## VETAGRO SUP CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2012 - Thèse n°

La paramphistomose bovine en France : évaluation de l'existence d'une relation entre le nombre d'œufs excrétés de Calicophoron daubneyi (Paramphistomum daubneyi) et la charge parasitaire chez l'animal et, réalisation d'une clé de diagnose adaptée aux espèces de paramphistomes décrites en France

# **THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 07 Décembre 2012

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Bailly Sandrine Née le 12 janvier 1987 à Melun (77)





#### **ENSEIGNANTS CAMPUS VETERINAIRE DE VETAGRO SUP**

NOM	Prénom	Grade	Unité Pédagogique
ALOGNINOUWA	Théodore	Professeur 1ere cl	Pathologie du bétail
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences hors cl	Gestion des élevages
ARCANGIOLI	Marie-Anne	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
ARTOIS	Marc	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
BECKER	Claire	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
BELLI	Patrick	Maître de conférences associé	Pathologie morphologique et clinique
BELLUCO	Sara	Maître de conférences cl normale	Pathologie morphologique et clinique
BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences cl normale	Equine
BENOIT	Etienne	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
BERNY	Philippe	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
BOULOCHER	Caroline	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
BOURDOISEAU	Gilles	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
BRUYERE	Pierre	Maître de conférences Contractuel	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
BUFF	Samuel	Maître de conférences cl normale	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
BURONFOSSE	Thierry	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
CACHON	Thibaut	Maître de conférences Contractuel	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
CADORE	Jean-Luc	Professeur 1ere cl	Pathologie médicale des animaux de compagnie
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
CAROZZO	Claude	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
CHABANNE	Luc	Professeur 1ere cl	Pathologie médicale des animaux de compagnie
CHALVET-MONFRAY	Karine	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
COMMUN	Loic	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
DEMONT	Pierre	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
DESJARDINS PESSON	Isabelle	Maître de conférences Contractuel	Equine
DJELOUADJI	Zorée	Maître de conférences stagiaire	Santé Publique et Vétérinaire
ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie
FAU	Didier	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
FOURNEL	Corinne	Professeur 1ere cl	Pathologie morphologique et clinique
FRANCK	Michel	Professeur 1ere cl	Gestion des élevages
FRIKHA	Mohamed- Ridha	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
GANGL	Monika	Maître de conférences Contractuel	Equine
GARNIER	François	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
GENEVOIS	Jean-Pierre	Professeur cl ex	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur 2eme cl	Biologie Fonctionnelle
GONTHIER	Alain	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
GRAIN	Françoise	Professeur 2eme cl	Gestion des élevages
GRANCHER GREZEL	Denis Delphine	Maître de conférences hors cl Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages Santé Publique et Vétérinaire
	'		'
GUERIN GUERIN-FAUBLEE	Pierre Véronique	Professeur 2eme cl Maître de conférences hors cl	Biotechnologies et pathologie de la reproduction Biologie fonctionnelle
HUGONNARD	Marine	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie

NOM	Prénom	Grade	Unité Pédagogique
JUNOT	Stéphane	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
KECK	Gérard	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
KODJO	Angeli	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
LACHERETZ	Antoine	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
LAMBERT	Véronique	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
LE-GRAND	Dominique	Maître de conférences hors cl	Pathologie du bétail
LEBLOND	Agnes	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences cl normale	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
LEPAGE	Olivier	Professeur 1ere cl	Equine
LOUZIER	Vanessa	Maître de conférences cl normale	Biologie Fonctionnelle
MARCHAL	Thierry	Maître de conférences hors cl	Pathologie morphologique et clinique
MIALET	Sylvie	Inspecteur de la santé publique vétérinaire (ISPV) faisant fonction de MC	Santé Publique et Vétérinaire
MOUNIER	Luc	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
PEPIN	Michel	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
PIN	Didier	Maître de conférences cl normale	Pathologie morphologique et clinique
PONCE	Frédérique	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie
PORTIER	Karine	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
PROUILLAC	Caroline	Maître de conférences cl normale	Biologie fonctionnelle
REMY	Denise	Professeur 2eme cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
ROGER	Thierry	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
SABATIER	Philippe	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
SAWAYA	Serge	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
SERGENTET	Delphine	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
THIEBAULT	Jean-Jacques	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
VIGUIER	Eric	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Maître de conférences Contractuel	Pathologie morphologique et clinique
ZENNER	Lionel	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire

## Remerciements

À Monsieur le Professeur BERLAND Michel, de la Faculté de Médecine de Lyon, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Hommage respectueux.

À Monsieur le Professeur Lionnel Zenner, de l'École Vétérinaire VetAgro Sup Lyon, pour ses enseignements, son soutien, ses précieux conseils. Sincère reconnaissance.

À Madame le Professeur Marie-Anne Arcangioli, de l'École Vétérinaire VetAgro Sup Lyon, qui nous fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse. Pour ses enseignements, ses qualités humaines et sa gentillesse. Sincère reconnaissance.

À Monsieur le Maître de conférence Patrick Belli, de l'École Vétérinaire VetAgro Sup Lyon, pour sa collaboration, son soutien, son sérieux et son dévouement. Profonde gratitude.

À Madame le Maître de conférence Karine Chalvet-Monfray, de l'École Vétérinaire VetAgro Sup Lyon, pour sa collaboration et ses précieux conseils. Profonde gratitude.

Sincères remerciements à Madame Nathalie Butty, CEVA Santé Animale, pour sa collaboration, sa disponibilité et son soutien.

Sincères remerciements au Docteur François Courouble pour sa collaboration, ses précieux conseils et ses qualités humaines.

Sincères remerciements au laboratoire CEVA Santé Animale pour avoir accompagné ce travail.

## Remerciements

À mon Grand-oncle si courageux,

À Rémi, mon Amour,

À mes Sœurs,

À ma cousine Élodie pour son aide si précieuse,

À mon Père,

À ma Mère,

À ma cousine Mylène et son Père qui ont toujours cru en moi,

Aux autres membres de ma famille que je ne vois plus beaucoup mais qui comptent beaucoup pour moi,

À mes amis de promo 2012 de l'ENVN,

À mes petits chiens qui me font rire aux éclats,

À ma vache limousine qui a participé à ce travail.

# Table des Matières

Liste d	des annexes	12
Liste d	des figures	13
Liste d	des tableaux	17
Table	des abréviations	19
INTRO	DDUCTION	21
	IIÈRE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE DES CONNAISSANCES ACQUISES SU MPHISTOMOSE BOVINE	
l.	ÉTIOLOGIE DE LA PARAMPHISTOMOSE BOVINE DUE A <i>C. DAUBNEYI</i> EN FRANCE	23
l.1	Définition	23
1.2	Présentation des paramphistomes potentiellement présents en France	24
1.3	Position taxinomique et classification	25
1.4	Synonymie	30
I.5 daubr	Caractères morphologiques et anatomiques des paramphistomes et de Cala	•
I.5.1	Œuf	30
1.5.2	Formes larvaires	32
1.5.3	Forme pré-imaginale	42
1.5.4	Forme imaginale	42
1.6	Biologie	57
I.6.1	Cycle évolutif	57
1.6.2	Hôtes intermédiaires	60
1.6.3	Hôtes définitifs	66
1.6.4	Facteurs influençant le cycle	66
1.6.5	Habitat	68
1.6.6	Nutrition	68
II.	DIAGNOSE D'ESPECE	69
II.1	Par histologie	69
II.1.1	Techniques de préparation	73
II.1.2	Éléments de diagnose	73
II.1.3	Clés de diagnose publiées	96
II.2	Par chétotaxie des formes larvaires	100
II.3	Par la taille des œufs	101
11.4	Par l'étude des hôtes intermédiaires	102
II.5	Par microscopie électronique	103

II.6	Par technique PCR	. 103
III.	MONOGRAPHIES DES ESPECES DE PARAMPHISTOMES DECRITES EN FRANCE DEPUIS 1945	. 105
IV.	Relation hôte-parasite	. 125
IV.1	Immunologie	. 125
IV.1.1	Pouvoir antigène	. 125
IV.1.2	Pouvoir immunogène	. 125
IV.1.3	Pouvoir allergène	. 126
IV.2	Pathogénie	. 126
IV.2.1	Action pathogène de la forme immature	. 127
IV.2.2	Action pathogène de la forme adulte	. 131
IV.3	Symptomatologie	. 134
IV.3.1	Paramphistomose pré-imaginale	. 134
IV.3.2	Paramphistomose imaginale	. 137
V.	Diagnostic et moyens de lutte	. 141
V.1	Méthodes de diagnostic	. 141
V.1.1	Épidémiologique	. 141
V.1.2	Clinique et thérapeutique	. 141
V.1.3	Différentiel	. 142
V.1.4	Coproscopique	. 142
V.1.5	Immunologique	. 149
V.1.6	Par la recherche des hôtes intermédiaires	. 151
V.1.7	A l'autopsie	. 151
V.2	Pronostic	. 152
V.3	Moyens de lutte	. 153
V.3.1	Prophylaxie sanitaire	. 153
V.3.2	Prophylaxie médicale	. 157
V.3.3	Traitement médical - Oxyclozanide	. 157
VI.	Épidémiologie de la paramphistomose bovine en France	. 166
VI. 1	Épidémiologie descriptive	. 166
VI.1.1	Animaux atteints	. 166
VI.1.2	Répartition géographique	. 167
VI.1.3	Répartition dans le temps	. 171
VI.1.4	Prévalence	. 173
VI.1.5	Taux de mortalité	. 179
VI.1.6	Importance économique	. 179
VI. 2	Épidémiologie analytique	. 180
VI.2.1	Sources de l'infestation	. 180
VI.2.2	Résistance du parasite et réservoirs	. 181

VI.2.3	Mode d'infestation et dose infestante	181
VI.2.4	Facteurs de risques	182
VI. 3	Épidémiologie synthétique	185
SECO	NDE PARTIE	188
la cha et réa	E EXPÉRIMENTALE : évaluation de l'existence d'une relation entre l'excrétion orge parasitaire de <i>Calicophoron daubneyi</i> ( <i>Paramphistomum daubneyi</i> ) che orisation d'une clé de diagnose pour l'identification des espèces de parampl oriellement présentes en France	ez le bovin, histomes
l.	Introduction	189
II.	Matériels et méthodes	190
II.1	Bovins retenus pour l'essai	190
II.2	Abattoir et prélèvements	190
II.3	Technique d'évaluation post mortem de la charge parasitaire	191
11.4	Technique d'examen coproscopique	191
II.5	Traitement des données issues de l'abattoir d'Autun	192
II.6	Réalisation d'une clé de diagnose des espèces de paramphistomes cités e	n France 192
II.7 d'Auti	Examens des lames histologiques et identification de parasites récoltés er un	
III.	Résultats	193
III.1	Relation entre la charge parasitaire et l'examen post mortem	193
III.2 métro	Clé de diagnose des espèces de paramphistomes potentiellement présent	
IV.	Discussion	215
CONC	CLUSION	219
BIBLIC	OGRAPHIE	220
ANNE	XES	229

# Liste des annexes

<u>Annexe 1 :</u> Technique de coproscopie quantitative du Dr François Courouble pour recherche des œufs de Paramphistomes et de Douves22	
Annexe 2 : Protocole de préparation des coupes histologiques de paramphistomes2	231
Annexe 3 : Documents utilisés à l'abattoir d'Autun2	:34
Annexe 4 : Document type tableur utilisé pour le recueil des données2	236
Annexe 5 : Illustration de la démarche de diagnose réalisée sur les paramphistomes préle	
à l'abattoir d'Autun, selon la clé mise au point pour les espèces de paramphistomes décr	ites
en France2	37

# Liste des figures

Figure n°1 : Paramphistomes fixés à la paroi du réseau d'un bovin	P. 24
Figure n°2 : Paramphistome adulte, vue ventrale	P. 25
Figure n°3 : Morphologie schématisée des trois familles d'Amphistomes	P. 27
Figure n°4 : Dessins anatomiques des trois familles d'amphistomes	P. 28
Figure n°5 : Position taxinomique des Distomes	P. 29
Figure n°6 : Position taxinomique des genres d'amphistomes ayant une répartition	
cosmopolite	P. 29
Figure n°7 : Schéma d'un œuf de paramphistome	P. 31
32 : Œuf de <i>P. cervi</i> , après 13 jours d'incubation à une température comprise entre	
 15 et 24°C	P. 31
Figure n°9 et n°10 : Œufs de paramphistomes déformés observés par coproscopie	
dans une solution de flottation de sulfate de zinc à 1,44 de densité	P. 32
Figure n°11 : Œufs de paramphistomes observés par coproscopie	P. 32
Figure n°12: Miracidium de <i>Paramphistomum sp.</i> après coloration au nitrate	
d'argent	P. 33
Figure n°13 : Miracidium de <i>Paramphistomum daubneyi</i> sans préparation	P. 34
Figure n°14 : Sporocyste de <i>P. cervi</i>	P. 35
Figure n°15 : Rédie mature de <i>P. cervi</i>	P. 36
Figure n°16 : Formes larvaires de <i>Paramphistomum cervi.</i>	P. 37
Figure n°17 : Schéma anatomique d'une cercaire de <i>C. daubneyi</i>	P. 38
Figure n°18 : Dessin d'une métacercaire de <i>P. cervi</i> .	P. 39
Figure n°19 : Photographie de métacercaires de <i>C. daubneyi</i>	P. 40
Figure n°20 : Dessin de métacercaires de <i>P. cervi</i> fixées sur un brin d'herbe.	P. 40
Figure n°21 : Vue macroscopique de paramphistomes prélevés en abattoir	P. 42
Figure n°22 : Vue macroscopique de différents paramphistomes de différentes	
tailles prélevés à l'abattoir d'Autun	P. 43
Figure n°23 : Anatomie générale de <i>C. daubneyi</i> d'après Dinnik, 1962	P. 44
Figure n°24 : Ouverture orale de <i>Calicophoron daubneyi</i> observé au microscope	
électronique	P. 46
Figure n°25 : Ultrastructure schématique du tégument de <i>P. cervi</i>	P. 46
Figure n°26 : Schéma de la membrane plasmique du tégument d'un paramphistome Figure n°27 : Photographie d'une coupe histologique du tégument d'un	P. 47
paramphistome	P. 49
Figure n°28 : Dessin de l'extrémité postérieure de <i>C. daubneyi</i> en coupe sagittale	
médiane	P. 49
Figure n°29 : Schéma d'une coupe médiale d'un acétabulum de Trématode	P. 50
Figure n°30 : Dessin de l'extrémité antérieure de <i>C. daubneyi</i> en coupe sagittale médiane	P. 51
Figure n°31 : Schéma de l'unité fonctionnelle du système excréteur protonéphridien	
des paramphistomes : la cellule flamme	P. 52
Figure n°32 : Schéma de la structure du système excréteur protonéphridien des	1.52
paramphistomes	P. 53
Figure n°33 : Schéma du système lymphatique d'un amphistome	P. 54
Figure n°34 : Schéma représentant les étapes de formation de l'œuf	P. 55
Figure n°35 : Dessin du génitalium terminal de <i>C. daubneyi</i> en coupe sagittale	1.33
médiane	P. 56
Figure n° 36 : Cycle évolutif des paramphistomes	P. 58
rigare ir 30 i aydie evoludii des paramphistoriles	50

Figure n°37 : Représentation schématique de la phase externe du cycle évolutif des	P. 59
paramphistomes	
Figure n°38 : Principales composantes de la coquille d'une limnée	P. 60
Figure n°39 : Schéma de la coquille d'un mollusque gastéropode de la Famille des	
Planorbes : Anisus contortus	P. 61
Figure n°40 : Schéma de la coquille d'un mollusque gastéropode de la famille des	
Bulins : <i>Bulinus truncatus</i> .	P. 61
Figure n°41 : Coquilles de Galba truncatula ayant des tours de spires étagés en	
« marches d'escalier » issues du département de l'Indre	P. 62
<u>Figure n°42 :</u> Dessin de <i>Galba truncatula</i>	P. 62
Figure n°43 : Localisation schématique des habitats de quatre espèces de limnées	
par rapport à la source et aux fossés de drainage, dans une prairie marécageuse de	
la région du limousin	P. 63
Figure n°44 : Générations annuelles de Galba truncatula	P. 64
<u>Figure n°45 :</u> Répartition géographique de <i>Galba truncatula</i>	P. 65
Figure n°46 : Coupe histologique de <i>Calicophoron daubneyi</i>	P. 74
Figure n°47 : Schéma anatomique de Calicophoron daubneyi	P. 75
Figure n°48 : Schéma théorique d'un acétabulum en coupe sagittale médiane	P. 78
Figure n°49 : Acétabulum de type paramphistomum et pisum avec la comparaison	
des couches musculaires circulaires externes dorsales 1 et 2	P. 79
Figure n°50 : Clé de diagnose des différents types d'acétabulum	P. 80
Figure n°51 : Schéma théorique d'un hémi-pharynx en coupe longitudinale selon	
une coupe sagittale médiale du parasite adulte et dessins du pharynx de type	
liorchis et de type calicophoron	P. 83
Figure n°52 : Clé de diagnose des différents types de pharynx	P. 84
Figure n°53 : Pharynx de type liorchis et calicophoron en coupe épaisse	P. 85
Figure n°54 : Pharynx de type liorchis et calicophoron en coupe fine	P. 85
Figure n°55 : Schémas des différents types de génitaliums terminaux présents chez	P. 86
les Paramphistomatidés	
Figure n°56 : Schéma théorique d'un génitalium terminal d'un Paramphistomatidé	
et dessins des types de génitalium terminaux retrouvés chez les espèces décrites en	P. 88
France	
Figure n°57 : Clé de diagnose des différents types de génitalium terminaux.	P. 90
Figure n°58 : Génitalium terminaux de différents types présents chez les différentes	
espèces de paramphistomes décrites en France	P. 91
<u>Figure n°59 : Pars musculosa</u> bien développée et peu développée	P. 92
Figure n°60 : Orientation dorsale et orientation ventrale d'une terminaison cæcale	
en vue latérale gauche	P. 93
Figure n°61: Clé de diagnose des sous-familles de Paramphistomatidés	P. 97
Figure n°62 : Clé de diagnose des genres de Paramphistomatidés	P. 97
Figure n°63 : Clé de diagnose des espèces du genre Calicophoron	P. 99
Figure n°64 : Clé de diagnose des espèces du genre Paramphistomum	P. 100
Figure n°65: Arbre phylogénétique construit avec l'analyse de la séquence ITS2 de	
l'ADN ribosomale de 8 espèces de paramphistomes d'Asie et d'Afrique identifiées	
préalablement par analyses morphologiques	P. 104
<u>Figure n°66 : Calicophoron daubneyi</u> Dinnik 1962	P. 106
Figure n°67: Calicophoron daubneyi Dinnik, 1962, observé au microscope	
électronique	P. 107
Figure n°68 : Dessins des organes clés de Calicophoron daubneyi Dinnik, 1962 en	

coupe sagittale médiale	P. 108
Figure n°69 : Calicophoron microbothrium Fischoeder, 1901	P. 110
Figure n°70 : Calicophoron microbothrium Fischoeder, 1901, observé au microscope	
électronique	P. 111
Figure n°71 : Schémas des organes clés de Calicophoron microbothrium Fischoeder,	
1901	P. 112
Figure n°72 : Paramphistomum cervi Zeder, 1790	P. 114
Figure n°73: Paramphistomum cervi Zeder, 1790, observé au microscope	
électronique	P. 115
Figure n°74: Schémas des organes clés de <i>Paramphistomum cervi</i> Zeder, 1790	P. 116
Figure n°75: Paramphistomum ichikawai Fukui, 1922	P. 118
· ·	P. 110
Figure n°76: Paramphistomum ichikawai Fukui, 1922, observé au microscope	D 110
électronique	P. 119
Figure n°77 : Organes clés de <i>Paramphistomum ichikawai</i> Fukui, 1922	P. 120
Figure n°78: Paramphistomum leydeni Näsmark, 1937	P. 122
Figure n°79 : Paramphistomum leydeni Näsmark, 1937, observé au microscopie	
électronique	P. 123
Figure n°80 : Schéma de l'acétabulum et du pharynx de Paramphistomum leydeni	P. 124
Näsmark, 1937	
Figure n°81 : Schéma du génitalium terminal de Paramphistomum leydeni, Näsmark,	
1937	P. 124
Figure n°82: Lésions intestinales dues aux formes pré-imaginales du parasite	P. 129
Figure n°83 : Vue rapprochée des lésions intestinales dues aux formes pré-	
imaginales du parasite	P. 129
Figure n°84 : Produit de raclage d'une muqueuse duodénale infestée par des formes	
pré-imaginales de paramphistomes chez un jeune bovin	P. 130
Figure n°85 : Coupe histologique observée au microscope optique d'un	
paramphistome fixé à la paroi ruminale par son acétabulum formant un « bouton de	
paramphistomose »	P. 132
Figure n°86 : Paramphistome fixé à la muqueuse digestive du rumen d'un bovin	P. 133
Figure n°87 : Bouton de paramphistomose	P. 134
Figure n°88 : Œufs de Trématodes observés à l'examen coproscopique utilisant une	1.154
solution de flottaison	P. 145
Figure n°89 : Clé de diagnose des œufs des principaux trématodes présents en	P. 146
	P. 140
France	D 140
Figure n°90: Moyenne d'o.p.g. mensuelle de <i>F. hepatica</i> et de <i>C. daubneyi</i> , issus de	P. 148
bovins naturellement infestés en Corrèze entre 1990 et 1999	5 450
Figure n°91 : Zonitoides nitidus réalisant un acte de prédation sur une Limnée	P. 153
Figure n°92 : Concept de lutte intégrée contre les paramphistomes	P. 156
Figure n°93 : Structure chimique de l'oxyclozanide	P. 157
Figure n°94 : Répartition des différentes espèces de paramphistomes en Europe	P. 169
Figure n°95 : Prévalence mensuelle de <i>F. hepatica</i> et de <i>C. daubneyi,</i> chez des bovins	
naturellement infestés en Corrèze	P. 172
Figure n°96 : Prévalence de limnées tronquées naturellement infestées par <i>C.</i>	
daubneyi	P. 176
Figure n°97 : Départements reconnus infestés entre 1989 et 2005	P. 177
Figure n°98 : Variations annuelles de la prévalence des bovins de Corrèze infestés	
naturellement par <i>C. daubneyi</i>	P. 177
Figure n°99 : Prévalence de l'infestation des bovins par les paramphistomes, en	
France, en 2010 et en 2011	P. 178

Figure n°100 : Évolution quantitative des formes pré-imaginale et imaginales de C.	
daubneyi sur les pâtures et chez les ruminants en fonction des œufs rejetés dans les	
fèces et des générations de limnées	P. 186
Figure n°101 : Diagramme du parasitisme dû aux Paramphistomatinés chez les	
ruminants et relations milieu-hôte-parasite en région tempérée	P. 187
Figure n°102 : Nombre moyen de paramphistomes observés en fonction des classes	
d'o.p.g. avec les écarts-types associés	P. 197
Figure n°103 : Distribution du nombre de paramphistomes selon les quatre classes	
d'o.p.g	P. 198
Figure n°104 : Nombre de paramphistomes en fonction du nombre d'o.p.g	P. 200
Figure n°105 : Clé de diagnose adaptée aux différentes espèces des paramphistomes	P. 203
potentiellement présentes en France	
Figure n°106 : Clé de diagnose illustrée des espèces de paramphistomes	
potentiellement présentes en France	P. 204
Figure n°107 : Clé de diagnose illustrée des deux types de pharynx retrouvés chez les	
espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France	P. 205
Figure n°108 : Clé de diagnose illustrée des différents types de génitaliums	
terminaux présents chez les espèces de paramphistomes potentiellement présentes	
en France (Partie 1 / 2)	P. 206
Figure n°109 : Clé de diagnose illustrée des différents types d'atriums génitaux	
présents chez les espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France	
(Partie 2 / 2 )	P. 207
Figure n° 110 : Démarche illustrée pour la diagnose du génitalium terminal de type	
microbothrium	P. 208
Figure n°111 : Démarche illustrée pour la diagnose du génitalium terminal de type	
ichikawai	P. 209
Figure n°112 : Démarche illustrée pour la diagnose du génitalium terminal de type	
leydeni	P. 210
Figure n°113 : Démarche illustrée pour la diagnose du génitalium terminal de type	
gracile	P. 211
Figure n°114 : Clé de diagnose illustrée des deux types d'acétabulum des	
paramphistomes potentiellement présents en France	P. 212

# Liste des tableaux

<u>Tableau I :</u> Caractères anatomiques et biologiques majeurs des formes larvaires des	P. 41
paramphistomes	
<u>Tableau II :</u> Longueur et largeur du corps de différentes espèces de paramphistomes	
au stade adulte	P. 43
<u>Tableau III :</u> Critères d'identification de <i>Galba truncatula</i>	P. 63
<u>Tableau IV :</u> Différents genres et espèces de Paramphistomatidés cosmopolites	P. 72
<u>Tableau V :</u> Premières identifications des paramphistomes retrouvés en France	P. 73
<u>Tableau VI:</u> Espèces décrites en France et leur type d'acétabulum, de pharynx et de	
génitalium terminal	P. 94
<u>Tableau VII :</u> Comparaison des critères morphologiques et biologiques de <i>C</i> .	
microbothrium et de C. daubneyi	P. 95
<u>Tableau VIII:</u> Dimensions des œufs de différentes espèces de paramphistomes	P. 102
<u>Tableau IX</u> : Dimensions anatomiques de <i>C. daubneyi</i>	P. 106
<u>Tableau X :</u> Dimensions anatomiques de <i>Calicophoron microbothrium</i>	P. 110
<u>Tableau XI :</u> Dimensions anatomiques de <i>Paramphistomum cervi</i>	P. 114
<u>Tableau XII :</u> Dimensions anatomiques de <i>Paramphistomum ichikawai</i>	P. 118
<u>Tableau XIII :</u> Dimensions anatomiques de <i>Paramphistomum leydeni</i>	P. 122
<u>Tableau XIV</u> : Signes cliniques associés à la paramphistomose pré-imaginale	P. 136
<u>Tableau XV :</u> Anomalies hématologiques et biochimiques mises en évidence chez les	
animaux atteints de paramphistomose pré-imaginale	P. 137
<u>Tableau XVI</u> : Signes cliniques de la paramphistomose due aux formes adultes du	
parasite	P. 138
<u>Tableau XVII :</u> Tableau lésionnel et clinique de la paramphistomose pré-imaginale et	
de la paramphistomose imaginale chez les bovins	P. 140
<u>Tableau XVIII :</u> Composition des différentes solutions denses	P. 145
<u>Tableau XIX</u> : Éléments de diagnose différentielle entre les œufs de paramphistomes	
et les œufs de grandes douves	P. 146
<u>Tableau XX :</u> Essais thérapeutiques utilisant l'oxyclozanide sur les formes adultes du	
parasite	P. 159
<u>Tableau XXI :</u> Essais thérapeutiques utilisant l'oxyclozanide sur les formes immatures	
du parasite	P. 160
<u>Tableau XXII :</u> Spécialités vétérinaires disponibles en France destinées aux ruminants	
contenant de l'oxyclozanide	P. 163
<u>Tableau XXIII :</u> Limites maximales de résidus pour l'oxyclozanide	P. 163
<u>Tableau XXIV</u> : Protocoles thérapeutiques permettant de lutter contre l'infestation	
par les paramphistomes	P. 165
<u>Tableau XXV :</u> Présence des paramphistomes sur le continent européen	P. 168
<u>Tableau XXVI</u> : Paramphistomes identifiés en France	P. 171
<u>Tableau XXVII :</u> Prévalence de l'infestation mise en évidence dans différentes régions	
ou départements français	P. 174
<u>Tableau XXVIII :</u> Pourcentages de prévalence selon le type et les classes d'âge des	
bovins examinés à Autun en janvier 2012	P. 194
<u>Tableau XXIX</u> : Pourcentage de prévalence selon la région de provenance des animaux	P. 195
<u>Tableau XXX :</u> Sensibilité et spécificité de l'examen coproscopique	P. 196
<u>Tableau XXXI :</u> Nombres moyens de paramphistomes observés dans les ensembles	<b>5</b>
rumen-réseau en fonction des classes d'o.p.g.	P. 197
<u>Tableau XXXII</u> : Nombre d'o.p.g. par classe de nombre de paramphistomes	P. 198

<u> Tableau XXXIII :</u> Test de Kruskal-Wallis	P. 199
<u>Tableau XXXIV :</u> Test de Wilcoxon	P. 199
Tableau XXXV : Régression linéaire et corrélation entre le nombre de paramphistomes	
adultes et le nombre d'o.p.g.	P. 200
Tableau XXXVI : Test de Spearman	P. 201
Tableau XXXVII: Résultat d'identification des paramphistomes récoltés en abattoir	P. 213
Tableau XXXVIII : Mesures, moyennes et écarts-types des différents éléments de	
diagnose relevés et calculés à partir des 6 lames réalisées avec les paramphistomes	
prélevés à Autun	P.214

## Table des abréviations

Acet.: acétabulum

AMM : autorisation de Mise sur le marché

ANOVA: Analysis of variance

C. daubneyi: Calicophoron daubneyi

C. microbothrium: Calicophoron microbothrium

E.E.: extensity effect

E.L.I.S.A.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

E. type : écart type FN : faux négatif FP : faux positif

France\* : France métropolitaine I.C. : intervalle de confiance

I.E.: intensity effect

L : longueur l : largeur

LMR : limite maximale de résidu

Moy.: moyenne n.v.: non visible

o.p.g. : œufs par gramme de fèces

P. ichikawai : Paramphistomum ickikawai

P. cervi : Paramphistomum cervi P. leydeni : Paramphistomum leydeni P.C.R. : Polymerase Chain Reaction

Ph.: pharynx P: p-value VN: vrai négatif VP: rai positif

VPN : valeur prédictive négative VPP : valeur prédictive positive

#### **INTRODUCTION**

En France, la paramphistomose gastroduodénale bovine attire, depuis une dizaine d'années, l'attention des vétérinaires praticiens qui sont de plus en plus confrontés à cette parasitose comme en témoigne la littérature récente.

En Europe, selon différents auteurs, plusieurs espèces de Paramphistomatidés ont été identifiées. Cependant, en France, l'infestation des bovins ne semble n'être due qu'à *Calicophoron daubneyi*. L'infestation des bovins par le parasite *Calicophoron daubneyi*, anciennement dénommé *Paramphistomum daubneyi*, est encore aujourd'hui peu connue des éleveurs. De plus, le protocole thérapeutique, utilisé pour lutter contre cet amphistome, fait rarement partie des protocoles de soins mis en place dans le cadre de la prescription-délivrance comme cela existe pour lutter contre d'autres trématodes des zones humides telles que la grande douve du foie (*Fasciola hepatica*). C'est aussi une infestation parasitaire encore peu recherchée et peu diagnostiquée.

Pour le vétérinaire praticien, cette maladie ne peut être traitée qu'en utilisant le cadre réglementaire de la « cascade », » car aucun médicament vétérinaire ne possède d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) avec l'indication « traitement de la paramphistomose bovine ».

Cette maladie parasitaire n'a suscité que peu d'intérêt dans les années qui ont suivi sa découverte en France, en 1938, chez les professionnels de la santé animale. En effet, l'infestation par *Calicophoron daubneyi*, et par les paramphistomes plus généralement, était considérée comme peu pathogène du fait du grand nombre de ruminants porteurs sains observés à l'abattoir notamment. Mais, face à la multiplication du nombre de cas cliniques et face à son apparente extension en France, cette maladie parasitaire suscite de nouveau l'intérêt des vétérinaires et des parasitologues.

L'augmentation de la prévalence de la paramphistomose dans les troupeaux français des zones allaitantes (régions du Charolais et du Limousin), mise en évidence par Dorchies (1989) et Dorchies et al. (1998), peut être expliquée en partie par l'apparition d'antiparasitaires de nouvelle génération, uniquement actifs contre la grande douve du foie. Leur utilisation massive a pu contribuer à libérer une niche écologique. De plus, le caractère cumulatif du parasite, capable de persister plusieurs années dans le rumen avec des infestations répétées non contrôlées par l'immunité de l'animal, est probablement à l'origine d'infestations massives avec des animaux porteurs de plusieurs milliers de parasites, et de l'augmentation de la prévalence au sein des troupeaux.

Le diagnostic de l'infestation du vivant de l'animal se fait par coproscopie qui nécessite du fait du poids des œufs un liquide de flottaison très dense, le sulfate de zinc ou l'iodomercurate de potassium. Cependant, la relation entre le nombre de paramphistomes présents dans le rumen et le réseau du bovin et le résultat quantitatif de l'examen coproscopique doit encore être démontrée en se fondant sur une évaluation quantitative du niveau d'infestation. C'est l'un des deux principaux travaux qui constituent la partie II de cette présente thèse. Le dénombrement de paramphistomes sur des panses issues de bovins abattus a été associé au prélèvement de fèces *ante mortem*. De plus, dans l'hypothèse où il existerait en France différentes espèces de paramphistomes, responsables des tableaux cliniques différents, un second travail a consisté à réaliser une clé de diagnose pour les

espèces de paramphistomes décrites en France. Cette clé a été de plus testée et a été utilisée pour identifier des paramphistomes prélevés à l'abattoir d'Autun (71).

Pour des raisons de souplesse de lecture et d'écriture, et pour ne pas faire référence à un quelconque genre, le terme « paramphistomes » dans cet écrit est dit synonyme des Paramphistomatinés décrits en France, depuis 1938, appartenant au genre *Paramphistomum* et au genre *Calicophoron* selon Eduardo (1982a et 1982b) et uniquement au genre *Paramphistomum* selon les publications plus anciennes.

L'infestation par les paramphistomes et les maladies associées seront décrites sous le terme de « paramphistomoses ». « La paramphistomose larvaire » est dans cet écrit présentée sous le terme de « paramphistomose pré-imaginale ».

L'utilisation du terme d'amphistome pour désigner les Paramphistomatinés permettrait de ne plus faire référence au genre. La maladie associée serait alors l'amphistomose. Cependant, les amphistomes décrits en France étant majoritairement connus sous le terme « paramphistomes », il a été choisi, ici, de le conserver dans la mesure où il est considéré comme synonyme de Paramphistomatinés. Ce choix a notamment été fait par certains auteurs pour l'étude des Gastrothylacidés et des Gastrodiscidés. De sorte que, le terme « paramphistome » est synonyme de Paramphistomoidea dans leurs articles.

Lorsque les espèces de paramphistomes de France sont citées, il s'agit exclusivement de celles décrites en France métropolitaine.

# PREMIÈRE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE DES CONNAISSANCES ACQUISES SUR LA PARAMPHISTOMOSE BOVINE

# I. ÉTIOLOGIE DE LA PARAMPHISTOMOSE BOVINE DUE A *C. DAUBNEYI* EN FRANCE

#### I.1 DEFINITION

La paramphistomose est une amphistomose, c'est-à-dire, une helminthose des mammifères herbivores, du porc et parfois de l'homme due au développement de Trématodes Digènes de l'ordre des Distomes (Lefèvre et al., 2003). Cependant, seuls les Gastrodiscidés et Gastrothylacidés sont responsables de nos jours d'infestation et de maladie chez l'homme (Lotfy et al., 2010).

Les amphistomoses ont une répartition mondiale. Ces helminthoses sont bien connues des pays tropicaux où elles entraînent chez les animaux, infestés par des paramphistomes hématophages, des entérites graves associées à une anémie chronique (Lefèvre et al., 2003). Au contraire, en France, la paramphistomose, causée par des paramphistomes chymivores (Guilhon et Priouzeau, 1945), est rarement observée. Cependant, d'après plusieurs auteurs, l'infestation par les paramphistomes est en extension chez les troupeaux bovins français (Dorchies et al., 1998; Doré et al., 2012).

En France, la paramphistomose bovine, encore appelée paramphistomose gastroduodénale bovine, est consécutive à l'infestation des réservoirs gastriques des bovins par des paramphistomes. L'espèce communément incriminée est *Calicophoron daubneyi*. Toutefois, dans une moindre mesure, l'infestation pourrait être due à d'autres espèces de paramphistomes, comme cela a pu être décrit par le passé par Neveu-Lemaire (1936) avec *P. cervi* en Corse ou par Eduardo (1982b) avec *P. ichikawai* dans l'est de la France.

Calicophoron daubneyi a été décrit pour la première fois en 1962 par Dinnik au Kenya. Depuis, le parasite adulte a été retrouvé dans le rumen de différents ruminants d'Afrique et d'Europe entre autres (Eduardo 1983). Son action pathogène chez l'homme a d'abord été suspectée puis écartée. La paramphistomose à Calicophoron daubneyi, dont le

parasite faisait anciennement partie du genre *Paramphistomum (nom d'espèce : Paramphistomum daubneyi),* est uniquement présente chez les ruminants.

Cette maladie existe sous deux formes : la forme « larvaire » ou pré-imaginale associée à la forme aiguë la plus grave, mais la plupart du temps asymptomatique due à l'infestation par le stade pré-imaginal (adolescaria) du parasite, et la forme imaginale de la maladie, due à la fixation de parasites adultes sur la muqueuse digestive du rumen et du réseau du bovin. Cette dernière forme est le plus souvent chronique, voire asymptomatique, mais peut parfois prendre l'aspect d'une forme aiguë (voir figure n°1). Il est à noter qu'une confusion existe entre l'aspect clinique de la maladie, aiguë ou chronique, et l'agent étiologique de la maladie, présent sous sa forme pré-imaginale ou adulte.



Figure n°1 : Paramphistomes fixés à la paroi du réseau d'un bovin. Cadre de 10 cm de côté. Photo : Bailly S.

# I.2 PRESENTATION DES PARAMPHISTOMES POTENTIELLEMENT PRESENTS EN FRANCE

Le parasite adulte a un corps épais, faisant exception chez les Plathelminthes. Le corps est non segmenté, comme l'ensemble des Trématodes, court et légèrement incurvé faisant 6 à 10 mm de long pour 1,5 à 3 mm de large. L'extrémité antérieure est plus effilée que l'extrémité postérieure, ce qui lui donne une forme de poire. Le corps est dépourvu de cavité générale : les paramphistomes sont des organismes acœlomates.

Le parasite possède deux ventouses : une ventouse buccale située à l'extrémité antérieure et une ventouse postérieure, aussi appelée acétabulum, située à l'extrémité

postérieure en position amphiterminale comme l'ensemble des paramphistomes (Euzeby, 1975). La forme pré-imaginale ou *adolescaria* du parasite est rouge, en relation avec son caractère hématophage. Puis, le parasite devient rose lorsqu'il atteint la forme adulte dont le régime est chymivores (voir la figure n°2). La forme pré-imaginale est souvent à tort dénommée paramphistomose « larvaire ». Car, les formes larvaires du parasite sont le miracidium, le sporocyste, la rédie, ainsi que la cercaire et la métacercaire et se développent dans le milieu extérieur. Il est donc préférable de parler de la paramphistomose pré-imaginale.



Figure  $n^{\circ}2$ : Paramphistome adulte, vue ventrale. Longueur: 10 mm. Photo: Bailly S.

Ce parasite possède un cycle évolutif dixène très proche de celui de *Fasciola hepatica* car ils ont en commun les gastéropodes d'eau douce pour hôtes intermédiaires et les bovidés entre autres comme hôtes définitifs. Ainsi, les animaux s'infestent généralement au pâturage dans des zones humides voire marécageuses.

#### 1.3 Position taxinomique et classification

De nombreuses classifications se sont succédé au cours du temps. La complexité de leur classification vient du grand nombre d'espèces et des difficultés de leur identification (Dorchies, 1989). C'est en particulier la classification des Paramphistomatidés qui pose encore problème.

Ces classifications sont fondées sur l'observation de l'anatomie des parasites adultes ou sur l'étude des structures argyrophyles des formes larvaires. Aucun consensus de la part des spécialistes n'a été actuellement trouvé du fait de la confusion qui subsiste quant aux

critères d'identification des genres et des espèces de parasites (Lefèvre et al., 2003). La classification la plus récente citée dans la littérature des années 2000 est celle d'Eduardo publiée entre 1982 et 1985.

#### Position taxinomique de Calicophoron daubneyi Dinnik, 1962 :

La taxinomie est la science de la classification des êtres vivants. D'après Euzeby (1975), Calicophoron daubneyi (Paramphistomum daubneyi) est un animal triblastique acœlomate de l'embranchement des Plathelminthes, de la classe des Trématodes Digènes, de l'Ordre des Distomes, du Sous-ordre des Paramphistomoidea, de la Famille des Paramphistomatidés. Avant la révision de la classification des paramphistomes d'Eduardo (1982b) Calicophoron daubneyi appartenait au genre Paramphistomum. Depuis cette révision, P. daubneyi est devenu C. daubneyi et se classe dans le genre Calicophoron (Eduardo, 1982b).

#### L'embranchement des Plathelminthes

Les Plathelminthes sont des « vers plats ». Ils se caractérisent par un corps aplati, rubané ou foliacé (à l'exception des Paramphistomoidea et des schistosomes femelles), un parenchyme mésodermique dense, un appareil génital généralement double et un appareil digestif polymorphe rarement pourvu d'anus.

#### La classe des Trématodes

Les Trématodes se caractérisent par un corps non segmenté, une forme foliacée parfois conique ou filiforme et une surface corporelle particulière. Le corps des Trématodes est recouvert d'un glycocalyx filamenteux reposant sur le tégument muni parfois d'épines. Ils possèdent une ou plusieurs ventouses. Il en existe différents types : la ventouse buccale s'ouvrant sur une bouche, la ventouse ventrale ou postérieure aussi appelée acétabulum, la ventouse génitale appelée gonotyl, et les pseudo-ventouses. De plus, les Trématodes se distinguent par un tube digestif composé d'un pharynx très musculeux chez les espèces hématophages, d'un intestin divisé en deux branches, ramifiées ou non, allongées latéralement, se terminant soit par des branches cæcales à terminaisons aveugles, soit en orifices anaux. L'appareil excréteur des Trématodes est constitué de cellules protonéphridiennes reliées à une vésicule excrétrice par des canaux latéraux. Les Trématodes sont généralement hermaphrodites, possèdent un ou plusieurs testicules, et un ovaire. Le canal déférent et la terminaison de l'utérus sont ouverts dans un atrium génital. Les hôtes définitifs des Trématodes sont toujours des vertébrés (Euzeby, 2008).

#### La sous-classe des Digènes

Les Digènes ont un cycle évolutif faisant intervenir un hôte intermédiaire et un mammifère pour hôte définitif. Ceux-ci possèdent généralement une ou deux ventouses, une ventouse antérieure buccale et un acétabulum, mais une ventouse génitale, ou gonotyl, est parfois présente. Les Digènes ont pour hôtes définitifs les animaux vertébrés. Les hôtes intermédiaires quant à eux peuvent être soit des animaux vertébrés, tels que des poissons, soit des invertébrés tels que des insectes ou des mollusques gastéropodes (Euzeby, 2008).

#### L'ordre des Distomes

Les Distomes sont des Trématodes Digènes qui se caractérisent par la présence de deux ventouses donnant l'aspect d'un organisme à deux bouches. C'est de cet aspect que leur vient le qualificatif « Distome ». La ventouse antérieure est la ventouse buccale et la ventouse postérieure est l'acétabulum.

#### Le sous-ordre des Paramphistomoidea (Amphistomes)

Les amphistomes sont des Trématodes Distomes qui se caractérisent par la présence d'une ventouse buccale et d'un acétabulum situés à l'opposé l'un de l'autre et présents à chaque extrémité du corps (Sey, 1988). Le sous-ordre des amphistomes dans la classification actuelle compte plusieurs familles. La famille des Paramphistomatidés regroupe des individus régulièrement coniques sans poche ventrale. La famille des Gastrothylacidés regroupe des individus au corps régulièrement conique pourvu d'une poche ventrale. La famille des Gastrodiscidés regroupe des individus aux corps irrégulièrement coniques et divisés en deux parties (Lefèvre et al., 2003). D'autres familles sont parfois classées dans le Sous-ordre des amphistomes dont le synonyme est Paramphistomoidea (Jones et al., 2005).

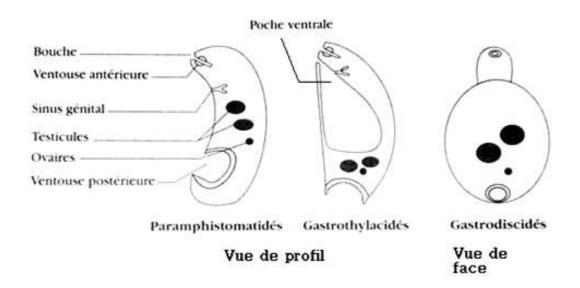


Figure n°3 : Morphologie schématisée des trois familles d'Amphistomes. D'après Lefèvre et al., 2003.

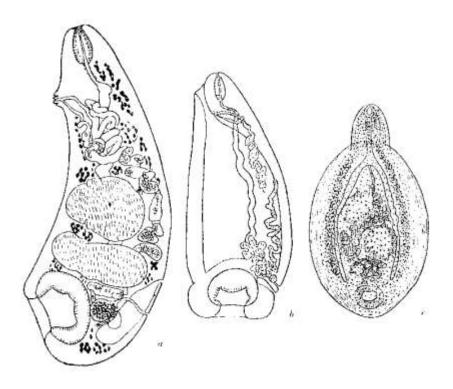


Figure n°4 : Dessins anatomiques des trois familles d'amphistomes. Légende : a : Paramphistomatidé (coupe médiane) ; b : Gastrothylacidé, avec présence d'une poche ventrale (coupe médiane) ; c : Gastrodiscidé : corps segmenté (vu de face). D'après Jones et al., 2005.

#### La famille des Paramphistomatidés et sous-famille des Paramphistomatinés

Le corps des parasites adultes est régulièrement conique sans poche ventrale et sans sac pharyngien primaire (Sey, 1988). Cette famille compte deux sous-familles : les Paramphistomatinés et les Orthocœlinés uniquement présents en Afrique, Asie et Australie.

La famille des Paramphistomatidés contient des genres ayant une répartition géographique cosmopolite et des genres retrouvés uniquement dans les régions tropicales. Or, les espèces retrouvées en Europe font partie des genres ayant une répartition cosmopolite. Nous nous limiterons dans cette étude aux parasites pouvant être rencontrés en France et donc aux genres cosmopolites tels que *Paramphistomum*, *Cotylophoron* et *Calicophoron*.

C'est dans ce dernier genre, du fait de la présence d'une *pars musculosa* bien développée, au niveau du génitalium terminal, qu'est classée *Calicophoron daubneyi* anciennement dénommée *Paramphistomum daubneyi* (Eduardo, 1983).

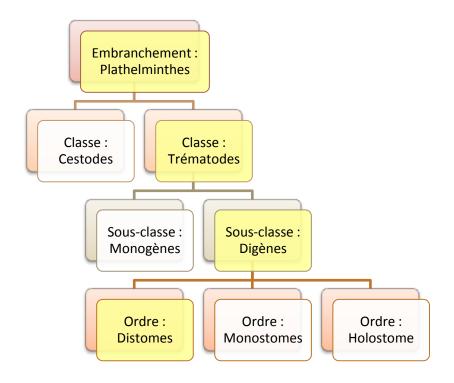


Figure n° 5 : Position taxinomique des distomes

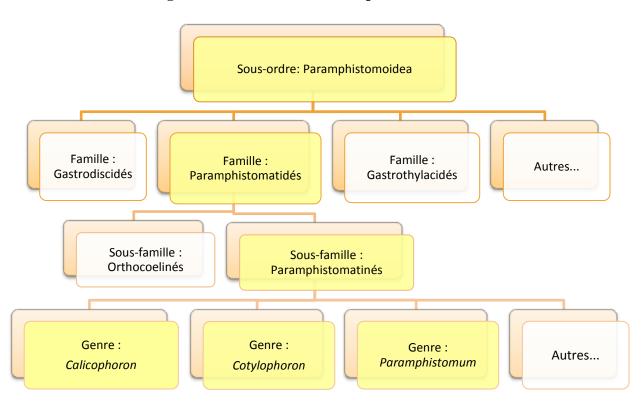


Figure n°6: Position taxinomique des genres d'amphistomes ayant une répartition cosmopolite. D'après Jones et al., 2005.

#### I.4 SYNONYMIE

Par le passé, le paramphistome *Calicophoron daubneyi* (*Paramphistomum daubneyi*), décrit pour la première fois par Dinnik en 1962 au Kenya, a été renommé plusieurs fois. Les synonymes utilisés pour cette espèce, d'après Postal (1984) sont : *Paramphistomum daubneyi* Dinnik, 1962 ; *Calicophoron ijimai* de Mihailova et al. (1974) ; *Cotylophoron cotylophorum* de Gentile et al. (1977) ; *Paramphistomum botriophorum* de Mihailova et al. (1974) ; *Paramphistomum microbothrium* de Kotlan (1958), de Kotrla (1974), de Kamburov (1976, 1977) ; *Paramphistomum microbothrioides* d'Erhardova (1964), de Kotlan (1958, 1960).

# I.5 CARACTERES MORPHOLOGIQUES ET ANATOMIQUES DES PARAMPHISTOMES ET DE *CALICOPHORON DAUBNEYI*

#### 1.5.1 ŒUF

Les œufs des Paramphistomatidés sont des œufs operculés de grande taille. D'après Dinnik, qui a découvert  $\it C.~daubneyi$  au Kenya en 1962, les œufs de cette espèce mesurent entre 127 à 140  $\mu$ m de long sur 59 à 75  $\mu$ m de large. En Europe, les œufs de  $\it C.~daubneyi$  mesurent entre 116  $\mu$ m et 147  $\mu$ m de long et entre 60  $\mu$ m et 73  $\mu$ m (Sey, 1979).

Näsmark (1937) et Euzeby (1975) entre autres se sont attachés à décrire la taille des œufs espèce par espèce pour les Paramphistomatidés. Mais, il a été décrit que la taille des œufs variait selon l'espèce de paramphistome, au sein d'une même espèce, au sein d'une même ponte (Sey, 1972 ; Kraneburg, 1977 ; Odening et al., 1979 - cités par Postal, 1984) et selon l'espèce d'hôte définitif (Rieu, 2004). Ainsi, selon les espèces de paramphistomes, la taille des œufs varie de 125 à 180  $\mu$ m de long sur 50 à 100  $\mu$ m de large (Dorchies et al., 2000).

Les bords de l'œuf ne sont pas parallèles et les pôles sont inégaux. En effet, le pôle operculaire de l'œuf est plus pointu que le pôle opposé (Euzeby, 1975). L'œuf immature contient 4 à 8 blastomères entourés d'une cinquantaine cellules vitellines au début de la segmentation. Après quelques jours, l'embryon devient visible et se place près de l'opercule de l'œuf. Après 10 jours, l'embryon mesure entre 120  $\mu$ m et 150  $\mu$ m et semble être prêt à éclore (Sey, 1979). Ainsi, le syncytium embryonnaire est parfois bien visible au centre de l'œuf observé entre lame et lamelle (Dorchies et al., 2000 ; Yamaguti, 1975).

La formation des œufs de paramphistomes a d'abord été étudiée chez P. cervi. Elle débute dans l'ootype, le conduit entouré par les cellules de la glande de Mehlis et faisant suite à l'oviducte (voir le schéma du chapitre concernant l'appareil reproducteur de la forme imaginale). La masse ovigère se compose alors d'un ovocyte, de spermatozoïdes et de cellules vitellines. La glande de Mehlis sécrète des lipoprotéines formant la première membrane entourant cette masse. Des globules contenant les précurseurs de kératine se fixent sur cette première membrane et fusionnent pour former la coque de l'œuf (Gupta, Parshad et Guraya, 1987).

L'éclosion de l'œuf dépend des conditions climatiques auxquelles il est soumis. Après 12 à 15 jours passés à 27°C, dans des conditions climatiques favorables, le miracidium sort

de l'œuf (Sey, 1979). À 20°C, il faut 20 jours pour que l'œuf éclose (Szmidt-Adjidé et al., 1996). C'est l'ordre de grandeur du mois qu'il faut considérer sous notre climat tempéré (De Waal, 2010). Un stimulus lumineux est aussi nécessaire pour que les œufs éclosent. Les œufs de paramphistomes gardés à l'obscurité et à plus de 15°C restent inertes tandis que lorsqu'ils sont placés à la lumière, ils éclosent (Yamaguti 1975 d'après Loss, 1900).

À l'examen coproscopique, ces œufs, par leur forme et leur grande taille, ressemblent beaucoup à ceux de *Fasciola hepatica*. C'est la couleur qui permet de différencier les œufs de chaque espèce : l'œuf de *Fasciola hepatica* - du fait de la fixation de pigments biliaires - est jaune-brun alors que l'œuf de paramphistome est transparent incolore à gris-vert (Euzeby, 1975)

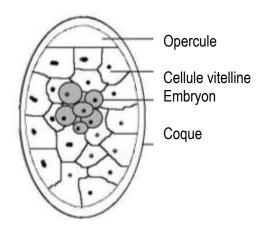


Figure n°7: Schéma d'un œuf de paramphistome. D'après Euzeby, 1975.

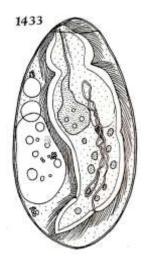


Figure n°8 : Œuf de *P. cervi*, après 13 jours d'incubation à une température comprise entre 15 et 24°C. Le miracidium cilié est visible au centre de l'œuf. Yamaguti, 1975 d'après Szidat, 1936.

Dans le milieu extérieur l'œuf est très résistant : 40 % des œufs gardés à 4°C sont encore virulents après 4 mois de conservation (Sey, 1979). Cette forme de résistance leur permet de contaminer les pâtures où les œufs pourraient être encore virulents jusqu'à 2 ans (Courouble, 2007).





Figure n° 9 et n° 10 : Œufs de paramphistomes déformés observés par coproscopie dans une solution de flottaison de sulfate de zinc à 1,44 de densité. Photos : Bailly S.

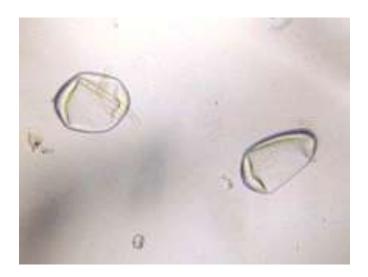


Figure n°11 : Œufs de paramphistomes par coproscopie. Photo : Courouble F.

#### **I.5.2** FORMES LARVAIRES

Les formes larvaires des Paramphistomatidés subissent à certains stades, à l'intérieur de l'hôte intermédiaire, des multiplications clonales (Abrous et al., 1997). Ainsi, un grand nombre de métacercaires provient du même œuf. Certaines mesures et durées de

développement citées plus loin sont principalement issues d'études ayant porté sur P. cervi, l'espèce type du genre Paramphistomum. On peut raisonnablement considérer ces valeurs comme des ordres de grandeur pour l'ensemble des Paramphistomatidés décrits en France.

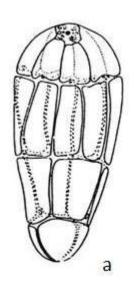
Les différents stades larvaires sont le miracidium, le sporocyste, la rédie, la cercaire et la métacercaire.

#### a) MIRACIDIUM

Le miracidium est la première forme larvaire des paramphistomes. Le miracidium de C. daubneyi mesure environ 200 µm de long (Dinnik, 1962) sur 65 à 70 µm de large environ (Postal, 1984). Son corps est cylindrique avec une extrémité caudale plus effilée. Ce miracidium ne possède pas de plaque oculaire, contrairement à celui de Fasciola hepatica (Albaret, 1981 - cité par Joly, 1991). Des cils vibratiles, permettant au miracidium de se déplacer librement dans l'eau et d'atteindre l'hôte intermédiaire, sont visibles après coloration vitale (Joly, 1991).

Sans préparation, les miracidiums du genre Paramphistomum sont difficiles à différencier des autres miracidiums des autres genres. Ce n'est qu'après une coloration au nitrate d'argent, utilisée en chétotaxie, que les différences morphologiques sont visibles.

Ainsi, après coloration au nitrate d'argent à 1 %, il est possible d'observer 20 plaques épidermiques ciliées disposées sur 4 rangées (Dinnik, 1962). La rangée crâniale se compose de 6 cellules, la rangée médiane crâniale de 8 cellules, la rangée médiane caudale de 4 cellules et la rangée caudale de 2 cellules. Les cils de ces plaques mesurent autour d'une douzaine de micromètres pour ceux qui sont présents sur la partie postérieure du miracidium et uniquement quelques micromètres pour ceux placés sur la partie antérieure. Avec cette coloration, il est possible de décrire les structures argyrophyles, structures fixant le nitrate d'argent, des miracidiums du genre Paramphistomum (Postal, 1984).



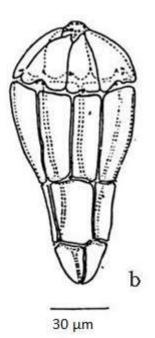


Figure n°12 : Miracidium de Paramphistomum sp. après coloration au nitrate d'argent. Légende: a: P. cervi

b: C. daubneyi

D'après Samnaliev et al., 1981 et 1983 - cités par Postal, 1984. Barre d'échelle : 30 µm.

La composition des structures argyrophyles du miracidium de C. daubneyi étant identique aux autres espèces du genre Paramphistomum, son classement dans le genre Calicophoron, ne se justifie pas par la chétotaxie. Le miracidium possède aussi des papilles dont la répartition ne dépend pas de l'espèce (Sey, 1972 - cité par Joly, 1991). Une papille apicale, aussi appelée le térébratorium, est présente à l'extrémité antérieure du miracidium. D'une dizaine de micromètres de long, elle est dépourvue de ciliature. (voir figure n°13),

L'organisation intrinsèque est complexe. Les structures internes sont : la glande apicale, les glandes de pénétration unicellulaires, le système nerveux, le système excréteur et le tissu germinal (Sey, 1979). L'estomac primitif ou glande apicale s'étend sur la moitié antérieure du miracidium et contient 4 nuclei. Le système nerveux est composé d'un centre nerveux présent sous forme d'une masse cellulaire fibreuse placée dorsalement (Sey, 1979). Le système excréteur se compose de conduits excréteurs et deux cellules flammes insérées à mi-longueur du corps (Sey, 1979). Les pores excréteurs s'ouvrent latéralement entre la troisième et la quatrième rangée de plaques épidermiques. Comme chez *P. cervi*, la moitié postérieure du corps se compose entre autres de deux à quatre sacs germinatifs chacun composé de nombreuses cellules germinatives. (Yamaguti, 1975 d'après Takahashi, 1927).

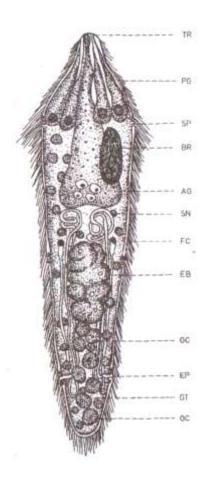


Figure n°13 : Miracidium de *Calicophoron daubneyi* sans préparation. D'après Sey, 1979.

Légende : TR : Térébratorium

PG : Glandes de pénétration,

SP: Papille sensorielle BR: Centre nerveux

AG: Glande apicale, SN: Nucléus subépithélial

FC: Flamme vibratile, EB: Cellules germinatives GC: Masse germinative

EP: Pore excréteur GT : Tissu germinatif De ces conditions d'environnement dépend aussi la viabilité des miracidiums libérés dans le milieu extérieur. Les miracidiums de *P. cervi* ne se déplacent plus si la température est inférieure à 10°C ou supérieure à 40°C. Les miracidiums de *C. calicophoron* ont une durée de vie d'environ 4 heures à une température comprise entre 20 et 25°C (Sey, 1979). La survie maximale pourrait atteindre 24 heures (Postal, 1984).

Le miracidium recherche sont hôte intermédiaire et détecte le mucus sécrété par le mollusque. Les miracidiums pénètrent leur hôte, perd ses cellules ectodermiques et devient un sporocyste.

#### b) **SPOROCYSTE**

Le sporocyste, directement issu du miracidium, est la seconde forme larvaire des paramphistomes.

Il est de plus petite taille que le miracidium dont il provient. Les sporocystes ont un corps ovale dépourvu de ciliature. Ils sont d'abord de petite taille : 70  $\mu$ m de long sur 60  $\mu$ m de large environ (Sey, 1979). Ensuite, ils grossissent pour atteindre une taille moyenne de 370  $\mu$ m de long sur 230  $\mu$ m de large. Des dimensions supérieures ont été déterminées par Sey en 1979 avec une longueur maximale de 700  $\mu$ m sur une largeur de 260  $\mu$ m. Ils contiennent 25 à 35 masses germinatives (Dinnik, 1962) ainsi qu'un reliquat de papille apicale, un estomac primitif, et des cellules flammes.

Chaque sporocyste contient environ une dizaine de masses germinatives, issues d'une multiplication clonale, qui donneront les futures rédies. Chaque sporocyste donne une dizaine de rédies issues d'une reproduction clonale (Sey, 1979).

Les sporocystes sont retrouvés dans la cavité viscérale du mollusque 11 jours en moyenne après la pénétration des miracidiums. (Sey, 1979).

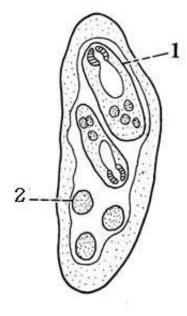


Figure n°14 : Sporocyste de *P. cervi*, d'après Brumpt, 1936 - cité par Olsen, 1986.

Légende :
1 : Rédie de première génération
2 : Masse germinative

#### c) REDIE

Les premières rédies de *C. daubneyi* mesurent entre 100 et 200  $\mu$ m de long sur 80 à 190  $\mu$ m de large et sont visibles à travers la paroi du sporocyste dès une dizaine de jours (Sey, 1979). Les rédies matures mesurent entre 550 à 840  $\mu$ m de long sur un peu plus de 150  $\mu$ m de large.

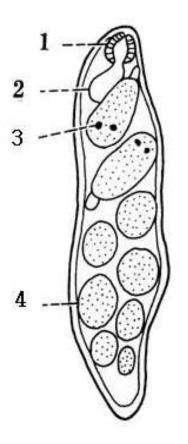


Figure n°15 : Rédie mature de P. cervi d'après Brumpt, 1936 cité par Olsen, 1986.

Légende :
1 : Pharynx
2 : Ebauche d'œsophage
3 : Cercaire immature avec
taches oculaires
4 : Masse germinative

Elles contiennent environ 6 cercaires en développement et 19 à 35 masses germinatives (Dinnik, 1962). La première rédie est formée 9 jours après la contamination du mollusque (Sey, 1979).

En outre, comme les rédies de *P. cervi*, elles possèdent de nombreuses cellules germinatives formant des masses germinatives, un pharynx de 35 μm de diamètre environ, un estomac d'environ 80 μm de long et de large avec un contenu jaune-brun (Yamaguti, 1975 d'après Takahashi, 1927). Aussi, elles sont pourvues d'un système nerveux et d'un système excréteur composé de 5 cellules flammes (Sey, 1979).

Dans un premier temps, un sporocyste donne en moyenne 7,5 rédies libres de première génération au 49<sup>ème</sup> jour après l'infestation de la limnée (Abrous et al., 1997). Dans un second temps, chaque rédie de première génération issue d'un sporocyste, donne 1 à 4 rédies de deuxième génération avant de donner des cercaires.

De fait, les rédies de *C. daubneyi* ne sont réparties qu'en deux générations et le développement des rédies de seconde génération est inhibé par le développement des premières cercaires (Abrous et al., 1997).

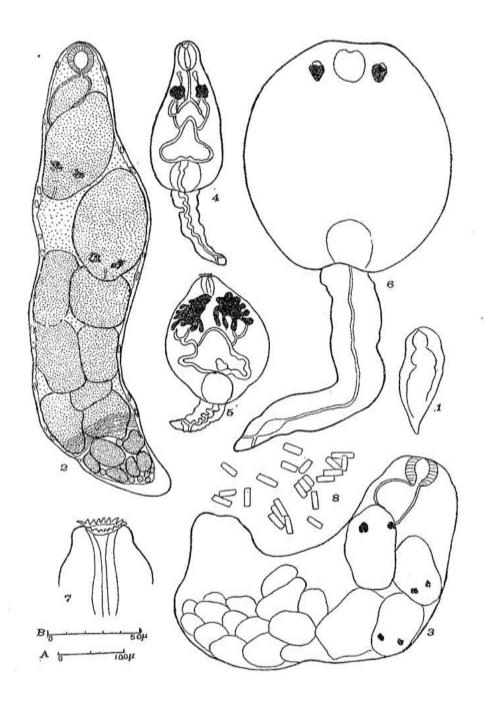


Figure n°16: Formes larvaires de *Paramphistomum cervi*. Légende: 1: jeune rédie; 2 et 3: rédies de taille maximale (striation circulaire représentée uniquement en regard du chiffre 2); 4 et 5: jeunes cercaires libres, 6: cercaire mûre, 7: papilles buccales d'une cercaire; 8: bâtonnets de cellules cystogènes; 1 à 6: échelle A; 7 et 8 échelle B. D'après Brumpt, 1936 - cité par Neveu-Lemaire, 1936.

# d) CERCAIRE

Les cercaires de *C. daubneyi*, contrairement aux autres espèces de paramphistomes, possèdent des plaques oculaires visibles alors qu'elles sont encore en développement au sein de la rédie (Dinnik, 1962). Elles sont émises par le pore génital de la rédie. Elles acquièrent leur maturité dans l'hépatopancréas du mollusque. Les cercaires émergeant des rédies mesurent environ 260  $\mu$ m de long sur 160  $\mu$ m de large, sont munies d'une queue mesurant 90  $\mu$ m de long, d'une ventouse orale et d'un acétabulum (Szmidt-Adjidé et al., 1996). La cercaire mature, quant à elle, mesure 400  $\mu$ m de long sur 240  $\mu$ m de large (Szmidt-Adjidé et al., 1996).

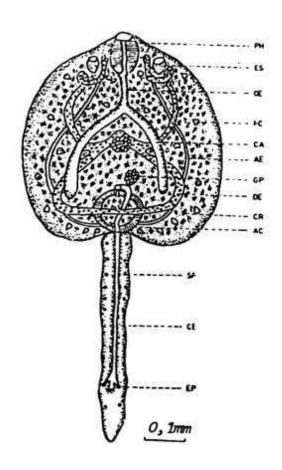


Figure n°17 : Schéma anatomique d'une cercaire de C. daubneyi. D'après Sey, 1979 - cité par Postal 1984. Légende : dans l'ordre, PH : Pharynx

ES: Tâche oculaire OE: Œsophage, FC: Cellule à flamme

CA : Cæcum
AE : Tube excréteur
ascendant,
GP :

DE : Tube excréteur descendant

CR : Glande cystogène AC : Acétabulum SP : Papille sensorielle CE : Canal excréteur EP : Pore excréteur

Les cercaires des paramphistomes sont décrites sous le nom de *cercaria pigmentata* en raison de la présence de pigments brun foncé sur l'ensemble de leur corps, à l'exception de la queue (Yamaguti, 1971). Elles sont aussi munies de deux plaques oculaires coniques de 20 à 30 µm de diamètre environ (Yamaguti, 1975 d'après Abdel Ghani, 1960) et de couleur brune. Une ciliature sensorielle, répartie en deux groupes de papilles, est présente de chaque côté de la ventouse buccale (Yamaguti, 1975 d'après Szidat, 1936).

Les papilles sensorielles de *C. daubneyi* ont été précisément étudiées dans le cadre de la chétotaxie cercarienne. La cercaire de *C. daubneyi* détient un petit nombre de papilles sensorielles caudales (9 à 19) et un nombre moyen de papilles sensorielles acétabulaires (18 à 27). Sa queue est plus courte que celle des cercaires de *P. cervi* ou de *C. microbothrium* et

elle ne possède pas de diverticule pharyngien (Postal, 1984). Les cercaires matures restent proches de la face interne du tégument du mollusque puis sortent de celui-ci par effraction (Joly, 1991) 30 à 50 jours après sa contamination par les miracidiums. Laurent (1998) précise qu'une chute brutale de température 20°C à 6°C stimule les émissions cercariennes. Ces émissions ont lieu en grand nombre durant les périodes juin-juillet et septembre-octobre (Abrous et al., 1999c).

Les cercaires encore immatures, ou procercaires, de couleur claire sont libérées par vagues à partir du 16<sup>ème</sup> jour (Sey, 1979) du mollusque hôte intermédiaire. Les cercaires libérées nagent lentement et se déplacent dans le milieu extérieur jusqu'à leur fixation sur un objet inerte tel qu'une foliole de graminée ou un autre support végétal (Augot et al., 1996 - cité par Dorchies et al., 2000). Les cercaires peuvent nager pendant 20 à 30 minutes puis elles se fixent sur un support et s'y enkystent (Euzeby, 1975).

# e) METACERCAIRE

La métacercaire est l'élément larvaire infestant l'hôte définitif. Les métacercaires sont des nodules plats, circulaires et brun qui mesurent entre 200 et 300 µm de diamètre. Leurs plaques oculaires sont encore visibles mais les pigments se dispersent. La paroi de la coque entourant le microorganisme se compose de trois couches. La couche externe de couleur jaune est responsable de l'adhésion au végétal. La couche intermédiaire est claire alors que la couche interne est bleuâtre. (Yamaguti, 1975).

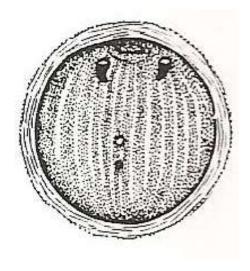


Figure n°18 : Dessin d'une métacercaire de *P. cervi*. D'après Szidat, 1936 - cité par Yamaguti, 1975. Diamètre : 300 µm. Tâches oculaires visibles.

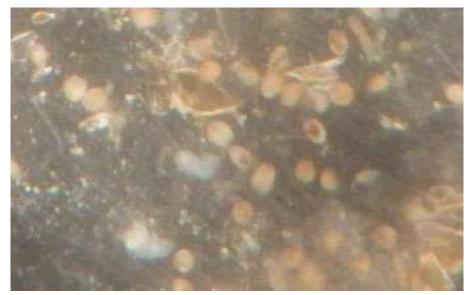


Figure n°19 : Photographie de métacercaires de C. daubneyi. Photo : Rondelaud D.

L'enkystement des cercaires de paramphistomes, c'est-à-dire la formation des métacercaires, ne prend qu'une trentaine de minutes (Yamaguti, 1975 d'après Grétillat, 1958). La queue est perdue et la coque est sécrétée par les glandes cystogènes. Les métacercaires sont fixées préférentiellement en face ventrale des végétaux. Leur survie dans le milieu extérieur peut aller jusqu'à 6 mois (Burgu, 1981 - cité par Dorchies et al., 2000).

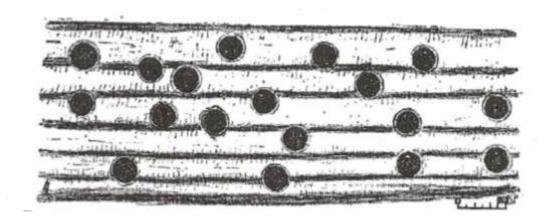


Figure n°20 : Métacercaires de *P. cervi* fixés sur un brin d'herbe. D'après Brumpt, 1936 - cité par Neveu-lemaire, 1936.

Les métacercaires acquièrent leur pouvoir infestant maximal après une semaine de vie au terme de laquelle leur pouvoir de « désenkystement » dans le duodénum du bovin est optimal (Sey, 1980). Leur durée de vie est de quelques mois : 18 % métacercaires sont encore vivantes après cinq mois passés à une température comprise entre 20 et 24°C (Sey, 1979).

Enfin, il a été démontré qu'un miracidium infestant une limnée tronquée pouvait donner jusqu'à une trentaine de métacercaires (Abrous et al., 1997).

Forme larvaire	Schéma	Caractères
Miracidium		<ul> <li>Longueur : 200 µm</li> <li>Absence de plaque oculaire</li> <li>Ciliature</li> <li>Glande de pénétration</li> <li>Cellules flammes</li> <li>Habitat : milieu extérieur</li> <li>Mobile dans l'eau</li> <li>Survie maximale : 24 h</li> <li>Activité entre 10°C et 40°C.</li> </ul>
Sporocyste	(B) (C) (C) (C) (C) (C) (C) (C) (C) (C) (C	<ul> <li>Longueur à maturité : 370 µm</li> <li>Absence de plaque oculaire</li> <li>Absence de ciliature</li> <li>Contenant une dizaine de futures rédies</li> <li>Cellules flammes</li> <li>Habitat : cavité générale du mollusque</li> </ul>
Rédie		<ul> <li>Longueur à maturité : 840 µm</li> <li>Absence de plaque oculaire</li> <li>Absence de ciliature</li> <li>Contenant de futures cercaires</li> <li>Cellules flammes</li> <li>Habitat : cavité générale du mollusque</li> </ul>
Cercaire	S. bu	<ul> <li>Longueur à maturité : 490 µm</li> <li>Plaques oculaires</li> <li>Queue</li> <li>Acétabulum</li> <li>Cellules flammes</li> <li>Habitat : milieu extérieur</li> <li>Mobile dans l'eau</li> <li>Survie maximale : 30 minutes</li> </ul>
Métacercaire		<ul> <li>Diamètre : 300 µm</li> <li>Plaques oculaires</li> <li>Absence de queue</li> <li>Coque</li> <li>Habitat : milieu extérieur</li> <li>Fixé sur une plante</li> <li>Survie maximale : 6 mois</li> </ul>

Tableau I : Caractères anatomiques et biologiques majeurs des formes larvaires des paramphistomes

# **I.5.3** FORME PRE-IMAGINALE

La forme pré-imaginale ou immature provient d'une métacercaire ingérée par un bovin. Les enzymes digestives ainsi que le pH acide gastrique du bovin entraînent l'émergence de la forme pré-imaginale ou *adolescaria*. Ces formes sont retrouvées au niveau de la muqueuse de la caillette et de l'intestin grêle. Elles débutent une migration rétrograde vers le rumen et le réseau à partir du  $10^{\text{ème}}$  jour après le repas infestant (Szmidt-Adjidé et al., 1996). Elles mesurent 1 à 3 mm de long (Euzeby, 1975) et leur taille augmente au cours de leur maturation jusqu'à la taille adulte. Leur couleur est plus soutenue que celle des formes imaginales, elles sont rouges en relation avec leur caractère hématophage (Dorchies et al., 2000). Les formes pré-imaginales des paramphistomes possèdent un corps conique et deux ventouses réparties à chaque extrémité du corps. Les organes internes sont moins développés que chez la forme adulte également appelée forme imaginale (Näsmark, 1937).

## 1.5.4 FORME IMAGINALE

## a) ANATOMIE GENERALE

Calicophoron daubneyi est comme les autres Paramphistomatidés, un ver conique, à corps épais, charnu et piriforme de couleur rose à rose clair, mesure 7,6 à 9 mm de long et 2,3 à 3,1 mm de large (Dinnik, 1962). Le parasite adulte est incurvé ventralement, large dans sa partie postérieure et effilé dans sa partie antérieure. Chaque extrémité du corps possède une ventouse : une petite « ventouse buccale » à l'extrémité antérieure et une ventouse très développée à l'extrémité postérieure aussi appelée acétabulum.

La « ventouse buccale » n'est pas un organe de fixation. Cet aspect provient de la musculature importante du pharynx subséquent à l'ouverture buccale.

L'acétabulum est sub-terminal. La couche musculaire circulaire externe dorsale de l'acétabulum est parfois compressée pour former un sphincter.

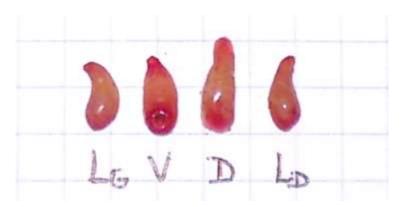


Figure  $n^\circ 21$ : Vue macroscopique de paramphistomes prélevés en abattoir. Légende : Lg : face latérale gauche, V : face ventrale, D : face dorsale, Ld : face latérale droite. Photo : Bailly S.

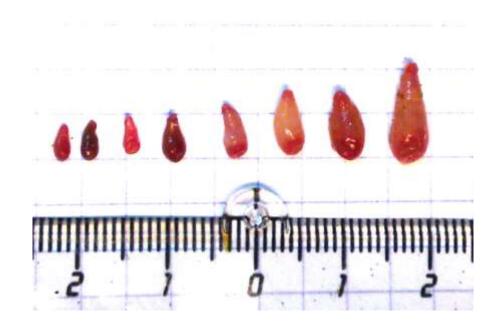


Figure  $n^{\circ}22$ : Vue macroscopique de différents paramphistomes de différentes tailles prélevés à l'abattoir d'Autun. Photo : Bailly S.

Espèce de paramphistomes	Longueur moyenne du corps ( mm)	Largeur moyenne du corps (mm)	Référence
C. daubneyi Dinnik, 1962	7,6 - 9	2,3 - 3,1	Dinnik, 1962.
	3,5 - 10,21	2,34 - 4,11	Eduardo, 1983
C. microbothrium Fischoeder,	8 - 11	2,7 - 3,7	Näsmark, 1937
1901	3,8 - 12,5	1,6 - 4,2	Eduardo, 1983
P. cervi Zeder, 1970	5 - 15	2 - 4	Näsmark, 1937
	5,50 - 13,23	1,88 - 3,05	Eduardo, 1982b
P. leydeni Näsmark, 1937	6,4	3	Nasmak, 1937
	4,10 - 6,80	2 - 3,35	Eduardo, 1982b
P. ichikawai Fukui, 1922	5 - 6,6	2 - 3	Näsmark, 1937
	4,9 - 9,49	1,74 - 3,35	Eduardo, 1982b

Tableau II : Longueur et largeur du corps de différentes espèces de paramphistomes au stade adulte

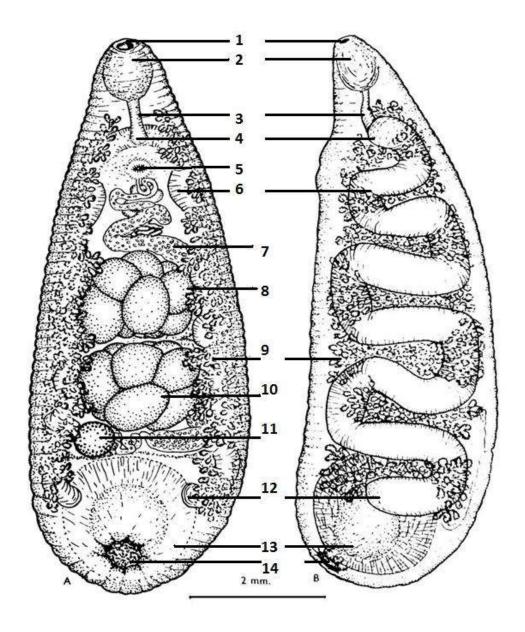


Figure n°23 : Anatomie générale de *C. daubneyi*, d'après Dinnik, 1962. A : face ventrale ; B : face latérale gauche avec mise en évidence de la terminaison de la branche cæcale dirigée ventralement.

Légende: 1: ouverture orale ou buccale; 2: pharynx; 3: œsophage; 4: bifurcation cæcale; 5: pore génital; 6: branche cæcale; 7: utérus; 8: testicule antérieur; 9: follicules vitellogènes; 10: testicule postérieur; 11: ovaire; 12: terminaison cæcale; 13: acétabulum; 14: ouverture acétabulaire.

Les principaux organes internes des paramphistomes, observés par Näsmark en 1937 et identifiables sur coupe médiane de parasite adulte, sont l'acétabulum - ou ventouse postérieure - aussi visible macroscopiquement, l'ouverture buccale en continuité avec le pharynx et l'œsophage puis les branches cæcales simples. Le génitalium terminal est visible sur la face ventrale dans la partie antérieure du corps. Concernant les glandes génitales : il y a deux testicules très volumineux et lobés, la vésicule séminale ainsi qu'un ovaire en position rétrotesticulaire. Le vitellogène - ou follicules vitellins - s'étend latéralement de part et d'autre du corps. Les autres organes internes identifiables sont l'utérus, la vessie, la glande de Mehlis et le canal de Laurer. La pars prostatica, la pars musculosa, la pars seminalis et les conduits mâles sont également des éléments anatomiques majeurs pour l'identification des espèces. Un schéma présente ces différents organes dans le chapitre « Diagnose d'espèce ».

# b) **TEGUMENT ET PARENCHYME**

Le tégument correspond à la surface du corps du parasite. Le tégument repose luimême sur le parenchyme. Au microscope optique, le tégument apparaît épais et rugueux. C'est au moyen d'un microscope électronique à balayage qu'il est possible d'observer avec précision la surface du tégument comme dans les travaux d'Eduardo (1982b et 1983). Pour cela, une préparation des parasites est nécessaire et l'une des dernières études utilise la méthode décrite par Anuracpreeda et al. (2008 – cité par Panyarachun et al., 2010).

Le tégument est finement plissé : il comporte des sillons concentriques et des plis. Ces éléments sont eux-mêmes parcourus de microsillons et de microplis (Panyarachun et al., 2010). Des papilles sensorielles sont visibles sur les plis surtout autour de l'ouverture buccale et autour de l'acétabulum. Leur caractère sensoriel a été démontré par Bakke (1976b - cité par Fried et Graczyk, 1997). Les papilles sont ciliées ou non ciliées et font partie du système sensoriel du parasite. Les papilles non ciliées, de type 1, n'étant pas au contact avec le milieu extérieur seraient impliquées dans les déformations du tégument et dans la relation hôteparasite (Smyth et Halton, 1984). Ces papilles pourraient même être, par leur conformation bombée, des capteurs de pression (Panyarachun et al., 2010). Les papilles ciliées, de type 2, en contact avec le milieu extérieur et la membrane basale, seraient probablement des chémorécepteurs voire, des récepteurs intervenant dans la perception tactile, et des rhéorécepteurs, détectant les mouvements de fluides (Fried et Graczyk, 1997 ; Panyarachun et al., 2010).

D'autre part, Näsmark (1937), comme Eduardo dans sa révision de la classification des Paramphistomatidés (1982a et 1982b), considère que la répartition et la forme des papilles sont spécifiques à l'espèce. Avec une observation au microscope électronique, l'observation de la taille et de la répartition des papilles tégumentaires permet de former 4 groupes à partir des 11 espèces de paramphistomes observés par Eduardo (1979). Cependant, cet avis ne fait pas l'unanimité et d'aucuns considèrent que cette répartition dépend des individus et non de l'espèce.

Concernant *C. daubneyi,* les papilles tégumentaires sont disposées autour de l'ouverture buccale. D'autres, plus petites et moins nombreuses, sont disposées de façon éparse autour de l'ouverture de l'acétabulum (Eduardo, 1983).

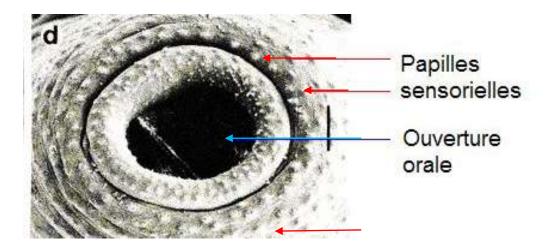


Figure n°24 : Ouverture orale de *Calicophoron daubneyi* observée au microscope électronique. Légende : d : Extrémité antérieure avec de grandes papilles (barre d'échelle = 100 μm). D'après Eduardo, 1983.

Au sujet du tégument des paramphistomes, l'ultrastructure tégumentaire de *Paramphistomum cervi* a été étudiée par Sharma et Hanna en 1988.

# SCHEMA DE L'ULTRASTRUCTURE DU TEGUMENT de Paramphistomum cervi

D'après SHARMA et HANNA, 1988

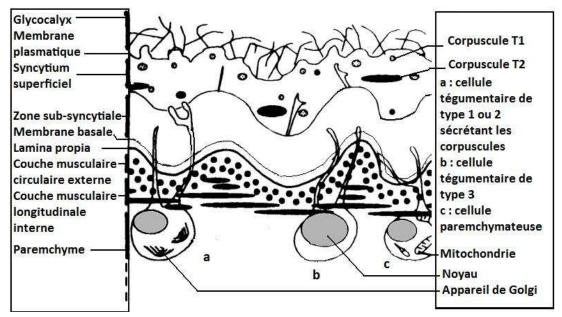


Figure n°25 : Ultrastructure schématique du tégument de *P. cervi*. Joly, 1991 d'après Sharma et Hanna, 1988.

Comme pour les autres trématodes digènes, le tégument est un tégument syncytial cytoplasmique (Fried et Graczyk, 1997). L'ultrastructure de celui-ci se compose, de l'extérieur vers l'intérieur, d'une membrane plasmatique, d'un syncitium superficiel, d'une zone subcyncytiale, d'une membrane basale, d'une lamina et de deux couches musculaires constituant la musculature superficielle reposant sur le paremchyme du parasite (Sharma et Hanna,1988).

La membrane plasmatique est la membrane qui recouvre le syncytium superficiel. A sa surface, de nombreuses structures filamenteuses forment le glycoalyx. Elle est irrégulière et présente de nombreux tubercules constituant une vaste surface d'échange. Cependant, en l'absence de mitochondries permettant de produire de l'énergie au niveau cellulaire, la surface tégumentaire n'interviendrait pas dans un phénomène d'absorption mais plutôt dans un phénomène de régulation osmotique (Dunn et al., 1987).

# Schéma de la membrane plasmatique de la couche syncytiale superficielle du tégument d'un trématode

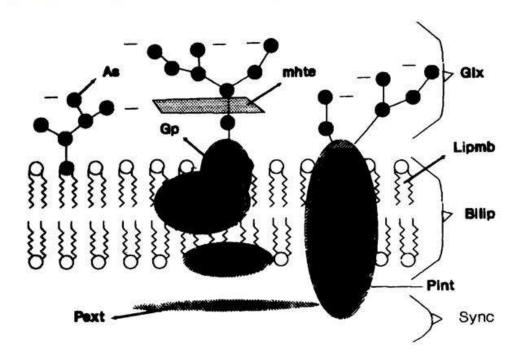


Figure n°26 : Schéma de la membrane plasmique du tégument d'un paramphistome. D'après Smyth et Halton, 1984. Légende : Glx : glycocalyx, mhte : molécule de l'hôte, As : acide sialique, Gp : glycoprotéine, Lipmb : lipoprotéine membranaire, Bilip : bicouche lipidique, Pint : protéine intrinsèque transmembranaire, Pext : protéine extrinsèque (actine ou myosine like), Sync : syncytium.

Le syncytim superficiel et la zone subsyncytiale constituent la matrice du tégument (Fried et Graczyk, 1997). Cette matrice ne contient ni mitochondrie ni noyau cellulaire ; elle n'a donc pas d'activité anabolique ni métabolique. Au microscope éléctronique, il est possible d'oberserver que le syncytium superficiel contient néanmoins des corps d'inclusions granuleux de type 1 et de type 2. Les corps d'inclusion de type 1 sont électroclairs et de forme discoïde. Les corps d'inclusion de type 2 sont électrodenses et de forme

subsphérique. Ces corps d'inclusions interviendraient dans le renouvellement de la membrane plasmique et du glycocalyx (Sharma et Hanna, 1988). Or, le glycocalyx est un ensemble de molécules glucidiques issues des glycoprotéines membranaires ayant probablement un rôle de protection et une fonction immunologique au niveau de la membrane plasmique (Dunn et al., 1987). En somme, les corps d'inclusion auraient également une fonction protectrice et immunoprotectrice importante surtout pendant la phase pré-imaginale du cycle évolutif où le parasite migre à travers les muqueuses digestives. Des expensions cytoplasmiques fines et digitiformes, issues du parenchymes, atteignent cette couche et libèrent les corps d'inclusion (Dunn et al., 1987).

Le syncytium superficiel repose sur une zone subsyncytiale qui se compose de tissu conjonctif fibreux. De nombreuses expansions cytoplasmiques issues des cellules paremchymateuses et de cellules tégumentaires sous-jacentes parcourent cette zone (Sharma et Hanna, 1988). Seules les cellules paremchymateuses possèdent des mitochondries dans leur cytoplasme. Le syncytium tégumentaire est donc pauvre en mitochondries, ce qui conforte l'hypothèse que le tégument des paramphistomes n'a qu'une faible activité métabolique et qu'il interviendrait plus probablement dans des échanges ioniques et osmotiques avec le milieu extérieur (Dunn et al., 1987).

La zone subsyncytiale est séparée du parenchyme par la membrane basale, la *lamina propria* et deux couches musculaires distinctes : la couche musculaire circulaire externe et la couche musculaire longitudinale interne. Ces couches sont constituées de faisceaux de fibres musculaires orientées, bien développées, ce qui permettrait au parasite de rester bien ancré à la muqueuse rumiale et de résister aux mouvements des fluides ruminaux.

Le parenchyme comporte deux catégories de cellules : d'une part, les cellules parenchymateuses ayant un noyau, du réticulum endoplasmique rugueux, un appareil de Golgi et des mitochondries ; d'autre part, les cellules tégumentaires dépourvues de mitochondries. D'après Sharma et Hanna (1988), il existe trois types de cellules tégumentaires : les cellules tégumentaires de type 1 et 2 desquelles sont issus les corpuscules retrouvés dans le syncitium superficiel et les cellules tégumentaires de type 3 restées au stade embryonnaire.

Ainsi, le tégument n'aurait qu'un rôle de protection du parasite vis-à-vis du milieu ruminal et de l'hôte définitif (Sharma et Hanna, 1988).

Concernant le paremchyme, il s'agit d'un ensemble de cellules et de tissu conjonctif présents entre les organes du parasite (Fried et Graczyk, 1997). Ces cellules sont reliées aux cellules appartenant aux différents organes. Le tissu interstitiel est riche en collagène et en molécules glucidiques qui donnent une cohésion et une certaine rigidité au corps. Ce tissu participe indirectement à la locomotion du parasite en étant la zone d'ancrage des fibres muculaires (Fried et Graczyk, 1997).



Figure : n°27 Photographie d'une coupe histologique du tégument d'un paramphistome récolté à l'abattoir d'Autun. Photo: Bailly S. -Vetagro Sup Lyon Légende : (1) : Tégument, (2) : Parenchyme

# c) ACETABULUM

L'acétabulum, ou ventouse postérieure, est l'organe qui permet au parasite adulte de se fixer à la paroi digestive du rumen et du réseau. Il se situe à l'extrémité caudale du parasite en position sub-terminale. Il intervient plus globalement avec le reste de la musculature du corps dans la locomotion du parasite.

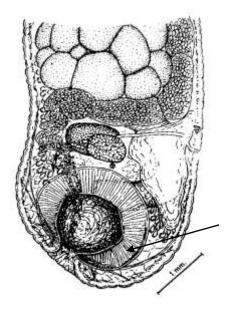


Figure n°28 : Dessin de l'extrémité postérieure de C. daubneyi en coupe sagittale médiane. D'après Dinnik, 1962.

Légende : Acétabulum (→) D'après la typologie de Näsmark (1937), et la description d'Eduardo (1983), chez *C. daubneyi* l'acétabulum est de type paramphistomum. Ce type se définit par une taille moyenne (1,8 à 2,2 mm de diamètre dorso-ventral), une musculature très développée (Dinnik, 1962) et par une division en deux groupes de faisceaux musculaires de la couche circulaire externe dorsale (dont l'abréviation est « d.e.c. » pour « dorsal external circular layer »). Ces deux groupes de faisceaux musculaires (d.e.c. 1 pour « dorsal external circular layer 1 » et d.e.c. 2 pour « dorsal external circular layer 2 »), sont très nets sur les coupes histologiques sagittales médianes. Le groupe de faisceaux musculaires, le plus externe (d.e.c. 1) de cette couche musculaire externe, est compressé et forme un sphincter. Le nombre de faisceaux musculaires coupés transversalement - aussi appelé nombre d'unités d.e.c. 2 - faisant suite au groupe d.e.c. 1, varie entre 17 et 29 (Dinnik, 1962). Le détail de la typologie de Näsmark concernant les différents types d'acétabulum rencontrés chez les espèces décrites en France, est présenté dans le chapitre « Diagnose d'espèce » dans le sous-chapitre « Critères de diagnose ».

Il possède aussi des couches musculaires circulaires internes ventrales et dorsales, une musculature radiale, des fibres obliques, une couche musculaire longitudinale externe, une couche musculaire circulaire externe ventrale et une couche musculaire circulaire moyenne (Eduardo, 1983). La figure suivante présente la structure générale de l'acétabulum des trématodes.

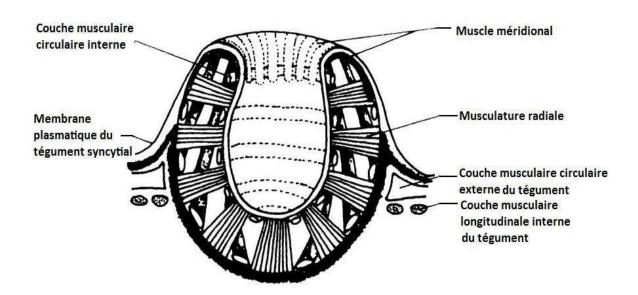


Figure n°29 : Schéma d'une coupe médiale d'un acétabulum de Trématode. D'après Smyth et Halton, 1984.

# d) PHARYNX

Le pharynx de *C. daubneyi* mesure entre 0,75 et 0,86 mm de long (Dinnik, 1962) et 0,9 mm de diamètre. Il est piriforme, large dans sa partie postérieure et effilée dans sa partie antérieure.

Selon la typologie de Näsmark (1937), le pharynx de C. daubneyi est de type calicophoron. Ce type se définit par la présence d'un faible nombre de faisceaux musculaires circulaires formant la couche musculaire externe ainsi que par une couche musculaire circulaire interne bien développée (Eduardo 1983) constituée d'une rangée de petits faisceaux musculaires coupés transversalement (unités) s'étendant le long du pharynx. Ces unités sont de petite taille crânialement et augmentent de diamètre dans le sens crâniocaudal (Dinnik, 1962). Les unités de la partie caudale sont compactées. La couche musculaire longitudinale interne, composée de fines fibres musculaires, mesure le quart de la largeur du pharynx et n'a pas de limite externe nette. La couche musculaire circulaire médiane est peu développée contrairement à la couche circulaire externe composée d'unités bien développées, nettement visibles, regroupées et légèrement compressées. La couche longitudinale externe est très fine (Dinnik, 1962). Ce type de pharynx est dépourvu de véritable sphincter postérieur (Näsmark, 1937). Une ébauche de ce type de sphincter est constituée de fibres musculaires et d'unités issues des différentes couches musculaires circulaires. La couche musculaire basale est bien développée et se compose d'une douzaine d'unités (Dinnik, 1962). De très courtes papilles internes en forme de dôme sont parfois visibles (Eduardo, 1982).

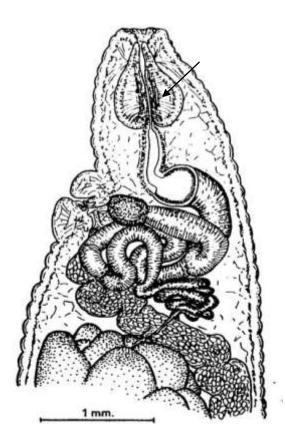


Figure n°30 : Dessin de l'extrémité antérieure de C. daubneyi en coupe sagittale médiane. D'après Dinnik, 1962.

Légende : Pharynx (→)

# e) Systeme Nerveux

Le système nerveux se compose d'une paire de ganglions cérébraux situés dorsalement au pharynx. Des cordes nerveuses s'étendent le long du corps du parasite se dirigeant, pour certaines, vers l'extrémité crâniale, et pour d'autres, vers l'extrémité caudale. Des plexus neurologiques moteurs et sensoriels sont présents au niveau de l'acétabulum et en position sous tégumentaire avec des terminaisons nerveuses qui se finissent dans le tégument (Fried et Graczyk, 1997). Deux types de cellules neurosécrétrices ont été mis en évidence chez les paramphistomes, différenciés par la taille et la composition du cytoplasme. Les cellules de type A sont grandes, arrondies, mononuclées avec un cytoplasme contenant des vacuoles. Les cellules de type B sont petites, arrondies, plurinucléées, avec un cytoplasme homogène. Les cellules de type A se retrouvent surtout au niveau des ventouses et de la zone sous-tégumentaire alors que les cellules de types B sont fortement localisées au niveau de la ventouse orale et du tube digestif, de l'appareil génital et des vaisseaux lymphatiques. Ces cellules ont pour rôle principal de stimuler l'activité des différents organes (Sing et Shukla - cités par Rieu, 2004).

# f) Appareil excreteur

L'appareil excréteur est de type protonéphridien. Au niveau cellulaire, les cellules flammes, munies de flagelles capables d'ondulations, réalisent une ultrafiltration grâce à un gradient de pression hydrostatique. Celui-ci est responsable d'une fuite de liquide intercellulaire vers les canaux excréteurs. Plusieurs cellules flammes débouchent sur un canal excréteur primaire qui débouche lui-même sur un canal excréteur secondaire. Le canal excréteur tertiaire suit le canal excréteur secondaire et se jette dans la vessie excrétrice (Mattison, Hanna et Nizami, 1992 - cités par Rieu, 2004). Les canaux excréteurs secondaires et tertiaires, ainsi que la vessie, sont munis de lamelles au niveau desquelles une réabsorption d'eau et d'ions semble se faire (Threadgold, 1968 - cité par Rieu, 2004).

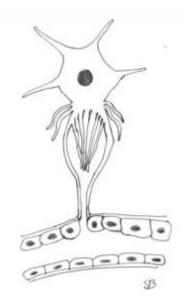


Figure n°31 : Schéma de l'unité fonctionnelle du système excréteur protonéphridien des paramphistomes : la cellule flamme. Dessin : Bailly S.

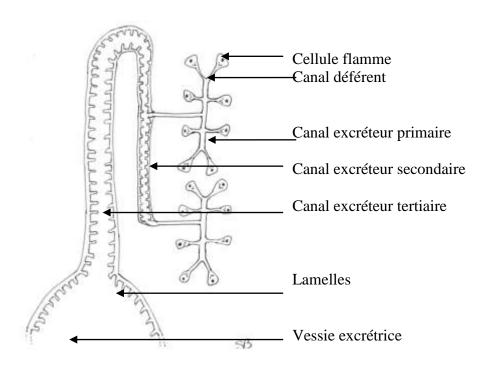


Figure n°32 : Schéma de la structure du système excréteur protonéphridien des paramphistomes. D'après Mattisson, Hanna et Nizami, 1992 - cités par Rieu, 2004.

De longs canaux excréteurs, placés latéralement, issus des cellules flammes, débouchent sur une vessie excrétrice (Dinnik, 1962). Celle-ci est placée d'une part, dorsalement à l'acétabulum, à l'ovaire et à la glande de Mehlis - glande sécrétant les composants précurseurs des premières couches de la coque de l'œuf - et d'autre part, ventralement au canal excréteur (Dinnik, 1962). Le canal de Laurer - partie de l'appareil génital femelle permettant de recueillir le sperme lors d'un accouplement - croise la vessie ou le conduit excréteur et s'ouvre sur la face dorsale à environ 0,12 - 0,97 mm postérieurement au pore excréteur ou néphridiopore. Le pore excréteur s'ouvre sur la face dorsale au niveau du testicule postérieur et antérieurement à l'ouverture du canal de Laurer (Eduardo, 1983).

De plus, le système lymphatique aurait peut-être un rôle d'excrétion en plus de son rôle de circulation (Smyth et Halton, 1984).

# g) APPAREIL CIRCULATOIRE

L'appareil circulatoire des Paramphistomatidés est un système lymphatique clos. Le parenchyme est à l'origine du volume corporel général. Du tissu interstitiel s'infiltre entre ces compartiments et l'ensemble des organes et des membranes basales. Le système lymphatique est constitué par un ensemble de canaux connectés entre eux. Ce système est composé de deux canaux primaires sinueux à paroi fine disposés le long du corps. Des ramifications s'étendent entre les différents organes et tissus du parasite. De manière générale, les vaisseaux lymphatiques ne sont pas en contact direct avec les organes. Le parenchyme fait office d'intermédiaire. Seuls le système excréteur, les muscles et le système

nerveux sont en contact direct avec le système lymphatique (Mattison, Hanna et Nizami, 1992 - cités par Rieu, 2004).

Chez les Paramphistomatidés, le système lymphatique est responsable du transport de nombreuses molécules et notamment de molécules glucidiques et lipidiques (Fried et Graczyk, 1997).

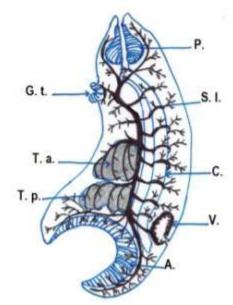


Figure n°33 : Schéma du système lymphatique d'un amphistome. Légende : S. l. : système lymphatique ;

V.: vessie; T. a. Testicule antérieur; T. p.: testicule postérieur; C.: branche caecale; G. t.: génitalium terminal. Dessin: Bailly S.

La lymphe se caractérise entre autres par une forte concentration en protéines et acides aminés d'une part et par la présence d'hémoglobine en petite quantité au niveau des deux ventouses d'autre part. La lymphe permet aussi le transport du glycogène stocké dans le parenchyme et le transport d'oxygène fixé à l'hémoglobine. Sa circulation est réalisée par la contraction de fibres musculaires présentes dans le tissu entourant les vaisseaux lymphatiques (Mattison, Hanna et Nizami, 1992 - cités par Rieu, 2004).

# h) Appareil reproducteur

Les Paramphistomatidés sont hermaphrodites: ils possèdent à la fois un appareil génital mâle et un appareil génital femelle. Ces deux appareils se rejoignent au niveau du génitalium terminal présent sur la face ventrale au niveau de la bifurcation cæcale (Euzeby, 1975).

L'appareil génital mâle est composé de deux testicules, de canaux déférents et des glandes annexes mâles telles que la vésicule séminale, la pars prostatica et la pars musculosa. Chez C. daubneyi, les testicules sont fortement lobés (20 à 30 lobes chacun), et placés en tandem avec une légère direction oblique (Dinnik, 1962). Ils occupent les 2/3 postérieurs du corps. La pars seminalis est fortement enroulée sur elle-même et dotée d'une fine paroi, contrairement à la pars musculosa et à la pars prostatica, qui ont une paroi plus épaisse. La pars musculosa, est bien développée (0,18 à 0,24 mm de long) avec une paroi épaisse et une cavité nettement visible (Dinnik, 1962). La pars prostatica est aussi bien développée (0,22-0,31 mm de long sur 0,31 - 0,33 mm de large) (Dinnik, 1962; Eduardo,

1983). L'appareil génital mâle se termine par la *pars musculosa,* très bien développée chez les espèces du genre *Calicophoron* (Eduardo, 1983).

L'appareil génital femelle est composé d'un ovaire unique, en position posttesticulaire et pré-acétabulaire chez *C. daubneyi*, de follicules vitellogène, d'une glande Mehlis, d'un utérus donnant sur le génitalium terminal (voir schéma suivant). Aussi, un canal de Laurer s'abouche au système précité.

L'ovaire est de forme ronde à sub-sphérique (0,50 - 0,58 sur 0,54 - 0,82 mm), post-testiculaire et en position antéro-dorsale par rapport à l'acétabulum. La glande de Mehlis est proche de l'ovaire (0,39 - 0,66 sur 0,38 - 0,66 mm) (Eduardo, 1983). Le canal de Laurer croise le conduit excréteur et arrive directement sur la face dorsale du parasite. Il s'ouvre caudalement au pore excréteur, à une distance de 0,2 à 0,6 mm (Dinnik, 1962). L'utérus est placé entre l'acétabulum et le testicule postérieur ainsi qu'au-dessous du testicule antérieur. Il est sinueux, placé dorsalement aux testicules et ventralement au conduit mâle. Le vitellogène - ou follicules vitellins - intervenant dans la formation de l'œuf est présent dans les deux régions latérales du corps du parasite et apparaît finement granuleux (Näsmark, 1937). Il s'étend du pharynx à l'acétabulum et ses branches ne se rejoignent pas.

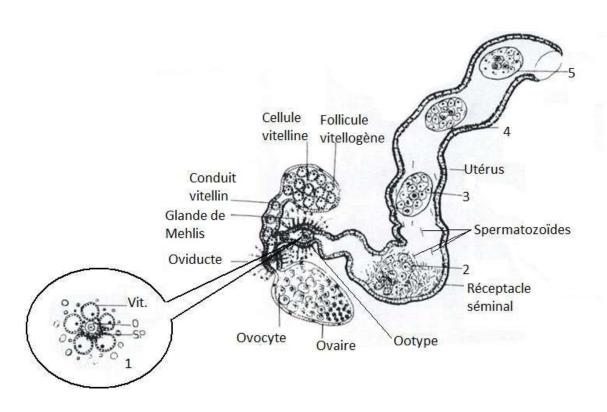


Figure n°34 : Schéma représentant les étapes de formation de l'œuf. D'après Gupta, et al., 1987.

Légende: 1: formation de la masse ovigère (des cellules vitellines (Vit) entourent l'ovocyte (O) en présence de spermatozoïdes (SP)); 2: dépôt des globules comportant les précurseurs de la coque de l'œuf; 3: coque mature; 4: œuf avec un zygote en cours de division; 5: œuf mature avec un embryon au stade 4 cellules.

Le génitalium terminal de *C. daubneyi* se positionne à 0,2 – 0,5 mm caudalement à la bifurcation cæcale. Il est de type microbothrium (Dinnik, 1962). Le contour de l'atrium est formé par des replis circulaires très développés (de 0,13 à 0,18 mm d'épaisseur). Le diamètre interne du génitalium terminal est de 0,12 mm environ (Dinnik, 1962). Le repli génital possède un sphincter de section ovale et de grand axe mesurant 0,039 à 0,045 mm. Le génitalium terminal est réduit avec des fibres musculaires radiales bien développées néanmoins, il ne possède ni ventouse ni sphincter ventral (Eduardo, 1983).



Figure n°35 : Dessin du génitalium terminal de *C. daubneyi* en coupe sagittale médiane. D'après Dinnik, 1962. Légende : M : Conduit mâle F : Conduit femelle : avec plusieurs œufs (→) représentés dans l'utérus

# i) Appareil digestif

Comme pour l'ensemble des paramphistomes, le système digestif est un système clos ayant une ouverture buccale mais pas d'anus. L'ouverture buccale a donc une double fonction : l'ingestion et l'excrétion. Elle se situe au niveau de la ventouse buccale formée par le développement musculaire important du pharynx sous-jacent (Näsmark, 1937).

L'ouverture buccale donne sur le pharynx, très musculeux, de type calicophoron (Eduardo, 1983), qui se termine sur un œsophage court conduisant lui-même à un système cæcal bifide. L'œsophage, plus court que le pharynx, est dépourvu de bulbe et sa musculature pariétale bicouche est modérément développée et d'épaisseur régulière. Il est entouré de cellules œsophagiennes aussi appelées glandes œsophagiennes (Sharma et Hora, 1983 - cité par Rieu 2004). La paroi interne de l'œsophage est composée d'un syncytium plissé formant des crêtes aplaties et recouvertes d'un glycoalyx. Des cellules tégumentaires de type 3 ainsi que des corps d'inclusion particuliers sont présents dans le cytoplasme du syncytium œsophagien. De plus, l'œsophage a une activité enzymatique marquée par une

activité importante des estérases et des phosphatases acides (Dunn et al., 1987). Cette activité est responsable de la digestion extracellulaire (Sharma et Hora, 1983 - cités par Rieu 2004) et de l'absorption des nutriments obtenus (Dunn et al., 1987). Au faible grossissement microscopique, la lumière œsophagienne apparaît comme soulignée d'une fine couche hyaline sur toute sa longueur s'interrompant à l'abouchement des branches cæcales (Dinnik, 1962).

Comme les autres paramphistomes, chacune des deux ramifications cæcales est aveugle, simple, sinueuse et s'étend longitudinalement, latéro-dorsalement, le long du corps du parasite jusqu'au niveau de l'acétabulum. Cependant, chez *C. daubneyi* les terminaisons des branches cæcales, situées au niveau de l'acétabulum, se dirigent ventralement (Eduardo, 1983). Sur la face interne de la paroi cæcale, de nombreuses microvillosités sont présentes et permettent d'augmenter la surface d'échange de l'organe. Au niveau cellulaire, le cytoplasme des cellules formant l'épithélium cæcal contient de grandes vésicules, ayant probablement un rôle exocrine, ainsi que de nombreuses mitochondries et phagosomes. L'épithélium reposant sur une membrane basale est souligné d'une couche de tissu interstitiel et de tissu musculaire probablement responsable du péristaltisme cæcal (Dunn et al., 1987). Les branches cæcales, du fait de leur vaste surface d'échange créée par les microvillosités, auraient un rôle d'absorption important. Cependant, le fonctionnement de la digestion des trématodes digènes est encore mal connue (Fried et Graczyk, 1997). Ainsi, la digestion extracellulaire est privilégiée car les preuves de digestion intracellulaire n'ont pas pu être mises en évidence (Dunn et al., 1987).

# I.6 BIOLOGIE

# **I.6.1** CYCLE EVOLUTIF

# a) Presentation Generale

Le cycle évolutif des paramphistomes, notamment celui de *P. cervi* - espèce type du genre *Paramphistomum* et longtemps espèce synonyme des paramphistomes trouvés en France - n'est connu précisément que depuis moins d'un siècle. C'est essentiellement grâce aux travaux de Loos, de Takahash (1928 - cité par Guilhon et Priouzeau, 1945), de Szidat (1936 - cité par Guilhon et Priouzeau, 1945) puis de Sey (1979) et d'Abrous et al. (1997) que le cycle évolutif est actuellement bien connu pour différents paramphistomes dont *C. daubneyi*.

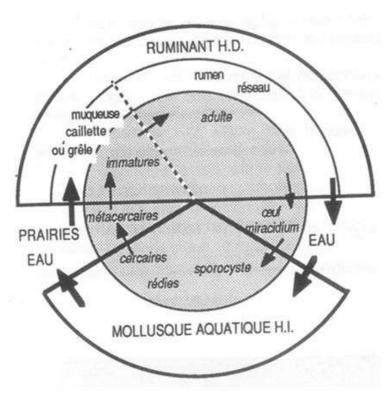


Figure  $n^{\circ}$  36 : Cycle évolutif des paramphistomes.

Légende :

H.D.: Hôte définitif

H.I.: Hôte intermédiaire D'après Bussiéras et Chermette, 1988

# b) ÉTAPES DU CYCLE

# • Phase externe du cycle évolutif :

Les œufs de paramphistomes sont émis dans les fèces du bovin et se retrouvent dans le milieu extérieur. Si les œufs rejetés par le bovin se retrouvent dans un milieu favorable, une humidité à saturation, une température supérieure à 15°C et un taux d'oxygénation suffisant un miracidium se développe. En effet, l'éclosion a lieu entre 17 et 21 jours si la température est comprise entre 15°C et 24°C (Szidat, 1936 – cité par Yamaguti, 1975). En milieu aquatique, l'œuf éclos à la faveur d'un stimulus lumineux. Dans des conditions idéales, en 15 jours, 70 à 80 % des œufs ont éclos (Dorchies et al., 2000).

Après sortie de l'œuf, le miracidium se déplace en milieu aquatique grâce à sa ciliature et recherche son hôte intermédiaire, se laissant guider par ses récepteurs sensoriels.

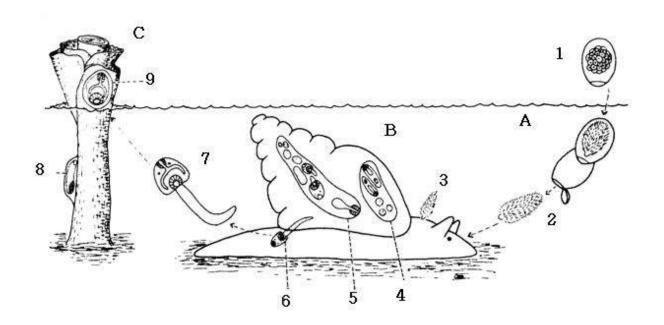


Figure n°37 : Représentation schématique de la phase externe du cycle évolutif des paramphistomes. D'après Olsen, 1986.

Légende: A: milieu aquatique, B: mollusque gastéropode aquatique, C: élément végétal. 1: œuf rejeté dans le milieu extérieur, 2: miracidium libéré, 3: pénétration active du miracidium dans l'hôte intermédiaire, 4: sporocyste, 5: rédie, 6: cercaire libre dans la cavité générale de l'hôte intermédiaire, 7: cercaire libre dans le milieu extérieur, 8: métacercaire immergée, 9: métacercaire émergée par baisse du niveau d'eau ou croissance végétale.

Lorsqu'il l'a trouvé, le miracidium pénètre l'hôte intermédiaire de manière active, par voie enzymatique et mécanique, en 20 à 25 minutes, en traversant son tégument (Sey, 1979). Puis, il migre, atteint la cavité générale du mollusque et forme un sporocyste (Guilhon et Priouzeau, 1945). Le sporocyste effectue des migrations dans les espaces hémolymphatiques avant de se fixer (Szmidt-Adjidé et al., 1996). Ce sporocyste est à l'origine de deux générations de rédies : la première génération se libère au bout de deux semaines et se multiplie pour donner la seconde génération de rédies vers le quarantième jour (Sey, 1979). Celle-ci s'accumule dans l'hépatopancréas. L'hôte intermédiaire est donc le siège d'une forme de reproduction asexuée. Les cercaires sont émises par vagues et quittent le mollusque sous des variations de température et de lumière (Sey, 1979). Dans le milieu aquatique, elles nagent jusqu'à atteindre un support inerte tel qu'un brin d'herbe immergé. Elles s'y enkystent et forment de métacercaires.

# • Phase interne du cycle évolutif :

Le bovin s'infeste en ingérant des métacercaires fixées à l'herbe contaminée. Les métacercaires passent dans les pré-estomacs puis dans l'abomasum. Dans le duodénum, sous l'effet des sucs digestifs, les formes pré-imaginales du parasite sont libérées de leur kyste (Dorchies et al., 2000). Elles se fixent à la paroi duodénale et s'enfoncent profondément dans la muqueuse intestinale, abomasale ou parfois colique. À ce stade, les formes immatures sont, selon les auteurs, soient hématophages soient histophages (Lefèvre et al., 2003). Après 3 à 8 semaines, les formes jeunes migrent par voie rétrograde sous la

muqueuse intestinale et viennent se fixer dans le rumen et le réseau par leur ventouse postérieure. Ainsi, elles deviennent chymivores. La migration peut prendre 10 à 35 jours. Dans le rumen, ces formes jeunes deviennent adultes en acquérant leur maturité sexuelle. Les parasites adultes se nourrissent essentiellement du contenu ruminal (Dorchies et al., 2000). La période prépatente varie entre deux et trois mois. Les formes adultes produisent un grand nombre d'œufs qui sont ensuite éliminés dans les matières fécales du ruminant.

#### **1.6.2** HOTES INTERMEDIAIRES

Comme nous avons pu le décrire à plusieurs reprises, les hôtes intermédiaires des Paramphistomatidés présents en Europe sont des mollusques gastéropodes vivant dans des zones humides comportant des eaux douces et dormantes. Ces gastéropodes sont pulmonés et basommatophores, c'est-à-dire que leurs tentacules sont aplatis, triangulaires et possèdent des yeux une position basale. Plusieurs gastéropodes peuvent permettre la réalisation du cycle évolutif des Paramphistomatidés, tels que les planorbes, les bulins et les limnées (Postal, 1984; Lefèvre et al., 2003). Les bulins et les planorbes sont des mollusques aquatiques tandis que les limnées sont des mollusques amphibies. Ces mollusques s'identifient entre autres par la forme et la taille des composantes de leur coquille. Ces éléments sont présentés dans le schéma suivant.

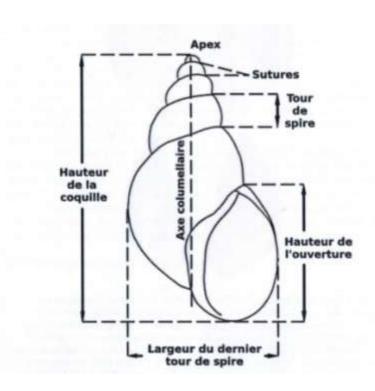


Figure n°38 : Principales composantes de la coquille d'une limnée. D'après Rondelaud et al., 2009.

Selon l'espèce d'amphistome, la liste des hôtes intermédiaires est plus ou moins longue du fait d'une plus ou moins grande spécificité d'hôte (Lefèvre et al., 2003). Ces listes

sont présentées dans la thèse de médecine vétérinaire de Rieu (2004). La spécificité d'hôte semble être un caractère commun aux Paramphistomatidés qui ne sont que rarement retrouvés chez différentes familles d'hôtes intermédiaires (Sey, 1976).

En Europe, les espèces de paramphistomes ayant pour hôte intermédiaire préférentiel des planorbes du genre Anisus sont *P. cervi et P. ichikawai* (Bussiéras et Chermette, 1988). Les espèces de planorbes hôtes intermédiaires de *P. ichikawai* sont notamment *Planorbis planorbis* en Hongrie (Sey, 1976).

Les planorbes se caractérisent par une coquille discoïde, spiralée dans un plan dans le sens sénestre (Dorchies et al., 2000).

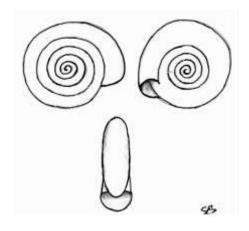


Figure n°39 : Schéma de la coquille d'un mollusque gastéropode de la Famille des Planorbes : *Anisus contortus*. D'après Postal, 1984. Dessin : Bailly S.

Ils se développent facilement dans différents types de zones humides avec de l'eau douce ou saumâtre, stagnante ou légèrement vive (Brosi, 2003 - cité par Rieu, 2004). *Planorbis planorbis* est présent en Europe, en Asie et en Afrique et se retrouve surtout dans les zones où la végétation est dense et les fonds sont boueux.

Toutes les tentatives d'infestation avec des métacercaires de *C. microbothrium* chez des limnées et des planorbes ont échoué (Sey, 1976). Une véritable spécificité de famille d'hôtes intermédiaires semble présente.

Par ailleurs, des bulins - mollusques qui se caractérisent par une coquille ovoïde à spires sénestres et courtes, le dernier tour de spire dépassant la moitié de la hauteur de la coquille (Dorchies et al., 2000) - jouent le rôle d'hôte intermédiaire pour *C. microbothrium*. L'une des espèces de bulins rencontrée en Corse est notamment *Bulinus truncatus* (Sey, 1979).

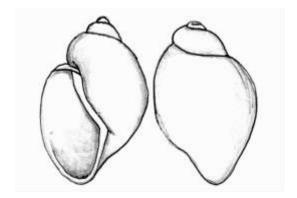


Figure n°40 : Schéma de la coquille d'un mollusque gastéropode de la famille des Bulins : *Bulinus truncatus*.

D'après Euzeby, 1975.

Dessin : Bailly S.

Enfin, selon de nombreux auteurs, *C. daubneyi* a pour principal hôte intermédiaire la limnée tronquée (*Galba truncatula*).



Figure n°41 : Coquilles de *Galba truncatula* ayant des tours de spires étagés en « marches d'escalier » issues du département de l'Indre. D'après Rondelaud et al., 2009.

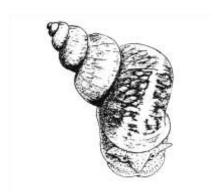


Figure n°42: Dessin de Galba truncatula. D'après Rondelaud et al., 2009.

Les limnées sont des mollusques amphibies d'eau douce qui se caractérisent par une coquille allongée, spiralée à enroulement dextre mesurant 12 mm de hauteur maximum. On les rencontre dans les milieux humides tels que les fossés, les prairies marécageuses et les berges des cours d'eau.

Galba truncatula O.F. Müller, 1774 est une limnée de petite taille avec une hauteur de coquille de 8 à 12 mm. Leur identification par rapport aux autres mollusques est possible, avec un minimum d'expérience, en observant la coquille et l'animal (Chauvin et Agoulon, 2007). Les critères à observer sont présentés dans le tableau suivant. La vérification de l'absence et de la présence de ces critères permet d'identifier Galba truncatula.

Critères présents chez Galba truncatula	Critères non rencontrés chez <i>Galba truncatula</i>			
Enroulement dextre : ouverture à droite lorsque l'apex est placé vers le haut et	Opercule			
l'ouverture vers le bas.				
Pied pouvant rentrer complètement dans la	Hauteur de l'ouverture inférieure à ¼ de la			
coquille	hauteur de la coquille			
Ouverture de forme ovale	Hauteur de l'ouverture supérieure à la			
Tours de spire marqués	moitié de la hauteur de la coquille			
Taille adulte 12 mm maximum				
Tableau: III: Critères d'identification de Galba truncatula.				

La limnée tronquée vit généralement en colonie d'une à plusieurs centaines d'individus (Rondelaud et al., 2008) dans des gîtes primaires (permanents) et des gîtes secondaires (zones inondables). Les zones colonisées sont surtout les extrémités distales des zones de drainage où l'eau n'est ni pauvre en oxygène ni courante. La localisation des colonies de *Galba truncatula* par rapport à la source et aux autres espèces de gastéropodes est présentée dans la figure suivante.

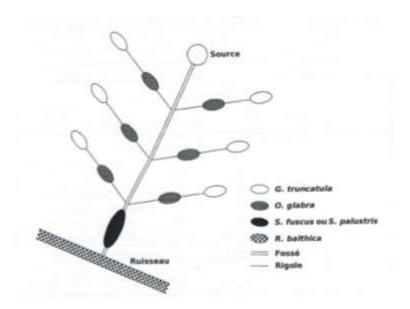


Figure n°43 : Localisation schématique des habitats de quatre espèces de limnées par rapport à la source et aux fossés de drainage, dans une prairie marécageuse de la région du limousin. D'après Rondelaud et al., 2009.

Ces limnées sont fréquemment rencontrées dans les empreintes de pas des bovins faites dans la boue et présentes autours des points d'eau naturels ou débordants (Chauvin et Agoulon, 2007). De plus, les limnées émergées peuvent être retrouvées à une distance de 10 cm et une hauteur de 5 à 8 cm par rapport au niveau de l'eau (Ximenes et al., 1993). L'hiver, les limnées s'immergent et reprennent une activité seulement lorsque les températures remontent au-dessus de 10°C.

Selon le climat, une ou plusieurs générations de limnées se développent au cours de l'année (Szmidt-Adjidé et al., 1996). En général, deux générations de limnées se succèdent chaque année avec une ponte en mai - juin et une autre ponte en octobre - novembre. Ces deux périodes correspondent aux deux pics où l'effectif des limnées est maximal, notamment dans le Limousin (Rondelaud et al., 2008). Dans les zones en altitude, une seule génération de limnées se développe avec une ponte en juillet - août et une éclosion à la fin du printemps suivant. Enfin, lors de saisons humides et douces, trois générations de limnées peuvent se succéder au cours de l'année (Szmidt-Adjidé et al., 1996).

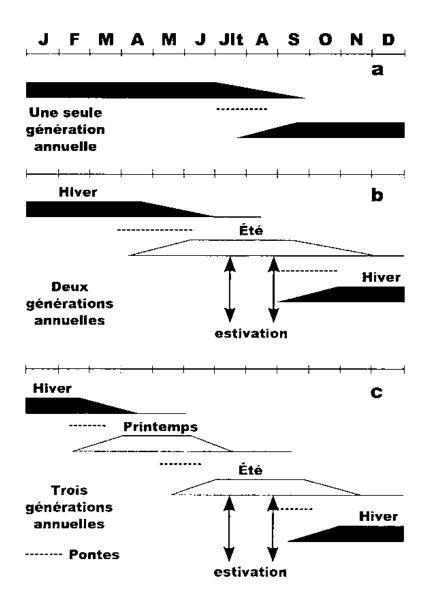


Figure n°44 : Générations annuelles de *Galba truncatula*. Légende : a : une seule génération (en climat montagnard, en absence d'assèchement de la zone,...), b : deux générations, c : trois générations. D'après Rondelaud et al., 2009.

Galba truncatula - comme d'autres limnées - a une répartition mondiale, présentée dans la figure suivante.

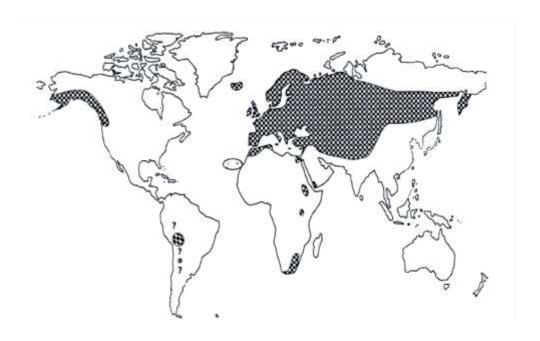


Figure n° 45 : Répartition géographique de *Galba truncatula*. D'après Rondelaud et al., 2009

Selon Sey (1979), le taux d'infestation chez Galba truncatula varie entre 60 à 70 % tandis que celui qui concerne Limnea peregra n'est que de 3 à 5 %. La découverte de C. daubneyi repose notamment sur l'échec d'une épreuve d'infestation de bulins par des métacercaires de cette espèce de paramphistome (Dinnik, 1962). Ainsi, C. daubneyi a très probablement une forte spécificité d'hôte intermédiaire avec pour hôte préférentiel Galba truncatula - anciennement Limnea truncatula (Sey, 1976). Ces observations ont été confirmées par les travaux d'Abrous, Rondelaud et Dreyfuss (1999c) avec une prévalence plus élevée chez G. truncatula que chez Omphiscola glabra lorsque les deux limnées sont présentes sur les pâtures. Cependant, la prévalence de l'infestation par C. daubneyi chez Omphiscola glabra est non négligeable lorsque seule cette espèce de limnée est présente sur la pâture. Cela montre qu'une adaptation du parasite à l'hôte intermédiaire semble être possible lorsque l'espèce habituellement parasitée est absente (Abrous et al., 1999c). Ainsi, seulement quelques limnées semblent pouvoir permettre le développement complet des stades larvaires de C. daubneyi avec, comme hôte préférentiel, Galba truncatula et, comme autres limnées susceptibles d'intervenir, L. peregra, Omphiscola glabra (Szmidt-Adjidé et al., 1996) et, dans une moindre mesure, des formes juvéniles de L. fuscus, L. palustris et L. stagnalis (Abrous et al., 1999b). Des sporocystes vivants ont été retrouvés chez une physe nommée Aplexa hypnomorum. Pour finir, des études antérieures avaient mis en évidence

que la limnée *L. ovata* du Puy-de-Dôme et la physe *Physella acuta* pouvaient produire a minima, respectivement, des rédies et des sporocystes de *C. daubneyi* (Abrous et al., 1999b).

D'autre part, il a été démontré que chaque limnée infestée par *C. daubneyi* pouvait produire jusqu'à 33 cercaires sur trois jours (Szmidt-Adjidé et al., 1994 - cités par Abrous et al., 1997). Cela fait de la limnée un agent fortement contaminateur des pâtures.

Il a été montré que les infestations mixtes chez des limnées par *C. daubneyi* et *Fasciola hepatica* sont possibles. (Abrous et al., 1999c). La sortie des cercaires est cependant différente pour l'un et pour l'autre : il s'agit bien d'une effraction tégumentaire pour les deux parasites, mais l'émission de cercaires de paramphistomes nécessite une température extérieure moins élevée (Abrous et al., 1999a) que celle des cercaires de grandes douves. Par conséquent, il y a une plus longue période de contamination des bovins au pâturage par les cercaires de paramphistomes : plus précoce au printemps et plus tardive en automne (Abrous et al., 1999a).

Plus précisément, une température variant quotidiennement correspondant à la vie aquatique et terrestre du mollusque, permet l'émission d'un grand nombre de cercaires de *C. daubneyi* (Abrous et al., 1999a).

# **I.6.3** HOTES DEFINITIFS

Les hôtes définitifs des Paramphistomatinés sont des ruminants ou des porcins. Concernant les paramphistomes retrouvés en Europe, les hôtes définitifs associés sont des ruminants domestiques ou sauvages. La population d'animaux atteints est détaillée dans la partie épidémiologie descriptive. Concernant *C. daubneyi*, en France, l'hôte définitif est prioritairement le bovin. Le mouton et le cerf élaphe sont aussi des hôtes définitifs de ce parasite (Sey, 1980). Les hôtes définitifs de *P. cervi* et de *P. ichikawai* sont préférentiellement les ovins et les caprins mais les bovins peuvent également être infestés par ces espèces. Selon Sey (1980) les animaux sauvages atteints par *P. cervi* sont le mouflon, le bison, l'élan, le renne, le cerf élaphe, le daim et le chevreuil.

Une spécificité d'hôte définitif existerait. Cette hypothèse a pu être confirmée par Horak en 1967 avec un plus grand nombre de parasites adultes de *C. microbothrium* chez les bovins que chez les ovins et les caprins pour une même quantité de métacercaires ingérées (Horak, 1967 - cité par Horak, 1971).

## **I.6.4** FACTEURS INFLUENÇANT LE CYCLE

Levasseur (2004) explique que les conditions météorologiques ont un rôle important quant au niveau d'infestation des bovins par les paramphistomes et la grande douve. En effet, différentes études ont montré que les facteurs influençant le déroulement du cycle sont la température, la lumière et plus largement le climat.

La température influence plusieurs étapes du cycle évolutif des paramphistomes : le développement du miracidium dans l'œuf, la survie du miracidium dans le milieu extérieur, le développement à l'intérieur du mollusque et l'émission cercarienne. Le développement du miracidium ne se fait qu'à partir de 10°C et est optimal à 15°C. L'éclosion de l'œuf ne se fait qu'à partir de 13°C (Kraneburg, 1977 - cité par Postal, 1984). Le miracidium survit 40 heures à 4°C alors qu'il ne survit que quatre heures à 30°C. Les mollusques ne sont actifs

qu'à partir de 10°C pour *Galba truncatula* et leur activité conditionne en grande partie la phase externe du cycle des paramphistomes (Kraneburg, 1977 - cité par Postal, 1984). Le développement des stades larvaires dans l'hôte intermédiaire n'est possible qu'à partir de 18°C. L'émission cercarienne se fait de manière optimale entre 24 et 28°C (Kraneburg, 1977 - cité par Postal, 1984) mais des variations brutales y sont aussi favorables. En effet, des variations thermiques allant de 20°C à 6 - 8°C de quelques heures par jour entraînent significativement plus de cercaires émises par le mollusque qu'à température constante (Abrous et al., 1999). Enfin, dans une moindre mesure, la survie des métacercaires est possible en dessous de 0°C mais dans le cas où elles ne seraient pas immergées (Kraneburg, 1977 - cité par Postal, 1984).

Chez les paramphistomes, la lumière est aussi un facteur important permettant l'éclosion des œufs et l'émission de cercaires par le mollusque. En effet, les œufs gardés à l'obscurité et à plus de 15°C restent inertes, et ne peuvent éclore qu'après un stimulus lumineux (Yamaguti, 1975 d'après Loss, 1900). Elle a cependant un effet négatif sur les miracidiums en leur diminuant leur temps de vie (Postal, 1984). L'émission cercarienne est d'autant plus importante que l'exposition des escargots à la lumière est intense (Butler et Yeoman, 1962 - cité par Rieu, 2004).

L'eau est un facteur déterminant dans la réalisation du cycle des paramphistomes étant donné que le miracidium et la cercaire sont des formes larvaires nageuses. De plus, l'eau participerait indirectement à la maturation de l'embryon à l'intérieur de l'œuf et à l'éclosion de l'œuf en délitant les matières fécales entourant ce dernier (Smyth et Halton, 1984).

Le climat influence le cycle évolutif par le biais de la température et de la pluviométrie. Contrairement à ce que l'on pourrait penser concernant ces maladies des zones humides, les périodes de sécheresse favorisent aussi le cycle évolutif des paramphistomes. En effet, les animaux se regroupent et passent beaucoup plus de temps autours des dernières zones humides qui sont rapidement et fortement contaminées par les œufs puis par les métacercaires de paramphistomes (Levasseur, 2004). Les animaux ingèrent alors davantage de métacercaires et l'infestation est d'une plus grande intensité.

L'alternance, pendant la saison de pâturage, de pluies et de chaleurs est favorable à la prolifération des limnées et à la libération des cercaires (Levasseur, 2004). D'autre part, les pluies semblent être très favorables à l'émission cercarienne et favoriseraient ainsi le cycle. Ces pluies sont fréquentes en septembre - octobre de même qu'en janvier - février, ce qui pourrait expliquer l'infestation des bovins en novembre - décembre et en mai (Smitz-Adjidé et al., 2000). Le climat intervient aussi sur le développement de l'hôte intermédiaire. La prolificité des mollusques intermédiaires intervient également en favorisant le cycle, permettant une colonisation rapide d'un site. Les crues et les débordements peuvent aussi être responsables de la contamination des pâtures par les hôtes intermédiaires et les métacercaires. (Lefèvre et al., 2003).

Le régime alimentaire de l'hôte intermédiaire peut pareillement influencer le cycle évolutif des paramphistomes. De sorte que, les émissions cercariennes sont plus importantes lorsque le mollusque se nourrit de microalgues (Abrous et al., 2002 - cités par Rieu, 2004).

D'autres facteurs peuvent influencer le cycle des paramphistomes, mais ceux-ci sont d'ordre zootechnique et sont détaillés dans la partie consacrée à l'épidémiologie de la paramphistomose.

# **1.6.5 HABITAT**

L'habitat du parasite est multiple. Il est composé de l'habitat de l'hôte intermédiaire, du milieu interne de l'hôte intermédiaire et des parois digestives ainsi que du milieu ruminal de l'hôte définitif.

Les miracidiums et les métacercaires ont pour habitat le même biotope aquatique que celui des hôtes intermédiaires. Les limnées intervenant dans le cycle de *C. daubneyi* se développent dans des conditions d'environnement très précises. Les limnées tronquées colonisent une faible superficie autour d'un point d'eau ou d'un cours d'eau où l'eau coule très lentement (Levasseur et Alzieu, 2002). Les limnées ont donc besoin d'eau stagnante ou peu vive tout en restant claire. Les zones propices à leur développement sont les jonchaies de pente, les empreintes de sabot, les environs des bacs d'abreuvement débordant en permanence, les fossés peu profonds et les zones marécageuses. Les limnées peuvent aussi se trouver dans les cours d'eau à faible débit, dans le creux des méandres, derrière les piles de pond, ou sur les berges des étangs (Levasseur et Alzieu, 2002).

Concernant les sporocystes et les rédies immatures, leur habitat est constitué par l'hémolymphe du mollusque (Boch et al., 1983 - cité par Joly, 1991). Les cercaires, quant à elles, acquièrent leur maturité dans l'hépatopancréas du mollusque qu'elles quittent par effraction à la faveur de stimuli thermiques ou lumineux (Joly, 1991).

Au sujet de l'habitat des métacercaires, il se compose des différents végétaux sur lesquels elles sont fixées.

Concernant les *adolescaria*, l'habitat fréquenté est constitué de la muqueuse et des parois digestives du duodénum et de l'abomasum. Les parasites se retrouvent plus fréquemment sur les trois premiers mètres de l'intestin grêle, mais lors de charges parasitaires plus importantes, des parasites peuvent être retrouvés plus distalement (Horak, 1971). Chez *C. microbothrium*, ces formes immatures ne commencent leur migration qu'après avoir atteint des dimensions particulières notamment concernant l'acétabulum qui doit mesurer 0,56 mm de diamètre (Horak, 1971). Les *adolescaria* migrent ensuite vers le rumen en passant dans la digestive ou en restant à sa surface, à contre-courant du transit digestif (Euzeby, 1975).

Enfin, les parasites adultes ont pour habitat le rumen et le réseau de l'hôte définitif. Leur répartition n'est pas homogène : ils se fixent préférentiellement sur les parois des atriums et dans la gouttière rumino-réticulaire que sur les parois du sac ventral et dorsal du rumen (Gonzalez-Warleta et al., 2012). Le rumen est un milieu caractérisé par une semi-anaérobie pour lequel le parasite possède une hémoglobine capable de fixer très efficacement le dioxygène disponible (Dewilde et al., 2008).

#### I.6.6 NUTRITION

Les formes larvaires retrouvées chez l'hôte intermédiaire, notamment dans son hépatopancréas, se nourrissent des tissus biologiques les environnant. La présence d'une ébauche d'estomac démontre que le système digestif intervient dans la nutrition du parasite. Mais le tégument semble intervenir également comme chez d'autres Trématodes.

Les *adolescaria* sont hématophages et histophages (Euzeby, 1975). Leur pénétration dans les muqueuses digestives crée des hémorragies localisées. Les parasites se nourrissent alors du sang venant des vaisseaux lésés. L'hémoglobine issue du sang ingéré leur donne leur couleur rouge - rosée. Par ailleurs, comme cela a pu être observé pour *P. cervi* par Sahai, Singh et Prasad (1985 - cités par Rieu 2004), il semblerait que les formes immatures soient histophages. Ces formes parasitaires se nourriraient de la muqueuse digestive et utiliseraient les polysaccharides et le glycogène de cette muqueuse pour leur croissance et leur développement au sein de la muqueuse duodénale.

Au contraire, les parasites adultes sont peu hématophages et plutôt chymivores (Bussiéras et Chermette, 1988 ; Lefèvre et al., 2003). En effet, l'ouverture buccale n'est pas au contact de la muqueuse digestive et est tournée au contraire vers le milieu ruminal. De plus, les branches cæcales sont simples, non ramifiées, offrant une surface d'échange modeste contrairement à *Fasciola hepatica* ayant un régime hématophage. Leur métabolisme est aérobie et leur source d'alimentation est le contenu ruminal qui se compose entre autres d'une phase liquidienne composée de nutriments, de bactéries et de protozoaires. Cependant, les paramphistomes se nourriraient essentiellement de débris végétaux (Sharma et Hora, 1983 - cités par Rieu, 2004).

Enfin, une surcharge parasitaire provoque un retard de développement des parasites et un retard de migration rétrograde chez l'hôte définitif (Euzeby, 1975).

# II. DIAGNOSE D'ESPECE

La diagnose d'espèce a d'abord été assez utilisée lors de la découverte en France de la présence de paramphistomes. Cinq espèces de paramphistomes ont été décrites en France depuis 1945. Cependant, de nos jours, la paramphistomose bovine est communément attribuée à *C. daubneyi*. Plusieurs méthodes peuvent être utilisées mais l'identification reste difficile. Elles nécessitent des techniques de préparations particulières et un utilisateur ayant un minimum d'expérience. Les méthodes pouvant être utilisées sont l'analyse de coupes histologiques de parasite adultes, la chétotaxie, l'identification des hôtes intermédiaires, la mesure de la taille des œufs, et l'analyse génétique de l'ADN ribosomale. Rares sont celles qui permettent de conclure de manière précise avec un faible risque d'erreur.

L'identification de l'espèce de paramphistome lors de cas cliniques inhabituels permettrait peut-être de mettre en évidence un pouvoir pathogène plus important chez certaines espèces et d'expliquer un tableau clinique plus sévère. Cependant, l'existence d'un pouvoir pathogène différent selon les différentes espèces de paramphistomes décrites en France n'a jamais été démontrée.

# **II.1** PAR HISTOLOGIE

Le nombre d'espèces, et leur classification, a beaucoup évolué depuis la fin du XIXe siècle. La première classification a été établie par Fischoeder en 1903 (cité par Sey, 1980) qui

créa le genre *Paramphistomum* en 1901 pour remplacer le nom d'*Amphistoma rudolphi*. Celui-ci se composait de trois groupes se différenciant les uns des autres par leur structure concernant le canal de Laurer, croisant ou non la vessie, et le développement des parties musculeuses. Des espèces furent ajoutées et le genre fut ensuite divisé en quatre sousgenres en 1910, par Stiles et Goldberger en se basant, en plus, sur la présence ou non d'une poche ventrale au niveau du génitalium terminal et sur la taille de l'acétabulum. Fukui, en 1922, décrit trois nouvelles espèces dont *P. ichikawai* issues de ruminants provenant du Japon (Eduardo, 1982b). Néanmoins, en 1923, Mapelstone discrédite cette liste d'espèces et la réduit - revenant à la situation précédente - à huit espèces (Näsmark, 1937). Depuis, de nombreux auteurs ont conservé cette liste réduite et les synonymies.

Au cours de ces changements, décrits dans l'ouvrage de Näsmark, *Paramphistomum cervi* a tour à tour existé comme espèce à part entière ou a servi d'espèce « refuge » pour d'autres espèces considérées comme synonymes. Näsmark (1937) a réalisé un grand nombre d'observations à partir de nombreux échantillons de parasites colorés et coupés dans leur plan médian. Il a étudié précisément, en effectuant de nombreuses mesures, l'anatomie et la morphologie, en se focalisant sur la structure de l'acétabulum, du pharynx et de l'atrium génital, des individus de la famille des Paramphistomatidés entre autres. Il a ensuite publié une révision de la classification concernant les paramphistomes et les trématodes au sens large. Il crée, en 1937, le genre *Calicophoron* pour les espèces ayant une *pars musculosa* bien développée. Alors, de nombreux auteurs modifièrent le nombre d'espèces et leur classification (Eduardo, 1982b).

Dinnik, en 1962, décrit une nouvelle espèce de paramphistome : *Paramphistomum daubneyi*, retrouvée chez des ruminants du Kenya. Puis, en 1971, Yamaguti révise la description et la classification des trématodes sans décrire précisément cette nouvelle espèce. En 1980, Sey publie une révision de la liste des espèces retrouvées en Europe à partir de différentes collections.

Enfin Eduardo, entre 1982 et 1985, publie une révision de la classification des trématodes en utilisant à la fois le revêtement tégumentaire du parasite adulte et l'anatomie des parasites adultes pour identifier les différentes espèces de Paramphistomatidés. Reprenant le genre *Calicophoron*, créé par Näsmark en 1937, Eduardo déplace des espèces du genre *Paramphistomum* vers le genre *Calicophoron* en se fondant sur l'observation de la pars musculosa. Ainsi, en 1983, il reclasse, entre autres, *Paramphistomum daubneyi* dans le genre *Calicophoron*, d'où le nom *Calicophoron daubneyi* adopté depuis. Il a aussi séparé l'espèce *P. cervi* en trois autres espèces en se basant sur l'anatomie du génitalium terminal et la disposition du vitellogène. Ces trois nouvelles espèces sont *P. leydeni*, *P. scotiae*, *P. hiberniae*.

Plusieurs auteurs ont discrédité cette nouvelle classification. La disposition des papilles serait une altération de la structure papillaire normale d'après les travaux d'Odening (1983 - cité par Postal, 1984). De plus, la chétotaxie ne validerait pas la classification d'Eduardo (Sammaliev et al., 1983 - cités par Postal 1984).

Même si la liste des espèces qu'il a établie ne fait pas l'unanimité parmi les parasitologues, cette liste et les clés de diagnose qui y sont rattachées sont encore

d'actualité. Le tableau réalisé par Lefèvre et al. (2003) est tiré des articles d'Eduardo (1982 - 1986) et présente cette liste.

Famille	Genre	Espèce	Hôtes	Localisations des adultes	Répartition géographique
	Paramphistomum	cervi liorchis gracile epiclitum gotoi ichikawai leydeni hiberniae	Ruminants	Rumen, réseau	Cosmopolite
Paramphistomatidés	Calicophoron	calicophoron papillosum raja bothriophoron microbothrium papilligerum clavula microbothrioides sukari phillerouxi daubneyi sukumum	Ruminants	Rumen, réseau	Cosmopolite
	Cotylophoron	cotylophoron jaksoni fulleborni panamensis bareilliense macrosphinctris xiangjiangense	Ruminants	Rumen, réseau	Cosmopolite

Tableau IV : Différents genres et espèces de Paramphistomatidés cosmopolites. D'après Eduardo, 1982, 1983, 1984

Dorchies et al., dans le communiqué de la S.F.B. de Paris de novembre 2000, déclarent, en s'appuyant sur les travaux de Sey (1979 et 1980), et de Graber et al. (1980a), que les seules espèces de Paramphistomatidés européennes seraient au nombre de trois. *C. daubneyi* serait principalement retrouvée chez les bovins et *Paramphistomum ichikawai* et *Paramphistomum leydeni* (=cervi=scotiae=hiberniae) seraient plus fréquemment retrouvées chez les ovins et caprins (Silvestre et al. 2000 - cités par Dorchies et al., 2000). D'autre part, Mage et al. (2002) considèrent que la paramphistomose bovine en Europe pourrait être aussi due à *Calicophoron microbothrium* (*Paramphistomum microbothrium*).

En France, Levasseur et Alzieu (1991) citent aussi cette liste d'espèces. C'est pourquoi dans leur thèse de médecine vétérinaire, Joly (1991), puis Rieu (2004) déclarent que les espèces trouvées en France avant 1991 sont : *Paramphistomum cervi, Paramphistomum leydeni, Paramphistomum ichikawai, Calicophoron daubneyi (P. daubneyi)* et *Calicophoron microbothrium (P. microbothrium)*, avec une synonymie possible entre *P. leydeni* et *P. cervi*.

Référence	Espèce	Département	Technique d'identification
Guilhon et Priouzeau, 1945	P. cervi	85	Aucune
Fonteneau, 1979	P. cervi	85	histologie
	ou		
	P. leydeni		
Graber et al, 1980a	P. daubneyi	58, 42	Histologie
Sey, 1980	P. microbothrium	20	Histologie
			•
	P. ichikawai	54, 85	
Graber et al, 1980b	P. leydeni	44, 13	Histologie
	P. cervi	85	
Postal, 1984	P. cervi	72	Histologie
	P. daubneyi	85	
Casset, 1989	P. daubneyi	09	Histologie
Joly, 1991	P. leydeni	71	Histologie
	ou		
	P. cervi		
Rieu, 2004	C. daubneyi	Champagne-	Histologie
		Ardennes	

Tableau V: Premières identifications des paramphistomes retrouvés en France.

Cependant, de nos jours, en France, vu le tableau clinique commun à l'ensemble de ces Paramphistomatidés précédemment cités et vue la présence sur l'ensemble du territoire métropolitain de *Galba truncatula*, l'espèce communément incriminée dans les amphistomoses bovines est *Calicophoron daubneyi* (Dorchies et al., 2002b). C'est ce même parasite qui a été identifié par le laboratoire de parasitologie de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse en 1989 dans le cadre d'une enquête sur la paramphistomose bovine en abattoir (Casset, 1989). Ainsi, la paramphistomose bovine en France est couramment attribuée *Calicophoron daubneyi* bien que les diagnoses d'espèces ne soient pas réalisées régulièrement.

### **II.1.1** TECHNIQUES DE PREPARATION

Les étapes de préparation des coupes histologiques font intervenir une étape d'inclusion des parasites déshydratés dans un bloc de paraffine. Les blocs de paraffine sont ensuite coupés. La technique de préparation utilisée dans la partie expérimentale est donnée dans l'annexe 2. Deux techniques de coupes peuvent être utilisées.

### Coupes manuelles épaisses :

Ce type de coupe est réalisable manuellement après coloration au carmin chlorhydrique avec la technique de Neveu-Lemaire (1936) plus couramment utilisée pour colorer les cestodes. Les coupes ont une épaisseur de 20 µm. Cette technique a l'avantage de permettre l'observation de la totalité des organes internes du parasite. L'inconvénient est que l'observation au fort grossissement du microscope optique n'est pas possible (Joly, 1991). De plus, les photographies réalisées avec ce type de coupe ne sont pas satisfaisantes du fait d'un arrière-plan coloré et foncé.

### Coupes fines au microtome :

Les coupes fines ont une épaisseur de 5 à 7 µm d'épaisseur. Elles sont réalisées au microtome. La coloration généralement utilisée est une coloration avec de l'hématoxyline-éosine. Les composés acides sont colorés en rose et les composés basiques comme les noyaux cellulaires sont colorés en bleu. La finesse de la coupe permet d'utiliser le grossissement maximal du microscope optique et de réaliser des clichés photographiques de bonne qualité.

À titre d'exemple, les grandes étapes de préparation des coupes sont données ciaprès.

# <u>Protocole de préparation des coupes histologiques d'amphistomes, utilisé dans l'étude de Seck et al., 2008 :</u>

Ces coupes histologiques sont obtenues après fixation et préparation des parasites adultes prélevés dans le rumen d'un ruminant. Les parasites sont fixés dans de l'éthanol à 70°C, provoquant la précipitation et la coagulation des protéines et donc une insolubilisation de tous les constituants cellulaires et tissulaires. Les échantillons sont ensuite traités avec de l'éthanol absolu et du butanol. Les parasites sont ensuite passés dans de la butylparaffine puis dans de la paraffine. Des coupes sagittales sériées sont réalisées. Ces coupes sont placées sur des lames porte-objets et déparaffinées par du toluène et réhydratées par des bains d'éthanol de concentrations décroissantes. Les échantillons sont ensuite colorés par de l'hématoxyline-éosine. Ces coupes recouvertes d'une lamelle portant de l'Euckit® sur une face sont gardées l'étuve à 60°C jusqu'à leur observation au microscope.

### **II.1.2** ÉLEMENTS DE DIAGNOSE

En 1937, Näsmark publie dans « A revision of the Trematode Family Paramphistomidae » une classification des Paramphistomatidés qui se fonde sur l'observation de coupes histologiques de parasites adultes, provenant de nombreuses

collections, coupés selon leur grand axe dans le plan médian principalement (voir la figure n°46).

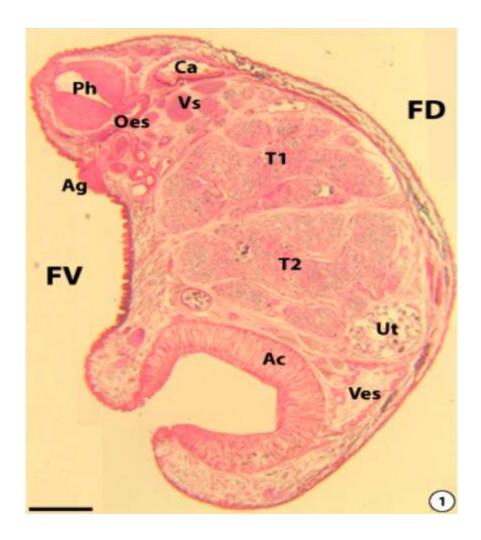


Figure  $n^{\circ}46$  : Coupe histologique de *Calicophoron daubneyi*. D'après Seck et al., 2008.

### Légende :

FD : face dorsale
FV : Face ventrale
Ph: Pharynx
Oes : Œsophage
Ag: Génitalium terminal

Ca: Cæcum

Vs : Vésicule séminale T1 : Testicule antérieur T2 : Testicule postérieur

Ut: Utérus Ves: Vessie Ac: Acétabulum Barre d'échelle: 1 mm

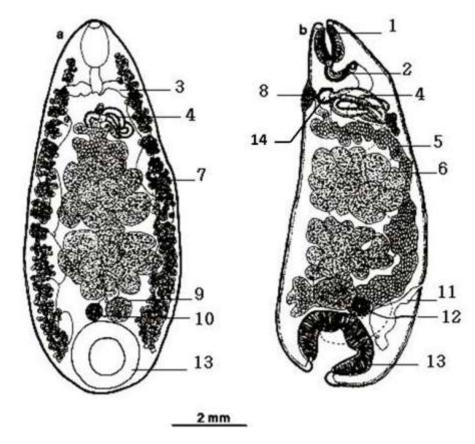


Figure n°47 : Schéma anatomique *de Calicophoron daubneyi*. D'après Fischoeder, 1903 - cité par Eduardo, 1983.

Légende: 1: pharynx, 2: œsophage, 3: branche cæcale, 4: pars seminalis, 5: utérus, 6: testicule, 7: vitellogène, 8: génitalium terminal, 9: ovaire, 10: glande de Mehlis, 11: vessie, 12: canal de Laurer, 13: acétabulum, 14: pars musculosa.

Näsmark a créé, en 1937, une typologie des différents oranges musculeux des Paramphistomatidés. Il a décrit précisément la taille et la morphologie de l'acétabulum, du pharynx, et de le génitalium terminal des parasites adultes. D'après lui ses caractères se retrouvent aussi facilement sur des formes immatures. Cette classification repose donc sur le fait que la morphologie de ces organes musculeux ne varie que très peu pour des individus de la même espèce. Les masses musculaires sont examinées attentivement.

Cependant, du fait des variations de l'incidence de coupe et de la relaxation musculaire des parasites, cette technique présente tout de même quelques biais. Selon la conformation du pharynx, du génitalium terminal et de l'acétabulum, des types de ces trois organes ont été définis. Les différentes combinaisons de type d'acétabulum, de pharynx et de génitalium terminal, permettent d'identifier l'espèce de Paramphistomatidé.

Seuls les différents types d'organes retrouvés chez les espèces décrites en France sont présentés ci-après. La clé de diagnose de chaque type d'organe, retrouvé uniquement chez les espèces décrites en France métropolitaine, est détaillée après l'exposé des types d'organes.

Eduardo (1982), dans sa révision des Paramphistomatidés, accorde plus ou moins de crédits à l'étude des différents organes internes du parasite. La longueur du corps et sa forme sont décrites de manière précise par Näsmark (1937). Néanmoins, Eduardo (1982)

explique que ces critères n'ont pas une grande valeur pour la diagnose d'espèce du fait des grandes variations dues à la technique de fixation et de préparation des échantillons. De plus, Horak (1971), a démontré que les parasites de la même espèce avaient une taille plus grande chez les bovins que chez les petits ruminants. Toutefois, la forme du corps peut être conservée dans le cas où la fixation serait de bonne qualité (Eduardo, 1982). Au contraire, la taille de l'acétabulum et la taille du pharynx sont de bons critères de diagnose. En effet, du fait de l'état très musculeux et rigide de ces organes, leurs dimensions ne varient que très peu au cours de la préparation des échantillons (Eduardo, 1982). La présence d'une poche pharyngienne et de diverticules pharyngiens n'a qu'une valeur taxinomique de genre. Le niveau de développement de la musculature demeure un bon critère de diagnose à l'inverse de la longueur de l'œsophage en raison de son élasticité. Les branches cæcales des Paramphistomatidés, comme ceux de la plupart des Trématodes Digènes, sont des tubes se terminant en cul-de-sac et répartis latéralement le long du corps du parasite. Leur description et la configuration de leurs terminaisons aveugles (en cul-de-sac) sont de bons critères de diagnose d'espèce. Au contraire, la disposition des testicules est relativement variable et demande l'examen de nombreux spécimens (Eduardo, 1982). La lobulation des testicules est difficile à évaluer sur une coupe histologique, l'ensemble des lobes n'étant pas visible. La description de la lobulation est le seul critère ayant une bonne valeur de diagnose. La position de l'ovaire est importante pour la diagnose de genre. La position du pore génital dépend beaucoup de la fixation des échantillons et de leur relâchement au moment de leur préparation (Eduardo, 1982).

En outre, Eduardo (1982a, 1982b, 1983) a accordé beaucoup d'importance à la description de la forme et de répartition des papilles tégumentaires. Parmi les espèces décrites en France, *Paramphistomum cervi* est la seule espèce qui ne possède pas de papilles en forme de dôme (Eduardo, 1982a). Cependant, l'observation de ces papilles nécessite un microscope électronique à balayage, ce qui ne peut pas être réalisé en routine. À l'heure actuelle, il est nécessaire de composer entre différentes sources pour pouvoir identifier les différentes espèces de paramphistomes décrites en France par simples coupes histologiques. Ces sources sont : Näsmark (1937) - où *C. daubneyi* n'y est pas cité - ainsi que Dinnik (1962), Sey (1980) et Eduardo (1982b et 1983).

### a) DIFFERENTS TYPES D'ACETABULUMS

L'acétabulum correspond à la ventouse postérieure du parasite avec laquelle il se fixe sur la paroi digestive des ruminants (Näsmark, 1937). C'est un élément anatomique très riche en fibres musculaires. Concernant les espèces de paramphistomes décrites en France, deux types d'acétabulum sont à distinguer. L'identification du type d'acétabulum ne peut se faire que sur coupe sagittale médiane car, en effet, sur les autres coupes certaines couches musculaires ne sont pas visibles. L'acétabulum de ce parasite est composé de différentes couches musculaires. La musculature de cette ventouse est plus ou moins développée selon les espèces. Les faisceaux musculaires de ces couches sont coupés soit longitudinalement, soit transversalement, soit obliquement. Les fibres musculaires sont regroupées en faisceaux musculaires qui peuvent être radiaux, obliques circulaires ou longitudinaux.

Le contour externe de l'acétabulum est recouvert du tégument commun à l'ensemble du corps. La première couche musculaire rencontrée est la couche longitudinale externe. Elle est continue sur l'ensemble du bord externe et est coupée longitudinalement par rapport à ses fibres musculaires. Plus dans l'épaisseur de l'organe et à chaque extrémité de la coupe, il se distingue des faisceaux de fibres musculaires coupées transversalement qui correspondent aux couches musculaires circulaires de l'acétabulum. Ces faisceaux sont visibles sur l'extrémité dorsale et ventrale de la coupe. Sur le pourtour externe, coupés transversalement, les faisceaux musculaires forment deux groupes distincts : la couche musculaire circulaire externe dorsale, elle-même divisée en deux groupes, la couche musculaire circulaire externe dorsale 1 et la couche musculaire circulaire externe dorsale 2 ainsi que la couche circulaire externe ventrale. Sur le pourtour interne, coupé transversalement, on distingue la couche musculaire circulaire interne dorsale et la couche musculaire circulaire interne ventrale. L'épaisseur de l'organe est parcourue par des faisceaux orientés radialement formant la couche musculaire radiale. Des faisceaux orientés obliquement croisent les faisceaux radiaux et sont surtout présents aux extrémités de la coupe correspondant aux rebords de l'acétabulum. Ainsi, les différents types d'acétabulum se différencient par l'organisation de ces quatre couches musculaires circulaires.

Comme il a été décrit plus avant que la couche musculaire circulaire externe dorsale est divisée en deux groupes pour la première partie, la plus dorsale, l'abréviation est « d. e. c. 1 » et pour la seconde partie, l'abréviation est « d. e. c. 2 ». Le nombre de fibres composant chaque faisceau n'a pas été retenu pour la classification, car ce critère présentait trop de facteurs de variation (l'âge du parasite, l'état de fixation, ...). Malgré les variations de relaxation dues à la préparation des coupes histologiques, d'après Näsmark (1937), l'acétabulum conserve un diamètre et un nombre d'unités musculaires (faisceaux musculaires coupés transversalement) très constant au sein d'une espèce donnée et est l'élément dont l'observation reste la plus objective. Néanmoins, cette affirmation ne repose que sur 17 échantillons de Calicophoron microbothrium et n'est pas statistiquement significatif. Malgré quelques variations, le nombre d'unités musculaires de chaque couche a été considéré comme un bon facteur d'identification pour la typologie de l'acétabulum tout en restant secondaire à l'observation de l'anatomie de l'organe. Les valeurs données dans les clés de diagnose n'ont qu'une valeur d'exemple vue les variations individuelles qui existent à l'intérieur d'une même espèce (Eduardo, 1982). Un acétabulum théorique et schématique est présenté ci-après.

### L'acétabulum de type paramphistomum, d'après Näsmark, 1937 :

L'acétabulum est de taille moyenne. La couche circulaire externe dorsale est composée de deux groupes de faisceaux : d. e. c. 1 et d. e. c. 2. Les faisceaux du d. e. c. 1 sont plus épais avec une position plus interne que ceux du d. e. c. 2, ayant généralement une forme triangulaire de taille constante. Le groupe de faisceaux d. e. c. 1 est en continuité avec la couche musculaire circulaire externe ventrale. Le groupe d. e. c. 2 est une couche musculaire indépendante présente dans la partie dorsale de l'acétabulum et comprenant un plus grand nombre de faisceaux que le groupe d. e. c. 1 (Eduardo, 1982a). Les couches musculaires circulaires internes ventrales et dorsales ont une épaisseur identique et leurs faisceaux diminuent progressivement de taille. La musculature radiale est composée de

faisceaux musculaires fins, bien développés, uniformes et bien individualisés. Les fibres obliques et la couche musculaire longitudinale externe sont faiblement développées (Eduardo, 1982a). La couche musculaire circulaire externe ventrale est composée de quelques faisceaux musculaires. La couche musculaire circulaire moyenne est composée de faisceaux irrégulièrement espacés (Eduardo, 1982a).

Ce type d'acétabulum se retrouve entre autres chez *Calicophoron daubneyi, C. microbothrium, P. cervi, P. leydeni* (Eduardo, 1982b).

### L'acétabulum de type pisum, d'après Näsmark, 1937 :

L'acétabulum de type pisum est quasiment identique à l'acétabulum de type paramphistomum. Les différences concernent les couches musculaires circulaires, en particulier le groupe d. e. c. 2 : Les faisceaux de ce groupe sont moins développés, irrégulièrement espacés et moins nombreux que ceux du groupe d. e. c. 1 (Eduardo, 1982a). D'autre part, la couche musculaire circulaire interne ventrale est plus fortement développée. La musculature radiale bien développée. Une bande musculaire orientée obliquement dans l'épaisseur de l'organe sépare le groupe d. e. c. 1 et la couche musculaire circulaire externe ventrale. Ce type d'acétabulum se retrouve entre autres chez *Paramphistomum ichikawai* (Eduardo 1982b).

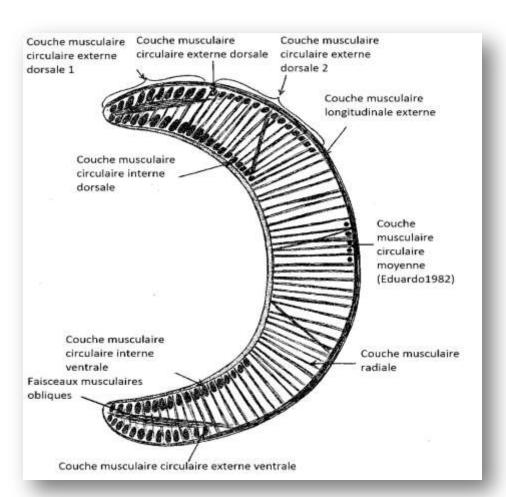


Figure n° 48 : Schéma théorique d'un acétabulum. D'après Näsmark, 1937.

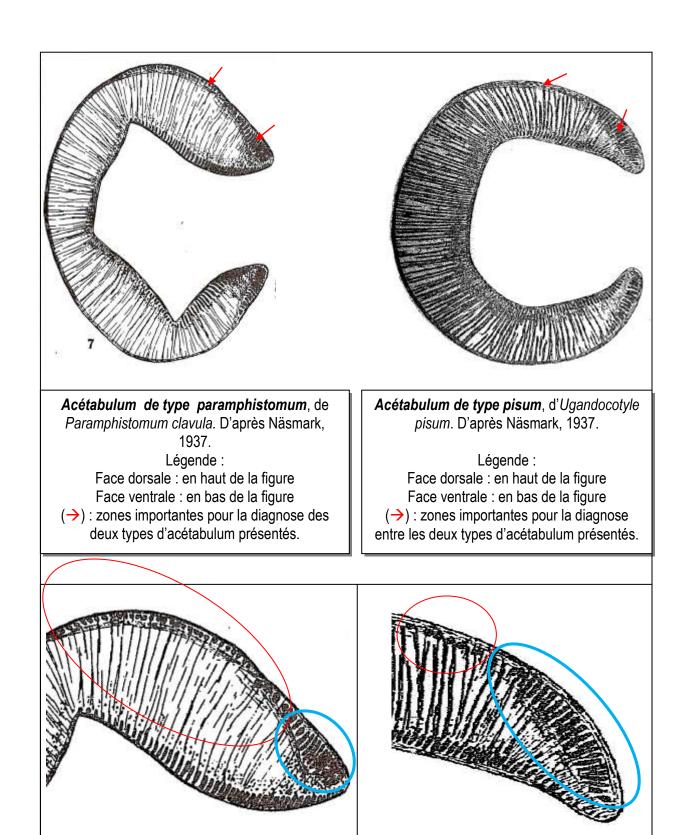


Figure n°49 : Acétabulum de type paramphistomum et pisum avec la comparaison des couches musculaires circulaires externes dorsales 1 et 2 (d.e.c. 1 et d.e.c. 2 ). Légende : cercle bleu épais : d.e.c. 1, cercle fin rouge : et d.e.c. 2.

Type pisum

Type paramphistomum

### Clé de diagnose des différents types d'acétabulum, d'après Eduardo, 1982a : Acétabulum de grande taille Couche musculaire circulaire externe ventrale divisée en deux groupes de faisceaux musculaires : v. e. Couche musculaire circulaire externe ventrale non divisée en deux groupes de faisceaux musculaires Couche musculaire circulaire externe dorsale 2 composée de plus petits et de plus nombreux faisceaux que la couche musculaire circulaire externe dorsale 1; faisceaux musculaires Couche musculaire circulaire externe dorsale 2 composée de faisceaux plus petits et de moins nombreux que la couche musculaire circulaire externe dorsale 1; faisceaux musculaires circulaires externes médians Couche musculaire circulaire externe dorsale 2 composée de plus grands et de plus nombreux faisceaux que la couche musculaire circulaire externe dorsale 1; faisceaux musculaires Acétabulum de taille moyenne ou de petite taille. Couche musculaire circulaire externe dorsale divisée en deux groupes de faisceaux musculaires : d. e. c. 1 et d. e. c. 2 Couche musculaire circulaire externe dorsale 2 composée de plus petits et de plus nombreux couche musculaire circulaire externe dorsale faisceaux ......Type paramphistomum Couche musculaire circulaire externe dorsale 2 composée de faisceaux plus petits et moins la musculaire circulaire externe dorsale nombreux que couche Type pisum Couche musculaire circulaire externe dorsale non divisée en deux groupes de faisceaux musculaires Faisceaux musculaires circulaires externes (dorsaux et ventraux) plus nombreux que ceux de la Faisceaux musculaires circulaires externes (dorsaux et ventraux) moins nombreux que ceux de la couche interne (dorsaux et ventraux) Faisceaux musculaires obliques, proches de la marge interne de la couche musculaire circulaire externe, bien développés et proéminents ; faisceaux de la couche musculaire circulaire externe compacts et bien développés mais moins nombreux que ceux de la Faisceaux musculaires obliques, proches de la marge interne de la couche musculaire circulaire externe, peu développés et non proéminents; faisceaux de la couche musculaire circulaire externe compacts et bien développés mais moins nombreux que ceux de la couche musculaire circulaire interne ; les faisceaux musculaires de la couche musculaire circulaire externe dorsale forment parfois Couches musculaires obliques, proches de la marge interne de la couche musculaire circulaire externe, absentes ; faisceaux de la couche musculaire circulaires externe diffuses et environ aussi nombreux que ceux de la couche musculaire circulaire interne [...]

Figure n° 50 : Clé de diagnose des différents types d'acétabulum. D'après Eduardo, 1982a. Extrait avec mise en relief des caractères présents chez les espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France.

### b) DIFFERENTS TYPES DE PHARYNX, D'APRES NÄSMARK, 1937

Le pharynx est un organe situé sur la partie antérieure du parasite, formant la ventouse buccale. Chez les paramphistomes, il est généralement bien développé et se compose de nombreuses fibres musculaires. Deux types de pharynx sont présents chez les paramphistomes décrits en France : le pharynx de type calicophoron et le pharynx de type liorchis. La typologie des pharynx repose sur l'observation des différentes couches musculaires qui le composent. De manière schématique, la musculature du pharynx se compose d'une couche longitudinale externe, d'une couche musculaire circulaire externe, basale, moyenne et interne, d'une couche musculaire radiale, d'une couche musculaire longitudinale interne, d'un sphincter postérieur, d'un sphincter antérieur et d'une lèvre propre au sphincter antérieur. Les différents éléments sont plus ou moins développés selon le type de pharynx considéré. Pour les espèces de Paramphistomatidés présentes en Europe, le pharynx ne possède pas de sacs pharyngiens primaires. Un hémipharynx théorique et schématique possédant l'ensemble des structures citées est présenté ci-après.

### Le pharynx de type liorchis, d'après Näsmark, 1937 :

La forme générale est oblongue avec des angles arrondis mais pas en forme d'ellipse. La partie antérieure du pharynx abrite une cavité plus ou moins bien visible délimitée par des papilles bien développées. Les parties antérieures de chaque hémipharynx sont recourbées l'un vers l'autre pour former cette cavité. La couche circulaire interne se compose de petits faisceaux musculaires plus de section plus importante sur la partie antérieure que sur la partie postérieure. La couche longitudinale interne est bien développée (Eduardo, 1982a) avec une structure bien visible et parfois en forme de lyre. La plus grande largeur se trouve à l'extrémité postérieure et la plus petite largeur se trouve à la limite entre le tiers antérieur. La couche musculaire circulaire moyenne est bien développée et clairement délimitée malgré sa modeste épaisseur. Les sections des faisceaux de cette couche sont plus grandes dans la partie postérieure que dans la partie antérieure. La couche musculaire radiale est d'épaisseur et d'apparence très variable et modérément développée. La couche circulaire externe se compose de faisceaux bien développés plus proches de la couche circulaire moyenne que de la paroi externe (Eduardo, 1982a). Cette couche circulaire externe est fortement développée dans la partie postérieure et parfois difficilement identifiable dans la partie antérieure. La couche longitudinale externe est bien développée avec quelques faisceaux proches de la paroi externe. La couche musculaire circulaire basale est relativement peu développée. Pour ce type de pharynx, le sphincter postérieur, le sphincter antérieur et la lèvre antérieure, sont absents. Ce type de pharynx est présent chez P. cervi et P. leydeni (Eduardo, 1982b).

Le pharynx de type paramphistomum, anciennement utilisé par Näsmark (1937) pour décrire le pharynx de *C. microbothrium* et *P. ichikawai* a disparu.

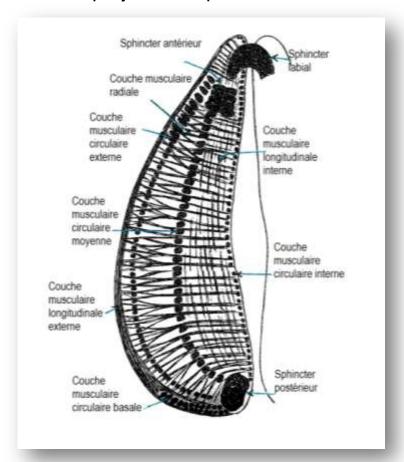
Dorénavant, ces deux espèces ont un pharynx de type calicophoron (Eduardo, 1982a).

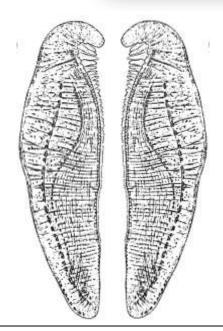
# <u>Le pharynx de type calicophoron ( = type paramphistomum, calicophoron et ijimai, décrit par Näsmark en 1937), d'après Näsmark, 1937 :</u>

La couche circulaire interne se compose de faisceaux musculaires de très petite section. La couche longitudinale interne est peu épaisse et occupe très peu de place comparée aux autres types de pharynx déjà décrits. La couche musculaire circulaire moyenne est absente ou composée de quelques petits faisceaux à la différence du pharynx de type liorchis. La couche musculaire radiale est composée de faisceaux musculaires épais et peu nombreux. La couche circulaire externe est bien développée et se compose de faisceaux rassemblés et très proches les uns des autres. Cette couche est assez périphérique pour ce type de pharynx. La couche longitudinale externe est composée de quelques faisceaux proches de la paroi externe. La couche musculaire circulaire basale est modérément développée (Eduardo, 1982a). La trame d'un sphincter postérieur est présente. Pour ce type de pharynx, le sphincter antérieur, le sphincter postérieur et le sphincter labial sont absents.

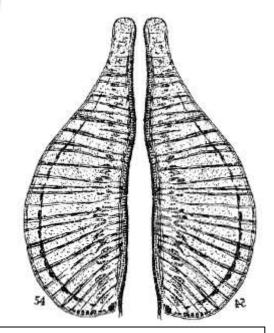
Ce type de pharynx est présent chez *C. daubneyi, C. microbothrium* et *P. ichikawai* (Eduardo, 1982b, 1983).

# Schéma théorique d'un pharynx de Paramphistomatidé





Pharynx de type **liorchis**, *Paramphistomum liorchis*. D'après Näsmark, 1937.



Pharynx de type **calicophoron**, Calicophoron calicophorum. D'après Näsmark, 1937.

Figure n°51 : Schéma théorique d'un hémi-pharynx en coupe longitudinale selon une coupe sagittale médiale du parasite adulte et dessins du pharynx de type liorchis et de type calicophoron. D'après Näsmark, 1937.

### Clé de diagnose des différents types de pharynx, d'après Eduardo, 1982a :

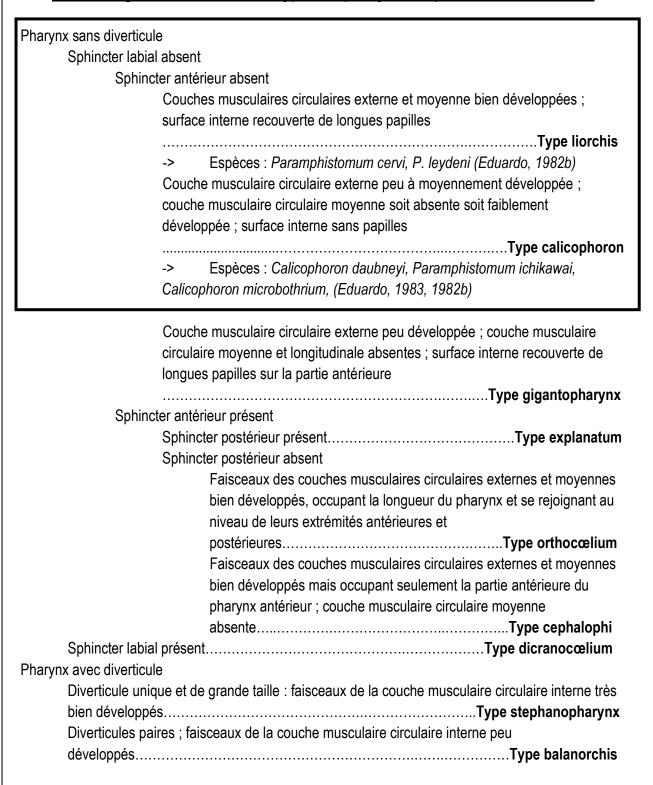


Figure n° 52 : Clé de diagnose des différents types de pharynx. D'après Eduardo, 1982a. Extrait avec mise en relief des caractères présents chez les espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France.

### Pharynx de type liorchis

### Pharynx de type calicophoron





Figure  $n^{\circ}53$ : Pharynx de type liorchis et calicophoron en coupe épaisse. Bailly S. - VetAgro Sup Lyon.





Figure  $n^\circ 54$ : Pharynx de type liorchis et calicophoron en coupe fine. Photos : Bailly S. – VetAgro Sup Lyon.

### c) DIFFERENTS TYPES DE GENITALIUMS TERMINAUX

Le génitalium terminal est, comme le mentionne Euzeby, le « sinus génital des trématodes et des cestodes ». Le génitalium terminal était appelé dans les articles scientifiques parus avant 1982, atrium génital. En effet, Eduardo, en 1982, renomme l'atrium génital de Näsmark (1937), correspondant à la partie distale de l'appareil reproducteur, « génitalium terminal ». Depuis, c'est le terme génitalium terminal qu'il est préférable d'employer afin de ne pas faire de confusion avec la cavité formée par le pli génital et la papille génitale correspondant à l'atrium génital sensu stricto. Cette terminologie a été adoptée par Sey (1987).

De manière schématique, un génitalium terminal est composé, selon l'espèce d'amphistome concernée, d'une papille génitale, d'un sphincter papillaire, d'un sphincter génital, d'un sphincter ventral, d'un atrium génital, d'un atrium ventral, d'une couche musculaire radiale atriale génitale et/ou ventral, et de replis génitaux. Ces différentes structures sont détaillées sur les schémas théoriques suivants.

Euzeby (1975) a représenté quelques génitaliums terminaux rencontrés chez les Paramphistomatidés à partir des travaux de Näsmark (1937).

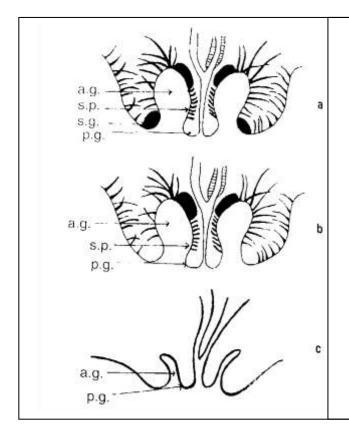


Figure n°55 : Schémas des différents types de génitaliums terminaux présents chez les Paramphistomatidés. D'après Näsmark, 1937 - cité par Euzeby, 1975.

Légende :

a.g. : atrium génitals.g. : sphincter génitals.p. : sphincter papillairep.g. : papille génitale

Le génitalium terminal peut comporter un sphincter génital et un sphincter papillaire (schéma a), uniquement un sphincter papillaire (schéma b) ou aucun de ces deux organes (schéma c).

Concernant les espèces décrites en France, quatre types de génitalium terminal sont à distinguer : le type microbothrium, le type ichikawai, le type leydeni et le type gracile.

### Génitalium terminal de type microbothrium, d'après Näsmark, 1937 :

Pour ce type, le sphincter génital est bien délimité et se distingue du reste des autres tissus alors que le sphincter papillaire est peu développé (Eduardo, 1982a) avec des faisceaux musculaires regroupés dans la partie la plus externe de la papille. La musculature radiale de l'organe est bien développée avec des fibres musculaires uniformément

incurvées. Entre ces fibres, d'autres fibres musculaires, rectilignes quant à elles, s'intercalent. La papille génitale est de taille moyenne et mince (Eduardo, 1982a). Des atriums ventraux sont très peu développés et ne ressemblent qu'à un petit repli tissulaire.

Ce type de génitalium est retrouvé chez *C. daubneyi* et *C. microbothrium* (Eduardo, 1983).

### Génitalium terminal de type ichikawai, d'après Näsmark, 1937 :

La membrane limitante de l'organe est d'aspect uniforme. Le repli génital est bien développé (Eduardo, 1982). La papille génitale est très épaisse et large. Le sphincter papillaire est bien développé, de manière plus importante, que celui du type microbothrium. La musculature radiale de l'organe est bien développée avec des fibres musculaires orientées dans différentes directions. Le sphincter génital est absent ou n'est composé que de quelques faisceaux musculaires peu développés. Ce type de génitalium ne possède pas d'atrium ventral.

Ce type de génitalium est retrouvé chez P. ichikawai.

### Génitalium terminal de type leydeni, d'après Eduardo, 1982a :

Ce type de génitalium ressemble au type epiclitum de Näsmark, 1937. Le génitalium terminal de ce type est assez superficiel. Le sphincter génital et le sphincter papillaire sont absents. La papille génitale est large. La paroi du génitalium terminal est très épaisse et donne un aspect enflé à l'organe. Des variations de forme peuvent exister, mais la papille génitale reste pour ce type de génitalium allongée et proéminente. La musculature radiale de l'organe est bien développée. La musculature circulaire formant les différents sphincters est totalement absente. Ce type de génitalium est grand, avec une paroi qui n'a pas de forme semi-circulaire. Ce type de génitalium ne possède pas d'atrium ni de repli ventral.

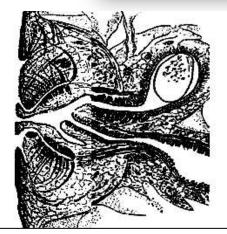
Ce type de génitalium terminal est présent chez P. leydeni (Eduardo, 1982b).

### Génitalium terminal de type gracile, d'après Näsmark, 1937 :

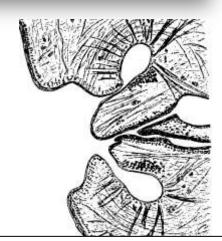
Le génitalium terminal de ce type n'est pas complètement uniforme. Il ressemble beaucoup au type leydeni par sa structure. La musculature circulaire formant les différents sphincters est complètement absente. La musculature radiale se caractérise par la présence de quelques fibres musculaires. La papille génitale est de forme variable, parfois peu, parfois fortement développée (Eduardo, 1982a). L'épaisseur et le degré d'extension de la papille génitale peut varier d'une espèce à l'autre, mais la structure globale est toujours la même. Les atriums génitaux sont de petite taille avec une papille mince, assez proéminente, diminuant progressivement d'épaisseur depuis sa base. Leur paroi est fortement et uniformément développée avec une membrane limitante bien visible.

Ce type de génitalium ne possédant pas de génitalium ventral se retrouve chez *P. cervi*.

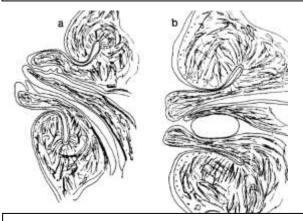
# Schéma théorique d'un génitalium terminal de Paramphistomatidé Couche musculaire radiale atriale ventrale Atrium ventral Atrium génital Sphincter papillaire Sphincter ventral Sphincter génital Sphincter génital



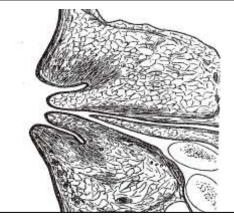
Génitalium terminal de type **microbothrium**: *C. microbothrium*, d'après Näsmark 1937.



Génitalium terminal de type **ichikawai** : *P. ichikawai*, d'après Näsmark, 1937.



Génitalium terminal de type **leydeni** : *P. leydeni*, d'après Eduardo, 1982a. a : papille génitale faisant saillie b : œuf présent proche du pore génital



Génitalium terminal de type **gracile** : *P. gracile*, d'après Näsmark, 1937.

Figure n°56 : Schéma théorique d'un génitalium terminal d'un Paramphistomatidé et dessins des types de génitalium terminaux retrouvés chez les espèces décrites en France.

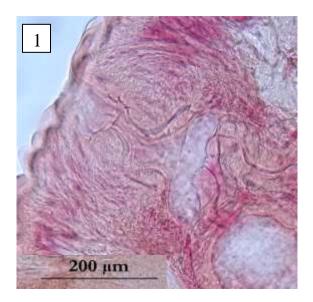
D'après Näsmark, 1937 et Eduardo, 1982a

# Clés de diagnose des différents types de génitalium terminaux, d'après Eduardo, 1982a

Poche de Cirrus absente et papille génitale présente Ventouse génitale présente Sphincter génital présent ; papille génitale épaisse . Type schistocotyle (Sey et Graber, 1979) Ventouse génitale absente Atrium ventral absent Sphincter génital présent de forme ronde ou ovale; sphincter papillaire absent......Type dawesi (nouveau type) Sphincter génital et sphincter papillaire présents Structure terminale de grande taille......Type gigantocotyle Structure terminale de taille moyenne ou petite Sphincter papillaire long rejoignant sphincter génital......Type streptocœlium Sphincter papillaire ne rejoignant pas le sphincter génital Sphincter génital de grande taille, épais compact ......Type clavula Sphincter génital de petite ou moyenne taille, assez bien développé Sphincter papillaire bien développé; papille génitale épaisse et trapue ; repli génital replié vers l'intérieur avec les bords se rejoignant en un point .....Type orthocœlium (nouveau type) Sphincter papillaire peu développé; parfois quasiabsent ; papille génitale fine et courte ; rebords du repli génital arrondis...... Type scoliocælium Sphincter génital peu développé mais visible Pilier génital présent et rétractable Papilles tégumentaires recouvrant la papille génitale.....Type (nouveau type) Papilles tégumentaires absentes sur la papille génitale ......Type calicophoron Pilier génital absent Absence de papilles tégumentaires sur le repli génital.....Type microbothrium → Espèces : Calicophoron daubneyi, Calicophoron microbothrium Papilles tégumentaires présentes sur le repli génital....... Type papillogenitalis (Eduardo, 1980) Sphincter génital absent et sphincter papillaire présent Papille génitale bien développée, longue et parfois large tégumentaires absentes Papilles repli génital ...... Type ichikawai Espèces: Paramphistomum ichikawai.

		Papilles	tégumentaires	présentes	sur	le r	epli	génital
					Туре	steph	nanop	harynx
	Papille g	génitale pe	u développée et c	ourte				
		Structure	terminale de peti	te taille ; can	al about	issant	au ge	énitalium
						-		
			terminale de moy					
		génitalium	n terminal		T	ype lic	rchis	\$
S	Sphincter génital	et papillair	e absents					
	Contour	de le géni	talium terminal m	usculeuse et	circulair	e resse	embla	ant à une
	ventous	e				Ту	ре ер	oiclitum
	Contour	de le géni	talium terminal ne	ressemblant	pas à u	ne ven	touse	)
		Papille gé	enitale épaisse et	bien dévelop	pée ; fa	isceau	x mus	sculaires
		radiaux	bien développé	s		<b>T</b>	уре	leydeni
		(nouveau	type)					
-:	> Espèces	: Paramp	histomum leydeni,					
		Papille gé	nitale mince					
		F	Papilles tégument	aires absente	es du re	epli gé	nital	et de la
		p	apille génitale			······································	Гуре	gracile
-:	> Espèces	s : <u>Paramp</u>	<u>histomum cervi,</u>					
		F	Papilles tégument	aires présent	es sur	le repl	i géni	ital et la
		p	apille génitale .		Ty	pe pa	rvipa	pillatum
		(	nouveau type)					

Figure n°57 : Clé de diagnose des différents types de génitalium terminaux. D'après Eduardo, 1982a. Extrait avec mise en relief des caractères présents chez les espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France.







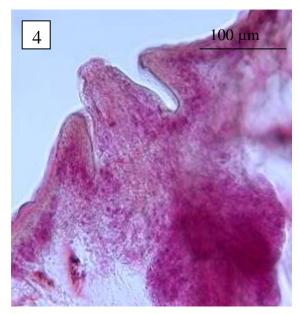


Figure n°58 : Génitalium terminaux de différents types présents chez les différentes espèces de paramphistomes décrites en France. Légende : 1 : type gracile ; 2. : type leydeni ; 3 : type microbothrium ; 4 type ickikawai. Photos : Bailly S. - Vetagro Sup Lyon.

### d) DIFFERENTES FORMES DE PARS MUSCULOSA

La pars musculosa est observée au niveau du génitalium terminal. Cet organe fait partie de l'appareil reproducteur mâle. Il s'insère entre la pars seminalis et le génitalium terminal. Deux formes de pars musculosa sont à distinguer : la pars musculosa bien développée et la pars musculosa peu développée. Les deux formes sont présentées dans les figures suivantes.

### La pars musculosa « bien développée » :

Selon Eduardo (1982a), l'observation de la *pars musculosa* permet de différencier les Paramphistomatidés des ruminants appartenant au genre *Paramphistomum* et ceux appartenant au genre *Calicophoron*. Un *pars musculosa* bien développée se caractérise par une lumière bien visible entourée par une paroi régulièrement épaisse. Elle est cavitaire. Cet organe à une forme de gouttière ou de sac plus ou moins long et plus ou moins dilaté. Une papille à l'ouverture de la *pars seminalis* est parfois bien visible.

Cette forme de *pars musculosa* est présente chez les espèces appartenant au genre *Calicophoron* telles que *C. microbothrium* et *C. daubneyi*.

### La pars musculosa « peu développée » :

Sous cette forme, la *pars musculosa* se caractérise par l'absence de lumière visible, mais par la présence d'un amas de cellules. Cet amas est compact, de forme ronde ou ovale, et sa taille ne dépasse pas celle du génitalium terminal.

Cette forme de *pars musculosa* est présente chez les espèces appartenant au genre *Paramphistomum* telles que *P. cervi, P. leydeni* et *P. ichikawai*.

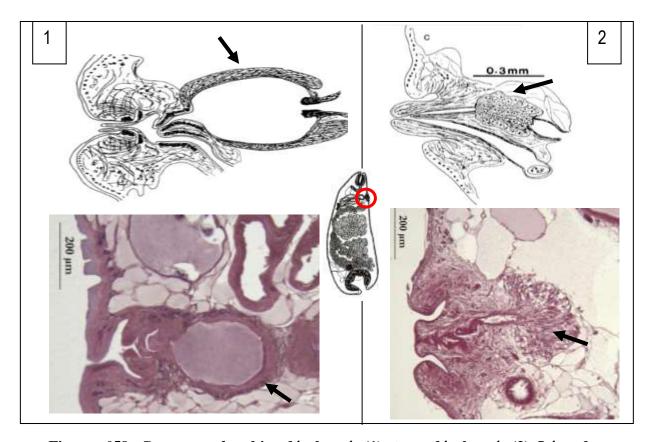


Figure n°59 : Pars musculosa bien développée (1) et peu développée (2). Légende : organe fléché.

### e) DIFFERENTES ORIENTATIONS DES BRANCHES CÆCALES

Les deux branches cæcales s'étendent crânio-caudalement et latéralement le long du corps du parasite. Ce sont des organes longilignes, peu épais qui prennent naissance à l'extrémité distale de l'œsophage et qui progressent caudalement selon un trajet très sinueux. Des coupes sériées réalisées dans le sens latéro-latéral d'une part, et dans le sens dorso-ventrale d'autre part, permettent de suivre l'orientation des branches cæcales. Les deux orientations de la dernière partie des branches cæcales, appelée terminaison cæcale, qu'il est nécessaire de distinguer pour la diagnose des espèces décrites en France, sont l'orientation ventrale et l'orientation dorsale.

### L'orientation dorsale :

Dans ce cas, la terminaison cæcale, après avoir formé un coude avec la partie plus crâniale de la branche, s'oriente dorsalement. L'extrémité de la branche cæcale est tournée vers la face dorsale du corps du parasite au niveau de l'extrémité postérieure.

L'orientation dorsale est présente chez C. microbothrium.

### <u>L'orientation ventrale</u>:

Dans ce cas, la terminaison cæcale forme un dernier coude et s'oriente ventralement. L'extrémité de la branche cæcale est tournée vers l'acétabulum.

L'orientation ventrale est présente chez C. daubneyi.

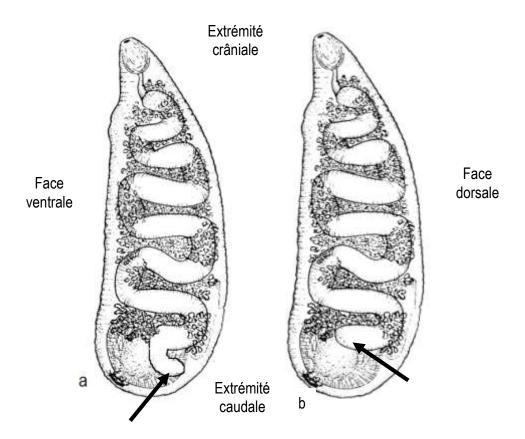


Figure n°60: Orientation dorsale (a) et orientation ventrale (b) d'une terminaison cæcale en vue latérale gauche. D'après Dinnik, 1962.

# f) SYNTHESE CONCERNANT LES ELEMENTS DE DIAGNOSE POUR LES ESPECES DECRITES EN FRANCE

La typologie de Näsmark (1937) modifiée par Eduardo (1982a) permet de différencier quelques espèces les unes des autres. Les différents types d'organes présents chez les espèces décrites en France sont présentés dans le tableau suivant.

Espèce	Type d'acétabulum	Type de pharynx	Type de	
			génitalium	
Calicophoron daubneyi	Paramphistomum	Calicophoron	Microbothrium	
Calicophoron microbothrium	Paramphistomum	Calicophoron	Microbothrium	
Paramphistomum cervi	Paramphistomum	Liorchis	Gracile	
Paramphistomum leydeni	Paramphistomum	Liorchis	Leydeni	
(Eduardo, 1982)				
Paramphistomum ichikawai	Pisum	Calicophoron	Ichikawai	

Tableau VI : Espèces décrites en France et leur type d'acétabulum, de pharynx et de génitalium terminal

Cependant, elle ne permet pas de différencier *C. daubneyi* et *C. microbothrium* possédant chacune un génitalium terminal de type microbothrium.

Il est alors nécessaire d'avoir recours à l'anatomie générale de chaque parasite pour les différencier. Il faut alors observer plus particulièrement les branches cæcales et leurs terminaisons qui s'orientent soit ventralement soit dorsalement et les sphincters papillaires, (Sey, 1976) (voir le tableau suivant).

Sey (1980) a aussi incorporé des critères d'ordre biologiques tels que les hôtes intermédiaires pour pouvoir différencier l'ensemble des espèces de paramphistomes. L'hôte intermédiaire est un élément discriminant avec *C. microbothrium* ayant comme hôte intermédiaire spécifique des bulins (du genre *Physopsis* et *Bulinus*) et *C. daubneyi* ayant comme hôte intermédiaire une limnée (*Galba truncatula*) (Graber et al, 1980a). La connaissance de la répartition des hôtes intermédiaires est parfois nécessaire pour l'identification du parasite.

L'ensemble des critères permettant de différencier *C. daubneyi* de *C. microbothrium*, utilisés par différents auteurs est présenté dans le tableau suivant.

Critères morphologiques et biologiques permettant de différencier <u>C. mi</u> <u>daubneyi</u> Critères communs :	icrobothrium et <u>C.</u>
Parasite décrit en France Acétabulum de type paramphistomum Pharynx de type calicophoron Génitalium terminal de type microbothrium  Critères différentiels:  D'après Seck et al., 2008  Taille plus importante Testicules moins volumineux  D'après Eduardo, 1983  Index acétabulaire : 1/3,3 à 1/4,7 Pharynx : plus épais dans la partie postérieure et fin dans sa partie antérieure  Paramphistomum Pharynx de type paramphistomum  Oritères différentiels:  D'après Seck et al., 2008  Index acétabulaire Pharynx plus épais a partie postérieure et fin dans sa partie moyenne bien visible	: 1/1,9 à 1/4,3 à mi-longueur musculaire circulaire le ueur du pharynx sur le
D'après Graber et al, 1980a	
Sphincter papillaire puissant     Sphincter papillaire	e peu développé
<ul> <li>dorsalement</li> <li>D.e.c. 2 : &lt; 10 unités</li> <li>Diamètre du repli génital : 0,24 mm à 0,41 mm</li> <li>Long axe du sphincter génital : 0,039 à 0,059</li> <li>Diamètre de la chambre génitale (atrium génital) : 0,15 à 0,22 mm</li> <li>Taille du corps : 7 à 11 mm</li> <li>Pars prostatica et musculosa plus grande</li> <li>ventralement</li> <li>D.e.c. 2 : 17 à 29</li> <li>Diamètre du repli gé mm</li> <li>Long axe du sphin 0,045</li> <li>Diamètre de la cha génital) : 0,12 à 0,13</li> <li>Taille du corps : 7,6</li> <li>Pars prostatica et petites (0,022 à 0,0,34 mm respective)</li> </ul>	6 à 9 mm pars musculosa plus 0,050 mm et 0,018 à
Hôte intermédiaire  Bulins exclusivement : <i>Physopsis</i> ou <i>Bulinus Préférentiellement : Galba tr</i>	runcatula
C. microbothrium C. daubn	

Tableau VII : Critères morphologiques et biologiques pour la diagnose différentielle de  $\it C.\ microbothrium$  et de  $\it C.\ daubneyi.$ 

### **II.1.3** CLES DE DIAGNOSE PUBLIEES

L'ensemble des clés de diagnoses de famille sont directement tiré de l'ouvrage « Keys to the Trematoda, Vol. 2 » de Jones et al. (2005) et des articles d'Eduardo (1982b et 1983).

## a) <u>Criteres de diagnose de la superfamille des Paramphistomoidea, Fischoeder</u> 1901 :

Le parasite adulte est de forme conique avec un acétabulum à l'extrémité postérieure du corps et une ouverture buccale à l'extrémité antérieure. L'acétabulum, en forme de ventouse, est l'organe de fixation. Le parasite possède aussi deux testicules ou rarement un seul. L'œsophage a une structure simple. Le parasite ne possède ni sac pharyngien ni sac de cirrus, ni de poche ventrale. Le parasite adulte est retrouvé dans l'appareil gastro-intestinal de vertébrés. Les stades larvaires se multiplient dans des mollusques. Les métacercaires sont fixées à la végétation. Les Paramphistomoidea sont cosmopolites.

### b) DIAGNOSE DE FAMILLE DES PARAMPHISTOMATIDES FISCHOEDER, 1901:

Dans la classification récente, la famille des Paramphistomatidés regroupe deux sousfamilles : celle des Paramphistomatinés et celle des Orthocœlinés. Les individus de cette famille se caractérisent par un corps conique, plus ou moins grand et plus ou moins trapu, incurvé ventralement. Il n'y a pas d'appendice caudal ni de poche ventrale.

Le tégument peut être recouvert ou non de papille. L'acétabulum occupe une position ventro-terminale à ventrale. La ventouse buccale est plus ou moins terminale. Concernant le pharynx, il est dépourvu de sac pharyngien et de bulbe pharyngien. Ces parasites peuvent avoir un sphincter œsophagien ou non ainsi que des branches cæcales rectilignes ou sinueuses. Les testicules sont au nombre de deux et répartis entre les branches cæcales. Les conduits génitaux mâles se composent d'une partie séminale, la pars seminalis, d'une partie musculeuse, la pars musculosa, et d'une partie prostatique ou la pars prostatica. Ces parasites ne possèdent ni de sac de Cirrus ni de sac hermaphroditique.

La ventouse génitale n'est pas nécessairement présente a contrario de la papille génitale souvent présente. Le pore génital occupe une position ventrale, médiale, proche du niveau de la bifurcation intestinale. Les glandes ovariennes et de Mehlis sont médiales et post-testiculaires. Le canal de Laurer s'ouvre sur la surface dorsale crânialement ou caudalement au pore excréteur, croisant ou non la vessie ou le conduit excréteur. L'utérus se positionne entre les cæca, ventralement aux conduits génitaux mâles. Les œufs sont nombreux. Les follicules vitellins sont répartis en deux masses qui peuvent se rejoindre médialement ou caudalement, ou à la fois caudalement et crânialement.

La vessie prend la forme d'un sac ou d'un sac étiré et se place dorsalement à l'acétabulum. Le pore excréteur est dorsal à mi-longueur du côté convexe du parasite au niveau mi-acétabulaire ou plus crâniale.

### c) DIAGNOSE DES SOUS-FAMILLE DES PARAMPHISTOMATIDES :

Les deux Sous-familles, les Paramphistomatinés et les Orthocœlinés, se différencient par leur anatomie (trajet du canal de Laurer par rapport à la vessie) et par leur répartition géographique. Les Orthocœlinés ne sont pas retrouvés en Europe (voir la figure suivante).

### 

......Orthocœlinés

Figure n°61 : Clé de diagnose des sous-familles de Paramphistomatidés. D'après Jones et al., 2005.

### d) DIAGNOSE DES GENRES DES PARAMPHISTOMATINES

Les différents genres ont été créés plus ou moins récemment. Le genre *Paramphistomum* a été créé par Fischoeder, en 1901. Quant au genre *Calicophoron*, il a été créé pour l'espèce *Calicophoron calicophorum*, par Näsmark, en 1937, en raison de la présence d'une *pars musculosa* fortement développée chez cette espèce.

Clés de diagnose des genres des Paramphistomatinés :					
Acétabulum énorme					
Pars musculosa bien développéegenre Gigantocotyle					
Pars musculosa peu développéegenre Explanatum					
Acétabulum de petite à moyenne taille					
Ventouse génitale présentegenre Cotylophoron					
Ventouse génitale absente					
Pars musculosa bien développéegenre Calicophoron					
Pars musculosa très faiblement développée					
Corps ovale; acétabulum relativement petit; présent chez l'hippopotame					
genre <i>Ugandocotyle</i>					
Corps conique; acétabulum de moyenne taille; présent chez les					
ruminantsgenre <i>Paramphistomum</i>					

Figure n°62: Clé de diagnose des genres de Paramphistomatidés. D'après Jones et al., 2005

### e) DESCRIPTION DU GENRE CALICOPHORON ET DU GENRE PARAMPHISTOMUM

Les espèces de paramphistomes décrites en France appartiennent à l'un ou l'autre de ces genres. L'observation de la *pars musculosa* et la connaissance de l'hôte définitif sont des éléments importants pour leur diagnose.

### <u>Synthèse des caractères morphologiques du genre Calicophoron Näsmark, 1937, d'après</u> <u>Jones et al., 2005 :</u>

Le corps du parasite est conique, souvent pourvu de papilles tégumentaires. L'acétabulum est de taille modérée en position ventro-terminale. Le parasite possède ou non de bulbe œsophagien mais ne possède pas sphincter. Les branches cæcales sont sinueuses et placées dorso-ventralement, jusqu'au niveau de l'acétabulum. Les testicules sont fortement lobés et placés en tandem, sur une diagonale ou symétriquement. La partie séminale n'a qu'une fine paroi et forme des volumineuses spires. La pars musculosa est très fortement développée, formant de nombreuses spires. La pars prostatica est bien développée est peut avoir une forme de tonneau ou une forme plus allongée. Le parasite est dépourvu de ventouse génitale. L'atrium ventral peut être de grande taille et bien visible. Le pore génital est ventral et médian. Les glandes ovariennes et de Mehlis sont sub-médianes et post-testiculaires. Le canal de Laurer s'ouvre dorsalement à l'ovaire. L'utérus est dorsal aux testicules puis ventral aux conduits génitaux mâles. Les follicules sont répartis en deux masses latérales qui se rejoignent médialement ou non. La vessie de forme ronde à allongée s'ouvre à la moitié de la partie crâniale de l'acétabulum et parfois plus crânialement. Ce parasite est retrouvé dans les réservoirs gastriques des ruminants.

L'espèce-type est Calicophoron calicophorum.

# <u>Synthèse des caractères morphologiques du genre *Paramphistomum* Fischoeder, 1901 : d'après Jones et al., 2005 :</u>

Le corps est conique, avec une section transversale presque ronde, incurvé ventralement. L'acétabulum est de taille moyenne, en position sub-terminale et ventrale. Le parasite ne possède ni bulbe ni sphincter œsophagien. Les cæca sont rectilignes ou sinueux. Les testicules sont entièrement lobés disposés en tandem ou en diagonale l'un par rapport à l'autre. La vésicule séminale est coudée et dotée d'une fine paroi. La pars musculosa est courte et très peu développée. La pars prostatica est modérément développée. Le parasite ne possède pas de ventouse génitale. Le pore génital est placé dans le tiers postérieur du parasite sur sa face dorsale au niveau de l'acétabulum. L'ovaire et la glande de Mehlis sont post-testiculaires dans le plan médian ou sub-médian. L'ovaire est rond ou légèrement lobé. Le canal de Laurer s'ouvre dorsalement. L'utérus est placé entre les bandes cæcales, dorsalement aux testicules mais ventralement aux conduits mâles. Les follicules vitellins forment des bandes latérales, longitudinalement, qui se rejoignent ou non dans le plan médian. La vessie est ronde ou allongée, placée dorsalement et légèrement crânialement à l'acétabulum. Le pore de la vessie s'ouvre au niveau du bord antérieur de l'acétabulum ou plus crânialement au niveau du testicule postérieur. Le parasite adulte est retrouvé dans les réservoirs gastriques de ruminants et principalement dans l'hémisphère nord.

L'espèce-type de genre est *Paramphistomum cervi*.

# f) <u>Diagnose des especes appartenant au genre Calicophoron et au genre Paramphistomum</u>, d'apres Eduardo, 1982 b et 1983 :

Ces clés sont issues de la révision de la classification des espèces de paramphistomes réalisée par Eduardo en 1982 et 1983.

### Clé de diagnose des espèces du genre calicophoron Näsmark 1937, d'après Eduardo, 1983 Atrium ventral bien développé présent Atrium ventral absent Génitalium terminal de type microbothrium Bulbe œsophagien absent Terminaisons aveugles des cæca dirigées dorsalement Terminaisons cæcales se regroupant médialement; génitalium Terminaison cæcales ne se regroupant pas médialement ; génitalium Terminaisons aveugles des cæca dirigées ventralement Partie postérieure de la surface interne de l'œsophage pourvu d'un épithélium cilié ; follicules vitellins se rejoignant dorso-médialement par Absence de ciliature de l'épithélium de la surface interne de l'œsophage ; follicules vitellins ne se rejoignant pas dorso-médialement Acétabulum de type paramphistomum; partie circulaire autour du surélevée pore génital Acétabulum de type paramphistomum; Absence de partie surélevée autour circulaire du pore

Figure n°63 : Clé de diagnose des espèces du genre *Calicophoron*. D'après Eduardo, 1983.

### Clé de diagnose des espèces du genre Paramphistomum Näsmark 1937, d'après Eduardo, 1982b Pharynx doté d'un sphincter antérieur, de type cephalophi ; rebord acétabulaire avec une encoche Pharynx sans sphincter antérieur ; rebord acétabulaire sans encoche Follicules vitellins se rejoignant dorso-médialement par leur bord antérieur Pharynx liorchis; génitalium type de type Pharynx type calicophoron; génitalium terminal type Follicules vitellins ne se rejoignant pas dorso-médialement Testicules lobés Pharynx de type Liorchis Terminaison cæcales aveugles se rejoignant généralement dorsomédialement : génitalium terminal Terminaison cæcales ne se rejoignant pas dorso-médialement Génitalium terminal de type gracile; absence de papilles Génitalium terminal de type leydeni; présence de papilles Pharynx de type calicophoron Génitalium terminal de type epiclitum papilles tégumentaires présentes autour de l'ouverture buccale et sur la moitié antérieure du Génitalium terminal de type gracile ; papilles tégumentaires présentes de l'ouverture uniquement autour buccale .....P. gracile

Figure n°64: Clé de diagnose des espèces du genre *Paramphistomum*. D'après Eduardo, 1982b.

### **II.2** Par chetotaxie des formes larvaires

Devant la complexité de l'identification des espèces de paramphistomes et de l'ambiguïté des classifications qui se sont succédé. Une classification, issue des travaux de Swart (1967 – cité par Postal, 1984), existe et se fonde sur la chétotaxie des larves de Paramphistomes. Ainsi, plusieurs parasitologistes se sont tournés vers l'étude des structures argyrophyles superficielles des larves de paramphistome. Il s'agit de mettre en évidence et d'observer les plaques ciliées présentes à la surface du miracidium et les papilles sensorielles présentes chez le miracidium et la cercaire. Les larves sont colorées au nitrate d'argent selon la technique de Lynch (1933) ou « Lynch modifiée » (Postal, 1984). Cette méthode de diagnose a montré son intérêt dans la phylogénie des trématodes avec les travaux de Richard et Bayssade-Dufou (1971 et 1979 - cités par Postal, 1984).

D'autres études ont suivi et ont été menées par de nombreux auteurs tels que Samnaliev et al. (1983), Katkov (1970), Latkov (1973), Albaret et al. (1978, 1981), Odening et al. (1979), Diaw et al. (1983) (cités par Postal, 1984). D'après ces auteurs, l'étude des structures argyrophyles des miracidiums du genre Paramphistomum permet de les caractériser et de faire la différence avec l'espèce Calicophoron calicophorum, espèce-type du genre Calicophoron (Postal, 1984). La même répartition des organites argyrophyles est retrouvée chez les individus du genre Paramphistomum (P. cervi, P. togolense, P. phillerouxi, P. microbothrium) mais aussi chez C. daubneyi aujourd'hui classé dans le genre Calicophoron (Katkov, 1970, Albaret et al., 1981, Sey, 1972, Samnaliev et al., 1982, Diaw et al., 1983 - cités par Postal, 1984). La diagnose différentielle des espèces est permise quant à elle par la chétotaxie cercarienne car la répartition des récepteurs sensoriels, apparaissant sous forme de petites tâches circulaires brunes après coloration, semble varier avec l'espèce et non pas le genre (Samnaliev et al., 1983 - cités par Postal, 1984). Elle serait tout de même variable selon les souches (Diaw et al., 1983 - cités par Postal, 1984). La localisation et la répartition de ces récepteurs ou « papilles » sensoriels sont précisément étudiées et permet de distinguer les cinq espèces de paramphistomes citées dans l'arbre de chétotaxie de Pino de Morales (1983 - cités par Postal, 1984). Cependant, la chétotaxie n'a été décrite que pour un petit nombre d'espèces de paramphistomes. De plus, une autre chétotaxie uniquement basée sur la répartition des papilles sensorielles caudales existe. Ainsi, la chétotaxie des paramphistomes reste complexe et semble ne plus être utilisée de nos jours.

### **II.3** PAR LA TAILLE DES ŒUFS

Dinnik, en 1962, au cours de la recherche de l'hôte intermédiaire d'une nouvelle espèce de paramphistome, qu'il nommera ensuite *C. daubneyi*, utilisa la taille des œufs et l'examen coproscopique pour sélectionner des bovins infestés par ce parasite et en récupérer les œufs. (Dinnik, 1962). De même, dans un essai au Québec, l'identification des œufs de *C. microbothrioides* et *P. liorchis* s'est effectuée sur les dimensions des œufs observés en coproscopie (Bouvry et Rau, 1984).

Cependant, la taille des œufs varie d'un auteur à l'autre et d'une ponte à l'autre. De plus, la taille des œufs des différentes espèces se recoupe fréquemment. Ainsi, l'identification d'une espèce de paramphistome uniquement à partir des œufs reste très imprécise et source d'erreurs.

Espèce	Taille des œufs selon Näsmark, 1937 ou Dinnik, 1962	Taille des œufs selon Eduardo.
C. daubneyi	0,127-0,140 sur 0,059-0,075 mm	0,126-0,139 sur 0,060 à 0,074 mm.
	(Dinnik, 1962).	(Eduardo 1983)
C.	0,145-0,15 sur 0,075-0,08 mm	0,153-0,206 sur 0,079-0,098 mm
microbothrium		(Eduardo 1983)
P. ichikawai	0,125 sur 0,062 mm	0,123-0,129 sur 0,064 à 0,070 mm
		(Eduardo, 1982b)
P. cervi	0,145-0,156 mm sur 0,075-0,082 mm	0,123-0,160 sur 0,065 - 0,096 mm
		(Eduardo, 1982b)
P. leydeni	0,156 sur 0,078 mm	0,145-0,150 sur 0,075 à 0,078 mm
		(Eduardo, 1982b)

Tableau VIII : Dimensions des œufs de différentes espèces de paramphistomes

### **II.4** PAR L'ETUDE DES HOTES INTERMEDIAIRES

En 1962, *C. daubneyi* a été découvert par Dinnik au cours d'une étude sur le cycle évolutif de *C. microbothrium*. En effet, de nombreuses tentatives pour infester *Bulinus tropicus alluaudi* avec des miracidiums d'une nouvelle espèce de paramphistomes - qui s'appellera ensuite *C. daubneyi* - sont restées vaines. Plusieurs espèces de mollusques, du Genre *Bulinus, Physopsis, Anisus* et *Lymnaea*, ont été soumis à l'exposition des miracidiums de *C. daubneyi*. Mais, ce n'est qu'au sein de chacune des vingt *Galba truncatula* soumises à l'infestation que les miracidiums de *C. daubneyi* ont pu évoluer et donner des rédies ainsi que des cercaires 59 jours après l'infestation du mollusque (Dinnik, 1962). De plus, des *Galba truncatula* ont été soumis à l'exposition de miracidiums de *C. microbothrium* mais aucune n'a permis le développement du parasite. L'identification de *C. daubneyi* a donc débuté avec l'étude de l'hôte intermédiaire.

Ainsi, les critères biologiques permettent de discerner les différentes espèces de paramphistomes (Sey, 1980). *C. daubneyi* est principalement retrouvé chez des limnées. De ce fait, il se distingue de *C. microbothrium* évoluant essentiellement chez les mollusques du genre Bulinus (Sey, 1980) comme de *P. cervi* et *P. ichikawai* évoluant préférentiellement chez des Planorbinés et des Segmentininés (Odening et al., 1979 - cités par Euzeby (1982); Sey, 1980).

Ces critères biologiques ont été plus récemment utilisés pour identifier *C. daubneyi* en France. En effet, *G. truncatula* est l'hôte préférentiel de *C. daubneyi* (Abrous et al., 1999a). En 2000, Szmidt-Adjidé et al. (2000), identifie *C. daubneyi* en utilisant à la fois la chétotaxie cercarienne et l'hôte intermédiaire rencontré dans cette étude c'est -à dire *Galba truncatula*. Cependant, cette même équipe, en 1996, avait aussi démontré que plusieurs espèces de limnées pouvaient intervenir dans le cycle de *C. daubneyi* telles que *Omphiscola glabra*, expérimentalement *L. palustris* et *L. stagnalis*. Du reste, des planorbinés et des physes pourraient être hôtes intermédiaires (Levasseur et Alzieu, 2002). De même, une étude plus récente (Rieu, 2004) montre que différents genres d'escargots pourraient intervenir comme hôte intermédiaire pour *C. daubneyi* (Devos et al., 2010).

Cela éliminerait en partie cette technique d'identification devenant alors source d'erreurs.

### **II.5** PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

Cette technique a beaucoup été utilisée par Eduardo (1982, 1983) pour l'étude des papilles tégumentaires et la révision de la classification des paramphistomes.

Elle nécessite de préparer les parasites adultes. Après plusieurs lavages et trempages, les parasites sont progressivement déshydratés puis enduits d'aluminium ou d'or (Panyarachun et al., 2010).

Les parasites peuvent être ensuite observés en trois dimensions sur l'ensemble de leur surface. La répartition des papilles tégumentaires intervient dans les clés de diagnoses des différentes espèces de paramphistomes établies par Eduardo (1982, 1983).

Cependant, cette technique reste très onéreuse et réservée aux chercheurs.

### II.6 PAR LA TECHNIQUE PCR

L'identification des espèces d'amphistomes étant difficile et problématique, l'identification reposant sur une technique P.C.R. serait intéressante. Cette technique, utilisant les séquences d'ADN ribosomale ITS2, correspondant à des marqueurs génétiques, a déjà prouvé son utilité et son efficacité pour établir les relations phylogénétiques entre différents Trématodes et identifier différentes espèces de Digènes (Goswami et al., 2009 ; Van Van et al., 2009 – cités par Lotfy et al., 2010).

Dans l'étude de Lotfy et al. (2010), la région de l' «espaceur interne transcrit 2» (ITS2 : internal transcribed spacer 2) de l'ADN ribosomale du parasite est amplifiée et séquencée. Les sondes utilisées sont GA1 ([5'-AGA ACA TCG ACA TCT TGA AC-3']) et de la sonde BD2 ([5'-TAT GCT TAA ATT CAG CGG GT3']) (Lotfy et al., 2010).

Pour l'analyse de cette même séquence, deux autres sondes peuvent être utilisées : ITS-2 F et ITS-2 R (Rinaldi et al., 2005).

Un traitement informatique des données permet l'alignement et la comparaison des génomes des différentes espèces de parasites analysées. Les séquences ITS2 obtenues peuvent être comparées aux 6 séquences ITS2 déjà analysées et disponibles sur GenBank™. La séquence ITS2 de *C. daubneyi* fait partie de ces séquences disponibles et connues.

Un autre traitement informatique permet de réaliser un modèle d'arbre phylogénétique avec ces différentes espèces.

En 2005, la séquence de *C. daubneyi* avait déjà été étudiée (Rinaldi et al., 2005). Cette étude avait permis de conclure à l'homogénéité des fragments d'ADN ITS2+ pour divers échantillons de *C. daubneyi* recueillis chez différentes espèces dans plusieurs régions d'Italie. De plus, lors de la comparaison des séquences appartenant à trois espèces distinctes, une homologie de 97,4 % a été révélée entre *C. microbothrium* et *C. daubneyi* et, une autre de 97,2 % entre *C. daubneyi* et *C. calicophoron* (Rinaldi et al., 2005). Dans cette étude, seules des différences interspécifiques ont été mises en évidence, avec une forte homologie entre les espèces du genre *Calicophoron*.

En 2010, parmi les 8 espèces d'amphistomes identifiés morphologiquement, dans l'arbre phylogénétique obtenu, on retrouve deux familles: les Paramphistomatidés et les Gastrothylacidés. Et, cette analyse place *C. daubneyi* dans la famille des Paramphistomatidés et dans le genre *Calicophoron*, entre *C. microbothrium* et *C. microbothrioides* (Lotfy et al., 2010). Cela conforte le changement de genre qui a été effectué par Eduardo, en 1983, plaçant *P. daubneyi* dans le genre *Calicophoron* et prenant alors le nom de *C. daubneyi*.

En outre, cette technique a permis de lever le doute qui subsistait sur l'existence de l'espèce *P. leydeni*. D'après les dernières analyses, cette espèce existe réellement, notamment au Brésil, et semble même y être en expansion depuis les dix dernières années (Sanabria et al., 2011).

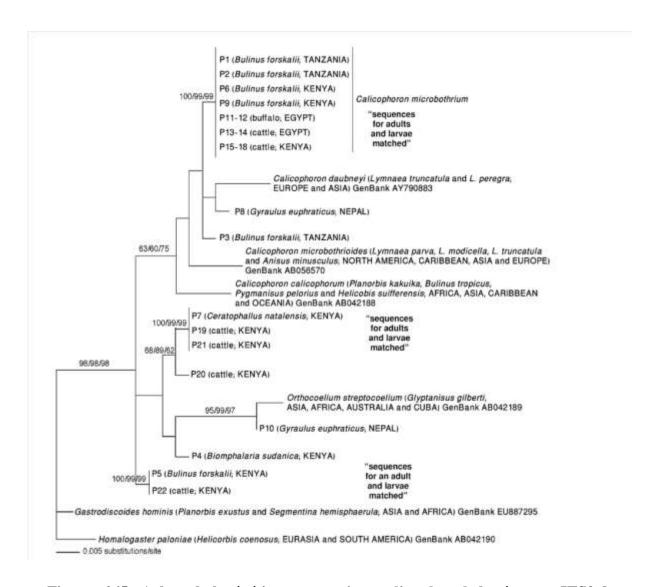


Figure n°65 : Arbre phylogénétique construit avec l'analyse de la séquence ITS2 de l'ADN ribosomale de 8 espèces de paramphistomes d'Asie et d'Afrique identifiées préalablement par analyses morphologiques. Arbre construit avec la méthode du maximum de parcimonie. Légende : maximum de parcimonie/minimum d'évolution/maximum de vraisemblance. D'après Lotfy et al., 2010.

Une étude comparable, utilisant la technique PCR, et des paramphistomes européens permettrait d'objectiver la présence ou l'absence réelle des différentes espèces de paramphistomes selon les pays.

# III. MONOGRAPHIES DES ESPECES DE PARAMPHISTOMES DECRITES EN FRANCE DEPUIS 1945

### 1) Calicophoron daubneyi Dinnik 1962, d'après Eduard, 1983 :

Encore appelé couramment *Paramphistomum daubneyi*, *C. daubneyi* a été décrit pour la première fois en 1962 par Dinnik au Kenya. Le parasite adulte est retrouvé dans le rumen de bovins et de moutons présents en Afrique et en Europe (Eduardo 1983).

Le parasite adulte a un corps conique. Il possède aussi des papilles tégumentaires disposées autour de l'ouverture buccale, et d'autres plus petites et moins nombreuses disposées de façon éparse autour de l'ouverture de l'acétabulum. L'acétabulum, de type paramphistomum, est sub-terminal. La couche musculaire circulaire externe dorsale de l'acétabulum (d. e. c. 1) est parfois compressée pour former un sphincter. Le pharynx, de type calicophoron, est piriforme, large dans sa partie postérieure et effilée dans sa partie antérieure. Le pharynx possède quelques unités musculaires circulaires médianes peu développées et une surface interne pourvue de très petites papilles en forme de dôme. Son œsophage a une musculature pariétale modérément développée d'épaisseur régulière et est dépourvue de bulbe ou de sphincter postérieur. Sa lumière est soulignée d'une couche hyaline sur toute sa longueur. Les branches cæcales sont réparties latéralement de chaque côté du corps, formant des bandes, leurs terminaisons aveugles arrivant au niveau de l'acétabulum et se dirigeant ventralement.

Le génitalium terminal est de type microbothrium. Les testicules sont profondément lobés - 20 à 30 lobes chacun (Yamaguti, 1971) - disposés en tandem ou presque obliquement dans les 2/3 postérieurs du corps. La vésicule séminale est fortement enroulée et dotée d'une fine paroi. La partie musculeuse, à la forme alambiquée, est bien développée, avec une paroi épaisse. La pars prostatica est aussi bien développée (0,22 - 0,31 mm de long sur 0,31 - 0,33 mm de large). L'ovaire est de forme ronde à sub-sphérique (0,50 - 0,58 sur 0,54 -0,82mm), post-testiculaire et en position antéro-dorsale par rapport à l'acétabulum. La glande de Mehlis est proche de l'ovaire (0,39 - 0,66 sur 0,38 - 0,66 mm). Le canal de Laurer croise la vessie ou le conduit excréteur et s'ouvre sur la face dorsale à environ 0,12 - 0,97 mm postérieurement au pore excréteur. L'utérus est sinueux et placé dorsalement aux testicules et ventralement au conduit mâle. Les follicules vitellins sont disposés en champs latéraux, s'étendant du pharynx à l'acétabulum, ne se rejoignant pas. Le pore génital s'ouvre sur la face ventrale au niveau de la bifurcation œsophagienne. La vessie est placée dorsalement à l'acétabulum, à l'ovaire et à la glande de Mehlis. Le pore excréteur s'ouvre sur la face dorsale au niveau du testicule postérieur et antérieurement à l'ouverture du canal de Laurer.

Calicophoron daubneyi Dinnik, 1962	Synonymes d'après Sey 1980 : Calicophoron ijimai de Mihailova et al., 1974 ; Cotylophoron cotylophorum de Gentilee et al., 1977 ; Paramphistomum bothriophoron de Mihailova et al., 1974 , Paramphistomum clavula de Mihailova et al., 1974 ; Paramphistomum microbothrium de Kotlan, 1958 ; Paramphistomum microbothrioides de Kotlan, 1958 et de Erhardova et al., 1974.		
Longueur:	3,5 à 10,21 mm,	Nombre d'unités	
Largeur :	2,34 à 4,11 mm (Eduardo, 1983)		
Acétabulum	1,8 - 2,70 mm de diamètre	d.e.c. 1 : 14 - 20	
Index acétabulaire :	1 / 1,9 - 1 / 4,3	d.e.c. 2 : 20 - 28	
Pharynx :	0,75 - 1,17mm de long sur 0,85 - 0,96 mm de large	d.i.c. : 39 - 56	
Rapport avec la longueur du corps :	1/5,6 - 1/10,5	v.e.c. : 13 - 18	
Rapport avec le diamètre de		v.i.c. : 39 - 48	
l'acétabulum :	1/ 2 - 1/ 2,5	m.e.c. : 8 - 16	
Œsophage:	0,39 - 0,62 mm de long.	(Eduardo 1983)	
Testicules antérieur :	1,30 - 1,53 mm sur 2,30 - 2,88 mm de large		
Testicule postérieur :	0,90 - 1,05 mm de long sur 2,42 - 2,83 mm de large		
Œufs :	0,126 - 0,139 sur 0,060 - 0,074 mm. (Eduardo 1983)		

Tableau IX : Dimensions anatomiques de *C. daubneyi* Dinnik, 1962. Légende : nombre d'unités = nombre de faisceaux musculaires coupés transversalement.

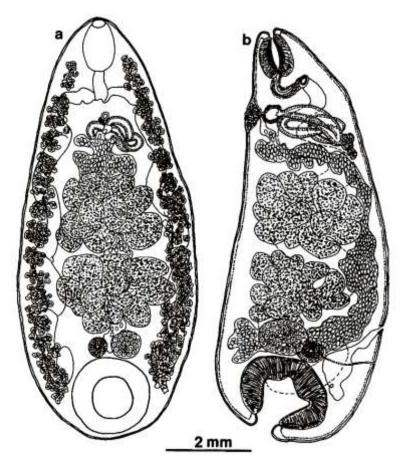


Figure n°66 : Schéma de *Calicophoron daubneyi* Dinnik, 1962. D'après Eduardo, 1983. Légende : a. : Parasite entier, b. : Coupe sagittale médiale

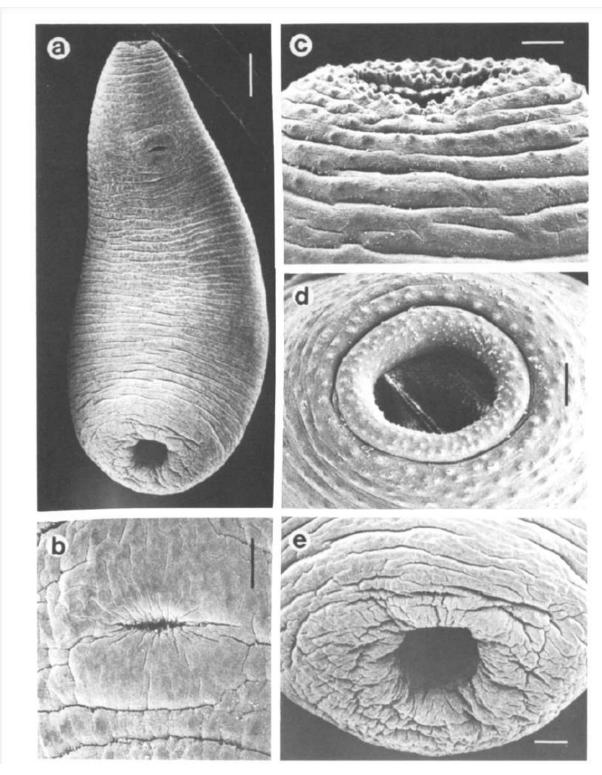


Figure n°67 : Calicophoron daubneyi Dinnik, 1962, observé au microscope électronique. a. : ver entier en vue ventrale (barre d'échelle =  $500 \mu m$ ). b. : région du pore génital (barre d'échelle =  $100 \mu m$ ). c. : extrémité antérieure avec de grandes papilles (barre d'échelle =  $100 \mu m$ ). e. : région acétabulaire (barre d'échelle =  $200 \mu m$ ). D'après Eduardo, 1983.

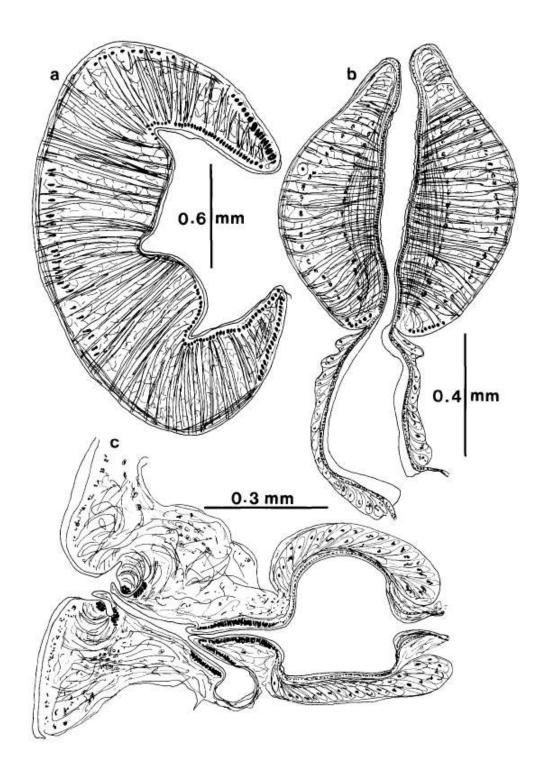


Figure n°68 : Dessins des organes clés de *Calicophoron daubneyi* Dinnik, 1962 en coupe sagittale médiale. a. : acétabulum de type paramphistomum. b. : pharynx de type calicophoron et œsophage. c. génitalium terminal de type microbothrium et partie prostatique. D'après Eduardo, 1983.

Les follicules vitellins sont disposés en champs latéraux, s'étendant du pharynx à l'acétabulum, ne se rejoignant pas. Le pore génital s'ouvre sur la face ventrale au niveau de la bifurcation œsophagienne. La vessie est placée dorsalement à l'acétabulum, à l'ovaire et à la glande de Mehlis. Le pore excréteur s'ouvre sur la face dorsale au niveau du testicule postérieur et antérieurement à l'ouverture du canal de Laurer.

### 2) <u>Calicophoron microbothrium Fischoeder, 1901</u>:

Calicophoron microbothrium, anciennement dénommé Paramphistomum microbothrium, se retrouve sous sa forme adulte dans le rumen voire le réseau de bovins et autres ruminants en Afrique et en Europe (Yamaguti, 1971). Au gré des modifications de classifications, il a aussi été classé sous le nom d'Amphistomum conicum et de Paramphistomum cervi avant d'exister en tant qu'espèce à part entière. D'après Näsmark (1937), C. microbothrium possède une ligne dorsale régulièrement incurvée avec, dans les 2/3 postérieurs, une plus forte incurvation que dans le 1/3 antérieur, un œsophage court et des testicules ovalaires, fortement lobés avec des plis courts.

D'après Eduardo, 1983,

le corps est conique. Les papilles tégumentaires sont en forme de dôme, de grande taille, réparties densément autour de l'ouverture buccale et s'étendant sur la moitié antérieure du corps.. Elles sont plus petites et moins nombreuses autour de l'acétabulum. L'acétabulum, de type paramphistomum, est sub-terminal. Le pharynx, de type calicophoron, est piriforme avec une surface interne pourvue de petites papilles en forme de dôme. L'œsophage est presque rectiligne sur les spécimens bien relaxés, courbés dorsalement sur les autres. Sa musculature pariétale est modérément développée et d'épaisseur régulière. Il ne possède ni bulbe ni sphincter postérieur et sa lumière est soulignée d'une couche hyaline sur toute sa longueur. Les cæca sont répartis latéralement de chaque côté du corps, formant 6 bandes parallèles dans la largeur, leurs terminaisons aveugles arrivant au niveau de l'acétabulum, se dirigeant dorsalement et se rejoignant médialement. Le génitalium terminal est de type microbothrium. Les testicules sont profondément lobés et disposés en tandem dans la moitié postérieure du corps. La vésicule séminale est fortement enroulée et dotée d'une fine paroi. La pars musculosa, de forme alambiquée, est bien développée, avec une paroi épaisse. La pars prostatica a une forme de tonneau, presque aussi long que large (0,13 - 0,67 sur 0,13 - 0,46 mm). L'ovaire est subsphérique (0,56 - 0,79 sur 0,56 - 0,96 mm) et post-testiculaire, à droite ou à gauche de la ligne médiane. La glande de Mehlis est proche de l'ovaire (0,28 - 0,52 sur 0,34 - 0,62 mm). Le canal de Laurer croise la vessie ou le conduit excréteur et s'ouvre sur la face dorsale à environ 0,38 - 0,96 mm postérieurement au pore excréteur. L'utérus est sinueux et placé dorsalement aux testicules ainsi que ventralement au conduit mâle.. Les follicules vitellins sont disposés latéralement, s'étendent du pharynx ou de l'æsophage à l'acétabulum et ne se rejoignent pas dorso-médialement. Le pore génital est présent au niveau de la bifurcation œsophagienne. La vessie est placée dorsalement à l'acétabulum, à l'ovaire et à la glande de Mehlis. Le pore excréteur s'ouvre sur la face dorsale au niveau du bord postérieur du testicule postérieur et antérieurement à l'ouverture du canal de Laurer.

Calicophoron microbothrium Fischoeder, 1901	Synonymes d'après Sey, 1980 : <i>Paramphistomum cervi</i> de Brumpt, 1936 ; <i>Para cervi</i> de plusieurs auteurs italiens	amphistomum
Longueur:	3,8 à 12,5 mm (Eduardo 1983), de 8 à 11mm (Näsmark, 1937)	Nombre
Largeur :	1,6 à 4,2 mm (Eduardo 1983), 2,7 à 3,7 mm (Näsmark, 1937)	d'unités
Acétabulum	1,14 - 2,6 mm de diamètre (Eduardo 1983), 1,8 - 2,2 mm de diamètre (Näsmark, 1937)	d.e.c. 1 : 11 - 18
Index acétabulaire :	1 /3,3 - 1 /4,7 (Eduardo 1983), 1/4,4 - 1 /5 (Näsmark, 1937)	d.e.c. 2 : 26 -
Pharynx :	0,47 - 1,38 mm de long sur 0,66 - 0,93 mm de large (Eduardo, 1983), 0,8 - 1 mm	42
Rapport avec la	de longueur (Näsmark, 1937)	d.i.c. : 34 - 56
longueur du corps :	1/6,1 - 1/11,4 (Eduardo 1983), 1/8 - 1/13,8 (Näsmark, 1937)	v.e.c. : 13 - 20
Rapport avec le		v.i.c. :40 - 61
diamètre acétabulaire :		m.e.c. :10 - 15
Œsophage :	1/1,08 – 1 /2,4	(Eduardo,
Testicules :	0, 47 – 0, 85 mm de long (Eduardo 1983).	1983)
Testicule antérieur :	1,1 mm de long sur 2 mm de large environ (Näsmark, 1937)	
Testicule postérieur :	0,14 - 1,97 mm de long (Eduardo 1983),	
Œufs:	0,25 - 2,76 mm de long sur 1,14 - 2,87 mm de large (Eduardo 1983),	
	0,153 - 0,206 sur 0,079 - 0,098 mm (Eduardo 1983), 0,145 - 0,15 sur 0,075 - 0,08 mm (Näsmark, 1937)	

Tableau X : Dimensions anatomiques de Calicophoron microbothrium Fischoeder, 1901

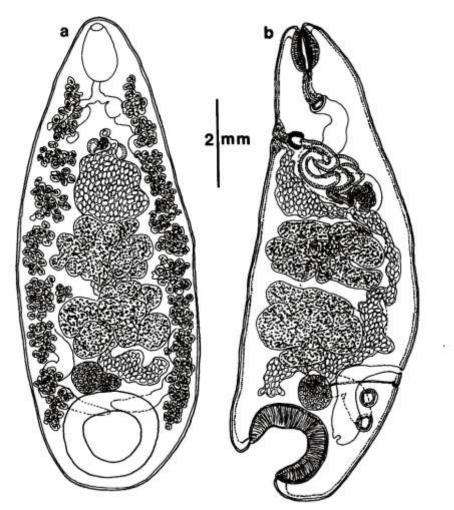


Figure n°69: Calicophoron microbothrium Fischoeder, 1901. D'après Eduardo, 1983. Légende : a. : parasite entier, b. : coupe sagittale dans le plan médian

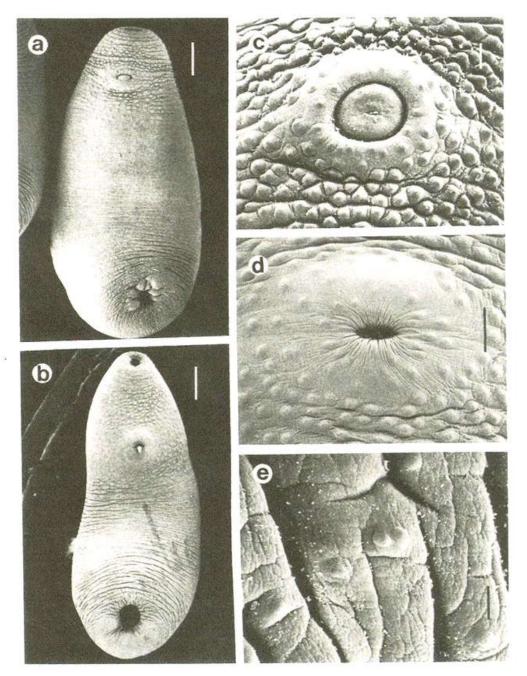


Figure n°70 : Calicophoron microbothrium Fischoeder, 1901, observé au microscope électronique. a. : ver entier, âgé de 3ans, issu d'une infestation expérimentale (Dinnik J. A.), en vue ventrale (barre d'échelle = 500  $\mu$ m). b. : ver entier, âgé de 124 jours, issu d'une infestation expérimentale (Dinnik J. A.), en vue ventrale (barre d'échelle = 300  $\mu$ m). c. : région du pore génital, avec grande papille génitale en partie éversée (barre d'échelle = 100  $\mu$ m). d. : région du pore génital, avec la papille génitale rétractée (barre d'échelle = 100  $\mu$ m). e. : région acétabulaire dotée de petites papilles tégumentaires (barre d'échelle = 200  $\mu$ m). D'après Eduardo, 1983.

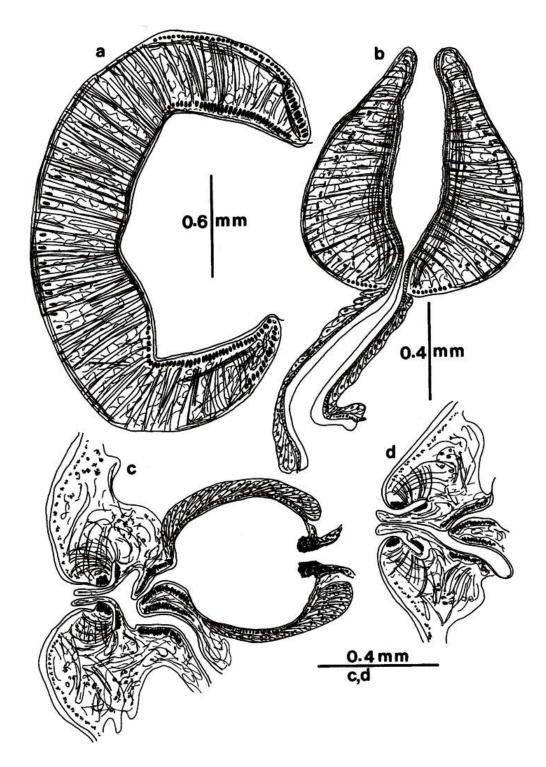


Figure n°71 : Schémas des organes clés de *Calicophoron microbothrium* Fischoeder, 1901. Coupe sagittale médiale. a. : acétabulum de type paramphistomum. b. : pharynx de type calicophoron et œsophage. c. génitalium terminal de type microbothrium avec papille génitale normalement relâchée et partie prostatique. d. : génitalium terminal avec la papille génitale en partie éversée. D'après Eduardo, 1983.

#### 3) Paramphistomum cervi Zeder, 1790 :

Paramphistomum cervi se retrouve sous sa forme adulte dans le rumen voire dans le réseau et la caillette (Neveu-lemaire, 1936) de bovins et autres ruminants tels que le cerf élaphe, le daim, le chevreuil et le bison en Afrique, Europe, Asie, Australie et Amérique du Nord (Yamaguti, 1971 et Neveu-lemaire, 1936). Au contraire pour Näsmark, *P. cervi* serait exclusivement une espèce européenne. D'abord, classée sous le nom d'Amphistomum conicum, l'espèce existe aujourd'hui en tant qu'espèce à part entière.

D'après Eduardo, 1982b,

le corps est conique, de couleur rouge clair (Neveu-lemaire, 1936), et légèrement incurvé ventralement sans papille tégumentaire. La partie antérieure est effilée alors que la partie postérieure est plus large. L'acétabulum, de type paramphistomum, est sub-terminal, large et profond (Neuveu-lemaire, 1936). Le pharynx de type liorchis a une surface interne pourvue de longues papilles sur la moitié de sa partie antérieure. L'œsophage est presque rectiligne ou parfois incurvé dorsalement, avec une musculature pariétale fine. Il ne possède ni bulbe ni sphincter postérieur mais sa lumière est soulignée d'une couche hyaline sur toute sa longueur. Les cæca sont répartis latéralement de chaque côté du corps, formant des bandes presque rectilignes arrivant au niveau de l'acétabulum avec des terminaisons aveugles se dirigeant plus dorsalement que latéralement. Les testicules sont peu et grossièrement lobés (Neveu-lemaire, 1936), disposés en tandem à la moitié du corps. En position pré-ovarienne, la vésicule séminale est longue, fortement enroulée et dotée d'une fine paroi. La pars musculosa est très courte et peu développée. La pars prostatica mesure 0,17 - 0,44 mm de long sur 0,16 - 0,33 mm de large. L'ovaire est sub-sphérique, non lobé, (0,38 - 0,83 sur 0,31 - 0,67 mm), post-testiculaire et en position dorsale par rapport à l'acétabulum. La glande de Mehlis est proche de l'ovaire (0,21 - 0,56 sur 0,18 - 0,50 mm). Le canal de Laurer croise la vessie ou le conduit excréteur et s'ouvre sur la face dorsale à environ 0,15 - 1,11 mm postérieurement au pore excréteur. L'utérus est sinueux et passe dorsalement aux testicules et ventralement au conduit mâle. Les follicules vitellins sont disposés latéralement de chaque côté du corps, s'étendent du pharynx à l'acétabulum, ne se rejoignent pas dorso-médialement. Le pore génital s'ouvre sur la face ventrale au niveau ou directement postérieurement à la bifurcation œsophagienne. L'atrium génital, de type gracile, est pourvu de papilles génitales fortement développées. La vessie est placée antérodorsalement à l'acétabulum. Le pore excréteur s'ouvre au niveau du testicule postérieur et antérieurement à l'ouverture du canal de Laurer.

.

Paramphistomum cervi Zeder, 1790	Synonymes d'après Sey, 1980 : Paramphistomum hiberniae de Willmott Paramphistomum leydeni de Näsmark, 1937 ; Paramphistomum scotiae	
Longueur:	5,50 à 13,23 mm, (Eduardo, 1982b), 5 à 15 mm (Näsmark, 1937)	Nombre d'unités
Largeur :	1,88 à 3,05 mm (Eduardo, 1982b), 2 à 4 mm (Näsmark, 1937)	
Acétabulum	1,0 - 2,8 mm de diamètre (Eduardo, 1982b), 1 - 2,5 mm de diamètre	d.e.c. 1 : 13 - 17
	(Näsmark, 1937)	d.e.c. 2 : 22 - 33
Index acétabulaire :	1 / 4 - 1 / 5,6 (Eduardo, 1982b), 1/ 4,8 - 1 / 6 (Näsmark, 1937)	d.i.c. : 40 - 48
Pharynx:	0,62 - 1,38 mm de long sur 0,44 - 0,88 mm de large (Eduardo, 1982b), 0,8	v.e.c. : 17 - 21
	- 1,2 mm de longueur (Näsmark, 1937)	v.i.c. : 40 - 52
Rapport avec la		m.e.c. : 6 - 9
longueur du corps :		(Eduardo, 1982b)
Rapport avec le	1/6,6 - 1/10,3 (Eduardo, 1982b), 1/7,5 - 1/10 (Näsmark, 1937)	
diamètre de		
l'acétabulum :		
Œsophage :	1/1,1 - 1/ 2,4 (Eduardo, 1982b)	
	0,65 - 1,02 mm de long (Eduardo, 1982b), 0,8 - 1,2 mm de long (Näsmark,	
Testicules:	1937)	
	0,66 -1,84 mm de long sur 1,29 -1,88 mm de large (Eduardo, 1982b), 1 - 2	
Œufs :	mm sur 2 - 3,5 mm (Näsmark, 1937)	
	0,123 - 0,160 sur 0,065 - 0,096 mm (Eduardo, 1982b), 0,145 - 0,156 mm	
	sur 0,075 - 0,082 mm (Näsmark, 1937)	

Tableau XI: Dimensions anatomiques de Paramphistomum cervi Zeder, 1790.

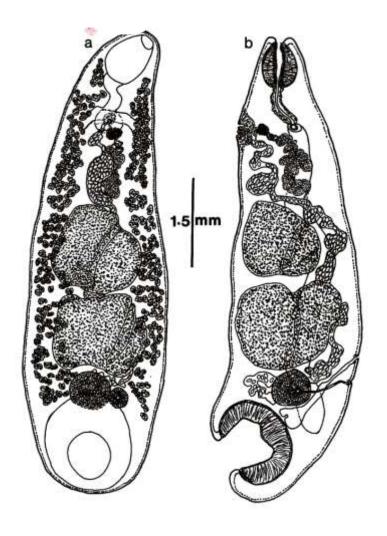


Figure n°72 :

Paramphistomum cervi

Zeder, 1790. D'après

Eduardo, 1982b.

Légende : a. : parasite
entier, b. : coupe sagittale
médiale

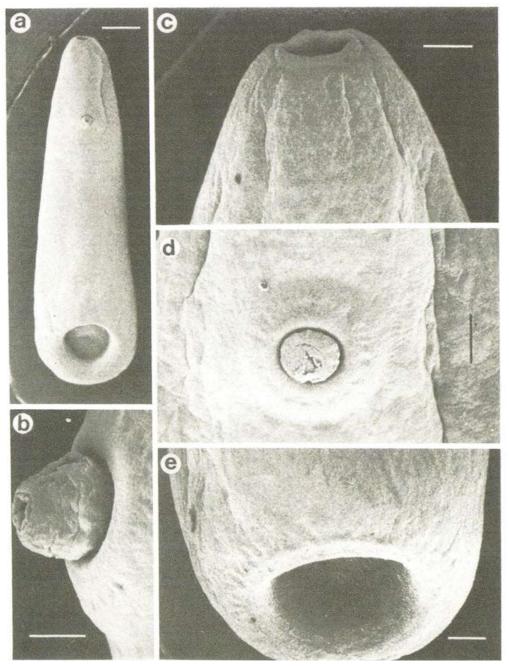


Figure n°73 : Paramphistomum cervi Zeder, 1790, observé au microscope électronique. a. : ver entier en vue ventrale (barre d'échelle = 500  $\mu m$ ). b. : région du pore génital, avec une papille génitale en partie éversée, vue latérale (barre d'échelle = 100  $\mu m$ ). c. : extrémité antérieure (barre d'échelle = 200  $\mu m$ ). d. : région du pore génital, vue de face. e. : région acétabulaire (barre d'échelle = 200  $\mu m$ ). Absence de papilles sur les différentes faces d'après. D'après Eduardo, 1982b.

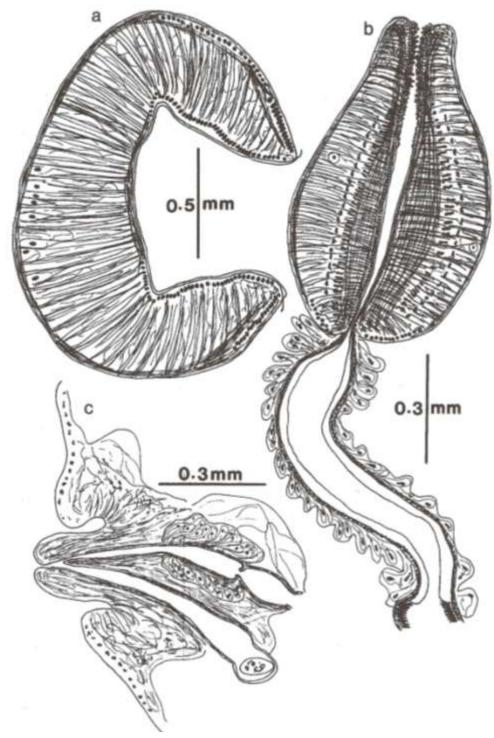


Figure n°74 : Schémas des organes clés de *Paramphistomum cervi* Zeder, 1790. Coupe sagittale médiale. a. : acétabulum de type paramphistomum. b. : pharynx de type liorchis et œsophage. c. génitalium terminal de type gracile D'après Eduardo, 1982b.

### 4) Paramphistomum ichikawai Fukui, 1922 :

Cette espèce a d'abord fait partie de l'espèce *P. cervi* avant d'exister par elle-même (Näsmark, 1937). Retrouvé au Japon et en Australie dans les réservoirs gastriques des bovins et autres ruminants (Näsmark 1937, Neveu-Lemaire, 1936), il a aussi été décrit en Asie et en Europe (Eduardo, 1982b). Ce parasite est surtout incurvé dans son tiers postérieur avec une face ventrale presque plane. Les follicules vitellins sont situés latéralement et se composent de petits follicules contrairement à ce que l'on peut observer chez *P. cervi*. L'acétabulum est ventral avec une très petite ouverture. Les testicules sont superficiellement lobés avec des circonvolutions angulaires. *Paramphistomum ichikawai* se distingue clairement des autres espèces par la structure du génitalium terminal qui est de type ichikawai (Näsmark, 1937).

D'après Eduardo, 1982b,

le corps conique est parfois incurvé ventralement. Ce parasite possède de petites papilles tégumentaires en forme de dôme disposées autour de l'ouverture buccale. Ces papilles tégumentaires sont plus petites et moins nombreuses, disposées de façon éparse, dans la région de l'acétabulum. L'acétabulum est sub-terminal de type pisum. Le pharynx de type calicophoron a une surface interne pourvue de très petites papilles en forme de dôme. L'œsophage est presque rectiligne parfois incurvé dorsalement, et relativement court avec une musculature pariétale d'épaisseur modérée. Ce parasite ne possède pas de bulbe ou de sphincter postérieur œsophagien. La lumière de l'œsophage est soulignée d'une couche hyaline sur toute sa longueur. Les cæca sont répartis latéralement, formant des bandes longitudinales parallèles, placées les unes derrière les autres dans le sens dorso-ventral. Leurs terminaisons aveugles arrivent au niveau de l'acétabulum et se dirigent vers l'extrémité postérieure du corps. Les testicules sont superficiellement lobés et disposés en tandem dans les 2/3 postérieurs du corps. La vésicule séminale est longue, fortement enroulée et dotée d'une fine paroi. La pars musculosa est courte mais large. La pars prostatica est relativement petite. L'ovaire est rond à sub-sphérique (0,35 - 0,61 sur 0,47 -0,61 mm), post-testiculaire et en position dorsale par rapport à l'acétabulum. La glande de Mehlis est proche de l'ovaire (0,20 - 0,53 sur 0,44 - 0,53 mm). Le canal de Laurer croise la vessie ou le conduit excréteur et s'ouvre sur la face dorsale à environ 0,45 - 0,68 mm du pore excréteur. L'utérus est sinueux et passe dorsalement aux testicules et ventralement au conduit mâle. Les follicules vitellins sont disposés latéralement, s'étendant du pharynx à l'acétabulum, passent parfois par la région inter-cæcale, et se rejoignent dorso-médialement par leur bord antérieur. Le pore génital s'ouvre sur la face ventrale au niveau de la bifurcation œsophagienne. La vessie est disposée dorsalement à l'ovaire à la glande de Mehlis et au testicule postérieur. Le pore excréteur s'ouvre sur la face dorsale au niveau du bord postérieur du testicule antérieur et antérieurement à l'ouverture du canal de Laurer.

Paramphistomum	Synonymes d'après Sey, 1980 : Cotylophoron cotylophorum de Marotel et Gratecos, 1938,		
ichikawai Fukui,	de Guilhon et Priouzeau, 1945, de Popov et al., 1967 et d'Euzeby, 1973 ; Orthocœlium		
1922	scoliocœlium d'Erhardova, 1964 et de Mihailova et al., 1974.		
Longueur :	4,9 à 9,49 mm (Eduardo, 1982b), 5 à 6,6mm (Näsmark ,1937)	Nombre d'unités	
Largeur :	1,74 à 3,35 mm (Eduardo, 1982b), 2 à 3 mm (Näsmark, 1937)		
Acétabulum	1,16 - 1,66 mm de diamètre (Eduardo, 1982b), 1 - 2,5 mm de diamètre	d.e.c. 1 : 16 - 26	
Index acétabulaire :	(Näsmark , 1937)	d.e.c. 2 : 8 - 14	
Pharynx:	1 / 3 - 1 / 5,9 (Eduardo, 1982b), 1 / 4 - 1 /5,5 (Näsmark, 1937)	d.i.c. : 35 - 62	
	0,58 - 1,01mm de long sur 0,48 - 0,87 mm de large (Eduardo, 1982b), 0,5	v.e.c. : 18 - 26	
Rapport avec la	mm de longueur (Näsmark, 1937)	v.i.c. : 36 - 60	
longueur du corps :		m.e.c. :15 - 20	
Rapport avec le		(Eduardo, 1982b)	
diamètre de	1/6,5 - 1/13,5 (Eduardo, 1982b), 1/10 - 1/13,2 (Näsmark, 1937)		
l'acétabulum :			
Œsophage :			
Testicules :	1/1,3 - 1/ 2,6 (Eduardo, 1982b),		
Antérieur :	0,33 - 0,5 mm de long (Eduardo, 1982b), 0,47 mm (Näsmark, 1937)		
Postérieur :	1 - 2 mm sur 2 - 3,5 mm (Näsmark, 1937)		
	0,43 - 1,19 mm de long sur 0,72 - 1,79 mm de large (Eduardo, 1982b),		
Œufs :	0,34 - 1,93 mm de long sur 1,18 - 2,10 mm de large (Eduardo, 1982b),		
	0,123 - 0,129 sur 0,064 - 0,070 mm (Eduardo, 1982b), 0,125 sur 0,062 mm		
	(Näsmark, 1937)		

Tableau XII: Dimensions anatomiques de Paramphistomum ichikawai Fukui, 1922.

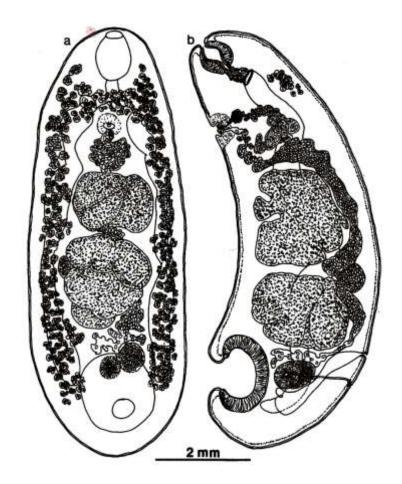


Figure n°75: Paramphistomum ichikawai Fukui, 1922. D'après Eduardo, 1982b. Légende : a. : parasite entier, b. : coupe sagittale dans le plan médian

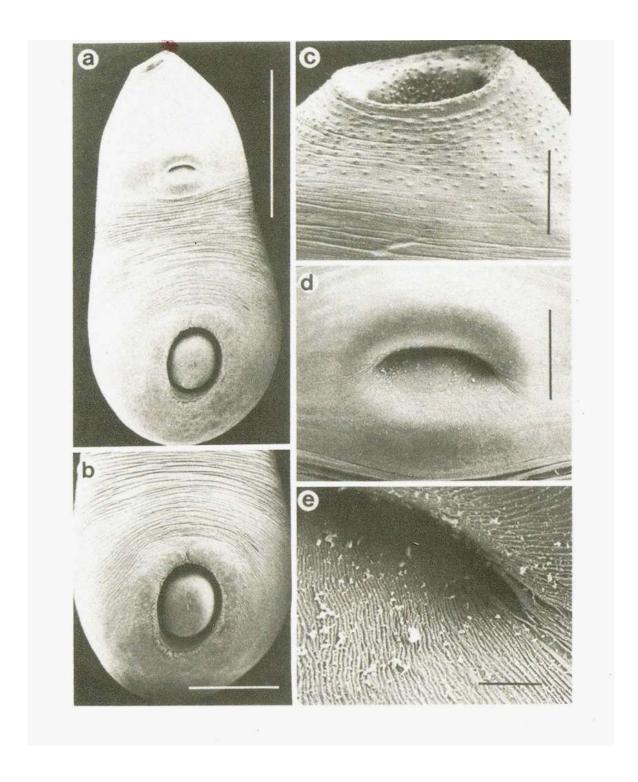


Figure n°76: Paramphistomum ichikawai Fukui, 1922, observé au microscope électronique. a. : ver entier en vue ventrale (barre d'échelle = 1mm). b. : région acétabulaire entourée de quelques petites papilles (barre d'échelle = 500  $\mu$ m). c. : extrémité antérieure dotée de grandes papilles (barre d'échelle = 150  $\mu$ m). d. : région du pore génital (barre d'échelle = 50  $\mu$ m). e. : Vue rapprochée de la paroi du pore génital montrant de fins replis (barre d'échelle = 3  $\mu$ m). D'après Eduardo, 1982b.

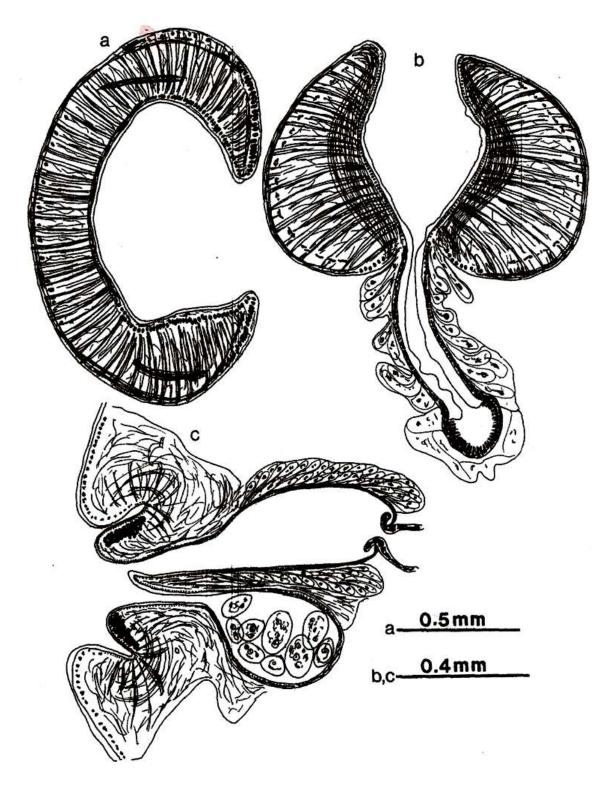


Figure n°77 : Organes clés de *Paramphistomum ichikawai* Fukui, 1922. Coupe sagittale médiale. a. : acétabulum de type pisum. b. : pharynx de type calicophoron et œsophage. c. : génitalium terminal de type ichikawai et partie prostatique.

D'après Eduardo, 1982b.

### 5) Paramphistomum leydeni Näsmark, 1937 :

Ce parasite a été décrit en Russie dans les réservoirs gastriques de bovins (Neveu-Lemaire, 1936).

D'après Eduardo, 1982b,

le corps est conique et incurvé ventralement. Il est de couleur blanc jaune (Näsmark, 1937). Les papilles tégumentaires sont en forme de dôme et disposées autour de l'ouverture buccale. Elles s'étendent sur la face ventrale de la moitié antérieure du corps. L'acétabulum est de type paramphistomum et en position sub-terminale. L'acétabulum fortement développé est presque ventral (Näsmark, 1937). Le pharynx, de type liorchis, est pourvu, sur les 2/3 antérieurs de la surface interne, de longues papilles. Celles-ci sont beaucoup plus développées que celles de *P. cervi* mais moins que celles de *P. gotoi* (Näsmark, 1937). L'œsophage est parfois incurvé dorsalement, et possède une musculature pariétale d'épaisseur modérée. Ce parasite n'a ni bulbe ni sphincter postérieur œsophagien. La lumière de l'œsophage est soulignée d'une couche hyaline sur toute sa longueur. Les cæca sont répartis latéralement et forment des bandes longitudinales presque rectilignes. Leurs terminaisons aveugles sont légèrement incurvées et arrivent au niveau de l'acétabulum sans se rejoindre médialement. Le génitalium terminal est très développé et très crânial (Näsmark, 1937).

Les testicules sont superficiellement lobés, parfois compressés (Näsmark, 1937) et disposés en tandem dans les 2/3 postérieurs du corps, formant un angle droit dans le sens dorso-ventral. La vésicule séminale est longue, fortement enroulée et dotée d'une fine paroi. La pars musculosa est courte et peu développée. La pars prostatica est de petite taille (0,19 -0,32 sur 0,18 - 0,33 mm). L'ovaire (0,28 - 0,55 sur 0,28 - 0,69 mm) est post-testiculaire et en position dorsale par rapport à l'acétabulum. La glande de Mehlis proche de l'ovaire ou directement au contact (0,23 - 0,38 sur 0,19 - 0,44 mm). Le canal de Laurer croise la vessie ou le conduit excréteur et s'ouvre sur la face dorsale à environ 0,57 - 1,06 mm postérieurement au pore excréteur. L'utérus sinueux passe dorsalement aux testicules et ventralement aux conduits mâles. Les follicules vitellins sont disposés latéralement, s'étendent du pharynx au niveau antérieur de l'acétabulum, et ne se rejoignant pas dorsomédialement. Le pore génital s'ouvre sur la face ventrale au niveau du pharynx ou immédiatement postérieur à la bifurcation œsophagienne. La vessie est placée dorsalement à l'ovaire, à l'acétabulum, à la glande de Mehlis et postérieurement au testicule postérieur (Eduardo, 1982b). Le canal excréteur s'ouvre, sur la face dorsale, au niveau du testicule postérieur à 1,25 mm de l'abouchement du canal de Laurer (Näsmark, 1937).

Paramphistomum	Synonyme d'après Sey, 1980 : Paramphistomum cervi Zeder, 1790 (Technique de		
<i>leydeni</i> Näsmark, 1937	préparation qui aurait modifié l'aspect de la musculature de l'atrium génital, et papilles du		
1937	pharynx en partie détachées pour les spécimens de la collection de Näs	mark, 1937)	
	synonymie non retenue par Eduardo, 1982b.		
Longueur :	4,10 à 6,80 mm (Eduardo, 1982b), 6,4 mm (Näsmark, 1937)	Nombre d'unités	
Largeur :	2 à 3,35 mm (Eduardo, 1982b), 3 mm (Näsmark, 1937)		
Acétabulum	1,28 - 1,81 mm de diamètre (Eduardo, 1982b), 1,8 mm de diamètre		
	(Näsmark, 1937)	d.e.c. 1 : 10 - 14	
Index acétabulaire :		d.e.c. 2:34 - 39	
Pharynx:	1 / 3 - 1 / 3,7(Eduardo, 1982b), 1 / 3,6 (Näsmark, 1937)	d.i.c. : 38 - 44	
	0,57 - 0 ,84mm de long sur 0,51 - 0,58 mm de large (Eduardo, 1982b), 0,78	v.e.c. : 16 - 20	
Rapport avec la	mm de longueur (Näsmark, 1937)	v.i.c. : 47 - 50	
longueur du corps :		m.e.c. :14 - 26	
Rapport avec le			
diamètre de	1/6 - 1/8,6 (Eduardo, 1982b), 1/8,2 (Näsmark, 1937)		
l'acétabulum :			
Œsophage :			
Testicules :	1/1,9 - 1/ 2,5		
Antérieur :	0,51 - 0,78 mm de long (Eduardo, 1982b), 0,68 mm (Näsmark, 1937).		
Postérieur :	1 - 2 mm sur 2 - 3,5 mm (Näsmark, 1937)		
Œufs:	0,53 - 0,97 mm de long sur 1,01 - 1,54 mm de large ;		
	0,53 - 0,93 mm de long sur 0,83 - 1,96 mm de large (Eduardo, 1982b)		
	0,145 - 0,150 sur 0,075 - 0,078 mm (Eduardo, 1982b), 0,156 sur 0,078 mm		
	(Näsmark, 1937)		

Tableau XIII : Dimensions anatomiques de Paramphistomum leydeni Näsmark, 1937

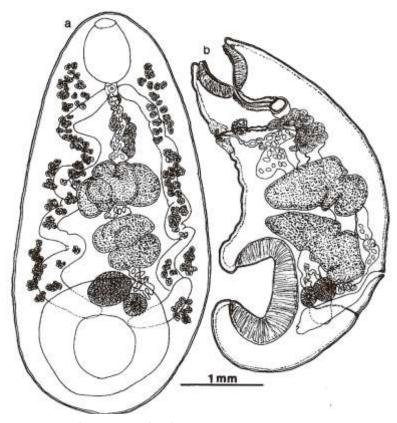


Figure n°78 : *Paramphistomum leydeni* Näsmark, 1937. a : parasite entier, b : coupe sagittale médiale. D'après Eduardo, 1982b.

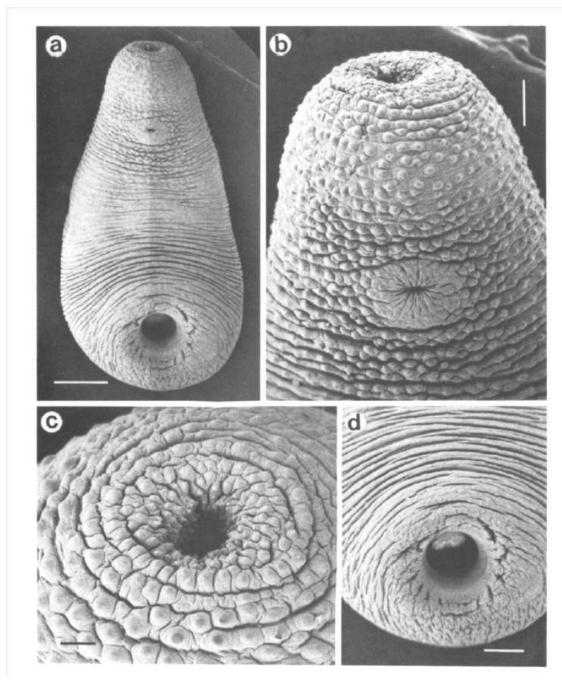
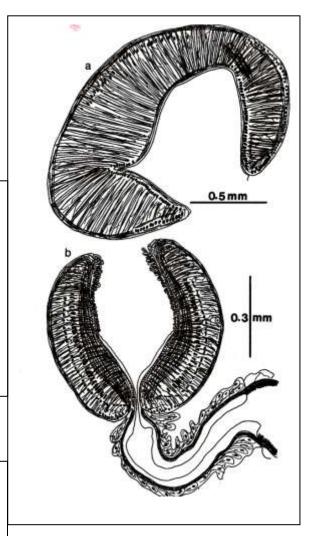


Figure n°79 : *Paramphistomum leydeni* Näsmark, 1937, observé au microscope électronique. Légende : a : ver entier en vue ventrale. Grandes papilles sur la moitié antérieure du corps (barre d'échelle : 500  $\mu$ m) ; b : région du pore génital (barre d'échelle = 200  $\mu$ m) ; c : ouverture buccale (barre d'échelle = 100  $\mu$ m) ; d : région acétabulaire (barre d'échelle = 500  $\mu$ m). D'après Eduardo, 1982b.

Figure n°80 : Schéma de l'acétabulum et du pharynx de *Paramphistomum leydeni* Näsmark, 1937. Coupe sagittale médiale. a acétabulum de type paramphistomum. b : pharynx de type liorchis et æsophage. D'après Eduardo, 1982b.



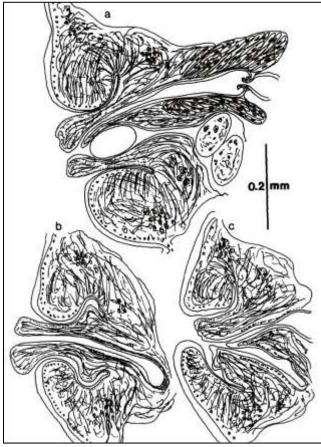


Figure n°81 : Schéma du génitalium terminal de Paramphistomum leydeni, Näsmark, 1937. Formes variable de le génitalium terminal de type leydeni. a spécimen relâché, avec partie prostatique visible. b : spécimen contracté avec la papille génitale faisant saillie ; c : atrium contracté avec la papille génitale rétractée. D'après Eduardo, 1982b.

# IV. RELATION HOTE-PARASITE

# IV.1 IMMUNOLOGIE

### **IV.1.1** POUVOIR ANTIGENE

Les paramphistomes sous leur forme immature ou mature - comme d'autres parasites - possèdent des antigènes (Ag) somatiques et des antigènes sécrétés/excrétés (E/S). La réaction de l'hôte vis-à-vis de ces antigènes est la production d'anticorps (Ac). Afin de mettre au point un test sérologique diagnostic de la paramphistomose, les réactions croisées anticorps-antigène due à l'infestation par les paramphistomes et par les grandes douves du foie ont été étudiées. En 1986, une réaction croisée, entre un broyat de grandes douves adultes et le sérum de lapins immunisés par injection d'un broyat de paramphistomes, a été mise en évidence (Pineau, 1986 - cité par Joly, 1991). Un autre essai a montré l'existence de réactions croisées, sur 20 % des bovins infestés par *C. daubneyi* et *F. hepatica* et inversement (Diaz et al., 2006). Cela vient contredire les résultats d'une précédente étude, réalisée en 1981 qui concluait à l'absence de relation antigénique entre les deux parasites (Bratanov et al., 1981 - cités par Rieu, 2004).

## IV.1.2 POUVOIR IMMUNOGENE

# Défenses de l'hôte :

Les mécanismes de défense mis en place par l'hôte pour éliminer le parasite sont des mécanismes spécifiques et non spécifiques.

Concernant les mécanismes spécifiques, il s'agit de phénomènes immunitaires faisant intervenir des lymphocytes et des immunoglobulines (Ig).

Les mécanismes non spécifiques sont ceux rencontrés dans lors de processus inflammatoires de type parasitaire. La réaction inflammatoire locale entraîne l'activation du complément. Il y a alors une cytolyse directe des formes immatures enchâssées dans la muqueuse digestive et une dégranulation des mastocytes entraînant un afflux de cellules phagocytaires, tels que des macrophages. La réaction inflammatoire s'accompagne aussi d'un afflux important de granulocytes éosinophiles.

### <u>Échappement du parasite :</u>

Pour échapper aux mécanismes immunitaires mise en place par l'animal, plusieurs moyens de défense du parasite sont mis en jeu. Le glycocalyx recouvrant le tégument du parasite aurait une fonction de protection contre le système immunitaire de l'hôte (Dunn et al., 1987). L'action du glycocalyx tégumentaire permet de piéger des protéines de l'hôte et de se camoufler présentant des molécules du soi au système immunitaire. Les antigènes de surface sont fréquemment modifiés ce qui entraîne une multiplicité antigénique et donc une production d'anticorps peu spécifique par l'hôte. Le parasite est aussi capable de sécréter des glycoprotéines qui se fixent aux anticorps de l'hôte et les rendent inefficaces, diminuant ainsi le nombre d'anticorps capables de se fixer au parasite (Joly, 1991). Les paramphistomes seraient aussi aptes, comme d'autres trématodes, de sécréter des protéases capables de

cliver les immunoglobulines (Ig) et d'inhiber l'action du complément. Les défenses de l'hôte sont donc en partie contrecarrées par le parasite et cela a pour conséquence l'existence d'une certaine tolérance de l'hôte vis-à-vis du parasite (Houlbert 1998 - cités par Rieu 2004).

### <u>Immunité de prémunition :</u>

De manière générale, ce sont les animaux jeunes, ayant moins de deux ans, qui sont atteints de paramphistomose aiguë. Cela a été observé par de nombreux auteurs tels que Boray en 1959, Rolfe et Boray en 1986 (cités par Rieu, 2004) et Dorchies et al., en France, en 2002 (Dorchies et al., 2002b). L'hypothèse de l'existence d'une immunité prémunition contre le parasite est parfois avancée. Cela expliquerait que les animaux adultes soient moins affectées que les animaux plus jeunes. Ainsi, les infestations antérieures auraient à long terme un effet protecteur. Cela se traduit, d'après Lefèvre et al. (2003) par un rejet des formes immatures dans les fèces chez les animaux adultes opposant une résistance immunitaire contre le parasite. Ce mécanisme permet de diminuer l'intensité de l'infestation.

Enfin, cette immunité est aussi concomitante car, lors de l'infestation, elle est présente mais elle disparaît avec l'élimination du parasite (Diaz et al., 2006).

# **IV.1.3** POUVOIR ALLERGENE

Les allergènes sont des substances, généralement de nature protéique, qui entraîne une réaction allergique chez l'individu préalablement sensibilisé. Au niveau moléculaire, il s'agit d'antigènes responsables de réactions d'hypersensibilité.

Horak, en 1967, observe une réaction d'hypersensibilité cutanée, suite à l'injection intradermique d'antigènes de *C. microbothrium*, chez des moutons sensibilisés. Cependant, les mêmes résultats ont été obtenus avec des moutons infestés par des nématodes, ou des trématodes tels que *Fasciola hepatica* ou *Schistosoma mattheei*. La spécificité de ce test est donc nulle (Horak, 1971).

Au niveau de la muqueuse duodénale, une réaction d'hypersensibilité de type I pourrait en partie expliquer l'intensité de la réaction inflammatoire qui entraîne une perte de fluides et d'électrolytes dans la lumière digestive, et donc une diarrhée incoercible lors de paramphistomose aiguë (Dorchies, 1998).

## IV.2 PATHOGENIE

Lors de la découverte des paramphistomes en France et dans les quelques années qui ont suivi, la présence du parasite adulte fixé à la muqueuse digestive du rumen et du réseau était considérée comme non pathogène pour l'animal (Bussiéras et Chermette, 1988). Seule la paramphistomose aiguë due aux formes immatures ou pré-imaginales (adolescaria), infestant la muqueuse digestive intestinale et abomasale, semblait être préjudiciable pour l'animal. De nos jours, le caractère pathogène des formes adultes du parasite est communément admis du fait des observations cliniques et nécropsiques récemment faites (Alzieu et Dorchies, 2007).

# IV.2.1 ACTION PATHOGENE DE LA FORME IMMATURE

#### a) PATHOGENIE DE LA FORME PRE-IMAGINALE

Les formes pré-imaginales ou immatures ont d'une part une action de strangulation de la muqueuse digestive issue de l'activité musculaire de l'acétabulum permettant leur fixation.

D'autre part, en s'enfonçant dans la muqueuse abomasale et duodénale, allant dans la sous-muqueuse voire jusqu'à la musculeuse (Euzeby, 1975). Ces formes parasitaires ont une action traumatique mécanique (Guilhon et Priouzeau, 1945). Les glandes digestives, entre autres, sont localement détruites par cette action mécanique aussi dite térébrante (Euzeby, 1975). De plus, les larves restent entre 3 à 6 semaines dans la paroi digestive, créant localement des hémorragies par effraction de la vascularisation pariétale, avant de migrer vers le rumen (Alzieu et Courouble, 2004). Ces formes sont donc responsables d'hémorragies, mais aussi de lésions nécrotiques au lieu de fixation et de pénétration de la paroi digestive. Ces lésions d'érosion sont à l'origine d'une perméabilisation de la paroi digestive par destruction des jonctions membranaires intercellulaires ou des cellules ellesmêmes mais aussi d'une entérite sur les premiers mètres du duodénum. Cette perméabilisation est notamment responsable d'une fuite de protéines plasmatiques vers la lumière intestinale. L'entérite se caractérise par une congestion et un œdème de la paroi intestinale provoquant une occlusion partielle du canal cholédoque empêchant l'écoulement de la bile. Il y a un phénomène de mal digestion-mal assimilation. Ainsi, la mal absorption des nutriments associée à la fuite protéique entraîne une augmentation du pouvoir osmotique du contenu intestinal et donc une sortie d'eau et d'électrolytes vers la lumière intestinale. Le contenu intestinal est donc fortement modifié : plus liquide et plus volumineux entraînant l'apparition d'une diarrhée incoercible (Lefèvre et al., 2003).

L'action traumatique est, d'autre part, à l'origine d'une réaction inflammatoire importante au sein de la muqueuse digestive. L'inflammation se traduit par une hypersécrétion de mucus et par une infiltration éosinophilique de la paroi qui entretient une réaction inflammatoire locale avec dégranulation des granulocytes et libération de molécules inflammatoires vaso-actives (Euzeby, 1975). Pour expliquer cette forte réaction inflammatoire, une réaction d'hypersensibilité de type 1, se caractérisant par la dégranulation des mastocytes sensibilisés et la libération d'histamine responsable du recrutement des granulocytes éosinophiles, pourrait intervenir (Dorchies et al., 2000). Sous l'action des molécules inflammatoires vaso-actives, l'afflux sanguin est augmenté ce qui contribue donc à augmenter la fuite d'eau, d'électrolytes et de protéines plasmatiques dans la lumière intestinale et donc la modification du contenu intestinal (Lefèvre et al., 2003).

En association, l'action traumatique et l'inflammation entraînent l'apparition d'un syndrome diarrhéique chez l'animal (Lefèvre et al., 2003). Pour compenser les pertes protéiques au niveau intestinal, un hypercatabolisme protéique s'installe chez l'animal et entraîne une fonte musculaire et un amaigrissement sévères (Boray, 1969, - cité par Euzeby, 1975).

La sévérité de la maladie et l'étendue des lésions dépend du nombre de parasites immatures ayant pénétré la muqueuse. Un ensemble de 50 000 *C. microbothrium* de 21

jours est notamment capable de léser 100 cm² de muqueuse digestive (Horak, 1967 – cité par Rieu, 2004).

Dorchies et al., (2000) considérèrent qu'il y a deux formes cliniques à distinguer, la forme associée à la primo-infestation et la forme associée à une réinfestation.

Lors de la primo-infestation les réactions inflammatoires resteraient modérées. Au contraire lors d'une réinfestation, les réactions inflammatoires seraient exacerbées, du fait de réactions d'hypersensibilité de type 1, ce qui expliquerait le caractère très profuse et incoercible de la diarrhée (Dorchies et al., 2000). La pénétration des larves dans la muqueuse digestive sensibilisée déclencherait une réaction comparables au syndrome aigu asthmatiforme de la dictyocaulose, au phénomène de self-cure de l'hæmonchose ou encore semblable à l'ascaridose toxémique (Dorchies et al., 2000). Les antigènes du parasite activeraient d'une part, les mastocytes locaux qui libéreraient des médiateurs de l'inflammation, et d'autre part, les histiocytes qui sécréteraient alors l'histamine. Ces réactions entraînent alors entre autres un œdème local.

De plus, dans certains cas de paramphistomose aiguë, la coproscopie met en évidence des œufs et non pas des formes immatures. Cette observation confirmerait l'hypothèse de l'existence du phénomène d'hypersensibilité apparaissant suite à une réinfestation.

Cependant, aucune étude ne s'est intéressée particulièrement à la pathogénie de la paramphistomose aiguë et l'intervention de réactions d'hypersensibilité n'est que fortement suspectée.

#### b) LESIONS DUES A LA FORME PRE-IMAGINALE OU IMMATURE

En ce qui concerne les lésions générales, la carcasse est souvent amaigrie avec des masses musculaires atrophiées et la présence inconstante d'ascite, d'hydrothorax et d'hydropéricarde (Guilhon et Priouzeau, 1945 ; Bussiéras et Chermette, 1988).

Des lésions secondaires – des ulcères buccaux - ont aussi été mis en évidence chez quelques animaux dans la région des Mont du Lyonnais. Une infection par un autre agent pathogène ou une carence en vitamine A – causée par l'action hématophage et histophages des paramphistomes immatures - pourraient être à l'origine de ces lésions (Mercier et al., 2008).

Les lésions locales sont retrouvées principalement au niveau du duodénum et dans une moindre mesure au niveau du jéjunum et de la caillette. Elles sont souvent plus importantes chez les jeunes bovins que chez les animaux plus âgés. La fixation des formes immatures à la muqueuse digestive par leur ventouse postérieure entraîne l'apparition d'une entérite, et parfois une gastrite catarrhale sévère. Il y a une congestion et un œdème de la paroi intestinale ou abomasale (Guilhon et Priouzeau, 1945). Dorchies et al. (2002b), décrivent sur des cadavres d'animaux morts de paramphistomose larvaire, la présence d'un œdème des plis abomasaux, d'une congestion de la paroi digestive présentant de petits ulcères hémorragiques ainsi qu'un piqueté rouge correspondant aux parasites immatures fixés sur la paroi. Cette lésion d'entérite peut être plus ou moins sévère et dans les cas les plus graves, elle peut être localement hémorragique et nécrosante. Les lésions de nécrose peuvent atteindre la musculaire muqueuse (Lefèvre et al., 2003).



Figure n°82 : Lésions intestinales dues aux formes pré-imaginales du parasite. La muqueuse duodénale présente une congestion et un œdème sévère avec plages hémorragiques associés à la présence de milliers de formes pré-imaginale de paramphistomes chez un jeune bovin. Photos : Dr Belli P. – VetAgroSup Lyon.

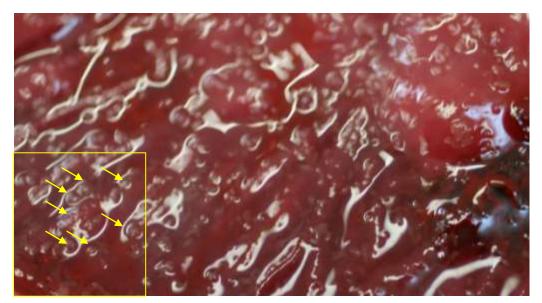


Figure n°83 : Vue rapprochée des lésions intestinales dues aux formes pré-imaginales du parasite. La muqueuse duodénale présente une congestion et un œdème sévère avec plages hémorragiques associés à la présence de milliers de formes pré-imaginale de paramphistomes chez un jeune bovin. Vue rapprochée permettant de mettre en évidence des milliers de petites dépressions (flèches jaunes) de la muqueuse duodénale réparties de manière multifocale sur l'ensemble de la muqueuse. Photos : Dr Belli P. – VetAgroSup Lyon.

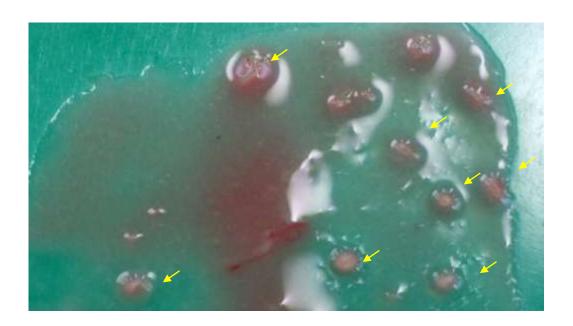


Figure n°84 : Produit de raclage d'une muqueuse duodénale infestée par des formes préimaginales de paramphistomes chez un jeune bovin. Autopsie réalisée au service d'autopsie de l'école nationale vétérinaire de Lyon. Les paramphistomes les plus visibles sont indiqués par des flèches. Photos : Dr Belli P. – VetAgro Sup Lyon

Les nœuds lymphatiques drainant cette région sont hypertrophiés. Les vaisseaux sanguins sont localement congestionnés. Le tissu adipeux mésentérique a parfois disparu et laissé la place à un liquide séreux. Plus distalement, l'intestin grêle peut contenir de nombreux vers immatures contenus dans un liquide mucohémorragique (Horak, 1971).

Le colon et le cœcum peuvent présenter des lésions hémorragiques dans les cas les plus graves (Lefèvre et al., 2003). Le rectum peut présenter des lésions hémorragiques lors de formes subaiguës (Horak, 1971).

Le foie est parfois modifié avec la présence de boursouflures à sa surface (Buttler et Yeoman, 1962 - cités par Rieu, 2004). La vésicule biliaire est hypertrophiée et son contenu très visqueux en lien avec l'occlusion partielle du canal cholédoque (Horak, 1971)

Enfin, lésions histologiques sont rarement mises en évidence car rarement recherchées. Les échantillons, pour la recherche de mastocytes, nécessiteraient une coloration particulière (Dorchies et al., 2000). Les lésions histologiques dues à la forme immature se résument à une forte stroma-réaction associée à une infiltration cellulaire diffuse. Les cellules observées sont des cellules lymphohistiocytaires, des plasmocytes et des granulocytes éosinophiles (Dorchies et al., 2002b). La *lamina propia* et le tissu interstitiel des glandes de Brunner sont infiltrées par des macrophages et des lymphocytes (Singh, Sahay, Jha, 1984 - cités par Rieu, 2004). Des images de dilatation kystique des glandes de la paroi digestive sont aussi décrites (Dorchies et al., 2002b). Associée à cette infiltration cellulaire, une desquamation de la muqueuse digestive et un comblement par du tissu cicatriciel modifie l'organisation histologique de la paroi (Lefèvre et al., 2003).

Les parasites immatures sont visibles au microscope optique dans les glandes du chorion (Dorchies et al., 2002b). Des parasites perforent parfois la paroi intestinale et peuvent être retrouvés dans le liquide péritonéal (Bussiéras et Chermette, 1988).

Les lésions intestinales disparaissent après le départ des formes immatures et laissent place au développement d'un tissu cicatriciel.

#### IV.2.2 ACTION PATHOGENE DE LA FORME ADULTE

# a) PATHOGENIE DE LA FORME ADULTE

Aucune étude n'a porté précisément sur l'action pathogène de la forme adulte. Les parasites adultes sont généralement considérés comme peu pathogènes bien qu'ils soient parfois responsables d'importants troubles digestifs. Les formes adultes du parasite sont fixées, grâce à leur acétabulum, à la muqueuse digestive du rumen voire à celle du réseau. Ces parasites pourraient donc entraîner une modification chimique et biologique du contenu ruminal ainsi qu'une détérioration de la digestibilité des aliments, de leur résorption et donc du métabolisme alimentaire du bovin (Dorchies et al., 2000). En 1995, différents paramètres ruminaux ont été étudiés : la motilité, le pH, la couleur, l'odeur, la consistance, la densité, la vitesse de sédimentation, le potentiel redox, la flore bactérienne dominante du liquide ruminal et la présence et l'activité des protozoaires ruminaux (Rimbaud et al., 1995 - cités par Rieu 2004). Les variations ont été faibles et transitoires. Il conviendrait donc de renouveler les expériences de ce type. Ainsi, l'infestation parasitaire pourrait modifier l'activité ruminale et la digestibilité de la ration, et donc le métabolisme alimentaire du bovin. Les protéases contenues dans le parasite pourraient aussi avoir une incidence sur la digestibilité (Dorchies et al., 2000 d'après Juhasz, 1981).

D'autre part, les parasites adultes ne sont pas répartis uniformément sur la muqueuse ruminale mais sont répartis en colonies, de quelques dizaines à quelques centaines d'individus (Dorchies et al., 2000 ; Lefèvre et al., 2003). Ces parasites se localisent préférentiellement autour des piliers du rumen et à la jonction réticulo-ruminale. Cette localisation particulière associée à la météorisation récurrente et irrégulière chez l'animal, tend à montrer que les parasites sont responsables des troubles de la motricité ruminale mis en évidence cliniquement. Ces troubles de la motricité digestive pourraient aussi être responsables de la diarrhée hivernale observée chez certains bovins adultes ayant des coproscopies positives pour le paramphistomes (Dorchies et al., 2000).

De plus, la fixation du parasite entraîne une fragilisation de la muqueuse. En effet, la ventouse postérieure est responsable d'un étranglement et d'une nécrose de la muqueuse ruminale ou réticulée, par trouble de la microcirculation sanguine locale. Cela entraîne une perte de substance au lieu de fixation (Alzieu et Courouble, 2004 ; Lefèvre et al., 2003).

Les paramètres cellulaires de la formule sanguine ainsi que l'albuminémie et l'électrophorèse des protéines sanguines (Dorchies, 1998) ne présentent pas d'anomalie même chez des animaux fortement parasités. Ainsi, le métabolisme général de l'animal n'est pas ou très peu affecté par l'infestation parasitaire par les formes adultes.

Pour conclure, la principale conséquence de la fixation d'un grand nombre de parasites adultes dans le rumen est un trouble de la motricité ruminale par action mécanique.

# b) LESIONS DUES A LA FORME ADULTE

Les lésions dues à l'infestation par des parasites adultes sont assez discrètes même en présence d'un grand nombre de parasites regroupés généralement en colonies. Sur la paroi du rumen, au lieu de fixation du parasite, l'épithélium est enserré par la ventouse ventrale du parasite et prend la forme d'un bourgeon en relief. À cet endroit l'épithélium est surélevé, continu, plat et parfois hypertrophié, mesurant autour de 1 mm de diamètre, ce qui lui confère l'appellation de « bouton » de fixation ou de « bouton de paramphistomose » (Horak, 1971; Lefèvre et al., 2003) (voir la photo suivante). La formation du bouton de paramphistomose serait donc due à une action de strangulation de la muqueuse digestive qui entraînerait un phénomène ischémique et inflammatoire donnant des lésions de nécrose de la paroi ruminale (Euzeby, 1975). A cela s'ajoute, l'atrophie, l'abrasion et la nécrose des papilles ruminales de manière multifocale (Lefèvre et al., 2003). Une érosion de la muqueuse ruminale associée à un œdème a aussi été observée (Guilhon et Priouzeau, 1945). Les papilles lésées prennent, avant d'être éliminées, un couleur blanche à vert très pâle (Horak, 1971).

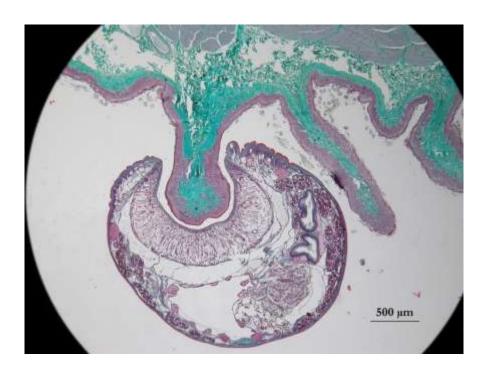


Figure n°85 : Coupe histologique observée au microscope optique d'un paramphistome fixé à la paroi ruminale par son acétabulum formant un « bouton de paramphistomose ». Photo : Dr P. Belli – Service d'histologie de VetAgro Sup Lyon.

Au niveau histologique, la muqueuse digestive est le siège d'une prolifération réticulo-histiocytaire, et d'une infiltration éosinophilique (Vasilev et al., 1985 - cités par Rieu 2004). Une infiltration cellulaire de la muqueuse et des papilles ruminales par des mastocytes et des granulocytes éosinophiliques a été mise en évidence dans un premier temps par Nguyen Van Khanh et al., (1997 - cités par Dorchies et al., 2002a), concernant la paramphistomose des canaux biliaires chez le buffle.

Une infiltration des différentes couches de la paroi ruminale par des lymphocytes a aussi été décrite (Cankovic et Batistic, 1963 - cités par Rieu, 2004). Cela a été précisé chez des bovins naturellement infestés par *C. microbothrium*, au Sénégal. Cette étude histologique des rumens infestés a mis en évidence une infiltration de cellules inflammatoires autour des vaisseaux, et dans les deux couches musculaires de la musculeuse. À ces lésions sont associés une hyperplasie de l'épithélium au point de fixation du parasite ainsi qu'un épaississement de la séreuse avec présence d'un tissu fibreux (Seck, et al., 2007). Des lésions d'érosion de l'épithélium ont aussi été rapportées (Seylarth, 1938 - cités par Guilhon et Priouzeau, 1945). Cette infiltration cellulaire associée à une réaction inflammatoire discrète est généralement présente chez les bovins atteints de paramphistomose chronique (Dorchies et al., 2000).

D'autre part, la composition des muscles des animaux fortement parasités est parfois anormale : la teneur en eau est augmentée alors que la teneur en phosphore et azote totale est diminuée (Euzeby, 1975).

Ces lésions digestives, selon leur sévérité, sont responsables de troubles digestibles plus ou moins importants et parfois absents. Seul le tableau clinique de la paramphistomose aiguë permet d'émettre une forte suspicion de paramphistomose. Au contraire, concernant la paramphistomose chronique, due aux formes adultes, les signes cliniques sont souvent absents.



Figure n°86 : Paramphistome fixé à la muqueuse digestive du rumen d'un bovin. Photos : Bailly S. – VetAgro Sup Lyon.



Figure n°87 : Bouton de paramphistomose (cercle). Photo : Bailly S. – VetAgro Sup Lyon.

# IV.3 SYMPTOMATOLOGIE

La paramphistomose peut se présenter sous deux formes cliniques dues à deux stades parasitaires successifs. Il s'agit de la paramphistomose « larvaire » ou pré-imaginale, due au stade immature du parasite, de caractère souvent aiguë, et la paramphistomose imaginale, souvent chronique passant parfois par une période aiguë.

Les symptômes seraient d'autant plus importants que la charge parasitaire est importante. Cela a été démontré chez le mouton avec *C. microbothrium* (Horak, 1966 - cités par Euzeby, 1975).

#### IV.3.1 PARAMPHISTOMOSE PRE-IMAGINALE

La phase d'invasion, débutant avec l'ingestion de métacercaires et se terminant avec la migration des formes immatures vers le rumen et le réseau, correspond à la période prépatente de l'infestation. La maladie associée est la paramphistomose pré-imaginale ou paramphistomose aiguë. C'est la forme est la plus grave qui peut entraîner une mortalité importante chez les animaux de première saison de pâture (Guilhon et Priouzeau, 1945; Devos et Zenner, 2009). En effet, les animaux les plus à risques sont âgés de moins de 2 ans (De Waal, 2010). Cependant, dans le cas de faibles charges parasitaires, cette forme de paramphistomose se révèle cliniquement silencieuse et se traduit uniquement par un fléchissement de la croissance ou par un léger amaigrissement. (Lefèvre et al., 2003).

La forme aiguë de la paramphistomose est généralement due à une infestation massive ou plus modérée chez des animaux jeunes. Les animaux deviennent progressivement apathiques et perdent l'appétit. L'anorexie ainsi que les troubles de l'absorption et de l'assimilation au niveau intestinale entraînent un amaigrissement parfois sévère des animaux. Deux à trois semaines après l'infestation, les animaux souffrent d'un syndrome gastroentéritique et diarrhéique (Euzeby, 1975). La diarrhée se caractérise par des fèces liquides noirâtres à vertes, un aspect incoercible et une apparition brutale (Dorchies et al., 2000). Les animaux deviennent alors polydipsiques (Horak, 1971). De plus, il s'agit

généralement d'une diarrhée de fin de printemps chez les jeunes animaux de première saison de pâture (Alzieu et Courouble, 2004).

Des cas de mortalité ont été rapportés notamment dans les pays chauds tels qu'en Inde, avec *Cotylophoron cotylophorum*, induisant 38 % de mortalité d'après Nath (1971, - cités par Postal, 1984).

En France, des cas de paramphistomose larvaires ont été mis en évidence par Dorchies et al., en 2002, dans trois départements différents : la Côte-d'Or, l'Eure et l'Allier. Les animaux malades étaient des broutards âgés entre 8 et 10 mois élevés en pâture avec leur mère. Une diarrhée abondante, noirâtre, nauséabonde et non hémorragique incoercible s'est installée sur plusieurs broutards, fin d'été début d'automne 2000 et 2001. Les animaux présentaient d'autres signes encore moins spécifiques tels qu'une baisse d'état, un poil piqué, un tympanisme ruminal et un amaigrissement progressif malgré un appétit conservé. Dans chaque élevage, plusieurs broutards ont fini par mourir après avoir montré plus ou moins de signes cliniques. Les signes cliniques se sont révélés rebelles au traitement contre les strongles et contre la coccidiose. Seuls les examens complémentaires ont permis de confirmer la paramphistomose larvaire chez les animaux morts. Ainsi, en France, une assez forte mortalité due à la paramphistomose pré-imaginale a été observée chez des broutards atteints de gastro-entérite diarrhéique ou simplement asymptomatiques (Dorchies et al., 2002b).

De même, en 2009, dans le département de la Loire, des génisses montbéliardes sont mortes après avoir déclaré une paramphistomose pré-imaginale clinique. Ces animaux ont d'abord présenté un amaigrissement marqué malgré un rumen rempli. Puis, certains animaux ont souffert d'une diarrhée aqueuse sans hyperthermie associée à une cachexie (Zenner et al, 2011). Au cours de cet épisode, un traitement symptomatique (sulfaméthoxypyridazine et triméthoprime en solution injectable, acide tolfénamique en solution injectable, des sulfamides et du salicylate basique d'alumine utilisés par voie orale) a été administré à l'une des génisses mais s'est révélé inefficace (Devos et Zenner, 2011).

Le tableau clinique classique de la paramphistomose pré-imaginale sous sa forme aiguë comprend des signes présentés dans le tableau suivant.

La forme subaiguë de la maladie existe aussi et concerne généralement des animaux plus âgés. Chez ces animaux, le développement des formes immatures et leur migration rétrograde sont plus longs. Les animaux souffrent alors pendant plusieurs mois de troubles digestifs (Horak, 1971). Les animaux sont abattus et présentent parfois des œdèmes en parties déclives et dans l'espace intermandibulaire (Euzeby, 1975). Les poumons peuvent aussi être atteints. Les animaux maigrissent et deviennent parfois cachectiques. Les signes cliniques disparaissent avec la cicatrisation de la muqueuse digestive.

Enfin, les animaux, qui ne meurent pas pendant la migration rétrograde du parasite, se rétablissent lentement. Les signes cliniques disparaissent complètement après 3 semaines voire 1 mois lorsque la migration des formes pré-imaginales est terminée (Guilhon et Priouzeau, 1945).

Ainsi, les troubles digestifs restent peu spécifiques avec une intensité et une gravité variables. (Alzieu et Courouble, 2004). Le tableau clinique ne permet pas à lui seul d'établir le diagnostic de paramphistomose due aux formes immatures du parasite.

Signe clinique ou syndrome	Référence
Un état général peu à très altéré et apyrétique	Dorchies et al., 2000; Mercier et al., 2008
Une anorexie	Horak 1971, Euzeby, 1975
Un amaigrissement	Guilhon et Priouzeau, 1945; Devos et Zenner, 2009
Un retard ou un arrêt de la croissance	
Une diarrhée incoercible, profuse et d'odeur nauséabonde de couleur brun-vert ou noirâtre	Dorchies et al., 2002b
Une diarrhée parfois striée de rouge	Bussiéras et Chermette, 1988
Une déshydratation parfois importante avec enfoncement des yeux	Alzieu et Courouble, 2004 ; Dorchies et al., 2002b
Des troubles digestifs ne répondant pas aux traitements symptomatiques ou nématodicides	Dorchies et al., 2002b; Devos et Zenner, 2011
Une polydipsie	Horak et Clark, 1963 - cités par Rieu, 2004
Une mortalité parfois élevée	Dorchies et al., 2002b
Une mortalité par hémorragie de la caillette	Dorchies et al., 2002b
Un œdème des parties déclives	Guilhon et Priouzeau, 1945; Euzeby, 1975; Horak, 1971.

Tableau XIV : Signes cliniques associés à la paramphistomose pré-imaginale

Des signes biologiques peuvent être présents. La fuite protéique au niveau intestinale est responsable de l'apparition d'une hypoalbuminémie et d'une hypocalcémie associée à une hypophosphorémie. L'hypoprotéinémie entraîne la sortie de fluides dans les parties déclives avec formation d'œdème et provoque ainsi une diminution du volume sanguin associée à une hypoxie secondaire. Pour compenser cette hypoxie, une érythrocytose apparaît et augmente la viscosité sanguine (Horak, 1971). Une hyperéosinophilie sanguine est souvent présente (Euzeby, 1975). Ces mêmes modifications biocliniques, à l'exception de l'érythrocytose, ont été observées par Mavenyengwa et al., (2010); cependant, ces anomalies sont restées transitoires et n'ont duré qu'une à deux semaines chez des bovins infestés expérimentalement par une quantité moyenne et forte de métacercaires de *C. microbothrium.* Seule une anémie caractérisée par une baisse de l'hématocrite, de la quantité d'hémoglobine par litre de sang et du nombre d'hématies a perduré pendant toute l'étude (56 jours post-infestation). L'anémie sub-clinique semble donc être plus constante que les autres modifications biocliniques (Mavenyengwa et al., 2010).

D'autre part, une augmentation des phosphatases alcalines, des transaminases sériques et de la bilirubinémie sont parfois présentes lors de paramphistomose (Gayatri et Sharma, 2001 - cités par Rieu, 2004).

Enfin, une diminution du taux de phosphore et de fer sérique peut parfois apparaître (Zajicek et al., 1977 - cités par Rieu, 2004).

Paramètre	Évolution	Référence
Formule et numération sanguine :		
Hématies	Diminution	Euzeby, 1975 ; Mavenyengwa et al., 2010
Hémoglobine	Diminution	Mavenyengwa et al., 2010
Hématocrite		
Granulocytes éosinophiles	Augmentation transitoire	Horak, 1971, Mavenyengwa et al., 2010
Érythrocytose	Augmentation	Horak, 1971
Biochimie sanguine :		
Protéines totales	Diminution	Mavenyengwa et al., 2010
	transitoire	
Albumine	Diminution	Horak, 1971
	Diminution transitoire	Mavenyengwa et al., 2010
Calcémie	Diminution transitoire	Mavenyengwa et al., 2010
Phosphorémie	Diminution transitoire	Mavenyengwa et al., 2010
Phosphatases alcalines	Augmentation	Gayatri et Sharma, 2001 par Rieu, 2004
Transaminases hépatiques		
Bilirubinémie		
Fer sérique	Diminution	Zajicek et al., 1977 cité par Rieu, 2004

Tableau XV : Anomalies hématologiques et biochimiques mises en évidence chez les animaux atteints de paramphistomose pré-imaginale.

De plus, durant cette période la coproscopie est généralement négative. Seules les larves mesurant 1 mm sur 1 mm, de couleur rouge, peuvent être retrouvées dans les bouses (Bussiéras et Chermette, 1988).

# IV.3.2 PARAMPHISTOMOSE IMAGINALE

Lorsque l'ensemble des formes immatures a terminé sa migration vers le rumen, les signes de paramphistomose pré-imaginale disparaissent plus ou moins vite selon l'étendue des lésions et la capacité de l'animal à cicatriser.

La période d'état correspond à l'infestation des pré-estomacs par les formes adultes du parasite. La maladie associée est la paramphistomose chronique. C'est la forme la plus fréquente rencontrée essentiellement chez l'animal âgé de plus d'un an. Les formes adultes non hématophages et chymivores (Euzeby, 1975) sont généralement peu pathogènes, mais une forte infestation peut avoir des conséquences au niveau du troupeau. Une forte infestation correspondrait à la présence de plusieurs milliers de parasites adultes dans le rumen avec l'apparition de signes cliniques à partir de 5000 parasites (Euzeby, 1975).

Cette forme chronique est souvent considérée comme asymptomatique. Les signes cliniques de l'infestation par les formes adultes sont peu spécifiques et simplement

évocateurs de troubles digestifs. Cependant, il a été observé qu'ils étaient proportionnels à la charge parasitaire de l'animal (Horak, 1966 - cité par Euzeby, 1975).

De façon générale, les animaux présentent à la fois une météorisation chronique, un appétit irrégulier et un ramollissement anormal des matières fécales. D'autres signes peu spécifiques sont associés à cette infestation : un mauvais état général, un poil piqué et une baisse de la qualité et de la quantité de lait produit (Caroff, 1998 - cités par Rieu, 2004). Dans un troupeau massivement infesté de la Loire, il a été observé une baisse de la lactation généralisée avec des vaches ne consommant pas totalement leur ration (Devos et Zenner, 2011).

Signes cliniques ou symptômes	Référence
Un état général médiocre avec poil piqué	Guilhon et Priouzeau, 1945
Un appétit conservé	Dorchies et al., 2000
Un amaigrissement	
Une météorisation chronique	'
Un tympanisme irrégulier touchant plusieurs animaux au	
moment du repas de concentrés	
Des coliques	Dorchies et al., 2002b
Une diminution de quantité et de qualité de lait produit	Caroff, 1998 - cité par Rieu, 2004
Des diarrhées de veaux par ingestion de lait de mauvaise qualité.	Rieu, 2004
Un ramollissement des selles chez les animaux plus âgés	Dorchies et al., 2000

Des accès périodiques chez un même animal ont été décrits par Guilhon et Priouzeau (1945). Une entérite légère peut apparaître après chaque infestation pouvant entraîner, avec l'accumulation de nombreux parasites dans le rumen, une ruminite chronique cachectisante.

Cela est à nuancer, car il a aussi été observé qu'un animal très bien nourri et en bon état général pouvait supporter une grande quantité de parasites adultes dans son rumen sans aucun signe clinique alors qu'un animal plus chétif, mal nourri, allait présenter plus rapidement des troubles digestifs. Dans les élevages au niveau technique et zootechnique plus faible, l'expression de l'infestation est plus nette (Alzieu et Courouble, 2004). Dans les zones d'enzootie, le praticien sait attribuer des signes cliniques frustes, en ayant recours à des examens complémentaires tels que la coproscopie ou l'autopsie, à la paramphistomose (Dorchies et al., 2000).

Concernant les modifications biocliniques, les animaux atteints de paramphistomose chronique peuvent parfois présenter une hypergammaglobulinémie (Devev et al., 1982a - cités par Dorchies et al., 2000) à IgG (Diaz et al., 2006). Une hypoprotéinémie ainsi qu'une hypoalbuminémie sont parfois présentes. La numération de formule sanguine peut révéler

une anémie normochrome normocytaire associée à une hyperéosinophilie (Lefèvre et al., 2003). Cette anémie provient probablement des pertes sanguines dues aux multiples hémorragies causées par la fixation des parasites (Euzeby, 1975).

Plus précisément, ces anomalies sanguines ont été observées chez des bovins infestés par *C. daubneyi* et traités à l'aide d'oxyclozanide et de lévamisole. Des anomalies hématologiques telles qu'une érythrocytose, une leucocytose, une lymphocytose, transitoires et significatives (p<0,05) ainsi qu'une augmentation de l'hématocrite ont été observées uniquement chez les animaux traités dans les semaines qui ont suivi le traitement (Diaz et al., 2006).

De plus, il n'est pas rare que les signes de baisse d'appétit intermittents soient attribués à tort à des réticulites par corps étranger (Dorchies et al., 2000). L'observation de ces signes sur plusieurs sujets doit orienter le diagnostic vers, entre autres, la paramphistomose qui doit alors être recherchée par examen coproscopique (Alzieu et al., 1999). Durant cette période la coproscopie est généralement positive. Les animaux peuvent s'immunisent de manière plus ou moins efficacement contre le parasite, mais le portage asymptomatique reste relativement fréquent. (Dorchies et al., 2002b).

	Paramphistomose pré-imaginale : animaux jeunes	Paramphistomose imaginale : animaux adultes
Lésions :		
	Paroi intestinale	Rumen et réseau
Lésions	Amyotrophie avec la présence inconstante	Parasites présents en colonies dans
anatomo-	d'ascite, d'hydrothorax et d'hydropéricarde,	le rumen ou le réseau
pathologiques	d'entérite ou de gastro-entérite catarrhale Ulcères buccaux	Ruminite multifocale légère à modérée
	Muqueuse digestive congestionnée et infiltrée	Parasite fixé à la base des papilles
	avec la présence d'un piqueté hémorragique	ruminales
	Parasites immatures enchâssés dans la paroi digestive	Bouton de paramphistomose Abrasion des papilles ruminales
	Disparition du tissu adipeux mésentérique Nœuds lymphatiques régionaux réactionnels Hémorragies distales du colon au rectum	
	Vésicule biliaire hypertrophiée au contenu visqueux	
Lésions	Infiltration lymphocytaire et éosinophilique	Infiltration lymphocytaire,
histologiques	Dilatation kystique des glandes digestives	éosinophilique, œdème
	Signes cliniques :	
Forme aiguë :	Apathie, anorexie, polydipsie	
	Diarrhée profuse de couleur brun-vert à odeur	
	fétide	
	Mort brutale asymptomatique	
Forme	État général peu à très altéré et apyrétique	État général médiocre, poil piqué
chronique	Anorexie	Appétit conservé
	Amaigrissement, cachexie	Amaigrissement
	Retard ou un arrêt de la croissance	Météorisation chronique
	Diarrhée incoercible, profuse et d'odeur	Coliques
	nauséabonde de couleur brun-vert ou noirâtre	Mauvaise production laitière
	Modifications biocliniques	
Numération et	Anémie, érythrocytose	Anémie
formule	Éosinophilie	Leucocytose
sanguine		Éosinophilie
Biochimie	Hypoalbuminémie, hypocalcémie Augmentation des enzymes hépatiques	Hypergammaglobulinémie Hypohémoglobinémie

Tableau XVII : Tableau lésionnel et clinique de la paramphistomose pré-imaginale et de la paramphistomose imaginale chez les bovins. D'après les auteurs cités dans les chapitres précédents.

# V. DIAGNOSTIC ET MOYENS DE LUTTE

# V.1 METHODES DE DIAGNOSTIC

Une méthode diagnostique satisfaisante est une méthode à la fois simple et rapide à réaliser mais aussi fiable avec un coût peu élevé (Raynaud et al., 1979). Les méthodes de diagnostic concernant la paramphistomose bovine sont rares et aucune n'est totalement satisfaisante.

# V.1.1 ÉPIDEMIOLOGIQUE

D'après Lefèvre et al. (2003), la maladie concerne souvent plusieurs animaux d'un même lot qui fréquentent des zones humides d'une pâture. D'autre part, dans les régions tempérées, elle apparaît en automne et en hiver voire en fin d'été environ deux à trois semaines après des pluies abondantes. Plus synthétiquement, la paramphistomose doit être suspectée chez des jeunes animaux présentant une diarrhée incoercible de fin de printemps ou fin d'automne ou chez des animaux adultes présentant un ramollissement des fèces au cours de l'hiver (Dorchies et al., 2000).

# V.1.2 CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE

Cliniquement, le diagnostic de paramphistomose aiguë ou chronique est relativement difficile surtout pour les praticiens rarement confrontés à l'infestation (Dorchies et al., 2000). Ainsi, la suspicion clinique repose sur un ensemble de signes cliniques peu spécifiques traduisant des troubles digestifs plus ou moins graves selon le stade parasitaire incriminé.

Concernant, la paramphistomose pré-imaginale, se traduisant par un syndrome diarrhéique, la clinique ne permet d'établir qu'une liste d'hypothèses diagnostiques. D'après Euzeby (1975) et Graber et al. (1980a), l'examen macroscopique des bouses est possible et permet en théorie de mettre en évidence les formes immatures ayant l'apparence de petits grains rouge-brun, voire rose de 2 à 3 mm de long. Les fèces prélevées, à raison de 100 g par bovin, doivent être de préférence lavées sur un tamis à maille de 250 µm (Dorchies, 1989). Le matériel récupéré après filtration peut être lavé une seconde fois sur un tamis à mailles de 53 µm. Les parasites immatures sont récupérés sur ce deuxième tamis et observés à la loupe binoculaire (Horak, 1971). Cependant, ce n'est qu'en cas de très forte diarrhée que des formes immatures peuvent être observées. Cet examen donne donc le plus souvent un résultat négatif, surtout lorsqu'il s'agit d'une réinfestation (Dorchies et al., 2000). Le nombre de formes immatures est, de plus, généralement faible et variable (Butler et Yeoman, 1962 – cités par Rieu, 2004). L'autopsie associée à un raclage de la muqueuse digestive est une méthode diagnostique plus sensible.

Concernant la paramphistomose due aux formes adultes, la clinique à elle seule ne permet pas de diagnostiquer la maladie. La suspicion clinique doit être confirmée par un examen coproscopique (Dorchies, 1998). Les techniques de coproscopies seront abordées dans le chapitre suivant. Ainsi, l'observation de plusieurs bovins d'un troupeau présentant un ramollissement des fèces ou des épisodes de météorisation chronique doit mener à la suspicion de paramphistomose chronique (Dorchies et al., 2000).

Concernant le diagnostic thérapeutique, il est assez souvent utilisé par les praticiens et permet de renforcer la suspicion de paramphistomose due aux formes adultes. Les animaux traités avec de l'oxyclozanide à la posologie de 10,2 mg/kg sans stop dose ont une reprise d'état rapide (Alzieu et al., 1999). Par contre, lors de paramphistomose pré-imaginale, les signes cliniques sont réfractaires à tout traitement endectocides, nématocides, symptomatiques et anticoccidiens. L'ensemble des éléments cliniques et thérapeutiques peuvent mener à une forte suspicion de paramphistomose, mais seule l'autopsie permet un diagnostic de certitude. Du vivant de l'animal, l'examen coproscopique reste à l'heure actuelle, en France, le moyen diagnostic de la paramphistomose le plus sensible.

#### V.1.3 DIFFERENTIEL

Le diagnostic différentiel des diarrhées de fin de printemps ou de fin d'automne chez des jeunes animaux fait intervenir les strongyloses gastro-intestinales, les troubles alimentaires dus à des pâturages riches en azotes solubles (Dorchies et al., 2000). Courouble et Alzieu (2004) ajoutent à cette liste la maladie des muqueuses chez un IPI (Infecté Permanent Immunotolérant).

La paramphistomose due aux parasites adultes, chez les animaux plus âgés, doit être différenciée de la réticulo-péritonite par corps étranger, pour laquelle la météorisation perdure, de la paratuberculose (Euzeby, 1975), des strongyloses digestives pour lesquelles les traitements nématocides sont efficaces, des autres trématodoses, d'un déséquilibre de la ration, d'une sous-alimentation et des autres causes de ramollissement des bouses sans hyperthermie (Courouble et Alzieu 2004).

Concernant le ramollissement des fèces en hiver ou les diarrhées hivernales, chez des bovins adultes, le diagnostic différentiel comprend la dysentérie d'hiver (Dorchies et al., 2000). D'après Lefèvre et al. (2003), les paramphistomoses sont à différencier de la fasciolose qui donne des lésions de cachexie et d'œdème sans diarrhée, et des diarrhées d'origine infectieuse ou toxique d'évolution plus rapide.

Des examens complémentaires sont donc nécessaires pour mettre en évidence l'agent étiologique.

### V.1.4 COPROSCOPIQUE

La coproscopie est l'examen des matières fécales au microscope. Le principal objectif de la coproscopie, lors d'une suspicion de paramphistomose imaginale, est la mise en évidence d'œufs de paramphistomes. La mise en évidence de parasites immatures est théoriquement possible lors de paramphistomose pré-imaginale (Horak, 1971). La technique est présentée dans le chapitre dédié au diagnostic clinique et thérapeutique. Cependant, ce n'est qu'en cas de très forte diarrhée que la mise en évidence de paramphistomes immatures semble possible. Pour cette recherche un résultat négatif n'est pas à lui seul significatif.

Pour la recherche d'œufs de trématodes, plusieurs procédés sont utilisés pour permettre leur observation au microscope optique. Seules les différentes techniques de

mise en évidence des œufs de paramphistomes sont détaillées dans les paragraphes suivants.

#### a) Prelevements de feces

Pour obtenir un résultat fiable représentatif de la contamination au niveau d'un lot d'animaux ayant eu le même parcours au pâturage, il faut prélever plusieurs animaux individuellement et faire des analyses individuelles. Ces analyses individuelles apportent des éléments fiables sur la prévalence et l'excrétion fécale. Le prélèvement chez 5 animaux par lot homogène ou 10 - 12 animaux par troupeau permet d'évaluer l'infestation du lot ou du troupeau par les paramphistomes et de diminuer le risque de sous-évaluation de l'infestation. Enfin, le mélange de fèces et l'examen coproscopique par pool de plusieurs animaux sont à proscrire en raison du phénomène de dilution qui entraîne rapidement des faux négatifs en cas de faible prévalence (Alzieu et Dorchies, 2007).

# b) PRINCIPES DES TECHNIQUES UTILISEES

Les étapes de préparation diffèrent selon la technique utilisée. La mise en évidence des œufs de trématodes de densité importante nécessite pour les techniques de flottaison un liquide de densité supérieure à 1,30. Une ou plusieurs phases de sédimentation peuvent être utilisées pour concentrer les œufs.

La méthode de sédimentation repose sur le fait que, dans l'eau, les œufs des parasites du fait de leur masse volumique supérieure à l'eau tombent au fond du récipient. Les matières fécales prélevées sont mélangées à l'eau ordinaire et laissé reposer pendant une durée variable selon les techniques. Le culot de sédimentation d'un volume très inférieur au volume du récipient contient l'ensemble des éléments parasitaires mélangés à une partie des débris végétaux. Le surnageant est éliminé.

La méthode de flottaison consiste à faire flotter les œufs de parasites. Elle est utilisée dans plusieurs techniques qui utilisent différentes solutions de flottaison. Elle permet d'observer facilement les œufs à l'aide d'une cellule de McMaster. Seules les solutions à forte densité permettent de faire flotter les œufs de trématodes. Ils ne flottent que dans des solutions ayant une densité supérieure ou égale à 1,35.

Les deux solutions de flottaison les plus utilisées, ayant une densité suffisante sont l'iodomercurate de potassium - polluant toxique à base de mercure, dangereux pour l'environnement - et le sulfate de zinc.

Les techniques utilisant la sédimentation et la flottaison sont nombreuses et aucune n'est idéale. Ces techniques se différencient les unes des autres de par leur sensibilité. Les autres caractéristiques importantes sont la présence de débris, la déformation des œufs, la rapidité d'exécution, et l'innocuité pour l'utilisateur ainsi que pour l'environnement.

# c) <u>Techniques usuelles utilisees en France</u>

Les méthodes les plus couramment utilisées en France sont des techniques relativement simples, rapides et permettant de visualiser les œufs de différents parasites. Ces techniques sont aussi précises et sensibles avec des résultats reproductibles à partir d'un

même échantillon de fèces, et peu onéreuses. Enfin, idéalement, la technique adoptée doit être sans danger pour les manipulateurs ou l'environnement : le sulfate de zinc non polluant s'oppose ainsi à l'iodomercurate de potassium toxique pour l'environnement et caustique pour le manipulateur.

La technique décrite par Raynaud, en 1970, utilise une solution d'iodomercurate de potassium à la densité de 1,44, sans étape de sédimentation préalable. 5 g de fèces sont utilisés pour 70 ml de solution dense. L'observation se fait entre lame et lamelle ou à l'aide d'une cellule de McMaster. Les limites de cette technique sont la faible sensibilité (15 o.p.g) et le caractère polluant et toxique de la solution d'iodomercurate de potassium (Raynaud, 1970). Cette technique modifiée, avec 3 g de fèces et 42 ml de liquide dense, (Raynaud, 1971 – cité par Rieu et al., 2007) a une sensibilité de 7 o.p.g. La sensibilité et la spécificité de cette technique sont de 91,0 +/- 7,2 % et 96,9 +/- 3,05 % respectivement (Rieu, 2004).

La technique décrite par Raynaud et al., en 1979, utilise une solution non toxique de sulfate de zinc à la densité de 1,35. Les limites de cette technique sont le grand volume de sulfate de zinc utilisé (28 ml) et la faible densité obtenue de la solution de sulfate de zinc (1,35). Un échantillon de 5 g de fèces est utilisé. L'ensemble du sédiment est contenu dans 5 ml, volume conservé après élimination du surnageant. 2 ml de ce sédiment est ajouté à 28 ml de solution dense. La numération au moyen de la cellule de McMaster se fait par comptage des œufs dans le seul réseau si le nombre d'œufs est supérieur à 3 par réseau (avec un coefficient multiplicateur de 50) ou dans la chambre complète si le nombre d'œuf est inférieur à 3 par réseau (avec un coefficient multiplicateur de 15) (Raynaud et al., 1979).

La technique décrite par Courouble, en 2003, comme la technique précédente utilise deux sédimentations et la flottaison avec une solution dense de sulfate de zinc. Le comptage des œufs est réalisé avec une cellule de McMaster. Cette technique n'utilise que 4 ml d'une solution de sulfate de zinc de 1,44 de densité. La sensibilité de cette technique est de 1 o.p.g. (voir annexe 1). Cette technique a été comparée avec la technique faisant intervenir l'iodomercurate de potassium sur 504 prélèvements. La différence de sensibilité quant à la recherche d'œufs présents en grande quantité n'est pas significative. Le nombre d'o.p.g obtenu par les deux méthodes est comparable pour chaque prélèvement : la méthode utilisant le sulfate de zinc à 1,44 est fiable et reproductible. Elle regroupe les avantages d'être simple, peu onéreuse et sans danger pour le manipulateur et l'environnement (Courouble, 2003).

En Irlande, la technique de choix est celle de McCaughey et Hatch ( 1964 - cités par De Waal, 2010). Du bleu de méthylène peut être ajouté à la solution de flottaison et permet d'augmenter le contraste et de différencier plus facilement les œufs de grandes douves, de couleur jaune-brun, et les œufs de Paramphistomatidés, incolores à verdâtres.

Recette de préparation des trois principales solutions denses :					
Solution de iodomercurate de	Solution de sulfate de	Solution de sulfate de zinc (d=1,44)			
potassium (d=1,44)	zinc (d=1,35)				
Bi-iodure de mercure : 324,7 g	Sulfate de zinc	Sulfate de zinc heptahydraté : 350 g			
lodure de potassium : 240,3 g	hexahydraté : 685 g	Eau purifiée à 60°C : 1 L			
Eau : 864 ml	Eau : 685 ml	La solution doit être tenue à température			
		ambiante et remuée deux fois par jour			
		pendant une semaine			

Tableau XVIII : Composition des différentes solutions denses

## d) DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DES ŒUFS DE GRANDES DOUVES ET DE PARAMPHISTOMES

La principale difficulté est de faire la différence entre les œufs de paramphistomes et ceux de grandes douves (Dorchies et al., 2000). La confusion est toujours possible surtout si le fond d'observation est coloré du fait d'une faible luminosité ou de la qualité du mélange observé. Ce sont tous deux des œufs de forme ovoïde, de grande taille, à coque fine et operculés avec un contenu ovigère en amas irrégulier d'aspect très semblable. Cependant, les œufs des paramphistomes sont transparents à gris-vert alors que de ceux de *F. hepatica* sont jaune-brun. De plus, les œufs de paramphistomes ont, quant à eux, un pôle operculaire effilé alors que l'œuf de *Fasciola spp*. est symétrique (Dorchies et al., 2000).





Figure n°88 : Œufs de trématodes observés à l'examen coproscopique utilisant une solution de flottaison (densité 1,44). Les œufs sont déformés et les lignes internes sont des artefacts de préparation.

À gauche : œuf de paramphistome ; à droite : œuf de grande douve. Œufs retrouvés chez une génisse limousine de 2 ans au mois de janvier 2012. Photos : Bailly S.

Critère de diagnose	Œuf de paramphistome	Œuf de grande douve
Forme et symétrie	- Pôle operculaire plus effilé que le pôle opposé - Bords non parallèles	- Pôles égaux - Bords parallèles
Couleur	Incolore ou gris-vert pâle	Jaune à jaune brun
Taille	130 à 150 µm de long sur 70 à 90 µm de large	125 à 180 µm de long sur 50 à 100 µm de large

Tableau XIX : Éléments de diagnose différentielle entre les œufs de paramphistomes et les œufs de grandes douves. D'après Euzeby, 1975.

La clé de diagnose suivante permet de différencier les principaux œufs de trématodes présents en France.

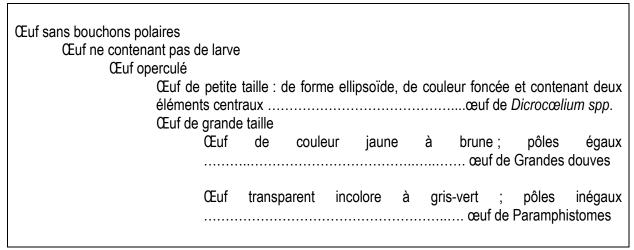


Figure n°89 : Clé de diagnose des œufs des principaux Trématodes présents en France. D'après Thienpont et al., 1979.

## e) Interpretation des resultats de coproscopie

#### Analyse qualitative

Contrairement à la grande douve, les paramphistomes adultes sont très prolifiques : ils excrètent en grand nombre d'œufs qui sont éliminés dans les fèces du bovin infesté (Dorchies et al., 2010). Ainsi, par gramme de fèces, le nombre d'œufs de paramphistome est toujours important (Levasseur et Alzieu, 1991).

Concernant le diagnostic de paramphistomose pré-imaginale, le résultat de l'examen coproscopique est généralement négatif, car les parasites immatures, adolescaria, présents chez l'animal n'ont pas acquis leur maturité sexuelle et ne pondent pas. C'est au terme de la période prépatente - de 8 à 12 semaines correspondant à une période silencieuse pour l'examen coproscopique - que les examens coproscopiques peuvent devenir positifs chez les animaux de première saison de pâture. Ainsi, pour ces jeunes animaux qui se contaminent au printemps de leur première saison de pâture, les résultats de coproscopies peuvent être positifs à partir de la fin d'été – automne et/ou du début de l'hiver qui suit (Courouble, 2003). Les examens coproscopiques donnant des résultats négatifs ne permettent pas d'exclure l'infestation par des paramphistomes. Cependant, Dorchies et al. (2000) précisent que lors d'une réinfestation chez un jeune bovin sensibilisé au parasite, l'animal présentant

une diarrhée incoercible et profuse, caractéristique de la forme larvaire de la maladie, les examens coproscopiques peuvent être positifs; les œufs proviennent des parasites devenus adultes de la primo-infestation. Les coproscopies peuvent donc être positives chez un animal présentant une paramphistomose aiguë (Dorchies et al., 2000). Il faut donc être prudent pour les coproscopies réalisées en fin d'automne ou début d'hiver et avant les 12 semaines de rentrée à l'étable. Passé les 3 mois de période prépatente, la coproscopie permet de diagnostiquer assez aisément une paramphistomose imaginale. Cet examen peut être réalisé au cabinet vétérinaire. Pour conclure, la présence d'œufs de paramphistomes atteste toujours de l'infestation de l'animal alors qu'un résultat négatif ne permet pas d'exclure l'infestation (Courouble, 2003).

#### Analyse quantitative

La cellule de McMaster permet d'observer au microscope 1 ml de solution. Son réseau permet de compter les œufs observés et de les rapporter au volume de solution utilisée et préparée à partir d'une masse de fèces donnée. Ainsi, le nombre d'œufs par gramme de fèces est calculé.

La coproscopie quantitative permet à la fois de mettre en évidence les œufs de parasites mais aussi de les compter et donc d'apprécier de manière plus ou moins fiable la charge parasitaire de l'animal ou du troupeau qui dépend alors de critères épidémiologiques de chaque parasitose. En effet, Happich et Boray (1969 - cités par Raynaud et al., 1979) ont trouvé une corrélation entre la charge parasitaire de *Fasciola hepatica* adultes et les résultats de coproscopie quantitative chez le mouton. De même, chez les brebis, Calamel et Giauffret (1976 - cités par Raynaud et al., 1979) ont établi une relation positive entre la charge parasitaire de *Dicrocœlium spp*. et les résultats coproscopiques à la condition de prendre plusieurs individus d'un même troupeau.

Cependant, des variations de ponte au cours de la journée (Horak, 1967 – cité par Horak, 1971) et des variations de ponte selon l'intensité de la charge parasitaire ont été mises en évidence chez C. microbothrium (Horak, 1971). Horak (1971) a aussi observé, chez un mouton et une chèvre, un nombre d'o.p.g. plus faible pour des populations de paramphistomes adultes plus grandes. Il a aussi observé que le nombre d'o.p.g. diminuait avec l'âge des paramphistomes chez les ovins et caprins alors qu'il restait stable chez les bovins. Concernant C. daubneyi, plusieurs publications montrent que la ponte du parasite est irrégulière et imprévisible (Alzieu et al., 1999). De même, dans leur étude, Devos et al., (2010), ont constaté de grandes variations des résultats coproscopiques quantitatifs dans le temps. Les valeurs au niveau individuel ou au niveau du troupeau ont augmenté, diminué ou stagné allant du simple ou double en l'espace de deux semaines seulement. Une grande variation du nombre d'œufs observés par coproscopie, en fonction des mois de l'année, au niveau individuel ou au niveau du troupeau, avait déjà été observée en 2000 par Szmidt-Adjidé et al. (2000). L'excrétion des œufs serait imprévisible et varierait d'un moment à l'autre (Levasseur, 2004). Ces variations de nombre d'œufs par gramme ont été observées mensuellement dans une étude portant sur 10 ans sur 12 389 prélèvements de fèces de bovins issus de fermes de Corrèze.

Cependant, ces dernières variations mensuelles d'o.p.g. ne sont pas statistiquement significatives (Mage et al., 2002). L'excrétion moyenne des œufs de paramphistomes ne serait pas si variable selon le mois de l'année.

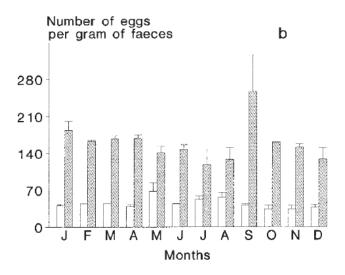


Figure n°90: Moyenne d'o.p.g. mensuelle de *F. hepatica* (pavés blancs) et de *C. daubneyi* (pavés gris), issues de bovins naturellement infestés en Corrèze entre 1990 et 1999. D'après Szmidt-Adjidé et al., 2000.

Mage et Dorchies (1998) ont précédemment montré que, malgré les variations individuelles, « les moyennes globales des lots restent stables » (Dorchies et al., 2000). Mage et Dorchies (1998) ont été les premiers à mettre en évidence une relation entre le niveau d'infestation et le nombre d'œufs excrétés. Ils ont observé, dans leur étude portant sur 45 taurillons à l'engraissement pendant 7 mois, l'existence d'une corrélation entre le nombre de parasites adultes présents dans le rumen et les résultats de coproscopie. Les conclusions ne sont pas statistiquement significatives dans cet essai, mais la tendance existe. Cette même observation a été faite par Alzieu et al. (2005 - cité par Alzieu et Dorchies, 2007) sans pouvoir obtenir de relation mathématique entre la charge parasitaire et les résultats de coproscopies quantitatives. Les conditions de cet essai ne permettent pas une validation statistique. La validation statistique de cette relation charge parasitaire/coproscopie a été obtenue, à partir d'un examen visuel des panses, dans l'étude de Rieu et al. (2007). Ainsi, lorsque l'examen coproscopique donne un résultat supérieur à 100 o.p.g, l'animal est infesté par plus de 100 paramphistomes adultes avec une sensibilité de 82,5 % et une spécificité de 90 % (Rieu et al., 2007). De même, une relation positive a été récemment mise en évidence en Espagne après un examen coproscopique et un comptage précis du nombre de formes adultes de Calicophoron daubneyi chez 600 animaux (Gonzalez-Warleta et al., 2012).

Pour évaluer le niveau d'infestation d'un troupeau et pour se soustraire des variations individuelles et périodiques, il semble donc nécessaire de réaliser des examens coproscopiques sur plusieurs animaux par lot, entre 5 et 10 par exemple (Dorchies et al., 2000).

Enfin, à l'échelle individuelle, la coproscopie quantitative est la seule technique simple et donnant un résultat rapide, qui peut être réalisée dès la suspicion clinique de paramphistomose.

#### V.1.5 IMMUNOLOGIQUE

Le diagnostic immunologique compte plusieurs techniques peu adaptées au diagnostic de la paramphistomose. Au contraire, certains tests sont disponibles pour le diagnostic de fasciolose. Les techniques étudiées pour le diagnostic de paramphistomose sont la réaction de fixation du complément, l'immunoprécipitation, l'immunofluorescence indirecte, l'hémagglutination indirecte et la technique E.L.I.S.A. (Szmidt-Adjidé et al., 1996).

## a) REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT

Cette réaction a été testée par Horak, en 1971, sur du sérum de moutons infestés ou non par *C. microbothrium*, par *Haemonchus contortus* ou *Fasciola hepatica*. Ainsi, les premiers résultats semblent permettre uniquement le diagnostic d'infestation chronique ou s'immunisation contre les paramphistomes chez les ovins. Cependant, cette méthode ne permet pas de différencier les animaux infestés des animaux immunisés et aucun essai n'a été réalisé chez les bovins (Szmidt-Adjidé et al., 1996).

## b) Hemagglutination indirecte

Cette technique a été testée pour le diagnostic de fasciolose par Levieux et al. (1992 - cités par Szmidt-Adjidé et al., 1996). Elle s'est révélée très rapide et très sensible chez le bovin avec des anticorps détectés dès la deuxième semaine post-infestation. Concernant, le diagnostic de paramphistomose aucune donnée n'est actuellement disponible (Szmidt-Adjidé et al., 1996).

#### c) IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE

En 1981, un essai étudie les réactions d'immunofluorescences à partir de sérum de moutons ayant été infestés expérimentalement avec plus de 5 000, 10 000 ou 15 000 métacercaires de *P. cervi* selon les groupes. Des anticorps spécifiques du parasite ont été détectés à partir de 2 et 3 semaines post infestation et jusqu'à 40 jours après traitement spécifique. Mais, des sérums issus d'animaux non infestés ont également donné des résultats positifs. La spécificité de cette méthode est donc faible avec de nombreux faux positifs (Alabay, 1981 - cité par Postal, 1984).

Ainsi, la sensibilité et la sensibilité de cette méthode s'avèrent être assez faibles.

#### d) <u>IMMUNO-PRECIPITATION</u>

Cette méthode a été testée avec le sérum de caprins, ovins et bovins par Horak, en 1967 (Horak, 1971). Au cours de cet essai, des précipités se sont formés à partir des sérums d'animaux infestés ou immunisés surtout en présence des formes adultes du parasite. Le sérum bovin immunisé ou infesté est celui qui donne le plus de précipités. Ce test permettrait donc de diagnostiquer les animaux infestés ou immunisés, mais ne permettrait

pas de différencier ces deux catégories d'animaux (Horak, 1971). La sensibilité semble être satisfaisante mais la spécificité, avec les nombreux faux positifs dus aux animaux immunisés, reste faible.

### e) Intradermo-reaction

Des essais de diagnostic de paramphistomose ont d'abord été réalisés chez le mouton (Katiyar et Varshney, 1963 - cités par Rieu, 2004). Ils n'ont pas donné de bons résultats avec aucune modification de l'épaisseur de la peau au lieu d'inoculation. Horak, en 1967, a aussi testé plusieurs extraits antigéniques obtenus à partir de parasites immatures, adultes et de métacercaires de *C. microbothrium* avec des résultats là aussi décevants, les réactions croisant avec l'infestation par la grande douve du foie et divers nématodes. Les travaux de Singh et al. (1983) n'ont pas donné de meilleurs résultats (Singh et al., 1983 – cités par Postal, 1984).

Ainsi, cette méthode ne permet pas à l'heure actuelle le diagnostic indirect de l'infestation par les paramphistomes chez les ruminants.

## f) <u>Technique E.L.I.S.A.</u>

Cette technique a pu être développée pour le diagnostic de la fasciolose, elle permettrait en théorie de diagnostiquer facilement l'infestation des bovins par les paramphistomes. Plusieurs équipes se sont penchées sur la réalisation d'un tel test.

Elle a d'abord été testée par Albay (1981 – cité par Rieu, 2004) : de nombreux faux positifs et de faux négatifs, comme pour la technique d'immunofluorescence indirecte, rend cette méthode diagnostique peu fiable selon ces travaux.

D'après l'essai de Joly, 1991, un diagnostic sérologique par la méthode ELISA pourrait être développé. Dans une étude menée en Saône et Loire, 107 bovins naturellement infestés ont été retenus. Une réaction ELISA sur sérum a été comparée au résultat coproscopique ante mortem. Cependant, bien que la sensibilité de cette réaction soit de 96 % la spécificité reste faible avec une valeur de 13 %. Des résultats douteux, diminueraient encore ces valeurs (Rieu, 2004). Ainsi, ce test ne peut être utilisé pour le diagnostic de la paramphistomose.

À l'INRA de Tours a été mis au point un test sérologique permettant de dépister chez l'animal la présence de formes immatures du parasite (Dorchies et al., 2000). Cependant, testé au laboratoire de l'ENVT, celui-ci n'a pas donné de résultats fiables. Il n'a donc pas été développé pour une pratique de routine pour les vétérinaires praticiens (Dorchies et al., 2010). Guillot a rencontré des difficultés comparables lors de la mise au point d'un test ELISA-antigènes (Dorchies et al., 2010).

Les travaux de Rieu (2004) visant à mettre au point un test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes de paramphistomes n'ont pas donné de résultats satisfaisants.

Diaz et al. (2006) ont mis au point un test ELISA ayant une meilleure sensibilité que la coproscopie. Pour ce test, Diaz et al. (2006) des antigènes E/S sont extraits des paramphistomes adultes vivants et récoltés à l'abattoir. La sensibilité de ce test serait de 87,2 % et sa spécificité de 89,4 %. Théoriquement, les anticorps pourraient être détectés du fait d'un titre élevé pendant toute la durée de la période prépatente (Lefèvre et al., 2003).

En effet, la présence d'anticorps pourrait être repérée dès le 8<sup>ème</sup> jour après l'infestation avec la méthode ELISA (Dorchies et al. 2010). Cette détection précoce avait notamment été mise en évidence dès 1983, dans les travaux de Boch et al. (1983 – cités par Postal, 1984).

Ainsi, aucun test immunologique n'est disponible en routine pour le diagnostic de cette infestation parasitaire. La sensibilité généralement bonne de ce test est contrecarrée par une spécificité basse.

## **V.1.6** Par la recherche des hotes intermediaires

L'identification de la présence de limnées dans les pâturages peut faire suspecter une infestation du troupeau par différents trématodes, comme les paramphistomes et la grande douve. Il est donc intéressant de savoir les dénicher. Les différentes espèces de limnées se répartissent différemment d'amont en aval de la zone humide qui peut être une empreinte de pas remplie d'eau ou une source formant une petite rigole. Les limnées tronquées se retrouvent en amont de la rigole, dans la zone où l'eau coule plus lentement (Levasseur et Alzieu, 2002). Pour les identifier, il est conseillé de les rechercher le matin, période au cours de laquelle, les mollusques sont immergés. Dans la journée, les limnées sortent de l'eau et se déplacent sur la végétation environnante avant de retourner dans l'eau pour passer la nuit (Levasseur et Alzieu, 2002).

La présence des paramphistomes sur les pâtures peut aussi être confirmée par la mise en évidence des cercaires de paramphistomes. En effet, la dissection des hôtes intermédiaires permet de mettre en évidence les cercaires des différents trématodes précités. Les cercaires de *C. daubneyi* sont noirâtres et nagent lentement contrairement aux cercaires de *F. hepatica*, de couleur claire et nageant rapidement (Mage et al., 2002).

#### V.1.7 A L'AUTOPSIE

Pour l'infestation parasitaire, le diagnostic *post mortem* est le diagnostic de certitude. Dans le cas de paramphistomose pré-imaginale, le diagnostic est relativement facile si le duodénum est examiné avec minutie.

En cas de paramphistomose aiguë, la carcasse est amaigrie, voire émaciée (Horak, 1971). Des épanchements séreux sont présents, dans le péricarde et autres cavités, et ont remplacé les tissus adipeux. Il s'agit alors d'une carcasse hydrocachectique (Devos et Zenner, 2011). De plus, les parois digestives duodénales et abomasales sont congestionnées et œdémateuses avec la présence d'un piqueté rouge et quelques lésions hémorragiques multifocales.

Généralement, les trois premiers mètres d'intestin sont concernés par ces lésions (Horak, 1971). Cependant, d'après Courouble et Alzieu (2004), la présence d'une entérite en région duodénale voire iléale, sur une carcasse maigre, ne suffit pas pour conclure à une paramphistomose. Seul le raclage du duodénum, du jéjunum ou de la caillette, permet quant à lui de mettre en évidence les formes immatures de paramphistomes, vers coniques mesurant un millimètre de large sur un millimètre de long, de couleur rouge. Ces formes immatures se montrent très actives, remuant entre lame et lamelle et se fixant par leur ventouse et peuvent être comparées à de « petits asticots » (Dorchies et al., 2002b). Elles sont généralement localisées dans les glandes du chorion profond de la muqueuse

duodénale, et parfois dans la sous-muqueuse ou simplement à la surface de la muqueuse fixées grâce à leur ventouse ventrale (Dorchies et al., 2002b).

Pour pouvoir mieux les visualiser, le produit de raclage peut être lavé et passé sur un tamis de 50 à 60  $\mu$ m de diamètre. L'observation à la loupe binoculaire de petits grains grisrose à rouge est caractéristique de l'infestation par les formes immatures (Horak, 1971).

Concernant la paramphistomose due aux formes adultes, l'examen nécrosique des pré-estomacs permet un diagnostic de certitude. L'examen direct des parasites adultes et des boutons de paramphistomose dans le rumen reste le moyen le plus fiable pour mettre en évidence l'infestation (Mage et Dorchies, 1998). Le rumen doit être vidé de son contenu et examiné avec attention surtout dans le cas de faible charge parasitaire. Dans ce cas particulier, les parasites adultes, fixés à la base des papilles, sont masqués par le contenu ruminal résiduel ou par les papilles ruminales (Horak, 1971).

L'analyse microscopique de préparations histologiques, réalisées à partir de fragments de paroi digestive lésée, permet de mettre en évidence des sections de parasites qui se distinguent de par leur cuticule éosinophile épaisse et irrégulière et par leurs deux ventouses (Dorchies et al., 2002b). Dorchies et al. (2002b) décrivent aussi une infiltration cellulaire diffuse et marquée du chorion de la muqueuse à cellules lymphohistiocytaires, à plasmocytes et à granulocytes éosinophiliques.

Cependant, la présence du parasite n'objective que l'infestation et non pas la maladie. C'est la concomitance entre des lésions digestives et générales et la présence du parasite qui permet de diagnostiquer la maladie sous sa forme aiguë ou chronique (Euzeby, 1975).

## V.2 PRONOSTIC

Concernant la paramphistomose pré-imaginale, lorsque le diagnostic est établi le pronostic est souvent sombre voire réservé au niveau d'un lot. En effet, les conséquences sont souvent graves lorsque plusieurs cas se déclarent dans un même lot de jeunes animaux en fin d'été-début automne (Euzeby, 1975). Le pronostic est d'emblée mauvais de par la difficulté du traitement de la forme larvaire de la maladie. Des mortalités et des non-valeurs économiques, pour les animaux destinés à la production de viande, sont très fréquentes, car ils restent maigres plusieurs mois même après traitement (Guilhon et Priouzeau, 1945; Levasseur et Alzieu, 1991).

Concernant la paramphistomose due aux formes adultes, le pronostic médical est bon à l'échelle de l'animal mais souvent réservé, économiquement parlant, pour un troupeau infesté. (Euzeby, 1975). La prévalence au sein du troupeau est difficile à faire baisser sans une gestion sanitaire sérieuse de cette maladie d'élevage doit être entreprise. De manière générale, il peut être considéré comme non négligeable au niveau économique (Guilhon et Priouzeau, 1945 ; Euzeby, 1975).

Néanmoins, ces observations sont à moduler en fonction du niveau d'entretien des animaux. En effet, des animaux bien nourris, en qualité et en quantité, résistent mieux à l'infestation que des animaux déjà carencés (Horak, 1971).

## V.3 MOYENS DE LUTTE

#### V.3.1 PROPHYLAXIE SANITAIRE

## **Mesures offensives:**

Le principe de ces mesures est de rompre le cycle évolutif du parasite en luttant sur une ou plusieurs étapes de ce cycle.

La lutte contre l'hôte intermédiaire a été souvent citée. De manière biologique, des prédateurs des limnées pourraient être utilisés. Cette mesure fait appel à différentes espèces de mollusques, présentes dans les zones à limnées à terrain siliceux, telles que Zonitoides nitidus, prédateur naturel des limnées, Oxychilus draparnaudi et Physa acuta, prédateur accessoire des limnées tronquées. Zonitoides nitidus est un mollusque terrestre (diamètre maximal de 6 mm) qui forme de grosses colonies aux environs des rivières sur terrains sédimentaire. Ce mollusque n'a qu'une seule génération annuelle avec une ponte en juillet. Une forte période de prédation a lieu principalement en mai et juin, à l'assèchement des gîtes à limnées, avant la période de ponte (Ximenes et al., 1993). L'utilisation des mollusques Zonitidés permettrait de détruire les limnées d'une zone humide au bout de 2 ans (Rondelaud, 1986 – cité par Velleine, 2005). L'apport des prédateurs s'effectue en juin ou juillet, le long des rigoles ou sur l'ensemble du gîte à limnées à raison de 10 mollusques par mètre ou 20 mollusques par mètre carré. La zone peut être fauchée et le produit de fauche laissé sur place afin de retenir l'humidité (Ximenes et al., 1993).



Figure n°91 : Zonitoides nitidus (coquille noire et ronde) réalisant un acte de prédation sur une Limnée (coquille allongée et pointue). D'après Ximenes et al., 1993.

Des résultats satisfaisants ont été obtenus au bout de trois ans dans une ferme en Corrèze. Cependant, leur utilisation est difficile à mettre en œuvre (Levasseur et Alzieu, 2002 d'après Rondelaud, Doublet et Mage, 1985), surtout pour des prairies très marécageuses, et nécessite un traitement chimique, et toxique pour les organismes aquatiques, préalable à l'introduction des prédateurs (Ximenes et al., 1993).

L'utilisation de molluscicides est illusoire dans les régions marécageuses et inondables (Lefèvre et al., 2003). Elle est décevante et toxique pour l'environnement notamment pour les poissons et les autres mollusques (Rondelaud et Mage, 1988 – cités par Levasseur et Alzieu, 2002).

La destruction des gîtes à limnées est aussi une option de lutte contre le parasite. Il est recommandé de remplacer les abreuvoirs débordant par un autre système d'abreuvement, de recreuser les fossés, voire de drainer les pâtures. Cependant, les drainages finissent par se boucher et perdent leur efficacité (Levasseur et Alzieu, 2002). Pour pallier ce phénomène, il est parfois intéressant de non pas drainer une pâture, mais de créer un étang, où le niveau d'eau ne sera pas propice au développement des limnées, et d'interdire l'accès aux animaux. La surface colonisée par les limnées est alors nettement réduite. Enfin, le fauchage des gîtes à limnées contenant des plantes hygrophiles permet d'assécher ces gîtes et de réduire leur superficie (Ximenes et al., 1993).

Le traitement systématique des bovins à la mise à l'herbe permet de réduire la contamination des pâtures par les œufs de paramphistomes. L'objectif est de maintenir la charge parasitaire à un niveau tolérable et cela grâce au seul moyen thérapeutique. Il est donc conseillé de réaliser au moins un traitement annuel à base d'oxyclosanide sans stop dose afin de diminuer la charge parasitaire chez les animaux (Dorchies et al., 2002a). Ce traitement doit se faire dans le meilleur des cas au cours de l'été afin de l'imiter la contamination des limnées de deuxième génération cependant ce traitement annuel peut aussi se réaliser 3 mois après la rentrée à l'étable pour des raisons de praticité pour l'éleveur (Levasseur, 2004). Si les fumiers doivent être épandus, ils peuvent être assainis s'ils sont récupérés quelques jours après traitement médical des bovins et s'ils sont ensuite enfouis au centre d'un tas de fumier en fermentation (Euzeby, 1975).

#### Mesures défensives :

Le principe est d'éviter que le cycle évolutif du parasite se réalise par des moyens zootechniques.

Il est souvent nécessaire d'interdire l'accès au biotope des limnées : interdire l'accès aux zones humides, aux rivières, mares et sources. Il est recommandé de remplacer les abreuvoirs débordant par un autre système d'abreuvement, de recreuser les fossés, voire de drainer les pâtures. Ce sont sensiblement les mêmes mesures que l'on peut prendre pour lutter contre l'infestation des bovins par les grandes douves du foie. Cependant, du fait de l'importance des gîtes à limnées, Levasseur (2004) explique que dans un élevage où chaque pâture possède un ou plusieurs gîtes à limnées la gestion de pâture ou les interventions agronomiques sont exclues. Des zones fortement occupées par des ruminants sauvages porteurs de paramphistomes ou des lieux de repos d'oiseaux sauvages, vecteurs mécaniques de limnées ou de cercaires (Fonteneau, 1979), doivent être clôturés et interdits d'accès pour les bovins.

L'introduction d'un ruminant domestique dans un troupeau doit se faire à la suite d'une quarantaine au cours de laquelle un examen coproscopique sera fait. Des traitements médicaux sont à effectuer au besoin. La quarantaine ne peut durer qu'une semaine (Euzeby, 1978 – cité par Rieu, 2004).

Enfin, une gestion raisonnée des pâtures avec rotation et programmation des circuits de pâturage permet de limiter le risque d'infestation pour un lot donné. La charge parasitaire étant importante en automne et en hiver, les pâtures à éviter à cette période sont celles qui se retrouvent inondées ou du moins les plus humides. En effet, le taux de prévalence de l'infestation par les cercaires de paramphistomes des mollusques est corrélé au niveau d'eau des zones humides. Ainsi, les bovins doivent être conduits sur les pâtures les plus humides au printemps, période à laquelle la charge parasitaire est moindre, et sur les pâtures les plus sèches à l'automne (Rolfe et al., 1991). De plus, si certaines pâtures sont réservées à certains lots d'animaux le traitement médical après examen coproscopique, peut être réalisé et ciblé lot par lot et pâture par pâture et associé à la recherche malacologique des limnées et de leurs gîtes. Dans la même il serait possible d'estimer la charge parasitaire chez les bovins à partir du taux de prévalence de l'infestation chez les limnées (Rolfe et al., 1991). Cependant, ce calcul nécessite la dissection des mollusques et n'est pas couramment réalisé.

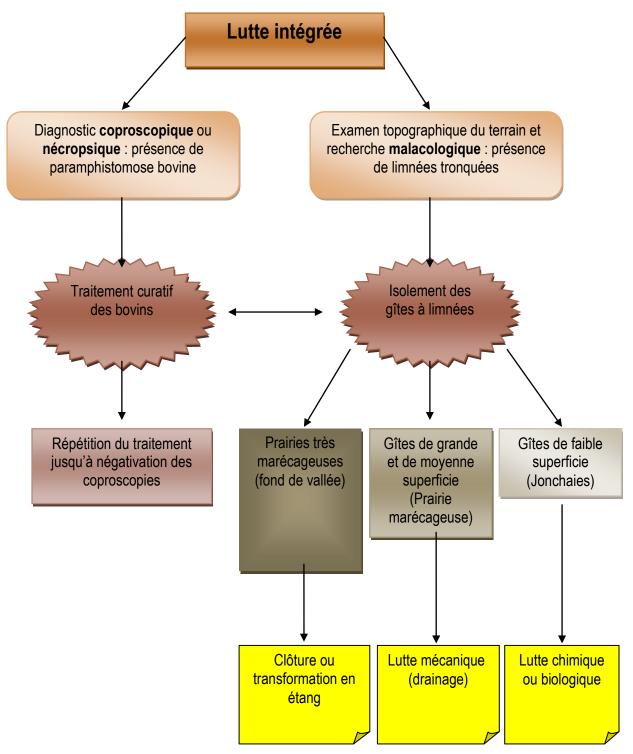


Figure n°92 : Concept de lutte intégrée contre les paramphistomes. D'après Ximenes et al., 1993 .

156

## V.3.2 PROPHYLAXIE MEDICALE

L'existence d'une immunité de prémunition permettrait aux animaux sensibilisés d'éliminer les formes immatures.

Selon Horak (1971), qui a étudié l'immunité de prémunition chez des bovins infestés expérimentalement avec des métacercaires de *C. microbothrium*, celle-ci ne serait acquise chez qu'après ingestion d'au moins 40 000 métacercaires chez des bovins adultes. Le nombre de parasites adultes ingérés expérimentalement ou présents dans le rumen n'influence pas l'acquisition de cette immunité (Horak, 1971). Cette immunité apparaîtrait dès la quatrième semaine après ingestion des métacercaires et perdurerait pendant un an au moins. L'immunité de prémunition, acquise après une première infestation, serait responsable, lors d'une infestation ultérieure, de la moindre fixation des formes immatures, du retard de migration et de leur élimination partielle (Horak, 1971).

Selon Euzeby (1975), la vaccination des bovins par ingestion de métacercaires ne procure qu'une protection incomplète contre l'infestation.

Une étude plus récente a porté sur l'analyse de la structure de l'hémoglobine de *P. epiclitum* dans l'espoir de l'utiliser pour induire une réponse vaccinale chez l'animal (Dewilde et al., 2008). Mais, aucune réponse vaccinale de bonne qualité n'a pu être obtenue.

Ainsi, à l'heure actuelle, aucune prophylaxie médicale n'est disponible pour lutter contre ce parasite.

#### V.3.3 TRAITEMENT MEDICAL - OXYCLOZANIDE

## a) PHARMACOLOGIE DE L'OXYCLOZANIDE

Par le passé, de nombreuses molécules ont été utilisées pour traiter les animaux atteints de paramphistomoses. Les traitements médicaux les plus anciens ont été abandonnés car trop toxiques ou laissant de grandes quantités de résidus dans les viandes. L'oxyclozanide, depuis 2002, est la seule molécule disposant d'une LMR (Limite Maximale de Résidus).

#### L'oxyclozanide:

Figure n°93 : Structure chimique de l'oxyclozanide

La molécule aussi dénommée 3,3',5,5',6-pentachloro-2'-hydroxysalicylanilide. Elle est excrétée sous forme de métabolite actif dans la bile.

## Mode d'action :

Son mode d'action n'est pas connu avec certitude (Meyer Jones, 1977). Cependant, comme les autres salicylanilides, l'oxyclozanide possède un proton ionisable, aussi appelé « proton ionophore » qui entraîne un « découplage » de la phosphorylation oxydative mitochondriale. (Meyer Jones, 1977).

Sous l'action de la molécule, on observe une paralysie spastique du parasite.

#### Effets secondaires:

De manière générale, une bonne tolérance générale est associée à l'utilisation de l'oxyclozanide chez les ruminants. Son indice thérapeutique est de 6 chez le bovin. Des diarrhées plus ou moins sévères apparaissent parfois, dans les 24 à 36 heures suivant le traitement, et peuvent durer jusqu'à 72 heures (Meyer Jones, 1977; Swan, 1999). De plus, des signes nerveux peuvent apparaître dès la dose de 15 mg/kg. La dose maximale tolérée est de 60 mg/kg chez les bovins (Meyer Jones, 1977).

D'autre part, Swan (1999) rapporte une possible augmentation des enzymes hépatiques sériques. D'autres effets secondaires, tels qu'une neutrophilie, une lymphopénie, des foyers de nécrose affectant le foie et les tissus lymphoïdes ont été rapportés (Swan, 1999).

Aucun effet tératogène, mutagène ou cancérigène n'est connu aux doses prévues par les spécialités commerciales. Une toxicité pour la reproduction apparaît néanmoins à partir de la dose de 25 mg/kg.

## b) Synthese des essais therapeutiques

La molécule d'oxyclozanide est la seule molécule active contre les paramphistomes adultes disponible en France. Les différents essais thérapeutiques sont insérés dans le tableau suivant.

Référence	Protocole avec la dose (mg/kg), la fréquence et l'association	Nb d'Ax	Efficacité (I.E.)	Méthode	
Sur les formes adultes					
	Oxyclozanide*: 18,7 mg/kg sans DMA	21	56,5% - 98,1 %	à l'autopsie	
Rolfe et Boray, 1987	Oxyclozanide*: 18,7 mg/kg sans DMA 2 fois à 3 jours d'intervalle	21	100 %	à l'autopsie	
	Oxyclozanide*: 10,2 mg/kg sans DMA		96,4 - 97,5 %	A la coproscopie au 14 <sup>ème</sup> jour	
Cobra et al., 1976 – cités par Rolfe et Boray, 1987	Oxyclozanide* : 15 mg/kg	?	87,5 % à 100 %	à l'autopsie et à la coproscopie	
Mage et Raynal, 1990	Oxyclozanide : 10,2 avec DMA à 300 kg	8	19,6 %	Ala coproscopie au 28 <sup>ème</sup> jours	
Aleian at al. 1000	Oxyclozanide : 10,2 avec DMA	9	76,6 % E.E : 77,5 %		
Alzieu, et al., 1999	Oxyclozanide : 10,2 sans DMA	10	87,5 % E.E.: 94 %	A la coproscopie à 10 semaines	
	Oxyclozanide : 18,7 mg/kg 2 à 3 J. d'I. sans DMA	9	97,9 % E.E. : 99,5 %		
Courouble et al. 2003	Oxyclozanide : 18,6 sans DMA	18	99,5 % Prévalence : 11 %	A la coproscopie 43 <sup>ème</sup>	
Courouble et al., 2003	Oxyclozanide : 10,2 sans DMA	18	97 Prévalence : 50 %	jour	
	Oxyclozanide : 15,3 sans DMA	20	99,6 - 99,95 % E.E. : 95 %		
Rizet, 2003 ; Courouble et al., 2004	Oxyclozanide : 10,2 sans DMA	20	98,64 - 99,93 % E.E. : 70 %	A la coproscopie au 84 <sup>ème</sup> jour	
	Oxyclozanide : 10,2 sans DMA 2 à 63 J. d'I	20	98,65 - 99,82 % E.E. : 100 %		
	Oxyclozanide : 10,2 sans DMA	17	96 %	A la coproscopie à 16 semaines	
Levasseur, 2004	Oxyclozanide : 18,7 sans DMA	15	99 %	A la coproscopie à 16 semaines	
	Oxyclozanide : 10,2 sans DMA en Novembre	11	Prévalence : 44 %	A la coproscopie à 9 semaines	
Chez la chèvre infestée expérimentalement :	Oxyclozanide : 15 sans DMA	6	95,6 %		
Paraud, et al., 2008	Oxyclozanide : 22,5 sans DMA	6	95,9 %	A l'autopsie	
	Oxyclozanide : 15,3 mg/kg pistolet sans DMA	23	98 %	A la coproscopie au 64 <sup>ème</sup>	
Courouble et al., 2011	Oxyclozanide : 15,3 mélangeuse sans DMA	30	98,5 - 99,3 %	jour	
	10,2 mg/kg sans DMA2 fois à 3 jours d'intervalle	143	48 %	A la coproscopie à la 12ème semaine	
	Oxyclozanide : 10 mg/kg sans DMA 2 fois à 3 jours d'intervalle	9	98 % E.E. : 80 %	A l'autopsie	
Devos et al., 2012	Oxyclozanide : 10 mg/kg sans DMA	8	66 % E.E. : 74 %	ATTUUIOPSIO	
	Oxyclozanide : 15 mg/kg sans DMA	16	91 % E.E. : 73 %		
	Oxyclozanide* : 10 mg/kg sans DMA	20	69 % E.E. : 62 %	A l'autopsie	
	Oxyclozanide : 10 mg/kg sans DMA	21	75 % E.E. : 42 %		

Tableau XX : Essais thérapeutiques utilisant l'oxyclozanide sur les formes adultes du parasite. Légende : \* : associé au lévamisole, Ax : animaux, I.E. : intensity effect, E.E. : extensity effect, DMA : Dose Maximale par Animal (à partir de 300 kg).

Référence	Protocole avec la dose (mg/kg), la fréquence et l'association	Méthode		
		Nb	Efficacité	
		d'Ax	(I.E.)	
Sur les formes imma	atures			
	Oxyclozanide * : 18,7 mg/kg sans DMA	5	100 %	A l'autopsie
Rolfe et Boray, 1987	2 fois à 3 jours d'intervalle	3	100 /0	ATautopale
	Oxyclozanide * : 18,7 mg/kg sans DMA	25	96,1 %	A l'autopsie
Cobra et al., 1976 –				
cités par Rolfe et	Oxyclozanide* : 15 mg/kg sans DMA	?	85 %	A l'autopsie
Boray, 1987				
Paraud et al., 2008	22.5 mg/kg chez la chèvre	6	82 % (non	A l'autopsie
. a. a.a.a at a.i., 2000	,55,5 51102 10 5110110		significatif)	

Tableau XXI : Essais thérapeutiques utilisant l'oxyclozanide sur les formes immatures du parasite.

## Dose efficace:

Tout d'abord, l'oxyclozanide est apparue comme étant la seule molécule ayant à la fois une efficacité sur les formes immatures et adultes de *C. microbothrium*, avec des doses allant de 15 mg/kg à 18,7 mg/kg renouvelée deux fois à trois jours d'intervalle (Rolfe et Boray, 1987).

Afin de déterminer la dose efficace d'oxyclozanide deux types d'examens peuvent être utilisés après le traitement des animaux : l'autopsie et l'examen coproscopique. Pour déterminer la dose efficace contre les formes immatures l'autopsie des animaux est l'examen le plus fiable. Pour déterminer la dose efficace contre les formes adultes les deux types d'examens peuvent être utilisés. L'autopsie a l'avantage de donner des résultats directs sur la charge parasitaire de l'animal mais reste onéreuse. Le suivi coproscopique, bien qu'il ne donne que des résultats indirects, permet néanmoins, sur plusieurs semaines, d'évaluer la présence ou l'absence de parasites sexuellement matures chez l'animal vivant.

Concernant la paramphistomose due aux formes immatures, les autopsies ont montré une très bonne efficacité (100%) de l'oxyclozanide à la dose de 18,7 mg/kg 2 fois à 3 jours d'intervalle, chez des bovins infestés par *C. microbothrium* (Rolfe et Boray, 1987). Pour une dose de 15 mg/kg, l'efficacité contre les formes immatures est insuffisante et n'est plus que de 85 % (Cobra et al., 1976 – cités par Rolfe et Boray, 1987).

En 2008, d'après un essai réalisé sur des chèvres infestées expérimentalement, l'oxyclozanide, à la dose de 22,5 mg/kg, n'a pas d'effet significatif sur les formes immatures des paramphistomes (Paraud et al., 2008). Ces résultats sont présentés dans le tableau suivant. Ainsi, seule la dose à 18,3 mg/kg sans DMA 2 fois à 3 jours d'intervalle semble réellement efficace.

Concernant l'infestation par les formes adultes, l'autopsie ou le suivi coproscopique ont été utilisés pour évaluer l'efficacité des protocoles thérapeutiques.

Les résultats d'autopsie ont montré une efficacité comprise entre 56,5 % et 100 % à la dose de 18,7mg/kg avec respectivement une seule et deux administrations réalisées à trois jours d'intervalle (Rolfe et Boray, 1987). Cependant, à ces doses des diarrhées parfois marquées mais transitoires apparaissent chez les animaux traités (Rolfe et Boray, 1987). A la

dose de 15 mg/kg, l'efficacité, évaluée par autopsie, est de 87,5 % selon Cobra et al. (1976 – cités par Rolfe et Boray, 1987). Au cours d'un autre essai utilisant l'autopsie pour évaluer l'efficacité du traitement, une réduction de 91 % a été obtenue à cette même dose (Devos et al., 2012). Enfin, selon Devos et al. (2012), un protocole utilisant deux traitements à trois jours d'intervalle à la dose de 10 mg/kg permet d'obtenir une réduction moyenne du nombre de paramphistomes adultes de 98 %.

Les résultats coproscopiques confirment la bonne efficacité de l'oxyclozanide dans le traitement de la paramphistomose due aux formes adultes. L'efficacité du traitement antiparasitaire, avec un suivi coproscopique, à l'échelle de l'animal, est évaluée par l'« intensity effect ». Il se calcule de la manière suivante : « intensity effect » (%) = (moyenne géométrique o.p.g. JO - moyenne géométrique o.p.g. JX) / moyenne géométrique o.p.g. J0.

A la dose de 18,7 mg/kg, l'efficacité est de 99 %, à 16 semaines, et de 99,5 % au 43 eme jour (Levasseur, 2004 ; Courouble et al., 2003). A la dose de 15,3 mg/kg, l'efficacité reste satisfaisante avec 99,9 % au 84 eme jour d'après Courouble et al. (2004). A la dose de 10,2 mg/kg sans DMA, l'efficacité varie entre 87,5 %, au 70 eme jour, et 97 %, au 43 eme jour (Alzieu et al., 1999 ; Levasseur, 2004 ; Courouble et al., 2003). A la dose de 10,2 mg/kg avec DMA, l'efficacité du traitement est faible variant entre 19,6 %, au 28 eme jour, et 76,6 %, 70 eme jour (Mage et Raynal, 1990 ; Alzieu et al., 1999). Ainsi, le respect de la DMA prévue par les AMM disponibles en France ne permet pas de traiter la paramphistomose bovine (Mage et Raynal, 1990).

Enfin, à l'échelle du troupeau, l'efficacité de la molécule pour le traitement de la paramphistomose due aux formes adultes, est évaluée par l'« extensity effect » (E.E.) qui correspond au pourcentage de réduction du nombre d'animaux infestés. Il se calcule de la manière suivante : « extensity effect » (%) = (nombre de bovins positifs à JO - nombre de bovins positifs à JX) / nombre de bovins positifs à J0. A la dose de 18,7 mg/kg, au 43 ème jour, 11,1 % des animaux restent excréteurs (Courouble et al., 2003). A la dose de 10,2 mg/kg sans DMA, au 43<sup>ème</sup> jour, 50 % des animaux traités restent excréteurs (Courouble et al., 2003). Ainsi, cette dernière dose semble insuffisante pour diminuer la prévalence de l'infestation au sein d'un troupeau. La dose intermédiaire de 15,3 mg/kg donne de bons résultats avec seulement 5 % d'animaux positifs 84 jours après le traitement (Courouble et al., 2004). Un autre essai, utilisant l'examen coproscopique, a révélé une réduction moyenne de la charge parasitaire de 48 % avec une dose de 10,2 mg/kg sans DMA réalisée 2 fois à 3 jours d'intervalle, à l'entrée à l'étable. Ainsi, « la réduction d'o.p.g., bien que significative d'un point de vu statistique, est particulièrement faible » (Devos et al., 2012) du fait vraisemblablement de la présence d'immatures échappant au traitement réalisé à l'entrée à l'étable.

Ainsi, aucune molécule n'est réellement efficace à la fois sur les formes immatures et adultes des paramphistomes aux doses indiquées par les spécialités destinées aux bovins pour le traitement de la grande douve. Vu les résultats obtenus dans différents essais et le peu d'effet secondaires rapportés, la dose efficace semble être la dose de 15 mg/kg sans DMA. Le protocole utilisant deux administrations à 3 jours d'intervalle de 10 mg/kg sans DMA semble être efficace mais d'autres essais utilisant ce protocole mériteraient d'être réalisés pour pouvoir conclure. Enfin, les doses sont très probablement différentes selon la forme parasitaire visée.

## c) AUTRES MOLECULES TESTEES

D'autres molécules ont été testés pour lutter contre la paramphistomose bovine. Plusieurs douvicides ont été testés. Le bithionol oxyde – ancienne molécule de référence pour le traitement de la paramphistomose - a une très bonne efficacité contre les formes adultes et immatures du parasite avec une dose de 40 mg/kg (Rolfe et Boray, 1987, Mage et al., 1997). Cependant, depuis 2002, cette molécule a été retirée du marché français. Le nitroxinyl (à 10 mg/kg) (Mage et Raynal, 1990), le closantel (à 10 mg/kg), le triclabendazole (à 7,5 mg/kg) (Gevrey et Bourdoiseau, 1998) et le chlorsulon (à 2 mg/kg) sont inactifs (Rolfe et Boray, 1993 – cités par Bowman, 2003). Le résorantel a aussi été testé et semble efficace à la dose de 60 mg/kg (Sey, 1989). Mais, cette molécule n'est pas disponible en France.

Certains nématodicides ont été testés. L'action de l'albendazole vis-à-vis des paramphistomes a été étudiée. Mais l'efficacité est quasiment nulle avec 9 % d'efficacité pour 10 mg/kg chez le bovin (Mage et Raynal, 1990). En Inde, chez le buffle d'eau, des essais similaires ont été menés. De même, ils ne permettent pas de conclure à une efficacité de l'albendazole pour le traitement de la paramphistomose due aux formes adultes (Mohapatra et al, 1990; Das et al, 1990). L'albendazole ne permet pas de traiter efficacement la paramphistomose (Dorchies et Tessier, 2001; Courtney et al., 1984). Le nétobimin à 15 mg/kg et le thiophanate à 6 mg/kg ne sont pas efficaces (Mage et Raynal, 1990; Rolfe et Boray, 1987). Le fenbendazole à 7,5 mg/kg et à 15 mg/kg une fois par jour pendant six jours ne permet pas de lutter efficacement contre les formes immatures ou adultes du parasite (Sey, 1989; Gevrey et Bourdoiseau, 1998). Enfin, le niclosamide – une molécule cestodicide – semble être bien actif à 160 mg/kg sur les formes immatures avec une efficacité de 91 % (Rolfe et Boray, 1987). Cependant, la molécule est quasiment inactive sur les formes adultes avec une efficacité comprise entre 0 et 27,4 % (Rolfe et Boray, 1987). Cette molécule n'est pas disponible pour une utilisation chez les ruminants.

#### d) Base reglementaires pour le traitement de la paramphistomose

Le bithionol-oxyde, ancienne molécule de référence, qui avait prouvé son efficacité (Rolfe et Boray, 1987) dans le traitement de l'infestation par les paramphistomes, a été retiré du marché en 2002, faute de données scientifiques et pharmacologiques suffisantes pour pouvoir le classer dans une des annexes du règlement des limites maximales de résidus. La seule molécule disposant actuellement d'une LMR et d'une AMM dans l'espèce bovine est l'oxyclozanide. Les différentes spécialités disponibles sur le marché français sont présentées dans le tableau suivant.

	Nom déposé	Laboratoire	АММ
	DOUVISTOME® (oxyclozanide : 34 mg/ml)	Ceva Santé Animale	Bovins et ovins : traitement de la fasciolose due au stade adulte, élimination des segments de <i>Moniezia spp.</i>
ide	ZANIL® (oxyclozanide : 34 mg/ml)	MSD	Bovins et ovins : traitement de la fasciolose due au stade adulte, élimination des segments de <i>Moniezia spp</i> .
Oxyclozanide	IMENA-L® (oxyclozanide : 30 mg/ml ; associé au lévamisole)	MSD	Bovins et ovins : strongles digestifs, strongles pulmonaires, traitement de la fasciolose due aux stades adultes, élimination des segments de <i>Moniezia spp.</i>
0	SPECTRIL® (oxyclozanide : 30 mg/ml ; associé au lévamisole)	MSD	Bovins et ovins : strongles digestifs, strongles pulmonaires, traitement de la fasciolose due au stade adulte, élimination des segments de <i>Moniezia spp</i> .

Tableau XXII : Spécialités vétérinaires disponibles en France destinés aux ruminants contenant de l'oxyclozanide. D'après le DMV, 2011.

En effet, pour les animaux producteurs de denrées destinées à la consommation humaine, deux conditions s'ajoutent à la première qui est la possession d'une AMM : deux conditions relatives aux résidus découlant du règlement 2377/90/CEE fixant les LMR. La première condition est que pour être prescrit le principe actif doit figurer sur l'une des annexes I, II ou III du règlement LMR ; la seconde est qu'un temps d'attente forfaitaire doit être fixé si le médicament est utilisé chez d'autres espèces que celle prévues par le fabricant

Substance active	LMR fixée (μg/kg)					Espèce
	Lait	Graisse	Foie	Muscle	Rein	
Oxyclozanide	10	20	500	20	100	Bovins

Tableau XXIII : Limites maximales de résidus pour l'oxyclozanide.

Actuellement, aucun médicament vétérinaire n'est enregistré avec l'indication « traitement de la paramphistomose bovine » dans son RCP (Résumé des Caractéristiques du Produit). Cette AMM existe pour une spécialité uniquement chez les ovins avec le closantel qui n'a pas montré d'efficacité chez les bovins. Or, l'oxyclozanide, molécule ayant des LMR lait et viande, utilisé dans plusieurs médicaments vétérinaires pour bovins, a montré, dans de nombreux essais, une bonne efficacité contre l'infestation par les paramphistomes adultes voire immatures selon la dose (Alzieu et al., 1999 ; Rolfe et Boray, 1987).

Bien que ces médicaments vétérinaires n'aient pas d'AMM pour le traitement de la paramphistomose bovine, la base réglementaire de la « cascade », fixée par l'article L. 5143-4 du Code de Santé Publique, permet de les utiliser contre cette parasitose. Le praticien peut avoir recours à la cascade dans les cas où l'indication est orpheline, où l'espèce à traiter est différente, et dans le cas où l'efficacité est insuffisante. La prescription hors AMM s'appuie alors sur les données scientifiques publiées dans des revues professionnelles ou réglementaires (Fresnay, 2004). A ce jour, seule l'oxyclozanide répond aux exigences de la réglementation européenne qui exige une efficacité minimale de 90 % contre le parasite donné.

Le praticien a d'autre part la liberté d'adapter la posologie selon le niveau d'efficacité désiré. Cependant, la prescription d'un médicament à une dose supérieure à la dose prévue par le RCP de la spécialité et donc de son utilisation hors schéma thérapeutique entraîne, vu l'arrêté du 16 octobre 2002, un temps d'attente forfaitaire de 7 jours pour le lait et de 28 jours pour la viande (Fresnay, 2004).

Enfin, lorsqu'un vétérinaire prescrit un médicament hors AMM, sa responsabilité civile professionnelle est automatiquement mise en jeu à la place de celle du fabricant quant aux effets indésirables et secondaires que pourrait avoir ce produit hors de son schéma thérapeutique déposé dans son RCP (Fresnay, 2004).

#### e) MODALITES ET STRATEGIES DE TRAITEMENTS

#### Démarche :

La paramphistomose avec la fasciolose et la dicrocœliose sont les seules trématodoses bovines rencontrées en France. La hiérarchisation de ces infestations est nécessaire pour lutter efficacement contre ces parasitoses (Dorchies, 2006). Une démarche de type audit d'élevage approfondi sur le sujet du parasitisme, comme celle proposée par la commission de parasitologie de la SNGTV, peut être très utile.

Cette démarche permet de lutter contre les trématodes ayant les mêmes types d'hôtes intermédiaires : la grande douve et les paramphistomes. Cette démarche passe par une visite d'élevage, des examens complémentaires de laboratoire et un bilan des options de lutte applicables dans l'élevage considéré. La visite d'élevage permet d'identifier les gîtes à limnées et les lots d'animaux contaminés. Des analyses coproscopiques et des sérologies pour le diagnostic de fasciolose doivent être réalisées par lot d'animaux. Ainsi, cela permet d'évaluer le risque de contamination de chaque lot.

Les stratégies de traitements contre la paramphistomose diffèrent selon le niveau d'infestation. Ce niveau s'évalue par coproscopie, 10 à 12 semaines après la rentrée à l'étable, sur 3 à 5 animaux par lot selon la taille des lots (Alzieu et Courouble, 2004). Avec les résultats de laboratoire et le bilan de la visite d'élevage, le praticien est en mesure de préconiser un traitement adapté pour chaque lot d'animaux et chaque pâturage.

Les méthodes agronomiques sont souvent exclues (Levasseur, 2004) car les pâturages sont souvent des zones difficilement exploitables, ou inondables et l'abreuvement avec l'eau du réseau entraînerait un surcoût très important. La seule option restant à la portée de l'éleveur est alors l'option thérapeutique.

## Mise en place du traitement médical :

Alzieu et Courouble (2004), proposent dans leur article de hiérarchiser les traitements en évaluant le risque de fasciolose et de paramphistomose. Ils conseillent aussi de traiter dans un premier temps les vaches séropositives vis-à-vis de la grande douve.

Pour les troupeaux infestés par les paramphistomes adultes plusieurs protocoles thérapeutiques ayant démontré leur efficacité peuvent être mis en place. L'ensemble de ces protocoles est présenté dans le tableau qui suit.

Date de traitement	Effet attendu	Protocole	Référence
A l'entrée et à la sortie	Diminution du nombre	Deux traitements à 10,2	Courouble et al.,
à l'étable	d'œufs excrétés	mg/kg sans DMA l'un à	2003 ; Alzieu et
	Diminution la	l'entrée à l'étable, l'autre	Courouble, 2004
	prévalence de	à la sortie à l'étable, à 12	
	l'infestation	semaines d'intervalle	
A la sortie à l'étable	Limiter la	15,3 mg/kg 3 mois après	Courouble et al.,
	contamination des	l'entrée à l'étable	2004
	pâtures		
	Contrôle de	10,2 mg/kg sans DMA 3	Levasseur, 2004,
	l'infestation	mois après l'entrée à	Alzieu et Dorchies,
		l'étable	2007

Tableau XXIV : Protocoles thérapeutiques permettant de lutter contre l'infestation par les paramphistomes

Un traitement à l'entrée ou à la sortie de la période de stabulation avec une dose de 10,2 mg/kg sans DMA permet de contrôler l'infestation mais ne permet pas de diminuer la prévalence de l'infestation au sein du troupeau et donc de lutter durablement contre le parasite (Levasseur, 2004).

Il est possible de réaliser un traitement à l'étable après 3 mois passés en stabulation. La dose préconisée est de 15,3 mm/kg pour atteindre une efficacité proche de plus de 99 % avec une réduction très significative de la charge parasitaire ainsi que du taux de prévalence (Courouble et al., 2004).

Un traitement dès la rentrée à l'étable à la dose de 10,2 mg/kg sans DMA peut être conseillé dans les cas d'infestation sévère. Ce traitement unique à l'entrée à l'étable n'élimine pas tous les parasites adultes et surtout pas les formes immatures. Un deuxième traitement, 3 mois après l'entrée à l'étable, permet d'éliminer les parasites encore présents. Ainsi, deux traitements à 12 semaines d'intervalle, à 10,2 mg/kg sans DMA, pendant la période de stabulation, sont nécessaires pour atteindre une diminution significative de l'excrétion fécale et de la prévalence. (Courouble et al., 2003 ; Alzieu et Courouble, 2004).

En conclusion, peu de moyens sont disponibles pour lutter contre la paramphistomose bovine due aux formes immatures ou adultes du parasite. La seule molécule disponible est l'oxyclozanide et permet néanmoins de réduire l'infestation au sein d'un troupeau. En cas de prévalence importante, l'ensemble des animaux devra être traité chaque année au moins trois ans de suite pour obtenir un niveau d'infestation compatible avec un élevage performant (Courouble et al., 2004). Cependant l'éradication reste difficile voire hypothétique sans mise en place de moyens de lutte agronomiques adaptés à l'élevage (Alzieu et Dorchies, 2007).

# VI. ÉPIDEMIOLOGIE DE LA PARAMPHISTOMOSE BOVINE EN FRANCE

## VI. 1 ÉPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE

#### VI.1.1 ANIMAUX ATTEINTS

Les animaux atteints sont les animaux qui rencontrent le parasite et qui permettent sa multiplication. Ces animaux, capables d'héberger le parasite et de lui permettre sont développement et sa multiplication, sont dits réceptifs. S'ils souffrent de cette infestation, exprimant des signes cliniques de la maladie ou une baisse des performances zootechniques, ils sont dits sensibles.

Les animaux de laboratoire infestés expérimentalement ne permettent pas le développement du parasite (Brumpt, 1936 - cités par Euzeby, 1975). Tout comme les animaux de laboratoire, l'homme n'est pas réceptif aux paramphistomes retrouvés chez les ruminants. En effet, les espèces de paramphistomes responsables des paramphistomoses gastroduodénales chez les ruminants décrits en Europe, ne se développent que chez des ruminants domestiques ou sauvages (Näsmark, 1937; Eduardo, 1982b et 1983; Neveu-Lemaire, 1936).

En Europe, les espèces de ruminants réceptives aux paramphistomes sont nombreuses. *C. daubneyi* a surtout été décrit chez le bovin, et chez le mouton mais sa présence chez le cerf élaphe a été observée (Sey, 1980) *P. cervi* quant à lui a été observés d'une part chez le bovin, comme en Irlande, chez le mouton et la chèvre, mais aussi chez plusieurs espèces de ruminants sauvages comme le mouflon (*Ovis musimon*), le bison (*Bison bonasus*), l'élan (*Alces alces*), le renne (*Rangifer tarandus*), le cerf (*Cervus elaphus*), le daim (*Dama dama*) et le chevreuil (*Capreolus capreolus*) (Sey, 1980).

En France, les hôtes définitifs préférentiels des paramphistomes sont aussi des ruminants tels que les bovins, ovins et caprins. Les ruminants domestiques les plus sensibles sont les ovins (Euzeby, 1975). En effet, au sein des ruminants, un facteur de réceptivité semble exister car les ovins et les caprins sont moins intensément parasités que les bovins. Cependant, une plus faible charge parasitaire entraîne des troubles plus graves chez ovins et caprins que chez les bovins. En conclusion, ces derniers seraient plus réceptifs mais moins sensibles que les ovins et les caprins (Lefèvre et al., 2003 d'après Gretillat, 1959).

Les ruminants sauvages, tels que le chevreuil et le cerf élaphe, sont considérés comme de potentiels réservoirs de paramphistomes (Neveu-Lemaire, 1936).

Les populations d'animaux atteints sont ceux qui pâturent dans des prés comportant des zones humides où se développent des populations de mollusques infestés eux-mêmes par les formes larvaires du parasite. Les animaux exclus de la population d'animaux atteints sont les veaux de lait qui n'ont pas accès aux pâtures et aux fourrages.

Selon Euzeby (1975), les ruminants élevés hors-sol pourraient être atteints par l'infestation suite à l'ingestion de fourrages contaminés. En effet, les métacercaires pourraient résister dans le foin et autres fourrages et donc infester des animaux élevés dans un système hors-sol. Des cas de paramphistomose clinique ont notamment été décrits, en

1984, en Vendée, chez des taurillons élevés en hors-sol, consommant un «ensilage d'herbe de marais » (Postal, 1984).

#### VI.1.2 REPARTITION GEOGRAPHIQUE

L'infestation des ruminants par les paramphistomes est surtout connue dans les régions tropicales asiatiques ou africaines où elles sont responsables d'affections sévères (Troncy et al., 1981 - cités par Postal, 1984). Le paramphistome *C. daubneyi* a notamment été découvert en Afrique en 1962, par Dinnik au Kenya (Dinnik, 1962); puis, observé en Europe par Vishnyakov et al., en 1971 et plus précisément en Bulgarie (Sey, 1980).

La prévalence de l'infestation en milieu tropicale a d'abord été évaluée à plus de 50 % et parfois proche de 100 %. De même, concernant les pays tempérés, la prévalence décrite dans les années 1980 est de 10 à 20 % selon les pays (Postal, 1984). Cependant, l'infestation est aussi de plus en plus commune en Europe.

Cette répartition géographique a d'abord été décrite à partir des parasites retrouvés à l'abattoir (Näsmark, 1937; Casset 1989) mais aussi par coproscopie. Elle a aussi été indirectement décrite en considérant les zones humides comme des zones potentiellement contaminées par le parasite. En effet, la carte des sols pourrait permettre d'évaluer la répartition géographique des paramphistomes en considérant que les sols humides sont des zones où le parasite est potentiellement présent (Wright et Swire, 1984 - cités par Rieu, 2004). L'étude malacologique d'une zone permet aussi indirectement de suspecter la présence des paramphistomes (Postal, 1984). La végétation - les jonchaies par exemple - peut aussi faire suspecter la présence du parasite.

Des auteurs ont même utilisé des images satellites pour identifier les zones à risques (Malone et al., 1992 - cités par Rieu 2004).

Plus récemment, des zones géographiques en Italie ont été associées à la présence de l'infestation des buffles d'eau, de manière significative avec une p-value de 0,001 (Rinaldi et al., 2009).

#### a) REPARTITION DANS LE MONDE

Selon Dorchies et al., (2010), et par extrapolation, 700 millions de bovins dans le monde seraient exposés aux risques d'infestation par les paramphistomes bien que l'impact économique soit encore inconnu. Les Paramphistomatidés sont retrouvés à travers le monde, dans les régions où l'hôte intermédiaire et l'hôte définitif sont présents. Comme le témoignent les publications parues au cours de ces dix dernières années, les paramphistomes se retrouvent en Afrique (Lotfy et al, 2010), en Amérique du Sud (Sanabria et al, 2011), en Asie (Khan et al, 2008), en Océanie (Panyarachun et al, 2010) et en Europe (Diaz et al., 2007).

Cependant, un certain nombre d'espèces, se rencontrent uniquement dans les régions tropicales (Lefèvre et al., 2003). La maladie est généralement enzootique ou épizootique (Postal, 1984).

Au contraire, les espèces retrouvées en Europe sont cosmopolites et la maladie est généralement sporadique.

## b) REPARTITION EN EUROPE

En Europe, les premiers paramphistomes ont été décrits en France, en Roumanie et en Bulgarie. Le tableau suivant présente les espèces de paramphistomes identifiés dans les différents pays européens.

Pays	Espèce identifiée	Référence
Albanie P.cervi		Moskvin, 1958*
	C. daubneyi	Erhardova, 1964* ; Kotrla et al., 1974* ; Sey, 1979
Allemagne <i>P.cervi</i> Fishoeder,1903*; Szidat, 193		Fishoeder,1903*; Szidat, 1937*; Gottschalk, 1962*; Kraneburg, 1977*; Odening et al., 1978*
	C. daubneyi	Odening et al., 1977 - cités par Sey, 1979
Angleterre	P. cervi	Kelly, 1948*; Willmott, 1950*
Autriche	P. cervi	Sey, 1980
Belgique	Paramphistomatidé	Losson, Mignon et Cassart, 1998 - cités par Rieu, 2004
Bulgarie	P. cervi	Kamburov et al., 1976*
	C. daubneyi	Kosaroff et Mihailova, 1959*; Mihailova et al., 1974*; Vishnyakov et al., 1971*; Kotrla et al., 1974*; Sey et Vishnyakov, 1976*; Vassailev et Samnaliev, 1978*
	C.	Kamburov et al., 1977*
	microbothrioiddes	
Danemark	P. cervi	Henriken et Nansen, 1976*
Espagne	P. cervi	Cordero del campillo, 1975*
	C. daubneyi	Diaz et al., 2006
Finlande	P. cervi	Sey, 1980
Grèce	C. daubneyi	Sey, 1980
Hongrie	P. cervi	Sey, 1974*
	C. daubneyi	Kotlan, 1958*; Sey, 1974*; Sey, 1979
	P. ichikawai	Sey,1974*
Irlande	P. cervi	Sey, 1980
	Parmaphistomatidé	De Wall, 2008
Italie	P. cervi	Bertolini,1908 - cités par Guilhon et Priouzeau, 1945, Bonin, 1963*
	C. daubneyi	Sey et Arru, 1977*,
	C. microbothrium	Näsmark, 1937*, Sey et Arru, 1977*
	Parmaphistomatidé	Agosti, Cavaletti et Pozza, 1980*, Ambrosi, Baiocco et Fruganti, 1982*, Scala et al., 1997 – cités par Rieu, 2004 ; Rinaldi, 2009
Norvège	P. cervi	Helle, 1973*
Pays-Bas	P. cervi	Schoon, 1947*, Willmott, 1950*
Pologne	P. cervi	Zadura et Niec, 1952*, Anczykowski et Chowaniec, 1955* ; Patyk, 1960*, Zdzitowiecki et al., 1977*
	P. ichikawai	Zdzitowiecki et al., 1977*
Portugal	P. cervi	Leitao, 1963*
	C. microbothrium	Caeiro, 1961*, Leitao, 1963*
	C. daubneyi	Arias et al., 2011
Roumanie	P. cervi	Tudor et Anton, 1968*, Sey, 1978b*
	P. gotoi	Sey, 1978a*
	C. daubneyi	Sey, 1979
	P. ichikawai	Sey, 1978*
Russie	P. cervi	Skrjabin et Schults, 1937*; Popova, 1950*; Kryukova, 1957*; Velitchko, 1966*
	P. gotoi	Stepanov, 1969*
	P. ichikwai	Velitchko, 1968*
Suède	P. cervi	Näsmark, 1937
Tchécoslovaquie	P. cervi	Chroust, 1964*; Erhardova, 1964*
,	C. daubneyi	Sey,1979
Yougoslavie	P. cervi	Babhc, 1966*; Cankovic et Batistic, 1963*
•	C. daubneyi	Vujic, 1965*; Babilic, 1966*; Lapojev et Cvetkovic, 1976 - cités par Sey, 1979

Tableau XXV : Présence des paramphistomes sur le continent européen. La présence des paramphistomes en France est traitée dans le chapitre suivant. \* : cité par Sey, 1980

Parmi les différentes espèces de paramphistomes décrites en France, la majorité d'entre elles a été retrouvée sur plusieurs continents. Le paramphistome *C. daubneyi* a été décrit en Europe pour la première fois en Bulgarie, en 1971, et en France à partir de 1980 (Graber et al, 1980a). Cependant, sa répartition géographique reste imprécise (Mage et al. 2002 d'après Sey, 1974 et Sey 1980). Son apparition en Europe aurait pour origine soit l'importation de bovins infestés par *C. daubneyi* issus du Kenya soit le transport de *G. truncatula* par des oiseaux migrateurs (Sey, 1979).

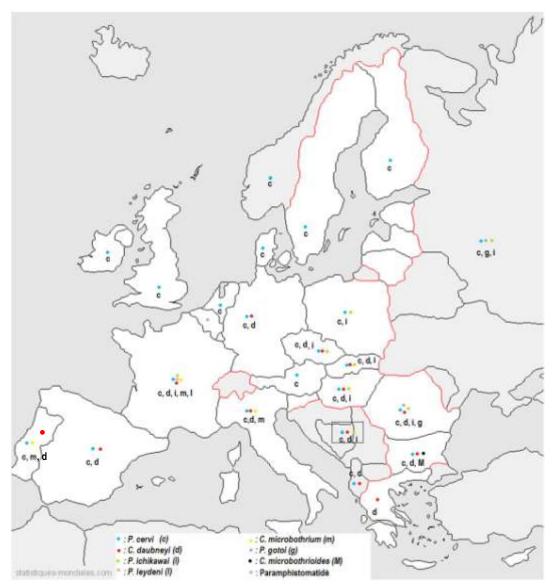


Figure n°94 : Répartition des différentes espèces de paramphistomes en Europe. Légende : c : P. cervi ; d : C. daubneyi ; g : P. gotoi ; i : P. ichikawai ; m : C. microbothrium ; M : C. microbothrioides (en Bulgarie) ; l : P. leydeni (en France). Carte réalisée d'après de Sey, 1980 et complétée avec les données issues du tableau précédent.

D'après Sey, les espèces valides et présentes sur le continent européen seraient *P. cervi, P. ichikawai, P. gotoi, P. microbothrium* (*C. microbothrium*) et *P. daubneyi* (*C. daubneyi*) (Sey, 1980). Cependant, *P. leydeni*, décrit par Eduardo (1982b) comme étant une espèce à part entière, a été décrite en France, en Loire-Atlantique et en Camargue, en 1980 (Graber

et al, 1980b). Enfin, depuis 2002, d'après certains auteurs, cette la liste des espèces européennes comprend *C. daubneyi, Paramphistomum ichikawai, Paramphistomum leydeni* (=cervi=scotiae=hiberniae) et *C. microbothrium* (Dorchies et al., 2000 ; Mage et al., 2002).

Ces espèces font rarement l'objet d'identification précise étant donné leur action pathogène commune.

#### c) REPARTITION A L'ECHELLE DE LA FRANCE

La présence des paramphistomes a d'abord été décrite en France par Daubenton en 1753 (cité par Guilhon et Priouzeau, 1945). Initialement, l'ensemble des paramphistomes trouvés en France étaient considérés comme étant *P. cervi*. Le premier cas clinique a été décrit par Moratel et Gratecos en 1938 (cité par Guilhon et Priouzeau, 1945) dont le parasite a été identifié par Sey comme étant *Paramphistomum ichikawai*. En 1979, un foyer vendéen a clairement été déclaré infesté. Le parasite mis en évidence semblait être *Paramphistomum cervi* ou *leydeni* (Fonteneau, 1979). Par la suite, ce parasite a été longtemps considéré comme essentiellement présent dans la région vendéenne.

Cependant, Graber, Chauve et Fonteneau, en 1980, ont ensuite identifié *Paramphistomum daubneyi* (*Calicophoron daubneyi*) en Maine et Loire et dans la Loire (Graber et al., 1980a). De même, *C. microbothrium* a été décrit en Corse où les bulins sont présents (Sey, 1980). *Paramphistomum leydeni* a été identifié en Loire-Atlantique et en Camargue (Dorchies, 1989), puis, par Joly, en 1991, sans qu'il puisse trancher entre *P. leydeni* et *P. cervi*.

Enfin, *C. daubneyi* a été clairement identifié, dans l'Allier, en 1989, par le service de parasitologie de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse selon les critères de Graber et al., (1980 a et b) et de Sey (1974, 1979, 1980) (Dorchies, 1989 ; Casset, 1989). En effet, d'après Dorchies (1989), l'espèce de Paramphistomatinés qui infeste préférentiellement les bovins serait *Calicophoron daubneyi* et dans une moindre mesure *Paramphistomum leydeni* (=cervi) et *Paramphistomum ichikawai*. Gevrey et Bourdoiseau (1998) précisent : « nous pouvons raisonnablement penser qu'en France, le principal paramphistome des bovins est *Paramphistomum daubneyi* avec pour hôte intermédiaire préférentiel la limnée tronquée ». Ainsi, de nos jours, l'ensemble des spécialistes considèrent que la paramphistomose bovine en France n'est due qu'à l'espèce *Calicophoron daubneyi* (*Paramphistomum daubneyi*).

Plus récemment, en 2002, une enquête de l'ADILVA (Dorchies et al., 2002a) a conclut que 33 départements français au moins étaient infestés par les paramphistomes.

Zone géographique	Date	Espèce	Référence
Non identifiée	1753	Non identifiée	Daubenton, 1753 - cités par Guilhon et
			Priouzeau, 1945
	1863	Non identifiée	Goubaux, 1863 - cités par Guilhon et
			Priouzeau, 1945
Morbihan	1845	Non identifiée	Dujardin, 1948 - cités par Guilhon et
			Priouzeau, 1945
Corse	1929	P. ichikawai	Brumpt, 1929 - cités par Guilhon et Priouzeau,
			1945 et Sey, 1980
Meuthe-et-Moselle	1938	P. ichikawai	Moratel et Gratecos, 1938
Vendée	1945	P. cervi	Guilhon et Priouzeau, 1945
Vendée	1979	P. cervi	Fonteneau, 1979
		(=leydeni)	
Corse	1980	C.	Sey, 1980
		microbothrium	
Maine et Loire et Loire	1980	P. daubneyi	Graber et al., 1980a
Camargue et Loire	1980	P. leydeni	Graber et al., 1980b
atlantique		11.0940	Grassi stan, 1888
Sarthe	1984	P. cervi	Postal, 1984
Vendée	1984	C. daubneyi	
Charolais et Loire	1989	C. daubneyi	Casset, 1989
		,	
Vendée	1991	P. cervi ou	Joly, 1991
		leydeni	
Linconto	0000	O dankar '	0-000
Limousin	2000	C. daubneyi	Szmidt-Adjidé et al., 2000
Est de la France	2004	C. daubneyi	Rieu, 2004

Tableau XXVI : Paramphistomes identifiés en France

## **VI.1.3** REPARTITION DANS LE TEMPS

Dans son enquête, à l'abattoir, en Vendée, Postal (1984) a étudié les variations mensuelles du nombre de cas de paramphistomose bovine, entre 1978 et 1982. Deux pics de prévalence ont été mis en évidence avec un pic en hiver, avec plus de dix cas en janvier 1979, et un pic en fin d'été avec cinq cas en août 1979.

Rolfe et al., en 1991, ont mis en évidence l'existence de charges parasitaires maximales au cours de deux périodes annuelles apparaissant quelques mois après des périodes très humides.

De même, Szmidt-Adjidé et al. (2000) ont évalué la prévalence de l'infestation chez les bovins abattus à l'abattoir de Limoges. Des variations mensuelles de la prévalence ont été mises en évidence avec une p-value inférieure à 0,5. De sorte que la prévalence mensuelle varie entre 8 % et 46 % selon le mois de l'année au cours de la période 1994-1995. La prévalence maximale a été calculée pour le mois de janvier 1995 avec une

prévalence de 46 %. En considérant les saisons, l'été correspond à la saison pour laquelle la prévalence est significativement plus basse que pour les autres saisons. En 1996, c'est au mois de mai que correspond la prévalence d'infestation est maximale.

En 2002, des résultats similaires, issus d'examens coproscopiques, ont été obtenus en Corrèze (Mage et al., 2002).

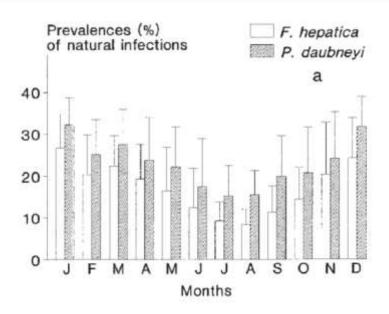


Figure n°95: Prévalence mensuelle de *F. hepatica* et de *C. daubneyi*, chez des bovins naturellement infestés en Corrèze. D'après Mage et al., 2002.

Ainsi, en France, la prévalence est basse en en période sèche et haute en hiver. D'autre part, la période de contamination par les métacercaires de paramphistomes semble être plus étendue que celle de la grande douve du foie. Les périodes à risques sont quasiment les mêmes pour les deux trématodes à la différence que celles permettant la contamination des bovins par le paramphistomes sont plus longues au printemps et à l'automne (Abrous et al., 1999a et 1999c). Cela s'explique par le fait que, contrairement aux cercaires de grandes douves, les cercaires de paramphistomes peuvent quitter l'hôte intermédiaire lorsque la température est encore basse (Abrous et al., 1999a et 1999c). Ainsi, la période de contamination des bovins par les métacercaires de paramphistomes est plus précoce au printemps et plus tardive l'automne que celle permettant la contamination des bovins par les métacercaires de grandes douves.

Les variations du climat des régions tempérées, donnent à la paramphistomose bovine un caractère saisonnier. En France, en relation avec les conditions climatiques conditionnant le développement de l'hôte intermédiaire, la paramphistomose clinique est une maladie de fin de printemps et de fin d'automne alors que la charge parasitaire semble être maximale début d'hiver et fin d'été (Postal, 1984). Cela a aussi été observé avec l'apparition de paramphistomose pré-imaginale dans la région des Monts du Lyonnais lorsque les averses sont fréquentes, c'est à dire à la fin de l'été (Mercier et al., 2008).

#### VI.1.4 PREVALENCE

#### a) Prevalence de l'infestation en France

La prévalence de l'infestation les Paramphistomatidés chez les bovins en France est en partie connue grâce aux d'enquêtes d'abattoir ou aux examens coproscopiques.

Depuis, 1945, la prévalence de l'infestation parasitaire a été décrite par plusieurs auteurs. En 1984, Postal, dans son enquête d'abattoir à Challans, en Vendée, met en évidence une prévalence de 14,5 % à partir de l'observation de 145 rumens et réseaux. En 1986, Dorchies, à partir de 1260 examens coproscopiques, met en évidence une prévalence de l'infestation de 1,03 %. Puis en 1987, il met en évidence une prévalence de 2,3 % à partir de 2 132 examens coproscopiques (Dorchies, 1989)

Puis en 1989, la prévalence de l'infestation par les paramphistome est chiffrée à 3,15 % à partir de 5714 prélèvements adressés au laboratoire de parasitologie de l'ENVT (Dorchies, 1989). Parallèlement, en 1989, Casset réalise une enquête d'abattoir dans trois abattoirs de la région charolaise. Il met en évidence une prévalence de l'infestation par les paramphistomes chez les bovins de 5,47 % à partir de 1244 rumens et réseaux examinés. En 1991, certains auteurs considèrent que les paramphistomes sont présents dans le tiers des départements français métropolitains (Levasseur et Alzieu, 1991).

En 1998, une étude coproscopique a montré que 18,1 % des 465 animaux prélevés, issus de 13 départements différents, excrétaient des œufs de paramphistomes dans leurs fèces, avec une moyenne de 226 o.p.g. (Dorchies et al., 1998). En 1999, en Corrèze, 17,4 % des échantillons adressés au laboratoire et examinés par coproscopies comportent des œufs de paramphistomes (Mage, 2001 - cités par Rieu, 2004).

Puis en 2000, Szmidt-Adjidé et al. publient les résultats d'une étude réalisée en Haute-Vienne portant sur des examens coproscopiques, réalisés entre 1994 et 1996, sur 1741 prélèvements de fèces. La prévalence des animaux infestés par les paramphistomes, évaluée mensuellement, est maximale pour janvier 1996.

En 2002, une étude réalisée en Corrèze révèle, par examens coproscopiques, que la prévalence d'animaux infestés par les paramphistomes, entre 1990 et 1999, a été respectivement de 5,2 % à 44,7 % (Mage et al., 2002).

De plus, la même année, dans une autre étude, les pré-estomacs de 2440 bovins provenant de l'est de la France ont été examinés dans l'abattoir de Mirecourt, pendant 3 semaines en octobre et novembre 2001. Le taux de prévalence obtenu est de 30 % (Loock, 2002). De même, Rieu et al. (2003) de novembre à décembre 2002 ont réalisé une enquête de prévalence dans trois abattoirs de Champagne-Ardenne sur 1419 rumens de bovins adultes. La prévalence de l'infestation par les paramphistomes des bovins abattus, obtenue est de 51 %. De manière qualitative, 56,5 % d'entre eux étaient peu infestés tandis que 19 % étaient fortement infestés.

La région charolaise est connue pour son fort taux de prévalence concernant l'infestation à *C. daubneyi*, sans pour autant que l'identification de l'espèce soit réalisée au cours de chaque étude. Dorchies et al. (2000) ont notamment estimé que le taux de prévalence de cette région était quasiment de 100 % chez les bovins adultes élevés au pâturage.

Le premier tableau présente les valeurs de prévalence obtenues en abattoirs. Le second tableau présente les valeurs de prévalence obtenues par examens coproscopiques.

Référence	Année	Bovins autopsiés	Zone géographique	Prévalence				
Par autopsie Par autopsie								
Fonteneau, 1979	1979	-	Loire-Atlantique, Vendée, Charente-Maritime et Deux- Sèvres	[50 cas sur un an]				
Postal, 1984	1984	145	Loire atlantique	14,50 %				
Casset, 1989	1989	1244	Allier	5,47 %				
Szmidt-Adjidé et al., 2000	1994-1996		Haute vienne	8 à 46 % selon le mois de l'année avec une moyenne de 20 %				
Szmidt-Adjidé et al., 1996	1996	310		22,9 %				
Loock , 2002	Octobre et Novembre 2001	2440	Est de la France - départements : 88, 54, 55, 52, 70, 67, 68, 25	30 % en moyenne 40,7 % allaitant 22,3 % laitière				
	2002	1419	Nord Est de la France	51 %				
Rieu, 2004		327	Aisne	35,7 %				
		497	Ardennes	66 %				
		502	Nord	41 %				
		Par exame	n coproscopique					
Casset , 1989	1989	92	Allier	30,43 %				
Dorchies, 1989	1989	5714	Neufs départements français	3,15 %				
Mage et Renou - cités par Laurent, 1998	1989-1997	12389	Creuse	17,4 %				
Dorchies et al., 1998	de novembre 1997 à mars 1998	465	France: 08, 29, 44, 49, 50, 53, 55, 64, 59, 69, 70, 76, 80	18,1 % avec 226 o.p.g en moyenne				
Mage et al., 2002	1990	12 389	Corrèze	5,2 %				
iviage et al., 2002	1999		0011626	44,7 %				

Tableau XXVII : Prévalence de l'infestation dans différentes régions ou départements français

En France, le taux d'infestation des bovins, d'après les données d'abattoir, variables selon les départements et les mois de l'année, serait compris entre 5 % et 51 % (Alzieu et Dorchies, 2007). Plus récemment, après le recueil de 27 000 données provenant de laboratoires d'analyse départementaux et d'abattoirs, datées de 2002 à 2011, une étude montre que la prévalence de l'infestation est plus importante au Sud de la ligne Valencienne-La Rochelle. Cependant, de nouveaux foyers d'infestation moyenne sont apparus en 2011 en Normandie et en Bretagne (Doré et al., 2012).

## b) Prevalence au sein d'un meme troupeau

Au sein du troupeau, les bovins sevrés sont les bovins le plus parasités. En effet, leur régime alimentaire et le pâturage les exposent fortement aux métacercaires. La prévalence chez les veaux élevés sous la mère est moins importante mais la maladie, sous sa forme aiguë, a une gravité bien supérieure à la forme chronique des animaux adultes. Pour les animaux adultes, les examens coproscopiques sont souvent positifs en hiver et d'après Levasseur (2004) « une prévalence instantanée supérieure à 75 % correspond à une prévalence effective de 100 % ». Le caractère cumulatif de l'infestation par les paramphistomes permet le maintien chez l'animal de l'infestation mais aussi son extension au sein du troupeau. En l'absence de traitement spécifique, d'année en année, le nombre de parasites installés ainsi que le nombre d'œufs éliminés dans les fèces augmentent (Alzieu et Dorchies, 2007). Rapidement, les animaux d'un même troupeau se contaminent indirectement les uns les autres (Levasseur, 2004). Ainsi, dans ces conditions, en quelques années, l'ensemble des animaux du troupeau est atteint.

## c) Prevalence des co-infestations C. Daubneyi/F. HEPATICA

Devos et al., 2010 ont étudié la prévalence des co-infestations *C. daubneyi/F. hepatica* dans 15 troupeaux de vaches laitières infestées par *C. daubneyi,* dans le centre Est de la France. Ils ont pu mettre en évidence de grandes variations concernant la prévalence d'animaux infestés par *Fasciola hepatica* alors qu'ils étaient tous infestés par *C. daubneyi.* La prévalence de l'infestation par la grande douve varie beaucoup malgré la proximité des élevages et les conditions climatiques et environnementales similaires. La prévalence moyenne de la fasciolose est de 26 % (IC 95 % : 14 – 43 %) avec des valeurs au sein des troupeaux allant de 0 à 100 %.

## d) Prevalence chez la limnee tronquee

Szmidt-Adjidé et al. (1994 - cités par Mage et al. 2002) donnent une prévalence d'infestation par les cercaires de paramphistomes de 4,4 % sur 2798 limnées tronquées disséquées. Abrous et al. (1999) mettent en évidence une prévalence de 9,8 % sur 2703 mollusques examinés.

Une augmentation significative (RS = 0,71 et p < 0,05) de la prévalence de l'infestation naturelle par *C. daubneyi* a été observée chez les limnées tronquées dans la région du limousin avec une augmentation de 0 % à 6,3 % entre 1989 et 1996 (Mage et al., 2002). A cela s'ajoute une augmentation statistiquement significative du nombre de rédies libres retrouvées dans les limnées entre 1990 et 2000 (Mage et al., 2002).

Les limnées tronquées du centre de la France sont donc, de nos jours, plus fréquemment infestées par *C. daubneyi* et contiennent plus de rédies libres qu'en 1990.

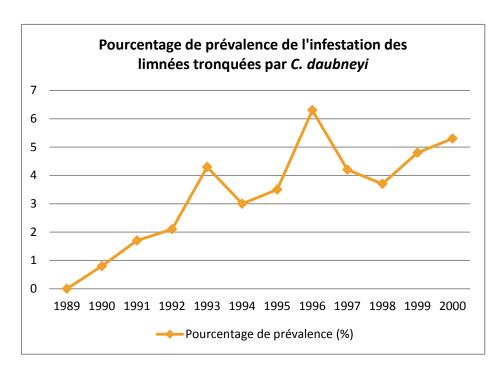


Figure n°96 : Prévalence de limnées tronquées naturellement infestées par *C. daubneyi*. D'après Mage et al., 2002.

L'augmentation de la prévalence de limnées naturellement infestées, contenant de plus nombreuses rédies libres, associée à une augmentation de la prévalence annuelle chez les bovins du centre de la France, confirme une apparente extension de la paramphistomose en France décrite par Dorchies et al. (1998).

## e) EXTENSION DE L'INFESTATION EN FRANCE

Guilhon et Priouzeau (1945) et Fonteneau (1979) sont les premiers à décrire une apparente extension de l'infestation des bovins par les paramphistomes. Cette extension a aussi été décrite par Casset en 1989. De même, à partir des travaux de Dorchies (1989) et de Dorchies et al. (1998), l'infestation par Calicophoron daubneyi semble être en extension en En 1989, la prévalence de l'infestation chez les bovins, établie à partir de 2322 examens coproscopiques, était de 5,1 % (Dorchies, 1989). Les 18 départements reconnus infestés en 1989 sont l'Aude, l'Ariège, l'Allier, le Cantal, la Corrèze, la Loire, la Côte-d'Or, la Saône et Loire, la Haute-Garonne, l'Haute-Saône, la Meurthe-et-Moselle, le Morbihan, la Loire-Atlantique, la Vendée, le Maine-et-Loire, le Tarn, les Bouches-du-Rhône et les Vosges. Mais en 1998, à partir de 465 examens coproscopiques concernant 13 départements, la prévalence d'animaux infestés est passée à 18,1 %. En comparant ces résultats avec la carte de 1989, 6 nouveaux départements sont déclarés infestés par les paramphistomes ; il s'agit de la Manche, les Pyrénées-Atlantiques, la Mayenne, le Rhône, la Meuse et la Seine-Maritime. Puis, entre 2000 et 2005, 37 départements supplémentaires ont été reconnus comme infestés par les paramphistomes. Les départements reconnus infestés sont présentés dans la figure suivante. Ainsi, l'infestation par les paramphistomes semble s'être étendue en France au cours des trente dernières années.

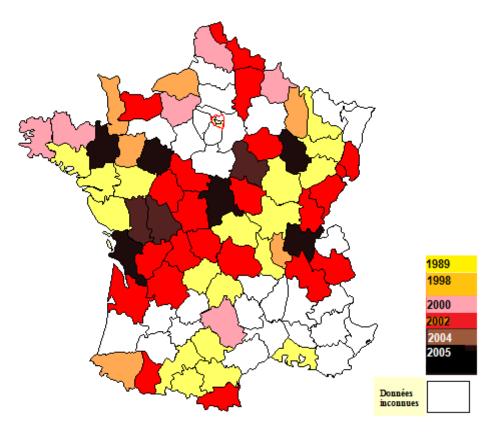


Figure n°97 : Départements reconnus infestés entre 1989 et 2005. D'après Dorchies et al., 2002 et Ceva Santé Animale.

Mage et al. (2002) dans leur étude réalisée sur 12 ans, dans le cadre du suivi de la paramphistomose et de la fasciolose dans la région du limousin, ont évalué la prévalence de la paramphistomose à partir de 12 389 coproscopies provenant de fermes de Corrèze, entre 1990 et 1999. Une augmentation significative (RS = 0.84 et p < 0.01) de la prévalence de l'infestation par les paramphistomes, chez des bovins naturellement infestés, a été mise en évidence avec une variation allant de 5.2 %, en 1990, à 44.7 %, en 1999.

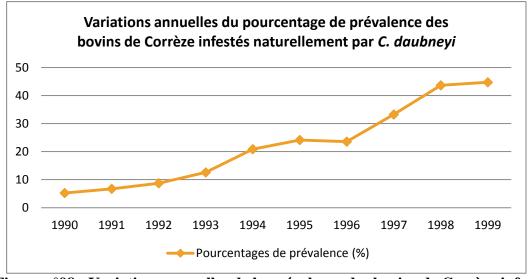


Figure n°98 : Variations annuelles de la prévalence des bovins de Corrèze infestés naturellement par *C. daubneyi*. D'après Mage et al., 2002.

De plus, les mouvements d'animaux à travers la France étant importants de nos jours, il est possible que le parasite soit présent sur l'ensemble de la France métropolitaine (Alzieu et Dorchies, 2007). Cette extension a aussi été observée plus récemment, en réalisant les cartes de prévalences de 2010 et 2011, réalisées avec un total de 27 000 données (Doré et al., 2012).

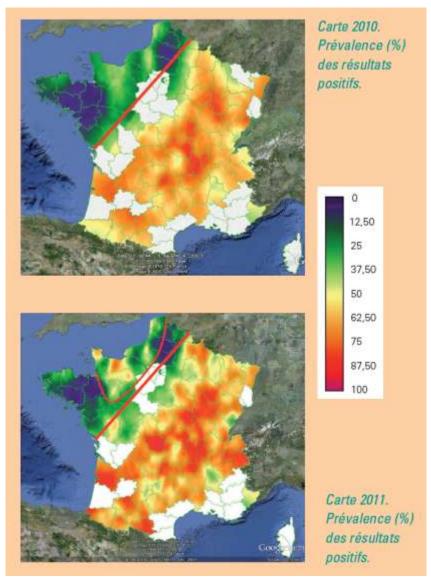


Figure n°99 : Prévalence de l'infestation des bovins par les paramphistomes, en France, en 2010 et en 2011. D'après Doré et al., 2012.

Plusieurs hypothèses ont été énoncées pour expliquer l'extension apparente de l'infestation chez les bovins en France. L'extensification de l'élevage avec une augmentation de l'importance du pâturage sur des prairies naturelles, l'allongement de la saison de pâturage avec une rentrée tardive en stabulation, l'augmentation de la taille des troupeaux et le radoucissement climatique permettrait un meilleur développement d'un plus grand nombre de cercaires chez l'hôte intermédiaire, (Alzieu et Courouble, 2004), la survie des métacercaires plus importante dans le milieu extérieur et une plus forte infestation des animaux. Une autre hypothèse est l'intensification de l'utilisation des fasciolicides modernes (triclabendazole) uniquement efficaces sur les grandes douves, associée à un abandon des

anciennes molécules ayant une activité sur ce parasite (bithionol-oxyde, aujourd'hui interdit en France faute de LMR, et oxyclozanide). Cela a pour conséquence la libération des niches écologiques avec des gastéropodes moins infestés par *Fasciola hepatica* (Gevrey et Bourdoiseau, 1998; Dorchies et al., 2002a).

D'autre part, Mage et al. en 2002, ont montré une augmentation de la prévalence de l'infestation par C. daubneyi à la fois chez les bovins et chez les limnées tronquées. Ceci confirme une extension de la paramphistomose en France. Ces augmentations de prévalences pourraient être entre autres un meilleur diagnostic des œufs de C. daubneyi en laboratoire. Dorchies et al. (2000) ajoutent comme autre hypothèse, la diffusion de la race charolaise et limousine. D'autres auteurs citent aussi l'aspect cumulatif du parasite.

#### **VI.1.5** TAUX DE MORTALITE

Le taux de mortalité concernant la paramphistomose en France n'est pas connu avec précision. Le polyparasitisme est souvent présent chez les animaux atteint de paramphistomose et la mortalité est attribuée à l'ensemble des parasites présents.

Cependant, quelques chiffres ont été publiés concernant des paramphistomoses tropicales. Ainsi, un taux de mortalité de 38 % a été décrit en Inde par Nath en 1971 pour l'infestation à *Cotylophoron cotylophorum*. Des taux bien supérieurs ont été publiés pour différentes espèces de Paramphistomatidés dans des régions tropicales (Euzeby, 1975).

#### VI.1.6 IMPORTANCE ECONOMIQUE

D'importantes pertes économiques en lien avec l'infestation par les paramphistomes ont souvent été suspectées (Horak, 1971). Cependant, elles sont difficiles à évaluer et n'ont pas fait l'objet de beaucoup d'études. Seule l'étude de Denev et al. (1982 - cités par Dorchies et al. 2010), donne un impact économique chiffré de l'infestation par les paramphistomes. Dans cette étude, une perte de poids pouvant aller jusqu'à 25 % a été observée chez des veaux de 6 mois infestés expérimentalement avec 96000 cercaires de *C. daubneyi*.

De plus, les espèces européennes de paramphistomes sont chymivores à l'état adulte et non hématophages comme le sont les espèces d'Asie, d'Australie ou d'Afrique notamment (Guilhon et Priouzeau, 1945). Les conséquences cliniques et économiques sont donc moins importante en Europe.

Ainsi, contrairement aux régions tropicales, où les pertes économiques dues à la mort des jeunes animaux atteints de paramphistomose pré-imaginale est importante, avec un taux de mortalité allant jusqu'à 90 % de (Olsen, 1949 - cités par Euzeby, 1975 ; Khan et al., 2008), dans les régions tempérées ces pertes sont plutôt rares et principalement dues à la forme immature du parasite. L'infestation se traduit généralement par une baisse des performances zootechniques et certains animaux peuvent rapidement devenir des nonvaleurs économiques (Dorchies et al., 2002b).

En effet, c'est la forme aiguë de la maladie qui a l'impact économique le plus spectaculaire avec des cas de mortalité et une baisse de gain moyen quotidien (GMQ) (Dorchies et al., 2002b). Un manque à gagner a néanmoins été mis en évidence par Mage et al., en 1997. Un retard de croissance moyen de 11,6 kg a été observé chez des génisses limousines âgées entre 23 et 26 mois dans un lot témoin par rapport à un lot ayant reçu un

traitement au bithionol-oxyde. Cependant, les animaux souffrant cliniquement de paramphistomoses sont généralement polyparasités. Les préjudices uniquement dus à l'infestation par les paramphistomes sont donc fortement liés à ceux causés par les autres parasites. Une des rares évaluations de l'impact économique du à l'infestation par les paramphistomes, celle de Diaz et al. (2006), n'a pas donné de conclusion ni de chiffres permettant de convaincre les spécialistes (Dorchies et al., 2010). Seule l'étude des résultats zootechniques d'animaux parasités expérimentalement, élevés en hors sol et exempts de tout autre parasite permettrait de caractériser l'importance économique de l'infestation à *C. daubneyi*.

Spence et al. (1996), en Australie, ont montré une augmentation de la production de lait chez les animaux traités avec des molécules larges spectres à la fois nématocides et douvicides. En effet, avec un traitement avec l'oxfendazole (4,5 mg/kg) et de l'oxyclozanide (16,6 mg/kg), il y a une amélioration de la production laitière, de l'ordre de 0,4 litre de lait par vache et par jour. Cependant, il n'y a pas de différence entre le lot traité à l'oxyclozanide et le lot témoin (Spence et al., 1996). Dans cette étude c'est le polyparasitisme et non l'infestation par les paramphistomes uniquement qui semble responsable d'une moindre production laitière.

La paramphistomose chez les bovins adultes n'est pas toujours diagnostiquée. Les pertes économiques associées sont donc probablement sous-estimées. Or, l'infestation par le paramphistome comme toute infestation parasitaire entraîne probablement une baisse des performances zootechniques et une dégradation de l'état sanitaire du troupeau due à l'immunomodulation obtenue par les mécanismes d'échappement du parasite.

Murphy et al. (2008 - cités par Devos et al., 2010) ont mis en évidence une amélioration de l'état de santé du troupeau après traitement spécifique des paramphistomes.

La perte de production due aux paramphistomes reste à être expérimentalement démontrée.

# VI. 2 ÉPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE

## VI.2.1 Sources de l'infestation

Les sources de parasites peuvent des sources directes ou indirectes. Les sources directes de parasites entraînent la contamination du bovin; il s'agit des végétaux contaminés par des métacercaires présentes au pâturage, dans les fourrages secs (Euzeby 1975) ou dans l'ensilage d'herbe des marais (Postal, 1984). Les végétaux fortement contaminés par les métacercaires de paramphistomes sont ceux présents dans les zones humides surtout lors de sécheresse (Horak, 1971). Les sources indirectes sont les ruminants infestés par les stades adultes produisant des œufs en grands nombres qui contaminent les pâtures (Dorchies, 1998). Ces ruminants peuvent être sauvages ou domestiques.

#### **VI.2.2** RESISTANCE DU PARASITE ET RESERVOIRS

Les œufs rejetés dans l'environnement sont des éléments de résistance : ils peuvent résister plusieurs mois dans le milieu extérieur si les températures ne sont pas trop basses.

Les stades larvaires, à l'intérieur de l'hôte intermédiaire, peuvent résister tout le long de la vie de cet hôte (Euzeby, 1975). De plus, lors de conditions climatiques défavorables, comme un climat trop froid ou de sécheresse, les mollusques peuvent hiverner ou estiver et retrouver une activité normale dès que le climat se radoucit (Euzeby, 1975). Cependant, Sey, en 1979, a pu observer une forte mortalité des mollusques fortement infestés par les stades larvaires des paramphistomes : jusqu'à 75 % des limnées tronquées sont mortes 100 jours après l'infestation. Ainsi, une trop forte infestation chez le mollusque entraîne sa mort prématurée (Sey, 1979).

Les métacercaires sont aussi des éléments de résistance. Dans des conditions favorables de température et d'humidité, les métacercaires de *C. daubneyi* survivent plusieurs mois : 16 à 18 % restent viables après 5 mois à une température comprise entre 4 et 20°C. (Sey 1979). La survie attendrait ainsi 6 mois (Alzieu et Dorchies, 2007). Cependant, à des températures plus basses les métacercaires ne survivraient que quelques semaines. En effet, à 6°C les métacercaires survivent environ 6 semaines (Postal, 1984). Dans les fourrages secs, la survie des métacercaires de paramphistomes n'a pas encore été précisément étudiée alors qu'elle est d'environ un mois pour les métacercaires de *Fasciola hepatica*.

Les parasites adultes eux-mêmes auraient une longévité importante et constituerait des formes de résistance. La longévité de *C. microbothrium* a été évaluée à 7 ans environ par Dinnik et al. (1962). Celle de *C. daubneyi* atteindrait 5 ans (Alzieu et Dorchies, 2007). Cependant, un phénomène de self-cure semble être possible chez le bovin et réduirait fortement la durée de vie du parasite adulte (Euzeby, 1975 d'après Dinnik et al., 1954).

Les réservoirs de ces parasites sont les pâtures contaminées, les mollusques hôtes intermédiaires qui permettent la multiplication des stades larvaires et les ruminants domestiques ou sauvages infestés.

### VI.2.3 MODE D'INFESTATION ET DOSE INFESTANTE

L'infestation est directe et se fait par ingestion de végétaux contenant des métacercaires viables. Plus généralement, le pâturage dans des zones contaminées ou la distribution de fourrages contaminés peut entraîner l'infestation des bovins (Euzeby 1975). Il est à noter que les mollusques hôtes intermédiaires peuvent étendre leur territoire et donc contaminer, en rejetant des cercaires, une plus grande zone de pâture à la faveur de crues et d'inondations (Euzeby, 1975). Ce phénomène est d'autant plus important que *Galba truncatula*, de par son caractère amphibien et non pas aquatique, s'étend facilement aux zones humides ne comportant pas obligatoirement de l'eau en nature mais simplement des zones boueuses. Ainsi, la végétation, contaminée par des métacercaires, issue des zones humides ou inondables, sur pied ou récolté, ensilée ou séchée est la principale source de contamination des bovins.

Concernant la dose infestante, elle n'est pas connue chez les bovins. Quelques dizaines de métacercaires pourraient suffire pour infester l'animal. De plus, l'expression de signes cliniques n'a pas été reliée à une dose infestante précise chez le bovin même si

l'ingestion de 40 000 métacercaires semble déjà pouvoir déclencher facilement la maladie (Horak, 1971). La dose létale chez les bovins pourrait être l'ingestion de 160 000 métacercaires (Horak, 1971).

Chez le mouton, une dose mortelle a été évaluée à 5 000 métacercaires ingérées (Euzeby, 1975). Cependant, les ovins étant bien plus sensibles que les bovins cette dose ne leur est pas directement transposable.

### VI.2.4 FACTEURS DE RISQUES

Les facteurs de risques sont l'ensemble des éléments qui favorisent la réalisation du cycle évolutif du parasite et donc l'infestation des bovins. Peu d'études ont porté sur l'identification des facteurs de risques liés à la paramphistomose. Les facteurs cités ci-après ne sont que des hypothèses qui ont pu être émises lors d'études de prévalence. La validité de ces différents facteurs reste à être démontrée.

### a) CONDUITE D'ELEVAGE ET PATURAGE

En raison de la volonté de diminuer les coûts de production, les bovins sont de plus en plus longtemps laissés au pâturage. Il s'agit donc de l'extensification de l'élevage, avec une rentrée à l'étable le plus tardivement possible, qui a pour conséquence d'augmenter la période au pâturage et donc d'augmenter les risques d'infestation des animaux. Ce schéma se retrouve autant en élevage laitier qu'en allaitant (Dorchies et al., 2000) même si la ration des laitière est fortement complétée avec des concentrés et des fourrages récoltés distribués quotidiennement.

La réduction des coûts de production a aussi eu pour conséquence la réduction de la main-d'œuvre au sein des élevages. Ainsi, les traitements antiparasitaires demandant plus de main-d'œuvre, ils se résument souvent à la réalisation d'un traitement unique par an et pas toujours réalisé à la période la plus judicieuse (Levasseur, 2004).

La conduite d'élevage comprend aussi la gestion des pâtures, leur rotation et leur aménagement. Les éléments qui augmentent le risque d'infestation des animaux est un chargement d'animaux trop important à l'hectare sur une durée trop longue, des parcelles de pâture possédant des gîtes à limnées.

D'autre part, concernant l'expression clinique de la maladie et comme nous l'avons vu dans le chapitre dédié à la symptomatologie de la paramphistomose, les animaux bien nourris expriment moins fréquemment la maladie que des animaux en mauvais état général. Ainsi, l'équilibre, le critère qualitatif et quantitatif de la ration distribuée aux animaux sont des éléments qui conditionnent les risques d'expression de la maladie (Horak, 1971 ; Alzieu et Courouble, 2004).

Enfin, l'élevage de bovins et de chèvres sur les mêmes pâtures semble pouvoir diminuer la charge parasitaire de l'ensemble des parasites chez la chèvre. Le pâturage mixte avec un phénomène de dilution et un moindre chargement à l'hectare diminuerait la charge parasitaire – des nématodes surtout - des caprins pâturant avec des bovins (Doumenc, 2003). Cependant, dans son étude, Doumenc (2003) a aussi mis en évidence une forte prévalence (60 %) de l'infestation par *C. daubneyi* chez des chèvres de Saône et Loire. De

plus, l'effet précis du pâturage mixte concernant l'infestation par les paramphistomes chez les caprins et les bovins n'a pas été clairement évaluée.

Ainsi, la conduite d'élevage et le rôle de l'éleveur sont des éléments cruciaux pour la gestion des risques et la lutte contre la paramphistomose.

#### b) CONDITIONS CLIMATIQUES

Les œufs rejetés dans le milieu extérieur donnent les formes infestantes dès que les conditions climatiques le permettent. Ainsi, en France, avec des températures plus douces et des pluies régulières, le printemps (avril - mai) et l'automne (octobre à la rentrée à l'étable) sont deux périodes propices au développement des hôtes intermédiaires et à l'accroissement du territoire qu'ils colonisent (Diaz et al., 2007). Ainsi, au cours de ces périodes un plus grand nombre de mollusques sont présents sur une surface plus étendue ce qui favorise l'infestation des bovins au pâturage (Dorchies et al., 2002a; Abrous et al., 1999c). La période à risque est d'autant plus grande que les cercaires sont émises à des températures relativement froides d'une dizaine de degrés Celsius (Laurent, 1998).

De plus, outre ces deux périodes à forte pluviométrie, les sécheresses sont aussi des périodes à forts risques d'infestation. Cela a tout d'abord été évoqué par Guilhon et Priouzeau en 1945. Puis, cette observation a également été faite en Hongrie par Boray, en 1959 (Horak, 1971 d'après Boray, 1959). En effet, les bovins se rassemblent dans les zones humides ou autour des points d'eau où les animaux s'abreuvent et trouvent le reste d'herbe tendre. Ces zones deviennent rapidement fortement contaminées par un très grand nombre de métacercaires et donc très propices à l'infestation des bovins.

La basse altitude semble aussi être un facteur de risque. Les bovins pâturant à moins de 600 m d'altitude sont plus fréquemment parasités (Diaz et al., 2007).

### c) RACE ET TYPE DE PRODUCTION

Une étude, réalisée en 1998, sur 465 animaux issus de 93 exploitations, a montré que 39 % des charolais et croisés étaient parasités contre 2 % des Prim'holstein. Ainsi, d'après ces résultats, il semblerait que les races allaitantes soient plus infestées que les races laitières (Dorchies et al., 1998). Cette observation a aussi été faite à l'abattoir de Mirecourt(88) au cours d'une enquête portant sur 2440 panses examinées individuellement. Il a été mis en évidence une plus forte prévalence pour les animaux de type viande, avec 40,7 % d'animaux atteints, que chez les vaches laitières, avec 22,3 % d'animaux atteints (Loock, 2001). Une tendance, uniquement, allant dans le même sens, a été observée par Rieu, en 2002. Par type, Les animaux infestés étaient à 42 % des animaux de races laitière (905 animaux observés) et à 55,4 % des animaux de race à viande (519 animaux observés) (Rieu, 2004).

Au contraire, dans une autre étude, la race des bovins n'a pas été associée à une différence significative de prévalence (23 % +/ - 10 % pour les femelles limousines de plus de 2 ans, et 37 % +/ - 15 % pour les femelles frisonnes de plus de 2 ans.) (Szmidt-Adjidé et al., 2000). L'enquête de l'ADILVA (2000) confirme cette conclusion (Dorchies et al., 2002a). Enfin, une étude récente portant sur la prévalence de la paramphistomose en Espagne, réalisée dans un abattoir espagnol, n'a pas révélé de différence statistiquement recevable de

prévalence selon le type de bovin (Gonzalez-Warleta et al., 2012). Par conséquent, il est jusqu'à présent communément admis qu'aucune race ou type de production n'a été identifiée comme étant prédisposée à l'infestation par l'infestation.

### d) ÂGE

Dans son étude portant sur 465 examens coproscopiques, Dorchies en 1998, révèle que, parmi les bovins adultes examinés, les animaux infestés sont significativement plus jeunes que les animaux non infestés (Dorchies et al., 1998). Au contraire, par la suite, l'âge des bovins n'a pas été associé à une différence significative de prévalence (19 % +/– 37 % pour les frisonnes de moins de 2 ans et 37 % +/- 15 % pour les frisonnes de moins de 2 ans) (Szmidt-Adjidé et al., 2000).

### **e**) **SEXE**

Au contraire, le sexe des bovins a été associé à une différence significative de prévalence. Une étude montre que les femelles sont plus fréquemment infestées que les mâles (Odds-ratio OR : 2,17, intervalle de confiance à 95 % : 1,20 – 4 et p < 0,01.) avec 37 % (+/- 12 %) de femelles blondes d'Aquitaine infestées pour 10 % (+/- 10 %) de mâles infestés (Smitz-Adjidé et al., 2000). Des résultats similaires ont été recueillis par Kang et Kim (1988 – cités par Smitz--Adjidé et al., 2000) avec 68 % des femelles infestées pour 49 % de mâles infestés et par Asanji (1989 - cité par Smitz-Adjidé et al., 2000). La prédisposition apparente des femelles pourrait s'expliquer par le fait que mâles sont gardés dans les bâtiments plus longtemps que les femelles non engraissées et que femelles sont souvent des animaux de réforme alors que les mâles sont élevés et gardés en bonne santé pour la production de viande.

#### f) AUTRE TREMATODOSE

La prévalence de *F. hepatica* et celle de *C. daubneyi* sont corrélées (OR : 2,15, intervalle de confiance à 95 % : 1,44 - 3,20 et p =0,003) (Smitz-Adjidé et al., 2000). La principale hypothèse pour comprendre cette corrélation est que les parasites utilisent le même hôte intermédiaire dans même biotope sans réelle concurrence pour l'hôte intermédiaire. C'est le pâturage dans les zones à limnées qui constitue ici le principal facteur de risque.

### g) FACTEURS INDIVIDUELS

Aucun facteur individuel n'a pu être mis en évidence (Alzieu et Dorchies, 2007). Malgré des conditions d'élevage similaires des troupeaux s'avèrent plus touchés que d'autres (Dorchies et al., 2002a). Les observations ont révélé que certains animaux étaient plus ou moins réceptifs et sensibles à l'infestation au sein d'un même troupeau.

#### h) TRAITEMENTS ANTIPARASITAIRES ET SOUS-DIAGNOSTIC

Les fasciolicides stricts et endectocides ont réellement remplacé l'association lévamisole-bithionol depuis une quinzaine d'années. La pression des antiparasitaires sur les paramphistomes aurait ainsi cessé (Alzieu et Dorchies, 2007). Les paramphistomes seraient « protégés » (Dorchies et al., 2000). Cela est surtout vraisemblable dans les élevages allaitants qui utilisent des molécules douvicides strictes alors que les élevages laitiers n'ont que pour seule molécule douvicide, avec un temps d'attente nul pour le lait, l'oxyclozanide (Alzieu et Dorchies, 2007 d'après Alzieu et al., 1999 ; Levasseur et Alzieu, 2002 ; Courouble et al., 2003).

Le diagnostic sérologique de la fasciolose dans le lait a diminué le nombre de coproscopies réalisées alors que cet examen permet une évaluation pertinente du polyparasitisme (Dorchies et al., 2000). Ainsi, la paramphistomose bovine en France bénéficie d'une « fenêtre thérapeutique », et d'un sous-diagnostic.

Le risque d'infestation peut donc être apprécié indirectement par l'ensemble de ces facteurs. De plus, les cartes de répartition de la prévalence en France, réalisées par Doré, et al. (2012) permettent aux praticiens et aux éleveurs d'estimer le risque d'infestation par les paramphistomes en fonction de leur zone géographique.

### VI. 3 ÉPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE

En France, comme dans d'autres régions tempérées, le climat conditionne le développement de l'hôte intermédiaire des paramphistomes et donc le cycle évolutif de ce dernier. Les variations saisonnières du climat sont responsables de développement d'une, ou de deux générations de mollusques et donnent un caractère saisonnier à l'infestation et à la maladie due aux paramphistomes pré-imaginaux et imaginaux.

A la mise à l'herbe, au début du printemps, les bovins peuvent s'infester en ingérant les végétaux contenant des métacercaires issues de cercaires libérées au début du printemps par les limnées ayant hiverné et ayant retrouvé une activité normale. Une température de 10 °C minimale est nécessaire. Ainsi, les jeunes animaux se contaminent la première fois au début du printemps et peuvent exprimer la maladie en été. D'autre part, les animaux sensibilisés peuvent exprimer une paramphistomose aiguë au cours du printemps.

D'autre part, certains animaux atteints de paramphistomose due aux formes adultes du parasite dès leur sortie de l'étable, entre mars et avril, contaminent les pâtures avec les œufs éliminés dans leurs fèces. Ces œufs éclosent lorsque la température dépasse 13°C. Le miracidium atteint l'hôte intermédiaire pour donner plusieurs dizaines de cercaires. Ces cercaires donnent des métacercaires, entre juin et juillet, responsables de paramphistomose aiguë de printemps et d'été et de paramphistomose chronique en fin d'été et en automne (Postal, 1984).

Enfin, la deuxième génération de limnées, ayant estivé ou non, entraîne l'apparition des paramphistomoses d'automne. Cette génération de limnées est donc indirectement responsable d'une paramphistomose pré-imaginale d'automne et une paramphistomose imaginale d'hiver donnant lieu à un pic d'animaux excréteurs d'œufs de paramphistomes à cette saison (Postal, 1984).

Ces différents schémas ont été illustrés par Postal, en 1984 qui a aussi montré les différents liens milieu-hôte-parasite existant pour la paramphistomose dans les régions tempérées à partir des travaux de Reynaud et Kerboeuf (1981 - cités par Postal, 1984).

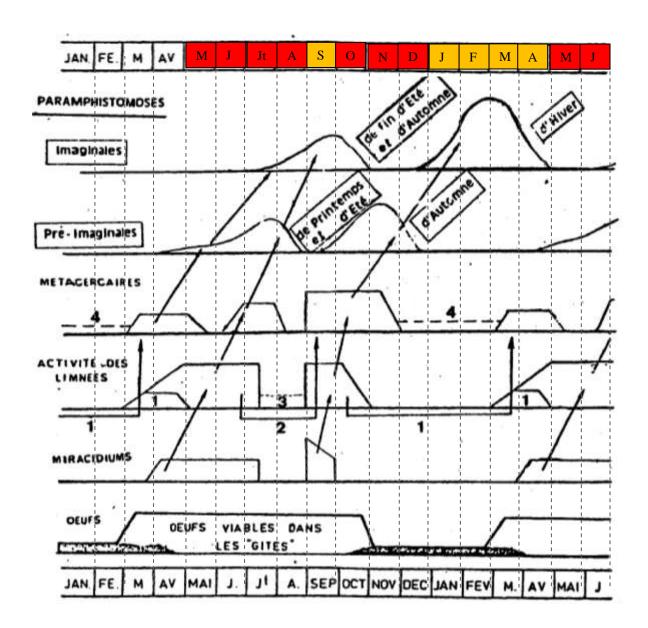


Figure  $n^{\circ}100$ : Évolution quantitative des formes pré-imaginale et imaginale de C. daubneyi sur les pâtures et chez les ruminants en fonction des œufs rejetés dans les fèces et des générations de limnées.

Légende: 1: Limnées transhivernantes; 2: Limnées transestivantes; 3: cas d'un été frais et humide; 4: cas d'un hiver doux et humide; mois orange: période pour laquelle la quantité de formes adultes est importante (paramphistomose imaginale ou chronique); mois rouge: période pour laquelle la quantité des formes pré-imaginales est importante (paramphistomose pré-imaginale). Postal, 1984 d'après Raynaud et Kerboeuf, 1981.

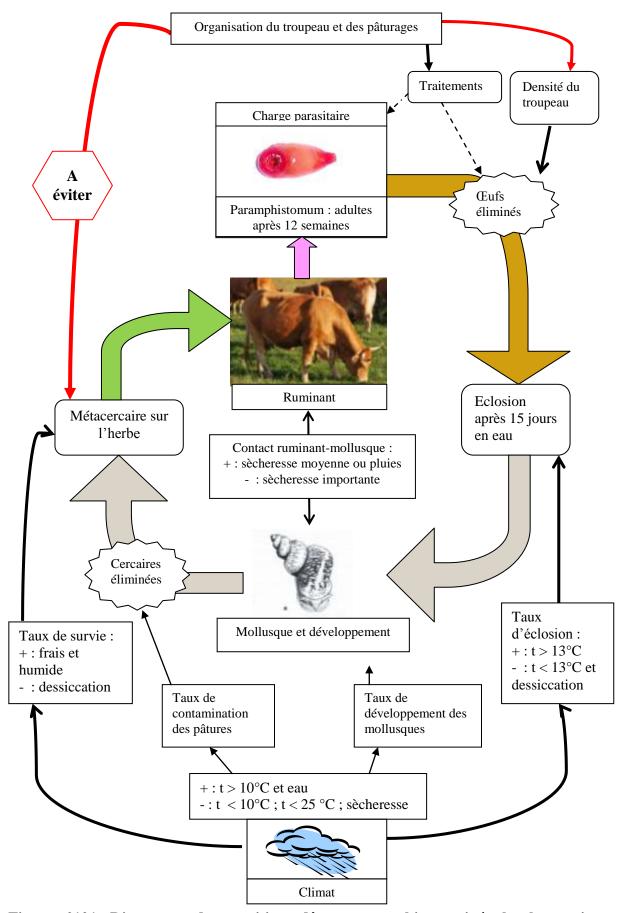


Figure n°101 : Diagramme du parasitisme dû aux paramphistomatinés chez les ruminants et relations milieu-hôte-parasite en région tempérée. Postal, 1984 d'après Kerboeuf, 1981

## **SECONDE PARTIE**

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE : évaluation de l'existence d'une relation entre l'excrétion d'œufs et la charge parasitaire de Calicophoron daubneyi (Paramphistomum daubneyi) chez le bovin, et réalisation d'une clé de diagnose pour l'identification des espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France

### I. INTRODUCTION

La paramphistomose bovine s'est beaucoup étendue en France depuis une trentaine d'années comme le montrent les travaux de Dorchies et al. (1998). Les cartes de Doré et al. (2012) illustrent aussi cette tendance. Les praticiens sont donc plus souvent amenés à envisager cette parasitose en cas de syndrome diarrhéique ou d'amaigrissement. Le diagnostic clinique étant difficile, avec des signes cliniques frustes pour la forme chronique de cette maladie, l'examen coproscopique s'avère être le seul moyen diagnostic de certitude du vivant de l'animal. De plus, la mise en évidence des œufs de paramphistomes par coproscopie est fiable et réalisable au cabinet vétérinaire (Mage et Dorchies, 1998; Courouble, 2003).

Les difficultés de l'examen coproscopique sont la préparation d'un liquide de flottaison très dense et de la diagnose différentielle avec les œufs de *Fasciola hepatica*. L'observation des œufs de paramphistomes permet de conclure à l'infestation de l'animal par les formes adultes du parasite. Cependant, un résultat négatif n'est pas incompatible avec une paramphistomose due aux formes immatures du parasite.

Il semblerait que le nombre d'œufs de paramphistomes obtenu par coproscopie soit en relation avec la charge parasitaire de l'animal. Cela a été observé pour plusieurs parasites dont *Fasciola hepatica*, chez le mouton par Happich et Boray (1969 - cité par Raynaud et al., 1979), et *Dicrocœlium spp.*, chez les brebis, par Calamel et Giauffret (1976 – cités par Raynaud et al., 1979), à condition de prélever plusieurs animaux d'un même lot. Concernant *C. daubneyi*, une relation entre le nombre d'o.p.g. et la charge parasitaire a été mise en évidence (moyenne postérieure = 0,003; Intervalle de confiance = 0,002 - 0,004) en Espagne en 2012 avec un comptage individuel des parasites (Gonzalez-Warleta et al., 2012). En France, une étude portant sur cette relation a été réalisée en 2007 avec une évaluation qualitative *post mortem* de l'infestation (Rieu et al., 2007). Cependant, des variations individuelles d'o.p.g. très importantes ont été mises en évidence, d'un mois à l'autre chez des animaux rentrés en stabulation (Devos et al., 2010). Selon certains auteurs, le nombre d'œufs excrétés dans les fèces des bovins ne serait donc pas corrélé avec le nombre de paramphistomes présents dans le rumen et le réseau. Ainsi, l'existence d'une corrélation entre le nombre d'o.p.g. et la charge parasitaire chez le bovin fait débat.

Les paramphistomes retrouvés en France font rarement l'objet de travaux d'identification. La maladie associée en France est communément attribuée à *C. daubneyi,* mais différentes publications, assez anciennes, mentionnent l'existence de différentes espèces de paramphistomes (Postal, 1984). L'identification sur coupe histologique avec une observation au microscope des différents organes nécessite des connaissances et un opérateur ayant un minimum d'expérience. De plus, les clés de diagnose d'espèces ayant été publiées depuis la révision de la taxinomie de *C. daubneyi* sont exhaustives, complexes et réalisées genre par genre. Or, les espèces ayant été décrites en France sont peu nombreuses et appartiennent depuis 1982 à deux genres différents. Une clé alliant les deux genres et les quelques espèces décrites, facilitant ainsi la diagnose des paramphistomes retrouvés en France, reste à être réalisée.

Le but de ce travail expérimental est double. D'une part, il consiste à étudier l'existence d'une corrélation entre le nombre d'o.p.g. et la charge parasitaire chez le bovin. D'autre

part, cette étude consiste à mettre au point d'une clé de diagnose adaptée aux espèces potentiellement présentes en France métropolitaine. Pour cela, des bovins conduits à l'abattoir d'Autun au cours du mois de janvier 2012 ont subi un prélèvement de fèces, pour l'évaluation coproscopique du nombre d'o.p.g. de paramphistomes, et un examen *post mortem*. De plus, l'analyse des informations d'abattoir concernant les saisies de foie des animaux examinés a permis de calculer la prévalence de l'infestation des bovins par la petite et la grande douve, selon le type allaitant ou laitier et l'âge.

## II. MATERIELS ET METHODES

### II.1 BOVINS RETENUS POUR L'ESSAI

Les bovins sont des animaux rentrant à l'abattoir d'Autun (71), en janvier 2012, sous l'appellation génisse, jeune bovin, vache ou bœuf, de type laitier ou allaitant. Les animaux provenaient de différents départements situés à l'est de la Loire de la France (25, 39, 70, 43, 68, 26, 01, 74, 05, 69, 21, 58, 71, 15, 73, 38, 42, 03, 52, 90). L'âge des animaux était compris entre 17 mois et 18 ans à l'exception d'une génisse charolaise âgée de 11 mois. Les animaux de type allaitant étaient destinés à la consommation personnelle des éleveurs, et à la vente sous label ou non. Certains, animaux arrivant pour abattage d'urgence ont été inclus dans l'étude. L'étude a porté sur 219 animaux. Les animaux arrivaient soit la veille au soir de leur abattage soit le matin même. Le lieu de naissance, leur âge et la commune du siège de l'exploitation de la dernière saison de pâture sont connus grâce à leur passeport. Les traitements médicaux antiparasitaires antérieurs ne sont pas connus pour ces animaux.

### **II.2** ABATTOIR ET PRELEVEMENTS

Les animaux arrivant la veille de leur abattage sont gardés en stalle individuelle. Les animaux arrivant le matin même sont le plus souvent conduits directement dans le couloir menant à la chaîne d'abattage.

Les prélèvements de fèces sont réalisés avant la mise en route de la chaîne d'abattage le matin pour les animaux en stalle et directement dans le couloir pour les animaux arrivant le matin même. Les fèces de chaque individu sont prélevées avec des gants à usage unique et sont placées dans des pots à prélèvement identifiés avec le numéro de travail de l'animal. Les pots étaient ensuite stockés au frais dans les bâtiments puis au réfrigérateur à 4°C.

Une liste des numéros de travail des animaux prélevés est réalisée au moment du prélèvement de fèces. À ce numéro est associé un numéro d'abattage attribué informatiquement par l'abattoir et pour notre étude un numéro de passage au niveau de la chaîne d'abattage. Le numéro de passage n'était attribué qu'après la saignée sur la chaîne d'abattage.

Une surveillance régulière de la correspondance entre le numéro de passage, le numéro d'abattage et le numéro de travail a été mise en place tout au long de la période d'abattage afin de bien pouvoir relier chaque rumen examiné à l'animal dont il est issu.

# **II.3** TECHNIQUE D'EVALUATION POST MORTEM DE LA CHARGE PARASITAIRE

Le rumen et le réseau de chaque animal, que nous appelleront ensemble rumenréseau, ont pu être examinés en détail. L'ensemble rumen-réseau était séparé du feuillet et de la caillette par l'opérateur de triperie et déposé sur une table de préparation. Chaque ensemble rumen-réseau a été examiné sur la totalité de leur surface, entre 5 et 15 minutes et plus si nécessaire.

Une estimation semi-quantitative des parasites a été réalisée de la manière suivante. Un examen visuel soigné de l'ensemble de la surface du rumen et du réseau permet dans un premier temps d'identifier les zones parasitées. Pour estimer le nombre de parasites présents sur une zone identifiée et homogène, un cadre de 10 cm de côté est appliqué sur la muqueuse digestive et déplacée en couvrant l'ensemble de la zone. Le nombre de parasites dénombrés dans cette zone est estimé par le comptage des parasites présents à l'intérieur d'un cadre, multiplié par le nombre de déplacements du cadre. L'estimation du nombre de paramphistomes pour un ensemble rumen-réseau est donc la somme des résultats obtenus pour chaque zone identifiée. Dans le cas d'un rumen et d'un réseau faiblement parasités (< 50 paramphistomes adultes) l'ensemble de la surface de la muqueuse a été examinée et tous les parasites présents ont été dénombrés sans l'utilisation du cadre. Les papilles ruminales étaient réclinées afin de bien visualiser chacun des parasites présents. Dans le cas d'une très forte infestation, c'est-à-dire quand les estimations du nombre de parasites des zones identifiées dépassant 2000, les comptages sont arrêtés et le résultat est noté « > 2000 ». Les comptages ont été arrondis à la dizaine supérieure pour limiter la sousévaluation du nombre de paramphistomes.

Les foies des animaux retenus pour l'essai ont été examinés par les techniciens vétérinaires de l'abattoir. Certains foies ont été saisis pour cause d'infestation par la petite douve ou par la grande douve. Ces informations ont été incluses dans l'étude de la prévalence des trématodoses.

Pour chaque panse infestée une dizaine de parasites ont été prélevés et conservés dans un sachet identifié par le numéro de passage pour une identification d'espèce ultérieure.

Le nombre de parasites évalué pour chaque ensemble rumen-réseau a été reporté sur une grille comportant à la fois le numéro de travail, le numéro d'abattage et le numéro de passage. Après chaque comptage, l'ensemble rumen-réseau était repris par l'opérateur de triperie pour sa transformation et la table d'examen lavée au jet d'eau.

### II.4 TECHNIQUE D'EXAMEN COPROSCOPIQUE

L'examen coproscopique est réalisé sur les prélèvements conservés au réfrigérateur entre 4°C et 8°C pendant sept jours maximum. La technique utilisée est celle publiée par Courouble (2003). Cette technique fait intervenir une double sédimentation, un liquide de flottaison, du sulfate de zinc heptahydraté à saturation dans de l'eau purifiée (densité à 1,44), et un examen microscopique à l'aide d'une cellule de McMaster®. Le détail de la technique est présenté dans l'annexe 1. Toutes les lectures microscopiques ont été effectuées par le même opérateur pour cet essai. Le résultat de l'examen coproscopique,

pour chaque animal prélevé, était ensuite reporté dans un fichier informatique. Ainsi, 219 examens coproscopiques ont été réalisés.

### II.5 TRAITEMENT DES DONNEES ISSUES DE L'ABATTOIR D'AUTUN

Un tableau récapitulatif contenant l'ensemble des résultats d'autopsie et de coproscopie pour chaque animal prélevé et examiné a été établi. Des données concernant la saisie des foies ont été recueillies. Une analyse de la prévalence des différentes infestations selon le type allaitant ou laitier et la classe d'âge du bovin a été réalisée.

Une partie des analyses statistiques ont été réalisées par la société Stalphamis©. Une autre partie des analyses a été menée avec le logiciel « R » qui a permis de réaliser les calculs des intervalles de confiances, l'étude de la loi de distribution du nombre de parasite, le test de corrélation de Spearman, le test de Kruskal-Wallis et la comparaison des moyennes par le test non paramétrique de Wilcoxon. Pour la mise en évidence de l'existence d'une relation entre le nombre de parasites et le nombre d'o.p.g., les données ont été analysées par un modèle de régression linéaire standard puis par un test de corrélation de Spearman plus adapté dans ce cas. Les paramètres permettant d'objectiver le caractère significatif des résultats sont le coefficient de corrélation R2 et la p-value associée pour le test de corrélation classique et le coefficient rho et la p-value pour le test de Spearman. L'analyse des prévalences a été statistiquement traitée par différents tests dont les conditions d'application ont été vérifiées. Des tests de Chi-deux supplémentaires ont néanmoins été réalisés afin de mettre en évidence des différences significatives ou non entre les différents pourcentages de prévalence calculés. La p-value fixée pour qu'un test soit significatif est de 0,05. Ainsi, ceci correspond à une probabilité de 5 % de se tromper lorsque l'on affirme une différence.

# II.6 REALISATION D'UNE CLE DE DIAGNOSE DES ESPECES DE PARAMPHISTOMES CITES EN FRANCE

Pour créer la clé de diagnose adaptée aux espèces de paramphistomes potentiellement présents en France, une recherche bibliographique a été réalisée. Les références majeures ayant permis de réaliser cette clé sont, Jones et al. (2005), Näsmark (1937), Eduardo (1982, 1983) et Sey (1980). Deux épreuves de lecture de lames histologiques ont été réalisées afin de tester la facilité d'utilisation de la clé réalisée et de la modifier si nécessaire.

Pour établir la liste des paramphistomes potentiellement présents en France, l'article de Sey (1980), donnant la listes des espèces européennes, a été utilisé. À cette liste a été ajoutée *P. leydeni* décrit par Graber et al. (1980b). *P. gotoi*, décrit uniquement en Russie et en Roumanie, n'a pas été incluse. Seules les espèces décrites en France depuis 1945 ont été retenues. De plus, Joly (1991) comme Rieu (2004) ont eux aussi conclu à la liste suivante : *Paramphistomum cervi*, *Paramphistomum leydeni*, *Paramphistomum ichikawai*, *Calicophoron daubneyi* (*P. daubneyi*) et *Calicophoron microbothrium* (*P. microbothrium*), avec une synonymie possible entre *P. leydeni* et *P. cervi*.

À l'aide des critères de Näsmark (1937), d'Eduardo (1982, 1983) et à de Sey (1980), une clé de diagnose des espèces françaises de paramphistomes a été réalisée. Trois autres clés illustrées, reprenant la typologie des organes permettant la diagnose des espèces décrites en France, ont aussi été reprises et complétées. Les critères tégumentaires d'Eduardo (1982, 1983) portant sur les papilles et leur répartition, du fait du manque de consensus qu'elles génèrent et de leur faible visibilité sur les lames, ont été conservés mais ont été associés à ceux utilisés par Näsmark (1937) et Sey (1979, 1980).

Cette première version, associée aux clés de typologie de l'acétabulum, du pharynx et du génitalium terminal, a été testée à partir de la lecture d'une vingtaine de lames de références identifiées, portant des coupes de paramphistomes décrits en France, appartenant à la collection de Graber.

D'autre part, cette même version a été testée, en aveugle, afin de s'astreindre du biais existant lorsque l'examinateur connaît à priori le nom du parasite observé. À l'issue de ces lectures, cette version a été corrigée et améliorée pour donner une version définitive qui tient compte des observations de cette phase de test réalisée avec des lames de référence.

# II.7 EXAMENS DES LAMES HISTOLOGIQUES ET IDENTIFICATION DE PARASITES RECOLTES EN A L'ABATTOIR D'AUTUN

Une identification de parasites récoltés à l'abattoir d'Autun a été réalisée par la suite. Six parasites, provenant de vaches issues des départements les plus éloignés (74, 70, 38, 03, 58, 42), récoltés à l'abattoir d'Autun (71), ont été traités et ont permis la réalisation de près de 300 lames histologiques en coupes sériées.

Les parasites ont été déshydratés manuellement puis inclus dans des blocs de paraffine (selon de protocole présenté en annexe 2). Un pince chauffante a permis de les orienter soit latéralement pour des coupes latérales permettant de visualiser les organes d'intérêt et les terminaisons cæcales soit dorsalement afin de visualiser l'orientation des terminaisons cæcales. Les blocs ont ensuite été coupés au microtome avec une épaisseur de 5 µm ou de 6 µm. Les coupes ont ensuite été colorées à l'hématoxyline et éosine (voir annexe 2). Les lamelles sont fixées avec de l'Eukitt® et laissées à sécher. L'observation des lames se réalise à l'aide d'un microscope optique aux grossissements 4, 10 ou 40. Un appareil-photo Nikon 4500 fixé au microscope permet la prise de clichés à chaque étape de la diagnose des différents organes. Un logiciel, Eclipse Net®, permet la réalisation et le traitement des photographies avec prises de mesures si besoin.

# III. RESULTATS

### III.1 RELATION ENTRE LA CHARGE PARASITAIRE ET L'EXAMEN POST MORTEM

Les informations recueillies à l'abattoir d'Autun ont permis de calculer des taux de prévalence de l'infestation par les paramphistomes, par la petite douve et par la grande douve selon différentes classes d'âges et le type de production.

### a) Prevalences:

Le calcul de la prévalence a été effectué de la manière suivante : prévalence = nombre de cas positifs pour l'infestation du parasite considéré divisé par le nombre total d'animaux retenus sur la période du 04/01/11 au 19/01/2011 soient 215 animaux. Le pourcentage de prévalence correspond à la prévalence multipliée par 100.

Le recueil des informations concernant les saisies de foie à l'abattoir d'Autun a aussi permis d'obtenir les prévalences concernant les infestations par la petite douve et par la grande douve selon le type et l'âge des animaux. Parmi les bovins inclus dans l'étude, 215 ont leur âge connus et 213 ont leur race connue. Les informations concernant ces bovins sont présentées dans le tableau suivant.

Type Classe		Paramphistome	Petite douve	Grande douve			
	d'âge						
Allaitant	11-35 mois	27/32 (84,4 %)	4/32 (12,5 %)	0/32 (0 %)			
	3-5 ans	38/42 (90,5 %)	4/42 (9,5 %)	0/42 (0 %)			
	>5 ans	17/19 (89,5 %)	11/19 (57,9 %)	0/19 (0 %)			
	Tout âge	82/93 (88,2 %) *	19/93 (20,4 %)**	0/93 (0 %)°			
	I.C.	[79,8 - 93,9 %]	[12,7 - 30,1 %]	[0 – 3,8 %]			
Laitier	11-35 mois	0/2 (0 %)	0/2 (0 %)	0/2 (0 %)			
	3-5 ans	16/34 (47,1 %)	13/34 (38,2 %)	3/34 (8,8 %)			
	>5 ans	51/84 (60,7 %)	39/84 (46,4 %)	10/84 (11,9 %)			
	Tout âge	67/120 (55,8 %)*	52/120 (43,3 %)**	13/120 (10,8 %)°			
	I.C.	[46,5 - 64,9 %]	[34,3 - 52,7 %]	[5,9 - 17,8 %]			
Bovins	11-35 mois	27/35 (77,1 %)***	4/35 (11,4 %)	0/35 (0 %)			
	I.C.	[60,0 – 89,6 %]	[3,2 – 26,7 %]	[0 - 10] ´			
	3-5 ans	54/76 (71,1 %)***	17/76 (22,4 %)	3/76 (4 %)			
	I.C.	[59,5`- 80,9 %]	[13,6 - 33,4 %]	[0,8 - 11,1 %]			
	>5 ans	69/104 (66,4 %)***	50/104 (48,1 %)	10/104 (9,6 %)			
	I.C.	[56,4 -75,3 %]	[38,1 - 58,1 %]	[4,7 - 17,0 %]			
7	otal	150/215 (69,8 %)	71/215 (33 %)	13/215 (6,1 %)			
		[63,1 - 75,8 %]	[26,8 - 39,7 %]	[3,2 - 10,1 %]			

Tableau XXVIII:
Pourcentages de prévalence
selon le type et les classes
d'âge des bovins examinés à
Autun en janvier 2012.

Légende : nombre de positifs / effectif total (pourcentage de prévalence réelle) et intervalle de confiance à 95 %. \*et \*\* : Tests de Chi deux → différence significative pour l'infestation par les paramphistomes et pour l'infestation par la petite douve entre les animaux de type laitier et allaitant avec p < 0.001; \*\*\*: Test de Chi deux → différence non significative; °: test de Fisher → différence significative avec p < 0.001.

À l'abattoir d'Autun (71), en janvier 2011, les pourcentages de prévalence concernant les infestations par les paramphistomes, la petite douve et la grande douve sont respectivement de 69,8 % (I.C. 95% : [63,1 - 75,8 %]), de 33,0 % (I.C. 95 % : [26,8 - 39,7 %]) et de 6,1 % (I.C. 95 % : [3,2 - 10,1 %]). Les pourcentages de prévalence concernant l'infestation de la petite sont supérieurs pour les animaux de type laitier par rapport aux animaux de type allaitant (p<0,001). Le pourcentage de prévalence de l'infestation par le paramphistome est supérieur chez les animaux de type allaitant (p<0,001). De même, la prévalence est significativement supérieure chez les animaux de type laitier (p<0,001).

En considérant l'ensemble des bovins, aucune différence significative n'existe pour l'infestation par les paramphistomes selon les différentes classes d'âge. Une différence

significative existe entre les trois classes d'âge pour l'infestation par la petite douve (p < 0,001).

Les animaux inclus dans cette étude ne proviennent que d'un nombre limité de départements français centrés autour de la Bourgogne.

Ces taux de prévalence ont été analysés selon la région de provenance des animaux. Certaines régions n'ayant pas un effectif de bovins suffisant, seuls 204 animaux ont été retenus.

Région		Paramphistome	Petite douve	Grande douve	
	Prévalence	83/92 (90,2 %)	20/92 (21,7 %)	1/92 (1,1 %)	
Bourgogne	Intervalle de confiance à 95 %	[82,2 – 95,4 %]	[13,8 - 31,6 %]	[0 – 5,9 %]	
	Prévalence	31/70 (44,3 %)	37/70 (52,9 %)	8/70 (11,4 %)	
Franche Comté	Intervalle de confiance à 95 %	[32,4 - 56,7 %]	[40,6 - 64,9 %]	[5,1 - 21,2 % ]	
	Prévalence	29/42 (69,1 %)	11/42 (26,2 %)	3/42 (7,1 %)	
Rhone Alpes	Intervalle de				
	confiance à 95 %	[52,9 - 82,3 % ]	[13,9 - 42,0 %]	[1,5 – 19,5 %]	

Tableau XXIX : Pourcentage de prévalence selon la région de provenance des animaux. Légende : nombre de positifs / effectif total (pourcentage de prévalence réelle).

Ainsi, 90,2 % des animaux en provenance de la région Bourgogne, 69,1 % des animaux en provenance de la région Rhône-Alpes et 44,3 % des animaux en provenance de Franche-Comté sont infestés par les paramphistomes dans cet essai.

#### b) RELATION ENTRE LA CHARGE PARASITAIRE ET LE NOMBRE D'O.P.G. :

Pour l'évaluation de cette relation, 219 animaux ont été prélevés avant l'abattage et examiné après éviscération.

Les classes d'âge précédemment utilisées ont été conservées. Il s'agit des trois classes d'âges : 11 et 35 mois, 3-5 ans et >5 ans. Les deux types d'animaux laitiers et allaitants ont aussi été conservés.

## • Résultats des examens nécropsiques et coproscopiques concernant l'infestation par le paramphistome

Parmi les 219 animaux retenus pour cet essai, 14 d'entre eux sont infestés et n'excrètent pas d'œufs de paramphistomes et 5 d'entre eux présentent des o.p.g. non nuls alors qu'aucun paramphistome n'a été observé. Ces deux nombres correspondent respectivement aux faux négatifs et aux faux positifs de l'examen coproscopique. Si on considère l'examen d'autopsie comme étant le gold-standard, les valeurs de sensibilité et de spécificité peuvent être calculées (voir le tableau suivant).

		Autop			
	Infestés Indemnes Totaux				
Coproscopie		VP: 139/219 (63,5 %)	FP: 5/219 (2,2 %)		VPP: 139/144 (96,5 %)
	Positifs	[56,7 69,9 %]	[0,7 -5,2 %]	144	[92,1 – 98,9 %]
		FN :14/219 (6,5 %)	VN: 61/219 (27,8 %)		VPN: 61/75 (81,3 %)
	Négatifs	[3,5 – 10,5 %]	[22,0 – 34,3 %]	75	[70,7 – 89,4 %]
Tota	nux	153	66	219	
Sensibilité(Se) et		Se: 139/153 (90,8 %)	Sp: 61/66 (92,4 %)		•
spécificit	té (Sp)	[85,1 – 94,9 %]	[83,2 – 97,5 %]		

Tableau XXX : Sensibilité et spécificité de l'examen coproscopique

La sensibilité d'un test de dépistage est son aptitude à donner un résultat positif pour un animal infesté. La spécificité d'un test de dépistage est son aptitude à donner un résultat négatif pour un animal indemne. En regard des résultats de Rieu et al., (2007) et avec l'hypothèse qu'aucune différence significative de dépistage n'existe entre la coproscopie et l'autopsie, les paramètres de l'examen coproscopique sont : une sensibilité de 90,8 % et une sensibilité de 92,4 %. La valeur prédictive positive correspond à la probabilité qu'une réponse positive au test de dépistage corresponde bien à un animal infesté. De même, la valeur prédictive négative correspond à la probabilité qu'une réponse négative du test corresponde bien à un animal indemne. Pour l'examen coproscopique, la valeur prédictive est de 96,5 % et la valeur prédictive négative de 81,3 %.

Dans cette étude seule l'intensité de l'infestation par le paramphistome a été évaluée. Les résultats sont donnés en nombre d'œufs par gramme de fèces (o.p.g.) et en nombre de parasite adultes retrouvés dans le rumen et le réseau pour chaque bovin.

L'étude statistique menée avec le logiciel « R » a permis d'identifier le type de distribution que suit le nombre de paramphistomes. Le test « descdist » et le test « fitdist » permettent de conclure et donne comme loi de distribution la loi binomiale négative avec une erreur standard de 0,0017.

Le tableau suivant présente le nombre moyen de paramphistomes en fonction du nombre d'o.p.g. évalué. Les classes d'o.p.g. ont été choisies arbitrairement. Ces classes peuvent aussi correspondre à un résultat d'o.p.g. nul, faible, moyen, et grand. L'illustration de ce tableau est présentée dans la figure suivante.

Un nombre moyen croissant de paramphistomes est associé à une classe croissante d'o.p.g..

Nombre d'o.p.g.	Nombre de bovins infestés	Effectif	Moyenne géométrique du nombre de paramphistomes	Moyenne arithmétique du nombre de paramphistomes	Écart- type
0	14	75	2	15	61
>0 à 50	52	57	64	206	344
51 à 300	51	51	390	651	628
>301	36	36	1080	1328	678

Tableau XXXI : Nombres moyens de paramphistomes observés dans les ensembles rumen-réseau en fonction des classes d'o.p.g.

La figure suivante présente les moyennes arithmétiques et les écarts-types associés.

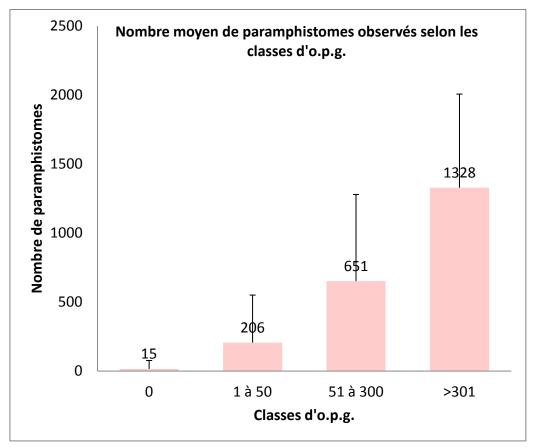


Figure n°102 : Nombre moyen de paramphistomes observés en fonction des classes d'o.p.g. avec les écarts-types associés

On observe un nombre moyen croissant de paramphistomes pour classe croissante d'o.p.g.. On remarque aussi que les écarts-types se chevauchent. Cela est aussi observé lorsque le nombre d'o.p.g. est réparti en fonction des classes de nombre de paramphistomes (voir la tableau suivant).

		Moyenne	
Nombre de paramphistomes	effectifs	d'o.p.g.	Écart-type
0	66	0,37	1,8
1 à 99	41	22,5	31,8
100 à 500	58	118,0	130,9
> 500	54	450,8	482,4

Tableau XXXII: Nombre d'o.p.g. par classe de nombre de paramphistomes

De même un nombre croissant d'o.p.g. est observé pour des classes croissantes de paramphistomes. Mais vu les écarts-types et les effectifs, les moyennes calculées pour chaque classe d'o.p.g. ne peuvent pas être significatives ni représentatives.

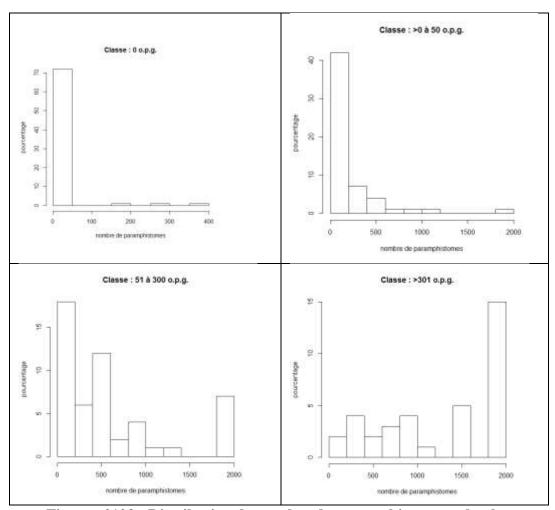


Figure  $n^{\circ}103$ : Distribution du nombre de paramphistomes selon les quatre classes d'o.p.g.

On remarque une faible dispersion pour les deux premières classes et une plus grande dispersion pour les classes d'o.p.g. supérieures à 50.

Afin de vérifier s'il existe une différence entre les moyennes de paramphistomes selon les quatre classes définies ci-dessus, un test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été réalisé. Ce test a été effectué car le test d'homogénéité des variances de Bartlett montre une non homogénéité des variances (p-value < 0,001) ce qui empêche d'utiliser une ANOVA. Les résultats du test sont présentés dans le tableau suivant.

Kruskal-Wallis rank sum test					
Paramètre	Valeur obtenue				
Kruskal-Wallis chi-squared	161.8994				
df (degré de liberté)	3				
p-value	< 2.2e-16				

Tableau: XXXIII: Test de Kruskal-Wallis.

Le test de Kruskal-Wallis montre qu'il existe une différence significative globale entre les moyennes de paramphistomes calculée pour chaque classe avec une p-value fortement inférieure à 0,001.

Afin de comparer deux à deux les moyennes, un test de Wilcoxon a été réalisé avec une correction des p-value par la méthode de Bonferroni. Le tableau suivant présente les résultats.

Classes d'o.p.g.	0	1 à 50	51 à 300	>301
0	-	-	-	-
1 à 50	< 2e-16	-	-	-
51 à 300	< 2e-16	3.1e-07	-	-
>301	< 2e-16	5.1e-12	0.00011	-

Tableau XXXIV: Test de Wilcoxon.

Ce test donne les p-values pour une comparaison deux à deux des moyennes selon les différentes classes d'o.p.g.. Ces p-values sont toutes inférieures à 0,001. Il existe donc une différence significative entre le nombre moyen de paramphistomes de chaque classe d'o.p.g..

# • Corrélation entre le nombre de parasites adultes présents dans les pré-estomacs et le nombre d'o.p.g.

Pour établir cette corrélation, 219 animaux ont été utilisés. Le nombre de paramphistomes en fonction du nombre d'o.p.g. pour chaque bovin positifs est présenté dans la figure suivante avec des échelles logarithmiques.

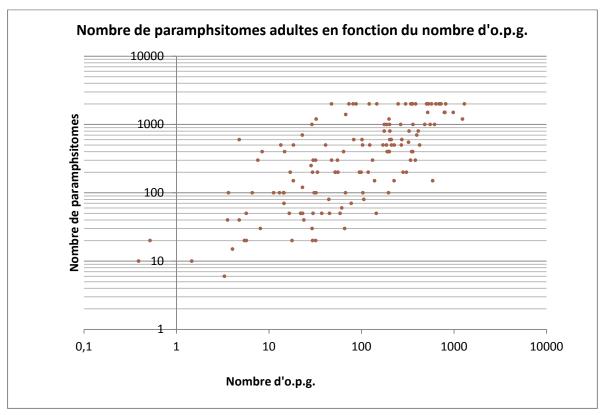


Figure n°104: Nombre de paramphistomes adultes en fonction du nombre d'o.p.g.

Une corrélation linéaire a été réalisée et permet d'obtenir une pente de type f(X) = ax + b, avec f(x) pour le nombre de parasites adultes et x pour le nombre d'o.p.g. (voir le tableau suivant).

Régression linéaire	Moy ± écart type				
o.p.g.	144 ± 307				
Paramphistomes présents dans le rumen et le réseau	420 ± 638				
R <sup>2</sup> - coefficient de corrélation	P-value R <sup>2</sup> Intercept pente				
0.61	<0.0001	237.29	1.27		
Équation de la droite de régression linéaire	Nombre de parasites = (1.27 x o.p.g.) + 237.29				

Tableau XXXV : Régression linéaire et corrélation entre le nombre de paramphistomes adultes et le nombre d'o.p.g.

Une relation linéaire avec un coefficient de corrélation linéaire de 0,61, statistiquement significative (p-value < 0,0001) relie positivement le nombre d'o.p.g. et le nombre de paramphistomes adultes présents dans l'ensemble rumen-réseau. Ces résultats montrent l'existence d'une relation entre la charge parasitaire de l'animal et les résultats de coproscopies.

Cependant, vu les quelques résultats extrêmes obtenus — sortant de l'ellipse théorique - une corrélation de Spearman est plus adaptée.

Paramètre du test de Spearman	Valeur obtenue		
S	205492,8		
p-value	<2,2 e-16		
rho	0,88		

Tableau XXXVI: Test de Spearman.

Le test de Spearman donne un coefficient rho de 0,88 avec p-value de2,2.10<sup>-16</sup>. Ainsi, il existe une relation positive entre le nombre d'o.p.g. et le nombre de paramphistomes retrouvés dans le réseau et le rumen avec une p-value inférieure à 0,001. Enfin, le coefficient rho n'étant pas égal à 1, le nombre de parasites n'est pas le seul facteur influençant le nombre d'œufs excrétés.

# III.2 CLE DE DIAGNOSE DES ESPECES DE PARAMPHISTOMES POTENTIELLEMENT PRESENTS EN FRANCE METROPOLITAINE

### a) MISE AU POINT DE LA CLE DE DIAGNOSE

Pour établir la liste des espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France métropolitaine, une recherche bibliographique a permis d'obtenir la liste des espèces de paramphistomes d'Europe réalisée par Sey (1980). À cette liste a été ajoutée *P. leydeni* décrit par Graber et al. (1980b). *P. gotoi*, décrit uniquement en Russie et en Roumanie, n'a pas été incluse. Seules les espèces décrites en France depuis 1945 ont été retenues (Sey, 1979; Postal, 1984; Graber et al, 1980a). Ainsi, les espèces retenues sont : *Paramphistomum cervi*, *Paramphistomum leydeni*, *Paramphistomum ichikawai*, *Calicophoron daubneyi* (*P. daubneyi*) et *Calicophoron microbothrium* (*P. microbothrium*), avec une synonymie possible entre *P. leydeni* et *P. cervi* (Joly, 1991, Rieu, 2004).

À partir de l'étude bibliographique des espèces retenues une clé de diagnose inédite des espèces françaises a été réalisée. Cette clé faisant appel à des distinctions morphologiques, les clés des différents types de pharynx, de génitalium terminal et d'acétabulum ont été reprises des articles de Näsmark (1937) et d'Eduardo (1982, 1983) et complétées. Chaque clé a été illustrée à l'aide de schémas. Quatre figures ont aussi été élaborées pour faciliter la diagnose de chaque type de génitalium terminal décrit.

Les critères tégumentaires portant sur les papilles et leur répartition n'ont pas été des critères retenus pour la diagnose d'espèce. Des critères utilisés par Näsmark (1937) et Sey (1979, 1980) ont été ajoutés aux clés d'Eduardo (1982, 1983).

Cette clé a ensuite été validée avec la lecture de lames de référence identifiées ou rendues anonymes. Des échantillons conservées dans le formol et identifiés par Graber ont permis la réalisation de coupes histologiques sériées et la validation de la clé de diagnose.

Les parasites identifiés et conservés dans des pots de formol et dont les coupes ont été montées sur les lames ont permis de tester la clé de diagnose. Sur 6 échantillons seul 1 n'a pas pu être clairement identifié du fait d'un angle de coupe oblique ne permettant pas d'observer les organes avec précision. La *pars musculosa* est néanmoins visible et permet

d'identifier le genre du parasite. Cette épreuve valide à la fois la technique de préparation des coupes histologiques réalisée au service d'histologie de VetAgro Sup Lyon et la clé de diagnose.

À l'issue de ces tests, la clé a évolué. Les premières corrections apportées ont concernées « l'entrée » de la clé avec examen de Paramphistomatinés, seuls parasites décrits en Europe (à l'exclusion de la Russie), la dimension de l'acétabulum avec une précision de taille par rapport à la longueur du corps du parasite, et l'aspect des sphincters papillaires de C. daubneyi et de C. microbothrium afin de faciliter leur identification (Graber et al, 1980a). Des modifications ont aussi été apportées aux clés portant sur la typologie de l'acétabulum, avec abandon de nombre d'unités d.e.c. 2 trop peu visibles et variables selon les auteurs, la description du pharynx, avec l'ajout de la forme globale des hémipharynx (globuleuse ou allongée), et de génitalium terminal, avec la précision de la forme en massue et de la taille (> à 40 µm par hémipapille) des papilles généralement rencontrée pour le génitalium terminal de type leydeni, et la précision de la taille (> 35 µm par hémipapille) des papilles généralement rencontrées pour le génitalium terminal de type gracile. Quatre annexes correspondant aux quatre types de génitalium terminaux ont été créées afin d'illustrer les étapes importantes de la diagnose. Enfin, les dernières modifications ont concerné la description de la pars musculosa décrite comme bien ou peu développée et correspondant à un organe cavitaire ou non, et en forme de gouttière ou d'amas cellulaire. La description des papilles génitales, des génitalium terminaux de type gracile et leydeni, a été approfondie. La description de la forme générale de la papille (triangulaire pour le type gracile) et la description de la forme de l'extrémité de chaque hémipapille (arrondie ou tronquée pour le type leydeni et s'amincissant progressivement pour le type gracile) ont été complétées.

Ces descriptions associées à l'observation de coupes histologiques de parasites montés sur des lames de référence identifiées ont donc permis l'élaboration de la clé principale et des 3 clés de typologie associées. Les clés mises au point sont présentées ciaprès.

# Clé de diagnose des espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France\*

Paramphistomatidés ayant un corps dépourvu de poche ventrale, non issus d'hippopotames et présents en Europe = Paramphistomatinés ; Acétabulum de petite à moyenne taille (diamètre < à la moitié de la longueur du corps) ; présents chez les ruminants.

Au niveau du génitalium terminal : présence d'une ventouse génitale (organe musculeux ayant l'aspect d'un
acétabulum) genre Cotylophoron
Absence de ventouse génitale
Au niveau du génitalium terminal, pars musculosa fortement cavitaire, en forme de gouttière avec
une paroi épaisse bien individualisée et lumière bien visible ; organe généralement rectiligne mais
parfois dilaté et de forme arrondie ; organe de longueur variable mais toujours bien visible, bien développé et ressortant de la structure homogène et peu dense du parenchyme interne
genre Calicophoron
Pharynx de type calicophoron et génitalium terminal de type microbothrium
Terminaisons des branches cæcales dirigées dorsalement; au niveau du
génitalium terminal : sphincter papillaire bien développé avec faisceaux
musculaires compressés les uns contre les autres formant une masse musculaire
compacte à la base de la papille, la déformant parfois
Terminaisons des branches caecales dirigées ventralement; au niveau du
génitalium terminal : sphincter papillaire visible mais peu développé avec la
présence de faisceaux musculaires de section circulaire de petite taille ayant un
aspect de ligne pointillée à la base de la paille et ne la déformant pas
Calicophoron daubneyi
Au niveau du génitalium terminal, pars musculosa peu cavitaire, de petite taille (ne dépassant pas
celle du génitalium terminal ) ayant la forme d'une mure, formée par un amas de cellules
agglutinées les unes aux autres avec la lumière du canal interne non
visiblegenre <i>Paramphistomum</i>
Pharynx de type calicophoron; génitalium terminal de type ichikawai
Dharuny da tuna liarahia
Pharynx de type liorchis
Génitalium terminal de type gracile
Génitalium terminal de type leydeni

Figure  $n^{\circ}105$ : Clé de diagnose adaptée aux différentes espèces des paramphistomes potentiellement présentes en France. Légende : \* : France métropolitaine

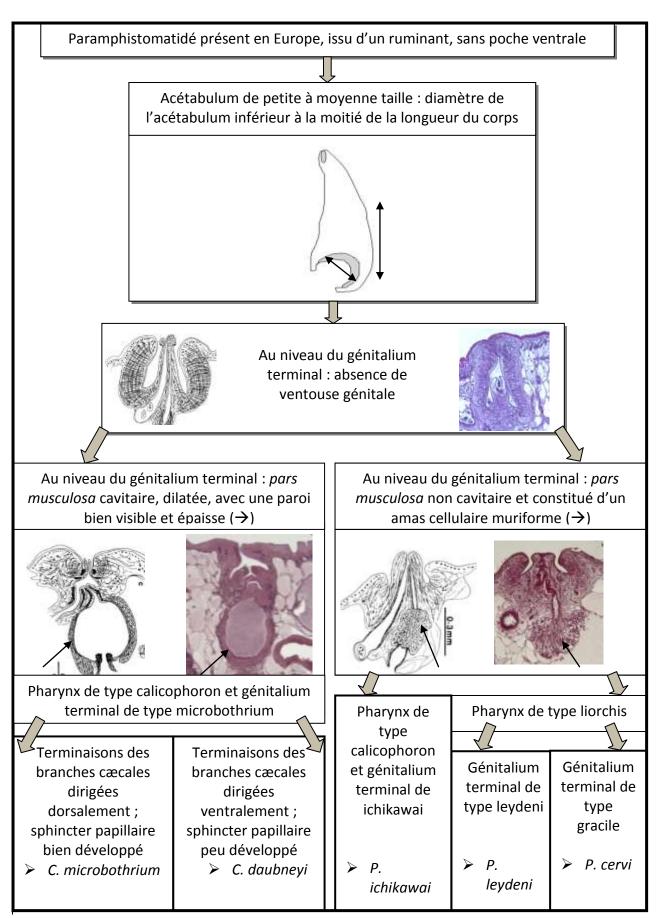


Figure n°106 : Clé de diagnose illustrée des espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France\*. Légende : \* : France métropolitaine Photos : Bailly S. –VetAgro Sup Lyon.

# Clé de diagnose des différents types de pharynx Pharynx sans diverticule Sphincter labial absent Sphincter antérieur absent circulaires Couches musculaires externes moyennes bien et développées formant une bande épaisse ; surface interne recouverte de longues papilles sur le premier quart de son extrémité antérieur ......Type liorchis (Schéma 1) Espèces: Paramphistomum cervi, P. leydeni (Eduardo, 1982b) Couche musculaire circulaire externe peu développée ; couche musculaire circulaire moyenne faiblement développée formant généralement une bande marquée centrale discrète à surface interne sans papille......Type calicophoron (Schéma 2) Espèces: Calicophoron daubnevi. Paramphistomum ichikawai. Calicophoron microbothrium, (Eduardo, 1983, 1982b) Sans diverticule ni sphincter labial ⋾⋿ Sphincter antérieur absent (cercle) et sphincter postérieur absent ou sous forme de trace (cadre) Schéma 1: Schéma 2: Hémipharynx de forme allongée Hémipharynx de forme globuleuse Couches musculaires circulaires externe (→) et Couche musculaire circulaire externe (→) peu moyenne (→) bien développées formant des développée ; bandes épaisses: Couche musculaire circulaire movenne (→) Quart antérieur de la surface interne recouverte de faiblement développée formant une bande discrète; longues papilles (cercle). Pharynx de type calicophoron > Pharynx de type liorchis

Figure n°107 : Clé de diagnose illustrée des deux types de pharynx retrouvés chez les espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France\*. Légende : \* : France métropolitaine. D'après Näsmark, 1937 avec modifications.

### Clé de diagnose des différents types de génitaliums terminaux

Poche de Cirrus (diverticule cavitaire précédant la *pars musculosa*) absente et papille génitale présente Ventouse génitale absente

Atrium ventral peu développé

Sphincter génital et sphincter papillaire présents

Sphincter génital absent et sphincter papillaire présent

Sphincter génital et papillaire absents

• Donné à titre indicatif

#### Schéma 1 : Schéma théorique d'un génitalium terminal

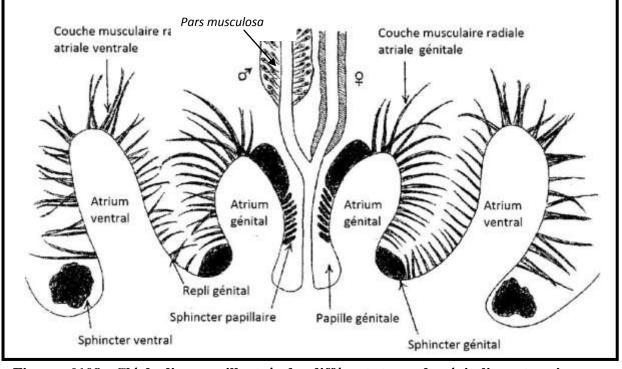


Figure n°108 : Clé de diagnose illustrée des différents types de génitaliums terminaux présents chez les espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France\* (Partie 1/2). Légende : \* : France métropolitaine. D'après Eduardo, 1982a modifié.

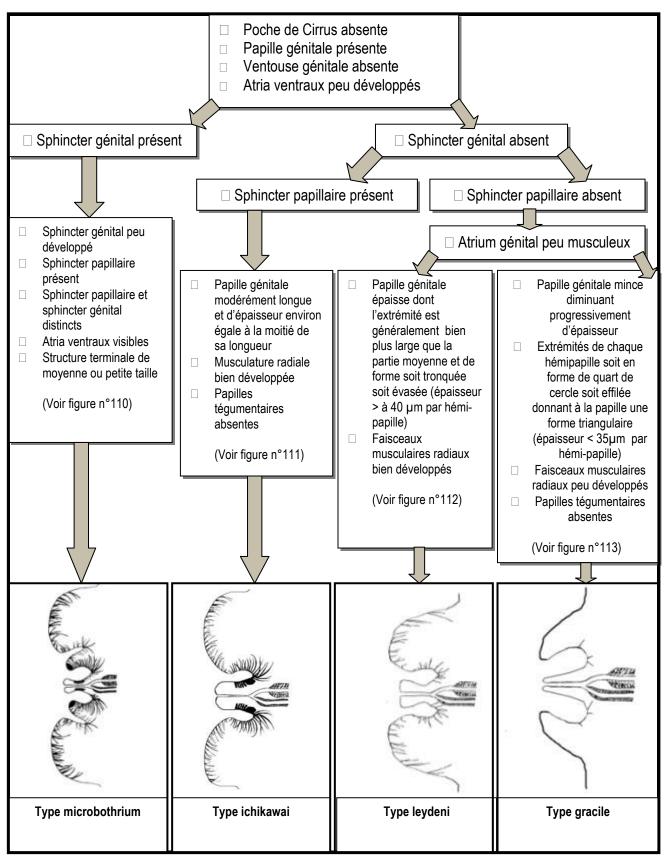


Figure n°109 : Clé de diagnose illustrée des différents types d'atriums génitaux présents chez les espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France\* (Partie 2 / 2 ). Légende : \* : France métropolitaine. D'après Eduardo, 1982 modifié.

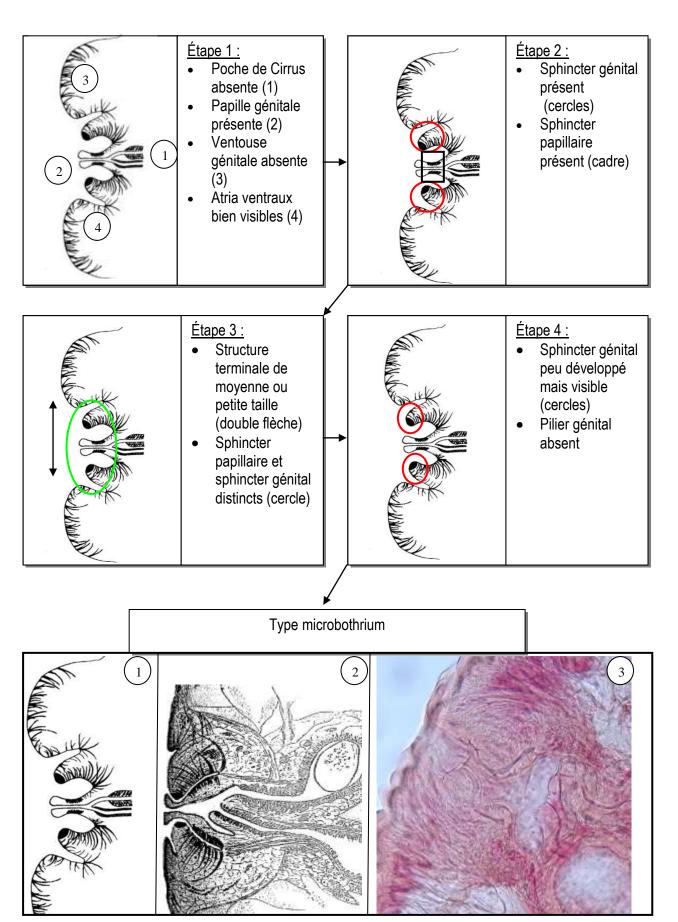


Figure n° 110 : Démarche illustrée pour la diagnose du génitalium terminal de type microbothrium. Légende : 1 : schéma théorique, 2 : dessin de Näsmark, 1937, 3 : photo Bailly S. – VetAgro Sup Lyon

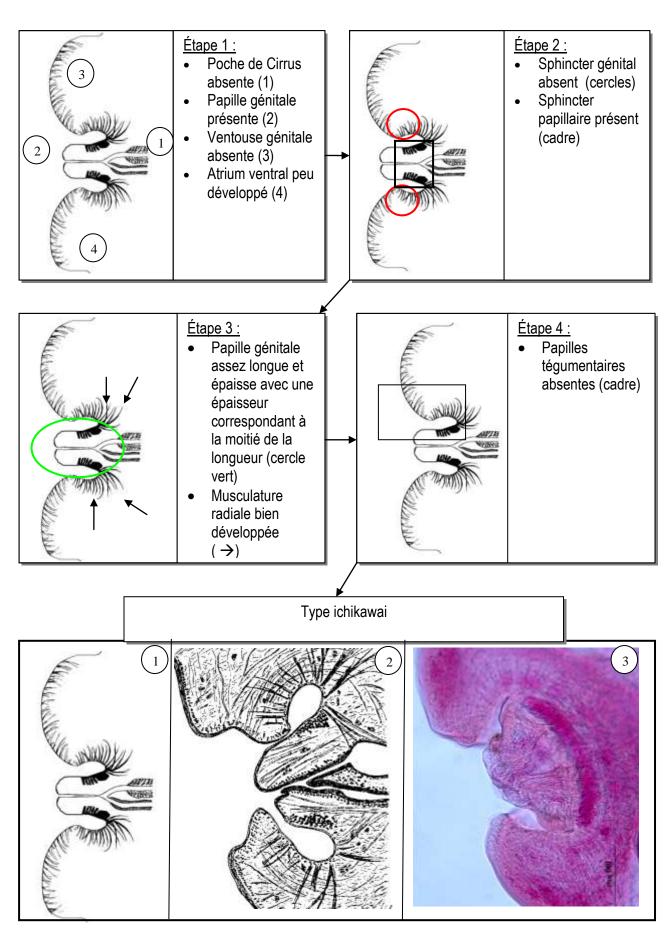


Figure n°111 : Démarche illustrée pour la diagnose du génitalium terminal de type ichikawai. Légende : 1 : schéma théorique, 2 : dessin de Näsmark, 1937, 3 : photo Bailly S. - VetAgro Sup Lyon.

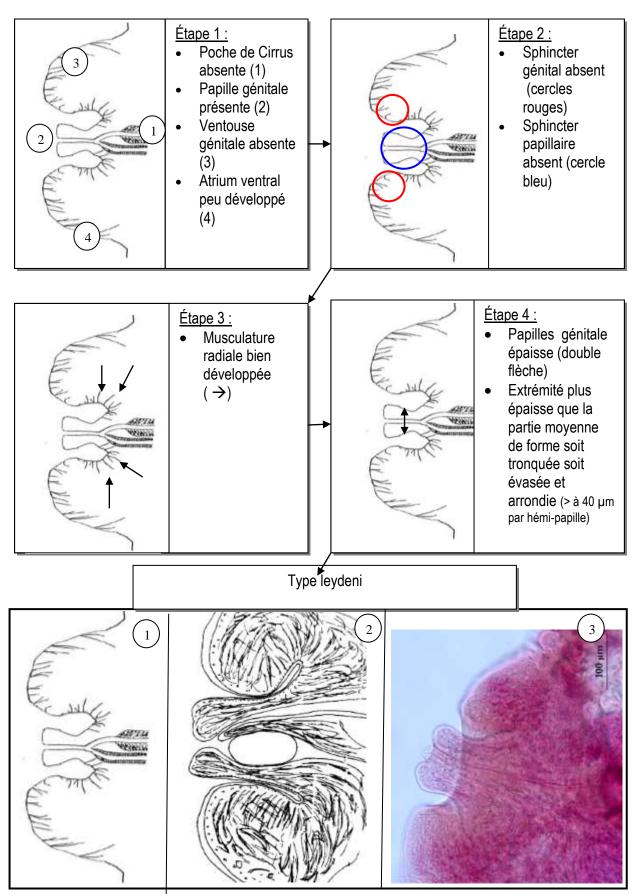


Figure n°112 : Démarche illustrée pour la diagnose du génitalium terminal de type leydeni. Légende : 1 : schéma théorique, 2 : dessin d'Eduardo, 1982 (avec un œuf dans la partie femelle), 3 : photo Bailly S.- VetAgro Sup Lyon.

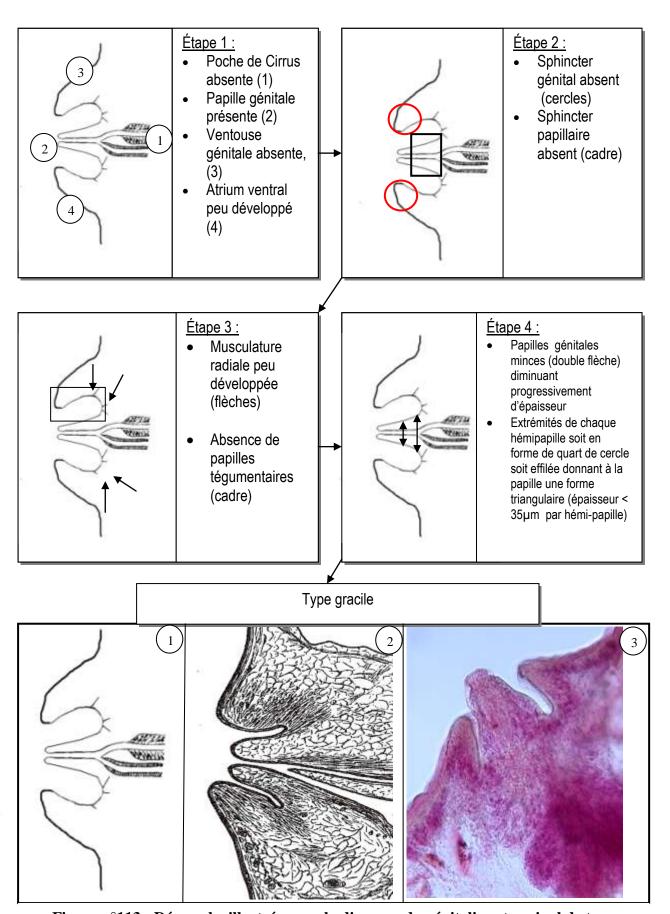


Figure n°113 : Démarche illustrée pour la diagnose du génitalium terminal de type gracile. Légende : 1 : schéma théorique, 2 : dessin de Näsmark, 1937, 3 : photo Bailly S. – VetAgro Sup Lyon

# Clé de diagnose des différents types d'acétabulums Acétabulum de taille moyenne ou de petite taille. Couche musculaire circulaire externe dorsale divisée en deux groupes de faisceaux musculaires : d. e. c. 1 et d. e. c. 2 Couche musculaire circulaire externe dorsale 2 composée de plus petits et de plus nombreux faisceaux que la couche musculaire circulaire externe dorsale 1 ......Type paramphistomum Couche musculaire circulaire externe dorsale 2 composée de faisceaux plus petits et moins nombreux que la couche musculaire circulaire externe dorsale 1 ......Type pisum Acétabulum de moyenne ou de petite taille : diamètre inférieur à la moitié de la longueur du corps Couche musculaire circulaire externe dorsale divisée en deux groupes de faisceaux musculaires $(\rightarrow)$ : d.e.c.1 (A) et d.e.c.2 (B) Nombre d'unités A inférieur au nombre Nombre d'unités A supérieur au nombre d'unités B (A < B) d'unités B (A > B) Acétabulum de type pisum Acétabulum de type paramphistomum

Figure n°114 : Clé de diagnose illustrée des deux types d'acétabulum des paramphistomes potentiellement présents en France\*.

### b) IDENTIFICATION SPECIFIQUE DES PARASITES RECOLTES A L'ABATTOIR D'AUTUN

Cette clé de diagnose a été appliquée à 6 échantillons de paramphistomes provenant de notre étude à l'abattoir d'Autun.

Ces paramphistomes proviennent soit de vaches laitières soit de bovins de type allaitant issus de 6 départements différents les plus éloignés possibles parmi les 14 départements concernés par les bovins parasités et abattus à l'abattoir d'Autun.

Sur 6 échantillons 5 sont de l'espèce *C. daubneyi* et le dernier est du genre *Calicophoron spp*. Ce dernier n'a pu faire l'objet d'une identification complète du fait de l'absence de coupe passant médialement au génitalium terminal. Les résultats d'identification sont présentés dans le tableau suivant.

N°	Lame	Localité (C.P.)	Remarque	Conclusion
6025	11-37	74021		C. daubneyi
0398	11-31	70558	Vues obliques : absence d'images de génitalium terminal interprétable	Calicophoron spp.
7855	18-26	38255		C. daubneyi
7916	12618	03102		C. daubneyi
8613	12-17	58309		C. daubneyi
5870	19-01	42194		C. daubneyi

Tableau XXXVII: Résultat d'identification des paramphistomes récoltés en abattoir.

Ces résultats sont illustrés avec les photographies prises au cours de l'identification pour chaque lame (voir les planches présentées dans l'annexe 5).

# c) <u>Description des lames dont les parasites ont ete identifies sous le nom de</u> <u>Calicophoron daubneyi</u>

Ces Paramphistomatinés mesurent de 4,8 mm à 6,9 mm de long. Le corps est courbé ventralement.

L'acétabulum est terminal et s'ouvre sur la face ventrale. Il est de taille inférieure à la moitié de la longueur totale du corps avec un diamètre variant entre 1,3 et 2,1 mm. La couche musculaire circulaire dorsale est répartie en deux groupes de faisceaux musculaires avec un nombre d'unités plus grand pour la couche d.e.c. 2. L'acétabulum est de type Paramphistomum. Le rapport de son diamètre par rapport à la longueur totale du corps est de 0,3 en moyenne avec un écart-type de 0,07.

Le pharynx est globuleux. Sa surface antéro-interne est dépourvue de papilles rostralement. Les couches musculaires externe et moyenne sont peu développées avec un plus grand nombre de faisceaux musculaires au sein de la couche musculaire moyenne. Le pharynx est de type calicophoron (Eduardo, 1982). Il mesure en moyenne 611  $\mu$ m de long avec un écart-type de 45  $\mu$ m et en moyenne 598  $\mu$ m de large avec un écart-type de 86  $\mu$ m. Le rapport longueur du pharynx sur longueur totale du corps varie entre à 0,08 et 0,14. L'œsophage est rectiligne et court, sans bulbe. Il se divise et donne deux branches cæcales sinueuses se terminant ventralement au niveau de l'acétabulum.

Le génitalium terminal est présent sur la face ventrale au niveau de la bifurcation cæcale. La pars musculosa est cavitaire, assez courte, parfois dilatée, à paroi épaisse et

rectiligne. Elle est dite bien développée. Il s'agit donc de Paramphistomatinés du genre *Calicophoron*. Le génitalium terminal possède des atria ventraux de petite taille mais souvent visibles ainsi qu'un sphincter génital et un sphincter papillaire peu développés mais visibles. La papille génitale est présente et fait rarement saillie en dehors du génitalium terminal. Le sphincter papillaire est peu développé et réduit à quelques faisceaux musculaires circulaires. Les replis génitaux sont épais et donnent un aspect globuleux au génitalium terminal. Ce dernier est de type microbothrium. Les testicules grossièrement lobés et de forme irrégulière sont placés en tandem dans la partie moyenne du corps du parasite. Ils sont généralement très larges prenant un espace important dans le corps du parasite. L'ovaire est rond ou ovale. Il est placé entre l'acétabulum et le testicule postérieur dans la partie médio-dorsale du parasite. Les follicules vitellogènes sont présents de part et d'autre du corps du parasite en position latéro-latérale.

Le conduit excréteur débouche sur la surface dorsale du parasite, au niveau de la partie crâniale de l'acétabulum. La vessie excrétrice est dorsale à l'acétabulum.

L'ensemble des mesures et des calculs de moyennes et d'écarts-types sont présentés dans le tableau suivant.

Élément mesuré			Lar	Lames			Calc		
	19-01	18-26	12-17	11-37	12-18	11-31	Moy.	E. type	Normes selon (Eduardo, 1983)
L. du corps (mm)	6,1	6,2	4,8	6,5	6,9	5,3	6,0	0,8	3,5 -10,5
L. du pharynx (µm)	570	640	650	600	550	660	611,67	45,35	750 - 1170
L. Ph./L. Corps	0,09	0,10	0,14	0,09	0,08	0,12	0,10	0,02	0,10 - 0,18
Diam. Acét. (mm)	1,4	2,1	1,9	1,8	1,8	1,7	1,8	0,2	1,8 à 2,7
d.e.c. 1	15	16	8	13	15	14	14	3	14-28
d.e.c. 2	22	18	10	17	19	23	18	5	17-29
Acét./L. Corps	0,23	0,34	0,40	0,28	0,25	0,32	0,31	0,06	0,23 -0,53
L.pharynx/Acét.	0,38	0,30	0,34	0,33	0,31	0,39	0,34	0,03	0,4 - 0,5

Tableau XXXVIII : Mesures, moyennes et écarts-types des différents éléments de diagnose relevés e calculés à partir des 6 lames réalisées avec les paramphistomes prélevés à Autun.

Les longueurs de pharynx mesurées sont inférieures à la valeur usuelle inférieure. Des variations de mesures sont relativement fréquentes. Cependant, sur un échantillon de 6 lames, l'étude des mesures n'est qu'indicative. Aucune généralité ne peut en être tirée.

Cependant, l'ensemble des caractères étudiés permet d'identifier ces parasites comme étant des Paramphistomatinés de l'espèce *Calicophoron daubneyi* décrite par Eduardo (1983), Sey (1979) et Graber (1980).

### IV. DISCUSSION

Cette étude a pour but la mise en évidence d'une relation entre la charge parasitaire et le nombre d'o.p.g. dans le cas de paramphistomose bovine et la réalisation d'une clé de diagnose adaptée aux espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France.

# Relation entre les résultats coproscopiques et la charge parasitaires des paramphistomes chez les bovins

La coproscopie permet généralement, dans les cas d'une suspicion de paramphistomose due aux formes adultes, de confirmer le diagnostic. Sa sensibilité et sa spécificité satisfaisantes en font un test fiable (Rieu et al, 2007). La simple observation d'œufs permet de conclure à l'infestation. Au contraire, dans les cas de paramphistomose uniquement due aux formes immatures, les résultats négatifs ne permettent pas d'exclure l'infestation. En démontrant l'existence d'une relation entre la valeur d'o.p.g. et la charge parasitaire de paramphistomes chez le bovin, l'aspect quantitatif permet d'évaluer l'intensité de l'infestation. Le nombre d'o.p.g. de paramphistomes serait donc un nouvel outil qui permettrait d'objectiver le niveau d'infestation et de guider le praticien dans sa prescription.

Les résultats de coproscopie peuvent être obtenus par une méthode d'analyse simple effectuée par les laboratoires d'analyses. Mais, cette méthode peut aussi être facilement mise en place au sein d'un cabinet vétérinaire. Seuls du petit matériel, une cellule de McMaster, une solution de flottaison et un microscope optique sont nécessaires. La technique de référence dans les laboratoires utilise une solution d'iodomercurate (Raynaud et al., 1970) mais de plus en plus, pour des raisons de toxicité, une technique utilisant une solution de sulfate de zinc à la densité d'1,35 est utilisée (Raynaud et al., 1979). Dans notre étude, les examens coproscopiques ont été réalisés dans les conditions d'un cabinet vétérinaire avec du sulfate de zinc à la densité de 1,44. Cette technique a démontré sa fiabilité (Courouble, 2003) et a l'avantage de ne pas utiliser d'iodomercurate, toxique pour l'environnement, nécessitant un traitement particulier pour son élimination. Le diagnostic coproscopique de paramphistomose due aux formes adultes du parasite est donc à la portée du praticien vétérinaire.

Enfin, grâce à l'utilisation de la cellule de McMaster, le dénombrement des œufs de paramphistomes peut être obtenu. Pour son interprétation, une relation avec la charge parasitaire est nécessaire. Cette relation a d'abord été mise en évidence par Mage et Dorchies (1998) sur 45 taurillons mis à l'engraissement pendant 7 mois. Malheureusement, du fait d'un effectif trop restreint, les conclusions de cette étude ne sont pas statistiquement significatives même si elles montrent une tendance nette. Cette relation a aussi été évaluée par Rieu (2007) à partir d'observations et d'appréciation qualitative de la charge parasitaire de bovins abattus dans deux abattoirs de l'Est de la France. Les 148 coproscopies associées à l'examen visuel des panses ont permis de conclure qu'un résultat supérieur à 100 o.p.g. correspondait à une infestation par plus de 100 paramphistomes adultes chez le bovin (Rieu et al., 2007). Avec une approche quantitative, cette relation positive entre la charge parasitaire et le nombre d'o.p.g. de *C. daubneyi* a tout récemment été montrée en Espagne

(Gonzalez-Warleta et al., 2012). Dans cette présente étude, où une approche semiquantitative a été adoptée, la charge parasitaire des bovins abattus à Autun (71) a pu être reliée de manière positive aux résultats coproscopiques de ces mêmes animaux. Bien que la modélisation linéaire corresponde que moyennement aux résultats d'examen - avec un coefficient de régression linéaire de 0,62 - il existe une relation positive entre la relation entre la charge parasitaire et les résultats de coproscopie. Néanmoins, certains bovins de notre étude excrétaient peu d'œufs alors que de nombreux paramphistomes étaient présents dans le rumen. De même, 14 bovins sur 219 correspondent à des faux négatifs à l'examen coproscopique. Mais, on a pu observer que dans certains cas les paramphistomes ne mesuraient qu'un demi-millimètre et avaient une couleur rouge comme celle que possèdent les formes immatures. Ainsi, la présence de nombreux paramphistomes dans le rumen associée à une faible excrétion fécale pourrait s'expliquer par le fait que les paramphistomes présents dans ces cas particuliers ne soient pas matures sexuellement et ne soient pas encore entrés en ponte (voir figure n°22). Au contraire, certains animaux excrétaient beaucoup d'œufs pour une charge parasitaire modeste. Cela pourrait être expliqué avec l'hypothèse émise par Horak (1971) de sorte que les petites populations de paramphistomes pondent chacune de manière plus importante qu'une forte population parasitaire où une compétition pour les nutriments et la zone de fixation entrerait en jeu. De plus, vu les variations individuelles d'o.p.g. dans le temps, qui ont pu être mises en évidence dans d'autres études (Alzieu et al., 1999 ; Devos et al., 2010) et, vu le fait que « les moyennes d'o.p.g. restent stables au niveau d'un lot d'animaux » (Dorchies et al., 2000), il semble préférable d'utiliser cette relation pour l'interprétation d'un ensemble de résultats d'o.p.g. issus de l'examen des fèces de plusieurs animaux d'un même lot.

Certains points sont néanmoins à discuter. L'utilisation d'un cadre de 10 cm de côté selon le protocole décrit ne permet qu'une évaluation semi-quantitative du nombre de parasites car leur répartition n'est pas homogène sur l'ensemble de la surface de la muqueuse digestive. La précision du mode de comptage n'est pas optimale et un écart avec le nombre réel de paramphistomes est possible. De plus, les traitements antiparasitaires et les périodes de pâture ne sont pas connus pour les bovins examinés. Enfin, quelques o.p.g. positifs ont été obtenus pour des animaux chez qui aucun paramphistome n'a été observé. L'examen des panses réalisé dans cet essai, dans un délai variant entre 5 et 15 minutes, n'a donc pas permis de révéler tous les cas de faible infestation.

Ainsi, des études ultérieures pourraient dans leur protocole inclure un comptage individuel des parasites identifiés comme adultes sur des animaux ayant passé 3 mois en stabulation soit en fin d'hiver-début de printemps.

### Clé de diagnose et identification des parasites récoltés:

La diagnose d'espèce de paramphistomes n'est aujourd'hui jamais effectuée en France. Nous avons donc voulu élaborer une clé pour la diagnose des espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France métropolitaine. Une référence de clé a été celle de Sey (1980) qui n'a malheureusement pas inclus la description de la forme de la pars musculosa du fait de son antériorité par rapport à la révision de la taxinomie des paramphistomes de 1982 (Eduardo, 1982). La description des différents types de génitalium terminaux a été reprise et complétée pour faciliter l'utilisation de la clé.

Pour les paramphistomes cosmopolites retrouvés chez les bovins, le diagnostic de genre est facilement réalisable. En effet, la confusion entre les genres *Calicophoron*, *Paramphistomum* et *Cotylophoron* est facilement évitable. La présence en Europe du parasite et l'existence d'une ventouse génitale, ressemblant à un petit acétabulum au niveau du génitalium terminal permet d'identifier les parasites du genre *Cotylophoron*. Enfin, pour les paramphistomes retrouvés chez les ruminants, au niveau du génitalium terminal, la forme de la pars *musculosa*: cavitaire et en forme de gouttière, ou constituée par une masse cellulaire informe permet de différencier respectivement le genre *Calicophoron* et le genre *Paramphistomum* (Eduardo, 1982).

Un des points les plus délicats est la distinction entre *Calicophoron daubneyi* et C. microbothrium. Puisque les deux espèces présentent un acétabulum de type paramphistomum, un pharynx de type calicophoron et une génitalium terminal de type microbothrium. Les principaux caractères permettant de faire la différence sont l'orientation ventrale des terminaisons cæcales chez *C. daubneyi* et l'orientation dorsale chez *C. microbothrium* (Dinnik, 1962).

Un autre point délicat est que le génitalium terminal de type microbothrium ne doit pas être confondu avec d'autres types ayant des atrium ventraux bien développés ou un sphincter génital de diamètre plus important témoignant d'un développement supérieur (Näsmark, 1937).

Ainsi, à l'issue de l'étude histologique des paramphistomes, deux points sont à souligner. Selon les typologies, les clés de diagnose publiées, et les lames de référence observées, il est possible de conclure que *C. daubneyi* a réellement sa place dans le genre *Calicophoron*. En effet, la seule vue de la morphologie de la *pars musculosa*, bien développée et cavitaire, permet de trancher et ne peut pas être une source de confusion. Ainsi, de nos jours, il est indispensable d'appeler cette espèce *Calicophoron daubneyi* et non pas *Paramphistomum daubneyi*, comme cela pouvait être fait il y a trente ans.

L'identification des paramphistomes sur coupes histologiques n'est pas un examen de routine. Elle demande non seulement des connaissances anatomiques et un entraînement de la part de l'opérateur, mais aussi la réalisation de nombreuses coupes sériées (Näsmark, 1937). L'utilisation de ces coupes permet de suivre l'orientation des différents organes comme les branches cæcales mais aussi d'observer sur plusieurs coupes le génitalium terminal. Le travail de coupe du parasite et de réalisation des lames est ainsi déterminant pour l'identification d'un paramphistomes. Cet examen fait donc appel a une bonne technicité du laboratoire et des opérateurs et a un coût non négligeable.

Afin d'obtenir une identification fiable, et afin de limiter les erreurs dues aux variations morphologiques individuelles, il serait conseillé de réaliser la diagnose d'espèces sur plusieurs parasites provenant du même animal. Le polyparasitisme dû à plusieurs espèces de paramphistomes n'a pas encore été démontré. Il est communément admis qu'en général, une seule espèce infeste le bovin même si le polyparasitisme reste théoriquement possible.

Cette clé a permis d'identifier cinq échantillons sur six comme étant *C. daubneyi* et un comme appartenant au genre *Calicophoron*. L'ensemble des critères observés et mesurés est en effet compatible avec la description de *C. daubneyi* faite par les différents auteurs (Sey,

1979, Eduardo, 1983). Des mesures souvent plus faibles que les valeurs usuelles, concernant la longueur des différents organes, ont néanmoins été obtenues. Mais, les valeurs usuelles varient d'un auteur à l'autre. Les variations obtenues peuvent donc être considérées comme non significatives. L'identification de *C. daubneyi* dans la majorité des échantillons est en accord avec la littérature qui déclare *C. daubneyi* comme étant l'espèce de paramphistome principalement responsable de la paramphistomose bovine en France.

Ainsi, cette présente étude conforte l'existence d'une relation positive entre les résultats coproscopiques et le nombre de paramphistomes adultes présents chez le bovin adulte. Les nombres d'o.p.g. obtenus pour un lot d'animaux sont donc des indications utiles pour le praticien pour estimer le niveau d'infestation de ce lot. Ce résultat conforte aussi le fait que l'examen coproscopique est un outil indispensable à l'analyse des risques concernant l'infestation des bovins par les paramphistomes.

après les multiples observations microscopiques différents paramphistomes ayant été retrouvés en France et identifiés par Graber, l'identification de ces parasites reste difficile. Mais, une observation précise et minutieuse des organes, sur des coupes histologiques sériées, avec un opérateur formé, permet selon notre clé de diagnose de différencier les espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France métropolitaine. En effet, ces éléments mettent en évidence les critères de diagnose clés et précisent les formes à reconnaître, afin que la diagnose sur coupes histologiques de ces espèces puisse être utilisée par n'importe quel opérateur et non pas par quelques spécialistes. Même si l'identification des paramphistomes sur coupe histologiques reste coûteuse, difficile à mettre en place nécessitant une bonne technicité du laboratoire et de ces opérateur, elle serait indispensable à la mise au point d'un test moléculaire permettant d'identifier les paramphistomes par P.C.R. par exemple. Ce travail s'inscrit donc dans une démarche de recherche scientifique en biologie moléculaire.

### CONCLUSION

La paramphistomose bovine considérée comme émergente en France dans certaines régions est assez peu connue et son diagnostic est encore rarement établi. Les signes cliniques étant généralement frustes, seule la coproscopie permet de confirmer l'infestation par les paramphistomes du vivant de l'animal. Cet examen, relativement simple, fiable et réalisable au cabinet vétérinaire. L'interprétation qualitative permet de mettre en évidence l'infestation. De plus, grâce à la relation mise en évidence entre la charge parasitaire et les résultats de coproscopie, l'interprétation quantitative des résultats de coproscopie permet au praticien vétérinaire d'estimer pour un lot d'animaux l'intensité de l'infestation. Ainsi, les résultats qualitatifs et quantitatifs issus de l'examen coproscopique sont à prendre en compte pour mettre en place une lutte raisonnée et ciblée, adaptée à chaque élevage bovin.

En France, entre 1945 et 1980, cinq espèces de paramphistomes ont été observées. De nos jours, l'identification spécifique de l'agent étiologique est très rarement réalisée lors de paramphistomose bovine. Au cours de notre étude, quelques paramphistomes prélevés à l'abattoir ont été identifiés comme étant Calicophoron daubneyi, l'espèce communément incriminée en France chez les bovins. Ces identifications ont été réalisées avec l'utilisation de la clé de diagnose mise au point pour les espèces potentiellement présentes en France. Cette clé met en évidence les caractères morphologiques déterminants du parasite pour son identification par histologie et, constitue un outil pour la mise au point ultérieure d'un diagnostic moléculaire d'espèce.

Enfin, l'existence de nombreux porteurs sains et l'observation de quelques rares cas de paramphistomose pré-imaginale font que cette maladie parasitaire est souvent ignorée et rarement traitée convenablement par les éleveurs. Cela semble d'autant plus vrai, que de nombreux protocoles thérapeutiques existent et qu'aucune spécialité pharmaceutique ne possède l'indication « paramphistomose bovine ». Ainsi, la paramphistomose bovine en France est une maladie encore assez peu décrite, assez peu diagnostiquée et assez peu traitée. Mais, vu son apparente extension et sa forte prévalence dans certaines régions, son contrôle pourrait devenir une priorité.

Thèse de Mile BAILLY Sandrine

Le Professeur responsable VetAgro Sup campus vétérinaire

Queux Docteur Médecine Vétérinair

L. Zenner

Le Président de la thèse

Docteur Michel BERLAND

Professeur Emérite Gynécologie-Obstétrique Université Lyon 1

Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 1 4 NOV. 2012

Pour le Président de l'Université

Professeur F.N GILLY

Le Président du Comité de Coordination de Etudes Médicales,

Le Directeur général

Par délégation

Pr F. Grain - DEVE

VetAgro Sup

Campus Vétérinaire

VetAgro Sup

### **BIBLIOGRAPHIE**

ABROUS M., RONDELAUD D., DREYFUSS G. (1997). *Paramphistomum daubneyi*: the development of redial generations in the snail *Limnea truncatula*. Parasitology research, 83 (1), 64-69.

ABROUS M., RONDELAUD D., DREYFUSS G. (1999a). *Paramphistomum daubneyi* and *Fasciola hepatica*: influence of temperatures changes on the shedding of cercariae from dually infected *Lymnea truncatula*. Parasitology research, 85, 765-769.

ABROUS M., DREYFUSS G., RONDELAUD D. (1999b). L'aptitude de huit espèces de mollusques aquatiques à assurer le développement larvaire de *Paramphistomum daubneyi* Dinnik lors d'une infestation monospécifique ou d'une co-infestation avec *Fasciola hepatica* Linné. Revue de Médecine Vétérinaire, 150, (8-9), 727-732

ABROUS M., RONDELAUD D., DREYFUSS G., CABARET J. (1999c). Infection of *Lymnea truncatula* and *Lymnea glabra* by *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi* in farm of central France. Vet. Res., 30, 113 – 118.

ALZIEU J-P., COUROUBLE F. (2004). Actualités sur la paramphistomose bovine. Le point vétérinaire, 78-83.

ALZIEU J-P., DORCHIES Ph. (2007). Émergence de la paramphistomose bovine en France : Synthèse des connaissances actuelles épidémiologiques, physiopathologique et diagnostiques. Bull. Acad. Vét. France, 2 (160), 93–98.

ALZIEU J-P., BERGEAUD J-P., DORCHIERS Ph. (1999). Essai de traitement de la paramphistomose bovine par l'oxyclozanide. Revue de Médecine Vétérinaire, 150, (8-9), 715-718.

ANONYMOUS (2011) D.M.V.: Dictionnaire des médicaments vétérinaires et des produits de santé animale commercialisés en France. 16ème édition. Les éditions du Point Vétérinaire, Rueil-Malmaison 1883 p.

ARIAS M. et al. (2011) Prevalence of mixed trematode infections in an abattoir receiving cattle from northern Portugal and north-west Spain. Veterinary record, 168, 408-412.

BOUVRY M., RAU M. E. (1984) *Paramphistomum spp*. in Dairy Cattle in Quebec. Canadian Veterinary Journal, 25, 353 -356.

BUSSIERAS J., CHERMETTE R. (1988) Abrégé de parasitologie vétérinaire. Fascicule III. Helminthologie, Information Technique des services vétérinaires, Paris, 267 p.

CASSET I. (1989) Enquête sur la Paramphistomose bovine : recherche de parasites en abattoir. Revue de Médecine Vétérinaire, 140, 10, 925-927.

CHAUVIN A., AGOULON A. (2007) La recherche des limnées tronquées pour la prophylaxie de la fasciolose ou de la paramphistomose. Bulletin des G.T.V. – hors série parasitisme des bovins, 137 – 140.

COUROUBLE F. (2003) Résultats comparés d'une méthode de coproscopie utilisant le sulfate de zinc comme liquide de flottaison et facile à mettre en oeuvre en cabinet vétérinaire et la méthode de référence utilisant le iodomercurate de potassium. Journées nationales G.T.V.-Nantes 2003, 737.

COUROUBLE F. (2007) La paramphistomose chez les bovins. Bulletin des G.T.V. – hors série parasitisme des bovins, 85-86

COUROUBLE F., RIZET X., REMMY D.(2004) Contrôle de la paramphistomose chez les bovins : essais de protocoles avec l'oxyclozanide. Bulletin des G.T.V., 23, 57-61.

COUROUBLE F., TESSIER P., RIZET X., REMMY D. (2003) La paramphistomose chez les bovins en France : réalités cliniques, impact zootechniques, données récentes sur le traitement par l'oxyclozanide. Poster, SNG.T.V., Nantes, 736.

COUROUBLE F., BUTTY N., REMMY D., LOPEZ A. (2011) Traitement de la paramphistomose à l'oxyclozanide à l'aide d'une mélangeuse : résultats d'un essai. Le point vétérinaire, 320, 54-58

COUROUBLE F., RIZET X., REMMY D.(2004) Contrôle de la paramphistomose chez les bovins : essais de protocoles avec l'oxyclozanide. Bulletin des G.T.V., 23, 57-61.

COURTNEY C. H., SHEARER J. K., WHITTEN R. D. (1984) Safety and Efficacity of Albendazole Against Cattle Flukes. Modern vet practice, 65 (11), 845-847.

BOWMAN D. D. (2003) Georgis'Parasitology for veterinarians – eighth edition. Saunders, St Louis, 402 p.

DAS A. K. et al. (1990) Efficacy of Albendazole against amphistome infection in cattle – a field trial. Indian Veterinary Journal, 67, (9), 862-863

DE WAAL T. (2010). *Paramphistomum* – a brief review. Irish Veterinary Journal, 63, (5), 313 – 315.

DEVOS J., ZENNER L. (2009) La paramphistomose larvaire est considérée comme émergente en France. La semaine vétérinaire, 1385 et 1386, 34-35

DEVOS J., ZENNER L. (2011) Paramphistomose larvaire dans un troupeau de vaches montbéliardes. Le point Vétérinaire, 314, 44-48.

DEVOS J., DORE C., MARCOTTY T. (2012) Effets de différents protocoles thérapeutiques sur les paramphistomes adultes des bovins. Journée Nationale des G.T.V. -Nantes, 557 – 561.

DEVOS J., DORE C., LEBOEUF F., MARCOTTY T. (2010) Étude de la prévalence des coinfections *Paramphistomum daubneyi / Fasciola hepatica* dans les troupeaux infestés par *P. daubneyi*. Journées nationales G.T.V. – Lille, 913 - 919.

DEWILDE S. et al. (2008) The hemoglobins of trematodes *Fasciola hepatica* and *Paramphsitomum epiclitum*: A molecular biological, physico-chemical, kinetic and vaccination study. Protein science, 17, 1653-1662

DIAZ P. et al. (2006) Analysis of the IgG antibody response against Paramphistomidae trematoda in naturally infected cattle – Application to serological surveys. Veterinary Parasitology, 140, 281-288.

DIAZ P. et al. (2007) Assessment of climatic and orographic conditions on the infection by *Calicophoron daubneyi* and *Dicrocœlium dentriticum* in grazing beef cattle (NW Spain). Veterinary Parasitology, 149, 285–289.

DINNIK, J. A. (1962) *Paramphistomomum daubneyi sp. nov*. from cattle and its snail host in the Kenya Highlands. Parasitology, 52, 143-151.

DORCHIES Ph. (1989) Les Paramphistomidés : leur apparente extension en France et les difficultés pratiques d'identification en coproscopie. Revue de Médecine Vétérinaire, 140 (7), 573-577.

DORCHIES Ph. (1998) La paramphistomose bovine en France : une parasitose en extension., Bull. Soc. Vét. Prat. de France, 82 (8), 423-438

DORCHIES, Ph. (2006) Flukes: old parasites but new emergence. In Proceedings of the World Buiatric Congress, Nice,15-19 octobre 2006, 322-336.

DORCHIES Ph., TESSIER P. (2001) Anthelmintic activity of albendazole on *Paramphistomum daubneyi* in cattle. In Proceedings of the WAAVP Congress, Stresa, 26-30 août 2001.

DORCHIES Ph., LEVASSEUR G., ALZIEU J.P. (2000) La Paramphistomose bovine : une pathologie d'actualité. In Parasitism bovin, Société Française de Buiatrie, 132-142.

DORCHIES Ph., BERGEAREAUD J-P., DURANTON C., TESSIER P. (1998) Extension de la paramphistomose bovine en France : résultats d'une enquête coproscopique sur 465 bovins dans treize départements. Revue de Médecine Vétérinaire, 149 (11), 1029-1032.

DORCHIES Ph., LACROUX C., LEVASSEUR G., ALZIEU J-P. (2002a) La paramphistomose bovine. Bull. G.T.V., 13, 87-90.

DORCHIES Ph., ALZIEU J-P., BOSQUET G., CAMUSET P., CHAUVIN A., (2010) Grande douve, paramphistome: place du plan expertise grande douve dans la maîtrise des trématodoses en zones humides. Journées Nationales G.T.V., Lille, 869-880

DORCHIES Ph., LACROUX C., NAVETAT H., RIZET C., GUENEAU E., BISSON B., FERTE H. (2002b) Trois cas d'une nouvelle entité pathologique : la paramphistomose larvaire chez les bovins. Bulletin G.T.V., 13, 91-93.

DORE C., CLAIRAND S., REBILLARD A. (2012) Estimation de la prévalence de *Paramphistomum daubneyi* en France par la collecte de données coproscopiques et d'observations en abattoir : développement de cartes de prévalence. Recueil des Journées Nationales des G.T.V., 1045-1072

DOUMENC V. (2003) Helminthofaune des caprins en Saône et Loire. Influence du pâturage mixte avec les bovins. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse, 100p.

DUNN T. S., HANNA E. B., NIZAMI W. A. (1987) Ultrastructural and cytochemical observations on the tegument of three species of paramphistomes (Plathelminthes: digenea). from the Indian water buffalo, *Bubalus bubalis*. International Journal of parasitology, 17 (6), 1153-1161.

EDUARDO S. L. (1979) The tegumental Surfaces of Some Species of the Genus Paramphistomum Fischoeder, 1901, as Revealed by Scanning Electron Microscopy. British Society for Parasitology: Proceedings, Parasitology, 79, iii.

EDUARDO S. L. (1982a) The taxonomy of the family Paramphistomidae Fischoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. I. General considerations. Systematic Parasitology, 4, 7-57.

EDUARDO S. L. (1982b) The taxonomy of the family Paramphistomidae Fischoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. II. Revision of the genus *Paramphistomum* Fischoeder, 1901. Systematic Parasitology, 4, 189-238.

EDUARDO S. L. (1983) The taxonomy of the family Paramphistomidae Fischoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. III. Revision of the genus *Calicophoron* Näsmark, 1937. Systematic Parasitology,, 5, 25-79.

EUZEBY J. (1975) Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tome 2 : Maladies dues aux Plathelminthes. Fascicule 3 : Trématodes autres que les formes hépato-biliaires. Bilharzioses. Trématodes des poissons. Vigot et Frères, Paris, 855 p.

EUZEBY J. (2008) Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire. Éditions Tec et Doc, Paris, 815p.

FONTENEAU M. (1979) La paramphistomose bovine en expansion dans l'ouest de la France. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 52, 367-372.

FRESNAY E. (2004) Exemple de mise en œuvre de la « cascade » dans le traitement de parasitoses chez les ruminants laitiers. Bulletin des G.T.V. – hors série parasitologie des ruminants laitiers, 352-356.

FRIED B., GRACZYK T. (1997) Advances in trematode biology.CRC Press, New York, 466 p.

GEVREY J., BOURDOISEAU G. (1998) Le traitement de la paramphistomose des ruminants. Le point vétérinaire, 29 (194), 47-48.

GONZALEZ-WARLETA et al. (2012) Bovine paramphistomosis in Galicia (Spain): Prevalence, intensity, aetiology and geospatial distribution of the infection. Vet. Parasitol. http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.006

GRABER M., CHAUVE C., FONTENEAU M. (1980a) Existence en France de *Paramphistomum daubneyi* Dinnik1962. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 53, 265-271.

GRABER M., EUZEBY J.-A., GEVREY J.-P. (1980b) Présence en France de *Paramphistomum leydeni*, Näsmark, 1937. Annales de Parasitologie Humaine et Comparée, 55, 565-569

GUILHON J., PRIOUZEAU T. (1945) La paramphistomose bovine en France, Recueil de Médecine Vétérinaire, 121, 225-237.

GUPTA B. C., PARSHAD V. R., GURAYA S. S. (1987) Histochemical studies on eggshell formation in *Paramphistomum cervi* (Digenea : Paramphistomatidae). Journal of Helminthology, 61 (1), 59-64.

HORAK I.G. (1971) Paramphistomiasis of domestic ruminants. Adv. Parasitol. 9, 33-72.

JOLY Y. (1991) Contribution à l'étude du diagnostic sérologique de la paramphistomose bovine par la méthode E.L.I.S.A. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 193 p.

JONES A., RODNEY A., GIBSON D. I. (2005) Keys to the Trematoda, Volume 2. CABI Publishing and The Natural History Museum, London, 745 p.

KHAN, U. J., TANVEER A., MAQBOOL A., MASOOD S. (2008) Epidemiological studies of paramphistomosis in cattle. Vet. arhiv 78, 243-251.

MEYER JONES L. (1977) Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Fourth edition, AMES, 1070-1071.

LAURENT J-L. (1998) Le point sur la paramphistomose bovine. L'action vétérinaire, 1425, 15-18.

LEFEVRE P-C., BLANCOU J., CHERMETTE R. (2003) Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et région chaudes. Tome 1 et Tome 2. Tec et Doc, Paris, 1824 p.

LEVASSEUR G. (2004) Paramphistomose bovine : comment et quant traiter à l'oxyclozanide ? Bulletin des G.T.V., 23, 335-339.

LEVASSEUR G., ALZIEU J-P. (1991) La paramphistomose. Bulletin G.T.V., 6B (404), 153-155.

LEVASSEUR G., ALZIEU J-P. (2002) Paramphistomose et dicrocoeliose chez les bovins : Une réalité clinique – Une proposition de gestion pour les cheptels infestés. Journées nationales G.T.V. – Tours, 499–505.

LOOCK N. (2002) Enquête de prévalence de la paramphistomose à l'abattoir de MIRECOURT (88). Journées Nationales G.T.V. – Tours, 803.

LOTFY W. M., BRANT S. V., ASHMAWY K. I., DEVKOTA R., MKOJI G. M., LOKER E. S. (2010) A molecular approach for identification of paramphistomes from Africa and Asia. Veterinary Parasitology, 174, 234–240.

MAGE C., REYNAL Ph. (1990) Les paramphistomidés. Essai de quelques anthelminthiques. Bulletin des G.T.V., 4B (356), 9-11.

MAGE C., DORCHIES Ph. (1998) Relation coproscopie-populations parasitaires dans la paramphistomose des bovins. Revue de Médecine Vétérinaire, 149, (10), 927-929.

MAGE C., DELAS Ph., REYNAL Ph. (1997) Contrôle des paramphistomes chez les bovins avec le bithionol-oxyde (Nilzan® R.M.). Bulletin des G.T.V., 3B (555), 39-43.

MAGE C., BOURGNE H., TOULILIEU J-M., RONDELAUD D., DREYFUSS G.. (2002) *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalences of natural infections in cattle and in *Lymnea truncatula* from central France over the past 12 years. Veterinary Research, 33 (5), 439-447.

MAVENYENGWA M., MUKARATIRWA S., MONRAD J. (2010) Influence of *Calicophoron microbothrium* amphistomosis on the biochemical and blood cell counts of cattle. Journal of helminthology, 84, 355–361

MERCIER L., OTZ P., LESORBE G., ALOGNINOUWA T., ARCANGIOLI M.A. (2008) Summer Paramphistomum Larvae Infestation in Dairy Heifer Lot. 25th World Buiatric Congress, July 10th, 2008, Budapest, Hungary.

MOHAPATRA P. K. et al. (1990) Flukicidal activity of thiophanate an albomar against bovine paramphistomes. Indian veterinary journal, 67 (8), 756-759

NÄSMARK, K. E. (1937) A revision of the Trematode Family Paramphistomidae. Zoologista Bidrag Frau Uppsala, 16, 301-356.

NEVEU-LEMAIRE M. (1936) Traité d'helminthologie médicale et vétérinaire. Vigot frères, Paris, 361 p.

OLSEN O. W. (1986) Animal parasites – Their Biology and Life Cycle. Burgess publishing company, Minneapolis, 564 p.

PANYARACHUN B. et al. (2010) *Paramphistomum cervi*: Surface topography of the tegument of adult fluke. Eperimental Parasitology, 125, 95–99.

PARAUD C., REMMY D., CHARTIER C. (2008) Paramphistomose caprine: évaluation de l'efficacité de l'oxyclozanide en conditions expérimentales. Bulletin des G.T.V., 44, 71-74.

POSTAL J.M. (1984) Les paramphistomoses gastroduodénales des ruminants. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Créteil, 193 p.

RAYNAUD J-P. (1970) Étude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. Annales de Parasitologie Humaine et Comparée. 45, 321-342.

RAYNAUD J-P., LEROY J-C., VIRAT M., NICOLAS J-A., (1979) Une technique de coproscopie quantitative polyvalente par dilution et sédimentation en eau, flottaison en solution dense et numération en lame de McMaster, revue médecine vétérinaire, 130, (3), 377-404.

RIEU E. (2004) Les paramphistomoses gastroduodénales bovines : enquête épidémiologique en Champagne Ardenne et mise au point d'un test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes parasitaires. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Créteil, 251 p.

RIEU E. et al. (2007) Reliability of coprological diagnosis of *Paramphistomum sp*. Infection in cows. Veterinary Parasitology, 146, 249 -253.

RINALDI et al. (2009) Helmintic infections in water buffaloes on Italian farms : a spatial analysis. Geospatial Health 3 (2), 233-239.

RINALDI et al. (2005) Characterization of the second internal transcribed spacer of ribosomal DNA of *Calicophoron daubneyi* from various hosts and locations in southern Italy. Veterinary Parasitology, 131, 247-253.

RIZET X. (2003) Traitement et prévention de la paramphistomose en élevage bovin allaitant : essai d'un protocole thérapeutique utilisant l'oxyclozanide. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Nantes, 106 p.

ROLFE P. F., BORAY J-C. (1987) Chemotherapy of Paramphistomosis in cattle. Australian Vétérinary Journal, 64 (11), 328-332.

ROLFE P. F., BORAY J-C., NICHOLS P., H. COLLINSI G. (1991) Epidemiology of paramphistomosis in cattle. International Journal for Parasitology, 21, 813-819.

RONDELAUD D., VIGNOLES P., DREYFUSS G. (2009) La limnée tronquée, un mollusque d'intérêt médical et vétérinaire. Presses universitaires de Limoges, Limoges, 283 p.

RONDELAUD D., HOURDIN P., VIGNOLES P., DREYFUSS G. (2008) Les générations annuelles de *Galba truncatula* (Mollusca Limneidae). dans le département de Haute Vienne. Annales Scientifiques du Limousin, 19, 21-31.

SANABRIA R., MORE G., ROMERO J. (2011) Molecular characterization of the ITS-2 fragment of *Paramphistomum leydeni* (Trematoda: Paramphistomidae). Veterinary Paraistology, 177, 182–185.

SECK M. T., MARCHAND B., BA C. T. (2007) Étude histopathologique du rumen de bovins infestés par *Carmyerius marchandi* (Gastrothylacidae) et par *Paramphistomum microbothrium* (Paramphistomidae), dans la région sud du Sénégal. Annales de Médecine Vétérinaire, 151, 200-206.

SECK M. T., BA C. T., MARCHAND B. (2008) Présence de *Paramphistomum daubneyi* Dinnik, 1962 (Digenea, Paramphistomidae, Trématode). au Sénégal. Revue d'élevage et de médecine Vétérinaire des Pays tropicaux, 61 (3-4), 181-184.

SEY O. (1976) Examination of Paramphistomid Species of Bulgarian Domestic Ruminants. Parasitologia Hungarica. 9, 25-29.

SEY O. (1979) Life-cycle and geographical distribution of *Paramphistomum daubneyi* Dinnik, 1962 (Trematoda: paramphistomata). Acia Veterinaria Academine Scientiarum Hungaricae, 27, 115–130.

SEY O. (1980) Revision of the Amphistomes of European ruminants. Parasitologia Hungarica, 13, 13-25.

SEY O. (1987) Typifying and classifying of the muscular organs of amphistomes. Parasitologia Hungarica, 20, 45-63.

SEY O. (1988) Scope of and proposal for systematics of Amphistomida. Parasitologia Hungarica 21, 17-30.

SHARMA P. N., HANNA R. E. B. (1988) Ultrastructural and cytochemistry of the tegument of *Orhtocoelium scoliocoelium* and *Paramphistomum cervi* (Trematoda: Digenea). Journal of Helminthology, 62, 331-343.

SMYTH J. D., Halton D. W. (1984) The physiology of trematodes – second edition. Cambridge University Press, Cambridge, 432 p.

SPENCE S. A., FRASER G. C., CHANG S. (1996) Response in milk production to the control of gastro-intestinal nematode and paramphistome parasites in dairy cattle. Australian Veterinarian Journal, 74, 456–459.

SWAN G. E. (1999) The pharmacology of halogenated salicylanilides and their anthelmintic use in animals. JI South Africa veterinary association, 70 (2), 61-70.

SZMIDT-ADJIDE V., ABROUS M., ADJIDE C. C., DREYFUSS G., LECOMPTE A., CABARET J., RONDELAUD D. (2000) Prevalence of *Paramphistomum daubneyi* infection in cattle in central France. Veterinary Parasitology, 87 (2-3), 133-138.

SZMIDT-ADJIDE V., ADJIDE C. C., RONDELAUD D., DREYFUSS G., MAGE C. (1996) L'état des connaissances sur *Fasciola hepatica* Linne, 1758 et *Paramphistomum daubneyi* Dinnik, 1962. Bulletin des G.T.V., 4B (529), 45-54.

THIENPONT. D., ROCHETTE F., VANPARIJS O.F.J. (1979). Diagnostic de verminose par examen coprologique. Janssen Animal Health, Beerse, 215 p.

VELLEINE C. (2005) Étude de la paramphistomose ovine en Creuse. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 121 p.

XIMENES T., RONDELAUD D., MAGE C., CHERMETTE R. (1993) L'élimination de la limnée tronquée dans les pâturages : contrôle biologique et lutte intégrée contre la fasciolose. Le point vétérinaire, 24 (149), 55–61.

YAMAGUTI S. (1971) Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates. Vols. 1 et 2. Keigaku publishing compagny, Tokyo, 1774 p.

YAMAGUTI S. (1975) A synoptical rewie of life histories of digenetic trematodes of vertebrates with special reference to the morphology of their larval forms. Keigaku publishing compagny, Tokyo, 590 p.

#### Sites internet utilisés :

The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products – Veterinary Medecines and Inspections (Page consultée le 10 octobre 2012). Committee for Veterinary Medicinal Product - Oxyclozanide – summary report. Site de l'Agence Européene en charge de l'Evaluation des Médiacaments [en ligne]

Adresse URL

http://www.ema.europa.eu/docs/en GB/document library/Maximum Residue Limits - Report/2009/11/WC500015368.pdf

INSERM et <u>Université Pierre et Marie Curie (UPMC)</u> (Page consultée le 24 octobre 2012) Site de statistique en ligne de l'université Pierre et Marie Curie de Jussieu, Paris [en ligne] Adresse URL: http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/?module=tests

Anonymous (Page consultée le 18 avril 2012). The Free Encyclopedia, [en ligne] Adresse URL: http://en.wikipedia.org

Anonymous (Page consultée le 09 juin 2012). Le service public de la diffusion du doit [en ligne] Adresse URL: http://www.legifrance.gouv.fr

### Logiciels:

R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <a href="http://www.R-project.org/">http://www.R-project.org/</a>.

Nikon (2003). Eclipse.Net: Software for laboratory imaging. Nikon corporation, Tokyo, Japan.

### **ANNEXES**

#### Annexe1

### Technique de coproscopie quantitative du Dr François Courouble pour la recherche des œufs de Paramphistomes et de Douves

Dr. François COUROUBLE

La technique utilisée permet la recherche et la numération des éléments parasitaires dans les fèces avec une précision moyenne de 1 oeuf par gramme. Elle utilise un liquide de flottaison peu toxique et d'une densité permettant la recherche de tous les types d'œufs couramment rencontrés chez nos animaux domestiques (Sulfate de Zinc de densité 1,44).

### Déroulement de la manipulation :

Le protocole comprend plusieurs étapes :

- 1) Une **dilution** dans 400 à 450 ml d'eau de **30 grammes** de fèces après écrasement dans un récipient puis tamisage à travers un tamis de 200  $\mu$ m à l'aide d'une pluie fine et de forte pression obtenue avec une douchette.
- 2) Une **1**ère **décantation** dans un verre à pied de 500 ml pendant 30 mn au minimum. Ce délai peut être prolongé plus de 24 heures.
- 3) Une vidange du surnageant et transfert du culot dans une éprouvette de 25 ml pour une **2**ème **décantation** pendant 30 mn au minimum. Ce délai peut être prolongé plus de 24 heures.
- 4) Une vidange du surnageant par aspiration pour conserver **6 ml** de volume contenant tout le sédiment (si le sédiment dépasse 6 ml, nous conservons un volume multiple de 3).
- 5) Une reprise de **1 ml** du sédiment après homogénéisation et mélange avec **4 ml** de sulfate de zinc de densité 1,44.
- 6) Une reprise de **1 ml** du mélange après homogénéisation et remplissage d'une cellule de Mac-Master où se fait la **flottaison**.
- 7) Une lecture après 5 mn minimum de flottaison et dénombrement des éléments parasitaires présents dans la totalité des 2 chambres.

### Calcul de la quantité d'œufs :

Pour 30 grammes de fèces et un sédiment contenu dans 6 ml de volume, le volume repris de 1 ml contient l'ensemble des œufs présents dans 5 grammes de fèces. Il est mélangé aux 4 ml de liquide de flottaison. La mise en cellule de 1/5 ème de ce volume permet de dénombrer tous les œufs présents dans 1 gramme de fèces.

La formule brute est N /  $(P \times (1/V \times 1/5)) = o.p.g$ . Avec pour variables : N : nb d'œufs observés, P : masse pesée et traitée, V : volume du culot de 2ème sédimentation.

La formule simplifiée est :  $N \times (5xV)/P = o.p.g.$ 

Si le volume de sédiments est de 9 ou 12 ml, nous multiplions le résultat obtenu par respectivement 1,5 ou 2. Dans ce cas pour la recherche des éléments présents en faible nombre (recherche spécifique dicrocoeliose et fasciolose), nous refaisons une deuxième cellule pour conserver la précision de 1 œuf par gramme.

Les coefficients multiplicateurs en fonction du poids des fèces et du volume de sédiment résiduel sont présentés dans le tableau suivant.

	30 g	20 g	15 g	10 g	5 g
6 ml	1	1.5	2	3	6
9 ml	1.5	2.25	3	4.5	9
12 ml	2	3	4	6	12
15 ml	2.5	3.75	5	7.5	15
18 ml	3	4.5	6	9	18

### Préparation du liquide de flottaison (sulfate de zinc de densité 1,42 minimum) :

- 1) Prendre un récipient en verre (type bonbonnière)
- 2) Pesez 350 g de Sulfate de Zinc heptahydraté
- 3) Ajouter 1 litre d'eau purifiée
- 4) Laisser reposer et prélever le surnagent (cristaux au fond). Éventuellement faite tiédir la solution (bain marie) jusqu'à 50 °C, en dépassant cette température la solubilité du sulfate de zinc diminue.
- 5) Mesurer la densité soit avec un densimètre soit en pesant avec une balance de précision au 0,1 g, 10 ml de liquide mesuré à la pipette

#### Annexe 2:

# Protocole de préparation des coupes histologiques de paramphistomes

I. Méthode de déshydratation pour inclusion en paraffine
 protocole manuel en cuve de verre et étuve
 bactériologique

### 1. Echantillons

Pour cet essai, les paramphistomes fraîchement prélevés sont placés dans des pots contenant de l'alcool à 70° et sont conservés à température ambiante jusqu'à préparation des coupes.

### 2. Mode opératoire

### 2.1. Principe

En sortant du fixateur les échantillons vont passer dans des bains d'éthanol de degré croissant puis dans trois bains d'éthanol absolu et enfin dans trois bains d'alcool butylique. Puis les cassettes passent dans deux bains de paraffine à l'étuve. Les quatre premiers bains d'alcool se font sous agitation douce. Le dernier bain d'alcool butylique est un liquide d'attente dont la durée peut être prolongée indéfiniment.

### 2.2. Déroulement

- Centrifugation
- BAIN N° 1 : éthanol 70° sous agitation douce pendant 1 heure
- Centrifugation
- BAIN N° 2 : éthanol 90° sous agitation douce pendant 1 heure
- Centrifugation
- BAIN N° 3 : éthanol 100° sous agitation douce pendant 2 heures
- Centrifugation
- BAIN N° 4 : éthanol 100° sous agitation douce pendant 2 heures
- Centrifugation
- BAIN N° 5 : éthanol 100° pendant 2 à 12 heures
- Centrifugation
- BAIN N° 6 : butanol pendant 24 heures
- Centrifugation
- BAIN N° 7 : butanol pendant 24 heures
- Centrifugation
- BAIN N° 8 : butanol pendant 24 heures à indéfiniment
- Centrifugation
- Passage à l'étuve à 60°C avec enregistrement continu de la température
- BAIN PARAFFINE N° 1 pendant 24 heures
- BAIN PARAFFINE N° 2 pendant 24 heures
- Ventilation de l'étuve avec bacs de paraffine ouverts

### 3. Bibliographie

GABE M. (1968). Techniques histologiques. MASSON et Cie édit., Paris, pages 70 à 88

## II. Technique de montage des coupes histologiques de paramphistomes.

### **Principe**

Les coupes histologiques sont réalisées sur un microtome rotatif à l'épaisseur de 5 à 6 micromètres et étalées sur un bain d'eau chaude à 42°C environ. Ces coupes sont recueillies sur des lames de verre, égouttées. Un passage 1 heure à l'étuve à 60°C permet de coller ces coupes sur la lame.

### III. Protocole de coloration : hématoxyline de Harris-éosine adapté à la coloration de coupes histologiques de paramphistomes

### 1. Réactifs

Les réactifs utilisés sont une solution d'hématoxyline acidifiée et une solution d'éosine jaunâtre. L'hématoxyline est disponible sous forme de solution prête à l'emploi (Thermo scientific ref. : 6765003). L'éosine jaunâtre se prépare selon les proportions données dans le tableau suivant.

Solution	Masse ou volume					
Eosine jaunâtre	2 g					
Eau du robinet	100 ml					
Formaldéhyde	0,2 ml					

Tableau : Composition de la solution d'éosine jaunâtre

### 2. Protocole de coloration

Les étapes suivantes décrivent le passage des lames dans les différents bains de solution qui permet la coloration des coupes histologiques qui y sont fixées.

- 1) Déparaffinage : 2 Bains d'OTTIX® pendant 10 minutes puis 1 bain d'OTTIX SHAPER® pendant 5 minutes
- 2) Alcool à 90°C pendant 1 minute
- 3) Alcool à 70°C pendant 30 secondes
- 4) Rincage à l'eau du robinet pendant 2 minutes
- 5) Coloration à l'hématoxyline pendant 10 minutes
- 6) Eau du robinet pendant 5 minutes
- 7) Coloration à l'éosine jaunâtre pendant 2 minutes
- 8) Eau du robinet pendant 5 minutes
- 9) Bains d'OTTIX® SHAPER®pendant 5 minutes puis bain d'OTTIX pendant 10 minutes

### 3. <u>Préparation sous lame et lamelle</u>

Une lamelle est fixée sur la lame porte-objet avec de l'Eukitt®. Les lames sont laissées à sécher avant un éventuel nettoyage et observation.

### 4. Bibliographie associée

- ANONYMOUS (1968). Manual of Histologic staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd edition. Blakiston Division, McGraw-Hill, 258p.
- GAUTER P. et JOLLES G. (1969). Histochimie normale et pathologique. Gauthier-Villars, 1416p.
- SHEEMAN et HRAPCHAK (1987). Theory and Practice of Histotechnology, 2<sup>nd</sup> edition. Battelle Press, 481p.

### nnexes 3:

### Documents utilisés à l'abattoir d'Autun

Date	Fiche de triperie						
Numéro de travail	Numéro de passage	Numéro d'abattage	Nombre de paramphistomes	3			

*Date	Fiche de suivi des numéros sur la chaîne d'abattage 2/2						
Numéro de travail	Numéro de passage	Numéro d'abattage					

### Annexe 4:

## Document type tableur utilisé pour le recueil des données

Exemple donné avec la vache 5355.

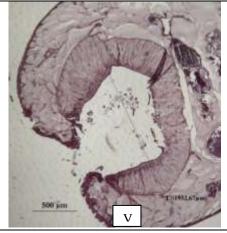
N° travail	N° abattage	N° triperie	Nb para.	Foie	Poids fèces	Vol fèces	Vol SuZn	Nb œufs	OPG	date naissance	race	lieu vie
5355	4109	19	300	GD	30,1	10	10	13	47,51	12/03/09	46	71000

#### Annexe 5:

### Illustration de la démarche de diagnose réalisée sur les paramphistomes prélevés à l'abattoir d'Autun, selon la clé de diagnose mise au point pour les espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France



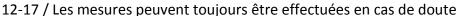
12-17 / Étape 1 : évaluation de la proportion du diamètre de l'acétabulum par rapport à la longueur du corps. L'acétabulum est visiblement de diamètre inférieur à la moitié de la longueur du corps.

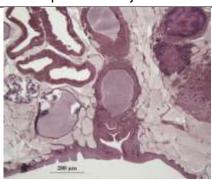


Mesures:

Longueur du corps : 4,8 mm Diamètre de l'acétabulum : 1,9

 $\mathsf{mm}$ 

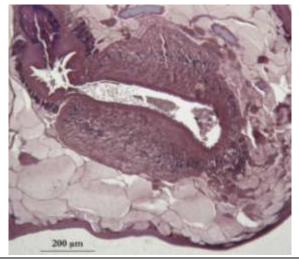


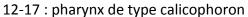


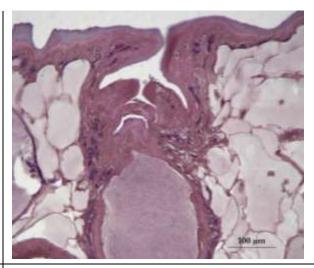
12-17 : *pars musculosa* bien développée

12-17 / Etape 2 : recherche des meilleures images concernant les organes d'interet, à savoir, la *pars musculosa*, le pharynx, le génitalium terminal et les terminaisons caecales

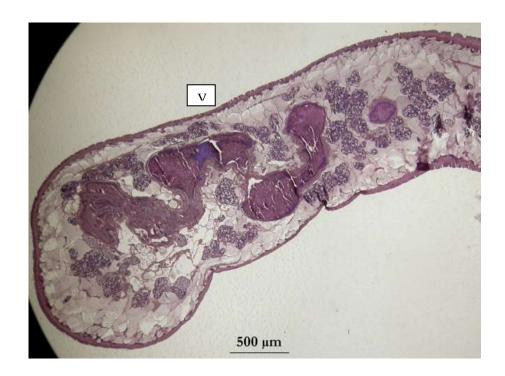
Figure 1 : Etape 1et 2 de la diagnose d'espèce de parsites récoltés à l'abattoir







12-17 : génitalium terminal de type microbothrium



12-17 : terminaison caecale dirigée ventralement

12-17 / Étape 3 : Observation de l'orientation des branches en comparant plusieurs coupes médiales et paramédiales et plusieurs coupes frontales.

12-17 / Étape 4 : Conclusion : C. daubneyi

Figure 2 : Démarche d'identification des paramphistomes présents sur la lame 12-17

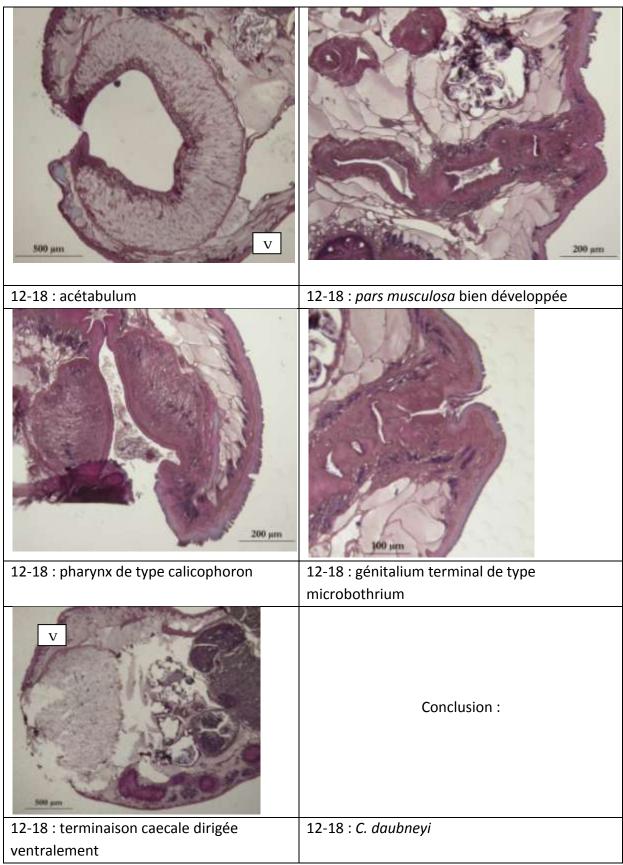


Figure 3 : Démarche d'identification des paramphistomes présents sur la lame 12-18

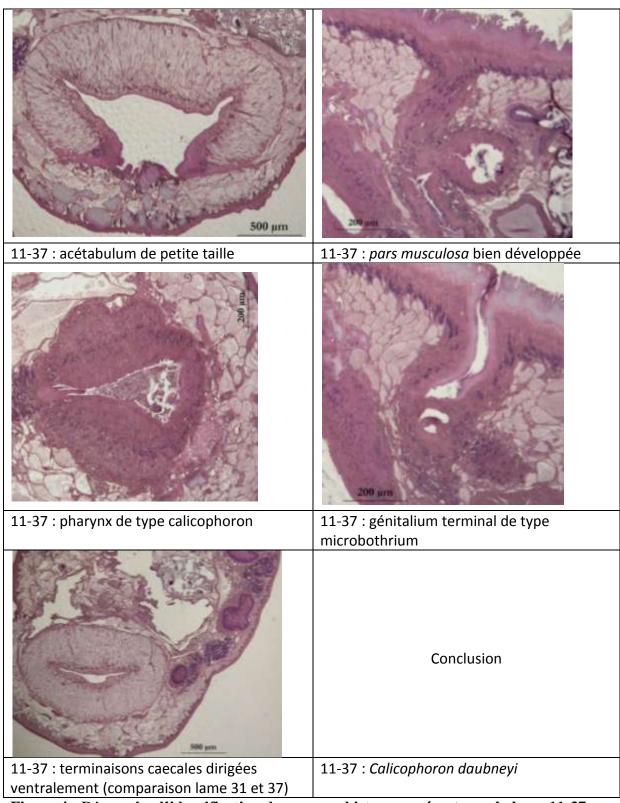


Figure 4 : Démarche d'identification des paramphistomes présents sur la lame 11-37

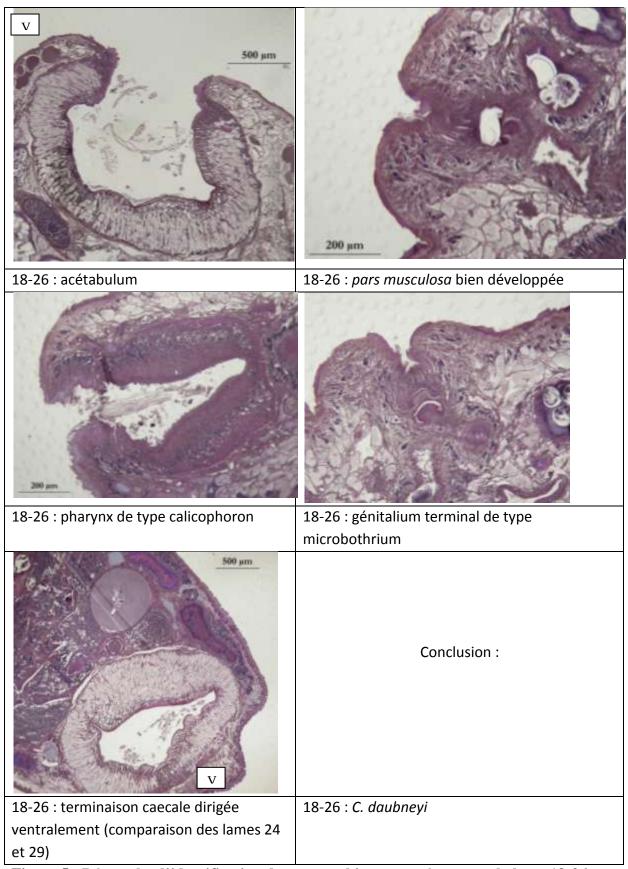


Figure 5 : Démarche d'identification des paramphistomes présents sur la lame 18-26

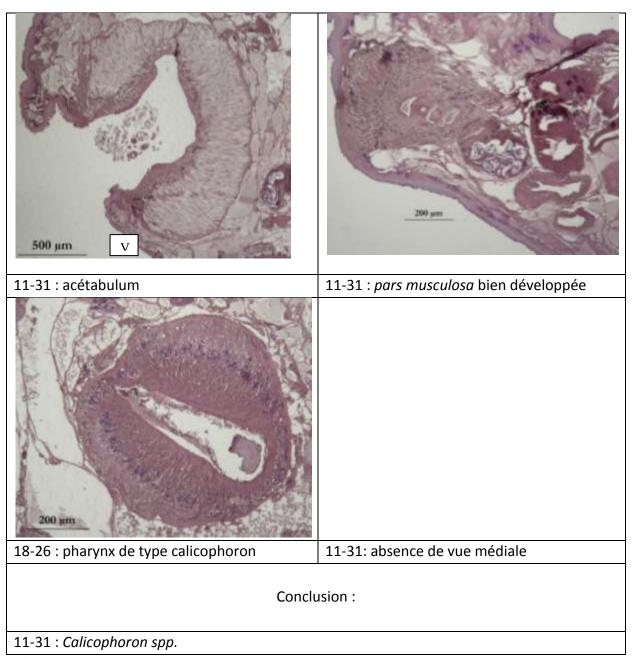


Figure 6 : Démarche d'identification des paramphistomes présents sur la lame 11-31

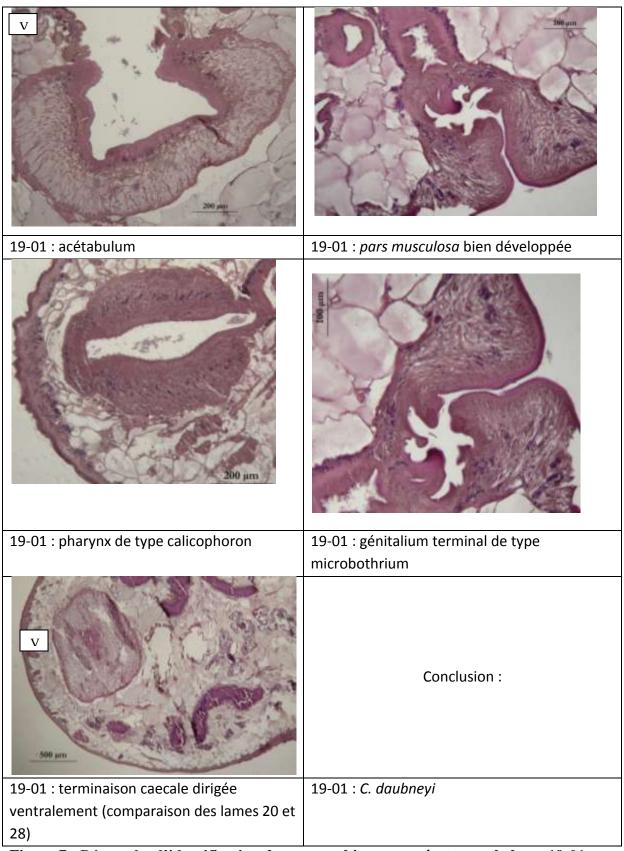


Figure 7 : Démarche d'identification des paramphistomes présents sur la lame 19-01

### **NOM**: BAILLY Sandrine

**TITRE**: La paramphistomose bovine en France: évaluation de l'existence d'une relation entre le nombre d'œufs excrétés de *Calicophoron daubneyi* (*Paramphistomum daubneyi*) et la charge parasitaire chez l'animal et, réalisation d'une clé de diagnose adaptée aux espèces de paramphistomes décrites en France

Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Lyon, le 07/12/12

#### **RESUME:**

La paramphistomose bovine en France est une distomatose rarement diagnostiquée. Le grand nombre d'animaux porteurs sains et l'expression généralement asymptomatique de la maladie font que les paramphistomes sont principalement considérés comme peu pathogènes. Cependant, la forme aiguë de la maladie due aux paramphistomes immatures entraîne un syndrome diarrhéique sévère qui peut rapidement causer la mort chez les jeunes bovins. Les œufs de paramphistomes, excrétés dans les fèces des bovins et observés par examen coproscopique, traduisent une infestation du bovin par des parasites adultes. Mais, aucun test de dépistage fiable n'est disponible pour le diagnostic de paramphistomose aiguë due aux formes immatures du parasite. La prévention de l'infestation est donc à privilégier en estimant le risque parasitaire au sein des différents lots de bovins constituant un cheptel. L'existence d'une relation entre le nombre d'œufs évalué par coproscopie et la charge parasitaire permettrait d'estimer le niveau d'infestation et d'adapter le protocole thérapeutique pour chaque troupeau. Par le passé, différentes espèces de paramphistomes ont été décrites en France. Cependant, de nos jours, une seule espèce - Calicophoron daubneyi - est communément incriminée lors de paramphistomose bovine, sans que l'identification ne soit régulièrement réalisée. La clé de diagnose créée, adaptée aux espèces de paramphistomes potentiellement présentes en France, facilite cette identification spécifique et s'inscrit dans l'élaboration d'un outil de biologie moléculaire pour la diagnose d'espèce.

### **MOTS CLES:**

- distomatose

- bovin

- coproscopie

- identification

### JURY:

Président : Monsieur le Professeur BERLAND Michel 1<sup>er</sup> Assesseur : Monsieur le Professeur ZENNER Lionel

2<sup>ème</sup> Assesseur : Madame le Professeur ARCANGIOLI Marie-Anne

Membre invité : Monsieur le Docteur BELLI Patrick

**DATE DE SOUTENANCE :** 07 décembre 2012

### **ADRESSE DE L'AUTEUR:**

6 avenue Gallieni 77590 CHARTRETTES