

**L'IMPACT D'UNE ALIMENTATION MIXTE CHEZ LE MOLLUSQUE
Galba truncatula ET SES CONSÉQUENCES SUR LA PRODUCTION
CERCARIENNE DE *Fasciola hepatica***

RONDELAUD D., DENÈVE C., GUICHARD T. et DREYFUSS G.

UPRES EA n° 3174, Facultés de Médecine et de Pharmacie,
2, rue du Docteur-Raymond-Marcland, 87025 Limoges Cedex.

RESUME - Des infestations expérimentales de *Galba truncatula* par *Fasciola hepatica* ont été réalisées dans les conditions du laboratoire afin de déterminer si l'emploi d'une alimentation mixte (laitue romaine + farine du commerce pour poissons) a un effet significatif sur la production cercarienne. Les résultats ont été comparés avec ceux de lots témoins infestés, nourris seulement avec de la laitue romaine. Par rapport aux témoins, l'utilisation de cette alimentation mixte pour des *G. truncatula* appartenant à la même population se traduit par une meilleure survie des mollusques au 30^e jour post-exposition, un taux d'infestation plus important et une production cercarienne doublée ou triplée. Si l'on renouvelle cette expérience avec d'autres populations en utilisant l'alimentation mixte, on constate une certaine variabilité dans les paramètres en fonction de l'origine de la colonie. C'est ainsi que la production cercarienne est nettement plus élevée dans le cas de cinq groupes (plus de 400 cercaires par limnée avec émission) alors qu'elle est plus faible dans les deux autres lots. Chez les limnées survivant plus de 90 jours, on note que la production cercarienne n'est pas corrélée à la durée de vie du mollusque. L'emploi d'une alimentation mixte pour nourrir *G. truncatula* permet donc d'accroître largement la production cercarienne de *F. hepatica*, malgré l'existence d'une variabilité interpopulationnelle que l'on peut expliquer par des différences dans la sensibilité de chaque colonie à l'infestation fasciolienne ou encore dans le comportement individuel des limnées de chaque population devant l'appétence du Tetraphyll®.

MOTS-CLES: Alimentation. *Fasciola hepatica*. *Galba truncatula*. Production cercarienne.

SUMMARY - THE EFFECT OF A MIXED DIET ON THE SNAIL *Galba truncatula* AND ITS CONSEQUENCES ON THE CERCARIAL PRODUCTION OF *Fasciola hepatica*.

Experimental infections of *Galba truncatula* with *Fasciola hepatica* were carried out under laboratory conditions to determine if a mixed diet (lettuce + commercial fish food) provided as food for snails might increase cercarial production. The results were compared with those given by lettuce only-reared, infected controls. Compared to controls, the use of this mixed diet to feed snails belonging to the same population resulted in greater snail survivals at day 30 post-exposure, higher prevalences of *Fasciola* infections, and doubled or tripled cercarial productions. If snails originating from other populations were subjected to experimental

infections and reared with this mixed diet, the parameters of infections showed some variability linked to the origin of the population. Thus, cercarial production of *F. hepatica* was clearly high in five groups (over 400 larvae per cercariae-shedding snail) and lower in the two others. In snails surviving more than 90 days, there was no relationship between cercarial production and snail survival. Using a mixed diet to feed *G. truncatula* allowed to greatly increase cercarial production of *F. hepatica*, despite some variability in results which could be related to the origin of snail population. This variability might be explained by differences in the susceptibility of snail populations to *Fasciola* infections and/or in the individual behaviour of snails towards the appetency of Tetraphyll®.

KEY-WORDS: Alimentation. Cercarial production. *Fasciola hepatica*. *Galba truncatula*.

INTRODUCTION

Galba truncatula (O.F. Müller 1774), encore appelé *Lymnaea truncatula*, est un mollusque d'eau douce que l'on rencontre fréquemment dans la région du Limousin. En effet, la limnée est capable de vivre sur des zones émergées humides (lorsque les conditions sont favorables) ou encore dans l'eau (au cours des mois d'hiver) si bien que cette capacité lui permet de peupler de nombreux habitats situés à la périphérie d'un système hydrographique (Moens, 1991). C'est ainsi que les populations limousines de *G. truncatula* colonisent les extrémités distales des rigoles de drainage superficiel, les zones piétinées par le bétail sur les prairies, les fossés de route, voire les berges de rivières et de ruisseaux. Une cartographie de ce mollusque a montré l'abondance des populations dans la moitié nord de la Haute-Vienne (Rondelaud *et al.*, 2000; Xuereb, 2001), même si les effectifs ne dépassent pas 100 à 150 limnées par colonie au mois de juin.

G. truncatula est également connu depuis longtemps pour être l'hôte intermédiaire préférentiel de plusieurs Digènes comme *Fasciola hepatica* (Linnaeus 1758) ou *Paramphistomum daubneyi* (Dinnik 1962). A ce titre, il assure le développement larvaire de ces parasites et rejette dans le milieu des cercaires (stade parasitaire) qui vont s'enkyster sur la végétation (en métacercaires) et recontaminer des Mammifères lorsque ces derniers les avalent avec leur nourriture. Si l'histoire de la fasciolose date de 1532 (d'après Taylor, 1965), il n'en est pas de même pour la paramphistomose à *P. daubneyi* qui croît en intensité depuis une douzaine d'années. Si l'on considère les bovins de la Corrèze, les prévalences des infestations naturelles en 1999 sont ainsi de 12,6 % pour le premier parasite et de 44,7 % pour le second. Chez les *G. truncatula*, les taux sont de 3,5 et 4,8 % par ordre respectif (Mage *et al.*, 2002).

L'existence d'un seul médicament, à l'heure actuelle, pour lutter contre la paramphistomose chez les bovins (Reynal, 2001) est à l'origine de la demande formulée par différents laboratoires de produits pharmaceutiques (ou vétérinaires). En effet, ils recherchent des métacercaires afin d'infester des hôtes définitifs (généralement le bétail) et d'étudier l'efficacité thérapeutique de nouvelles molécules à visée anthelminthique. Pour avoir ce stade parasitaire, il faut élever le mollusque sous des conditions expérimentales. Plusieurs auteurs comme Kendall (1949), Kendall et Ollerenshaw (1963) ont déjà souligné l'importance de l'alimentation dans la croissance du mollusque hôte si bien que les auteurs ultérieurs ont

développé des méthodes basées sur l'emploi d'algues unicellulaires (Sevo, 1973; Pécheur, 1974; Osborn *et al.*, 1982; Bruce et Liang, 1992). Cependant, une solution plus simple consiste à élever ces limnées en présence de laitue romaine dégradée par un séjour dans de l'eau de source (Abrous *et al.*, 1998).

Afin d'éviter que le prix de revient de ces métacercaires soit trop important lorsque l'on utilise de la laitue romaine comme nourriture pour les limnées (Rondelaud *et al.*, 2002), il est nécessaire d'avoir un aliment de complément pour doper les capacités du mollusque en tant qu'hôte intermédiaire et obtenir une production parasitaire maximale. Le but du présent travail est de déterminer si une alimentation mixte (laitue romaine dégradée + farine du commerce pour poissons) améliore nettement la production cercarienne de *F. hepatica* lorsqu'elle est proposée au mollusque *G. truncatula*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Mollusques et parasite.

La première population de *G. truncatula* a été utilisée dans les trois expériences (tableau I). Elle vit dans un fossé de route à côté de Masvaudier, commune de Saint-Michel-de-Veisse, département de la Creuse. Six autres colonies ont été employées aussi dans la troisième expérience. L'une d'entre elles (Vallières) provient du département de la Creuse (Vallières) et les cinq autres de la Haute-Vienne. Elles vivent sur les berges de la rivière Thaurion (Saint-Priest-Taurion) ou dans des fossés de route (les cinq autres populations). Si les mollusques de Saint-Michel-de-Veisse et de Vallières sont très aquatiques, ceux des cinq autres colonies ont, par contre, une amphibiose normale, avec émergence fréquente sur les zones émergées de leurs récipients d'élevage. Seuls, des individus mesurant 4 mm de hauteur ont été utilisés. L'eau circulant dans ces stations est oligocalcique (9 mg d'ions calcium par litre) si bien que la hauteur de la coquille dépasse rarement 8 mm. C'est la raison pour laquelle elle a été enrichie en ions calcium (32 mg par litre) dans le cadre des expériences.

Les oeufs de *F. hepatica* ont été récoltés à l'abattoir de Limoges, dans la vésicule biliaire de bovins fortement parasités. Ils sont filtrés à l'aide d'une passoire fine avant d'être lavés plusieurs fois à l'eau de source. Les oeufs sont ensuite mis en incubation pendant 20 jours à 20° C et à l'obscurité totale selon les données d'Ollerenshaw (1971).

2. Protocoles expérimentaux.

Trois expériences ont été réalisées dans le cadre de ce travail. Le tableau I présente les principales caractéristiques pour chacune d'entre elles.

A. Dispositions communes aux trois expériences.

Elles dérivent de la technique utilisée par Abrous *et al.* (1998). Les limnées mesurent 4 mm de hauteur lors de l'exposition aux miracidiums de *F. hepatica*. Cette opération s'effectue en plaçant deux larves au contact de chaque mollusque pendant 4 heures.

Exp.	Groupe ^a	Type d'élevage jusqu'au 30 ^e jour ^b	Nourriture	Nombre de limnées par lot
1	Témoin	Bac (0,55 m ²)	Laitue romaine	40
	1/2		Laitue romaine, avec emploi du Tetracyll®:	40
	1/3		- 1 fois/2 jours	40
	1/4		- 1 fois/3 jours	40
	1/5		- 1 fois/4 jours - 1 fois/5 jours	40
2	Bac/Sal (témoin)	Bac (0,66 m ²)	Laitue romaine	50
	Bac/Tetra		Laitue romaine, avec Tetracyll® tous les 2 jours	50
	Boîte/Sal (témoin)	Boîtes de Pétri (diamètre, 14 cm)	Laitue romaine	45
	Boîte/Tetra		Laitue romaine, avec Tetracyll® tous les 2 jours	45
	Ind/Sal (témoin)		Laitue romaine	45
	Ind/Tetra		Laitue romaine, avec Tetracyll® tous les 2 jours	45
3	Témoin 1	Boîtes de Pétri (diamètre, 35 mm)		40
	Témoin 2			39
	Châteauponsac		Laitue romaine, avec Tetracyll® tous les 3 jours)	40
	Montmézéry			26
	Saint-Jouvent			39
	Saint-Priest-Taurion			35
	Vallières			46
Veyrac		26		

^a. Les *G. truncatula* utilisés pour la première expérience, la deuxième et les témoins de la troisième expérience proviennent de la population vivant sur la commune de Saint-Michel-de-Veisse (Creuse).

^b. Au-delà du 30^e jour, les survivants sont maintenus individuellement dans des boîtes de Pétri (diamètre, 35 mm) avec 2-3 mL d'eau de source et un fragment de laitue romaine. Le Tetracyll® (0,20-0,25 cm² par mollusque) est distribué selon le rythme indiqué sur le tableau.

Tableau I. Les principales caractéristiques des 19 groupes de *Galba truncatula* utilisés dans le cadre des trois expériences. Abréviation: Exp. (expérience).

Les limnées sont élevées ensuite selon différents modes (Tableau I) en recevant comme nourriture de la laitue romaine (dégradée après un séjour de cinq jours dans de l'eau de source) avec ou sans Tetracyll®. Ce dernier est proposé aux mollusques selon une périodicité variable à raison de 12 heures par contact. Selon les expériences, les limnées

survivantes sont isolées individuellement au 30^e jour dans des boîtes de Pétri de 35 mm de diamètre. Chaque récipient reçoit 2 ou 3 mL d'eau de source et de la nourriture selon les dispositions indiquées ci-dessus. Les boîtes sont ensuite examinées chaque jour pour dénombrer les métacercaires de *F. hepatica*, changer l'eau et le fragment de laitue.

Tout au long de leur vie, les limnées et leurs récipients sont placés dans une salle climatisée répondant aux conditions suivantes: température constante de 20° C, éclairage artificiel de 12 heures diurnes avec une intensité de 3000 à 4000 lux au-dessus des récipients.

B. Dispositions propres à chaque expérience.

Le but de la première est de déterminer la meilleure périodicité pour utiliser le Tetraphyll® dans l'alimentation des limnées. Comme l'emploi du Tetraphyll® comme seule source de nourriture aboutit à la mort rapide des limnées, quatre lots (1/2, 1/3, 1/4 et 1/5) ont été constitués en espaçant la prise de cet aliment dans le temps. Le reste du temps, les limnées se nourrissent avec de la laitue romaine dégradée. Le groupe témoin est constitué par des limnées alimentées seulement avec de la laitue dégradée.

Le but de la deuxième expérience est de déterminer si la technique d'élevage des mollusques (bacs standard, ou boîtes de Pétri) jusqu'au 30^e jour d'expérience a un impact sur leur croissance et, par suite, sur la production cercarienne de *F. hepatica*. Deux lots sont élevés dans des bacs d'élevage standard pendant les 30 premiers jours de l'expérience. Les survivants sont ensuite isolés individuellement dans des boîtes de Pétri (diamètre, 35 mm) jusqu'à leur mort. La même opération a été réalisée pour deux autres groupes mais en utilisant des boîtes de Pétri de 14 cm de diamètre pendant les 30 premiers jours. Enfin, les deux derniers lots sont maintenus dans ces boîtes de Pétri (35 mm) depuis l'exposition aux miracidiums jusqu'à leur mort. Trois lots servent de témoins en ne recevant que de la laitue romaine dégradée comme source de nourriture. Les trois autres reçoivent, en plus, des flocons de Tetraphyll® à raison d'un apport tous les deux jours.

Le but du troisième essai est de vérifier si l'emploi du Tetraphyll® aboutit aux mêmes résultats que ceux fournis par les deux premières expériences lorsque l'on emploie des populations de limnées autres que celles provenant de Saint-Michel-de-Veisse. Deux groupes de limnées, issus de la commune précitée, ont été utilisés comme témoins. Les six autres lots proviennent d'autres colonies. Les mollusques des huit groupes ont été élevés pendant toute leur vie dans des boîtes de Pétri individuelles (diamètre, 35 mm). Ils ont tous reçu une alimentation mixte avec un apport de Tetraphyll® tous les trois jours.

3. Paramètres étudiés.

Trois paramètres ont été considérés dans le cadre de ce travail. Le taux de survie au 30^e jour est calculé en effectuant le rapport entre le nombre de survivants à cette date et l'effectif des limnées au départ de l'expérience. Le deuxième paramètre est la prévalence de l'infestation et correspond au rapport suivant: (nombre de limnées avec émission) / (nombre de survivants au 30^e jour). Enfin, la dernière variable est le nombre de cercaires par limnée avec émission. Des moyennes, accompagnées de leurs écarts types, ont été calculés pour ce dernier paramètre. Le test Chi² et une analyse de variance à un ou deux facteurs (ANOVA) (Stat-Itcf, 1988) ont été utilisés pour déterminer les niveaux de signification statistique.

Groupe (et nombre de limnées au départ)	Nombre de survivants au 30 ^e jour (et taux de survie)	Nombre de limnées avec émission (et prévalence de l'infestation)	Nombre de cercaires par limnée avec émission
Témoin (40)	26 (65,2 %)	18 (69,2 %)	104,5 ± 77,9
1/2 (40)	29 (72,5 %)	21 (79,3 %)	285,3 ± 116,6
1/3 (40)	37 (87,5 %)	31 (88,5 %)	327,2 ± 165,3
1/4 (40)	36 (90,0 %)	32 (88,8 %)	347,2 ± 155,9
1/5 (40)	37 (87,5 %)	30 (85,7 %)	270,4 ± 111,2
Bac/Sal (50)	32 (64,0 %)	23 (71,8 %)	112,4 ± 73,8
Bac/Tetra (50)	45 (90,0 %)	39 (86,6 %)	358,9 ± 181,5
Boîte/Sal (45)	30 (66,6 %)	21 (70,0 %)	98,5 ± 81,9
Boîte/Tetra (45)	36 (80,0 %)	32 (88,8 %)	368,5 ± 190,6
Ind/Sal (45)	28 (62,2 %)	19 (67,8 %)	107,3 ± 65,4
Ind/Tetra (45)	38 (85,1 %)	34 (89,4 %)	311,7 ± 164,1
Témoin 1 (40)	29 (72,5 %)	22 (75,9 %)	434,8 ± 210,6
Témoin 2 (39)	23 (59,0 %)	15 (65,2 %)	448,6 ± 326,5
Châteauponsac (40)	40 (100 %)	2 (5,0 %)	1639,0 ± 175,3
Montmézéry (26)	10 (38,5 %)	4 (40,0 %)	7,0 ± 2,9
Saint-Jouvent (39)	39 (100 %)	30 (76,9 %)	519,4 ± 604,3
St-Priest-Taurion (35)	33 (94,3 %)	23 (69,7 %)	461,5 ± 448,8
Vallières (46)	25 (54,3 %)	14 (56,0 %)	691,2 ± 534,2
Veyrac (26)	25 (96,2 %)	8 (32,0 %)	129,1 ± 219,0

Tableau II. Quelques caractéristiques de l'infestation fasciolienne chez les *Galba truncatula* des trois expériences.

RÉSULTATS

1. Les caractéristiques de l'infestation fasciolienne chez les 19 groupes de *Galba truncatula*.

Le tableau II répertorie les valeurs des trois paramètres étudiés dans le cadre de ce travail.

Par rapport aux témoins de la première expérience, la survie des mollusques au 30^e jour est significativement plus grande (test Chi²: $P < 5\%$) dans les lots 1/3, 1/4 et 1/5. Le même commentaire peut être formulé pour la prévalence de l'infestation (test Chi²: $P < 5\%$) et le nombre de cercaires (ANOVA: $F = 16,30$; $P < 0,1\%$), avec des valeurs plus importantes dans les lots 1/2 à 1/5. Il est intéressant de noter ici que la production cercarienne dans les lots 1/2 à 1/5 est augmentée de 2,5 à 3,3 fois par rapport à celle du lot témoin.

Dans la deuxième expérience, la survie au 30^e jour est significativement plus grande dans les trois lots nourris avec de la laitue romaine et du Tetraphyll® (test Chi²: $P < 5\%$ pour chaque comparaison entre le témoin et l'autre groupe). La même remarque peut être émise pour la prévalence de l'infestation fasciolienne car les pourcentages sont plus élevés chez les mollusques avec une alimentation mixte (test Chi²: $P < 5\%$ pour chaque comparaison). Enfin, le nombre de cercaires est significativement plus important (ANOVA: $F = 34,70$; $P < 0,1\%$) dans les groupes nourris avec de la laitue et du Tetraphyll®. Cet accroissement est compris entre 2,9 et 3,7 fois par rapport à la production cercarienne des témoins. Le mode d'élevage des limnées jusqu'au 30^e jour n'a pas d'influence significative sur les valeurs, quel que soit le paramètre considéré.

Dans la troisième expérience, la survie des mollusques au 30^e jour présente une certaine variabilité. Les taux relevés pour les groupes de Châteauponsac, Saint-Jouvent, Saint-Priest-Taurion et Veyrac sont significativement plus élevés (test Chi²: $P < 5\%$ dans chaque cas) que les autres pourcentages. Une autre différence significative au seuil de 5% peut également être notée entre le taux de Montmézéry et ceux des témoins ou de Vallières. La même variabilité se retrouve pour la prévalence de l'infestation fasciolienne. Si les pourcentages relevés pour les groupes de Saint-Jouvent et de Saint-Priest-Taurion sont identiques à ceux des témoins, les valeurs enregistrées pour les lots de Châteauponsac, de Montmézéry, de Vallières et de Veyrac sont significativement plus faibles (test Chi²: $P < 5\%$ dans chaque cas). Malgré le faible effectif des limnées avec émission (deux seulement) pour le lot de Châteauponsac, le nombre total des cercaires émises y est significativement plus élevé (ANOVA: $F = 7,90$; $P < 0,1\%$) alors qu'il n'y a pas de différence nette entre les autres moyennes. Il faut noter cependant que les moyennes sont nettement plus grandes dans le cas de cinq groupes, y compris celui de Châteauponsac (plus de 400 cercaires par limnée avec émission) alors qu'elles sont plus faibles dans les lots de Montmézéry et de Veyrac.

2. Survie des limnées après le 90^e jour et production cercarienne.

Le tableau III a été réalisé en considérant les limnées qui ont vécu plus de 90 jours. La lecture de ces données montre que le nombre de larves émises n'est pas corrélé à la durée de vie du mollusque. C'est ainsi que dans les groupes provenant de la population de Saint-Michel-de-Veisse, la production ne dépasse pas 1000 cercaires par limnée alors que dans le groupe de Vallières, les mollusques à longue survie ont fourni de 1030 à 1673 cercaires.

Il est intéressant, de plus, de constater l'existence d'une variabilité pour chaque groupe de mollusques. Le meilleur exemple est celui de Saint-Jouvent pour lequel on constate une production qui se distribue entre 748 et 2699 cercaires par limnée avec émission.

DISCUSSION

Il est admis depuis longtemps qu'une bonne alimentation de la limnée hôte se traduit par une bonne production cercarienne (Taylor, 1965, par exemple). Parmi tous les types d'aliments proposés, les farines utilisées en aquariophilie ont été signalées depuis longtemps pour leur intérêt (Malek, 1962; Bruce et Liang, 1992). Tetramin® est ainsi employé dans l'élevage d'une planorbe (*Biomphalaria glabrata*) ou celui d'un bulin (*Bulinus truncatus*).

Groupe	Nombre de limnées avec émission ayant survécu plus de 90 jours	Nombre de cercaires
Témoin	0	-
1/2	1	545
1/3	2	176, 647
1/4	2	459, 724
1/5	1	519
Bac/Sal	0	-
Bac/Tetra	3	245, 632, 716
Boîte/Sal	1	345
Boîte/Tetra	4	258, 489, 634, 822
Ind/Sal	0	-
Ind/Tetra	3	453, 611, 824
Témoin 1	6	468, 534, 608, 632, 686, 829
Témoin 2	2	502, 939
Châteauponsac	2	1515, 1763
Montmézéry	0	-
Saint-Jouvent	7	748, 760, 786, 1359, 1544, 1942, 2699
St-Priest-Taurion	5	589, 661, 700, 1635, 1638
Vallières	4	1030, 1306, 1662, 1673
Veyrac	0	-

Tableau III. La production cercarienne de *Fasciola hepatica* chez les limnées qui ont vécu plus de 90 jours.

D'après Ismail et Haroun (2001), l'emploi de cet aliment pour nourrir des bulins parasités par *Schistosoma haematobium* se traduit par un accroissement dans la croissance de ces mollusques ainsi que par la présence de survies et de prévalences plus élevées. D'après Conaway *et al.* (1996), cette farine apporterait des acides gras libres dans l'alimentation des mollusques. A l'inverse du Tetramin^{®1}, le Tetraphyll^{®1}, recommandé par le fabricant pour sa composition à base de matières végétales et son apport en vitamines, n'avait jamais été employé en malacologie pour nourrir les limnées.

Si l'on considère la population de Saint-Michel-de-Veisse, on constate que la survie des limnées est plus élevée dans les lots nourris avec l'alimentation mixte, même s'il y a une

¹ - Produits fabriqués par la Société Tetrarwerke, Melle, Allemagne. Tetramin[®]: réalisé à partir de matières animales et de substances végétales. Protéines brutes: 46 %; matières grasses brutes: 8 %; cellulose brute: 2 %; quatre vitamines. Tetraphyll[®]: réalisé principalement à partir de substances végétales. Protéines brutes: 47 %; matières grasses brutes: 8,5 %; cellulose brute: 2 %; quatre vitamines.

exception. Cet accroissement vérifie les observations de Ismail et Haroun (2001) chez le bulin. Comme ce processus a été noté chez deux mollusques d'eau douce avec des produits voisins (Tetramin[®], ou Tetraphyll[®]), on peut émettre l'hypothèse que cette survie plus élevée se produirait chez tous les Pulmonés d'eau douce lorsqu'ils sont infestés par un Digène et nourris en alternance avec l'une de ces farines. Le mécanisme à l'origine de cette survie est plus difficile à expliquer. Certes, l'apport des nutriments contenus dans le Tetraphyll[®] permet une meilleure alimentation du mollusque en lui apportant des éléments indispensables pour sa croissance. Mais il ne faut pas oublier que ces mollusques sont infestés par un parasite. Comme la mortalité la plus élevée chez des limnées infestées par *F. hepatica* s'observe lors de la première semaine post-exposition, on peut se demander si cet apport en éléments nutritifs ne permettrait pas au mollusque de mieux supporter les déplacements du (ou des) sporocyste(s) dans son corps. Cette hypothèse s'appuie sur les taux de mortalité enregistrés au cours de la première semaine: ils sont nuls dans deux groupes (Châteauponsac et Saint-Jouvent) et ne dépassent pas 5 % dans les autres lots nourris avec l'alimentation mixte.

La prévalence des infestations par *F. hepatica* est plus élevée dans les groupes de Saint-Michel-de-Veisse lorsque l'on utilise l'alimentation mixte. Ce résultat se retrouve dans le travail que Ismail et Haroun (2001) ont réalisé chez des bulins infestés par *Schistosoma haematobium*. L'interprétation de ce processus fait appel à l'hypothèse que nous avons formulée ci-dessus. La meilleure survie, due à l'emploi du Tetraphyll[®] vpmmr nourriture pour les mollusques, retentirait aussi sur la prévalence de l'infestation en permettant le maintien en vie de mollusques infestés qui normalement disparaissent au cours de la première semaine post-exposition.

Dans le cas de la première et de la deuxième expériences, le nombre de cercaires produites par chaque limnée nourrie avec l'alimentation mixte est augmenté d'un facteur allant de 2,7 à 3,9 fois par rapport aux chiffres recueillis dans les groupes témoins. Il existe donc une certaine constance dans les valeurs de cet accroissement mais celles-ci ne concernent que la population de Saint-Michel-de-Veisse. Comme cette stimulation de la production cercarienne dans les groupes Tetraphyll[®] est assez remarquable, il nous a semblé utile de déterminer pourquoi ce type d'alimentation induit la formation de nombreuses larves et leur sortie dans le milieu extérieur. De nombreuses explications peuvent être proposées. Comme les cercaires en développement se servent des réserves (glycogène, acides gras) que les rédies puisent dans les tissus de l'hôte (Gracyzk et Fried, 1999), on peut émettre l'hypothèse que le Tetraphyll[®] contiendrait de grandes quantités de glucides (dont le saccharose) et d'acides gras, ce qui permettrait aux limnées de constituer de grandes réserves lorsqu'elles consomment cette farine. Seul un dosage du Tetraphyll[®] sur le plan des glucides et des acides gras permettrait de confirmer ou d'infirmer cette supposition.

La troisième expérience montre l'existence d'une variabilité dans les paramètres de l'infestation fasciolienne lorsque l'on s'adresse à d'autres populations de *G. truncatula*. Ce point mérite des commentaires particuliers:

- La survie des mollusques au 30^e jour et la prévalence de l'infestation fasciolienne présentent de grandes variations par rapport à la colonie de *G. truncatula*. Cette variabilité dans les performances a déjà été constatée chez d'autres populations de Limnées tronquées lors d'infestations au laboratoire (Rondelaud et Dreyfuss, 1997). Plusieurs facteurs comme la génération du mollusque ou son état d'activité au moment de l'infestation ont été invoqués

par ces auteurs pour expliquer ce fait. D'après Rondelaud (1993), ce serait la fréquence des rencontres naturelles entre le parasite et son hôte intermédiaire qui détermine la sensibilité de la limnée à l'infestation: plus les rencontres seraient fréquentes, plus la survie des mollusques et la prévalence des infestations seraient élevées. Mais on ne peut exclure une variabilité génétique avec des caractéristiques propres à chaque population, même si l'intensité de la dérive est très faible (Trouve *et al.*, 2000).

- Des travaux réalisés par Denève (2002) et Guichard (2003) montrent que cette variabilité se retrouve aussi dans la production cercarienne de *F. hepatica*. Deux hypothèses peuvent être proposées pour commenter ces variations interpopulationnelles. La première serait de les expliquer par des différences dans la sensibilité de chaque population de limnées par rapport à l'infestation fasciolienne. Le travail de Rondelaud (1993) appuie cette interprétation. Une autre supposition, peut-être complémentaire de la première hypothèse, est d'invoquer l'appétence du Tetrphyll® qui ne serait pas la même pour toutes les populations de *G. truncatula*. Cette dernière conception s'appuie sur les variations individuelles que nous avons constatées dans le comportement des mollusques lorsqu'ils sont en présence de cette farine.

CONCLUSIONS

En conclusion, l'emploi du Tetrphyll®, en complément de la laitue romaine dégradée, dans l'alimentation de *G. truncatula* permet une meilleure survie au 30^e jour post-exposition, une prévalence plus élevée de l'infestation parasitaire et une production cercarienne plus importante. L'existence de variations individuelles dans la réponse des limnées vis-à-vis de cette farine nécessite de faire des recherches complémentaires en fonction de la nature des flocons qui la constituent (au moins quatre) afin de déterminer celui qui sera le plus consommé par les mollusques parasités (quelle que soit la population d'origine) et de l'utiliser pour la nourriture des limnées.

BIBLIOGRAPHIE

- ABROUS M., ROUMIEUX L., DREYFUSS G., RONDELAUD D. & MAGE C., 1998.- Proposition d'une technique simple pour la production métacercarienne de *Fasciola hepatica* Linné à partir du mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. *Rev. Méd. Vét.*, 149: 943-948.
- BRUCE J.J. & LIANG Y.S., 1992.- Cultivation of schistosomes and snails for researchers in the United States of America and other countries. *J. Med. Appl. Malacol.*, 4: 13-30.
- CONAWAY C.A., FRIED B. & SHERMA J., 1996.- Effects of restricted food intake on neutral lipid and free fatty acid levels in the digestive gland-gonad complex and faeces of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda). *Biomed. Chromatogr.*, 10: 186-188.

- DENÈVE C., 2002.- La production cercarienne de *Galba truncatula* infestée par *Fasciola hepatica* et nourrie avec une alimentation mixte. Étude de la variabilité interpopulationnelle. Mémoire, Stage d'initiation à la recherche, Faculté de Pharmacie de Limoges, 34 p.
- GRACZYK T.K. & FRIED B., 1999.- Development of *Fasciola hepatica* in the intermediate host. In: Fasciolosis, by DALTON, J.P., ed. CABI Publishing, Oxon, UK, 31-46.
- GUICHARD T., 2003.- L'impact d'une alimentation mixte: salade + Tetracyll®, sur le mollusque hôte: *Galba truncatula* O.F. Müller et la production cercarienne de plusieurs Digènes. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, 98 p.
- ISMAIL N.M. & HAROUN N.H., 2001.- Effect of various foods on *Biomphalaria alexandrina* and *Bulinus truncatus* and their susceptibility to schistosome miracidia. *J. Egypt. Soc. Parasitol.*, 31: 939-952.
- KENDALL S.B., 1949.- Nutritional factors affecting the rate of development of *Fasciola hepatica* in *Limnaea truncatula*. *J. Helminthol.*, 23: 179-190.
- KENDALL S.B. & OLLERENSHAW C.B., 1963.- The effect of nutrition on the growth of *Fasciola hepatica* in its snail host. *Proc. Nutr. Soc.*, 22: 41-46.
- MAGE C., BOURGNE H., TOULLIEU J.M., RONDELAUD D. & DREYFUSS G., 2002.- *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalences of natural infections in cattle and in *Limnaea truncatula* from central France over the past 12 years. *Vet. Res.*, 33: 439-447.
- MALEK E.A., 1962.- Laboratory guide and notes for medical malacology. Burgess Publishing Company, Minneapolis, U.S.A., 154 p.
- MOENS, R., 1991.- Factors affecting *Limnaea truncatula* populations and related control measures. *J. Appl. Med. Malacol.*, 3: 73-84.
- OLLERENSHAW C.B., 1971.- Some observations on the epidemiology of fascioliasis in relation to the timing of molluscicide applications in the control of the disease. *Vet. Rec.*, 88: 152-164.
- OSBORN G.D., GRON N. & SIMMONS D., 1982.- Maintenance and infection of the mud snail *Limnaea truncatula* for *Fasciola hepatica* studies. *J. Inst. Ani. Tech.*, 33: 1-5.
- PÉCHEUR M., 1974.- Lutte stratégique contre la distomatose. Comptes-rendus de recherches, Travaux du centre de recherches sur les maladies parasitaires des animaux domestiques. IRSIA, Bruxelles, n° 38, 85-150.
- REYNAL J.L., 2001.- Enquête épidémiologique sur les traitements appliqués contre la fasciolose et la paramphistomose bovine dans le Sud-ouest de la Corrèze. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, 83 p.

- RONDELAUD D., 1993.- Variabilité interpopulationnelle de l'infestation fasciolienne chez le mollusque *Lymnaea truncatula* Müller. Influence du contact préalable de la population avec le parasite. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 118: 185-193.
- RONDELAUD D. & DREYFUSS G., 1997.- Variability of *Fasciola* infections in *Lymnaea truncatula* as a function of snail generation and snail activity. *J. Helminthol.*, 71: 161-166.
- RONDELAUD D., ABROUS M. & DREYFUSS G., 2002.- The influence of different food sources on cercarial production in *Lymnaea truncatula* experimentally infected with *Digenea*. *Vet. Res.*, 33: 95-100.
- RONDELAUD D., VIGNOLES P., DREYFUSS G., VAREILLE-MOREL C., XUEREB F. & APOSTOLOFF C., 2000.- Cartographie de la répartition des Mollusques Lymnaeidae et d'espèces voisines dans la Basse-Marche (secteur nord de la Haute-Vienne). *Ann. Sci. Limousin*, 11: 1-18.
- SEVO S., 1973.- Technique de production des métacercaires. *Haliotis*, 3: 185-189.
- STAT-ITCF, 1988.- Manuel d'utilisation. Institut technique des céréales et des fourrages, Service des études statistiques, Boigneville, 210 p.
- TAYLOR E.L., 1965.- Fascioliasis and the liver fluke. FAO Agricultural Studies, Roma, Italy, n° 64, 235 p.
- TROUVE S., DEGEN L., MEUNIER C., TIRARD C., HURTREZ-BOUSSÈS S., DURAND P., GUÉGAN J.F., GOUDET J. & RENAUD F., 2000.- Microsatellites in the hermaphroditic snail, *Lymnaea truncatula*, intermediate host of the liver fluke, *Fasciola hepatica*. *Mol. Ecol.*, 9: 1662-1664.
- XUEREB F., 2001.- Les différentes espèces de Lymnaeidae dans la Basse-Marche (nord de la Haute-Vienne). Études cartographiques, écologiques et parasitologiques. Thèse Doct. Pharmacie, Limoges, 136 p.