CHRONOLOGIE DU CYCLE ET ÉTUDE DES PSEUDO-KYSTES D'*HELIGMOSOMOIDES POLYGYRUS POLYGYRUS* (DUJARDIN, 1845) (*TRICHOSTRONGYLINA-HELIGMOSOMOIDEA*) CHEZ *APODEMUS FLAVICOLLIS* EN FRANCE.

COMPARAISON AVEC LES ESPÈCES PROCHES

N'ZOBADILA G.*, BOYER J.*, VUONG P.N.** & DURETTE-DESSET M.C.*

Summary : CHRONOLOGY AND STUDY OF THE PSEUDOCYSTS OF *HELIGMOSOMOIDES POLYGYRUS POLYGYRUS* (DUJARDIN, 1845) (*TRICHOSTRONGYLINA-HELIGMOSOMOIDEA*), A PARASITE OF *APODEMUS FLAVICOLLIS* IN FRANCE. COMPARISON WITH THE RELATED SPECIES

The biology of the three species of Heligmosomidae, common among rodents in France, was studied in their respective natural hosts: *Microtus arvalis* for *Heligmosomoides laevis*, *Apodemus flavicollis* for *Heligmosomoides polygyrus polygyrus* and *Clethrionomys glareolus* for *Heligmosomum mixtum*. The morphogenesis had been studied in a first paper (N'Zobadila *et al.*, 1996). This second paper deals with the chronology of the moults, the migrations in the vertebrate host and the formation of pseudocyst; in the three species, a number of larvae develop in a pseudocyst while the others do not leave the intestinal lumen, but, in both cases, the time required for the development remains similar. The Heligmosomidae have similar biological characteristics but which are more developed than those of the rodent parasites Nippostrongylinae (Heligmonellidae). However, there are some slight biological differences between them, in regard to their degree of morphological specialization. Thus the more primitive the species is, the more frequent is the formation of pseudocysts. The pseudocysts of the Heligmosomidae are interpreted as phenomena representing the genetic baggage of evolution whereas the Nippostrongylinae penetrate through the skin and migration through the lungs is necessary to reach the intestine, the Heligmosomidae, more evolved, penetrate orally and migration through the lungs becomes unnecessary. The facultative maturation of the larvae in a pseudocyst therefore may fulfil the necessity of the larva for somatic migration. Amongst the Trichostrongylidae of ruminants, the same phenomenon can result in a larval diapause, which could represent an adaptation process contributing to the survival of the worms when the environmental conditions, particularly climatic ones, are unfavourable.

KEY WORDS : *Heligmosomoides*, *Heligmosomum*, Nematoda, Trichostrongylina, palearctic region, life cycles.

Résumé :

La biologie des trois espèces d'Heligmosomidae communes chez les Rongeurs en France a été étudiée chez leurs hôtes naturels respectifs : *Microtus arvalis* pour *Heligmosomoides laevis*, *Apodemus flavicollis* pour *Heligmosomoides polygyrus polygyrus* et *Clethrionomys glareolus* pour *Heligmosomum mixtum*. La morphogénèse a été traitée dans un premier article (N'Zobadila *et al.*, 1996). Ce deuxième article traite de la chronologie des mues, des migrations chez l'hôte Vertébré et de la formation des pseudo-kystes. En effet, chez les trois espèces, un certain nombre de larves évolue dans un pseudo-kyste alors que les autres ne quittent pas la lumière intestinale, mais, dans les deux cas, la vitesse d'évolution est la même. Les Heligmosomidae ont des caractères biologiques communs plus évolués que ceux des Nippostrongylinae (Heligmonellidae) qui sont également des parasites de Rongeurs. Cependant les trois espèces présentent entre elles de légères différences biologiques qui correspondent à leur niveau de spécialisation morphologique. La formation des pseudo-kystes, en particulier, est d'autant plus fréquente que l'espèce est plus primitive. Les pseudo-kystes des Heligmosomidae sont interprétés comme un phénomène d'atavisme biologique : alors que les Nippostrongylinae pénètrent par voie cutanée et que la migration pulmonaire est nécessaire pour parvenir à l'intestin, les Heligmosomidae, plus évolués, pénètrent par voie orale et la migration pulmonaire devient inutile. La maturation facultative des larves dans un pseudo-kyste paraît donc répondre à la nécessité du métabolisme intra-tissulaire des larves. Le même phénomène pourrait, chez les Trichostrongylidae de Ruminants, avoir abouti à une diapause larvaire qui constituerait une adaptation contribuant à la survie des Vers chez l'hôte quand les conditions environnementales et particulièrement climatiques sont défavorables.

MOTS CLÉS : *Heligmosomoides*, *Heligmosomum*, Nematoda, Trichostrongylina, zone paléarctique, cycles biologiques.

INTRODUCTION

Les Heligmosomidae, qui appartiennent à la super-famille des Heligmosomoidea, sont des parasites essentiellement de Rongeurs Arvicolidae, répandus dans toute la zone holarctique. Cependant certaines espèces sont connues chez les Muridae,

en particulier *Heligmosomoides polygyrus polygyrus* (Dujardin, 1845), parasite d'*Apodemus* spp. et plus rarement de *Mus musculus* en Europe. Dans cette famille, seulement deux cycles biologiques sont en partie connus : celui d'*Heligmosomoides polygyrus bakeri* Durette-Desset, Kinsella & Forrester, 1972 parasite de *Mus musculus* et de Cricetidae en zone néarctique, étudié par Spurlock en 1943 (sous le nom de *Nematospiroides dubius* Baylis, 1926) et celui d'*Heligmosomoides kurilensis kobayashii*, Asakawa, 1987 parasite d'*Apodemus speciosus* au Japon. Cependant, dès 1931, Elton, Ford, Baker & Gardner mettaient en évidence la présence, chez *Apodemus* en Angleterre, de

* Laboratoire de Biologie parasitaire, Protistologie, Helminthologie associé au CNRS (URA 114), 61, rue de Buffon, 75231 Paris Cedex 05, France.

** Unité d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Saint-Michel, 33, rue Olivier-de-Serres, 75015 Paris.

Correspondance : M.-C. Durette-Desset.

pseudo-kystes contenant des adultes d'*Hs. p. polygyrus*. Ces pseudo-kystes sont aussi présents chez *H. kurilensis kobayashii*. Il nous a paru intéressant de savoir si ces pseudo-kystes étaient caractéristiques du cycle biologique des Heligmosomidae et également de chercher à situer *H. p. polygyrus* systématiquement et biologiquement par rapport aux deux autres espèces d'Heligmosomidae les plus communes en France, *Heligmosomoides laevis* (Dujardin, 1845) et *Heligmosomum mixtum* (Schulz, 1954), toutes deux parasites d'Arvicolidae.

La première partie de ce travail (N'Zobadila, Boyer & Durette-Desset, 1996) a porté sur la morphogénèse des trois espèces étudiées. La chronologie du cycle biologique et l'étude des pseudo-kystes font l'objet de cette deuxième note.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les données concernant les hôtes, les coprocultures, les modes d'infestation, la recherche et la récolte des parasites ont été détaillés dans la première partie du travail (N'Zobadila *et al.*, 1996). Rappelons ici que les cycles biologiques des trois espèces ont été établis chez des hôtes naturels sains, en élevage au Laboratoire : *Apodemus flavicollis* Melchior, 1834 pour le cycle d'*Heligmosomoides polygyrus polygyrus*, *Microtus arvalis* Pallas, 1779 pour le cycle d'*Hs. laevis* et *Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780 pour celui d'*Heligmosomum mixtum*. Les coprocultures sont faites à partir des œufs se trouvant dans les fèces d'animaux infestés naturellement, piégés à Septfontaines (Doubs, France) selon la méthode d'Hubert & Kerboeuf, 1984 pour l'étude des stades libres et celle de Brumpt (1922), modifiée par Durette-Desset & Cassone (1987) pour l'étude des stades parasites. Tous les Rongeurs sont infestés par voie buccale en dose unique avec 150 larves 3 engainées d'*Hs. p. polygyrus* pour les *Apodemus*, 100 larves d'*Hs. laevis* pour les *Microtus* et 100 larves d'*Heligmosomum mixtum* pour les *Clethrionomys*. Pour la détermination de la période prépatente, les fèces de l'hôte infesté sont récoltées sur 24 heures, humidifiées et mélangées. Le mélange est passé sur trois tamis de 250, 100 et 36 µm. Le contenu du dernier tamis est recueilli et centrifugé à 2 000 tours pendant 5 min dans une solution de MgSO₄ de densité 1,2. Le surnageant est observé au microscope pour déceler la présence éventuelle d'œufs. Les stades parasites sont recueillis par autopsie des Rongeurs infestés expérimentalement. Lors de l'autopsie, les différents organes, foie, poumons, cœur, estomac et intestin grêle sont prélevés et dilacérés dans de l'eau physiologique. L'intestin est coupé en quatre parties de longueurs équivalentes (notées Int 1, Int 2, Int 3 et Int 4)

du duodénum jusqu'au cæcum ce qui permet de préciser les éventuels déplacements des Vers durant la période prépatente et leur localisation définitive en période patente. Les résultats obtenus en période patente proviennent d'autopsies de Rongeurs infestés naturellement et piégés dans le Doubs entre 1992 et 1993. Les Vers sont récoltés sous la loupe, comptés et fixés à l'alcool à 70° bouillant dans lequel ils sont conservés.

Symboles utilisés : (L3) = larve du 3^e stade engainée dans la cuticule de la L2; (L4) = larve 4 engainée dans la cuticule de la L3; (Im) = Ver immature ou juvénile, engainé dans la cuticule de la L4 ; Im = Ver immature ou juvénile ; Ad = Adulte.

Hs. p. polygyrus = *Heligmosomoides polygyrus polygyrus*; *Hs. laevis* = *Heligmosomoides laevis*; *Hm. mixtum* = *Heligmosomum mixtum*.

Étude anatomo-pathologique : elle permet d'étudier les interactions tissulaires, de les localiser et d'en déduire la voie de migration empruntée par les Vers; elle est effectuée suivant le protocole d'étude classique : fixation des prélèvements au formol commercial à 10 %, coupes histologiques de 5 µm d'épaisseur, colorées à l'Hématéine-Éosine-Safran (HES) et soumises aux colorations spéciales : Trichome vert lumière (TVL) pour étudier la sclérose, Giemsa pour analyser la composante cellulaire inflammatoire des lésions.

RÉSULTATS

CHRONOLOGIE DU CYCLE

Des différences sensibles existent dans la chronologie d'apparition des stades libres dans les coprocultures. Ces différences sont consignées dans le tableau I.

Après l'infestation, le dégainement a lieu dans l'estomac de l'hôte, aucune larve engainée n'ayant été trouvée dans l'intestin. Les migrations des trois espèces, chez leurs hôtes respectifs, présentent quelques différences.

Heligmosomoides laevis

- Migration chez l'hôte Vertébré (tableau II) : les larves séjournent dans l'estomac au maximum jusqu'à

Stades larvaires	L1	L2	(L3)
<i>Hs. laevis</i>	H12	J3	J4
<i>Hs. p. polygyrus</i>	J2	J4	J6
<i>Hm. mixtum</i>	J1	J2	J3

Tableau I. — Date d'apparition des stades libres à partir des œufs d'*Heligmosomoides laevis*, d'*Heligmosomoides polygyrus polygyrus* et d'*Heligmosomum mixtum* mis en culture sur gel d'agarose dans de l'eau déminéralisée à 22 °C.

Temps après l'infestation	Estomac	Intestin 1		Intestin 2		Intestin 3		Intestin 4	
		Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
H6	18 L3								
H12	12 L3	1 L3	3 L3	4 L3	4 L3	2 L3			
H18		2 L3	3 L3			1 L3			
J1		12 L3	13 L3	9 L3	9 L3				
J2			1 L3	3 L3	3 L3	1 L3	2 L3		
J3				1 L3, 3 L4	5 L4	3 L4	1 L4	1 (L4)	
J4		1 L4	1 L4	21 L4	21 L4	3 L4	2 L4	1 L4	2 L4
J5		1 (lm.)	1 lm.	2 lm.	4 (lm.)	4 (lm.)	2 (lm.)	1 lm.	
J6		1 lm.		12 lm.	22 lm.	4 lm.	2 lm.	4 lm.	1 lm.
J7		4 Ad.	1 Ad.	12 Ad.	22 Ad.	13 Ad.	13 Ad.	5 Ad.	7 Ad.
J8		8 Ad.	15 Ad.	9 Ad.	7 Ad.	1 Ad.	2 Ad.		

Tableau II. — Chronologie d'apparition des larves parasites, des immatures et des adultes d'*Heligmosomoides laevis* dans les différentes parties du tube digestif de *Microtus arvalis*, de H6 à J8 après l'infestation. Chaque expérience est réalisée avec un seul Rongeur.

T. post inf.	N. vers	Int. 1 %	Int. 2 %	Int. 3 %	Int. 4 %
H12	14	12	32	8	
H18	6	84		16	
J1	43	58	42		
J2	10	10	60	30	
J3	14		63	29	8
J4	52	4	80	10	6
J5	15	1	40	40	7
J6	46	2	77	18	3
J7	77	7	47	29	17
J8	42	55	38	7	

T. post inf. : Temps post-infestation; N. vers : Nombre de Vers; Int. : Intestin.

Tableau III. — Répartition longitudinale, exprimée en pourcentage, d'*Heligmosomoides laevis* dans l'intestin de *Microtus arvalis*, de H12 à J8 après l'infestation. L'intestin est divisé en 4 segments équivalents du duodenum au caecum.

H18. A H6, presque la moitié des larves récoltées proviennent de la muqueuse stomacale au niveau du pylore et environ les trois quarts à H12. Dès J3, un certain nombre de larves sont retrouvées dans les pseudo-kystes. La mue 3 débute entre J2 et J3 et est achevée à J4. La mue 4 commence à J5, et à J6 tous les Vers ont mué. Les mues ont lieu simultanément dans la lumière intestinale et dans les pseudo-kystes. La période de maturation s'achève à J7, les adultes provenant des pseudo-kystes commencent à regagner la lumière intestinale où a lieu l'accouplement. Dès J8 on observe des œufs au stade morula dans l'utérus des femelles.

Un examen coprologique des fèces d'un Campagnol, effectué à J8 était négatif alors que l'animal était positif à J12. La période prépatente peut donc être située entre J9 et J12.

• Répartition des parasites dans l'intestin en périodes prépatente et patente : la répartition des Vers en période prépatente est récapitulée dans le tableau III

en fonction de la date d'autopsie après l'infestation. A H12, la moitié des larves passe dans les trois premières parties de l'intestin; le dernier quart n'est atteint qu'à J3 par des (L4).

Pour l'ensemble de la période prépatente, la moitié antérieure du grêle reste la localisation préférentielle avec un pic net en Int. 2 (plus de la moitié des Vers). En période patente, la localisation préférentielle devient l'Int. 1 (tableau. IV). C'est au stade adulte, entre J7 et J8, qu'a lieu la remontée des Vers vers l'Int. 1.

Heligmosomoides polygyrus polygyrus

• Migration chez l'hôte Vertébré (tableau V) : à J1, toutes les larves sont encore dans l'estomac et 82 % d'entre elles se trouvent dans les cryptes de la muqueuse. Ce n'est qu'à J2 que toutes les larves sont passées dans l'intestin. Dès J3, certaines larves pénètrent plus profondément la paroi intestinale et s'enferment dans des pseudo-kystes. La mue 3 débute entre J3 et J4 et s'achève à J5. La mue 4 commence à J5 chez les mâles et à J7 chez les femelles. Les mues ont lieu simultanément dans la lumière intestinale et dans les pseudo-kystes. La maturation des mâles, mise en évidence par la présence de sperme dans la vésicule séminale se termine à J7, celle des femelles, pourvue d'ovules, à J8. Les adultes se trouvant dans les pseudo-kystes commencent à regagner la lumière intestinale où a lieu l'accouplement à partir de J9. La période prépatente est de 11 jours.

• Répartition des parasites dans l'intestin en périodes prépatente et patente : la répartition des Vers en période prépatente est récapitulée dans le tableau VI, en fonction de la date d'autopsie après l'infestation. De J2 à J6, les larves sont en grande majorité localisées dans la première moitié de l'intestin. Ce sont les Vers immatures qui, dès leur apparition à J7, gagnent l'Int.3 puis l'Int. 4 à partir de J8. Les Vers restent répartis dans tout l'intestin jusqu'à la fin de la période prépatente

	Nbre de Rongeurs	Nbre de Vers	Intestin 1	Intestin 2	Intestin 3	Intestin 4
Période prépatente	10	319	68 21 %	173 54 %	56 18 %	22 10 %
Période patente	114	568	307 54 %	137 24 %	56 10 %	68 12 %

Nbre de Rongeurs : Nombre de Rongeurs; Nbre de Vers : Nombre de Vers.

Tableau IV. — Répartition longitudinale, exprimée en pourcentage, d'*Heligmosomoides laevis* dans l'intestin de *Microtus arvalis*, en périodes prépatente et patente. En période prépatente, les résultats portent sur 10 Rongeurs infestés expérimentalement entre H12 et J8 et en période patente, sur 114 Rongeurs infestés naturellement.

Temps après l'infestation	Estomac	Intestin 1		Intestin 2		Intestin 3		Intestin 4	
		Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
J1	52 L3								
J2		18 L3	7 L3	13 L3	3 L3				
J3		3 L3, 2 (L4)	2 L3, 3 (L4)	1 (L4)	3 L3		2 (L4)		
J4		1 (L4), 9 L4	2 (L4), 16 L4	8 L4	3 (L4), 8 L4				
J5		13 (lm.), 25 lm.	50 L4	1 lm.	2 L4				
J6		3 (lm.), 35 lm.	1 L4, 55 (lm.)	1 L4, 2 (lm.), 13 lm.	1 L4, 13 (lm.)				
J7		1 (lm.), 19 Ad.	2 L4, 23 lm.	18 Ad.	26 lm.	2 lm., 1 Ad.	1 lm.		
J8		31 Ad.	37 Ad.	1 (lm.), 9 Ad.	1 L4, 1 Ad.	5 Ad.	1 (lm.), 6 Ad.	3 Ad.	1 Ad.
J9		3 Ad.	3 Ad.	13 Ad.	17 Ad.	4 Ad.	7 Ad.	1 Ad.	3 Ad.
J10		8 Ad.	29 Ad.	3 Ad.	10 Ad.	22 Ad.	25 Ad.	8 Ad.	11 Ad.
J11		7 Ad.	1 L4, 14 Ad.	1 L4, 27 Ad.	22 Ad.	10 Ad.	13 Ad.	26 Ad.	21 Ad.

Tableau V. — Chronologie d'apparition des larves parasites, des immatures et des adultes d'*Heligmosomoides polygyrus polygyrus* dans les différentes parties du tube digestif d'*Apodemus flavicollis* de J1 à J11 après l'infestation. Chaque expérience est réalisée avec un seul Rongeur.

T. post inf.	N. vers	Int. 1 %	Int. 2 %	Int. 3 %	Int. 4 %
J2	41	61	39		
J3	16	63	25	12	
J4	47	60	40		
J5	91	97	3		
J6	124	76	24		
J7	93	49	47	4	
J8	96	71	12	13	4
J9	51	12	59	21	8
J10	116	32	11	40	17
J11	142	16	35	16	33

Tableau VI. — Répartition longitudinale, exprimée en pourcentage, d'*Heligmosomoides polygyrus polygyrus* dans l'intestin d'*Apodemus flavicollis* de J2 à J11 après l'infestation. L'intestin est divisé en 4 segments équivalents du duodenum au caecum. T. post inf. : Temps post-infestation; N. vers : Nombre de Vers; Int. : intestin.

(tableau VI). Pour l'ensemble de cette période, le nombre total de Vers est décroissant de l'Int. 1 à l'Int. 4. En période patente, il existe un pourcentage équivalent de Vers en Int. 1 et Int. 2 (tableau VII). La remontée des adultes vers la première moitié de l'intestin a donc lieu après la période prépatente.

Heligmosomum mixtum

• Migration chez l'hôte Vertébré (tableau VIII) : la durée du séjour des larves 3 dans l'estomac n'a pu être précisée, aucune expérience n'ayant été réalisée à J1. A J2, toutes les larves sont dans l'intestin. La mue 3 a lieu entre J2 et J3 avant la pénétration dans les pseudo-kystes qui apparaissent à partir de J5. La mue 4 a lieu entre J6 et J7 pour la grande majorité des Vers présents, simultanément dans la lumière intestinale et dans les pseudo-kystes. Les Vers immatures, présents dans les pseudo-kystes regagnent la lumière intestinale à partir de J7. La période de maturation est achevée à J12 mais l'accou-

	Nbre de Rongeurs	Nbre de Vers	Intestin 1	Intestin 2	Intestin 3	Intestin 4
Période prépatente	10	817	423 52 %	221 27 %	99 12 %	74 9 %
Période patente	146	2 184	911 42 %	878 40 %	281 13 %	114 5 %

Nbre de Rongeurs : Nombre de Rongeurs; Nbre de Vers : Nombre de Vers.

Tableau VII. — Répartition longitudinale, exprimée en pourcentage, d'*Heligmosomoides polygyrus polygyrus* dans l'intestin d'*Apodemus flavicollis* en périodes prépatente et patente. En période prépatente, les résultats portent sur 10 Rongeurs infestés expérimentalement entre J2 et J11 et en période patente sur 146 Rongeurs infestés naturellement.

Temps après l'infestation	Intestin 1		Intestin 2		Intestin 3		Intestin 4	
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
J2	1 L3			1 L3				
J3	3 L4	5 L4	3 L4	2 L4	1 L3	2 L3, 1 L4		
J4	2 L4	3 L4	3 L4	2 L4		1 L4		
J5	3 L4	3 L4						
J6	10 (lm.)	9 (lm.)	1 lm.	2 L4, 1 lm.				
J7	13 lm.	9 lm.	5 lm.	6 lm.	1 (lm.)	2 L4, 2 lm.		
J8	1 lm.						1 L4	
J9	3 lm.	3 lm.	1 lm.	1 lm.		3 lm.		
J10	3 lm.	2 lm.	1 lm.	2 lm.	7 lm.	5 lm.		
J11	3 lm.	2 lm.		3 lm.	1 lm.	5 lm.		
J12	5 Ad.	12 Ad.	2 Ad.	1 Ad.			2 Ad.	3 Ad.

Tableau VIII. — Chronologie d'apparition des larves parasites, des immatures et des adultes d'*Heligmosomum mixtum* dans l'intestin de *Clethrionomys glareolus* de J2 à J12 après l'infestation. Chaque expérience est réalisée avec un seul Rongeur.

plement n'a pas été observé. En comparaison avec les cycles précédents, les adultes apparaissant à J12, l'accouplement aurait lieu à partir de cette date et la période prépatente serait de 13 à 14 jours.

- Répartition des parasites dans l'intestin en périodes prépatente et patente : le nombre de parasites récoltés chaque jour étant très faible, les pourcentages présentés ici n'ont qu'une valeur indicative, en particulier pour J2 et J8. A J2, les larves sont localisées dans la première moitié de l'intestin. Dès J3 les larves occupent les trois premières parties de l'intestin. Cette localisation reste la même jusqu'à J11 mais, dès J9, les Immatures se déplacent vers la partie postérieure de l'intestin et le dernier quart sera colonisé par les adultes à J12 (tableau IX). Ce déplacement va s'accroître en période patente, puisque plus de 60 % des Vers se retrouvent dans la moitié postérieure de l'intestin alors que le quart antérieur en contient à peine un dixième (tableau X).

ÉTUDE DES PSEUDO-KYSTES

Lors de l'autopsie, les pseudo-kystes sont visibles à l'œil nu sur le versant séreux de la paroi intestinale. Le plus souvent, ils contiennent chacun un Ver dans

T. post inf.	N. vers	Int. 1 %	Int. 2 %	Int. 3 %	Int. 4 %
J2	2	50	50		
J3	17	47	29	24	
J4	11	45	45	10	
J5	6	100			
J6	23	83	17		
J7	35	58	29	13	
J8	2	50			50
J9	11	55	18	27	
J10	20	25	15	60	
J11	14	36	21	43	
J12	25	68	12		20

Tableau IX. — Répartition longitudinale, exprimée en pourcentage, d'*Heligmosomum mixtum* dans l'intestin de *Clethrionomys glareolus* de J2 à J12 après l'infestation. Le nombre de parasites récoltés chaque jour étant très faible, en particulier pour J2 et J8, les pourcentages présentés n'ont qu'une valeur indicative. L'intestin est divisé en 4 segments équivalents du duodenum au caecum.

la lumière, exceptionnellement 2 à 3 Vers toujours du même sexe chez *Hs. p. polygyrus*.

L'évolution de ces espèces est marquée par le passage transitoire et facultatif dans une cavité creusée par le

	Nbre de Rongeurs	Nbre de Vers	Intestin 1	Intestin 2	Intestin 3	Intestin 4
Période prépatente	10	25	17 68 %	3 12 %	0 0 %	5 20 %
Période patente	77	251	24 9 %	62 25 %	80 32 %	85 34 %

Nbre de Rongeurs : Nombre de Rongeurs; Nbre de Vers : Nombre de Vers.

Tableau X. — Répartition longitudinale, exprimée en pourcentage, d'*Heligmosomum mixtum* dans l'intestin de *Clethrionomys glareolus* en périodes prépatente et patente. En période prépatente, les résultats portent sur 10 Rongeurs infestés expérimentalement entre J2 et J11 et en période patente sur 77 Rongeurs infestés naturellement.

Ver lui-même, puisqu'il existe une réaction inflammatoire, cette cavité étant enchassée dans la paroi digestive.

Histologiquement, il s'agit d'une cavité au contour anfractueux limité par un tissu inflammatoire avec en périphérie une sclérose irrégulière. Suivant « l'âge » du pseudo-kyste, la composante cellulaire du tissu inflammatoire varie : les polynucléaires prédominent dans la première semaine, les cellules mononuclées (histiocytes, lymphocytes et plasmocytes) dans la seconde, la fibrose avec des vaisseaux néo-formés dans la troisième. Ce tissu inflammatoire correspond à la réaction cellulaire de l'hôte envers le parasite.

Quand le Ver quitte le pseudo-kyste pour regagner la lumière digestive, celui-ci s'affaisse et se rétracte. La détersion du tissu inflammatoire pariétal conduit à une fibrose nodulaire cicatricielle.

Ces pseudo-kystes constituent des refuges individuels pour chaque Ver et de courte durée puisque la fibrose débutante n'empêche pas le retour du Ver dans la lumière intestinale sauf chez *Microtus arvalis* où parfois des pseudo-kystes persistent au-delà de la période prépatente. Dans ce cas, les Vers séquestrés dégèrent et meurent. Nous avons pu également observer ce phénomène chez des *Microtus* infestés naturellement. Chez *Hs. p. polygyrus* et *Hm. mixtum*, tous les pseudo-kystes se vident et disparaissent très rapidement au début de la période patente.

Chronologiquement, le nombre de pseudo-kystes observés au cours du cycle biologique est variable d'un jour à l'autre, le maximum étant observé dans les premiers jours après leur formation. Les pseudo-kystes habités par *Hs. laevis* sont présents 6 jours (de J3 à J8), par *Hs. p. polygyrus*, 5 jours (de J4 à J8) et *Hm. mixtum*, 3 jours (de J5 à J7).

La répartition des pseudo-kystes le long de l'intestin grêle et dans l'épaisseur de sa paroi varie suivant le genre (tableau XI).

Chez *Hs. laevis*, la fréquence (pourcentage du nombre de pseudo-kystes présents par rapport au nombre total de Vers retrouvés) est de 61,5 %. Les pseudo-kystes réalisent des petits nodules transparents situés au niveau de la séreuse (fig. A), soulevant le péritoine et flottant dans la cavité abdominale (fig. B), la base

d'implantation étant reliée à la séreuse par un pédicule de tissu conjonctif. Déshabitées, ces structures s'affaissent et évoluent vers la fibrose (fig. C).

Chez *Hs. p. polygyrus*, la fréquence est de 27 %. Les pseudo-kystes se développent également tout le long de l'intestin grêle mais enchassés dans la musculature digestive (fig. D). Cependant une localisation erratique est possible puisqu'un Ver a été identifié dans une veine mésentérique (fig. E).

Chez *Hm. mixtum*, la fréquence est de 57 %. Certaines larves ont été retrouvées dans les cryptes (fig. F) tandis que les pseudo-kystes se localisent dans les trois quart antérieurs de l'intestin grêle et se développent dans la sous-muqueuse intestinale (fig. G).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Jusqu'à présent seuls deux cycles d'*Heligmosomidae* sont connus : celui d'*Hs. polygyrus bakeri* Durette-Desset, Kinsella & Forrester, 1972, parasite de la Souris et de Cricetidae en zone néarctique et celui d'*Hs. kurilensis kobayashii* Asakawa, 1987 parasite d'*Apodemus speciosus* au Japon. Le cycle d'*Hs. polygyrus bakeri*, étudié pour la première fois par Spurlock en 1943 reste très proche de celui d'*Hs. p. polygyrus* et ses particularités biologiques seront analysées dans un article ultérieur. Les problèmes de la chronologie et de la formation des pseudo-kystes n'ont pas été étudiés en détail dans le cycle d'*Hs. kurilensis kobayashii*. Il nous paraît donc important de rappeler les principales caractéristiques des cycles réalisés dans ce travail.

COMPARAISON DES CARACTÉRISTIQUES BIOLOGIQUES

La comparaison des trois cycles décrits ci-dessus montre que chaque cycle possède ses propres caractéristiques :

a) La mue 3 des deux *Heligmosomoides* a lieu en même temps dans les pseudo-kystes et dans la lumière intestinale. Elle s'effectue de façon asynchrone, les mâles muant les premiers. L'asynchronie est plus pro-

Hôte	<i>Microtus arvalis</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	<i>Clethrionomys glareolus</i>
Parasite	<i>Heligmosomoides laevis</i>	<i>Heligmosomoides p. polygyrus</i>	<i>Heligmosomum mixtum</i>
Fréquence	61,50 %	27 %	57 %
Localisation intrapariétale			
Muqueuse	—	—	—
Sous-muqueuse	—	—	+
Muscleuse	—	+	—
Séreuse	+	—	—
Péritoiné	—	—	—
Répartition longitudinale			
Intestin 1	9 %	23 %	58 %
Intestin 2	72 %	40 %	53 %
Intestin 3	40 %	12,50 %	50 %
Intestin 4	11 %	0 %	0 %

Tableau XI. — Répartition comparée, exprimée en pourcentage, des pseudo-kystes d'*Heligmosomoides laevis*, d'*Heligmosomoides polygyrus* et d'*Heligmosomum mixtum* le long de l'intestin de leurs hôtes respectifs.

noncée (24 à 48 heures) chez *Hs. p. polygyrus* que chez *Hs. laevis* (quelques heures à 24 heures). Chez *Hm. mixtum*, la mue 3 s'effectue à J3 de façon synchrone pour les deux sexes dans l'intestin, avant la formation des pseudo-kystes.

b) La mue 4 a lieu simultanément dans les pseudo-kystes et dans la lumière intestinale avec un léger décalage entre les espèces : J5 (mâles), J6 (femelles) pour *Hs. laevis*; J5 (mâles), J7 (femelles) pour *Hs. p. polygyrus*; entre J6 et J7 (mâles et femelles) pour *Hm. mixtum*.

c) L'accouplement a lieu à J7 pour *Hs. laevis*, J9 pour *Hs. p. polygyrus* et J12 pour *Hm. mixtum*.

d) La répartition des adultes en pourcentage des trois espèces dans l'intestin de Int. 1 à Int. 4 est la suivante :

– en période prépatente, respectivement de 24, 5, 21 et 11 % pour *Hs. laevis*; 42, 28, 9 et 9 % pour *Hs. p. polygyrus*; 68, 12, 0, 20 % pour *Hm. mixtum*;
– en période patente, respectivement de 54, 24, 10 et 12 % pour *Hs. laevis*; 42, 40, 13 et 5 % pour *Hs. p. polygyrus*; 9, 24, 32, 34 % pour *Hm. mixtum*.

En conclusion, la comparaison entre les trois cycles met en évidence des différences faibles, mais en relation avec le degré d'évolution morphologique des adultes : *Hs. laevis* plus primitive, *Hs. p. polygyrus* intermédiaire et *Hm. mixtum* plus évoluée (voir N'Zobadila *et al.*, 1996). Ainsi, la durée du quatrième stade larvaire qui semble correspondre à la période essentielle d'adaptation chez l'hôte, est très courte chez *Hs. laevis*, intermédiaire chez *Hs. p. polygyrus* et plus longue chez *Hm. mixtum*. De la même façon, chez *Hs. laevis*, la localisation dans l'intestin aussi bien des larves que des adultes est la même que celle retrouvée chez certains Nippostrongyline (cf. N'Zobadila & Durette-Desset, 1992) à savoir début du développement dans le

deuxième quart de l'intestin alors que les adultes sont localisés dans le premier quart. Chez *Hs. p. polygyrus*, la période initiale de développement a lieu dans le premier quart alors que la localisation définitive est la première moitié. Enfin, la localisation d'*Hm. mixtum* est très atypique car si la localisation larvaire reste le premier quart, la localisation définitive se situe dans les trois derniers quarts. De plus, comme nous le verrons plus loin, *Hs. p. polygyrus* a également une position phylétique intermédiaire en ce qui concerne les pseudo-kystes.

Les trois cycles ont cependant de nombreux points communs :

- Les larves infestantes se trouvent toujours sous forme engainée.
- L'infestation de l'hôte se fait par voie buccale (la pénétration cutanée, tentée chez *Hs. p. polygyrus* a donné un pourcentage de réussite très faible).
- Pas de migration pulmonaire ou lymphatique. Les larves arrivent directement dans l'intestin, localisation définitive de l'adulte.
- Un certain nombre de larves migrent plus ou moins profondément vers la séreuse et forment des pseudo-kystes.
- Les mues 4 s'effectuent de façon simultanée dans les pseudo-kystes et dans la lumière intestinale.
- La période prépatente est inférieure à 15 jours.

SIGNIFICATION ÉVOLUTIVE DES PSEUDO-KYSTES

Pour Chabaud, 1955, les cycles de Strongles primitifs s'effectuent par pénétration cutanée des larves infestantes, ce qui implique la migration de ces larves par voie pulmonaire et régurgitation pour atteindre finalement le tube digestif. La grande innovation du cycle des Trichostrongles, particulièrement chez les animaux

Fig. 1 A-C. — *Microtus arvalis* infestés naturellement (A) et expérimentalement (B et C) par *Heligmosomoides laevis* (Dujardin, 1845). Fig. A : Aspect macroscopique des pseudo-kystes au niveau de la séreuse intestinale. Fig. B : Larves dans pseudo-kyste pédiculé flottant dans la cavité abdominale à J4. Fig. C : Pseudo-kyste déserté dont la lumière communique avec celle de l'intestin par un pertuis à J8. Fig. 1 D, E. — *Apodemus flavicollis* infestés expérimentalement par *Heligmosomoides polygyrus polygyrus* (Dujardin, 1845). Fig. D : Pseudo-kyste contenant une larve enchâssée dans la musculature, soulevant légèrement la séreuse intestinale à J7. Fig. E : Localisation erratique, dans une veine mésentérique, de certaines larves à J7. Fig. 1 F, G. — *Clethrionomys glareolus* infestés par *Heligmosomum mixtum* (Schulz, 1954). Fig. F : Larve située dans une crypte de la muqueuse intestinale à J6. Fig. G : Pseudo-kyste développé dans la sous-muqueuse de l'intestin à J7. Le synople permet d'identifier une L4.

herbivores, est due à l'apparition de la pénétration par voie buccale qui devient prépondérante et parfois unique. L'existence d'une migration larvaire dans la muqueuse intestinale et la formation éventuelle de pseudo-kystes est donc généralement interprétée comme répondant à la nécessité ancestrale d'un métabolisme intra-tissulaire au cours de la vie larvaire.

Le pseudo-kyste sera donc d'autant plus discret que le Nématode sera plus évolué. Ces constatations répondent effectivement à ce qui était attendu : chez *Hs. laevis*, les pseudo-kystes sont externes, pédiculés et paraissent « flotter » dans la cavité abdominale. Ils sont visibles au moins six jours. Chez *Hs. p. polygyrus*, ils sont profonds et enchâssés dans la musculature de l'intestin. Leur durée est de cinq jours. Enfin chez *Hm. mixtum*, les pseudo-kystes se développent près de la lumière intestinale dans la sous-muqueuse et ont une durée de trois jours.

Par ailleurs, les trois espèces ont en commun un caractère inexplicable, qui est confirmé par toutes les observations : le développement et la chronologie des mues, caractéristiques de chaque espèce, sont identiques que la larve migre dans la paroi intestinale ou qu'elle reste dans la lumière. Dans ce cas, contrairement à tous les caractères examinés précédemment, *Hs. p. polygyrus* n'est plus intermédiaire entre *Hs. laevis*, plus primitif, et *Hm. mixtum*, plus évolué. Il est constaté, en effet, que le nombre de larves évoluant dans les pseudo-kystes par rapport au nombre de larves évoluant dans l'intestin est de 61,5 % pour *Hs. laevis*, 57 % pour *Hm. mixtum* et seulement 27 % pour *Hs. p. polygyrus*.

Les caractères biologiques des Heligmosomidae peuvent être considérés comme évolués et liés au régime alimentaire de l'hôte. Celui-ci devenant monophage et ayant besoin d'ingérer une grande quantité journalière d'herbe, la pénétration par voie buccale devient la plus fréquente. La pénétration cutanée, nécessitant une migration pulmonaire, a été peu à peu abandonnée et les pseudo-kystes représenteraient le stade ultime du besoin de maturation tissulaire de la larve. Chez les cycles étudiés ci-dessus, ce stade lui-même semble en voie de disparition puisqu'une partie des individus effectue son développement entièrement dans la lumière intestinale.

Cette biologie est comparable à celle des Trichostrongyles parasites de Lagomorphes et de Ruminants eux aussi phytophages. Là aussi la L3 est engainée, il n'existe pas de migration pulmonaire et la larve 3 poursuit souvent son développement dans la muqueuse gastrique ou intestinale de son hôte. Citons par exemple, chez les Lagomorphes, la pénétration de la muqueuse gastrique par *Obeliscoides c. cuniculi*. (Sollod *et al.*, 1968); chez les Ruminants, la localisation intra-épithéliale de certains *Trichostrongylus* (Rahman & Collins, 1990), la pénétration profonde de

la muqueuse chez *Nematodirus battus* (Thomas, 1959; Mapes & Coop, 1972), la formation de nodules chez certains Cooperiinae comme *Gazellostrongylus lerouxi* (Khalil & Ingram, 1981), *Paracooperia nodulosa* (Chauhan & Pande, 1972) ou chez les Ostertagiinae comme *Teladorsagia circumcincta* (Sommerville, 1953, 1954) et *Ostertagia ostertagi* (Armour, 1970). Selon les genres, ce sont les L4, les Vers immatures ou les adultes qui regagnent la lumière intestinale où a lieu l'accouplement (*Gazellostrongylus* forme une exception, la dernière mue ayant lieu dans les nodules dont seulement quelques-uns sont en communication avec la lumière de l'abomasum ou de l'intestin).

Comme chez les Rongeurs, ce stade tissulaire ne dure que quelques jours mais, au moins pour les cycles où les auteurs l'ont précisé, le pourcentage des individus qui passent par ce stade est toujours très élevé (Rahman & Collins, 1990; Sommerville, 1954; Armour, 1970). Les cycles des Trichostrongyles de Ruminants paraissent donc sur ce point moins évolués que ceux des Trichostrongyles de Rongeurs.

Par contre, aussi bien chez les Lagomorphes que chez les Ruminants, ce passage obligatoire à l'intérieur des tissus de l'hôte paraît avoir débouché sur une nouvelle stratégie adaptative : sous certaines conditions, particulièrement environnementales, le développement est stoppé plus ou moins longtemps, au stade 3 comme chez *Trichostrongylus vitrinus* (Eysker, 1978) ou plus fréquemment au stade 4 (Michel, 1974; Gibbs, 1986). Chez les Ruminants, cette diapause peut s'effectuer soit dans les nodules (pays tempérés ou froids) ou bien les larves restent libres dans la lumière intestinale (pays chauds). Bien que les facteurs de levée de l'inhibition soient encore mal connus, la reprise du développement, l'apparition des adultes et leur reproduction coïncident avec des conditions extérieures favorables à la transmission.

Cet arrêt du développement ne paraît pas exister chez les Heligmosomidae de Rongeurs puisque les pseudo-kystes d'*Hs. p. polygyrus* chez *Apodemus sylvaticus* et d'*Hm. mixtum* chez *Clethrionomys glareolus* se vident et disparaissent dès le début de la période patente et que, chez *Microtus arvalis*, les rares pseudo-kystes retrouvés en période patente, contiennent des Vers dégénérés ou morts.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient très vivement Mme T. Benassavy pour l'aide apportée lors de la réalisation des coupes histologiques. Ils remercient également le Dr. P. Delattre et M. J.P. Quéré de l'INRA-Montpellier ainsi que le Dr. P. Giraudoux de l'Université de Bourgogne pour leur aide et leurs conseils lors de la capture des Rongeurs utilisés dans ce travail.

RÉFÉRENCES

- ARMOUR J. Bovine ostertagiasis: a review. *Veterinary Record*, 1970, 86, 184-190.
- ASAKAWA M. Genus *Heligmosomoides* Hall, 1916 (Heligmosomidae: Nematoda) from the Japanese wood mice, *Apodemus* spp. III. The life cycle of *Heligmosomoides kurlensis kobayashii* (Natodchii, 1966) in ICR mice and preliminary experimental infection to jirds. *Journal of the College of Dairying*, 1987, 12, 131-140.
- BAYLIS H.A. On a trichostrongyloid nematode from the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*). *Annals and Magazine of Natural History*, 1926, 18, 455-464.
- CHABAUD A.G. Essai d'interprétation phylétique des cycles évolutifs chez les Nématodes parasites de Vertébrés. *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, 1955, 30, 83-126.
- CHAUHAN P.P.S. & PANDE B.P. Studies on paracooperid infection in buffalo calves. III. Nodules and their histopathology. *Indian Journal of Animal Sciences*, 1972, 42, 930-934.
- DUJARDIN F. Histoire naturelle des Helminthes ou Vers intestinaux. Paris, 1845, XVI + 654 + 15.
- DURETTE-DESSET M.C. & CASSONE J. Sur deux Nématodes Trichostrongyloides parasites d'un Muridé africain. III - Dualité physiologique des larves infestantes, liée aux rythmes saisonniers. *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, 1987, 62, 577-589.
- DURETTE-DESSET M.C., KINSELLA J.M. & FORRESTER D.G. Arguments en faveur de la double origine des Nématodes néarctiques du genre *Heligmosomoides* Hall, 1916. *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, 1972, 47, 365-382.
- ELTON C., FORD E.B., BAKER J.R. & GARDNER A.D. The health and parasites of a wild mouse population. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1931, 2, 657-721.
- EYSKER M. Inhibition of the development of *Trichostrongylus* spp. as third stage larvae in sheep. *Veterinary Parasitology*, 1978, 4, 29-33.
- GIBBS H.C. Hypobiosis in parasitic nematodes an update. *Advances in Parasitology*, 1986, 25, 129-174.
- HUBERT J. & KERBOEUF D. A new method for culture of larvae used in diagnosis of ruminant gastrointestinal strongylosis: comparison with fecal cultures. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1984, 48, 63-71.
- KHALIL L.F. & INGRAM P.L. Wildlife Diseases of the pacific basin and other countries. *Proceedings of the 4th International Conference of the Wildlife Disease Association*, Ed. M.E. Fowler, 1981, 132-136.
- MAPES C.J. & COOP R.L. The development of single infections of *Nematodirus battus* in lambs. *Parasitology*, 1972, 64, 197-216.
- MICHEL J.F. Arrested development of nematodes and some related phenomena. *Advances in Parasitology*, 1974, 12, 279-366.
- N'ZOBADILA G., BOYER J. & DURETTE-DESSET M.C. Morphogénèse d'*Heligmosomoides polygyrus polygyrus* (Dujardin, 1845) (Trichostrongylina, Heligmosomoidea) chez *Apodemus flavicollis* en France. Comparaison avec les espèces proches : *Heligmosomoides laevis* (Dujardin, 1845) et *Heligmosomum mixtum* Schulz, 1926, parasites d'Arvicolidae. *Bulletin du Museum national d'Histoire naturelle*, 1996 (sous presse).
- N'ZOBADILA G. & DURETTE-DESSET M.C. Cycle biologique de *Neobeligmonella pseudospira* (Nematoda: Nippostrongylinae) parasite d'un Muridé africain. *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, 1992, 67, 116-125.
- RAHMAN W.A. & COLLINS G.H. The establishment and development of *Trichostrongylus colubriformis* in goats. *Veterinary Parasitology*, 1990, 35, 195-200.
- SCHAD G. The role of arrested development in the regulation of nematode populations. In: Regulation of parasite populations, G.W. Esh (Ed.) Academic press, New York, 1977, 111-167.
- SCHULZ R.S. in SKRJABIN K.I., SCHIKOBALOVA N.P. & SCHULZ R.S. *Osnovi nematodologii*, Moscou, Academia Nauk, SSSR, 1954, 4, 323 p.
- SOLLOD A.E., HAYES T.J. & SOULSBY E.J.L. Parasitic development of *Obeliscoides cuniculi* in rabbits. *Journal of Parasitology*, 1968, 54, 129-132.
- SOMMERVILLE R.I. Development of *Ostertagia circumcincta* in the abomasal mucosa of sheep. *Nature*, 1953, 171, 482-483.
- SOMMERVILLE R.I. The histotropic phase of the nematode parasite *Ostertagia circumcincta*. *Australian Journal of Agricultural Research*, 1954, 5, 130-140.
- SPURLOCK G.M. Observations on host-parasite relations between laboratory mice and *Nematospiroides dubius* Baylis. *Journal of Parasitology*, 1943, 29, 303-311.
- THOMAS R.J. A comparative study of the life histories of *Nematodirus battus* and *N. fillicolis*, parasites of sheep. *Parasitology*, 1959, 49, 374-386.

Reçu le 14 mars 1996

Accepté le 11 juin 1996