III} = 4$ à 5 C_{III1} , 5 à 8 C_{III2} , 4 à 7 C_{III3} , 3 C_{III4} , 1 C_{III5} .

$C_{IV} = 0$ ou 1 C_{IV1} , 0 ou 1 C_{IV2} , 5 à 8 C_{IV3} , 4 à 10 C_{IV4} , 2 C_{IV5} .

$C_V = 0$ ou 1 C_{V1} , 0 ou 1 C_{V2} , 0 ou 1 C_{V3} , 1 ou 2 C_{V4} .

Nous n'avons pas retenu la distinction entre papilles buccales C et papilles du stylet St créée par Richard (1971) puisque toutes les papilles céphaliques peuvent s'inscrire sur cinq cercles concentriques autour de l'ouverture buccale qui est ventrale. A l'exception du cycle C_I qui est très stable, des variations numériques des papilles altérant la symétrie bilatérale sont nombreuses. Toutefois, nous observons un phénomène de compensation qui fait qu'un déficit sur un hémicorps s'accompagne le plus souvent d'un excédent sur l'autre hémicorps. Il en résulte que le nombre total des papilles céphaliques varie dans une faible mesure : 106 à 117.

— *Région corporelle* (fig. 3, A, B, C, D).

La disposition des papilles selon 6 axes longitudinaux est altérée. Les papilles des axes dorsaux sont en effet déportées latéralement. Les papilles dorsales sont en nombre réduit.

• Papilles ventrales et dorsales, par hémicorps :

$A_I = 1 A_{IV}$, 1 ou 2 A_{ID} .

$A_{II} = 1$ ou 2 A_{IIV} , 1 ou 2 A_{IID} .

$A_{III} = 1 A_{IIIV}$.

$A_{IV} = 1 A_{IIV}$.

$M = 0$ ou 1 MD .

$P_{III} = 1 P_{IIV}$.

• Papilles latérales : par hémicorps : 7 à 12 papilles latérales sont comprises entre les niveaux A_I et A_{IV} .

— *Acétabulum*. Il est dépourvu de récepteur sensoriel.

— *Queue* (fig. 4, A, B, C).

La queue porte au total quatre rangées de papilles dont le nombre peut présenter des variations importantes : deux rangées ventrales comprenant 17 à 26 paires de papilles (UV) et deux rangées latérales constituées de 13 à 27 paires de papilles (UL) ; le nitrate imprègne également les pores excréteurs (PE).

Fig. 2. Cercaire. Chétotaxie de la région céphalique, A, B, C : vues ventrales ; D : souche malgache, d'après Richard (1971).

Fig. 3. Cercaire. Chétotaxie corporelle. A et B : vues ventrales ; C et D : vues dorsales.

Modalités d'enkystement des cercaires — La métacercaire.

Dans l'heure ou les deux heures qui suivent leur émission, les cercaires s'enkystent sur différents supports : parois du récipient, végétation, feuilles de salade, coquilles de mollusques. Une proportion importante, puisqu'elle atteint le quart des cercaires, s'enkyste également à la surface de l'eau (*fig. 5, A*).

Le kyste est constitué par une double enveloppe (*fig. 5, B*) : une enveloppe externe brune relativement opaque et une enveloppe interne incolore transparente. Toutefois, nous avons remarqué qu'un petit nombre de métacercaires sont dépourvues de kyste externe (*fig. 5, C*).

Cycle chez l'hôte définitif.

Deux moutons sains élevés au Centre de recherches de l'I.N.R.A. à Nouzilly (Indre-et-Loire) ont été infestés le même jour avec des métacercaires conservées au laboratoire à 13 °C pendant environ 2 mois et demi.

Fig. 4. Cercaire. Chétotaxie de la queue. A et B : vues ventrales ; C : vue de profil.

Le mouton A a ingéré 60 métacercaires pourvues des deux kystes, le mouton B, 50 métacercaires ne possédant naturellement que le seul kyste interne. Les deux moutons ont été abattus à la même date, soit 117 jours après infestation. Dans le foie du mouton A, 50 vers adultes ont été recueillis, soit un rendement de 88,33 %, le foie du mouton B hébergeait 24 douves adultes, soit un rendement de 48 %.

Discussion

1. Morphologie.

— *Le miracidium.*

Le nombre et la disposition générale des cellules ciliées correspondent à ce qui a été décrit chez le miracidium de *Fasciola nyanzae* par Dinnik et Dinnik (1961) et de *F. hepatica* (Coe, 1896 ; Mattes, 1949 ; Dawes, 1960 ; Southgate, 1970 ; Kjøie et coll.,

Fig. 5. A : Métacercaires enkystées à la surface de l'eau $\times 70$; B : métacercaire pourvue du kyste interne et du kyste externe $\times 150$; C : métacercaire dépourvue du kyste externe $\times 150$.

1976). Cependant, chez cette dernière espèce, selon Coe, la cellule médio-ventrale du deuxième étage est plus longue que les autres et pour Kjøie et coll., elle s'insère entre les cellules du troisième étage. Cette disposition correspond à ce que nous avons observé chez un petit nombre seulement de miracidiums de *F. gigantea*.

Si nous comparons la disposition des organites argyrophiles superficiels avec celle du miracidium de *F. hepatica*, nous remarquons qu'elle est identique au niveau de la ceinture antérieure (Coe, 1896 ; Wilson, 1970 ; Kjøie et coll., 1976). Par contre, en ce qui concerne le térébratorium, nos résultats sont nettement différents de ceux obtenus par ces auteurs. Une telle différence est sans aucun doute liée aux techniques utilisées puisque nous retrouvons exactement, chez le miracidium de *F. hepatica* (travail en préparation), la même disposition des formations argyrophiles superficielles que chez celui de *F. gigantea*.

— *La cercaire.*

La comparaison de la chétotaxie de la cercaire de *F. gigantea*, souche sénégalaise, émise par *Lymnaea natalensis* avec celle de la cercaire de *F. gigantea*, souche malgache, émise par *L. hovarum* * étudiée par Richard (1971) ne montre guère de différences, compte tenu de la modification de la nomenclature des papilles céphaliques. La figure F, pl. 32, de Richard à laquelle nous avons appliqué notre dénomination des papilles (fig. 2, D) montre que la disposition des papilles céphaliques est identique. La disposition des papilles corporelles ressemble également à celle décrite par Richard. Toutefois, deux différences ont été observées chez les cercaires du Sénégal : la position plus latérale des papilles MD et l'existence de papilles P_{III}V. Cependant de telles différences nous paraissent minimes et nous pensons que les deux cercaires considérées sont les formes larvaires d'un même parasite : *F. gigantea*. Par contre, la chétotaxie de ces cercaires est différente de celle de *F. hepatica* (travail en préparation).

2. Biologie.

— *Emission des cercaires.*

L'émission des cercaires uniquement à l'obscurité confirme les observations de Kwo Eh Hoa et coll. (1970) (cercaires émises par *Lymnaea rubiginosa*, en Malaisie Occidentale). Elle est en contradiction avec celles de Daynes (1967) (cercaires émises par *L. hovarum* à Madagascar) et d'Azimov et Dadaev (1977) (cercaires émises par *L. auricularia* en Uzbekistan, U.R.S.S.). Pour ces auteurs, en effet, l'émission cercaire ne se produit qu'à la lumière solaire.

* D'après Mandhal-Barth (in Daynes, 1967), *L. hovarum* n'est qu'une variété écologique de *L. natalensis*.

— La métacercaire. Modalités d'enkystement des cercaires.

La présence d'un kyste externe et d'un kyste interne chez la métacercaire observée par de nombreux auteurs chez *F. hepatica*, l'a été chez *F. gigantica*, par Alicata (1938) et Thapar et Tandon (1952). Toutefois, l'existence de métacercaires pourvues naturellement du seul kyste interne n'a jamais été signalée, à notre connaissance.

Si l'on se réfère à notre expérience d'infestation de moutons, la différence de rendement observée pourrait être en relation avec l'absence ou la présence de kyste externe, celui-ci assurant une meilleure protection de la métacercaire jusqu'à son lieu de dékystement. Toutefois, une telle supposition demande à être vérifiée car elle est basée sur une expérience unique et de nombreux facteurs sont susceptibles d'intervenir dans le développement du parasite chez son hôte définitif. La même expérience montre également que les métacercaires conservées dans l'eau à une température de 13 °C sont encore infestantes après une période de temps relativement longue : 2 mois et demi, et que leur pouvoir infestant demeure alors très élevé puisqu'il permet d'obtenir un rendement important : 83,33 %.

Comme nous l'avons vu, les cercaires s'enkystent non seulement sur des supports divers, mais également à la surface de l'eau. Ce fait observé par Domontovitch (1915), Sinitsin (1915) et Krull (1941) (1) chez *F. hepatica* n'a à notre connaissance été signalé chez *F. gigantica* que par Alicata (1953) et Hammond (1974). Toutefois, si ces auteurs considèrent que la consommation de l'eau ainsi contaminée est une cause possible d'infestation humaine, ils ne précisent pas l'amplitude du phénomène. Or, le grand nombre de « métacercaires flottantes » que nous avons observées permet de penser que ce mode d'infestation doit, en réalité, jouer tant pour l'animal que pour l'homme un rôle important, d'autant plus que les métacercaires dont la dissémination est ainsi assurée peuvent demeurer infestantes pendant plusieurs mois.

Le diagnostic d'une fasciolose chez l'homme dans des régions où le plus souvent les techniques immunologiques ne sont pas utilisées est très difficile à établir. Il est en effet vraisemblable que dans la plupart des cas *F. gigantica* n'émet pas d'œufs. La possibilité de flottaison d'une quantité importante de métacercaires (25 % dans nos expériences) suggère que la distomatose à *F. gigantica* peut constituer une parasitose humaine dont l'importance est sous-estimée.

Bibliographie

- Alicata J. E. : Observations on the life history of *Fasciola gigantica*, the common liver fluke of cattle in Hawaii, and the intermediate host *Fossaria ollula*. *Bull. Hawaii. Agric. Exper. Stat.*, 1938, 80, 1-22.
- Alicata J. E. : Human fascioliasis in the Hawaiian Islands. *Hawaii Med. J.*, 1953, 12, 196-201.
- Azimov D. A., Dadaev S. : Circadian rhythm in the shedding of cercariae (en russe). *Doklady Akad. Nauk. Uzbekskoi SSR*, 1977, 5, 67-68.

(1) Selon cet auteur, un très petit nombre de cercaires : 2,04 %, s'enkystent à la surface de l'eau.

- Cœ W.R. : Notizen über den Bau des Embryos von *Distomum hepaticum*. Zool. Jb. Abt. Ant. u. Ontog., 1896, 9, 561-570.
- Combes C., Bayssade-Dufour Ch., Cassone J. : Sur l'imprégnation et le montage des cercaires pour l'étude chétotaxique. Ann. Parasitol. Hum. Comp., 1976, 51, 399-400.
- Dawes B. : A study of the miracidium of *Fasciola hepatica* and an account of the mode of penetration of the sporocyst into *Limnaea truncatula*. Libro Homenaje al Dr Eduardo Caballero y Caballero. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, 1960, 95-111.
- Daynes P. : La Distomatose à Madagascar. Cycle de *Fasciola gigantica*. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays. trop., 1967, 20, 557-562.
- Dinnik J.A., Dinnik N.N. : Observations on the succession of redial generations of *Fasciola gigantica* Cobbold, in a snail host. Z. Tropenmed. parasit., 1956, 7, 397-419.
- Dinnik J.A., Dinnik N.N. : On the morphology and life history of *Fasciola nyanzae* Leiper, 1910 from the Hippopotamus. J. Helminth. R.T. Leiper Supt., 1961, 53-62.
- Domontovitch M.K. : Experiments and observations on the encystment of cercariae (en russe). Priloz. K. n° 14. Doklady Gub. Zems. upr., 1915, 24-34.
- Hammond J.A. : Human infection with the liver fluke *Fasciola gigantica*. Tr. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1974, 63, 253-254.
- Kjøie M., Christensen N.O., Nansen P. : Stereoscan Studies of Eggs, Free-swimming and Penetrating Miracidia and early Sporocysts of *Fasciola hepatica*. Z. Parasitenk., 1976, 51, 79-90.
- Krull W.H. : The number of cercariae of *Fasciola hepatica* developing in snails infected with single miracidium. Proc. Helminth. Soc. Washington, 1941, 8, 55-58.
- Kwo Eh Hoa, Lie Kian Joe, Ow-Yang C.K. : Note on the life history of *Fasciola gigantica* (Cobbold, 1855) in West Malaysia. Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Health, 1970, 1, 300.
- Lynch J.E. : The miracidium of *Heronimus chelydrae* Mac Callum. Qu. J. Microsc. Sci., 1933, 76, 13-33.
- Mattes O. : Wirtsfindung, invasionsvorgang und wirtsspezifität beim *Fasciola*-miracidium. Z. Parasitenk., 1949, 14, 320-363.
- Richard J. : La chétotaxie des cercaires. Valeur systématique et phylétique. Mém. Mus. Nat. Hist. Nat., sér. A, Zool., 1971, 67, 179 p.
- Sinitsin D.F. : Liver fluke in the district of Moscow (en russe). Priloz. K. n° 14. Doklady Gub. Zems. upr., 1915, 42 p.
- Southgate V.R. : Observations on the epidermis of the miracidium and on the formation tegument of the sporocyst of *Fasciola hepatica*. Parasitology, 1970, 61, 177-190.
- Thapar G.S., Tandon R.S. : On the life history of liver-fluke *Fasciola gigantica* Cobbold, 1855 in India. Ind. J. Helminth., 1952, 4, 1-36.
- Wilson R.A. : Fine structure of the nervous system and specialized nerve endings in the miracidium of *Fasciola hepatica*. Parasitology, 1970, 60, 399-410.
-