L'INFESTATION DE *LYMNAEA GLABRA* MULLER PAR *FASCIOLA HEPATICA* L.

I — Étude des lésions de la glande digestive et du rein chez de jeunes mollusques¹

D. BOUIX-BUSSON*/**, D. RONDELAUD*/***, D. BARTHE*

RÉSUMÉ. De jeunes *L. glabra* ont été soumises à une infestation monomiracidienne individuelle, élevées à 23° C pendant 49 jours après l'exposition et sacrifiées régulièrement toutes les semaines pour études histologiques.

Trois catégories d'individus ont été reconnues parmi les survivants avec (1) les limnées avec des parthenitae en vie, (2) les mollusques à infestation abortive et (3) les individus non infestés. Les deux premières catégories développent une pathologie tissulaire au niveau de leurs organes. Chez les individus non infestés, les viscères ont une structure normale comme ceux des témoins de même âge.

La glande digestive et le rein des *L. glabra* à infestation évolutive présentent une nécrose de leurs cellules épithéliales à partir du 7^e jour post-exposition ; celle-ci persiste encore dans certaines glandes digestives au 42^e jour, dans certains reins au 49^e jour. Une reconstitution avec hyperplasie épithéliale se développe progressivement à partir du 35^e jour post-exposition.

La structure de la glande digestive ou du rein peut être normale chez un certain nombre de mollusques à infestation abortive. Les autres limnées ont des organes avec des lésions tissulaires de même type que celles observées chez les limnées à infestation évolutive. La reconstitution épithéliale est par contre plus précoce et s'observe à partir du 28^e jour post-exposition.

La signification de ces résultats est discutée.

The infection of *Lymnaea glabra* Müller by *Fasciola hepatica* L. I — Comparison of the pathology produced in the digestive gland and in the kidney of young snails

SUMMARY. Very young *L. glabra* were individually exposed to a single miracidium of *F. hepatica*. They were bred at 23° C during 49 days after exposure and samples killed every week for histological studies.

The surviving snails can be set into three categories : (1) snails with living parthenitae, (2) snails

1. Ces résultats ont été présentés dans le cadre d'une thèse de Doctorat de Spécialité en Écologie (Bouix-Busson, 1983).

* Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, 2 rue du Docteur Raymond-Marcland, F 87025 Limoges Cedex.

** Laboratoire d'Écologie et de Biologie Générales, U.E.R. des Sciences Exactes et Naturelles, 123 avenue Albert-Thomas, F 87060 Limoges Cedex.

*** Laboratoire de Biologie expérimentale, Équipe de Malacologie Appliquée, U.E.R. des Sciences Exactes et Naturelles, 123 avenue Albert-Thomas, F 87060 Limoges Cedex.

Accepté le 11 octobre 1984.

with an abortive infection and (3) uninfected ones. Cellular lesions occurred in organs of the first two categories while these organs were normal in uninfected snails and in controls.

The digestive gland and the kidney of *L. glabra* having living parthenitae showed a necrosis of their epithelial cells on day 7 postexposure ; this necrosis was still present in some digestive glands at day 42, in some kidneys at day 49. It was followed by a progressive reconstitution with epithelial hyperplasia.

Some snails having an abortive infection showed a normal digestive gland and/or a normal kidney. Other snails showed lesions similar to those observed in snails with living parthenitae. Epithelial reconstitution began earlier, at day 28 postexposure.

The significance of these observations is discussed.

Introduction

Le développement des parthenitae de *Fasciola hepatica* entraîne l'apparition de lésions au niveau des viscères du mollusque hôte. Chez la limnée tronquée (*Lymnaea truncatula*), il apparaît une nécrose cellulaire et tissulaire suivie parfois d'une atrophie de l'organe ; par la suite s'opère une reconstitution de l'organe avec hyperplasie épithéliale et reprise de l'activité fonctionnelle. Cette séquence a été retrouvée au niveau de quatre organes de *L. truncatula* : la glande de l'albumine, la glande digestive, la gonade et le rein (Rondelaud et Barthe, 1978, 1980, 1983).

Le problème se pose de savoir si la pathologie tissulaire décrite chez les *L. truncatula* adultes (1) se retrouve chez les jeunes lorsqu'ils sont exposés aux miracidiums dès leur naissance et (2) se développe de manière identique chez les autres espèces de limnées. Pour répondre à ces deux questions, nous avons réalisé une expérience en soumettant les nouveau-nés d'une autre espèce de limnée, *L. glabra*, à l'infestation fasciolienne. Le travail présent regroupe les résultats de cette expérimentation.

Cette note traite des lésions que les jeunes *L. glabra* infestées présentent au niveau de leur glande digestive et de leur rein. Les lésions des deux glandes génitales seront décrites dans une note ultérieure.

Matériel et méthodes

1 - Matériel animal

Toutes les limnées utilisées au cours de cette expérimentation proviennent d'un élevage maintenu au laboratoire depuis trois ans.

2 550 *L. glabra* de 0,5 mm de hauteur (entre 1 et 24 heures de vie) ont été exposées chacune à un seul miracidium de *F. hepatica* et élevées par la suite à la température de 23° C pendant 49 jours. Des prélèvements de 200 mollusques chacun ont été réalisés au hasard parmi les survivants. Le sacrifice de ces individus s'est déroulé aux dates suivantes : 4, 7, 14, 21, 28, 35, 42 et 49 jours après l'exposition.

Des témoins, non exposés aux miracidiums, ont également été sacrifiés à raison

de 20 individus pour chacune des dates précitées. Un neuvième groupe de témoins a été sacrifié au départ de l'expérience (jour J).

Le *tableau I* récapitule le nombre de témoins et de limnées exposées aux miracidiums pour les diverses dates de sacrifice.

2 - Les techniques

La méthodologie utilisée a déjà été décrite dans une note antérieure (Busson et coll., 1982). Elle est résumée ci-dessous.

A — *Technique d'élevage des jeunes*

Les jeunes sont élevés dans des cuvettes de 0,12 m² de surface. Chaque récipient reçoit 50 jeunes et contient un sédiment calcaro-marneux (argile de décalcification) disposé en couche mince et uniforme sur le fond. Une couche d'eau de 3,5 cm d'épaisseur recouvre le sédiment. Les cuvettes sont maintenues en salle climatisée à 23° C avec une oxygénation permanente et un éclairage artificiel (intensité de 3 000 lux au niveau de la surface de l'eau, photophase de 12 heures diurnes). Les limnées sont nourries régulièrement avec de la salade en lyse.

B — *Technique d'exposition aux miracidiums*

Les œufs de *F. hepatica* proviennent de la bile de bovins avec une infestation fasciolienne importante. Ils sont tamisés, lavés et mis en incubation dans la dernière eau de lavage à 23° C pendant 15 jours à l'obscurité totale selon les données d'Olle-
renshaw (1971).

Chaque limnée est mise en présence d'un seul miracidium dans une boîte de Pétri de 25 mm de diamètre avec 2 ml d'eau. La durée de l'exposition est de 4 heures.

C — *Technique histologique*

Les limnées sont fixées dans du Bouin avec destruction immédiate de la coquille. Elles sont ensuite débitées en coupes sériées de 5 µm d'épaisseur et colorées par l'hématoxyline de Harris-trichrome de Gabe modifié.

3 - Les paramètres utilisés

Quatre paramètres ont été retenus pour la glande digestive : (1) le nombre de tubules situés à la périphérie de l'organe ; (2) leur diamètre ; (3) la hauteur de leur épithélium et (4) le nombre de cellules présentes sur une longueur d'épithélium de 0,1 mm. L'extrémité distale des tubules périphériques présente un groupement de cellules à calcium : aussi le décompte de ces groupements cellulaires terminaux permet-il celui des tubules périphériques de la glande. Pour chacun des trois autres paramètres, nous avons procédé à 20 mesures au moins par glande. Les valeurs obtenues sont par la suite ramenées à une moyenne.

Cinq paramètres ont été étudiés au niveau du rein : (1) la plus grande largeur du rein dans sa partie postérieure, juste au-dessous du canal réno-péricardique ; (2) la longueur des lamelles rénales ; (3) la hauteur des cellules épithéliales consti-

tuant ces lamelles ; (4) le nombre de cellules présentes sur une longueur d'épithélium de 0,1 mm et (5) la largeur de l'axe central des lamelles. Vingt mesures au moins par rein ont été réalisées pour chacun des quatre derniers paramètres et les valeurs ramenées ensuite à une moyenne.

Résultats

L'examen histologique permet de reconnaître trois catégories de limnées parmi les survivants des séries exposées aux miracidiums (*tableau I*) :

— Les limnées à infestation évolutive montrent la présence de parthenitae en vie (sporocystes, rédies, cercaires). Les organes internes de ces mollusques présentent en plus des lésions internes caractéristiques.

Le nombre de ces limnées est en moyenne de 16,7 unités par prélèvement (soit 8,3 %).

— Les individus à infestation abortive présentent parfois des sporocystes en dégénérescence. Leurs organes ont parfois une structure normale, mais le plus souvent ils présentent une pathologie lésionnelle d'intensité variable selon l'organe en cause. La présence de tunnels de 30 à 40 μm de diamètre dans le pied et le manteau est caractéristique (Bouix-Busson et coll., 1984).

TABLEAU I. — Les séries expérimentales et témoins.
Leurs caractéristiques numériques.

Nombre de limnées		Intervalle de temps entre le début de l'expérience et le sacrifice (en jours)								
		0	4	7	14	21	28	35	42	49
Limnées exposées aux miracidiums	survivantes	—	200	200	200	200	200	200	200	200
	à infestation évolutive	—	19	23	14	24	10	18	11	15
	à infestation abortive	—	83	113	145	110	140	114	146	132
	non infestées	—	98	64	41	66	50	68	43	53
	Témoins	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Chaque prélèvement montre en moyenne la présence de 123 individus de ce type, soit 61,5 %.

— D'autres individus ne montrent pas la présence de formes larvaires et leurs organes ont toujours une structure normale. Ces mollusques forment le groupe des « limnées non infestées ». Leur nombre est en moyenne de 60,3 individus par prélèvement, soit 30,1 %.

Nos observations portent donc sur ces trois catégories de limnées et sur les témoins.

1 - La glande digestive

Nous avons présenté sur la *figure 1* les valeurs des quatre paramètres pour la glande digestive de *L. glabra*.

A — Les témoins

Les mollusques sacrifiés au jour J présentent une glande avec un faible nombre de tubules : 4,5 en moyenne (*fig. 1 A*). L'augmentation de leur nombre est lente jusqu'au 21^e jour de vie (avec 8,9 tubules en moyenne à cette date) ; elle est plus rapide vers la fin de l'expérience avec 45,2 tubules au 49^e jour.

Le diamètre de ces tubules (*fig. 1 B*) n'est que de 170 μm en moyenne au jour J. Il s'accroît régulièrement jusqu'au 35^e jour d'expérience pour atteindre une valeur moyenne de 238,7 μm . La croissance est par contre pratiquement nulle du 35^e au 49^e jour d'expérimentation.

L'épithélium tubulaire possède un nombre moyen de 20,2 cellules sur une longueur de 0,1 mm au jour J. Cette valeur reste constante tout au long de l'expérimentation (*fig. 1 C*).

Cet épithélium présente une hauteur moyenne de 28,1 μm au jour J. On assiste à une augmentation de cette hauteur jusqu'au 49^e jour de vie avec une valeur moyenne de 52,1 μm à cette date (*fig. 1 D*).

B — Les limnées non infestées

L'évolution des paramètres est identique à celle déjà décrite chez les témoins. Au 49^e jour d'expérimentation, la glande comprend en moyenne 35,2 tubules périphériques (*fig. 1 A*) avec un diamètre de 218,5 μm (*fig. 1 B*). L'épithélium tubulaire comprend en moyenne 20 cellules (pour une longueur de 0,1 mm : *fig. 1 C*) mesurant 50,4 μm de hauteur (*fig. 1 D*).

C — Les limnées à infestation évolutive

Chez ces mollusques, le nombre moyen de tubules périphériques (*fig. 1 A*) et leur diamètre (*fig. 1 B*) subissent une croissance régulière, mais plus lente que chez les témoins. Au 49^e jour post-exposition, les tubules sont quatre fois moins nombreux (11,2 contre 45,2) et leur diamètre moyen est plus faible (208,9 μm).

Les cellules épithéliales présentent une évolution en deux phases successives. La première phase est marquée par le développement d'une nécrose cellulaire, la seconde par l'apparition d'une reconstitution avec hyperplasie cellulaire et reprise de l'activité fonctionnelle :

1) Tous les mollusques présentent la première phase entre le jour J et le 28^e jour d'expérience.

Des cellules en nécrose s'observent parmi les éléments épithéliaux à partir du 7^e jour post-exposition : cette nécrose est particulièrement nette au niveau des cellules à calcium. Des paquets polygranulaires provenant des autres types cellulaires sont présents dans la lumière des tubules au 28^e jour post-exposition et diminuent par la suite en nombre (*planche I, 1*).

Le nombre des cellules épithéliales reste constant au cours de cette phase (*fig. 1 C*). Mais elles présentent au 28^e jour un aplatissement, la hauteur moyenne étant de 35,7 μm au 21^e jour et de 21,7 μm au 28^e jour (*fig. 1 D*).

2) La reconstitution épithéliale ne touche les tubules digestifs que progressivement si bien que des cellules en nécrose peuvent s'observer encore au 42^e jour à côté de tubules reconstitués. Cette reconstitution touche un nombre croissant d'individus : 44 % au 35^e jour, plus de 80 % au 42^e jour et 100 % au 49^e jour (résultats non représentés).

Le nombre de cellules épithéliales s'accroît progressivement au cours de cette phase pour atteindre la valeur moyenne de 29,1 cellules sur 0,1 mm d'épithélium au 49^e jour de vie (*fig. 1 C*). La hauteur moyenne de ces cellules s'accroît progressivement jusqu'à la valeur de 42,3 μm au 49^e jour (*fig. 1 D*).

Cette hyperplasie touche aussi bien les cellules à calcium que les autres cellules digestives. Les cellules à calcium montrent une anisocaryose avec des dimensions nucléaires pouvant atteindre 22 μm (*planche I, 2*).

Seuls les mollusques avec une taille égale ou supérieure à 3 mm lors de la date du sacrifice ont montré une glande digestive totalement reconstituée (résultats non représentés).

D — *Les limnées à infestation abortive*

Les glandes digestives de ces mollusques ont une structure variable au cours d'une infestation involutive.

Les glandes peuvent avoir une structure normale, malgré la présence de lésions sur les autres organes des mollusques. Le nombre d'individus avec des glandes normales diminue cependant au cours de l'expérience (de 100 % au 4^e jour post-exposition à 8,3 % au 49^e jour : résultats non représentés).

Les glandes des autres mollusques présentent des altérations. Ainsi le nombre de tubules périphériques (*fig. 1 A*) et leur diamètre moyen (*fig. 1 B*) présentent une croissance lente jusqu'à la fin de l'expérience. Les valeurs observées sont sensiblement identiques à celles des limnées à infestation évolutive.

Les modifications structurales des cellules épithéliales sont de même identiques à celles que nous avons déjà indiquées chez les limnées avec une infestation évolutive aussi bien dans les dates d'apparition des lésions que dans les valeurs atteintes par les paramètres :

— une nécrose cellulaire apparaît à partir du 7^e jour post-exposition et s'observe encore au 49^e jour. Cette nécrose touche un nombre croissant d'individus : de 16,8 % au 7^e jour à 55,2 % au 49^e jour. Elle s'observe dans toutes les séries expérimentales, quelle que soit la hauteur de la coquille du mollusque lors de la date du sacrifice (résultats non représentés) ;

— une reconstitution avec hyperplasie épithéliale apparaît à partir du 28^e jour et touche en moyenne 34,8 % des individus au 49^e jour. Seules les limnées présentant une hauteur de coquille égale ou supérieure à 3 mm lors de la date du sacrifice ont montré une glande totalement reconstituée (résultats non représentés).

FIG. 1. — La glande digestive de *L. glabra* : (a) Le nombre des tubules (A); (b) Le diamètre des tubules (B); (c) Le nombre des cellules pour une longueur d'épithélium de 0,1 mm (C); (d) La hauteur de cet épithélium (D). Seules les valeurs moyennes sont indiquées. Limnées à infestation abortive (IA) ou évolutive (IE). Individus non infestés (NI) et témoins (T). La flèche indique la date où apparaît l'anisocaryose au niveau des cellules à calcium hyperplasiées.

2 - Le rein

Sur la *figure 2*, sont indiquées les valeurs moyennes obtenues lors de la mesure de quatre paramètres (précités). Les largeurs de l'axe central des lamelles rénales n'ont pas été représentées sur cette figure.

A — Les témoins

Le rein se présente sous la forme d'un sac étiré dans le sens antéro-postérieur, placé contre la face interne du péricarde.

Ses dimensions ne varient guère jusqu'au 14^e jour de vie à partir duquel on note un accroissement rapide jusqu'au 49^e jour. La largeur moyenne est ainsi de 223 μm au 14^e jour de vie et de 667 μm au 49^e jour (*fig. 2 A*).

Les lamelles rénales s'observent nettement chez les animaux au 4^e jour de vie. L'évolution de leur longueur suit celle de l'organe avec une augmentation rapide à partir du 14^e jour (*fig. 2 B*). Au 49^e jour de vie, cette longueur est de 90 μm en moyenne.

Ces lamelles sont constituées par un axe réduit avec quelques « fibroblastes », recouvert par une assise de cellules épithéliales possédant un noyau basal arrondi et une vacuole intra-cytoplasmique apicale renfermant une concrétion. Le nombre de cellules épithéliales reste constant chez tous les individus (16,1 cellules en moyenne pour une longueur d'épithélium de 0,1 mm au 49^e jour de vie : *fig. 2 C*). Leur hauteur par contre s'accroît jusqu'au 21^e jour de vie et reste par la suite constante avec une valeur moyenne de 15,4-15,9 μm (*fig. 2 D*).

B — Les individus non infestés

Chez ces mollusques, l'évolution des paramètres est identique à celle des témoins, qu'il s'agisse des dimensions des lamelles rénales ou des caractéristiques de leurs cellules épithéliales.

C — Les limnées à infestation évolutive

Les dimensions du rein (*fig. 2 A*) et la longueur des lamelles (*fig. 2 B*) s'accroissent très lentement et de manière régulière jusqu'à la fin de l'expérience. Les valeurs moyennes au 49^e jour de vie sont alors de 431 μm et de 42,2 μm respectivement.

Légende de la Planche I

N° 1 : Tubule de la glande digestive chez une limnée à infestation évolutive sacrifiée au 28^e jour post-exposition. Noter l'expulsion des paquets polygranulaires (flèches) par les cellules digestives autres que les cellules à calcium. Certains paquets sont libres dans la lumière ($\times 435$).

N° 2 : Tubule de la glande digestive chez une limnée à infestation évolutive sacrifiée au 35^e jour post-exposition. Noter l'aspect des cellules à calcium (flèches) après la reconstitution ($\times 435$).

N° 3 : Nodule dans la lumière rénale chez une limnée à infestation évolutive sacrifiée au 35^e jour post-exposition ($\times 435$).

N° 4 : Lamelle rénale hyperplasiée chez une limnée à infestation évolutive sacrifiée au 42^e jour post-exposition ($\times 435$).

PLANCHE I

La structure de l'organe montre par contre des modifications :

1) Du jour J au 28^e jour, le nombre de cellules épithéliales reste constant (*fig. 2 C*). En revanche la hauteur de ces cellules (*fig. 2 D*) croît régulièrement : elle est de 11,5 μm au jour J et de 13,1 μm au 28^e jour. Au cours de cette période, l'axe des lamelles s'épaissit et sa largeur atteint 8,6 μm au 7^e jour, 14,2 μm au 28^e jour (contre 2 μm au maximum pour les témoins aux dates précitées : résultats non représentés).

Des cellules épithéliales expulsent leur concrétion apicale à partir du 7^e jour post-exposition. Le nombre de ces cellules reste faible jusqu'au 21^e jour post-exposition (de 1 à 4 %). En revanche au 28^e jour, le processus touche jusqu'à 15 % des cellules épithéliales selon le mollusque. La lumière rénale ne contient que des concrétions libres et des débris de cellules épithéliales.

2) A partir du 35^e jour post-exposition, le rein présente encore un processus nécrotique, ou bien montre une reconstitution plus ou moins complète avec hyperplasie épithéliale. La proportion des deux aspects varie dans le temps.

• *Cas des reins en nécrose*

En plus des nombreuses concrétions libres dans la lumière rénale, on observe la présence de nodules ovoïdes ou sphériques de 40 à 60 μm de diamètre, constitués par des « fibroblastes » et des cellules épithéliales reconnaissables à leurs concrétions (*planche I, 3*). Le nombre de ces nodules peut être élevé (jusqu'à 8 par rein). Ils correspondraient chacun à la destruction d'une lamelle rénale (Rondelaud et Barthe, 1983).

La destruction des cellules épithéliales entraîne un effondrement de leur hauteur moyenne ; celle-ci passe de 15,6 μm au 28^e jour à 11,6 μm au 35^e jour post-exposition (*fig. 2 D, courbe 1*). Le nombre des cellules reste constant (*fig. 2 C, courbe 1*).

Le nombre de mollusques touchés par ce processus nécrotique est de plus en plus faible : de 94 % environ au 35^e jour à 53 % au 49^e jour (résultats non représentés).

• *Cas des reins en reconstitution*

La lumière rénale ne contient le plus souvent que de rares concrétions libres. Les nodules sont toujours absents.

Le nombre de cellules épithéliales par contre augmente en passant de 16,3 cellules au 28^e jour à 20 cellules en moyenne au 35^e jour (pour une longueur d'épithélium de 0,1 mm : *fig. 2 C, courbe 2*). Il y a donc hyperplasie au niveau de cet épithélium (*planche I, 4*).

La hauteur moyenne de ces cellules hyperplasiées reste constante jusqu'au 49^e jour (*fig. 2 D, courbe 2*).

Cette reconstitution touche un nombre croissant de limnées : 5 % au 35^e jour, 36 % au 42^e jour et plus de 45 % au 49^e jour (résultats non représentés). Dans tous les cas, les limnées ont présenté une hauteur de coquille égale ou supérieure à 3 mm lors de la date du sacrifice (résultats non représentés).

FIG. 2. — Le rein de *L. glabra* : (a) La largeur de l'organe (A) ; (b) La longueur des lamelles rénales (B) ; (c) Le nombre des cellules pour une longueur d'épithélium de 0,1 mm (C) ; (d) La hauteur des cellules épithéliales (D). Seules les valeurs moyennes sont indiquées. Limnées à infestation abortive (IA) ou évolutive (IE). Individus non infestés (NI) et témoins (T). Les chiffres 1 et 2 correspondent aux deux modes d'évolution que présente le rein des limnées infestées.

D — *Les limnées à infestation abortive*

La structure du rein peut être normale, malgré la présence de lésions tissulaires sur les autres viscères du mollusque. Le nombre d'individus avec des reins normaux chute du 4^e au 42^e jour (de 100 % à 0,6 %). Au 49^e jour, il n'y a plus de rein normal parmi les 132 limnées à infestation abortive (résultats non représentés).

Les mesures présentées sur la *figure 2* n'ont porté que sur les reins avec des lésions tissulaires. La largeur de l'organe (*fig. 2 A*) et la longueur des lamelles rénales (*fig. 2 B*) présentent un lent accroissement jusqu'au 28^e jour, les valeurs moyennes étant respectivement de 271 μm et de 33 μm à cette date. Par la suite les animaux sacrifiés montrent une augmentation régulière des valeurs de ces deux paramètres jusqu'à 691 μm et 77 μm respectivement au 49^e jour.

Comme chez les limnées à infestation évolutive, les lamelles rénales subissent, soit un processus de nécrose, soit une reconstitution avec hyperplasie épithéliale. Il y a cependant quelques variations dans les dates d'apparition et dans les valeurs des paramètres :

1) La nécrose des cellules épithéliales débute à partir du 7^e jour ; elle est alors pluri-focale en touchant des cellules disséminées. Les concrétions libres sont peu nombreuses dans la lumière rénale jusqu'au 21^e jour, mais augmentent en nombre à partir du 28^e jour, date où apparaissent les nodules (au lieu du 35^e jour chez les limnées à infestation évolutive). Concrétions et nodules se rencontrent encore chez les mollusques au 49^e jour.

Le nombre des cellules épithéliales reste constant (*fig. 2 C, courbe 1*), mais leur hauteur moyenne diminue en passant de 16,6 μm au 21^e jour à 11,6 μm au 28^e jour (*fig. 2 D, courbe 1*).

Le nombre de mollusques avec des reins de ce type est maximal au 42^e jour post-exposition (soit 80,8 %) ; il diminue par la suite à 60,3 % au 49^e jour (résultats non représentés). Cet aspect s'observe, quelle que soit la hauteur de la coquille lors de la date du sacrifice (résultats non représentés).

2) La reconstitution ne touche qu'un faible nombre de *L. glabra*. Elle s'observe à partir du 28^e jour avec une augmentation du nombre des cellules épithéliales traduisant l'existence d'une hyperplasie cellulaire : de 16,1 cellules au 21^e jour à 20,6 au 28^e jour post-exposition (*fig. 2 C, courbe 2*). Leur hauteur moyenne est de 15,4-15,9 μm (*fig. 2 D, courbe 2*).

Des concrétions libres s'observent en faible nombre dans la lumière rénale jusqu'au 49^e jour post-exposition.

Le nombre de mollusques avec cet aspect rénal augmente régulièrement du 28^e au 49^e jours post-exposition (de 17,8 % à 35,6 % respectivement) (résultats non représentés). Cet aspect n'a été reconnu que chez des mollusques avec une hauteur de coquille égale ou supérieure à 3 mm lors de la date du sacrifice (résultats non représentés).

Discussion

L'examen histologique de jeunes *L. glabra* soumises à l'infestation fasciolienne dès leur naissance et sacrifiées régulièrement jusqu'au 49^e jour post-exposition donne les résultats suivants :

— Trois catégories d'individus ont été reconnues parmi les survivants : (1) les limnées à infestation évolutive, (2) les mollusques avec une infestation abortive et (3) les individus non infestés ;

— Les limnées à infestation évolutive ou abortive développent une pathologie tissulaire au niveau de leurs organes. Les viscères des animaux non infestés ont une structure normale comme celle des témoins de même âge ;

— Chez les limnées à infestation évolutive, la glande digestive et le rein montrent une nécrose cellulaire progressive à partir du 7^e jour post-exposition ; celle-ci persiste encore dans certaines glandes digestives au 42^e jour, dans certains reins au 49^e jour. Une reconstitution épithéliale progressive s'observe à partir du 35^e jour ;

— La structure de la glande digestive ou du rein peut être normale chez certaines limnées à infestation abortive. Les autres mollusques présentent des organes lésés avec une nécrose cellulaire débutant aux mêmes dates que chez les limnées à infestation évolutive. Cette nécrose s'observe encore dans certains organes au 49^e jour. La reconstitution épithéliale est par contre plus précoce et s'observe à partir du 28^e jour pour les deux organes ;

— La reconstitution des organes n'a été observée que chez des limnées mesurant au moins 3 mm de hauteur à la date du sacrifice. La nécrose cellulaire par contre a été retrouvée au niveau des deux organes, quelle que soit la hauteur de la coquille.

Le développement d'une pathologie tissulaire touche les limnées avec des parthenitae en vie comme les individus à infestation abortive. La présence de lésions viscérales chez ces jeunes *L. glabra* avec une infestation évolutive confirme et complète les observations que plusieurs auteurs (Rees, 1931 ; Southgate, 1969 ; Rondelaud et Barthe, 1978, 1980, 1983) ont faites sur des *L. truncatula* adultes. Ce résultat montre :

— que l'infestation fasciolienne du mollusque entraîne l'apparition d'une pathologie tissulaire, quelle que soit la hauteur de la coquille ;

— que cette pathologie se révèle indépendante de l'espèce de la limnée, qu'il s'agisse de *L. glabra* ou de *L. truncatula*.

En revanche l'apparition de lésions chez les mollusques à infestation abortive est un point nouveau dans la connaissance des relations entre le parasite et son mollusque hôte ; de ce fait ce résultat ne peut être comparé avec les données bibliographiques.

Un problème se pose cependant chez ces mollusques. En accord avec Barber (1962), McReath et coll. (1982), les sporocystes en involution disparaissent très vite du corps de la limnée et n'ont été retrouvés que chez quelques mollusques entre les

4^e et 14^e jours post-exposition. Comme les premières lésions surviennent à partir du 7^e jour comme chez les *L. glabra* à infestation évolutive, le parasite en dégénérescence n'aurait qu'un rôle indirect dans l'apparition des lésions et exercerait son action probablement par l'intermédiaire d'une ou de plusieurs substances émises avant ou pendant son involution. Cette hypothèse nécessite une vérification.

La pathologie tissulaire présentée par les jeunes *L. glabra* évolue comme celle qu'ont décrite Rondelaud et Barthe (1978, 1983) chez des *L. truncatula* adultes. Cependant plusieurs résultats nécessitent des commentaires particuliers :

1) La glande digestive et le rein des *L. glabra* à infestation évolutive présentent une nécrose cellulaire à partir du 7^e jour post-exposition ; celle-ci persiste encore dans certains reins au 49^e jour. Une reconstitution épithéliale apparaît à partir du 35^e jour.

Les notes de plusieurs auteurs (Rees, 1931 ; Southgate, 1969 ; Hodasi, 1972) sont muettes sur la durée de ces étapes lésionnelles chez *L. truncatula*. Seuls Rondelaud et Barthe (1978, 1983) fournissent des éléments de comparaison en notant que la nécrose débute dans les deux organes de *L. truncatula* au 14^e jour post-exposition (à 20° C) et qu'elle disparaît au 28^e jour pour le rein, au 42^e jour pour la glande digestive.

Les dates, où débutent la nécrose et la reconstitution, sont donc différentes pour ces deux espèces de limnées. Cette discordance s'explique en partie par la température d'élevage des mollusques au laboratoire, mais aussi par des facteurs liés à l'espèce du mollusque hôte et à l'organe en cause.

2) Le rein de *L. glabra* ne présente qu'une seule phase de destruction et une reconstitution au cours de cette expérimentation. Or le rein de *L. truncatula* montre la présence de plusieurs cycles successifs avec nécrose et reconstitution épithéliales. L'état de nos connaissances ne permet pas à l'heure actuelle d'expliquer cette discordance.

3) Tous les mollusques avec une glande digestive en reconstitution ont présenté une hauteur de coquille égale à 3 mm au moins lors de la date du sacrifice. Il en est de même pour les individus avec un rein en reconstitution. Ces données se révèlent cependant délicates à interpréter en raison de la présence d'individus avec une taille de 3 mm, une glande digestive reconstituée et un rein encore en nécrose. Ce dernier point ne permet pas de formuler une hypothèse satisfaisante pour expliquer cette différence dans l'évolution de la pathologie lésionnelle au niveau de ces deux organes.

BIBLIOGRAPHIE

- BARBER I. W. : The pathology produced in the snail *Lymnaea columella* Say, 1817, by the larval stages of *Fasciola hepatica* L., 1758. Ph. D. Thesis, Berkeley (U.S.A.), 1962, 1-159.
- BOUIX-BUSSON D. : Étude de relations entre un parasite, *Fasciola hepatica* L. et un mollusque hôte, *Lymnaea glabra* Müller. Thèse Doct. Spéc. Écol., Limoges, n° 83-17, 1983, 1-160.
- BOUIX-BUSSON D., RONDELAUD D., BARTHE D. : Les déplacements du sporocyste de *Fasciola hepatica* L. chez *Lymnaea glabra* Müller. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 1984, 2, 103-107.
- BUSSON P., BUSSON D., RONDELAUD D., PESTRE-ALEXANDRE M. : Données expérimentales sur l'infestation des jeunes de cinq espèces de limnées par *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum Comp.*, 1982, 57, 555-563.
- HODASI J. K. M. : The effects of *Fasciola hepatica* on *Lymnaea truncatula*. *Parasitol.*, 1972, 65, 359-369.

- McREATH A. M., READER T. A. J., SOUTHGATE V. R. : The development of the host-response in juvenile *Lymnaea palustris* in invasion by *Fasciola hepatica*. *Z. Parasitenkd.*, 1982, 67, 175-184.
- OLLERENSHAW C. B. : Some observations on the epidemiology of fascioliasis in relation to the timing of molluscicide applications in the control of the disease. *Vet. Rec.*, 1971, 88, 152-164.
- REES F. G. : An investigation into the occurrence, structure and life-history of the trematode parasites of four species of *Lymnaea* (*L. truncatula* (Müll.), *L. pereger* (Müll.), *L. palustris* (Müll.) and *L. stagnalis* (Linné), and *Hydrobia jenkinsi* (Smith) in Glamorgan and Monmouth. *Proc. Gen. Meetings. Zool. Soc. London*, 1931, 1, 1-32.
- RONDELAUD D., BARTHE D. : La reconstitution de l'épithélium digestif chez *Lymnaea* (*Galba*) *truncatula* Müller après infestation par les formes larvaires de *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1978, 53, 255-264.
- RONDELAUD D., BARTHE D. : Données histopathologiques sur l'épithélium génital de *Lymnaea truncatula* Müller infestée par *Fasciola hepatica* L. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1980, 105, 481-490.
- RONDELAUD D., BARTHE D. : Les modifications structurales du rein chez *Lymnaea truncatula* Müller infestée par *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1983, 58, 109-116.
- SOUTHGATE V. R. : Studies on the biology and host-parasite relationships of some larval Digenea. Ph. D. Thesis, Cambridge (Grande-Bretagne), 1969, 1-231.